

Biofilm og antibiotikaresistens hos koagulasenegative stafylokokker

Sammendrag

Bakgrunn. Koagulasenegative stafylokokker (KNS) kan forårsake alvorlige infeksjoner hos immunsupprimerte pasienter. Disse stafylokokkene er ofte resistente mot mange antibiotika, og biofilmproduksjon er den viktigste virulensfaktoren. Vårt mål var å undersøke disse faktorene hos koagulasenegative stafylokokker som koloniserer barn med økt risiko for slike infeksjoner.

Materiale og metode. Vi samlet inn isolater av koagulasenegative stafylokokker fra intravasale katetre (n = 19) og huden (n = 47) til 30 syke nyfødte. Fra 20 barn med kreft samlet vi inn hudisolater før oppstart av behandling (n = 20) og etter seks måneders behandling (n = 18). Vi undersøkte antibiotikaresistens og biofilmproduksjon med fenotypiske teknikker. Vi brukte polymerasekjedereaksjon (PCR) for påvisning av antibiotikaresistensgener og gener involvert i biofilmproduksjon.

Resultater. 11 av 19 (58 %) kateterisolater produserte biofilm, sammenliknet med 14 av 47 (30 %) hudisolater (p = 0,04). Før og etter seks måneders behandling for kreft var forekomsten av oksacillinresistens 20 % versus 67 % (p = 0,004) og gentamicinresistens 15 % versus 67 % (p = 0,003). Biofilmproduserende koagulasenegative stafylokokker hadde høyere forekomst av antibiotikaresistens enn ikke-biofilmproduserende isolater.

Fortolkning. Våre funn tyder på at syke nyfødte og barn med kreft i sykehus koloniseres med patogene koagulasenegative stafylokokker som tilhører en sykehusflora med et annet virulens- og resistensmønster enn det man finner hos koagulasenegative stafylokokker fra friske personer utenfor sykehus.

> Se også side 2690

Hildegunn Granslo

Barneavdelingen
Institutt for klinisk medisin
Universitetet i Tromsø

Karianne Wiger Gammelsrud

Barneklubben
Ullevål universitetssykehus

Elizabeth Aarag Fredheim

Barneavdelingen
Institutt for klinisk medisin

Trond Flægstad

Claus Klingenberg

claus.klingenberg@unn.no
Barne- og ungdomsklinikken
Universitetssykehuset Nord-Norge
9038 Tromsø
og
Barneavdelingen
Institutt for klinisk medisin
Universitetet i Tromsø

Koagulasenegative stafylokokker er en del av human normalflora på hud, slimhinne og i tarm. I motsetning til *Staphylococcus aureus*, produserer de svært få virulensfaktorer, som toksiner og eksoenzymmer. Koagulasenegative stafylokokker forårsaker vanligvis ikke sykdom hos friske med normalt immunforsvar (1). De siste 20 årene har man sett en kraftig økning i forekomsten av infeksjoner med disse bakteriene. Årsaken er trolig økt bruk av implanterte fremmedlegemer samt en økning i antallet immunsvekkede pasienter. Koagulasenegative stafylokokker er i dag den hyppigste årsak til sykehusinfeksjoner (1–3). *Staphylococcus epidermidis* forårsaker flest infeksjoner. *S. haemolyticus*, *S. capitis* og *S. saprophyticus* er eksempler på andre humanpatogene koagulasenegative stafylokokkarter.

Over halvparten av alle nosokomiale sepsisepisoder hos premature barn er forårsaket av koagulasenegative stafylokokker (4, 5). Slike infeksjoner forlenger sykehusoppholdet og er assosiert med betydelig økt sykkelighet (4, 6). Det er den vanligste mikroben man finner ved nøyotropen sepsis hos barn med kreft (7, 8). Infeksjoner med koagulasenegative stafylokokker bidrar til økt eksponering for bredspektrede antibiotika og kan medføre at man må fjerne nødvendige sentralvenøse tilganger.

Når mikroben påvises i sykehus, uttrykker den ofte multiresistens mot antibiotika (9). Om lag 70–90 % av alle koagulasenegative stafylokokker, både i Norge og i utlandet, er resistente mot meticillin (9–11). Meticillinresistens hos stafylokokker er mediert av *mecA*-genet som koder for et peni-

cillinbindende protein (PBP2a) med nedsatt affinitet for betalaktamantibiotika. Bakterier med PBP2a er resistente mot alle betalaktamantibiotika. Resistens mot aminoglykosider og andre antibiotikagrupper er også vanlig (12, 13). I mange tilfeller vil behandlingsalternativene ved infeksjoner med koagulasenegative stafylokokker derfor være begrenset til bruk av glykopeptider eller nye reservemedikamenter som oxazolidoniner.

Over 99 % av alle bakterier lever i biofilmer (14). En etablert biofilm er et flersjiktet lag med bakterier omgitt av en ekstracellulær polymerisk substans som kan bestå av polysakkarider, proteiner og DNA (15). Biofilm beskytter bakteriene mot angrep både fra antibiotika og vertens immunforsvar (16, 17). Produksjon av biofilm anses som den viktigste virulensfaktor hos koagulasenegative stafylokokker (fig 1). Disse bakteriene har en rekke adhesjonsmolekyler som medierer binding til overflaten av både fremmedlegemer og eget vev. Deretter starter selve biofilmproduksjonen (1, 2). Hos *S. epidermidis* medierer *ica*-operonet danning av et eksopolysakkarid kalt polysakkarid intercellulært adhesin (3). Dette polysakkaridet er den viktigste bestanddelen av en *S. epidermidis*-biofilm (17). Biofilmassosiert infeksjon med koagulasenegative stafylokokker ses oftest etter implantatoperasjoner. Denne typen infeksjoner er en enorm medisinsk utfordring (16), men har i liten grad vært omtalt i Tidsskriftet.

Hensikten med denne studien var å undersøke forekomsten av antibiotikaresistens og biofilmproduksjon hos koagulasenegative stafylokokker isolert fra en gruppe barn med økt risiko for slike infeksjoner. Med bakgrunn i våre funn diskuteres kliniske og mikrobiologiske aspekter ved disse infeksjonene.

Hovedbudskap

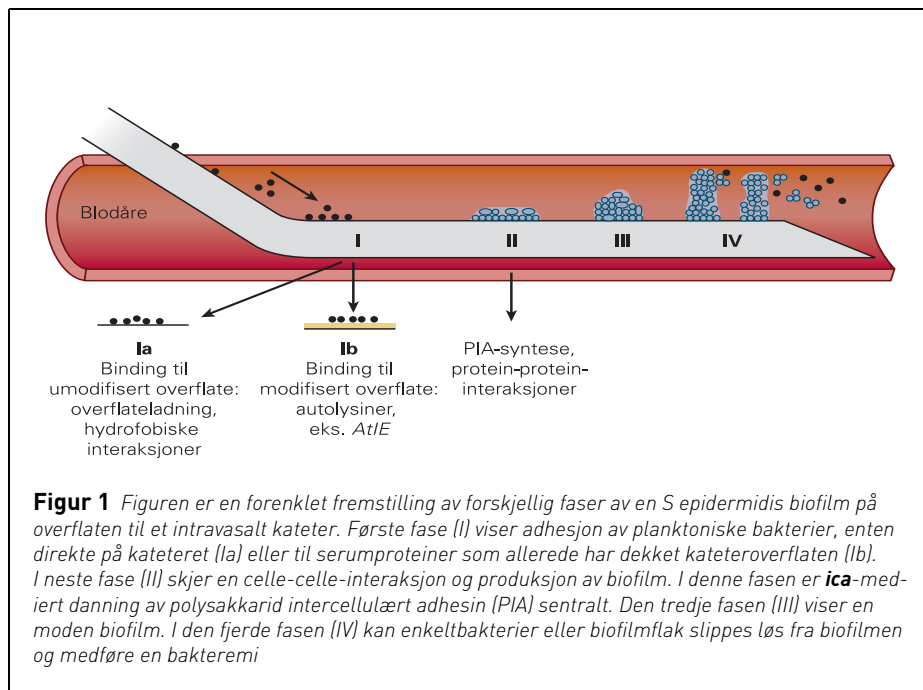
- Koagulasenegative stafylokokker kan gi alvorlige infeksjoner hos immunsupprimerte pasienter
- Hudisolater av disse bakteriene fra syke nyfødte og barn med kreft har høy forekomst av antibiotikaresistens
- Over halvparten av koagulasenegative stafylokokker fra intravasale katetre produserte biofilm, den viktigste virulensfaktor hos slike bakterier

Materiale og metode

Vi inkluderte 30 nyfødte barn innlagt ved nyfødtintensivseksjonen ved Universitetssykehuset Nord-Norge i perioden juni-september 2004 og 20 barn med kreft behandlet på Ulevål universitetssykehus og Rikshospitalet i perioden 1999–2000 og 2003–04. 20 av de nyfødte veide > 2500 g. Barna med kreft hadde en gjennomsnittsalder på fire år (4 md–10 år). 13 barn hadde akutt leukemi og sju hadde forskjellige typer solide svulster. Skriftlig informert samtykke ble innhentet fra foreldrene til alle pasientene før inklusjon i studien. Studien er godkjent av Regional komité for medisinsk forskningsetikk og Norsk samfunnsvitenskapelig datatjeneste.

Fra de nyfødte barna ble det samlet inn prøver fra huden i forbindelse med at det ble anlagt et intravasalt kateter (veneflon og/eller navlekater) og fra det intravasale kateteret da dette ble fjernet. Median alder ved inklusjon var fire dager (interkvartil spredning 0–21 dager). Hos fem av de nyfødte ble det tatt gjentatte prøvesett. Fra barna med kreft ble det samlet inn dyrkingsprøver fra huden ved diagnosetidspunktet (prøve 1) og ca. et halvt år senere (prøve 2). I perioden mellom prøve 1 og prøve 2 var alle 20 barna hospitalisert i kortere eller lengre perioder.

Prøver fra de nyfødte ble tatt ved å stryke en steril vattpensel fuktet i sterilt saltvann over et 2 × 2 cm stort område av huden der det intravasale kateteret ble anlagt. Vattpinnen ble satt til dyrking på 37 °C i rikt vekstmedium (BHI, Oxoid, Basingstoke, England) i inntil to dager. Ved fjerning av det intravasale kateteret ble distale 2–3 cm klippet av sterilt og inkubert i en glukosebuljong på 37 °C i inntil fem dager. Fra mediene hvor man fant vekst, ble buljongen strøket ut på sjokoladeagarskåler. Prøver fra barn med kreft ble tatt ved å stryke en steril vattpensel fuktet med sterilt saltvann over huden på øvre del av thorax, tilsvarende lokalisasjon for innstikksted av sentralvenøse kateter. Vattpenselen ble strøket ut på sjokoladeagarskåler og inkubert over natten i 35 °C. Deretter ble én sannsynlig koloni med koagulasenegative stafylokokker spredt på mannittsalt-agar og inkubert i 24 timer ved 35 °C. Felles for alle prøvene var at en koloni med utseende som stafylokokker ble identifisert som koagulasenegative ved hjelp av gramfarging, koagulasetest (Staphaurex Plus, Murex Biotech Limited, Dartford, Storbritannia) og katalasetest. Isolatene ble lagret i frysebuljong på –70 °C. All identifikasjon til artsnivå ble gjort med ID32Staph (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankrike). Fenotypisk antibiotikafølsomhet ble undersøkt med lap-petestmetoden for ciprofloksacin, erytromycin og klindamycin. Vankomycinfølsomhet ble undersøkt med vankomycinscreentest. Stammer som var positive ved vankomycinscreening ble undersøkt med Etest (AB Biodisk, Solna, Sverige) i henhold til nasjonale anbefalinger (18). Oksacillin- og gentamicinfølsomhet ble kun undersøkt med



Figur 1 Figuren er en forenklet fremstilling av forskjellige faser av en *S. epidermidis* biofilm på overflaten til et intravasalt kateter. Første fase (I) viser adhesjon av planktoniske bakterier, enten direkte på kateteret (Ia) eller til serumproteiner som allerede har dekket kateteroverflaten (Ib). I neste fase (II) skjer en celle-celle-interaksjon og produksjon av biofilm. I denne fasen er *ica*-mediert danning av polysakkarid intercellulært adhesin (PIA) sentralt. Den tredje fasen (III) viser en moden biofilm. I den fjerde fasen (IV) kan enkeltbakterier eller biofilmflak slippes løs fra biofilmen og medføre en bakteremi

Etest. Oksacillinresistens og meticillinresistens benyttes i denne artikkelen som synonyme begreper. De koagulasenegative stafylokokkisolatene ble klassifisert som sensitive, intermediært følsomme og resistente i henhold til norske brytningpunkter fra 2007 (18).

Biofilmproduksjon ble undersøkt med en standardisert semikvantitativ analyse i mikrotiterplater (11, 19) (fig 2). Den optiske tettheten (OD) av krystallfiolett-farget biofilm ble målt med et spektrofotometer ved 570 nm. Gjennomsnittlig OD-verdi fra tre paralleller med til sammen 18 målinger ble brukt til å vurdere biofilmproduksjon. OD-verdier $\geq 0,12$ ble definert som biofilmpositive, OD-verdier $> 1,0$ som kraftig positive. Positiv kontroll var *S. epidermidis* ATCC 35984 (RP62A) og negativ kontroll var *S. epidermidis* ATCC 12228.

Bakterielt DNA ble ekstrahert ved koking. Antibiotikaresistensgenene *mecA* og *aac(6)-Ie-aph(2'')-Ia*, som koder for henholdsvis meticillin- og aminoglykosidresistens, samt to gener som koder for forskjellige sentrale trinn i biofilmproduksjon (fig 1), *atlE* og *icaD*, ble påvist med polymerasekjedereaksjon (PCR) (11, 12).

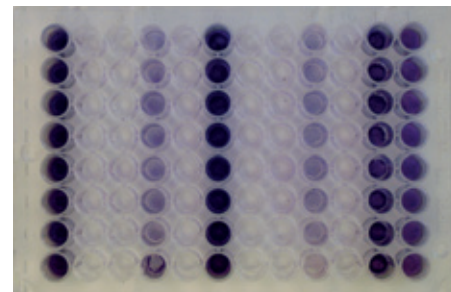
Materialet ble registrert og analysert ved hjelp av statistikkprogrammet SPSS (versjon 13.0). Kvantitative data er presentert som prosentandeler eller median. Vi brukte khikvadrattest og Fishers eksakte test for sammenlikning av kategoriske data. Analysene ble regnet som signifikante når tosidige p-verdier var under 0,05.

Resultater

Til sammen 104 koagulasenegative stafylokokkisolater ble identifisert og analysert (tab 1). I mange av kateterprøvene fikk vi ingen vekst, derav lavere antall kateterisolater enn

hudisolater hos de nyfødte. Det var en overvekt av *S. epidermidis* blant koagulasenegative stafylokokker isolert fra barn med kreft. Hos de nyfødte barna ble det funnet en relativt høy andel av andre koagulasenegative stafylokokkarer, heretter kalt non-epidermidis koagulasenegative stafylokokker.

Blant koagulasenegative stafylokokker isolert fra nyfødte barn fant vi en høy forekomst av oksacillin- og gentamicinresistens, mens det var lite resistens mot andre antibiotikagrupper. Andelen aminoglykosidresistente stammer var høyere hos koagulasenegative stafylokokker isolert fra barn med fødselsvekt < 2500 g (33/44, 75 %) enn hos dem med høyere fødselsvekt (8/22, 38 %) ($p = 0,004$). Etter at barna med kreft hadde vært under behandling i et halvt år, var det en markert økning i andelen koagulasenegative stafylokokkstammer med resistens mot både oksa-



Figur 2 Figuren viser semikvantitativ biofilmanalyse i en mikrotiterplate. Hvert isolat undersøkes i en kolonne med åtte brønner. Biofilmen farges med krystallfiolett. Optisk tetthet (OD) i hver brønn undersøkes med et spektrofotometer. Høyeste og laveste verdi målt i hver kolonne ekskluderes. Gjennomsnittsverdien for OD beregnes og angis som mål for biofilmproduksjon. Fra venstre i figuren er kolonne 1 positiv kontroll, kolonne 2 negativ kontroll og de neste kolonnene viser forskjellig grad av biofilmproduksjon

cillin og gentamicin (tab 1). Felles for hele materialet var signifikant mer resistens både mot oksacillin (74 % versus 47 %, $p = 0,006$) og gentamicin (69 % versus 44 %, $p = 0,01$) blant koagulasenegative stafylokokker som produserer biofilm sammenliknet med dem som ikke produserer biofilm. Vi fant ingen forskjell i forekomst av antibiotikaresistens mellom S epidermidis og non-epidermidis koagulasenegative stafylokokker (data ikke vist). Hos seks av 60 isolater som var fenotypisk resistente mot oksacillin kunne vi ikke å påvise *mecA*-genet. Fire av disse hadde minste hemmende konsentrasjonsverdier på 0,5–1,0 mg/l, verdier som er like over det definerte brytningspunktet (18).

Forekomsten av biofilmproduksjon var høyere hos koagulasenegative stafylokokker fra intravasale kateter sammenliknet med dem fra hud (tab 1). Biofilmproduksjon hos hudisolater varierte fra 30 % hos de nyfødte barna til 50 % hos barn med kreft (prøve 2). *icaD*-genet ble påvist med PCR hos 20/30 (67 %) biofilmpositive S epidermidis, og hos alle ni sterkt biofilmpositive S epidermidis.

Diskusjon

Vi har i denne studien kartlagt forekomsten av antibiotikaresistens og biofilmproduksjon hos koagulasenegative stafylokokker som koloniserer barn som behandles på sykehus. Som andre (20) fant vi at koagulasenegative stafylokokker på huden til begge disse pasientgruppene hyppig var resistente både mot oksacillin og gentamicin.

Barn med kreft og for tidlig fødte barn har økt risiko for invasive infeksjoner med koagulasenegative stafylokokker på grunn av svekket immunforsvar og utstrakt bruk av

sentralvenøse katetre. Under langvarig hospitalisering erverver de også en sykehusflora med andre mikrober og annet resistensmønster enn det man finner utenfor sykehus (20–22).

Antibiotikaresistensmønsteret kan gjenspeile bruken av antibiotika i en sykehusavdeling (23). På nyfødtavdelingen, Universitetssykehuset Nord-Norge og på de avdelingene som behandlet barna med kreft, var en kombinasjon av ampicillin og gentamicin standard empirisk antibiotikaregime ved mistanke om sepsis.

Hos seks av 60 koagulasenegative stafylokokkstammer som var fenotypisk resistente mot oksacillin, kunne vi ikke påvise *mecA*-genet. Alle disse stammene ble undersøkt flere ganger for å utelukke falskt negativ *mecA*-PCR eller falskt positiv oksacillin-Etest. Det er imidlertid kjent at andre mekanismer som for eksempel en hyperproduksjon av stafylokokkbetalaktamase kan mediere lavgradig meticillinresistens (24). Dette kan forklare diskrepansen mellom genotypisk og fenotypisk meticillinresistens.

Koagulasenegative stafylokokker isolert fra intravasale katetre viste en høyere forekomst av biofilmproduksjon enn dem isolert fra hud. Enkelte har hevdet at evnen til å produsere biofilm kan utnyttes til å skille koagulasenegative stafylokokkontaminanter fra «ekte» invasive koagulasenegative stafylokokkisolater (25, 26). Andres (27) og egne studier (11) har imidlertid konkludert med at påvisning av *ica*-operonet og/eller biofilmproduksjon ikke er en egnet markør for dette formålet. Som vi også fant i denne studien blir hospitaliserte pasienter ofte raskt kolonisert med koagulasenegative stafylokokkis-

olater som skiller seg fra dem man finner utenfor sykehus både hva gjelder biofilmproduksjon og antibiotikaresistens (3).

Bakterier som lever i biofilm har en iboende høyere resistens mot antibiotika enn de samme bakteriene i planktonisk form (16, 28). Dette forklarer hvorfor kroniske biofilmmassosierte infeksjoner er svært vanskelig å sanere med antibiotika alene (16). I dag finnes det metoder for å analysere antibiotikaresistens hos bakterier i biofilm (28, 29), men disse er ikke rutinemessig i bruk. Undersøkelse av de samme bakteriene i planktonisk vekst, slik det gjøres på vanlige mikrobiologiske laboratorier, vil i mange tilfeller ikke gjenspeile effekten av antibiotika in vivo ved biofilmmassosierte infeksjoner.

I vår studie hadde biofilmproduserende koagulasenegative stafylokokker høyere forekomst av antibiotikaresistens og antibiotikaresistensgener sammenliknet med dem som ikke produserte biofilm. Vi gjorde fenotypisk resistenstesting på bakterier i planktonisk form. Selve biofilmen kan altså ikke forklare dette fenomenet. Enkelte studier indikerer at bakterier som lever i biofilm har økt evne til horisontal genoverføring, noe som igjen kan øke virulensen og antibiotikaresistens hos biofilmproduserende bakterier (30).

Denne studien har flere begrensinger. Få stammer ble undersøkt, og sammenlikninger er gjort mellom små grupper. Valget av koagulasenegative stafylokokkisolater for nærmere analyse er også tilfeldig. Vi burde optimalt ha undersøkt flere isolater fra hver pasient, men dette ville ha blitt et for omfattende arbeid innenfor rammen av denne studien. Videre var det visse forskjeller i dyr-

Tabell 1 Oversikt over stafylokokkisolater

Art	Nyfødte			Barn med kreft		
	Antall isolater			Antall isolater		
S epidermidis	38			31		
Andre koagulasenegative stafylokokker	28			7		
	Kateter (%) (n = 19)	Hud (%) (n = 47)	P-verdi	Prøve 1 (%) (n = 20)	Prøve 2 (%) (n = 18)	P-verdi
<i>Antibiotika resistens</i>						
<i>aac/aph</i> -positiv	15 [79]	27 [57]	0,1	3 [15]	12 [67]	0,003
Gentamicin-R ¹	15 [79]	26 [55]	0,08	3 [15]	12 [67]	0,003
<i>mecA</i> -positiv	15 [79]	30 [64]	0,22	3 [15]	13 [72]	< 0,001
Oksacillin-R ¹	16 [84]	28 [60]	0,07	4 [20]	12 [67]	0,004
Erytromycin-R ¹	1 [0,5]	7 [15]	0,15	4 [20]	6 [33]	0,48
Klindamycin-R ¹	0 [0]	2 [4]	0,14	2 [1]	5 [28]	1
Vankomycin-R ¹	0 [0]	0 [0]	1	0 [0]	0 [0]	1
Ciprofloksacin-R ¹	1 [0,5]	1 [2]	0,64	0 [0]	1 [5]	0,47
<i>Biofilm</i>						
Biofilm-positiv	11 [58]	14 [30]	0,04	8 [40]	9 [50]	0,54
<i>icaD</i> -positiv	9 [47]	14 [30]	0,18	6 [30]	6 [33]	0,83
<i>atE</i> -positiv	11 [58]	35 [74]	0,19	15 [75]	15 [83]	1

¹R = resistent i henhold til Arbeidsgruppen for antibiotikaspørsmål (AFA)s brytningspunkter (18)

kingsmetodene som ble brukt hos nyfødte og barn med kreft. Mannit-salt-agar, som ble brukt hos barn med kreft, favoriserer vekst av meticillinresistente koagulasenegative stafylokokker. Vi har imidlertid ikke sammenliknet forekomst av meticillinresistens hos disse fra barn med kreft og nyfødte. På tross av svakhetene har vi funnet trender i forekomst av antibiotikaresistens og biofilmproduksjon som er i tråd med andre større studier. Vi har ikke sett på koagulasenegative stafylokokkisolater fra invasive infeksjoner, men det er sterke holdepunkter for at slike infeksjoner ofte utgår fra isolater som koloniserer huden.

Konklusjon

Vi fant en høy forekomst av resistens mot oksacillin og gentamicin blant koagulasenegative stafylokokker som koloniserer de minste nyfødte og barn som behandles for kreft. Begge disse gruppene hospitaliseres i lange perioder og utsettes for stort antibiotikapress. Biofilmproduserende koagulasenegative stafylokokkstammer har også høyere forekomst av antibiotikaresistens enn stammer som ikke produserer biofilm. Hos koagulasenegative stafylokokker er biofilmproduksjon en sentral virulensfaktor som gjør at denne ellers «snille» bakterien kan gi potensielt alvorlig infeksjoner som er svært vanskelig å behandle med antibiotika. Vi mener at en vurdering av bakterienes viktigste virulensfaktorer i fremtiden vil spille en rolle for valg av antibiotikabehandling. Nærmere kartlegging av reguleringsmekanismer for biofilmproduksjon kan også føre til nye behandlingsprinsipper ved denne typen infeksjoner (15).

Vi takker Arnfinn Sundsfjord for kritisk gjennomlesing av manuskriptet samt sykepleierne på nyfødt-intensivavdelingen, Universitetssykehuset Nord-Norge for godt samarbeid og hjelp til prøvetaking fra de nyfødte barna.

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Litteratur

- Otto M. Virulence factors of the coagulase-negative staphylococci. *Front Biosci* 2004; 9: 841–63.
- von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 677–85.
- Ziebuhr W, Hennig S, Eckart M et al. Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermidis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 28 (suppl 1): 14–20.
- Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* 2002; 110: 285–91.
- Rønnestad A, Abrahamsen TG, Medbo S et al. Late-onset septicemia in a Norwegian national cohort of extremely premature infants receiving very early full human milk feeding. *Pediatrics* 2005; 115: e269–76.
- Stoll BJ, Hansen NI, Adams-Chapman I et al. Neurodevelopmental and growth impairment among extremely low-birth-weight infants with neonatal infection. *JAMA* 2004; 292: 2357–65.
- Paulus SC, van Saene HK, Hemsworth S et al. A prospective study of septicaemia on a paediatric oncology unit: a three-year experience at The Royal Liverpool Children's Hospital, Alder Hey, UK. *Eur J Cancer* 2005; 41: 2132–40.
- Stabell N, Nordal E, Stensvold E et al. Febrile neutropenia in children with cancer: A retrospective Norwegian multicentre study of clinical and microbiological outcome. *Scand J Infect Dis* 2008; 40: 301–7.
- Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999. *Clin Infect Dis* 2001; 32 (suppl 2): 114–32.
- Marshall SA, Wilke WW, Pfaller MA et al. *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from blood stream infections: frequency of occurrence, antimicrobial susceptibility, and molecular (mecA) characterization of oxacillin resistance in the SCOPE program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 30: 205–14.
- Klingenberg C, Aarag E, Rønnestad A et al. Coagulase-negative staphylococcal sepsis in neonates: association between antibiotic resistance, biofilm formation and the host inflammatory response. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: 817–22.
- Klingenberg C, Sundsfjord A, Rønnestad A et al. Phenotypic and genotypic aminoglycoside resistance in blood culture isolates of coagulase-negative staphylococci from a single neonatal intensive care unit, 1989–2000. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54: 889–96.
- Schmitz FJ, Fluit AC, Gondolf M et al. The prevalence of aminoglycoside resistance and corresponding resistance genes in clinical isolates of staphylococci from 19 European hospitals. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 253–9.
- Cogan NG. Effects of persister formation on bacterial response to dosing. *J Theor Biol* 2006; 238: 694–703.
- Otto M. Quorum-sensing control in *Staphylococci* – a target for antimicrobial drug therapy? *FEMS Microbiol Lett* 2004; 241: 135–41.
- Fux CA, Costerton JW, Stewart PS et al. Survival strategies of infectious biofilms. *Trends Microbiol* 2005; 13: 34–40.
- Vuong C, Voyich JM, Fischer ER et al. Polysaccharide intercellular adhesin (PIA) protects *Staphylococcus epidermidis* against major components of the human innate immune system. *Cell Microbiol* 2004; 6: 269–75.
- Arbeidsgruppen for antibiotikaspørsmål. www.unn.no/category10274.html (15.1.2008).
- Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 996–1006.
- Eastick K, Leeming JP, Bennett D et al. Reservoirs of coagulase negative staphylococci in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1996; 74: F99–104.
- Archer GL. Alteration of cutaneous staphylococcal flora as a consequence of antimicrobial prophylaxis. *Rev Infect Dis* 1991; 13 (suppl 10): 805–9.
- Klingenberg C, Glad GT, Olsvik R et al. Rapid PCR detection of the methicillin resistance gene, *mecA*, on the hands of medical and non-medical personnel and healthy children and on surfaces in a neonatal intensive care unit. *Scand J Infect Dis* 2001; 33: 494–7.
- Burnie JP, Naderi-Nasab M, Loudon KW et al. An epidemiological study of blood culture isolates of coagulase-negative staphylococci demonstrating hospital-acquired infection. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1746–50.
- Berger-Bachi B, Rohrer S. Factors influencing methicillin resistance in staphylococci. *Arch Microbiol* 2002; 178: 165–71.
- Frebourg NB, Lefebvre S, Baert S et al. PCR-based assay for discrimination between invasive and contaminating *Staphylococcus epidermidis* strains. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 877–80.
- Galdbart JO, Allignet J, Tung HS et al. Screening for *Staphylococcus epidermidis* markers discriminating between skin-flora strains and those responsible for infections of joint prostheses. *J Infect Dis* 2000; 182: 351–5.
- Rohde H, Kalitzky M, Kroger N et al. Detection of virulence-associated genes not useful for discriminating between invasive and commensal *Staphylococcus epidermidis* strains from a bone marrow transplant unit. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 5614–9.
- Cerca N, Martins S, Cerca F et al. Comparative assessment of antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci in biofilm versus planktonic culture as assessed by bacterial enumeration or rapid XTT colorimetry. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 331–6.
- Amorena B, Gracia E, Monzon M et al. Antibiotic susceptibility assay for *Staphylococcus aureus* in biofilms developed in vitro. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44: 43–55.
- Molin S, Tolker-Nielsen T. Gene transfer occurs with enhanced efficiency in biofilms and induces enhanced stabilisation of the biofilm structure. *Curr Opin Biotechnol* 2003; 14: 255–61.

Manuskriptet ble mottatt 12.7. 2007 og godkjent 31.1. 2008. Medisinsk redaktør Preben Aavitsland.