

Påvisning av karbapenemaser (ESBL_{CARBA}) hos *Pseudomonas aeruginosa*

Bakgrunn

Karbapenemresistente *P. aeruginosa* er ikke uvanlige i Norden. Den årlige EARS-Net rapporten for 2010 viste at mellom 5-10 % av *P. aeruginosa* blodkulturisolater klassifiseres som intermediære eller resistente mot imipenem og/eller meropenem i Norge, Sverige og Danmark. Det har ikke vært noen tendens til økende resistens de seneste årene (1).

Karbapenemresistens hos *P. aeruginosa* kan forårsakes av ulike mekanismer som inkluderer nedsatt permeabilitet (porindefekter), effluksmekanismer og produksjon av overførbare enzymer som hydrolyserer karbapenemer (karbapenemaser). De to førstnevnte kromosomale resistensmekanismene er de klart vanligste årsakene til karbapenemresistens i Norden (2). Disse resistensmekanismene affiserer karbapenemer, men ikke øvrige betalaktamer. Det er altså vanlig at isolat med nedsatt permeabilitet og/eller efflux er sensitive for piperacillin-tazobactam, ceftazidim og cefepim.

Produksjon av overførbare karbapenemaser regnes for å være spesielt klinisk viktig pga samtidig overføring av andre resistensgener på mobile genetiske elementer, samt at denne type av resistens affiserer samtlige betalaktamantibiotika (3). Metallobetalaktamaser (MBL) er de klart vanligst forekommende karbapenemasene hos *P. aeruginosa*, men klasse A karbapenemaser av KPC-type (*Klebsiella pneumoniae* karbapenemase) rapporteres i økende grad internasjonalt også hos *P. aeruginosa*, ffa i Sør-Amerika og Kina (4,5).

Metallobetalaktamaser (MBL) har fått sitt navn etter sin avhengighet av metaller (divalente kationer), vanligvis sink, som ko-faktorer for å kunne utøve sin enzymaktivitet. Den kliniske betydningen er basert på at de finnes hos klinisk viktige gramnegative bakterier og evnen til å inaktivere nærmest hele gruppen av betalaktamantibiotika (penicilliner, cefalosporiner og karbapenemer) med unntak av monobaktamer (aztreonam) (3).

Metallobetalaktamaser (MBL) er strukturelt klassifisert som en Ambler klasse B betalaktamase (6). En ny terminologi basert på en generell bruk av begrepet ESBL (extended-spectrum beta-lactamases) foreslår at ervervede MBL inngår i betegnelsen ESBL_{CARBA} (7). Dette er en samlebetegnelse på betalaktamaser som er i stand til å hydrolysere karbapenemer. Begrepet ESBL_{CARBA} omfatter også den andre hovedgruppen av karbapenemaser hos *P. aeruginosa* – klasse A betalaktamasen KPC, som i motsetning til de fleste andre betalaktamaser i denne Ambler klasse i hovedsak hemmes av borsyre (de andre hemmes av klavulansyre).

Ervervede MBL kan observeres hos både *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., Enterobacteriaceae, samt *Bacteroides fragilis* (3). VIM, IMP og NDM-1 er de vanligste forekommende metallobetalaktamasene hos de tre førstnevnte, men nye varianter beskrives stadig (3). De som fortrinnsvis synes å være av klinisk betydning i Norden hos *P. aeruginosa* er VIM og IMP (8).

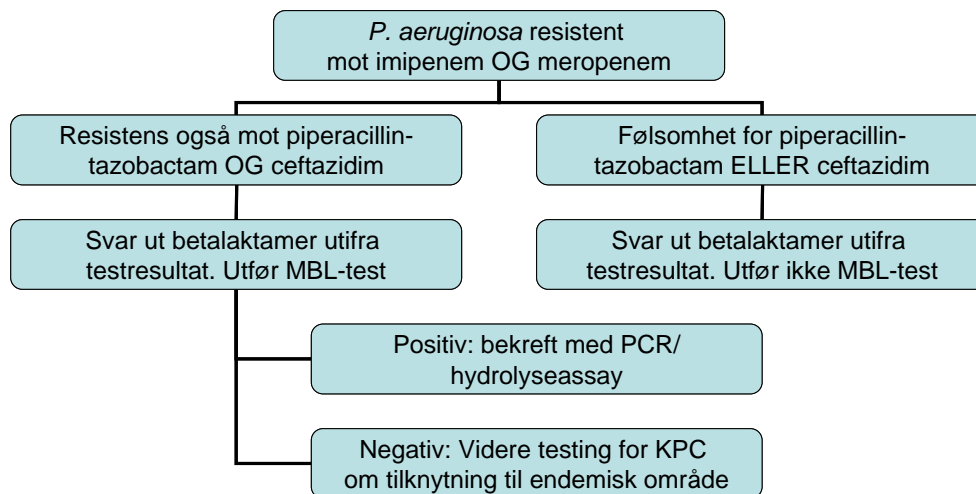
Mekanismer

Den klart viktigste årsaken til karbapenemresistens hos *P. aeruginosa* er nedsatt permeabilitet og efflux. Produksjon av karbapenemaser er altså fortsatt et uvanlig fenomen. Metallobetalaktamaser (MBL) hydrolyserer betalaktamringen og inaktiverer dermed betalaktamer. Det aktive setet hos MBL er tilpasset de aller fleste betalaktamer (med unntak av monobaktamer), hvilket innebærer at de kan inaktiveres. Klinisk viktige MBL som spres blant *P. aeruginosa* kodes av gener som vanligvis er en del av integroner, mobile genetiske element som oftest inneholder flere resistensgener som sammen medierer multiresistens (ofte betalaktamer og aminoglykosider). Det betyr at MBL-produksjon hos *P. aeruginosa* ofte er koblet til multiresistens med begrensede terapeutiske alternativ. Ofte er MBL-produserende stammer kun følsomme for polymyxiner (colistin).

Metode

1) Deteksjon av metallobetalaktamaser

Det finnes ingen optimal fenotypisk metode for påvisning av MBL hos *P. aeruginosa* (9). Nåværende metoder er basert på inhibitorer (EDTA, dipikolinsyre og lignende metallchelatorer) som binder divalente kationer og dermed hemmer MBL-produksjon. Imidlertid vil binding av divalente kationer også påvirke bakterieveggens integritet og permeabilitet og på denne måten kunne gi opphav til egenhemming og falskt positive resultater. Det er derfor viktig at man selekterer *P. aeruginosa*-isolater med nedsatt følsomhet for karbapenemer ut i fra visse kriterier før det utføres MBL-testing. Dette anses særlig viktig under nordiske forhold med lav prevalens av karbapenemaser, der skjærpede kriterier i betydelig grad vil øke testens positive prediktive verdi (9). Anbefalt algoritme for karbapenemasetesting:



Flere in-house metoder er beskrevet og inkluderer en metode som baserer seg på meropenemlapper med og uten dipikolinsyre (10). For de fleste laboratorier er imidlertid kommersielle metoder å foretrekke. Her er for øyeblikket MBL Etest (bioMérieux) den eneste validerte metoden. MBL-produserende isolat har ofte betydelig forhøyde kvoter imipenem/imipenem+EDTA (oftest >16). Positive resultat bør bekreftes med PCR og/eller biokjemisk hydrolyseassay (utføres ved Nasjonal kompetansetjeneste for påvisning av antibiotikaresistens i Tromsø - K-res). Det er viktig å observere at Roscos tabletter for påvisning av karbapenemaser er tilpasset Enterobacteriaceae, og upubliserte data indikerer at de ikke kan anbefales for påvisning av karbapenemaser hos *P. aeruginosa* (Ø. Samuelsen, personlig kommunikasjon).

2) Deteksjon av KPC

KPC skal i hovedsak mistenkes ved høygradig resistens mot samtlige betalaktamer samt negativ MBL-test (se algoritme for karbapenemasetesting). I de fleste situasjoner er en slik fenotype mest forenlig med kromosomale resistensmekanismer, men internasjonale rapporter tyder på at det kan finnes grunn for å lete etter KPC ved anamnese som indikerer tilknytning til endemisk område (f.eks. Sør-Amerika og Kina) (4,5). For øyeblikket finnes ingen kommersiell metode for påvisning av KPC. Roscos diagnostiske tabletter for deteksjon av karbapenemaser hos Enterobacteriaceae kan ikke brukes (Ørjan Samuelsen, personlig kommunikasjon). Derimot har en in-house metode nylig blitt beskrevet, der man på liknende måte som for Enterobacteriaceae bruker kombinasjon av meropenemlapper med kloxacillin og borsyre, men i høyere konsentrasjoner. I følge denne publikasjonen viser metoden både god sensitivitet og spesifisitet (10).

3) Kløverbladtest

Kløverbladtest har god sensitivitet for deteksjon av KPC hos *K. pneumoniae*, men dårlig sensitivitet for deteksjon av MBL (11). Spesifisiteten av metoden er heller ikke optimal (12, 13). Nylig ble en annen stamme (*K. pneumoniae* ATCC 700603 istedet for *E. coli* ATCC 25922) beskrevet som indikatorstamme. Studien viste gode resultater for deteksjon av både KPC og MBL hos *P. Aeruginosa* (14), men det finnes foreløpig ingen nordiske eller europeiske erfaringer med denne metoden. Metoden kan heller ikke skille mellom KPC og MBL.

Tolkning

MBL-produserende *P. aeruginosa* vil på grunn av andre resistensmekanismer/bredspektrede betalaktamaser som oftest være resistente for alle betalaktamer inkludert aztreonam. Endelig SIR-kategorisering for betalaktamer følger testresultatet av diskdiffusjon eller MIC-bestemmelse, slik som for MBL-negative isolat. Ved påvisning av slike stammer hos pasienter på sykehus eller andre institusjoner kan det være aktuelt med forsterkede smitteverntiltak i henhold til nasjonale retningslinjer.

Slike stammer bør besvares med en kommentar. En mulig kommentar kan være: *Påvist overførbart produksjon av særlig bredspektrede betalaktamaser (ESBL_{CARBA}). Smitteverntiltak er aktuelt på sykehus eller sykehjem.*

Referanser

1. European Centre for Disease Prevention and Control. 2010. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2010. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)
2. Giske CG, Buarø L, Sundsfjord A, Wretling B. Alterations of porin, pumps, and penicillin-binding proteins in carbapenem resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Drug Resist.* 2008 Mar;14(1):23-30.
3. Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;36 Suppl 3:S8-14.
4. Cuzon G, Naas T, Villegas MV, Correa A, Quinn JP, Nordmann P. Wide dissemination of *Pseudomonas aeruginosa* producing β -lactamase *bla*_{KPC-2} gene in Colombia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Nov;55(11):5350-3
5. Ge C, Wei Z, Jiang Y, Shen P, Yu Y, Li L. Identification of KPC-2-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in China. *J Antimicrob Chemother.* 2011 May;66(5):1184-6
6. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Mar;54(3):969-76
7. Giske CG, Sundsfjord AS, Kahlmeter G, Woodford N, Nordmann P, Paterson DL, et al. Redefining extended-spectrum β -lactamases: balancing science and clinical need. *J Antimicrob Chemother.* 2009 Jan;63(1):1-4
8. Samuelsen O, Toleman MA, Sundsfjord A, Rydberg J, Leegaard TM, Walder M, et al. Molecular epidemiology of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Norway and Sweden shows import of international clones and local clonal expansion. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Jan;54(1):346-52.
9. Samuelsen O, Buarø L, Giske CG, Simonsen GS, Aasnaes B, Sundsfjord A. Evaluation of phenotypic tests for the detection of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in a low prevalence country. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Apr;61(4):827-30.

10. Pasteran F, Veliz O, Faccone D, Guerriero L, Rapoport M, Mendez T, Corso A. A simple test for the detection of KPC and metallo- β -lactamase carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin. Clin Microbiol Infect. 2011 Sep;17(9):1438-41.
11. Seah C, Low DE, Patel SN, Melano RG. Comparative evaluation of a chromogenic agar medium, the modified Hodge test, and a battery of meropenem-inhibitor discs for detection of carbapenemase activity in Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. 2011 May;49(5):1965-9.
12. Giske CG, Gezelius L, Samuelsen Ø, Warner M, Sundsfjord A, Woodford N. A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo- β -lactamases and KPC in *Klebsiella pneumoniae* with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin. Clin Microbiol Infect. 2011 Apr;17(4):552-6.
13. Pasteran F, Mendez T, Rapoport M, Guerriero L, Corso A. Controlling false-positive results obtained with the Hodge and Masuda assays for detection of class a carbapenemase in species of Enterobacteriaceae by incorporating boronic acid. J Clin Microbiol. 2010 Apr;48(4):1323-32.
14. Pasteran F, Veliz O, Rapoport M, Guerriero L, Corso A. Sensitive and Specific Modified Hodge Test for KPC and Metallo- β - Lactamase Detection in *Pseudomonas aeruginosa* by Use of a Novel Indicator Strain, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. J Clin Microbiol. 2011 Dec;49(12):4301-3.

Dokumentansvarlige

Christian G. Giske (christian.giske@karolinska.se)

Arnfinn Sundsfjord (arnfinn.sundsfjord@uit.no)

Kristian Schønning (Kristian.Schoenning@hvh.regionh.dk)

Endringer

Versjon	Endringer
1.0, 2012-01-01	Nytt dokument