

Oppsummering og analysering av Enterobacteriaceae isolater med kromosomal (cAmpC) eller plasmid-mediert AmpC (ESBL_{M-C}) innsendt til K-res i perioden 2010 - 2012

Ørjan Samuelsen*, Bjørg C. Haldorsen, Bettina Aasnæs og Arnfinn Sundsfjord*.

Kompetansetjeneste for påvisning av antibiotikaresistens (K-res), Avdeling for mikrobiologi og smittevern, Universitetssykehuset Nord-Norge, 9038 Tromsø.

*Kontaktinformasjon: orjan.samuelsen@unn.no (Ø. Samuelsen) eller arnfinn.sundsfjord@uit.no (A. Sundsfjord)

Introduksjon

AmpC β-laktamasen ble beskrevet allerede i 1940 før penicillin ble tatt i klinisk bruk (1). Siden den gang har det blitt identifisert et stadig økende antall AmpC β-laktamaser (2). β-laktamaser klassifiseres gjerne etter deres molekylære eller funksjonelle egenskaper (3). I tillegg finnes det en egen klassifisering av β-laktamaser med ekstendert-spektrum (4). AmpC β-laktamaser tilhører gruppe C i den molekylære klassifiseringen og gruppe 1/1e i den funksjonelle klassifiseringen (2,3). I klassifiseringsmåten for ekstendert-spektrum β-laktamaser (ESBL) innbefattes kun plasmid-medierte AmpC og benevnes ESBL_{M-C} (4). I denne rapporten vil plasmid-medierte AmpC benevnes som ESBL_{M-C} og kromosomal AmpC som cAmpC.

AmpC β-laktamaser finnes iboende lokalisert på kromosomet hos mange Gram-negative bakterier inkludert *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Acinetobacter baumannii*, og *Pseudomonas aeruginosa* (2). I motsetning så har ikke andre vanlige Enterobacteriaceae som *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* og *Salmonella* spp. noen cAmpC. Uttrykket av cAmpC er vanligvis lavt og regulert via forskjellige mekanismer som varierer mellom species. Hos noen Enterobacteriaceae som *Enterobacter* spp. og *P. aeruginosa* kan uttrykket av cAmpC bli induisert av β-laktamer (2). Den induserbare effekten varierer mellom de forskjellige β-laktamene (2). Et stabilt forhøyet uttrykk av cAmpC er vanlig forekommende hos *Enterobacter* spp (5). Monoterapi med penicilliner eller cefalosporiner anbefales derfor ikke selv om resistenstesting indikerer følsomhet (Nasjonale retningslinjer for bruk av antibiotika i sykehus, 2013). I motsetning er ikke cAmpC hos *E. coli* induserbar. Her blir uttrykket regulert gjennom andre mekanismer. Økt uttrykk av cAmpC hos *E. coli* er forårsaket av mutasjoner i promoter- eller attenuator-regionen som fører til en mer effektiv promoter (6). I tillegg kan uttrykket av cAmpC økes ved at IS-elementer med en sterk promoter setter seg inn foran cAmpC og styrer uttrykket av genet (6).

ESBL_{M-C} er cAmpC som er blitt mobilisert fra sine kromosomale opphav, og dermed kan spres mellom bakterier på mobile genetiske elementer som plasmider (2). ESBL_{M-C} genene stammer fra bakterier med cAmpC og for eksempel *bla*_{CMY-2} stammer mest sannsynligvis fra *C. freundii*, mens *bla*_{DHA-1} stammer sannsynligvis fra *M. morganii* (2). Basert på aminosyre sekvens kan ESBL_{M-C} deles inn i forskjellige grupper (CMY, FOX, ACC, LAT, MIR, ACT, MOX, BIL og DHA) og innenfor hver gruppe kan det være flere varianter (2). Globalt sett så er CMY-2 den mest utbredte ESBL_{M-C}. Generelt er ESBL_{M-C} genene konstant uttrykt, mens noen ESBL_{M-C} (ACT-1, DHA-1, DHA-2 og CMY-13) har vist seg å være induserbare (2). Høyt kopitall av plasmider som bærer på et ESBL_{M-C} gen kan også øke mengden av

uttrykt enzym. Plasmider med ESBL_{M-C} kan også bære på gener som koder for resistens mot andre antibiotikagrupper som for eksempel aminoglykosider, og multiresistens er mer vanlig hos *E. coli* med ESBL_{M-C} enn hos *E. coli* med cAmpC (7), men det er vist at multiresistens ikke kan benyttes som en fenotypisk markør for å skille mellom ESBL_{M-C} og cAmpC (7).

Når det gjelder den enzymatiske aktiviteten til AmpC β-laktamaser så omfatter den aktivitet mot penicilliner, 1-3. generasjons cefalosporiner inkludert cefamyciner (cefoxitin). Aktiviteten mot 4. generasjons cefalosporiner (cefepime), monobaktamer (aztreonam), og karbapenemer er svært lav (2). AmpC β-laktamaser hemmes ikke i vesentlig grad av tradisjonelle klasse A β-laktamase hemmere som klavulansyre og tazobaktam, men inhiberes av cloxacillin og borsyre. Unntaket er DHA som normalt også hemmes av tazobaktam (8,9). I hovedsak så er aktiviteten mellom cAmpC og ESBL_{M-C} like, men aktiviteten til ESBL_{M-C} enzymet ACC-1 er uvanlig med lav aktivitet mot cefoxitin (2).

Påvisning av AmpC β-laktamaser hos Enterobacteriaceae baserer seg på aktiviteten mot 3. generasjons cefalosporiner (cefotaxime og ceftazidime) og cefamyciner (cefoxitin). NordicAST anbefaler at isolater som er resistent mot cefotaxime og/eller ceftazidime og resistent mot cefoxitin bør undersøkes for tilstedeværelse av ESBL_{M-C} (Brytningspunkttabell NordicAST v. 3.0). Videre testing inkluderer fenotypiske tester som kombinasjonsgradienttester eller lapper/tabletter hvor β-laktamer er kombinert med inhibitorene borsyre eller kloxacillin. Isolater som viser synergi bør videre undersøkes med molekylære metoder for påvisning av ESBL_{M-C}. Molekylære metoder er ikke nødvendige for species som *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, og *Salmonella* spp. som ikke har en iboende cAmpC. De vanligste molekylære metodene for påvisning av ESBL_{M-C} er multiplex PCR som dekker de vanligste ESBL_{M-C} genene (10,11). Selv om ESBL_{M-C} er assosiert med multiresistens, kan ikke dette benyttes som et screening kriterium alene da en betydelig andel isolater med ESBL_{M-C} ikke er multiresistente (7).

Formål

I samråd med referansegruppen for K-res ble det høsten 2012 bestemt at K-res skulle endre sine prioriterte undersøkelser og avslutte den tidligere analyseringen av isolater med mistanke om ESBL_{M-C} (plasmid-mediert AmpC). I stedet skal K-res utføre molekylær karakterisering med hensyn på ESBL_{M-C} via NORM på samme måte som karakteriseringen av ESBL_A isolater. Formålet med denne rapporten er å gjøre en oppsummering av resultatene fra analyseringen av innsendte isolater med mistanke om ESBL_{M-C} i perioden 2010-2012.

Material og metode

Stammematerialet i denne rapporten er satt sammen av analyserte isolater av *E. coli*, *K. pneumoniae* og andre Enterobacteriaceae (*P. mirabilis* og *Salmonella* spp.) innsendt til K-res i perioden 2010 – 2012. Innsendingskriteriene for perioden 2010-2012 finnes i vedlegg 1. Alle isolater med konklusjonen ESBL_{M-C} eller kromosomal AmpC (cAmpC) er tatt med i analyseringen. Resultatene baserer seg på den rutinemessige analyseringen av isolater ved K-res. Dette inkluderer en bred MIC-profil for β-laktamer, fenotypiske tester (AmpC Etest, BioMerieux og ROSCO AmpC Confirm ID kit) og molekylære analyser. cAmpC hos *E. coli* ble definert som negativ PCR for ESBL_{M-C}, positiv fenotypisk test for AmpC-produksjon og cefoxitin MIC > 8mg/L.

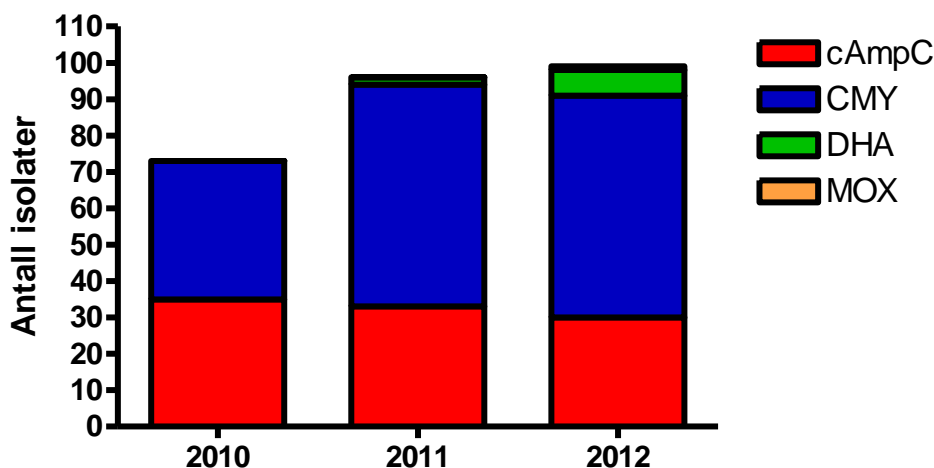
Resultater og diskusjon

Escherichia coli

Totalt ble det i perioden 2010 – 2012 identifisert 268 *E. coli* isolater med konklusjonen cAmpC eller ESBL_{M-C}. Figur 1 og Tabell 1 viser fordelingen av cAmpC og ESBL_{M-C} i perioden. ESBL_{M-C} er skilt inn i hovedgruppene CMY, DHA og MOX. For 2010 var det en tilnærmet lik fordeling mellom cAmpC og ESBL_{M-C}, mens for 2011 og 2012 representerte ESBL_{M-C} 65-70% av analyserte isolater. I perioden var det en økning av andelen ESBL_{M-C} hvert år i forhold til cAmpC. Det er viktig i denne sammenheng å merke seg kriteriene for innsending av isolater til K-res i perioden (Vedlegg 1). Kravet om multiresistens kan ha hatt betydning for denne fordelingen. CMY var den dominerende ESBL_{M-C} varianten identifisert i totalt 94 % av isolatene med ESBL_{M-C}. DHA ble identifisert i 5.3 % av isolatene med ESBL_{M-C}, mens MOX kun ble identifisert i ett isolat. Ingen isolat ble identifisert med mer enn en ESBL_{M-C}. Dette stemmer overens med den globale situasjonen (2), nylige resultater fra Sverige (7) og tidligere norske resultater (12).

Tabell 1. Fordeling av cAmpC og ESBL_{M-C} blant innsendte *E. coli* isolater perioden 2010 – 2012.

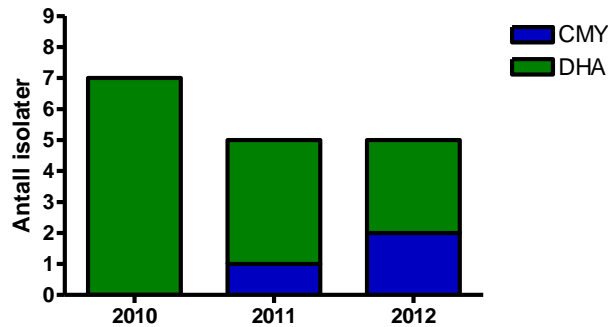
	Antall isolater (%)			Totalt 2010-2012
	2010	2011	2012	
cAmpC	35 (47.9 %)	33 (34.4 %)	30 (30.3 %)	98 (36.6 %)
ESBL _{M-C}	38 (52.1 %)	63 (65.6 %)	69 (69.7 %)	170 (63.4 %)
Totalt	73	96	99	268



Figur 1. Fordeling av cAmpC og ESBL_{M-C} blant innsendte *E. coli* isolater perioden 2010 – 2012.

Klebsiella pneumoniae

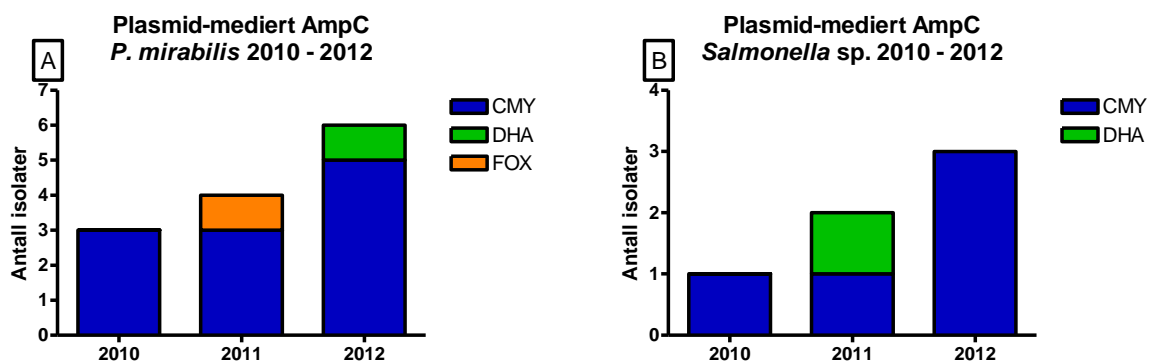
K. pneumoniae har som nevnt ingen iboende cAmpC. Fenotypisk påvisning av AmpC produksjon hos *K. pneumoniae* er derfor forenelig med ESBL_{M-C}. Totalt for perioden 2010 – 2012 ble ESBL_{M-C} identifisert i 17 *K. pneumoniae* isolater. Fordeling av forskjellige ESBL_{M-C} varianter er presentert i Figur 2. I motsetning til *E. coli* var DHA den dominerende ESBL_{M-C} varianten (14 isolater) blant *K. pneumoniae* isolater etterfulgt av CMY (3 isolater). Ingen isolater ble identifisert med både DHA og CMY.



Figur 2. Fordeling av ESBL_{M-C} blant innsendte *K. pneumoniae* isolater i perioden 2010 – 2012.

Andre Enterobacteriaceae

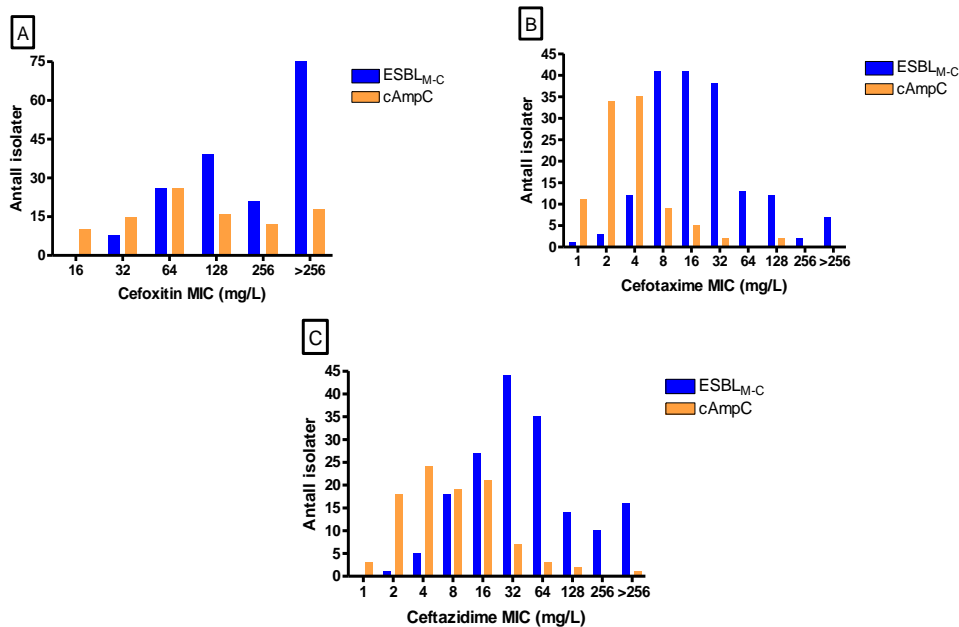
I likhet med *K. pneumoniae* har ikke *P. mirabilis* og *Salmonella* sp. noen iboende cAmpC. I perioden 2010 – 2012 ble ESBL_{M-C} identifisert hos *P. mirabilis* (13 isolater) og *Salmonella* sp. (6 isolater). Fordeling av forskjellige ESBL_{M-C} varianter hos *P. mirabilis* og *Salmonella* sp. er presentert i Figur 3. I likhet med *E. coli* var CMY den dominerende ESBL_{M-C} varianten.



Figur 3. Fordeling av ESBL_{M-C} blant innsendte *P. mirabilis* (A) og *Salmonella* sp. (B) isolater i perioden 2010 – 2012.

MIC distribusjoner

MIC data for cefoxitin, cefotaxime og ceftazidime ble samlet for alle isolatene og analysert for *E. coli* og *K. pneumoniae*. Hos *E. coli* ble MIC distribusjonene sammenlignet mellom ESBL_{M-C} og cAmpC (Figur 4 og Tabell 2-4). For både cefoxitin, cefotaxime og ceftazidime er det en tendens til at MIC verdiene er gjennomgående høyere for isolater med ESBL_{M-C} enn for isolater med cAmpC, men forskjellene er for små til at dette kan brukes til å skille cAmpC og ESBL_{M-C}.



Figur 4: MIC distribusjon for cefoxitin (A), cefotaxime (B) og ceftazidime (C) blant *E. coli* isolater med ESBL_{M-C} eller cAmpC.

Tabell 2: Fordeling av MIC verdier for cefoxitin mellom ESBL_{M-C} og cAmpC hos *E. coli*.

	MIC (mg/L) ^a					
	16	32	64	128	256	>256
ESBL _{M-C}		8	26	39	21	76
cAmpC	10	15	26	16	12	18

^a Villtype cefoxitin MIC for *E. coli*: ≤ 8 mg/L (EUCAST brytningspunkttabell v. 3.1)

Tabell 3: Fordeling av MIC verdier for cefotaxime mellom ESBL_{M-C} og cAmpC hos *E. coli*.

	MIC (mg/L) ^a									
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	>256
ESBL _{M-C}	1	3	12	41	41	38	13	12	2	7
cAmpC	11	34	35	9	5	2		2		

^a Brytningspunkter cefotaxime: S≤1 og R>2 (NordicAST brytningspunkttabell v. 3.0).

Tabell 4: Fordeling av MIC verdier for ceftazidime mellom ESBL_{M-C} og cAmpC hos *E. coli*.

	MIC (mg/L) ^a									
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	>256
ESBL _{M-C}		1	5	18	27	44	35	14	10	16
cAmpC	3	18	24	19	21	7	3	2		1

^a Brytningspunkter ceftazidime: S≤1 og R>4 (NordicAST brytningspunkttabell v. 3.0).

For cefotaxime og ceftazidime så var det henholdsvis 12 og 3 isolater som var helt følsomme etter gjeldende brytningspunkter (Brytningspunkttabell NordicAST v. 3.0). Videre var 37 og 48 isolater intermediær følsomme for henholdsvis cefotaxime og ceftazidime. Hovedvekten av disse isolatene (90%) hadde fått konklusjonen cAmpC. Disse resultatene er i overensstemmelse med resultater fra Sverige (7) og tidligere norske resultater (6,12).

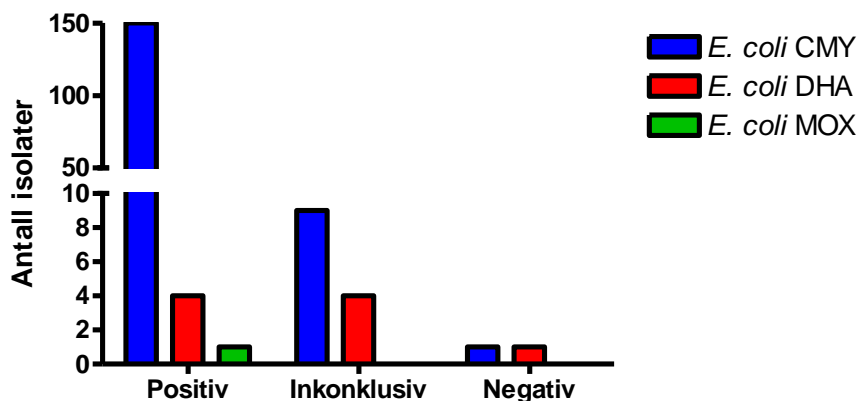
For *K. pneumoniae* hadde alle ESBL_{M-C} isolatene en MIC verdi for ceftaxitin ≥ 64 mg/L. Alle isolatene var også resistente mot cefotaxime og ceftazidime med unntak at ett isolat som var intermediært følsomt for cefotaxime.

Samlet viser dette at gjeldene kriterier fra NordicAST (resistens mot cefotaxime og/eller ceftazidime og resistens mot ceftaxitin) for undersøkelse av tilstedeværelse av ESBL_{M-C} er hensiktsmessige. Dette vil redusere antall isolater som undersøkes for ESBL_{M-C} med molekylære metoder. Det er verdt å merke seg at i en annen studie så er det vist at ved MIC testing med Etest var det flere isolater som ikke ble resistent mot cefotaxime og/eller ceftazidime enn med lappediffusjon (7).

Deteksjonsmetoder

To forskjellige inhibitor-baserte tester ble benyttet i analyseringen av isolatene; (i) AmpC Etest og (ii) ROSCO AmpC confirm ID kit. AmpC Etesten består av en cefotetan gradient på den ene siden og en cefotetan gradient med kloxacillin på den andre siden. En positiv ratio på ≥ 8 , deformert ellipse eller fantomsone angir positiv test. ROSCO AmpC testen består av cefotaxime (CTX), cefotaxime+borsyre (CTX-CTXBO), cefotaxime+kloxacillin (CTX-CTXCX), ceftazidime (CAZ), ceftazidime+borsyre (CAZ-CAZBO) og ceftazidime+kloxacillin (CAZ-CAZCX) tabletter. Positiv test indikeres med en positiv ratio ≥ 5 mm mellom antibiotikum alene sammenlignet med antibiotikum+inhibitor. Testenes egenskaper er analysert i forhold til deteksjon av ESBL_{M-C}. Det er viktig å ta hensyn til at en negativ kontroll gruppe med kjente negative isolater ikke er benyttet i forhold til vurdering av resultatene.

Resultatene for AmpC Etest for *E. coli* er presentert i Figur 5. 91.2 % av isolatene var positiv med AmpC Etest. To isolater (1.2 %) med henholdsvis DHA og CMY var negativ med AmpC Etest. Begge disse isolatene hadde en ratio på 4. I tillegg var det 13 isolater (7.6 %) med inkonklusiv test.



Figur 5. AmpC Etest resultater for *E. coli* isolater med ESBL_{M-C}.

For *K. pneumoniae* gjør det begrensede antall ESBL_{M-C} isolater ($n=17$) vanskelig å konkludere med hensyn til AmpC-testegenskaper. Ett DHA-positivt isolat testet negativt med AmpC Etest. Videre hadde 3 isolater en inkonklusiv AmpC Etest.

Resultatene med ROSCO AmpC Confirm ID kit for *E. coli* er presentert i Tabell 5. Antallet isolater som ble testet med denne testen var mindre enn med AmpC Etesten da denne ble tatt i bruk høsten 2011. Ingen isolater testet negativt på alle tester. Ceftazidime kombinert med borsyre og kloxacillin viste de beste resultatene med henholdsvis kun 1 og 2 isolater som testet negativt. Tidligere evaluering av ROSCO AmpC Confirm ID kit viser tilsvarende resultater (13,14).

Tabell 5: Fordeling av test resultater (positivt/negativt) med ROSCO AmpC Confirm ID kit for *E. coli* isolater med ESBL_{M-C}.

	CTX-CTXCX		CTX-CTXBO		CAZ-CAZCX		CAZ-CAZBO	
	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
<i>E. coli</i> CMY	61	8 (12 %)	62	7 (10 %)	68	1 (1.5 %)	68	1 (1.5 %)
<i>E. coli</i> DHA	6	2 (25 %)	4	4 (50 %)	8	0	8	0
<i>E. coli</i> MOX	1	0	1	0	0	1 (100 %)	1	0

For *K. pneumoniae* var det bare 5 isolater som ble testet med ROSCO AmpC Confirm ID kit. Ett CMY-positivt *K. pneumoniae* isolat var testet negativt for alle kombinasjonene.

Konklusjon

ESBL_{M-C} ble i perioden 2010-2012 identifisert i 63.4 % blant innsendte *E. coli* isolater. Andelen ESBL_{M-C} i forhold til cAmpC var økende hvert år (52.1 % - 65.6 % - 69.7 %). Antall isolater med ESBL_{M-C} blant *K. pneumoniae* og andre Enterobacteriaceae i perioden var lavt. CMY var den dominerende ESBL_{M-C} blant *E. coli*, *P. mirabilis* og *Salmonella* spp., mens DHA var den mest vanlig forekommende blant *K. pneumoniae*. Evaluering av gjeldene kriterier for screening for ESBL_{M-C} viste at majoriteten av isolatene er resistente mot enten cefotaxim eller ceftazidime. De fleste av isolatene med nedsatt følsomhet for cefotaxime eller ceftazidime var cAmpC og PCR negative for ESBL_{M-C}. Alle isolater hadde en cefoxitin MIC >8 mg/L som er gjeldende screeningsbrytningspunkt. Det var en klar tendens til høyere cefoxitin MIC for isolater med ESBL_{M-C} sammenlignet med cAmpC isolater. De fenotypiske metodene viste god sensitivitet i forhold til deteksjon av ESBL_{M-C}. ROSCO's AmpC Confirm ID kit detekterte alle *E. coli* isolater med ESBL_{M-C} hvis resultatet fra alle tabletter benyttes. AmpC Etesten viste noe lavere sensitivitet på grunn av at flere isolater kom ut med et inkonklusivt test resultat.

Takk

K-res ønsker å takke alle laboratorier for innsendte isolater og godt samarbeid.

Referanseliste

1. **Abraham, E. P. and E. Chain.** 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature Dec.* **28**:837.
2. **Jacoby, G. A.** 2009. AmpC β -lactamases. *Clin.Microbiol.Rev.* **22**:161-82.
3. **Bush, K.** 2013. The ABCD's of β -lactamase nomenclature. *J.Infect.Chemother.* **19**:549-59.
4. **Giske, C. G., A. S. Sundsfjord, G. Kahlmeter, N. Woodford, P. Nordmann, D. L. Paterson, R. Canton, and T. R. Walsh.** 2009. Redefining extended-spectrum β -lactamases: balancing science and clinical need. *J.Antimicrob.Chemother.* **63**:1-4.
5. **Nilsen, E., B. C. Haldorsen, A. Sundsfjord, G. S. Simonsen, A. Ingebretsen, U. Naseer, and O. Samuelsen.** 2013. Large IncHI2-plasmids encode extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in *Enterobacter* spp. bloodstream isolates, and support ESBL-transfer to *Escherichia coli*. *Clin.Microbiol.Infect.* Epub. ahead of print May 24.
6. **Haldorsen, B., B. Aasnaes, K. H. Dahl, A. M. Hanssen, G. S. Simonsen, T. R. Walsh, A. Sundsfjord, and E. W. Lundblad.** 2008. The AmpC phenotype in Norwegian clinical isolates of *Escherichia coli* is associated with an acquired *ISEcp1*-like *ampC* element or hyperproduction of the endogenous AmpC. *J.Antimicrob.Chemother.* **62**:694-702.
7. **Edquist, P., M. Ringman, B. O. Liljequist, K. T. Wisell, and C. G. Giske.** 2013. Phenotypic detection of plasmid-acquired AmpC in *Escherichia coli* - evaluation of screening criteria and performance of two commercial methods for the phenotypic confirmation of AmpC production. *Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis.* **32**:1205-10.
8. **Power, P., M. Galleni, J. A. Ayala, and G. Gutkind.** 2006. Biochemical and molecular characterization of three new variants of AmpC β -lactamases from *Morganella morganii*. *Antimicrob.Agents Chemother.* **50**:962-967.
9. **Livermore, D. M.** 1995. β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin.Microbiol.Rev.* **8**:557-584.
10. **Brolund, A., K. T. Wisell, P. J. Edquist, L. Elfstrom, M. Walder, and C. G. Giske.** 2010. Development of a real-time SYBRGreen PCR assay for rapid detection of acquired AmpC in Enterobacteriaceae. *J.Microbiol.Methods* **82**:229-233.
11. **Philippon, A., G. Arlet, and G. A. Jacoby.** 2002. Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrob.Agents Chemother.* **46**:1-11.
12. **Naseer, U., B. Haldorsen, G. S. Simonsen, and A. Sundsfjord.** 2010. Sporadic occurrence of CMY-2-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* of ST-complexes 38 and 448, and ST131 in Norway. *Clin.Microbiol.Infect.* **16**:171-178.
13. **Wolden R, Haldorsen, B., Sundsfjord, A., and Samuelsen, Ø.** Evaluation of ROSCO disks for the detection of increased AmpC expression in *Escherichia coli*. 28th Annual Meeting of the Scandinavian Society for Antimicrobial Chemotherapy Reykjavik, Island. 2011.
14. **Hansen, F., A. M. Hammerum, R. L. Skov, C. G. Giske, A. Sundsfjord, and O. Samuelsen.** 2012. Evaluation of ROSCO Neo-Sensitabs for phenotypic detection and subgrouping of ESBL-, AmpC- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *APMIS* **120**:724-732.

Vedlegg 1. Kriterier for innsending av isolater med mistanke om ESBL_{M-C}-produksjon til K-res i perioden 2010-2012

2010:

(i) *E. coli* med mistanke om plasmidmediert AmpC-produksjon

Kriterier: Isolater med resistens mot cefotaxim og ceftazidim som ikke skyldes ESBL-produksjon og er i kombinasjon med multiresistens. Multiresistens defineres her som resistens mot 2 av de 3 følgende antibiotikagruppene (a) Aminoglykosider (gentamicin og/eller tobramycin), (b) Fluorokinoloner (ciprofloxacin), (c) Trimetoprim-sulfa.

Slike stammer vil bli undersøkt med en multiplex-PCR for påvisning av plasmidmedierte *bla*AmpC.

(ii) *Klebsiella species* med mistanke om plasmidmediert AmpC-produksjon

Kriterier: Isolater med resistens mot cefotaxim og ceftazidim som ikke skyldes ESBL-produksjon.

2011:

(i) *E. coli* med mistanke om plasmidmediert AmpC-produksjon

Kriterier: Isolater med resistens mot både cefotaxim (MIC > 2 mg/L) og ceftazidim (MIC > 4 mg/L) som ikke skyldes ESBL-produksjon og er i kombinasjon med multiresistens. Multiresistens defineres her som resistens mot 2 av de 4 følgende antibiotikagruppene (a) Aminoglykosider (gentamicin og/eller tobramycin), (b) Fluorokinoloner (ciprofloxacin), (c) Trimetoprim-sulfa (d) Nitrofurantoin. Det er en tendens til at *E. coli* stammer med plasmidmediert AmpC-produksjon har høyere cefotaxim og ceftazidim MIC og høyere forekomst av multiresistens sammenlignet med isolater med forhøyet kromosomal AmpC-produksjon (Haldorsen B. *et al.* J. Antimicrob. Chemother. 2008 og Naseer U. *et al.* Clin. Microbiol. Infect. 2010).

(ii) *Klebsiella, Proteus* og *Salmonella species* med mistanke om plasmidmediert AmpC-produksjon

Kriterier: Disse bakterieartene har ikke kromosomal AmpC-produksjon og hos isolater med resistens mot cefotaxim og ceftazidim som ikke skyldes ESBL-produksjon må det derfor mistenkes plasmidmediert AmpC.

2012:

(i) *E. coli* med mistanke om plasmidmediert AmpC-produksjon.

Kriterier: Isolater med resistens mot både cefotaksim (MIC > 2 mg/L) og ceftazidim (MIC > 4 mg/L) som ikke skyldes ESBL-A-produksjon, og er i kombinasjon med multiresistens. Multiresistens defineres her som resistens mot to av de fire følgende antibiotikagruppene (a) Aminoglykosider (gentamicin og/eller tobramycin), (b) Fluorokinoloner (ciprofloxacin), (c) Trimetoprim-sulfa (d) Nitrofurantoin. Det er en tendens til at *E. coli*-stammer med plasmidmediert AmpC-produksjon har høyere cefotaksim- og ceftazidim-MIC og høyere forekomst av multiresistens sammenlignet med isolater med forhøyet kromosomal AmpC-produksjon (Haldorsen B. *et al.* J. Antimicrob. Chemother. 2008 og Naseer U. *et al.* Clin. Microbiol. Infect. 2010).

(ii) *Klebsiella, Proteus* og *Salmonella species* med mistanke om plasmidmediert AmpC-produksjon.

Kriterier: Disse bakterieartene har ikke kromosomal AmpC-produksjon, og hos isolater med resistens mot cefotaksim og ceftazidim som ikke skyldes ESBL-A-produksjon, må det derfor mistenkes plasmidmediert AmpC. Stammer med derepressert AmpC-produksjon skyldes mutasjoner i regulerings-mekanismer for uttrykk av AmpC og påvises med standard resistensmetoder med I/R for cefotaksim og/eller ceftazidim.