

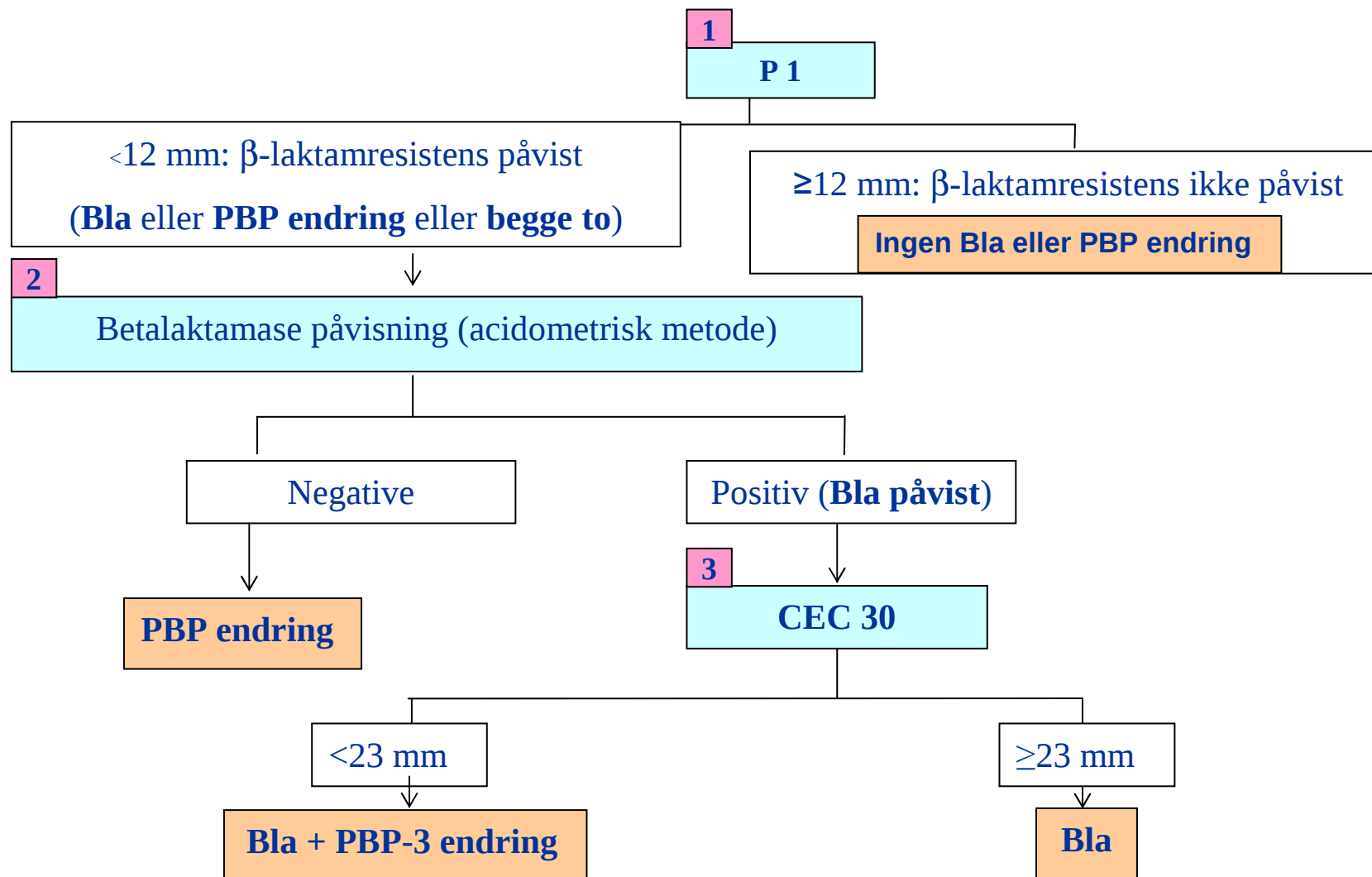
Påvisning av kromosomal β -laktam resistens hos *H.influenzae*

Problemstilling

Ulike tolkningsresultater ved bruk av penicillinlapper fra ulike leverandører



NordicAST metode for påvisning av beta-laktam resistensmekanisme(r) hos *H.influenzae*



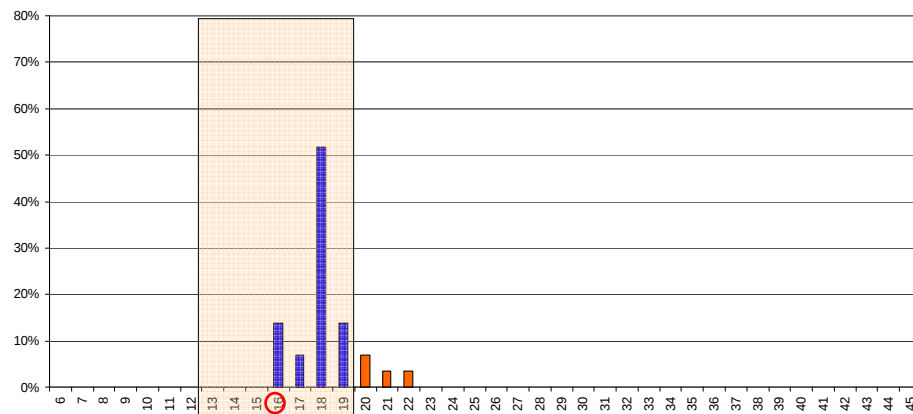
Påvisning av beta-laktam resistensmekanisme(r) hos *H.influenzae*

- 14.12.11: begynt med anbefalt metode fra NordicAST med P1-lapp fra BD på MH-F skål
- Funnet **119** isolater med β -laktamresistens sammenlignet med **54** stammer i samme tidsintervall 1 år tidligere (ved bruk av amp 2 + CEC 30)
- Overestimasjon av PBP-endring ved bruk av penicillinlapp fra BD? Kjent problem; som ble meldt av andre, bl.a. i Helse-Vest, i slutten av 2010

Sonediometer på *H.influenzae* CCUG 23946

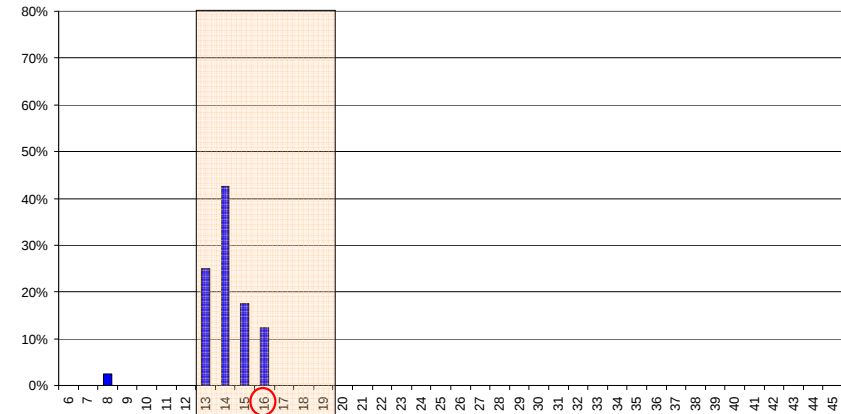
Penicillin 1 (Oxoid/Liofilchem)

H. influenzae CCUG 23946



Penicillin 1 (BD)

H. influenzae CCUG 23946



Parallelltesting med Penicillinlapper fra BD og Oxoid på kliniske *H.influenzae* isolater

- BD lapper; 0-7 mm mindre enn Oxoid lapper
- 5 av 55 isolater; **R** med BD og **S** med Oxoid
 - 7 mm (BD) vs 14 (Oxoid)
 - 11 mm vs 16
 - 6 mm vs 12
 - 6 mm vs 12
 - 10 mm vs 13
- Disse 5 ble undersøkt videre med
 - Parallelltesting også med lapper fra Liofilchem
 - MIC for cefuroxim (også ampicillin, cefotaxim)
 - *ftsI* sekvensering; området 316-544

P1 sonediameter og MIC for β -laktamer

BD	Oxoid	Liofilchem	CXM	CTX	AMP
7 (9)	14 (13)	(18)	0.5	0.016	0.38
11 (12)	16 (17)	(21)	0.38	<0,016	0.38
6 (6)	12 (12)	(16)	0.38	<0,016	0.38
6 (6)	12 (12)	(16)	0.38	<0,016	0.5
10 (10)	13 (14)	(17)	0.38	<0,016	0.38

Mutasjoner i området 316-544

385 517 526	377	Øvrige mutasjoner
Ingen	Ingen	Ingen
Ingen	Ingen	D350N, A437S
Ingen	M377I	K344R, D350N, T352G, K355T, L356V
Ingen	M377I	K344R, D350N, T352G, K355T, L356V
Ingen	M377I	K344R, D350N, T352G, K355T, L356V

Kommentar og råd fra Dagfinn Skåre:

De 6 mutasjoner på de siste 3 isolatene er identisk med mutasjoner rapportert hos *H. haemolyticus*

Enten feil ID som *H. influenzae* eller horizontal gene transfer fra *H. haemolyticus*

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, May 2007, p. 1589–1595
 0066-4804/07/\$08.00+0 doi:10.1128/AAC.01545-06
 Copyright © 2007, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 51, No. 5

Horizontal Gene Transfer of *ftsI*, Encoding Penicillin-Binding Protein 3, in *Haemophilus influenzae*[▽]

Sho Takahata,* Takashi Ida, Nami Senju, Yumiko Sanbongi, Aiko Miyata, Kazunori Maebashi, and Shigeru Hoshiko

<i>H. influenzae</i>	307	VGKSELNRNRAITDTFEPQSTVKNPFVVLTA	307	VGKSELNRNRAITDTFEPQSTVKNPFVVLTA	406
<i>H. haemolyticus</i>	307	R.....N.G..TV.....	307	R.....N.G..TV.....	406
<i>H. parainfluenzae</i>	307	AN..D..K.....A.R...V.N.G..TV.....P.....I.....	307	AN..D..K.....A.R...V.N.G..TV.....P.....I.....	406
<i>H. aphrophilus</i>	308	T.....T.....E..A.R....N.GPLI.N.H.VK....DRIS..G..E.....D...S...G	308	T.....T.....E..A.R....N.GPLI.N.H.VK....DRIS..G..E.....D...S...G	407
<i>H. paraphrophilus</i>	308	T.....T.....E..A.R....N.GPLI.N.H.VK....DRIS..G..E.....D...S...G	308	T.....T.....E..A.R....N.GPLI.N.H.VK....DRIS..G..E.....D...S...G	407
<i>H. segnis</i>	309	A.R....N.GPLI.N.H.VK....D.IS..G..E.....	309	A.R....N.GPLI.N.H.VK....D.IS..G..E.....	408
<i>H. parahaemolyticus</i>	393	SEF.P.....T.....N..TY...V.N.HP.VVN.HT.R....DSISITG..QK...I.....ST..VD..SKV.FG	393	SEF.P.....T.....N..TY...V.N.HP.VVN.HT.R....DSISITG..QK...I.....ST..VD..SKV.FG	492
<i>H. paraphrohaemolyticus</i>	401	SEF.P.....T.....N..TY...V.N.HP.VVN.HT.R....DSISITG..QK...I.....ST..VD..SKV.FG	401	SEF.P.....T.....N..TY...V.N.HP.VVN.HT.R....DSISITG..QK...I.....ST..VD..SKV.FG	500

Mikrobe ID

Alle viste satelittvekst og trengte X- og V-faktor

Hemolyse På MH-F	Vitek-2	MALDI-TOF	16S rRNA; V1-V4 sekvensering <i>H.influenzae</i> vs <i>H.haemolyticus</i>
Ingen	<i>H.influenzae</i> 97% (excellent ID)	<i>H.influenzae</i> 2,424	99% vs 97%
Ingen	<i>H.influenzae</i> 95% (very good ID)	<i>H.influenzae</i> 2,341	97% vs 97% (gaps 1 vs 7)
β-hemol	<i>H.infl/H.haemol.</i> (Low Discrimination)	<i>H.influenzae</i> 1,945	97% vs 99%
Ingen	<i>H.haemolyticus</i> 86% (acceptable ID)	<i>H.influenzae</i> 2,159	97% vs 99%
Ingen	<i>H.infl/H.haemol.</i> (Low Discrimination)	<i>H.influenzae</i> 2,156	99% vs 98%

Parallelltesting med Penicillinlapper: BD, Oxoid, Liofilchem

Avl.dato/bla påvisning,CEC30	P1 BD (mm)	P1 Oxoid (mm)	P1 Liofilchem (mm)
21/05/2012	15	17	21
21/05/2012/ bla-	9 PBP3endring	15	17
22/05/2012/ bla-	6 PBP3 endring	6	11
22/05/2012/ bla-	6 PBP3 endring	14	16
22/05/2012/ bla-	6 PBP3 endring	6	6
22/05/2012/ bla-	6 PBP3 endring	6	13 Ingen
22/05/2012	13	13	16
23/05/2012/ bla+,CEC29	6 kun bla	6	9
23/05/2012	15	20	23
24/05/2012	13	14	18
24/05/2012	12	16	18
24/05/2012	12	14	19
25/05/2012	12	16	18

Problemstilling

- Diskrepans i resultater av P1 fra BD, Oxoid og Liofilchem som influerer tolkning av resistensmekanisme
- Mikrobe ID
 - Feil identifikasjon av *H.haemolyticus* som *H.influenzae*?

Spørsmål for diskusjon/forslag

- Riktig spesies identifikasjon
 - Hemolyse: Beste metode for å få påvist hemolyse hos *H.haemolyticus*?
 - Andre tips for korrekt ID av *H.haemolyticus*?
- Korrekt estimering av PBP endring ved bruk av P1 lapp fra Oxoid? Ingen over- eller under-estimering?
- Ytterligere informasjon ønskes på EUCAST dokumentet: *Haemophilus influenzae*, Benzylpenicillin 1 unit as screen for beta-lactam resistance, version 1.0, December 2011
 - Leverandøren av P1 lapp brukt for figurene med sonediameter samt MIC
 - Sammenligne *ftsI* mutasjoner med tolkningsresultater samt MIC verdier for å se
 - Om den P1 lapp som ble brukt er pålitelig som screening lapp for beta-laktam resistens
 - Hvilke AA substitusjonene er viktig (dvs. gi økning av MIC, til hvilke middel)?
 - Forhøyet MIC uten *ftsI* mutasjon eller bla produksjon vil indikere andre resistensmekanisme(r)
 - Kan viktige PBP endringene screenes med kun cefuroxim MIC?
 - Kan det være noen isolater som var feil identifisert som *H.influenzae*?
 - Er det horisontal overføring av *ftsI* blant *Haemophilus* spesies?