

Betalaktamresistens hos *Haemophilus influenzae*

Dagfinn Skaare

Göteborg 26 mai 2014

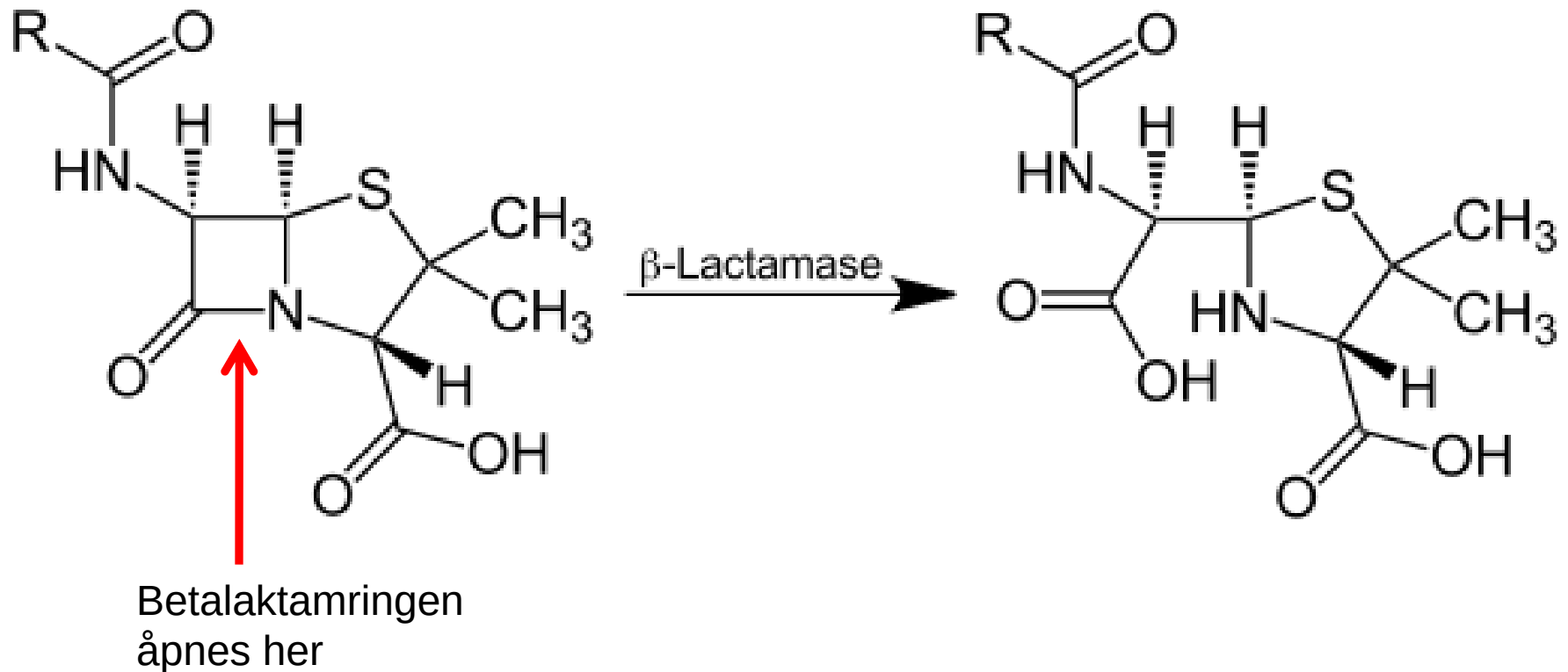
Agenda

- Mekanismer
- Deteksjon
- Kvantitering

Betalaktamase

- Enzymer (TEM-1, ROB-1)
- Gener overføres med **plasmider**
- Deaktiverer **penicilliner** ved hydrolyse av betalaktamringen
- **Høygradig** resistens
- Hemmes av betalaktamasehemmere (klavulansyre, tazobactam, sulbaktam)

Betalaktamase



Påvisning av betalaktamase

Tabell. Oppsummering av mikrobepesifikke anbefalinger.



Mikrobe	Sonekant	Kløverblad	Acidimetri	Iodometri	Kromogent cefalosporin
<i>Staphylococcus aureus</i>	++	++	+	+	+ (a)
Koagulase negative stafylokokker (b)	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> (c)	-	IE	++	++	++
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	++	++	+	++
<i>Moraxella catarrhalis</i> (c)	-	IE	-	-	++
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-	++	++	+	++
<i>Neisseria meningitidis</i>	-	IE	IE	IE	++

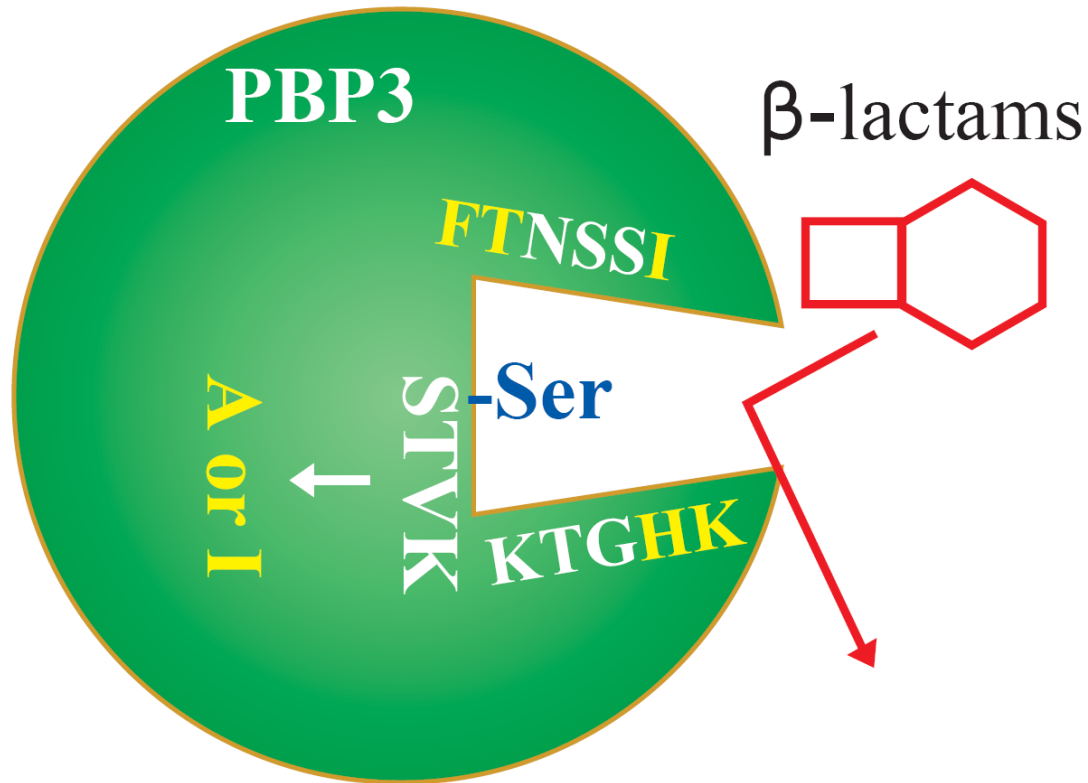
++ Anbefalt metode + Alternativ metode - Anbefales ikke IE Dokumentasjon mangler

(a) Kun positivt resultat kan tillegges vekt (b) Testing frarådes (c) Testes ikke rutinemessig

PBP3-mediert resistens

- **Kromosomal** mekanisme
DNA mutasjoner → aminosyresubstitusjoner
- Redusert affinitet betalaktam $\leftrightarrow$ PBP3
- Påvirker **alle betalaktamer** (unntatt karbapenemer?)
- **Variierende** resistensuttrykk
- Ingen hemmere finnes

PBP3-mediert resistens

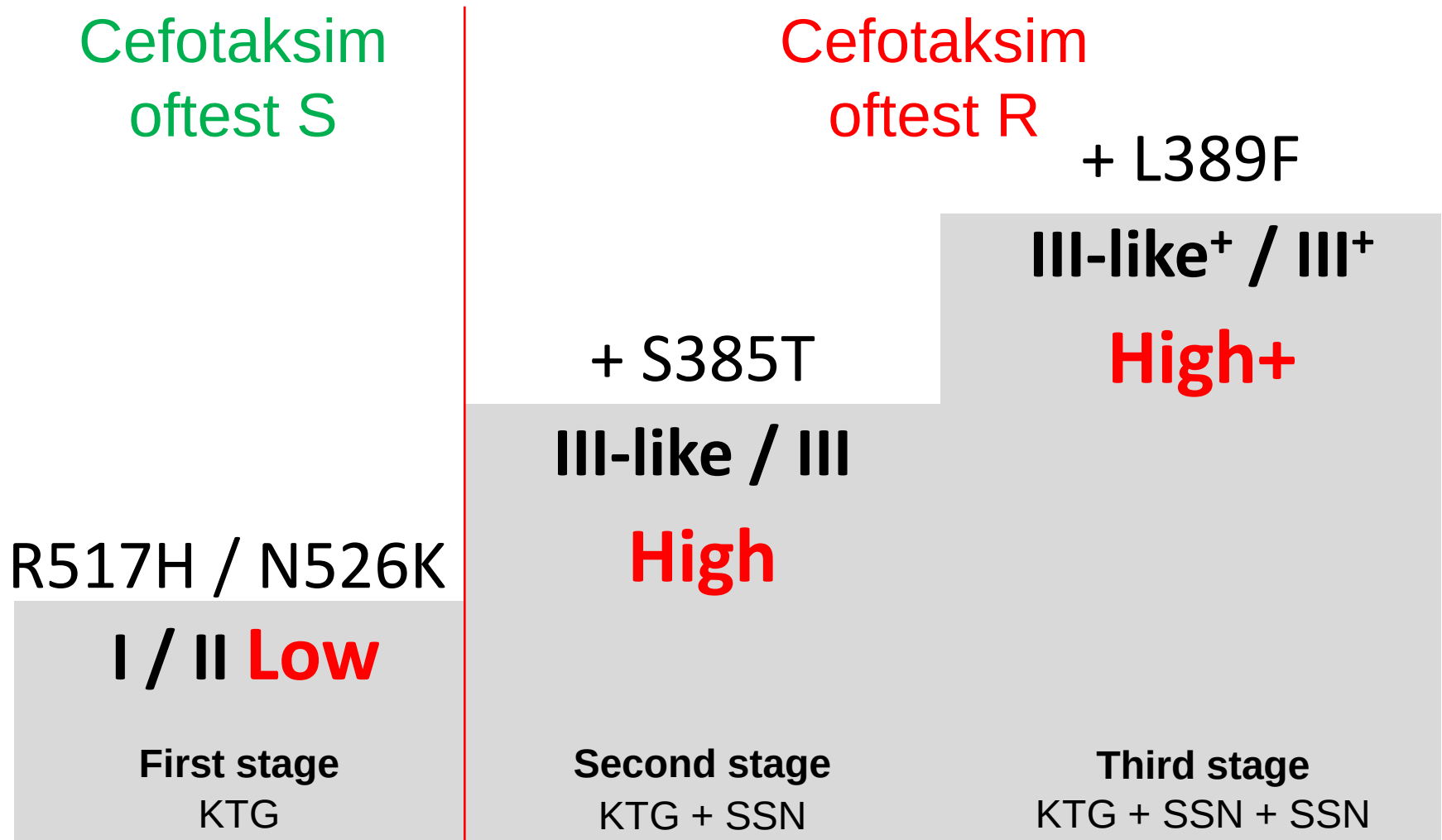


北里生命科学研究所
Kitasato Institute for Life Sciences

〒108-8641 東京都港区白金5-9-1 TEL. 03-5791-6334 FAX. 03-5791-6335
5-9-1 Shirokane, Minato-ku, Tokyo 108-8641, JAPAN

www.kitasato-u.ac.jp/lisci/

Trinnvis utvikling



Genotyper og resistensprofiler

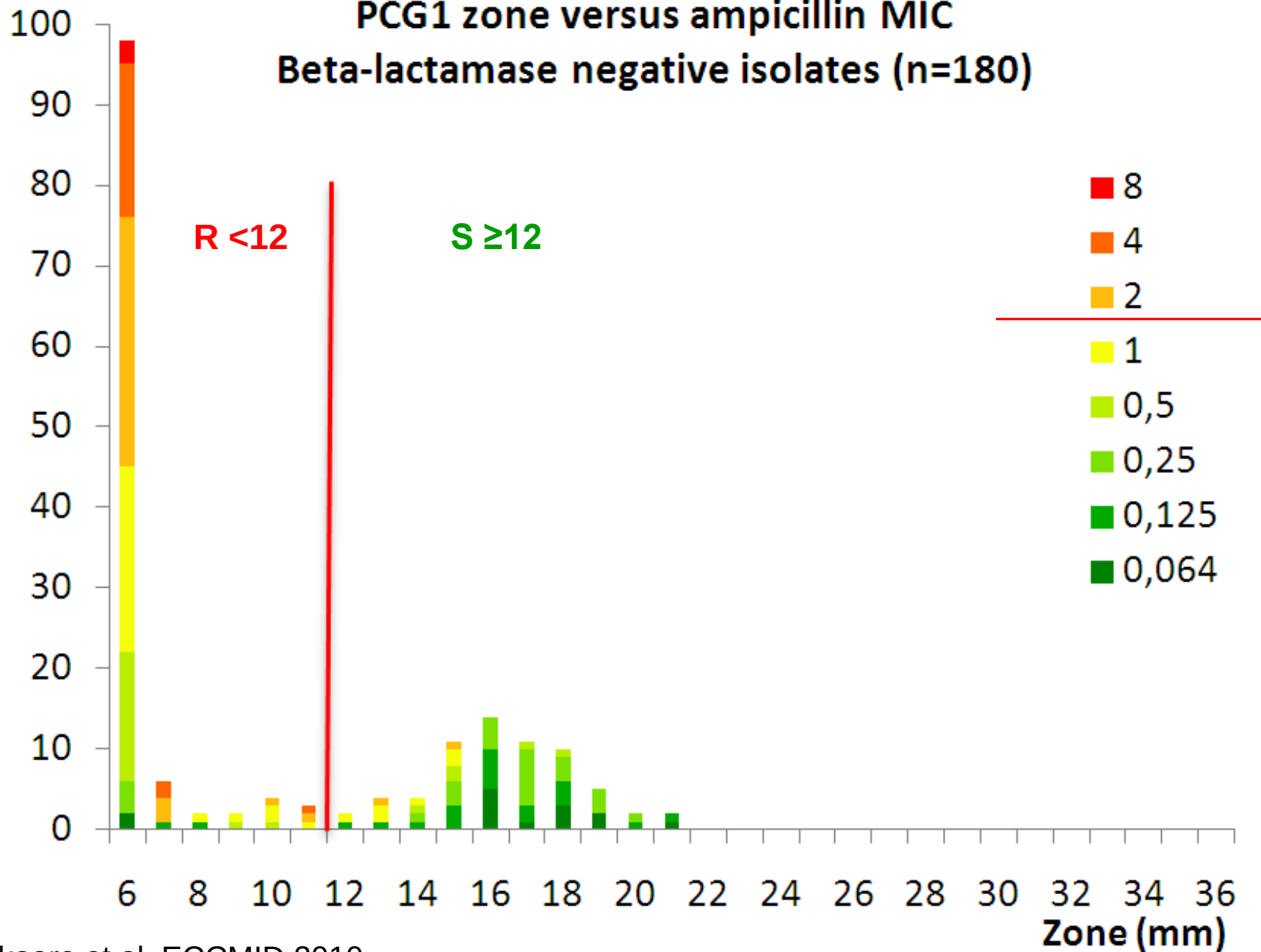
Ampicillin	0,004	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16
WT													
Low													
High/High+													
Cefotaxim	0,004	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16
WT													
Low													
High/High+													

Hasegawa et al 2004, Ubukata et al 2001, Osaki et al 2005, Dabernat et al 2002, Skaare et al 2010, Skaare et al 2014

Screening

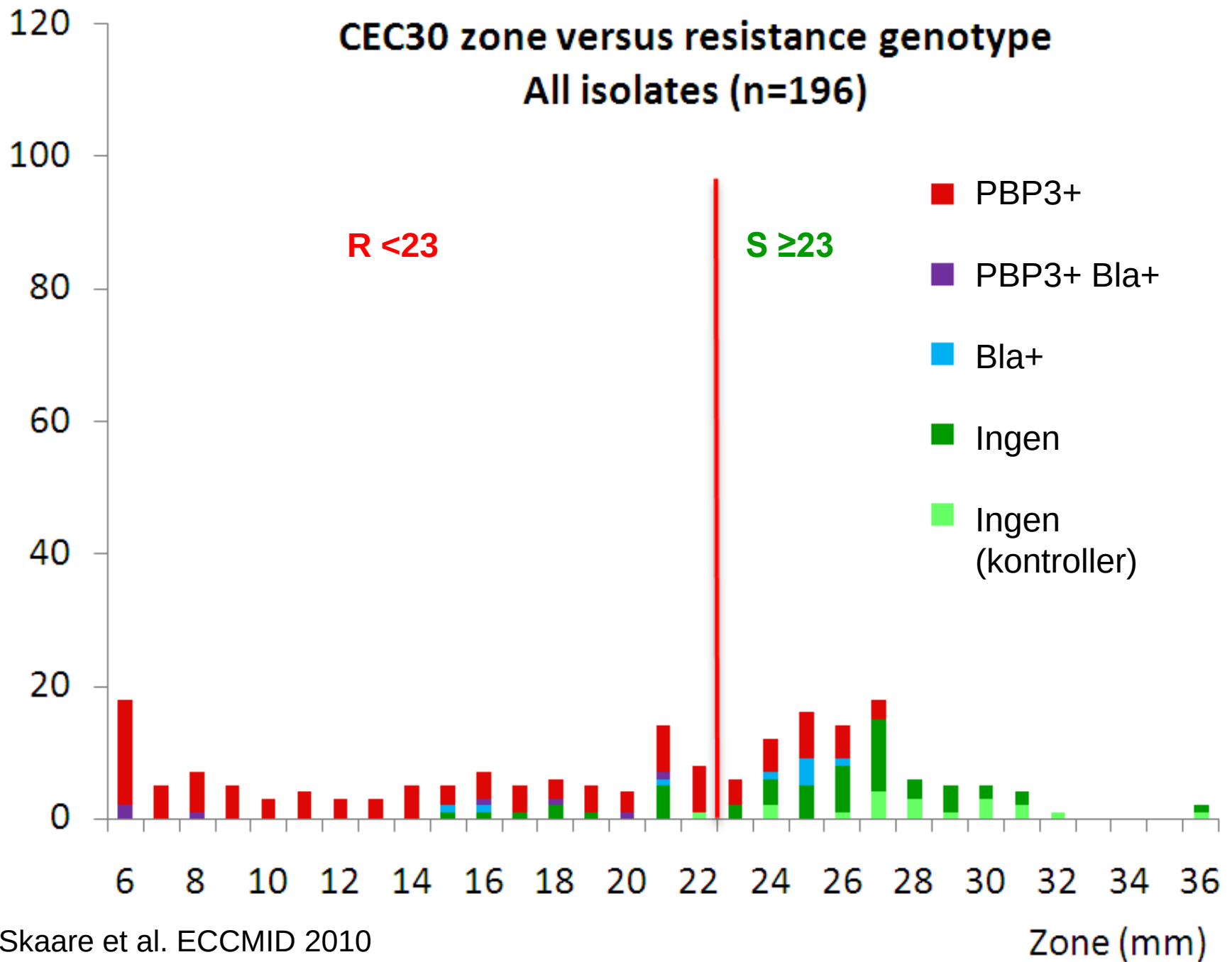
- PCG1 (benzylpenicillin 1 unit)
 - Detekterer både betalaktamase og PBP3-mediert resistens
 - Hvis R: gjør betalaktamasetest
 - Hvis Bla negativ: PBP+
 - Hvis Bla positiv: Les av CEC30
- CEC30 (cefaklor 30 mcg)
 - Detekterer kun PBP3-mediert resistens
 - Lavere sensitivitet enn PCG1, avleses derfor bare når Bla+
 - Ta hensyn til all vekst

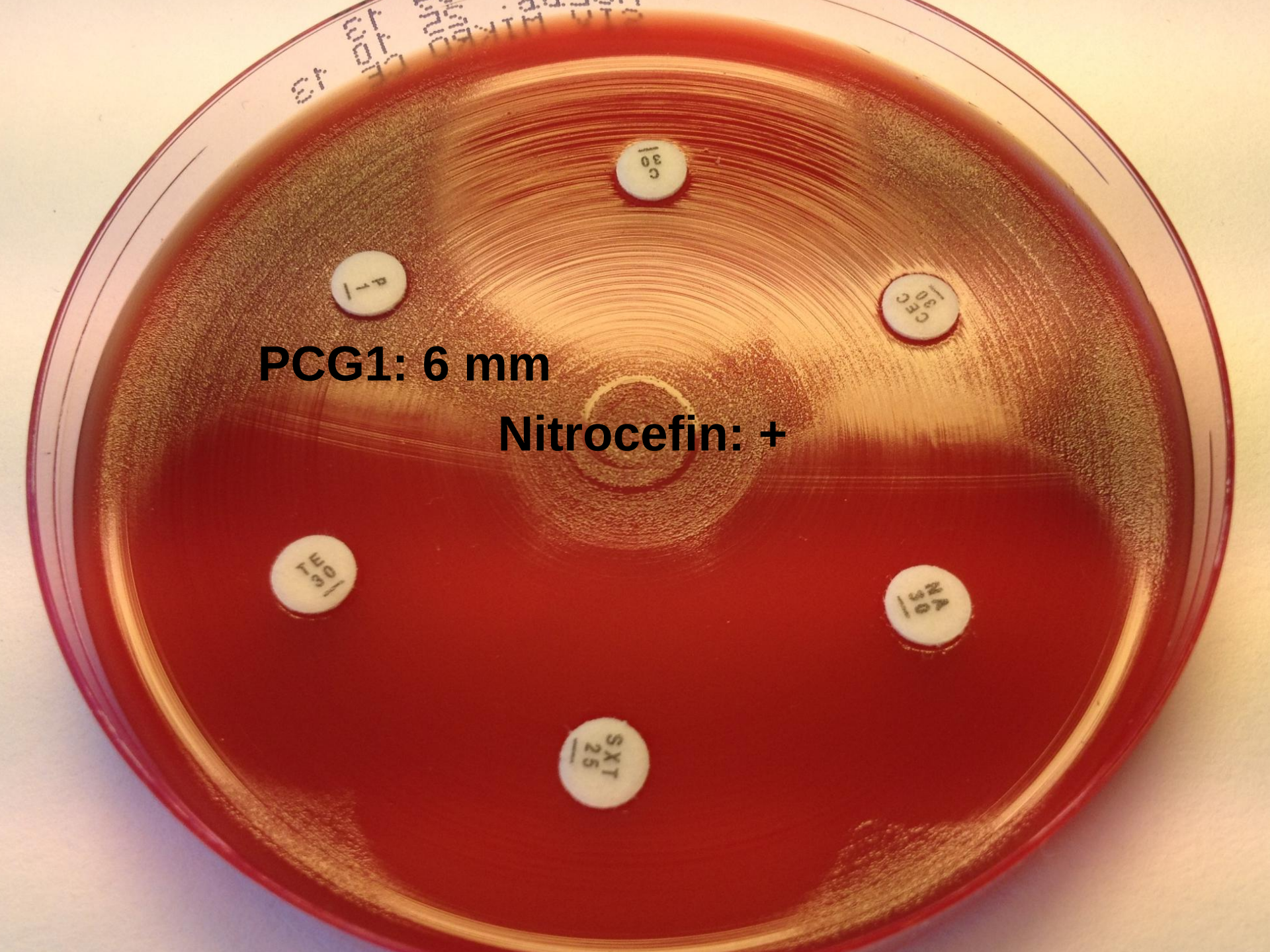
PCG1 zone versus ampicillin MIC Beta-lactamase negative isolates (n=180)



CEC30 zone versus resistance genotype

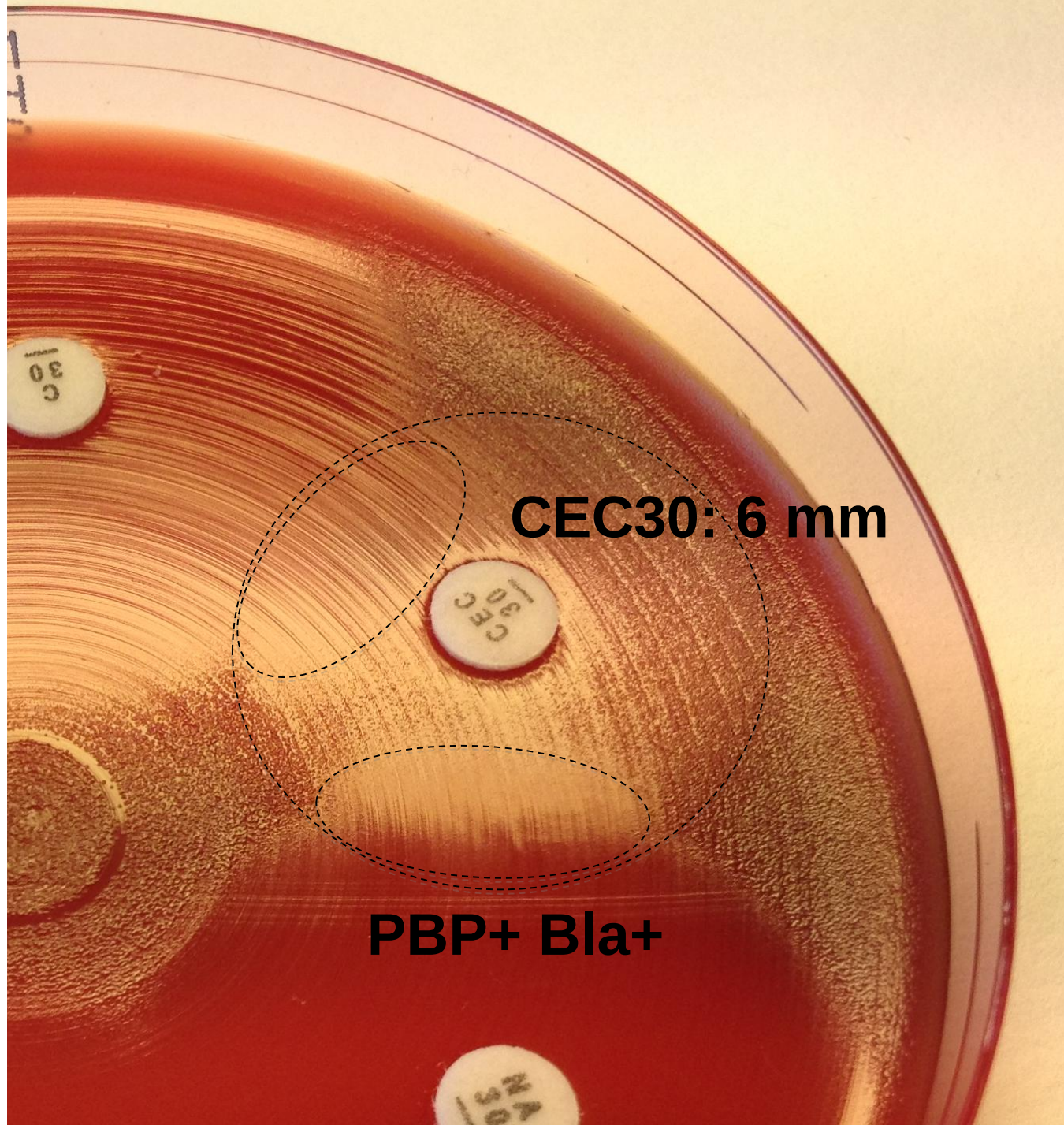
All isolates (n=196)



A petri dish containing a bacterial culture on a red agar medium. Six antibiotic discs are placed on the surface. The discs are labeled: 'C 30' (top), '100 C' (top right), '40 25' (bottom right), 'SXT 25' (bottom), '100' (bottom left), and 'A-1' (top left). A central zone of inhibition is visible around the 'C 30' disc. The text 'PCG1: 6 mm' is overlaid on the image.

PCG1: 6 mm

Nitrocefin: +



CEC30: 6 mm

PBP+ Bla+

Utfordringer screening

- Varierende innhold i PCG1 lapp
- CEC30 ikke optimal sensitivitet
 - Slørvekst er sikkert tegn på endret PBP3, men varierer på MHF fra ulike leverandører
 - Obs synergi fra nabolapper

Benzyl- penicillin 1 unit	Beta- laktamase- påvisning	Cefaklor 30 µg	Sannsynlig mekanisme	Tolkning og kommentar
				
≥ 12 mm	Utføres ikke	Tolkes ikke	Ingen	R: - I: cefuroksim p.o. S: ampicillin, amoksicillin, amoksicillin-klavulansyre, piperacillin-tazobactam, cefuroksim i.v., cefotaksim, ceftriakson, ceftarolin og karbapenemer
< 12 mm	Negativ	Tolkes ikke	Betalaktamase negativ PBP-forandring positiv	Endret PBP: Gjør MIC for alle betalaktamer som skal besvares
< 12 mm	Positiv	≥ 23 mm	Betalaktamase positiv PBP-forandring negativ	R: ampicillin og amoksicillin I: cefuroksim p.o. S: amoksicillin-klavulansyre, piperacillin-tazobactam, cefuroksim i.v., cefotaksim, ceftriakson, ceftarolin og karbapenemer
< 12 mm	Positiv	< 23 mm	Betalaktamase positiv PBP-forandring positiv	Endret PBP: Gjør MIC for alle betalaktamer som skal besvares

Can the Etest Correctly Determine the MICs of β -Lactam and Cephalosporin Antibiotics for Beta-Lactamase-Negative Ampicillin-Resistant *Haemophilus influenzae*?[▽]

Drugs	Genotype	No. of isolates	No. of E-test MICs within the indicated concn (log ₂) of HTM broth dilution MIC										% of agreement within 1 log ₂ concn
			−2	−1	Same	+1	+2	+3	+4	+5	+6	>+6	
Ampicillin	BLNAS	20		11	8	1							100
	BLNAR	87	1	4	31	7	1	3	7	4	1	28	48.27
Amoxcillin/clavulanate	BLNAS	20		2	8	10							100
	BLNAR	87	4	7	20	16	2	11	13	6	2	6	49.42
Ceftriaxone	BLNAS	20			13	7							100
	BLNAR	87		3	44	5	1	2				32	59.77

Influence of Variations in Test Methods on Susceptibility of *Haemophilus influenzae* to Ampicillin, Azithromycin, Clarithromycin, and Telithromycin

PETER C. FUCHS,* ARTHUR L. BARRY, AND STEVEN D. BROWN

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Jan. 2001, p. 43–46
0095-1137/01/\$04.00+0 DOI: 10.1128/JCM.39.1.43–46.2001

TABLE 2. Geometric mean MICs by three methods and mean zone diameters for four antibiotics on multiple media against 206 strains of *H. influenzae*

Antimicrobial agent	Geometric mean MIC ($\mu\text{g/ml}$) under the following conditions:													
	BMD ^a (air)		AD method (CO ₂)						Etest (CO ₂)					
	HTM	LHB-3	HTM	LHB-5	WHB	HGB	FIL	ISO	HTM	LHB-5	WHB	HGB	FIL	ISO
Telithromycin	1.87	1.69	1.34	2.44	2.29	3.02	1.92	2.00	4.06	4.60	4.49	5.91	3.65	3.82
Clarithromycin	8.61	7.13	5.35	8.54	8.02	8.07	6.22	7.05	8.50	10.3	9.72	10.3	7.61	8.52
Azithromycin	1.23	1.17	1.49	1.93	1.98	2.01	1.34	1.48	3.86	6.67	3.70	4.11	2.83	2.96
Ampicillin	2.49	2.55	1.91	2.42	3.00	3.60	2.57	2.23	1.23	1.62	1.53	1.65	1.26	1.64

€
XL

256
192
128
96
64
48
32
24
16
12
8
6
4
3
2

Foto: Martin Steinbakk