

## &gt; AKADEMISKE AFHANDLINGER

*Oana Ciofu:***Pseudomonas aeruginosa chromosomal  $\beta$ -lactamase in patients with cystic fibrosis and chronic lung infection**

Mechanism of antibiotic resistance and target of the humoral immune response

Disputatsen er udført under ansættelse ved Institut for Medicinsk Mikrobiologi og Immunologi, Panum Institutet. Den er baseret på ni publicerede artikler og er en videreudførelse af ph.d.-afhandlingen fra 1996: »Chromosomal  $\beta$ -lactamase of *Pseudomonas aeruginosa*. Occurrence and significance in serum and respiratory secretions from patients with cystic fibrosis and chronic *P. aeruginosa* lung infection«.

Resistensudvikling over for anti-pseudomonal antibiotika er en af ulemperne ved den aggressive antibiotikabehandling af patienter med cystisk fibrose (CF) og kronisk lungeinfektion med *P. aeruginosa*.

Formålet med arbejdet har været at undersøge betydningen af  $\beta$ -lactamase som resistensmekanisme over for  $\beta$ -laktamantibiotika, samt betydningen af patienternes antistofdannelse mod bakteriernes  $\beta$ -lactamase.

En sammenhæng mellem resistensudvikling over for  $\beta$ -laktamantibiotika og fremkomsten af høj- $\beta$ -lactamaseproducerende stammer blev fundet. Der blev også påvist, at høj-alginatproducerende *P. aeruginosa*-isolater, som er et karakterisk fund hos CF-patienter med kronisk lungeinfektion, er mere følsomme over for antibiotika og producerer mindre  $\beta$ -lactamase end de parvis non-mukoide isolater. Det blev også påvist, at  $\beta$ -lactamase, et periplasmisk protein, kan udskilles ekstracellulært indpakket i membranvesikler, som frigøres af høj- $\beta$ -lactamaseproducerende *P. aeruginosa*.

Det humorale immunologiske respons mod  $\beta$ -lactamase blev undersøgt ved at måle  $\beta$ -lactamasespecifikke IgG- og IgG-subklasseantistoffer ( $\alpha\beta$ ab), ved at undersøge allotypernes indflydelse på  $\alpha\beta$ ab-IgG-subklassefordeling og ved at måle aviditeten af IgG- $\alpha\beta$ ab. Overraskende blev der fundet, at patienter med god lungefunktion tidligt i forløbet af den kroniske infektion havde højere  $\alpha\beta$ ab-titre af bedre aviditet end patienter med dårlig lungefunktion. Dette førte frem til hypotesen, at  $\alpha\beta$ ab har en positiv gavnlige effekt for CF-patienter, fordi nogle  $\alpha\beta$ ab kan hæmme  $\beta$ -lactamaseaktiviteten og derfor kan forbedre  $\beta$ -laktamantibiotikas virkning. Hypotesen blev afprøvet i en rottemodel af kronisk lungeinfektion ved at vurdere effekten af  $\beta$ -lactamaseimmunisering på behandlingen med  $\beta$ -laktamantibiotika af resistente *P. aeruginosa*-stammer. Resultaterne har vist, at rotterne, som havde  $\alpha\beta$ ab med  $\beta$ -lactamasehæmmende aktivitet, havde lavere bakterietal og mindre patologiske forandringer i lungerne i forhold til ikke-

vaccinerede rotter eller rotter uden  $\beta$ -lactamasehæmmende  $\alpha\beta$ ab. Dette fund kan have betydning for forbedring af behandling med  $\beta$ -laktamantibiotika af høj- $\beta$ -lactamaseproducerende, resistente *P. aeruginosa*-stammer, som udgør en trussel især for CF-patienter med kronisk lungeinfektion.

Forf.s adresse: Panum Institutet, IMMI, 24.1, Blegdamsvej 3, DK-2200 København N.

E-mail: O.Ciofu@immi.ku.dk eller oanaciofu@dadlnet.dk

Forsvaret finder sted den 5. december 2003, kl. 14.00, Dam Auditoriet, Panum Institutet.

Opponent: Niels Frimodt-Møller, Hans Jørn Kolmos og Peter Skinhøj.

*Anne Lis Mikkelsen:***Clinical aspects of in vitro maturation of human ova**

Doktordisputatsen udgøres af ni tidligere publicerede arbejder og en sammenhængende oversigt. Forskningsarbejdet er udført i perioden 1997-2000 under min ansættelse på Gynækologisk Obstetrisk Afdeling G, Amtssygehuset i Herlev.

Studierne blev iværksat med henblik på at optimere metoden til in vitro-modning (IVM) af humane æg. Denne modning omfatter såvel kernemodning som cytoplasmatisk modning. Kernemodning registreres ved påvisning af metafase II-æg, cytoplasmatisk modning ved æggets evne til fertilisering, deling og efter tilbageførsel til kvinden udvikling til levende foster og fødsel af barn.

Umodne æg blev udtaget ultralydvejledt, transvaginalt fra 2-10 mm store follikler og efterfølgende modnet in vitro i 28-36 timer. Modningsmediet blev tilsat r-FSH og hCG samt maternelt serum (10%). Ved tilsætning af humant serumalbumin i stedet for serum kunne graviditeter ikke opnås. Metafase II-æg blev fertiliseret ved mikroinjektion, og befrugtede æg (maks. to æg) tilbageført til kvinden.

Metoden blev undersøgt hos to grupper af par henvist til reagensglasbehandling på fertilitetsklinikken: 1. Par med nedsat sædkvalitet hos manden og/eller ødelagte æggeledere hos i øvrigt normale kvinder. 2. Kvinder med polycystisk ovariesyndrom (PCOS) og risiko for ovarie hyperstimulationssyndrom under hormonstimulation.

Kort forbehandling med FSH øger ikke modnings-, fertiliserings-, delings- eller graviditetsraten hos regelmæssigt menstruerende kvinder med normale ovarier, hvorimod tre dages forbehandling med FSH øger modnings- og graviditetsrate hos kvinder med PCOS. Hos kvinder med normale ægestokke, hvor æg udtages i ustimulerede cykler, blev opnået graviditetsrate på 13% pr. ægudtagning og 18% pr. oplægning. Ved yderligere finpudsning af metoden kan graviditetsraten øges til 24% pr. ægudtagning og 33% pr. ægoplægning. Således har antallet af follikler i ovarier og hormonmålinger dag 3