



Navdeep Kaur Brar har tatt doktorgrad ved Universitetet i Oslo og forsket på effekten av antibiotika og HAMLET, i kampen mot antibiotikaresistens. Foto: Fredrik Pedersen, OD/UIO.

# Ny innsikt - til bekjempelse av antibiotikaresistens

Navdeep Kaur Brar har undersøkt effekten av antibiotika og HAMLET, et stoff som finnes i morsmelk, med tanke på påvirkning av bakteriefloraen i munnhulen.

 KARI ØVERBY, OD/UIO

**B**rar er særlig opptatt av å tenke nytt i bekjempelsen av antibiotikaresistens.

– I utgangspunktet handler min doktorgradsavhandling om antibiotikaresistens, som er et veldig stort forskningsfelt. Jeg har sett på hvordan lave konsentrasjoner av antibiotika påvirker samfunn av bakterier i munnhulen. En biofilm består av et samfunn av bakterier, komponenter fra spyttet og matrester. Når vi ikke pusser tennene, for eksempel, får vi det hvite belegget som blir liggende på tennene, med bakterier som trives i et spesifikt miljø over lengre tid, sier Brar.

– Vi har sett at lave konsentrasjoner av antibiotika kan være med på å øke biofilmdannelsen. Konsentrasjonene av antibiotika i saliva eller gingivalvæske i munnhulen har i tidligere studier vist seg å være svært lave. Vi har utført studier hvor vi har brukt en modell i laboratoriet. Siden det er veldig mange faktorer som påvirker biofilmdannelsen i munnen, har vi ved å bruke denne modellen hatt en forenklet og kontrollert tilværelse, men likevel har bakteriene tilnærmet det samme miljøet som de utvikler seg og formerer seg i, som i munnhulen.

I den første artikkelen brukte vi lave konsentrasjoner av en beta-laktam antibiotika som heter ampicillin. Saliva fra forskjellige individer ble brukt til å formere oral biofilm. Vi studerte inter- og intraindividuell forandring i både det orale mikrobiomet og resistomet.

Munnhulen er det stedet som inneholder høyest antall antibiotikaresistente gener. Overraskende funn i denne studien var at korttidseksposering av oral biofilm med lave konsentrasjoner av ampicillin, selv om det fremmet endringer i de mikrobielle profilene, ikke var med på å øke resistente gener i biofilmen. Noe som gir oss innsikt i at både faktorer som konsentrasjonen av antibiotika og eksponeringstiden har en påvirkning på resistensutviklingen i bakteriene.

### **HAMLET – et behandlingalternativ**

– Jeg har også vært heldig å få jobbe med en forskningsgruppe ved Universitetet i Lund, forteller Brar.

– De jobber med et stoff som heter HAMLET, som finnes i morsmelk. Det er sammensatt av et protein og av fettstoffer. Stoffet viste seg å ha en anticancer-effekt, det virket altså mot kreft i første omgang. Forskere har også testet ut den antibakterielle effekten av stoffet. Noen bakterier, f.eks. *Stafylococcus aureus*, er multiresistente bakterier mot ulike antibiotika. Det viser seg at disse bakteriene

resensitiviseres ved bruk av HAMLET, slik at antibiotika igjen kan påvirke også disse.

I studien min brukte jeg HAMLET som et behandlingalternativ til antibiotika. Jeg så at HAMLET i seg selv skapte en forandring i bakteriesamfunnet, slik at det ble mer av de probiotiske eller gode bakteriene som vokste. Biofilmodellen var satt opp under en kontrollert tilværelse i laboratoriet, i de to første artiklene. I det tredje forsøket undersøkte vi en *in vivo* studiemodell, og da så vi på hvordan antibiotika amoxicillin og HAMLET påvirket immunsystemet når vi kombinerte de to behandlingalternativene.

Vi så da at det kun var amoxicillin, og ikke HAMLET som hadde effekt på immunsystemet. Antibiotikabehandling førte til nedsatt regulering av enkelte faktorer i immunsystemet, som er viktige for bekjempelsen av infeksjon i kroppen. Disse resultatene peker på nødvendigheten av å være kritisk til over-/eller misbruk av antibiotika, da det ikke kun påvirker resistensproblematikken, men også kan svekke kroppens immunsystem i bekjempelsen av infeksjoner.

### **Lave konsentrasjoner av antibiotika kan påvirke utviklingen av resistens**

– Kort oppsummert fant vi ut at antibiotika i lave konsentrasjoner også kan påvirke resistensmønsteret i bakteriene, dvs. utviklingen av resistente gener. Du kan få økt enkelte resistente gener i forhold til hvilken antibiotika du bruker. I tillegg kan eksponering av lave konsentrasjoner av antibiotika over lengre tid, bidra til å øke biofilmdannelsen. I munnhulen er konsentrasjonen av antibiotika lav i forhold til det vi har i blodet. Når vi tar antibiotika mot f. eks. ørebetennelse, vil vi få antibiotika i munnhulen også. Eksponering av lave antibiotikakonsentrasjoner over lengre tid kan føre til økt biofilmdannelse.

Det andre vi så med HAMLET, var at det økte forekomsten av probiotiske bakterier i bakteriesamfunnet. Det hadde en god effekt.

Vi må se videre på mekanismer bak disse resultatene, men dette var resultatene fra biofilmodellen og bioinformattikkanalysene. Ofte er det veldig mange faktorer som påvirker, men her hadde vi et bakteriesamfunn i en mer kontrollert tilværelse.

### **Nye midler til å bekjempe antibiotikaresistens**

– Med bakgrunn i dette bør man også tenke i andre baner, og ikke bruke kun antibiotika som behandling. Man bør

også prøve andre metoder for å bekjempe infeksjoner. HAMLET har vist at det resensitiverer bakterier som ikke har vært sensitive for antibiotika før, noe som er relevant for problematikken rundt multiresistente bakterier. Og man har sett at de resistente bakteriene ikke utvikler seg, slik at resistensutvikling ikke er et problem i denne sammenhengen.

I enkelte patogene bakterier, dvs. sykdomsfremkallende bakterier som er i munn- og halsområdet, f.eks. *Streptococcus pneumoniae*, har stoffet HAMLET en god effekt. En må imidlertid gjøre videre undersøkelser rundt dette.

I tidligere studier har man brukt laboriemodeller med en singel bakteriestamme og studert HAMLETs funksjon. I studiene vi har gjennomført har vi derimot studert effekten av HAMLET på et bakteriesamfunn, noe som enkle bakteriestudiemodeller ikke kan svare på. Våre resultater viser at effekten av HAMLET førte til en økning i probiotiske bakterier, noe som er særlig interessant, da det kan indikere en positiv modulering av mikrobiota.

### Bioinformatikk til analyse av resultatene

– Den første metoden vi brukte er en *ex vivo*-modell, der vi brukte spyttprøver fra ulike donorer. Det er en modell vi kan bruke på mange pasienter, f.eks. på perio- og kariespasienter. Vi kan også bruke modellen for andre typer bakterietilværelser som f.eks. alveolitt, osteomyelitt og liknende tilstander.

I den første studien tok vi spyttprøver fra tre forskjellige donorer for å fremheve forskjellene mellom ulike individers bakterieflora i respons på forskjellige behandlinger. I den andre studien brukte vi spyttprøver fra åtte forskjellige donorer, som vi kombinerte til en samlet prøve. Dette ble gjort for å inkludere et bredere spekter av bakteriearter og øke det biologiske mangfoldet. Vi brukte disse prøvene til å dyrke biofilmen i laboratoriet. Deretter så vi på bakteriesamfunn og hvordan resistente gener endret seg under antibiotika-/HAMLET-behandling.

Den andre metoden er *in vivo*, som er en metode der vi studerte mus. Vi tok prøver fra lunger og fra milten for å se på hvordan immunsystemet blir påvirket, både av antibiotika og av HAMLET.

Vi brukte bioinformatikk for å få oversikt over både resistente gener og for å sammenligne hvilke bakterier som har økt, og hvilke som er blitt borte, i forhold til de ulike

behandlingene. Noen av de enklere analysene utførte jeg selv, mens for de mer avanserte analysene fikk jeg hjelp fra forskningsgruppen vår, som inkluderer blant annet en bioinformatiker, forteller Brar.

### Sett med tannlegens blikk

– Jeg har brukt tannlegekompetansen min i prosjektet, forteller Brar.

– Som kliniker og spesialistkandidat i oral kirurgi og oral medisin ser jeg i hvilke sammenhenger man kan bruke metodene jeg har lært til å studere andre situasjoner også. F.eks. kan det anvendes for å undersøke pasienter med ulike infeksjonstilstander i munnhulen. Enkelte pasienter behandles med antibiotika over lengre tid. Hvordan påvirker lang tids eksponering av antibiotika munnhulens normalflora? Det er mye man kan undersøke videre og prosjektet har stor overføringsverdi, sier Brar.

– Man kan også se på hvordan antibiotikabehandling påvirker de resistente genene i munnhulen, og det gjør det ekstra spennende. Kanskje kan man sortere disse pasientene og se på hvordan både det orale mikrobiomet og resistomet forandrer seg. Dette prosjektet gir mange muligheter for fremtiden ved å kombinere basalfagforskning med klinisk forskning.

Andre problemstillinger kan være å studere hvordan antibiotikabehandling påvirker immunsystemet. For eksempel pasienter som bruker antibiotika over lang tid, kanskje flere måneder, grunnet enkelte infeksjonstilstander – hvordan påvirker det immunsystemet å ta antibiotika over en så lang periode? Man kan også ta prøver før og etter behandling, og se om det påvirker utvikling av resistente gener og om det har oppstått resistensproblematikk.

I vår modell brukte vi antibiotika over kort tid, eksempelvis 24 eller 48 timer. Er det mulig å få kortere intervaller – og er det mulig å bruke antibiotika over kortere tid og med samme resultat? Eller er det også slik at dette kan påvirke resistensutviklingen? Det å bruke antibiotika over færre dager, kortere tid, mindre doser, kan det hjelpe mot antibiotikaresistens?

– Jeg synes arbeidet har vært veldig interessant, og særlig det at jeg fikk muligheten til å jobbe med forskningsgruppen i Lund. Det å ha et internasjonalt samarbeid har vært veldig lærerikt. At jeg har vunnet noen priser har også gitt meg muligheten til å presentere prosjektet mitt for andre. Som forsker blir man mer bevisst og stolt over det

man jobber med når man reiser til konferanser og forteller om sitt eget prosjekt.

– Hvilke priser har du fått?

– Nordic Hatton award og IADR John Gray fellowship

– sistnevnte var et reisestipend og gjorde at jeg fikk muligheten til å reise til Lund, og være der i tre måneder. En ting er å lese om forskningsresultatene til en forskningsgruppe, og noe helt annet er det å få jobbe med dem. Det siste er ekstra spesielt, for da ser man ting fra et annet perspektiv. I tillegg har det vært utrolig givende å jobbe med mitt tverrfaglige team i Norge, som har et stort internasjonalt nettverk med samarbeidspartnere ikke bare i Sverige, men også i USA, India, Brasil og Canada. Forskning kan riktignok gjøres alene, men gjennom dette arbeidet har jeg lært at forskning med tverrfaglige

team er spesielt fascinerende, avslutter Navdeep Kaur Brar som takker for støtte og bidrag fra veiledere og samarbeidspartnere.

## REFERANSER

1. Brar NK, Dhariwal A, Åmdal HA, Junges R, Salvadori G, Baker JL, Edlund A, Petersen FC. Exploring ex vivo biofilm dynamics: consequences of low ampicillin concentrations on the human oral microbiome. NPJ Biofilms Microbiomes. 2024 Apr 2;10(1):37. doi: 10.1038/s41522-024-00507-7. PMID: 38565843; PMCID: PMC10987642.
2. Brar, Navdeep Kaur; Dhariwal, Achal; Shekhar, Sudhanshu; Junges, Roger; Hakansson, Anders P. & Petersen, Fernanda Cristina (2024). HAMLET, a human milk protein-lipid complex, modulates amoxicillin induced changes in an ex vivo biofilm model of the oral microbiome. Frontiers in Microbiology. ISSN 1664-302X. 15. doi: 10.3389/fmicb.2024.1406190.
3. Shekhar, Sudhanshu; Brar, Navdeep Kaur; Håkansson, Anders P. & Petersen, Fernanda Cristina (2023). Treatment of Mouse Infants with Amoxicillin, but Not the Human Milk-Derived Antimicrobial HAMLET, Impairs Lung Th17 Responses. Antibiotics. ISSN 2079-6382. 12(2). doi: 10.3390/antibiotics12020423.



ORIS DENTAL

ORALKIRURGISK KLINIKK

## Velkommen til oralkirurg Hanne K. Ingstad

Hanne har lang erfaring fra både privat praksis og universitets-klinikk. Hun har særlig kompetanse innen oralmedisinske problemstillinger for barn, unge og engstelige pasienter, med fokus på å sikre en trygg og god behandlingsopplevelse.

Vi tilstreber **kort ventetid**. Ta gjerne kontakt per telefon om det haster. Henvisninger kan sendes digitalt via Konekta.



### Oris Dental Oralkirurgisk Klinik

Alt innen oral kirurgi, oral medisin og implantatbehandling

Fridtjof Nansens vei 19, 0369 Oslo  
oralkirurgisk@orisdental.no | 23 19 61 90



### Spesialister i oral kirurgi og oral medisin

Johanna Berstad, Erik Bie, Hauk Øyri  
og Dag Petter Nilsen Tingvoll

### Spesialist i oral protetik

Dr.odont Jørn Aas