

10. september 2009

Metoder til påvisning af AmpC β -laktamaser.

I forbindelse med den nye prævalensundersøgelse af bredspektret β -laktam resistente *E. coli*, *K. pneumoniae* og *P. mirabilis* fra urin og blod i perioden 1. – 31. oktober 2009, som dels vil vurdere den fortsatte ESBL epidemiologi, og dels undersøge mekanismen bag de ca. 40 % screenings positive men konfirmatorisk ESBL-test negative isolater, var der ønske om at få beskrevet nogle metode til påvisning af AmpC β -laktamaser, idet en god del af non-ESBL medieret bredspektret β -laktam resistens må formodes at udgøres af AmpC β -laktamaser.

Analogt til påvisning af ESBL-enzymet ved hæmning af enzymet med clavulansyre påvises AmpC-enzymet ved hæmning af enzymet med borsyre eller cloxacillin. Som test β -laktam anvendes cefoxitin, cefotetan, ceftazidim eller cefotaxim. Som ved ESBL testning synes man at opnå den største sensitivitet ved anvendelse af flere β -lactamer. Fire metoder vil kort blive gennemgået:

- 1) I 2005 beskrev Coudron som en af de første en nem og i et klinisk mikrobiologisk laboratorium anvendelig metode til at påvise AmpC (plasmidbåren) hos *E. coli*, *K. pneumoniae* og *P. mirabilis* ved at måle zonedifferencen mellem cefotetan disk med og uden tilsætning af en borsyre opløsning (JCM 2005;43:4163). En zonedifferencen ≥ 5 mm tolkes som positiv test (bakterien danner AmpC β -laktamase). Efterfølgende er metoden blevet forenklet idet man kan anvende sterilt vand til borsyreopløsningen i stedet for DMSO (FC Tenover JCM 2009; 47: 294). Egne erfaringer er at metoden er nem at anvende og tolke, og at den påviser langt de fleste AmpC-enzymet (fandt dog ikke ACC-1 i februar måneds stammeudsendelse).
- 2) E-test med cefoxitin (FX) og cefotetan (CN) og cloxacillin som hæmmer (I; Inhibitor). Fungerer som ved ESBL E-test, hvor et forhold, her CNI/CN eller FXI/FX, ≥ 8 mellem MIC for antibiotikum med hæmmer og MIC for antibiotikum alene tolkes som en positiv test for AmpC. Fungerer godt men er en af de dyrere test og der er også her problemer med testudfald som er utolkelige pga. en eller flere af MIC værdierne ikke kan aflæses (vækst over/under skalaen).

Prævalensundersøgelse af bredspektret β -laktam resistente *E. coli*, *K. pneumoniae* og *P. mirabilis* fra urin og blod i perioden 1. - 31. oktober 2009

- 3) Rosco tabletter til Dobbelt Disk Synergi test med borsyre og cloxacillin som AmpC-enzym hæmmere og med cefotaxim og ceftazidim som testsubstrater (http://www.rosco.dk/Admin/Public/DWSDownload.aspx?File=%2fFiles%2fFiler%2fsearchable%2fApplication+sheets%2fPlasmid_mediated_AmpC.pdf). Testen er billig, fungerer godt og er meget følsom, men kan også være besværlig idet den optimale afstand mellem tabletterne afhænger af zonestørrelserne og man må derfor ind i mellem må lave testen om til dagen efter. Den store følsomhed giver også ind i mellem falsk positive reaktioner.

Rosco vil iflg. Nyhedsbrev juni 2009 begynde at producere cefotaxime og ceftazidime tabletter med borsyre til anvendelse i kombinations test som pkt.1 ovenfor (svarende til hvad man p.t. har for ESBL detektion med cefotaxime og ceftazidime tabletter med og uden clavulansyre). Denne teknik er tidligere beskrevet af Yagi T et al. (JCM 2005; 43: 2551).

- 4) Mast 4-disk system (Disk A: cefpodoxime (CPD), Disk B: CPD + ESBL-hæmmer, Disk C: CPD + AmpC hæmmer og Disk D: CPD + ESBL og AmpC hæmmer). Testen er en tredobbelt kombinations test hvor ét testsubstrat (CPD) og to enzymhæmmere og kombinationen af disse bliver testet; ESBL-, AmpC- og ESBL og AmpC-producerende bakterier kan identificeres. (http://www.mastgrp.com/catalogue_products_fulldetails.asp?SubProduct_Type=12066&cat=1&product=D68C). Testen synes at fungere udmærket, men testen er ny og der er ikke meget publiceret. Via linket ovenfor kan man finde to postere på firmaets hjemmeside.

NB Vær opmærksom på at KPC (*K. pneumoniae* carbapenemase) også hæmmes af borsyre (men ikke af cloxacillin) og til dels af clavulansyre (lille ikke altid significant hæmning). KPC ses nu rundt omkring på afdelingerne bla. hos patienter som har været i Grækenland.