

**EUCAST*-ის სახელმძღვანელო მითითებები
რეზისტენტობის მექანიზმებისა და კლინიკური
და/ან ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობის
მქონე სპეციფიკური რეზისტენტობის
აღმოსაჩენად**



საქართველოს ოკუპირებული
ტერიტორიებიდან დევნილთა,
შრომის, ჯანმრთელობისა და
სოციალური დაცვის სამინისტრო

დაავადებათა კონტროლისა და
საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის
ეროვნული ცენტრი



MINISTRY OF INTERNALY
DISPLACED PERSONS FROM THE OCCUPIED
TERRITORIES, LABOUR, HEALTH
AND SOCIAL AFFAIRS OF GEORGIA



NATIONAL CENTER FOR
DISEASE CONTROL AND
PUBLIC HEALTH

EUCAST*-ის სახელმძღვანელო მითითებები რეზისტენტობის მექანიზმებისა და კლინიკური და/ან ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობის მქონე სპეციფიკური რეზისტენტობის აღმოსაჩენად

ვერსია 2.0¹

ივლისი 2017

¹ 2013 წლის დეკემბრის, ვერსია 1.0-ზე დაფუძნებული EUCAST ქვეკომიტეტის მიერ რეზისტენტობის მექანიზმებისა და კლინიკური და/ან ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობის მქონე სპეციფიკური რეზისტენტობის აღმოსაჩენად. ავტორები: ქრისტიან გისკე (შვედეთი, EUCAST საორგანიზაციო კომიტეტისა და EARS-Net საკოორდინაციო ჯგუფის თავმჯდომარე), ლუის მარტინესი-მარტინესი (ესპანეთი, EUCAST საორგანიზაციო კომიტეტი), რაფაელ კანტონი (ესპანეთი, EUCAST თავმჯდომარე), სტეფანია სტეფანი (იტალია), რობერტ სკოვი (დანია, EUCAST საორგანიზაციო კომიტეტი), იური გლუპსზინსკი (ბელგია), პატრის ნორდმანი (საფრანგეთი), მენდი ვუტტონი (დიდი ბრიტანეთი), ვივი მირაგოუ (საბერძნეთი), გუნნარ სკოვ სიმონსენი (ნორვეგია, EARS-Net. საკოორდინაციო ჯგუფი), ჰელენა ზემლიჩკოვა (ჩეხეთის რესპუბლიკა, EARS-Net საკოორდინაციო ჯგუფი), ჯეიმ სკოენ-სტიუარტი (ნიდერლანდები) და მარეკ გნიადკოვსკი (პოლონეთი)

თავი	გვერდი
1. შესავალი	3
2. კარბაპენემას წარმომქმნელი ენტერობაქტერიები	4
3. ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზას (ESBL)-წარმომქმნელი ენტერობაქტერიები	12
4. შეძენილი AmpC ბეტა-ლაქტამაზას წარმომქმნელი ენტერობაქტერიები	20
5. პოლიმიქსინ რეზისტენტობა გრამ-უარყოფით ბაცილაში	23
6. კარბაპენემაზის წარმომქმნელი <i>P. aeruginosa</i> და <i>Acinetobacter</i>	25
7. მეტიცილინის მიმართ რეზისტენტული <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	27
8. ვანკომიცინის მიმართ რეზისტენტული <i>Staphylococcus aureus</i>	30
9. ვანკომიცინის მიმართ რეზისტენტული <i>Enterococcus faecium</i> და <i>Enterococcus faecalis</i>	34
10. პენიცილინის მიმართ არა-მგრძნობიარე (არა-ველური) <i>Streptococcus pneumoniae</i> ..	41

1. შესავალი

ეს დოკუმენტი წარმოადგენს რეზისტენტობის მექანიზმების აღმოჩენის თაობაზე EUCAST ქვეკომიტეტის მიერ შემუშავებული გაიდლაინების განახლებას. გაიდლაინების განახლება შესრულდა EUCAST მმართველობითი კომიტეტის მიერ.

EUCAST ქვეკომიტეტის უმთავრეს ამოცანას წარმოადგენდა პრაქტიკული სახელმძღვანელოს შემუშავება კლინიკური და /ან ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობის მქონე სპეციფიკური ანტიმიკრობული რეზისტენტობის მექანიზმების აღმოსაჩენად. დოკუმენტი ძირითადად გათვალისწინებულია კლინიკურ ლაბორატორიებში რუტინული გამოყენებისთვის და არ მოიცავს ტექნიკურ პროცედურებს რეფერენს ან საექსპერტო ლაბორატორიების მიერ მოლუკულურ დონეზე რეზისტენტობის მექანიზმების იდენტიფიცირებისთვის. თუმცა, სახელმძღვანელოს შემადგენლობის დიდი ნაწილი ასევე გამოსადეგია ეროვნული რეფერენს ლაბორატორიებისთვის. უფრო მეტიც, მნიშვნელოვანია აღინიშნოს, რომ დოკუმენტში არ არის წარმოდგენილი მასალა მრავალი პრეპარატის მიმართ რეზისტენტული მიკროორგანიზმების მტარებლების (კოლონიზაცია) სკრინინგის ან კლინიკურ ნიმუშებში პირდაპირი იდენტიფიკაციის შესახებ.

წარმოდგენილი დოკუმენტის ყველა თავში მოცემულია მექანიზმის ან სპეციფიკური რეზისტენტობის განსაზღვრება, კლინიკური და /ან საზოგადოებრივი ჯანდაცვის თვალსაზრისით რეზისტენტობის აღმოჩენის მნიშვნელობის განმარტება, მისი აღმოჩენისათვის რეკომენდირებული მეთოდების ზოგადი აღწერილობა და, საცნობარო ლიტერატურა მეთოდების დეტალური აღწერილობებისთვის. რეზისტენტობის მექანიზმის იდენტიფიკაციისა და საზოგადოებრივი ჯანდაცვის ან ინფექციური კონტროლისთვის საჭირო იდენტიფიცირების დონეები შეიძლება განსხვავდებოდეს როგორც გეოგრაფიულად, ისე დროით, რაც დამოკიდებულია რეზისტენტობის სხვადასხვა მექანიზმების გავრცელებასა და ჰეტეროგენურობაზე. სახელმძღვანელო შემუშავებულია ლიტერატურის მოძიების საფუძველზე და რეკომენდაციები ეფუძნება მრავალცენტრიან სამეცნიერო კვლევებს ან მრავალჯერად ერთ-ცენტრიან კვლევებს. ამჟამად შემუშავების პროცესში მყოფი რამოდენიმე მეთოდი არ იქნა შეტანილი წარმოდგენილ სახელმძღვანელოში ვინაიდან მრავალ-ცენტრიანი ან მრავალჯერადი ერთ-ცენტრიანი შეფასებები ჯერ არ დასრულებულა. წარმოდგენილი სახელმძღვანელოს შავმა ვერსიებმა ვრცელი კონსულტაციები გაიარა EUCAST-ის საკონსულტაციო სიაში მყოფ პირებთან, EUCAST ინტერნეტ გვერდზე და ECDC კოორდინატორების კონტაქტებთან.

ჩვენ შევეცადეთ, რომ დოკუმენტში წარმოდგენილ პროდუქტებთან დაკავშირებით გამოგვეყენებინა შეძლებისდაგვარად ზოგადი ტერმინოლოგია, მაგრამ გარკვეული სახის სპეციფიკური პროდუქტის დასახელების ამოღება სახელმძღვანელოდან ზოგიერთ რეკომენდაციას გახდიდა გაურკვეველს. უნდა აღინიშნოს, რომ რეზისტენტობის ზოგიერთი მექანიზმი ყოველთვის არ ანიჭებს შტამს კლინიკურ რეზისტენტობას. აღნიშნული შესაძლოა უკავშირდებოდეს იმ ფაქტს რომ, მექანიზმები არ ვლინდებოდეს ან ვლინდებოდეს მხოლოდ დაბალ დონეზე, რიც არ აძლევს დასაბამს ფენოტიპურ რეზისტენტობას. აქედან გამომდინარე, მაშინ, როდესაც ამ მექანიზმების აღმოჩენა შეიძლება მნიშვნელოვანი იყოს ინფექციური კონტროლის და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის თვალსაზრისით, შეიძლება სულაც არ იყოს აუცილებელი კლინიკური მიზნებისათვის. შესაბამისად, გარკვეული მექანიზმებისთვის, განსაკუთრებით გრამ-უარყოფით ბაქტერიებში ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზებისა და კარბაპენემაზებისთვის მექანიზმის აღმოჩენა თავისთავად არ გულისხმობს კლასიფიცირებას „კლინიკურად რეზისტენტული“.

ქრისტინა გისკე

EUCAST თავმჯდომარე, ქვეკომიტეტის ყოფილი თავმჯდომარე

2. კარბაპენემას წარმომქმნელი ენტერობაქტერიები

რეზისტენტობის მექანიზმის გამოვლენის მნიშვნელოვნება	
აუცილებელია კლინიკური ანტიბიოტიკომგრძნობელობის კატეგორიზაციისთვის	არა
ინფექციური კონტროლი	დიახ
საზოგადოებრივი ჯანმრთელობა	დიახ

2.1 განსაზღვრება

კარბაპენემები წარმოადგენენ ბეტა-ლaktამაზებს, რომლებიც ახდენენ პენიცილინების, უმეტეს შემთხვევაში ცეფალოსპორინების, და სხვადასხვა ხარისხით კარბაპენემებისა და მონობაქტამების (ეს უკანასკნელი არ ჰიდროლიზირდება მეტალო-β-ლaktამაზების მიერ) ჰიდროლიზს.

2.2 კლინიკური და /ან ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა

კარბაპენემების გავრცელების პრობლემა, ძირითადად *P. aeruginosa*-ში, ევროპაში სათავეს იღებს 1990-იანი წლების მეორე ნახევრიდან, რამოდენიმე ხმელთაშუაზღვისპირა ქვეყანაში (1). ადრეულ 2000-იანებში, საბერძნეთში ადგილი ჰქონდა ვერონა ინტეგრირებით კოდირებული მეტალო-β-ლaktამაზას (*VIM*) ეპიდემიას *K. pneumonia*-ში (2), რომელსაც მოჰყვა *K. pneumonia*-ში კარბაპენემას არსებობასთან (*KPC*) დაკავშირებული ეპიდემია (1). ამჟამად, *OXA-48* კარბაპენემები ყველაზე სწრაფად მზარდი გავრცელება ევროპაში (3). ამ დროისათვის, საბერძნეთსა და იტალიაში ინვაზიური *K. pneumonia*-ს დაახლოებით 62 და 33%, შესაბამისად, არის არა-მგრძნობიარე კარბაპენემებზე (4). 2015 წელს, 13/38 ქვეყანამ შეატყობინა კარბაპენემას წარმომქმნელი ენტერობაქტერიებით (*CPE*), შიდა-რეგიონული გავრცელება, 2013 წელთან შედარებით, როდესაც შეტყობინება იყო 6/38 ქვეყნიდან. მხოლოდ სამმა ქვეყანამ უპასუხა რომ არ აღმოუჩენიათ *CPE*-ის არც-ერთი შემთხვევა (3). სხვა, განსაკუთრებით პრობლემატური კარბაპენემები არის ნიუ დელის მეტალო-β-ლaktამაზები (*New Delhi metallo-β-lactamases* (*NDMs*)), რომლებიც მეტად გავრცელებულია ინდოეთის ქვეკონტინენტზე და შუა აღმოსავლეთში, და რამოდენიმე შემთხვევა იქნა შემოტანილი ევროპაში (3). არსებობს რეგიონული გავრცელების სხვა მაგალითებიც (5). მსოფლიოს სხვადასხვა კუთხეში ხშირად გვხვდება *IMP*-კარბაპენემები (6).

კარბაპენემები წარმოადგენენ შეშფოთების საგანს, ვინაიდან მათ შეუძლიათ მიანიჭონ რეზისტენტობა პრაქტიკულად ყველა ბეტა-ლaktამებს და მათი გადაცემა ხორცილდება იოლად. კარბაპენემების წარმომქმნელი შტამები ხშირად ფლობენ რეზისტენტობის მექანიზმებს ანტიმიკრობული აგენტების ფართო სპექტრის მიმართ, და ინფექციები გამოწვეული კარბაპენემას წარმომქმნელი ენტერობაქტერიებით ასოცირდება სიკვდილობის მაღალ მაჩვენებელთან (7-9).

2.3 რეზისტენტობის მექანიზმები

კარბაპენემების დიდი უმრავლესობა წარმოადგენს შემენილ ფერმენტებს, რომლებიც კოდირებულია პლაზმიდებზე განლაგებულ მობილურ ელემენტებზე არსებული გენებით. კარბაპენემები გამოხატულია სხვადასხვა დონეზე და მნიშვნელოვნად განსხვავდება როგორც ბიოქიმიური მახასიათებლებით, ასევე სპეციფიური ბეტა-ლaktამების საწინააღმდეგო მოქმედების მიხედვით. ბეტა-ლaktამაზას ექსპრესიის (გამოვლენის) დონე, მისი თავისებურებები და ხშირი ასოციატა რეზისტენტობის სხვა მექანიზმებთან (სხვა ბეტა-ლaktამაზები, ეფლუქსი და/ან შეცვლილი შეღწევადობა) წარმოშობს რეზისტენტობის ფენოტიპების ფართო სპექტრს, აღწერილს კარბაპენემას წარმომქმნელ შტამებში (10, 11). თუმცა, ენტერობაქტერიაგვს გვარში კარბაპენემების მიმართ შემცირებული მგრძნობელობა შესაძლოა გამოწვეული იყოს ან ფართო სპექტრის ბეტა-ლaktამაზებით (*ESBL*) ან *AmpC* ფერმენტებით, რომელიც კომბინირებულია ცვლილებით განპირობებულ შემცირებულ გამტარობასთან ან პორინების დაღმავალ რეგულაციასთან (12), და შესაძლოა პენიცილინის შემოჭრის პროტეინებითაც .

კარბაპენემების წარმომქმნელ ენტერობაქტერიებს (*CPE*) უმეტესწილად დაქვეითებული მგრძნობელობა აქვთ კარბაპენემების მიმართ, და უმეტესწილად რეზისტენტულები არიან ფართო-სპექტრის (ოქსიმინო) ცეფალოსპორინების

(მაგ. ცეფოტაქსიმი, ცეფტრიაქსონი, ცეფტაზიდიმი და/ან ცეფიპიმი) (14) მიმართ. თუმცა, ზოგიერთი ფერმენტის (OXA-48-მსგავსი ფერმენტები) არსებობის გამო ორგანიზმები შესაძლოა ჩანდეს სრულად მგრძნობიარე ცეფალოსპორინების მიმართ. ამჟამად, მრავალი ამ შტამთაგანი გამოიმუშავებს ცეფალოსპორინის-მაპიდროლიზირებელ (დამშლელ) ფერმენტებს, როგორცაა CTX-Ms და შემდეგ ასევე რეზისტენტული ხდება ცეფალოსპორინების მიმართ. კარბაპენემები განიხილება როგორც ძალიან მაღალი ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობის მქონე, განსაკუთრებით მაშინ როდესაც, ისინი ანიჭებენ შემცირებულ მგრძნობელობას ნებისმიერი კარბაპენემის მიმართ (იმიპენემი, მეროპენემი, ერტაპენემი და დორიპენემი), მაგალითად, როდესაც მიკ (MIC)-ები არის EUCAST-ის მიერ დადგენილ ეპიდემიოლოგიურ ზღვრულ მაჩვენებლებზე (cut-off (ECOFF)) მაღალი (15).

2.4 რეკომენდებული მეთოდები ენტერობაქტერიების გვარში კარბაპენემების გამოსავლენად

2.4.1 კარბაპენემების წარმოქმნის სკრინინგი

კარბაპენემების წარმოქმნელი ენტერობაქტერიებისთვის კარბაპენემის მიკ-ები შესაძლოა იყოს კლინიკურ ნორმებზე დაბალი (14-16). თუმცა, შესაძლებელია EUCAST-ის მიერ დადგენილი ECOFF მაჩვენებლების გამოყენება კარბაპენემასა წარმოქმნელი შტამების გამოსავლენად. კარბაპენემების წარმოქმნელთა გამოვლენის თვსაზრისით მეროპენემი გვთავაზობს საუკეთესო კომპრომისს მგრძნობელობასა და სპეციფიურობას შორის (14,17). ერტაპენემს გააჩნია საუკეთესო მგრძნობელობა, მაგრამ დაბალი სპეციფიურობა, განსაკუთრებით ისეთ სახეობებში, როგორცაა *Enterobacter* spp., მისი შედარებითი არასტაბილურობის გამო ფართო სპექტრის ბეტა-ლექტამაზების (ESBLs) და AMPC ბეტა-ლექტამაზების მიმართ, პორინების დაკარგვასთან ერთად კომბინაციაში (14). ცხრილში#1 ნაჩვენებია შესაბამისი ზღვრული მაჩვენებლები სავარაუდო კარბაპენემა-წარმოქმნელების გამოსავლენად. უნდა აღინიშნოს, რომ სპეციფიურობის გასაზრდელად იმიპენემის და ერტაპენემის სასკრინინგო ზღვრული მაჩვენებლები ერთი განზავების საფეხურით მაღალია ვიდრე ამჟამად დადგენილი ECOFF-ები.

ცხრილი 1. კლინიკური ნორმები და სასკრინინგო ზღვრული მაჩვენებლები კარბაპენემა-წარმოქმნელი ენტერობაქტერიებისთვის (EUCAST-ის მეთოდოლოგიის შესაბამისად).

კარბაპენემი	მიკ (მგ/ლ) MIC (mg/L)		დისკის დიფუზიის მეთოდში ზონის დიამეტრი (მმ) 10 µg დისკებით	
	ნორმები მგრძნობიარე /საშ.მგრძნობიარე	სასკრინინგო ზღვრები	ნორმები მ/სმ	სასკრინინგო ზღვრები
მეროპენემი ¹	≤2	>0.125	≥22	<28 ²
ერტაპენემი ³	≤0.5	>0.125	≥25	<25

¹მგრძნობელობისა და სპეციფიურობის საუკეთესო ბალანსი

²შტამები 25-27 მმ-ით გამოკვლეულ უნდა იქნას მხოლოდ კარბაპენემის წარმოქმნაზე, არიან თუ არა რეზისტენტული პიპერაცილინ-ტაზობაქტამზე ან/და თემოცილინზე (თემოცილინი უფრო მეტად ახდენს გავლენას სპეციფიურობაზე). გამოკვლევა კარბაპენემებზე გარანტირებულია თუ მეროპენემის ზონის დიამეტრი <25მმ-ია.

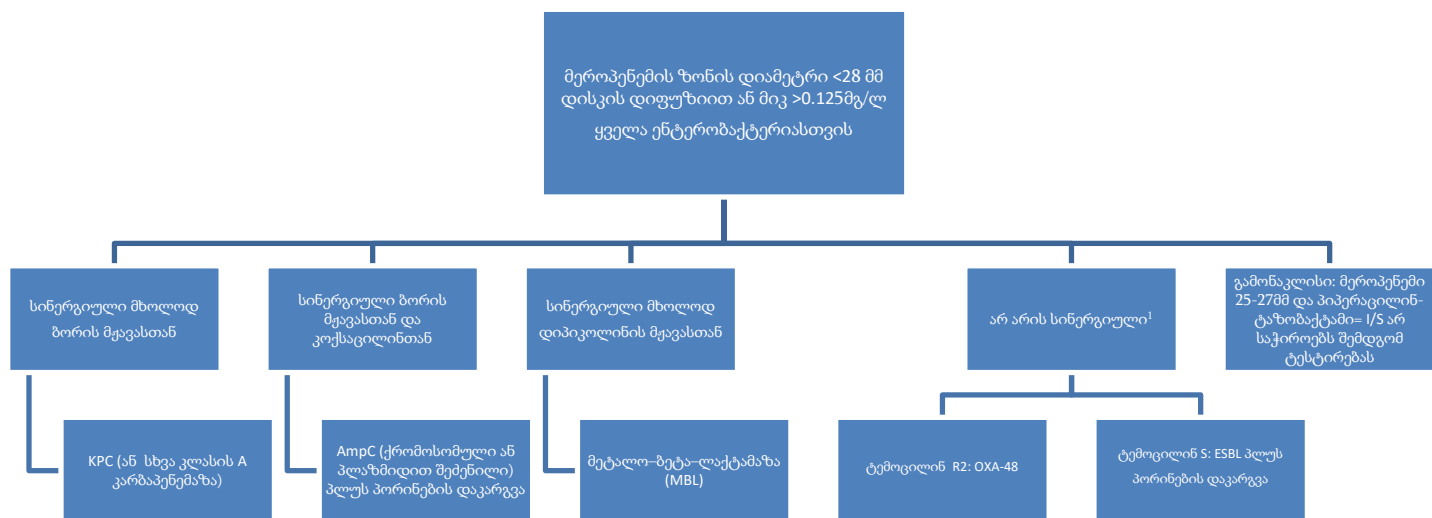
³მაღალი მგრძნობელობა, მაგრამ დაბალი სპეციფიურობა. შესაძლოა გამოყენებულ იქნას როგორც ალტერნატიული სასკრინინგო აგენტი, თუმცა შტამები ESBL და AmpC-თან ერთად შესაძლოა რეზისტენტული იყოს კარბაპენემების გარეშე.

რუტინული მგრძნობელობის ტესტირებისას, შემცირებული მგრძნობელობის გამოვლენის შემდგომ, საჭიროა გამოყენებულ იქნას კარბაპენემების გამოსავლენი ფენოტიპური მეთოდები. მეთოდების ძირითადი კატეგორიები არის კომბინირებული დისკების ტესტი, კოლორიმეტრული ტესტები, რომელშიც ეფუძნება კარბაპენემების ჰიდროლიზს, კარბაპენემების ჰიდროლიზის გამოვლენის სხვა მეთოდები და ლატერალური დინების ანალიზი. სხვადასხვა ტესტი აღწერილია ქვემოთ.

2.4.2 კომბინირებული დისკების ტესტი

კომბინირებული დისკების ტესტი ხელმისაწვდომია კომერციულად და იყო პირველი ფენოტიპური ტესტი, რომელიც გახდა ხელმისაწვდომი (MAST, UK; Rosco, დანია) (18-20). დისკები ან აბები შეიცავს მეროპენემს +/- სხვადასხვა ინჰიბიტორებს. მოკლედ რომ ვთქვათ, ბორის მჟავა ძირითადად აინჰიბირებს A კლასის კარბაპენემაზებს (თუმცა მწირია მონაცემები KPC-ის მიღმა), ხოლო დიპიკოლინის მჟავა და ეთილენ-დიამინ-ტეტრა-აცეტილ მჟავა, (EDTA) აინჰიბირებენ B კლასის კარბაპენემაზებს. გარდა ამისა, OXA-48-ს აინჰიბირებს ავიზაქტამი, რომელიც მიუხედავად ამისა დღემდე არ ყოფილა შეტანილი ფენოტიპურ პანელებში (21,22). კლოქსაცილინი, რომელიც აინჰიბირებს AmpC ბეტა-ლაქტამაზებს, დაემატა ტესტებს იმ მიზნით, რომ შესაძლებელი ყოფილიყო დიფერენცირება AmpC ჰიპერპროდუცირებას+პორინების კარგვასა და კარბაპენემაზების პროდუცირებას შორის. აღნიშნული ინჰიბიტორული ტესტების ინტეგრირების ალგორითმი წარმოდგენილია სურათ 1-ზე და მე-2 ცხრილში. ამ მეთოდების მთავარი ნაკლი არის ის, რომ მათ შესასრულებლად საჭიროა 18 საათი (პრაქტიკულად, ინკუბაცია მთელი ღამის განმავლობაში), ამ მიზეზით დაინერგა ახალი, სწრაფი მეთოდები.

სურათი 1. ალგორითმი კარბაპენემაზას გამოსავლენად.



¹ კარბაპენემაზების რამდენიმე კომბინაციამ შეიძლება არ გვაჩვენოს სინერგიულობა. მაგალითად KPC და MBL კომბინაციამ მათი გამოვლენა ძალიან იოლია მოლეკულური მეთოდებით.

² მაღალი დონის რეზისტენტობა ტემოცილინის მიმართ (მიკ>128 მგ/ლ, ზონის სავარაუდო დიამეტრი <11 მმ) წარმოადგენს OXA-48-წარმოქმნის ფენოტიპურ ინდიკატორებს.

ცხრილი#2-ში წარმოდგენილი ალგორითმი ასახავს განსხვავებას მეტალო-β-ლაქტამაზებს, A კლასის კარბაპენემაზებს, D კლასის კარბაპენემაზებს და არა-კარბაპენემაზებს (ESBL და/ან AmpC + პორინების კარგვა) შორის. არა-მომთხოვნი ორგანიზმების შემთხვევაში ტესტები შეიძლება გაკეთდეს EUCAST დისკების დიფუზიის მეთოდით. კომერციული ტესტები უნდა დაიდგას მწარმოებლის მითითებების შესაბამისად თითოეული ტესტისათვის.

დღეისათვის არ არის ხელმისაწვდომი OXA-48-ს მსგავსი ფერმენტების ინჰიბიტორები. მაღალი დონის რეზისტენტობა ტემოცილინის მიმართ (MIC >128 მგ/ლ) შემოთავაზებული იქნა, როგორც ფენოტიპური მარკერი OXA-48-ს მსგავსი კარბაპენემაზას წარმოქმნის შესაძლებლობის (23, 24). თუმცა, ეს მარკერები არ არის სპეციფიკური OXA-48-ტიპის კარბაპენემაზებისთვის რამდენადაც რეზისტენტობის სხვა მექანიზმებს შეუძლიათ მიაწიონ ასეთივე ფენოტიპი. ამიტომ, OXA-48-მსგავსი ფერმენტების არსებობის დადასტურება უნდა მოხდეს გენოტიპური მეთოდებით.

არ არის რეკომენდირებული მოდიფიცირებული სამყურას ფოთლის (ჰოდჯის-Hodge) ტესტი რამდენადაც რთულია შედეგების ინტერპრეტაცია, დაბალია სპეციფიურობა და ზოგ შემთხვევაში, ოპტიმალურზე დაბალია მგრძნობელობაც

(12). აღწერილია მეთოდის რამოდენიმე ახალი მოდიფიკაცია, მაგრამ ისინი ძალიან რთულია რუტინულ კლინიკურ ლაბორატორიებში გამოსაყენებლად და ვერ გადაჭრიან მგრძნობელობასა და სპეციფიურობასთან დაკავშირებულ ყველა პრობლემას.

ცხრილი 2. ფენოტიპური ტესტების ინტერპრეტაცია (კარბაპენემზე მოცემულია **მსხვილი შრიფტით**) დისკების ან აბების დიფუზიის მეთოდით. სინერგიულობის ზუსტი განსაზღვრებები წარმოდგენილია სხვადასხვა კომერციული პროდუქტების კოლოფების ჩანართებში.

β-ლექტამაზა	სინერგიულობა აღინიშნა ზონის დიამეტრის ზრდაში (მმ)10 µg მეროპენემის დისკი/აბი				ტემოცილინის მიკ >128 მგ/ლ ან ზონის დიამეტრი <11 მმ
	DPA/EDTA	APBA/PBA	DPA+APBA	CLX	
MBL	+	-	-	-	ცვლადი ¹
KPC	-	+	-	-	ცვლადი ¹
MBL + KPC2	ცვლადი	ცვლადი	+	-	ცვლადი ¹
OXA-48-like	-	-	-	-	დიახ
AmpC + პორინების დაკარგვა	-	+	-	+	ცვლადი ¹
ESBL + პორინების დაკარგვა	-	-	-	-	არა

შემოკლებები: MBL=მეტალო-β-ლექტამაზა, KPC=*Klebsiella pneumoniae* კარბაპენემაზა, DPA=დიპიკოლინის მჟავა, EDTA=ეთილენ-დიამინ-ტეტრა-აცეტილ მჟავა, APBA=ამინოფენილბორის მჟავა, PBA=ფენილბორის მჟავა, CLX=კლოქსაცილინი.

¹ ტემოცილინის მიმართ მგრძნობელობის ტესტი რეკომენდირებულია მხოლოდ იმ შემთხვევებში, როდესაც არ არის გამოვლენილი სირეგიულობა. იმისათვის, რომ განვასხვავოთ ESBL + პორინების კარგვა და OXA-48-მსგავსი ფერმენტები (23, 24). სხვა ფერმენტების არსებობისას მგრძნობელობა ხდება ცვლადი და არ იძლევა ბეტა-ლექტამაზას არსებობის შესახებ სხვა დამატებით მაჩვენებელს.

² არსებობს ერთი ანგარიში, რომელიც მხარს უჭერს ორმაგი ინჰიბიტორების (DPA და EDTA პლუს APBA ან PBA) შემცველი კომერციული აბების გამოყენებას (25), მაგრამ არის მრავალ-ცენტრული კვლევების ან მრავალჯერადი ერთ-ცენტრული კვლევების ნაკლებობა. ეს კომბინაცია კარბაპენემებს ანიჭებს მაღალი დონის რეზისტენტობას და იშვიათია საბერძნეთის ფარგლებს გარეთ.

2.4.3 ბიოქიმიური (კოლორიმეტრული) ტესტი

Carba NP ტესტი წარმოადგენს სწრაფ (<2სთ) ტესტს, კარბაპენემის ჰიდროლიზის გამოვლენისათვის, რომელიც იწვევს pH ცვლილებას, რაც განაპირობებს ფერის ცვლილებას წითელიდან ყვითელში ფენოლის წითელის ხსნართან ერთად (26, 27). Carba NP ტესტის ვალიდაცია მოხდა ბაქტერიული კოლონიებით რომლებიც გაზრდილი იყო მიულერ-ჰინტონის (Mueller-Hinton) ნიადაგიან ფინჯებზე, სისხლიანი აგარის ფინჯებზე, ტრიპტიკაზა-სოიოს აგარიან ფინჯებზე და ყველაზე სელექტიურ ნიადაგებზე, რომლებიც გამოიყენება კარბაპენემას წარმოქმნელების სკრინინგში. Carba NP ტესტი ვერ შესრულდება დრიგალსკის ან მაკკონკის აგარიან ფინჯებზე გაზრდილი ბაქტერიული კოლონიებით. აღნიშნულ მეთოდში ზედმიწევნით ყურადღებით უნდა შესრულდეს სხვადასხვა საფეხურები რათა მივიღოთ განმეორებადი შედეგები. რამდენიმე პუბლიკაციაში აღნიშნულია ამ მეთოდის მაღალი სენსიტიურობა და სფეციფიურობა (28), თუმცა ერთმა პუბლიკაციამ გამოავლინა მგრძნობელობასთან დაკავშირებული პრობლემები მუკოიდური (ლორწოვანი) ფენოტიპის მქონე შტამებში და ზოგიერთ ენტერობაქტერიაში, რომელიც წარმოქმნის OXA-48-ს (29). მეთოდის ერთი კომერციული ვარიანტი წარმატებით ასრულებს ენტერობაქტერიებში კარბაპენემაზების გამოვლენას (30, 31). გარკვეული კომერციული ტესტებით, მათ შორის Carba NP კომერციული ვერსიით, არსებობს ინტერპრეტაციასთან დაკავშირებული პრობლემები, რომელიც უკავშირდება ფერის ცვლილების არასათანადო წაკითხვას და გარკვეულწილად (3-5%-ში) შედეგების ინტერპრეტაციის უზუსტობას.

Carba NP ტესტის დერივატი, Blue-Carba test (BCT), წარმოადგენს ბიოქიმიურ წრაფ (<2სთ) ტესტს კარბაპენემას წარმოქმნის დეტექციისათვის (32,33). ტესტი ეფუძნება ბაქტერიული კოლონიების მიერ იმიპენემის in vitro ჰიდროლიზს (პირდაპირი ინოკულაცია წინასწარი ლიზისის გარეშე), რომლის აღმოჩენა ხდება pH მაჩვენებლების ცვლილებებით, რომელიც თავისმხრივ ვლინდება ბრომთიმოლის ლურჯით (ცისფერიდან მწვანეში/ყვითელში ან მწვანედან ყვითელში). Pasteran et al. (34)-ის შეფასების მიხედვით, ტესტს გააჩნდა შესანიშნავი A და B კლასის ფერმენტებისათვის, მაგრამ სუბოპტიმალური მგრძნობელობა OXA-48-ის ფერმენტების დეტექციისათვის. გასათვალისწინებელია რომ შეფასება ჩატარდა მხოლოდ ერთ ლაბორატორიაში.

მესამე ბიოქიმიური ტესტი არის ბეტა CARBA test™, რომელსაც ასევე ესაჭიროება <2 საათი. ტესტი ტარდება რეაგენტებში 1 და 3 კოლონიების შერევით. წაკითხვა უნდა მოხდეს ინკუბაციის მაქსიმუმ 30 წუთის შემდეგ. ფერის ცვლილება ყვითლიდან ნარინჯისფერზე, წითელზე ან იასამნისფერზე მიანიშნებს დადებით რეაქციას. ერთი კვლევის მიხედვით, 0.5 საათიანი ინკუბაცია რეკომენდებული მწარმოებლის მიერ ძალიან მცირე დროა OXA-48 წარმოქმნელი შტამებისათვის. შეფასებული შტამების რაოდენობა საკმაოდ მცირე იყო, აქედან გამომდინარე, აღნიშნული ტესტის სხვა ბიოქიმიურ ტესტებთან შესადარების მიზნით, შეთავაზებულ იქნა ფართო მასშტაბების ცდა (35). სხვა შეფასებისას, β CARBA ტესტმა™ აჩვენა შესანიშნავი შედეგი CPE-ის დეტექციაში, განსაკუთრებით კი OXA-48-ის. თუმცა, გარდა A კლასისა, სხვა კარბაპენემაზების გამოვლენისათვის საჭიროა შემდგომი შემოწმება. აღნიშნა ცრუ-დადებითი შედეგები სხვა ბეტა-ლაქტამაზებთან, როგორცაა *Klebsiella oxytoca*-ში K1, ბეტა-ლაქტამაზის ჭარბად წარმოქმნა (33).

2.4.4 კარბაპენემის ინაქტივაციის მეთოდი

აღნიშნული მეთოდის პრინციპი გულისხმობს ფერმენტული ჰიდროლიზის გამოსავლენად ბაქტერიულ სუსპენზიასთან ერთად კარბაპენემის ინკუბაციას. CIM მეთოდი იყენებს ანტიბიოტიკო-მგრძნობელობის ტესტირების დისკებს, როგორც ალიქვოტს. მეროპენემის დისკით ბაქტერიის სრული ინკუბაციის ციკლიდან 2 საათის გასვლის შემდეგ, დისკი უნდა მოთავსდეს აგარზე, რომელიც ინოკულირებულია *Escherichia coli* ATCC 25922-ით. ფერმენტული ინაქტივაციის შემთხვევაში, არ წარმოიქმნება ზონა, ხოლო, მაშინ როდესაც სახეზე არ გვაქვს კარბაპენემაზის აქტიურობა, ხდება ზონის წარმოქმნა, რადგან არ მოხდა დისკში მეროპენემის ჰიდროლიზი.

CIM ტესტს, სხვადასხვა კვლევების მიხედვით გააჩნდა განსხვავებული ეფექტურობა (36-38), თუმცა ის მაინც რჩება შესაძლოა ალტერნატივად, იმისდამოუხედავად რომ უარყოფითი პროგნოზის მაჩვენებელი დღემდე გაურკვეველია. აღნიშნული მეთოდის ერთ ძირითად უარყოფით მხარეს წარმოადგენს შედეგების მისაღებად საჭირო მინიმუმ 18 საათი.

2.4.5 კარბაპენემის ჰიდროლიზის გამოვლენა MALDI-TOF-ის საშუალებით

პრინციპს წარმოადგენს მასობრივ სპექტომეტრულ მოწყობილობაში (MALDI TOF), კარბაპენემების სპეციფიური პიკების შემცირების ან გაქრობის გამოვლენა, მასობრივ სპექტრუმში, როდესაც ბაქტერიული სუსპენზია ინკუბირებულია კარბაპენემით (39-40). სპექტრი იზომება გამშრალეების მერე, m/z 160 და 600 შორის, Microflex LT მასობრივი სპექტომეტრის (39) გამოყენებით. მეთოდის კარგი მგრძნობელობა და სპეციფიურობა ნაჩვენებია მრავალ კვლევაში, გამოწვევის წარმოადგენს OXA-48 ჯგუფის ფერმენტები. ამ პრობლემის გადაჭრის მიზნით, რეაქციას უნდა დაემატოს NH_4HCO_3 . ერთმა კვლევამ აჩვენა, რომ აღნიშნული მოდიფიკაცია აუმჯობესებს OXA-48-ის აღმოჩენას (41). თუმცა, ახალ მეთოდს არ გაუვლია მრავალ-ცენტრიანი ან მრავალჯერადი ერთ-ცენტრიანი შეფასებები. სხვა, გარკვეულწილად არაპრაქტიკულ თავისებურებას წარმოადგენს, ის ფაქტი, რომ MALDI-TOF –ის შემთხვევაში, საჭიროა პარამეტრების ცვლილება (41).

ლატერალური დინების ანალიზი

აღწერილია ახალი იმუნოქრომატოგრაფიული ლატერალური დინების ანალიზი ეფუძნება OXA-48-ის ეპიტოპების იმუნოლოგიურ გამოვლენას/დაფიქსირებას, კოლოიდური ოქროს ნანონაწილაკების გამოყენებით, რომლებიც ლატერალური დინების მოწყობილობით, დაკავშირებულია ნიტროცელულოზურ მემბრანასთან. აღნიშნული ტესტის პრინციპი მდგომარეობს მონოკლონური ანტი - OXA-48 ანტისხეულების, როგორც სპეციფიური 'capture' რეაგენტების შერჩევა, OXA-48-მსგავსი ფერმენტების პირდაპირი იდენტიფიკაციისათვის (42). ტესტს ესაჭიროება დაახლოებით 4 წუთი; შეფასება განხორციელდა როგორც კოლონიებიდან ისე spiked blood culture bottles (43-46). ბოლო დროს, მსგავსი ტესტი შემუშავდა KPC-თვის. თუმცა, ახალ მეთოდს არ გაუვლია მრავალ-ცენტრიანი ან მრავალჯერადი ერთ-ცენტრიანი შეფასებები (46).

2.4.6 საკონტროლო შტამები

ქვემოთ ჩამოთვლილია შესაძლო საკონტროლო შტამები, ფენოტიპური და გენოტიპური ექსპერიმენტებისათვის. ხარისხის კონტროლის დიაპაზონები ხელმიუწვდომელია აღნიშნული შტამებისათვის. კომერციული მეთოდების გამოყენებისათვის გთხოვთ იხილოთ პაკეტის შიგთავსი, იმ იმფორმაციის მისაღებად თუ რომელი საკონტროლო შტამი უნდა იქნას გამოყენებული.

ცხრილი 3. საკონტროლო შტამები კარბაპენემზას ტესტირებისთვის.

შტამი	მექანიზმი
<i>Enterobacter cloacae</i> CCUG 59627	AmpC კომბინირებული პორინების შემცირებულ ექსპრესიასთან
<i>K. pneumoniae</i> CCUG 58547 or <i>K. pneumoniae</i> NCTC 13440	მეტალო-ბეტა-ლაქტამაზა (VIM)
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 13443	მეტალო-ბეტა-ლაქტამაზა (NDM-1)
<i>E. coli</i> NCTC 13476	მეტალო-ბეტა-ლაქტამაზა (IMP)
<i>K. pneumoniae</i> CCUG 56233 or <i>K. pneumoniae</i> NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i> კარბაპენემზა (KPC)
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 13442	OXA-48 კარბაპენემზა
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 25955	უარყოფითი კონტროლი

2.5 საცნობარო ლიტერატურა

1. Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:413-31
2. Vatsopoulos A. High rates of metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece – a review of the current evidence. *Euro Surveill.* 2008;13(4). doi:pii: 8023
3. Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveill.* 2015;20(45).
4. European Centres for Disease Prevention and Control (ECDC). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)
5. Baraniak A, Izdebski R, Fiett J, Gawryszewska I, Bojarska K, et al. NDM-producing Enterobacteriaceae in Poland, 2012-2014: interregional outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST11 and sporadic cases. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71:85-91
6. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(10):1791-8.
7. Souli M, Galani I, Antoniadou A, Papadomichelakis E, Poulakou G et al. An outbreak of infection due to β -lactamase *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin Infect Dis* 2010;50:364-73.
8. Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, Quale J. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch Intern Med.* 2005; 165:1430-5.
9. Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwaber MJ, Carmeli Y. Isolation of imipenem-resistant *Enterobacter* species: emergence of KPC-2 carbapenemase, molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52:1413-8
10. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:440-58
11. Falcone M, Mezzatesta ML, Perilli M, Forcella C, Giordano A et al. Infections with VIM-1 metallo β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* and their correlation with clinical outcome. *J Clin Microbiol* 2009;47: 3514-9.
12. Doumith M, Ellington MJ, Livermore DM, Woodford N. Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant *Klebsiella* and *Enterobacter* spp. clinical isolates from the UK. *J Antimicrob Chemother.* 2009;63:65967
13. Yamachika S, Sugihara C, Kamai Y, Yamashita M. Correlation between penicillin-binding protein 2 mutations and carbapenem resistance in *Escherichia coli*. *J Med Microbiol.* 2013;62:429-36.
14. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:432-8.
15. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Website with MIC-distributions. (<http://mic.eucast.org/>, accessed on 23 December 2012)
16. Glupczynski Y, Huang TD, Bouchahrouf W, Rezende de Castro R, Bauraing C et al. Rapid emergence and spread of OXA-48-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates in Belgian hospitals. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;39:168-72
17. Tato M, Coque TM, Ruíz-Garbajosa P, Pintado V, Cobo J et al. Complex clonal and plasmid epidemiology in the first outbreak of Enterobacteriaceae infection involving VIM-1 metallo- β -lactamase in Spain: toward endemicity? *Clin Infect Dis.* 2007;45(9):1171-8.
18. Vading M, Samuelsen Ø, Haldorsen B, Sundsfjord AS, Giske CG. Comparison of disk diffusion, Etest® and VITEK2 for detection of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* with the EUCAST and CLSI breakpoint systems. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:668-74.
19. 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;17:552-6.
20. Doyle D, Peirano G, Lascos C, Lloyd T, Church DL, Pitout JD. Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases. *J Clin Microbiol.* 2012;50:3877-80.
21. Porres-Osante N, de Champs C, Dupont H, Torres C, Mammeri H. Use of avibactam to detect Ambler class A carbapenemases and OXA-48 β -lactamases in Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014; 79:399-400.
22. Huang TD, Berhin C, Bogaerts P, Glupczynski Y. Evaluation of avibactam-supplemented combination disk tests for the detection of OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014;79:252-4.
23. van Dijk K, Voets G, Scharringa J, Voskuil S, Fluit A, Rottier W, Leverstein-Van Hall M, Cohen Stuart J. A disc diffusion assay for detection of class A, B and OXA-48 carbapenemases in Enterobacteriaceae using phenyl boronic acid, dipicolinic acid, and temocillin. *Clin Microbiol Infect* 2013. In press
24. Hartl R, Widhalm S, Kerschner H, Apfalter P. Temocillin and meropenem to discriminate resistance mechanisms leading to decreased carbapenem susceptibility with focus on OXA-48 in Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:E230-2.

25. Miriagou V, Tzelepi E, Kotsakis SD, Daikos GL, Bou Casals J, Tzouveleakis LS. Combined disc methods for the detection of KPC- and/or VIM-positive *Klebsiella pneumoniae*: improving reliability for the double carbapenemase producers. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:E412-5
26. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:1503-7.
27. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Rapid Identification of carbapenemase types in *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* spp. by using a biochemical test. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:6437-40.
28. Vasoo S, Cunningham SA, Kohner PC, Simner PJ, Mandrekar JN, Lolans K, Hayden MK, Patel R. Comparison of a novel, rapid chromogenic biochemical assay, the Carba NP test, with the modified Hodge test for detection of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol*. 2013;51:3097-101.
29. Tijet N, Boyd D, Patel SN, Mulvey MR, Melano RG. Evaluation of the Carba NP test for rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57:4578-80.
30. Dortet L, Agathine A, Naas T, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. Evaluation of the RAPIDEC® CARBA NP, the Rapid CARB Screen® and the Carba NP test for biochemical detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother*. 2015 ; 70):3014-22.
31. Kabir MH, Meunier D, Hopkins KL, Giske CG, Woodford N. A two-centre evaluation of RAPIDEC® CARBA NP for carbapenemase detection in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother*. 2016 ;71:1213-6.
32. Huang TD, Berhin C, Bogaerts P, Glupczynski Y. Comparative evaluation of two chromogenic tests for rapid detection of carbapenemase in *Enterobacteriaceae* and in *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *J Clin Microbiol*. 2014;52(8):3060-3.
33. Noël A, Huang TD, Berhin C, Hoebeke M, et al. Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria. *J Clin Microbiol*. 2017 Feb;55(2):510-518
34. Pasteran F, Veliz O, Ceriana P, Lucero C, Rapoport M, et al. Evaluation of the Blue-Carba test for rapid detection of carbapenemases in gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol*. 2015 ;53(6):1996-8.
35. Compain F, Gallah S, Eckert C, Arlet G, Ramahefeso A, et al. Assessment of Carbapenem Resistance in *Enterobacteriaceae* with the Rapid and Easy-to-Use Chromogenic β -Carba Test. *J Clin Microbiol*. 2016;54(12):3065-3068
36. van der Zwaluw K, de Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, de Neeling AJ, et al. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PLoS One*. 2015;10(3):e0123690
37. Yamada K, Kashiwa M, Arai K, Nagano N, Saito R. Comparison of the Modified-Hodge test, Carba NP test, and carbapenem inactivation method as screening methods for carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *J Microbiol Methods*. 2016;128:48-51.
38. Tijet N, Patel SN, Melano RG. Detection of carbapenemase activity in *Enterobacteriaceae*: comparison of the carbapenem inactivation method versus the Carba NP test *J Antimicrob Chemother*. 2016 ;71(1):274-6.
39. Hrabák J, Studentová V, Walková R, Zemlicková H, Jakubu V et al. Detection of NDM-1, VIM-1, KPC, OXA-48, and OXA-162 carbapenemases by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2012;50:2441-3
40. Lasserre C, De Saint Martin L, Cuzon G, Bogaerts P, Lamar E, et al. Efficient Detection of Carbapenemase Activity in *Enterobacteriaceae* by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry in Less Than 30 Minutes. *J Clin Microbiol*. 2015; 53:2163-71.
41. Papagiannitsis CC, Študentová V, Izdebski R, Oikonomou O, Pfeifer Y, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry meropenem hydrolysis assay with NH_4HCO_3 , a reliable tool for direct detection of carbapenemase activity. *J Clin Microbiol*. 2015;53(5):1731
42. Pasteran F, Denorme L, Ote I, Gomez S, De Belder D, Glupczynski Y, Bogaerts P, Ghiglione B, Power P, Mertens P, Corso A. Rapid identification of OXA-48 and OXA-163 Subfamilies in carbapenem-resistant gram-negative bacilli with a novel immunochromatographic lateral flow assay. *J Clin Microbiol*. 2016;54(11):2832-2836
43. Dortet L, Jousset A, Sainte-Rose V, Cuzon G, Naas T. Prospective evaluation of the OXA-48 K-SeT assay, an immunochromatographic test for the rapid detection of OXA-48-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(7):1834-40.
44. Wareham DW, Shah R, Betts JW, Phee LM, Momin MH. Evaluation of an Immunochromatographic Lateral Flow Assay (OXA-48 K-SeT) for Rapid Detection of OXA-48-Like Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol*. 2016;54(2):471-3
45. Meunier D, Vickers A, Pike R, Hill RL, Woodford N, Hopkins KL. Evaluation of the K-SeT R.E.S.I.S.T. immunochromatographic assay for the rapid detection of KPC and OXA-48-like carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(8):2357-9.
46. Glupczynski Y, Evrard S, Ote I, Mertens P, Huang TD, et al. Evaluation of two new commercial immunochromatographic assays for the rapid detection of OXA-48 and KPC carbapenemases from cultured bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(5):1217-22

3. ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზას (ESBL)-წარმომქმნელი ენტერობაქტერიები

რეზისტენტობის მექანიზმის გამოვლენის მნიშვნელოვნება	
აუცილებელია კლინიკური ანტიბიოტიკომგრძნობელობის კატეგორიზაციისთვის	არა
ინფექციური კონტროლი	დიახ
საზოგადოებრივი ჯანმრთელობა	დიახ

3.1 განსაზღვრება

გსბლ (ESBL)–ები წარმოადგენს ფერმენტებს, რომლებიც ახდენენ პენიცილინებისა და ცეფალოსპორინების უმრავლესობის ჰიდროლიზს, მათ შორის ოქსიმინო-β-ლაქტამის შემადგენელი ნაწილების (ცეფუროქსიმი, მე-3 და მე-4 თაობის ცეფალოსპორინები და აზტრეონამი), მაგრამ არა ცეფამიდინების ან კარბაპენემების ჰიდროლიზს. გსბლ (ESBL)–ების უმრავლესობა მიეკუთვნება ბეტა-ლაქტამაზების ამბლერის (Ambler) A კლასს და ინჰიბირდება ბეტა-ლაქტამაზას ინჰიბიტორებით (კლავულანის მჟავა, სულბაქტამი და ტაზობაქტამი) და დიაზაბიციკლოქსანონით (ავიბაქტამი) (1).

3.2 კლინიკური და/ან ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა

ESBL–ს წარმომქმნელი პირველი შტამები გამოვლენილი იქნა 1983 წელს და მას შემდეგ ნანახი იქნა მთელს მსოფლიოში. ასეთი გავრცელება წარმოადგენს ESBL–წარმომქმნელი ორგანიზმების კლონური ექსპანსიის შედეგს, პლაზმიდებზე ESBL გენების ჰორიზონტალური გადაცემისა და იშვიათად, მათი ხელახალი წარმოქმნით განპირობებულს. კლინიკურად ESBL–ის ყველაზე მნიშვნელოვან ჯგუფებს წარმოადგენს CTX-M ფერმენტები, რომლებიც გამოჩნდნენ ადრეულ 2000 წლებში და რომელთაც მოჰყვება SHV- და TEM –დან წარმოქმნილი ESBL–ები (2-5).

ESBL–ს წარმოქმნა ძირითადად შეინიშნება ენტერობაქტერიებში, თავდაპირველად საავადმყოფოების პირობებში, მოგვიანებით მოხუცთა სახლებში და 2000 წლიდან მოყოლებული საზოგადოებაში (ამბულატორიული პაციენტები, ჯანმრთელი მტარებლები, ავადმყოფი და ჯანმრთელი ცხოველები, საკვები პროდუქტები). ყველაზე ხშირად გვხვდება ESBL–ს წარმომქმნელი *Escherichia coli* და *K. pneumoniae*. თუმცა, ენტერობაქტერიების ყველა სხვა, კლინიკური მნიშვნელობის მქონე სახეობები ასევე ჩვეულებრივ გამოიმუშავენ ESBL–ს. ESBL–დადებითი შტამების პრევალენტობა დამოკიდებულია მთელ რიგ ფაქტორებზე: სახეობაზე, გეოგრაფიულ მდებარეობაზე, საავადმყოფო/განყოფილებაზე, პაციენტების ჯგუფზე, ინფექციის სახეობაზე და მათი მრავალგვარი ვარიაციები იქნა აღწერილი სხვადასხვა კვლევებში (2,3,6,7). EARS-Net–ს 2011წ. მონაცემებმა აჩვენა, რომ ევროპის ქვეყნების უმეტესობაში მე-3 თაობის ცეფალოსპორინების მიმართ არა-მგრძნობიარე, ინვაზიური *K. pneumoniae*–ს შტამების წილმა გადააჭარბა 25%, ხოლო ევროპის ბევრ ქვეყანაში რეზისტენტობის მაჩვენებელი აღემატება 50%. გარდა საბერძნეთისა და იტალიისა, სადაც KPC ტიპის კარბაპენემაზა წარმომქმნელი იზოლატები წარმოადგენილია მაღალი მაჩვენებლით, ადგილობრივ ESBL ტესტების შედეგებზე დაყრდნობით სავარაუდოა, რომ ამ შტამების უმრავლესობა წარმოადგენს ESBL–წარმომქმნელს (8).

3.3 რეზისტენტობის მექანიზმები

ESBL–ების დიდი უმრავლესობა წარმოადგენს შეძენილ ფერმენტებს, რომლებიც კოდირებულია პლაზმიდებზე არსებული გენებით. შეძენილი ESBL–ები გამოვლინდება სხვადასხვა დონეზე და მნიშვნელოვნად განსხვავდება ბიოქიმიური მახასიათებლებით როგორცაა სპეციფიკური ბეტა-ლაქტამების საწინააღმდეგო მოქმედება (მაგალითად ცეფოტაქსიმი, ცეფტაზიდიმი, აზტრეონამი). გამოვლენის დონე, ფერმენტის თვისებები და რეზისტენტობის სხვა მექანიზმების თანაარსებობა (სხვა ბეტა-ლაქტამაზები, ეფლუქსი, შეცვლილი შეღწევადობა) განაპირობებს რეზისტენტული ფენოტიპების დიდ მრავალფეროვნებას, რომელიც ნანახია ESBL–ს წარმომქმნელ შტამებში (1-4, 9-11).

3.4 რეკომენდირებული მეთოდები ენტერობაქტერიაგვს გვარში ESBL-ის გამოსავლენად

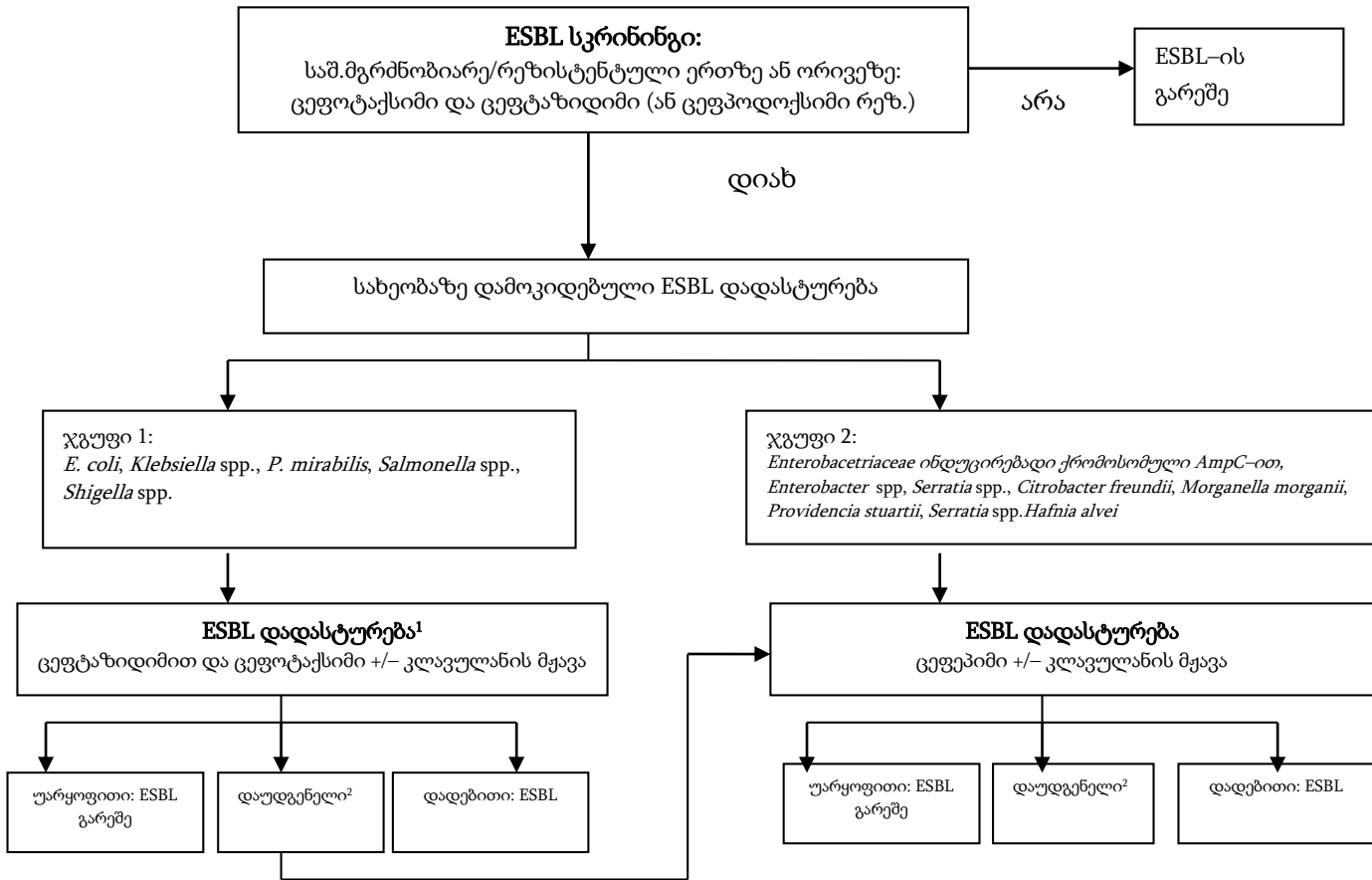
ბევრ ქვეყანაში ESBL აღმოჩენა და დახასიათება რეკომენდირებული ან სავალდებულოა ინფექციური კონტროლის მიზნით. ენტერობაქტერიებში ESBL-ს გამოვლენის რეკომენდირებული სტრატეგია ეფუძნება ოქსიმინო-ცეფალოსპორინების ინდიკატორის მიმართ არა-მგრძნობელობას, რასაც მოჰყვება ფენოტიპური (და ზოგიერთ შემთხვევაში გენოტიპის) დამადასტურებელი ტესტები (ცხრილი 1, სურათი 1).

სასკრინინგო ნორმა $>1\text{მგ/ლ}$ რეკომენდირებულია ცეფოტაქსიმის, ცეფტრიაქსონის, ცეფტაზიდიმის და ცეფპოდოქსიმისთვის EUCAST და CLSI-ს მიერ გამოცემული გაიდლაინების შესაბამისად (ცხრილი 1) (12, 13). ენტერობაქტერიებისთვისაც EUCAST კლინიკური ნორმა არის აგრეთვე მგრძნობიარე (S) 1მგ/ლ (12). ცეფპოდოქსიმი არის ყველაზე მგრძნობიარე ინდივიდუალური ინდიკატორი ცეფალოსპორინებში ESBL-წარმოქმნელის გამოსავლენად და შეიძლება მისი გამოყენება სკრინინგისთვის. თუმცა, იგი ნაკლებ სპეციფიკურია ვიდრე ცეფოტაქსიმის (ცეფტრიაქსონის) და ცეფტაზიდიმის კომბინაცია (14, 15) და მხოლოდ ეს უკანასკნელი ნაერთები გამოიყენება დამადასტურებელი ტესტირებისთვის. ინდიკატორი-ცეფალოსპორინებისთვის შესაბამისი ზონის დიამეტრები ნაჩვენებია ცხრილი #1.

ცხრილი 1. გსლ (ESBL) სკრინინგის მეთოდები ენტერობაქტერიებისთვის (13-19).

მეთოდი	ანტიბიოტიკი	ჩაატრეთ ESBL-ტესტი, თუ
ბულიონის ან აგარის განზავება ¹	ცეფოტაქსიმი/ცეფტრიაქსონი და ცეფტაზიდიმი	მიკ $>1\text{მგ/ლ}$ ნებისმიერი აგენტისთვის
	ცეფპოდოქსიმი	მიკ $>1\text{მგ/ლ}$
დისკის დიფუზია ¹	ცეფოტაქსიმი (5 μg) ან ცეფტრიაქსონი (30 μg) და ცეფტაზიდიმი (10 μg)	ინჰიბიციის ზონა $< 21\text{მმ}$
		ინჰიბიციის ზონა $< 23\text{მმ}$
		ინჰიბიციის ზონა $< 22\text{მმ}$
	ცეფპოდოქსიმი (10 μg)	ინჰიბიციის ზონა $< 21\text{მმ}$

¹ ყველა მეთოდში ნებისმიერი ტესტი, ცეფოტაქსიმი ან ცეფტრიაქსონი და ცეფტაზიდიმი ან ცეფპოდოქსიმი შეიძლება შემოწმდეს ცალკე.



¹თუ ცეფოქსიმი იქნა ტესტირებული და გააჩნა მიკ>8 მგ/ლ, დადგით ტესტი ცეფეპიმი +/- კლავულანის მქავეს დამადასტურებელი ტესტი

²დაუდგენელია დადებითია თუ უარყოფითი (მაგ. თუ დიფუზიის რიგი (strip) არ იკითხება იმის გამო, რომ მიკ მაჩვენებლის მიღმა არის ნაზარდი ან ნათლად არ ჩანს სინერგია კომბინირებულ დისკსა და ორმაგი დისკის სინერგიის ტესტებზე). იმ შემთხვევაში, თუ დადასტურება ცეფეპიმი +/- კლავულანის მქავე კვლავ შუალედურია, საჭიროა ჩატარდეს გენოტიპური ტესტირება.

3.4.1. ESBL- სკრინინგი ენტერობაქტერიების გვარში

A. სკრინინგი ენტერობაქტერიების 1 ჯგუფში (*E. coli, Klebsiella spp., Raoultella spp., P. mirabilis, Salmonella spp., Shigella spp.*)

რეკომენდირებული მეთოდები ენტერობაქტერიების 1 ჯგუფში ESBL-ს სკრინინგისთვის არის როგორც ბულიონის განზავება, ასევე აგარის განზავება, დისკების დიფუზია ან ავტომატიზირებული სისტემა (13, 20, 21). აუცილებელია, რომ ორივე, ცეფოტაქსიმი (ან ცეფტაქსონი) და ცეფტაზიდიმი იყოს გამოყენებული ინდიკატორ ცეფალოსპორინებად, რამდენადაც ESBL-წარმომქმნელ სხვადასხვა შტამებს შორის შესაძლებელია არსებობდეს დიდი სხვაობა ცეფოტაქსიმის (ან ცეფტაქსონი) და ცეფტაზიდიმის მიკ-ებს შორის (14, 22, 23).

სკრინინგისა და ფენოტიპური ESBL-დამადასტურებელი მეთოდების ალგორითმი ენტერობაქტერიების 1 ჯგუფისთვის, რომლებიც დადებითია სკრინინგ ტესტებში, აღწერილია სურათი 1 და ცხრილი 2.

B. სკრინინგი ენტერობაქტერიების 2 ჯგუფში (*Enterobacter spp, Serratia spp., Citrobacter freundii, Morganella morganii, Providencia spp, Hafnia alvei*)

ენტერობაქტერიების 2 ჯგუფისათვის რეკომენდირებულია, რომ ESBL სკრინინგი ჩატარდეს ზევით აღწერილი, 1 ჯგუფის ენტერობაქტერიებისთვის რეკომენდირებული მეთოდების მიხედვით (სურათი 1 და ცხრილი 3) (19). თუმცა,

ძალიან გავრცელებული ცეფალოსპორინების რეზისტენტობის მექანიზმი ამ სახეობებში არის დერეპრესირებული ქრომოსომული AMPC ბეტა-ლაქტამაზა. რამდენადაც, ცეფეპიმი მდგრადია AMPC ჰიდროლიზის მიმართ, იგი შეიძლება გამოყენებული იყოს ფენოტიპურ ტესტირებაში კლავულანის მჟავასთან ერთად.

3.4.2 ფენოტიპური დამადასტურებელი მეთოდები

რამოდენიმე ფენოტიპური მეთოდიდან ESBL-ს დასადასტურებლად რეკომენდირებული ოთხი მეთოდი ემყარება ESBL-აქტივობის ინ ვიტრო ინჰიბირებას კლავულანის მჟავას საშუალებით: კომბინირებული დისკის ტესტი (CDT), ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST), ESBL გრადიენტის ტესტი და ბულიონის მიკროგანზავების ტესტი (ცხრილები 2 და 3) (20, 21, 24). კომბინირებული დისკის ტესტმა აჩვენა უკეთესი სპეციფიურობა ვიდრე ESBL გრადიენტის ტესტმა და შედარებითი მგრძნობელობა ერთ-ერთ მრავალ-ცენტრიან კვლევაში (25). ავტომატიზირებული მგრძნობელობის ტესტების მწარმოებლებმა დანერგეს ESBL-ს გამოსავლენი ტესტები, რომელიც დამყარებულია კლავულანის მჟავის მიერ ESBL ფერმენტების ინჰიბირებაზე. დამადასტურებელი მეთოდების შესრულება განსხვავდება სხვადასხვა კვლევების მიხედვით, რაც დამოკიდებულია გამოსაკვლევი შტამების შეგროვებაზე და გამოყენებულ აპარტურაზე (17-19).

A. კომბინირებული დისკის ტესტი (CDT)

თითოეული ტესტისთვის გამოიყენება დისკები ან აბები, რომლებიც შეიცავენ მხოლოდ ცეფალოსპორინს (ცეფოტაქსიმი, ცეფტაზიდიმი, ცეფეპიმი) და არის კომბინაციაში კლავულანის მჟავასთან. კლავულანის მჟავასთან კომბინაციაში მყოფი ცეფალოსპორინის დისკის ან აბის ირგვლივ არსებული შეკავების ზონა შედარდება შეკავების ზონის დიამეტრს მხოლოდ ცეფალოსპორინის დისკის ან აბის ირგვლივ. ტესტი ითვლება დადებითად, თუ ინჰიბიციის ზონის დიამეტრი არის ≥ 5 მმ-ით მეტი კლავულანის მჟავასთან კომბინაციაში, ვიდრე მის გარეშე (ცხრილი 3) (26, 27).

B. ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST)

ცეფალოსპორინების (ცეფოტაქსიმი, ცეფტაზიდიმი, ცეფეპიმი) შემცველი დისკები იდება ფინჯებზე კლავულანის მჟავას (ამოქსიცილინ-კლავულანის მჟავა) დისკების გვერდით. დადებითი შედეგი აღირიცხება მაშინ, როდესაც ინჰიბიციის ზონები ნებისმიერი ცეფალოსპორინის დისკის ირგვლივ აუგმენტირებულია ან შეიმჩნევა 'keyhole' კლავულანის მჟავას შემცველი დისკის მიმართულებით. დისკებს შორის მანძილს აქვს კრიტიკული მნიშვნელობა და ცეფალოსპორინის 30 μ გ დისკებისთვის ოპტიმალური აღმოჩნდა 20 მმ ცენტრსა და ცენტრს შორის; თუმცა, დასაშვებია მისი შემცირება (15 მმ) ან გაფართოვება (30 მმ) შესაბამისად ძალიან მაღალი ან დაბალი დონის რეზისტენტობის მქონე შტამებისთვის (20). საჭიროა რეკომენდაციების გადაფასება ისეთი დისკებისთვის, რომლებსაც აქვთ ცეფალოსპორინების დაბალი შემცველობა, რომელიც გამოიყენება EUCAST-ის დისკების დიფუზიის მეთოდში.

C. გრადიენტის ტესტის მეთოდი

გრადიენტის ტესტები იდგმება, იკითხება და ინტერპრეტირდება მწარმოებლის მითითებების შესაბამისად. ტესტი დადებითია, თუ შეინიშნება კლავულანის მჟავასთან კომბინირებული ცეფალოსპორინების მიკ-ის 8-ჯერადი შემცირება მხოლოდ ცეფალოსპორინების მიკ-თან შედარებით ან თუ შეინიშნება ილუზორული ზონა ან დეფორმირებული ელიფსი (ილუსტრაციებისთვის იხილეთ მწარმოებლის ინსტრუქციები) (ცხრილი 3). ტესტის შედეგი დაუდგენელია, თუ ზოლები არ იკითხება იმის გამო, რომ ზოლში ნაზარდი გავრცელებულია მიკ დიაპაზონის მიღმა. ყველა სხვა დანარჩენ შემთხვევაში ტესტის შედეგი უარყოფითია. ESBL გრადიენტის ტესტი გამოყენებული უნდა იყოს მხოლოდ ESBL-ს წარმოების დასადასტურებლად და არ არის გამოსადეგი მიკ-ის განსაზღვრისათვის.

D. ბულიონის მიკროგანზავება

ბულიონის მიკროგანზავება სრულდება კათიონ-მორგებული მიულერ-ჰინტონის ბულიონით, რომელიც შეიცავს ცეფოტაქსიმის, ცეფტაზიდიმის და ცეფეპიმის სერიულ ორ-ჯერად განზავებებს, რომელთა კონცენტრაცია არის 0.25 დან 512 მგ/ლ ფარგლებში, კლავულანის მჟავის გარეშე და მასთან ერთად ფიქსირებული კონცენტრაციით 4 მგ/ლ. ტესტი ითვლება დადებითად, თუ კლავულანის მჟავასთან კომბინირებული ცეფალოსპორინის მიკ-ში შეინიშნება 8-ჯერადი შემცირება მხოლოდ ცეფალოსპორინის მიკ-თან შედარებით. ყველა სხვა დანარჩენ შემთხვევაში ტესტის შედეგები არის უარყოფითი (24).

E. ბიოქიმიური (კოლორიმეტრული) ტესტირება

ESBL NDP ტესტი პირველად აღიწერა 2012 წელს. ტესტის დადგმისას გამოიყენება ცეფოტაქსიმი, როგორც ანტიმიკრობული ინდიკატორი, ტაზობაქტამთან, როგორც ინჰიბიტორთან ერთად (28). ტესტი ტარდება 96 ფოსოიან

მიკროპლანშეტში ან მილაკებში. ფერის ცვლილება წითლიდან ყვითელზე მიანიშნებს რომ ტესტი დადებითია. ტესტი გამოყენებულია პაციენტების ნიმუშებისათვის (29). არწერილია ტესტის შესანიშნავი სენსიტიურობა და სფეციფიურობა, თუმცადა ტესტს არ გაუვლია მრავალცენტრიანი შეფასება.

β-LACTA კოლორიმეტრული ტესტია, რომელიც იყენებს ქრომოგენური ცეფალოსპორინის სუბსტრატს (HMRZ-86) იზოლატებისათვის და უშუალოდ კლინიკური ნიმუშებისათვის (30). პროსპექტულმა კვლევამ, რომელიც ჩატარდა ბელგიასა და საფრანგეთში, აჩვენა შესანიშნავი მგრძნობელობა და სპეციფიურობა *E. coli* და *K. pneumoniae*-თვის (96% და 100%, შესაბამისად), მაშინ როდესაც დაბალი მგრძნობელობა (67%) იმ სახეობებისათვის, რომლებიც გამოიმუშავებენ ინდუცირებულ AmpC ბეტა-ლექტამაზას. მაღალი უარყოფითი პროგნოზირებადი მაჩვენებელი *E. coli* და *K. pneumoniae*-თვის (99% ადგილებისათვის C3G რეზისტენტობით, რომელიც ვარირებს 10-30%-მდე) ხდის ამ მარტივ ტესტს ეფექტურად, იმისათვის რომ განისაზღვროს რეზისტენტობა მესამე თაობის ცეფალოსპორინების მიმართ, განსაკუთრებით კი ფართო სპექტრის ბეტა-ლექტამაზების მაპროდუცირებელ შტამებში.

E. სპეციალური მოსაზრებები და ინტერპრეტაცია

ESBL დამადასტურებელი ტესტები, რომლებიც ცეფოტაქსიმს იყენებენ ცეფალოსპორინების ინდიკატორად, შესაძლოა იყოს ცრუ-დადებითი *Klebsiella oxytoca* შტამებთან, რომლებსაც ახასიათებთ ქრომოსომული K1 (OXY-მსგავსი) ბეტა-ლექტამაზების ჰიპერპროდუცირება (31). მსგავსი ფენოტიპი შეიძლება შეგვხვდეს *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, *Citrobacter koseri* და *Kluyvera* spp. -ში და ზოგიერთ *C. koseri*-სთან დაკავშირებულ სახეობებში, როგორიცაა *C. sedlakii*, *C. farmeri* და *C. amalonaticus*, რომლებსაც აქვთ ქრომოსომული ბეტა-ლექტამაზები, რომლებიც ინჰიბირდება კლავულანის მჟავის მიერ (32, 33). ცრუ-დადებითი შედეგების მეორე შესაძლო მიზეზი არის SHV-1-, TEM-1- ან OXA-1-მსგავსი ფართო სპექტრის-β-ლექტამაზების ჰიპერპროდუცირება, რომელიც კომბინირებულია შეცვლილ შეღწევადობასთან (18). ასევე შეიძლება წარმოიშვას ცრუ დადებითი ტესტის შედეგების მსგავსი პრობლემა K1-ს წარმომქმნელ *K. oxytoca*-თვის, ან OXA-1-თვის, წარმომქმნელ *E. coli*-თვის, როდესაც გამოვიყენებთ მხოლოდ ცეფეპიმზე დამყარებულ დამადასტურებელ ტესტებს (34).

ცხრილი 2. ESBL დამადასტურებელი მეთოდები ენტერობაქტერიებისთვის, რომლებიც დადებითია ESBL სკრინინგის ტესტებში (იხ. ცხრილი 1). 1 ჯგუფის ენტერობაქტერიები (იხ. სურათი 1).

მეთოდი	ანტიმიკრობული აგენტი (დისკის შემცველობა)	ESBL დადასტურება არის დადებითი, თუ
ESBL გრადიენტის ტესტი	ცეფოტაქსიმი +/- კლავულანის მჟავა	მიკ მაჩვენებელი ≥ 8 ან დეფორმირებული ელიფსის არსებობა
	ცეფტაზიდიმი +/- კლავულანის მჟავა	მიკ მაჩვენებელი ≥ 8 ან დეფორმირებული ელიფსის არსებობა
კომბინირებული დისკის დიფუზიის ტესტი (CDT)	ცეფოტაქსიმი(30 µg) +/- კლავულანის მჟავა(10 µg)	≥ 5 მმ ინჰიბიციის ზონის გაზრდა
	ცეფტაზიდიმი (30 µg) +/- კლავულანის მჟავა (10 µg)	≥ 5 მმ ინჰიბიციის ზონის გაზრდა
ბულიონის მიკროგანზავება	ცეფოტაქსიმი +/- კლავულანის მჟავა(4 მგ/ლ)	მიკმაჩვენებელი ≥ 8
	ცეფტაზიდიმი +/- კლავულანის მჟავა(4 მგ/ლ)	მიკმაჩვენებელი ≥ 8
	ცეფეპიმი +/- კლავულანის მჟავა (4 მგ/ლ)	მიკმაჩვენებელი ≥ 8
ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST)	ცეფოტაქსიმი, ცეფტაზიდიმი და ცეფეპიმი	ინდიკატორ ცეფალოსპორინის ინჰიბიციის ზონის გაფართოვება ამოქსიცილინ-კლავულანის მჟავის დისკის მიმართულებით

ცხრილი 2. ESBL დამადასტურებელი მეთოდები ენტერობაქტერიებისთვის, რომლებიც დადებითია ESBL სკრინინგის ტესტებში (იხ. ცხრილი 1). 2 ჯგუფის ენტერობაქტერიები (იხ. სურათი 1).

მეთოდი	ანტიბიოტიკი	ESBL დადასტურება არის დადებითი, თუ
ESBL გრადიენტის ტესტი E-ტესტი ESBL	ცეფეპიმი+/- კლავულანის მჟავა	მიკ მაჩვენებელი ≥ 8 ან დეფორმირებული ელიფსის არსებობა
კომბინირებული დისკის დიფუზიის ტესტი (CDT)	ცეფეპიმი(30 μ g) +/- კლავულანის მჟავა (10 μ g)	≥ 5 მმ ინჰიბიციის ზონის გაზრდა
ბულიონის მიკროგანჯავება	ცეფეპიმი+/- კლავულანის მჟავა (ფიქსირებული კონცენტრაცია 4 მგ/ლ)	მიკ მაჩვენებელი ≥ 8
ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST)	ცეფოტაქსიმი, ცეფტაზიდიმი, ცეფეპიმი	ინდიკატორ ცეფალოსპორინის ინჰიბიციის ზონის გაფართოვება ამოქსიცილინ-კლავულანის მჟავის დისკის მიმართულებით

3.4.3 ESBL–ს გენოტიპური გამოვლენა სხვა ბეტა-ლექტამაზების თანარსებობისას, რომლებიც ნილბავენ სინერგიულობას

დაუდგენელი ტესტის შედეგები (Etest) და ცრუ უარყოფითი ტესტის შედეგები (CDT, DDST, Etest და ბულიონის მიკროგანჯავება) შეიძლება გამოიწვიოს AMPC ბეტა-ლექტამაზას მაღალი დონის ექსპრესიამ, რომელიც ნილბავს ESBL–ს არსებობას (20, 34, 35). შტამები, რომლებსაც აქვთ AMPC ბეტა-ლექტამაზას გამოვლინება მაღალი დოზით, როგორც წესი, ავლენენ აშკარა რეზისტენტობას მესამე თაობის ცეფალოსპორინების მიმართ. გარდა ამისა, რეზისტენტობას ცეფამიცილების მიმართ, მაგალითად ცეფოქსიტინის MIC > 8 მგ/ლ, შეიძლება იყოს მინიშნება AMPC ბეტა-ლექტამაზას მაღალი დონით გამოვლინებაზე (34), იშვიათი გამონაკლისია ACC ბეტა-ლექტამაზები, რომელიც არ ანიჭებს ცეფოქსიტინის მიმართ რეზისტენტობას (36).

AmpC ბეტა-ლექტამაზების მაღალი დონით ექსპრესიის მქონე შტამებში ESBL–ს არსებობის დასადასტურებლად, რეკომენდირებულია ჩატარდეს დამატებითი ESBL–ს დამადასტურებელი ტესტი, სადაც ცეფეპიმი იქნება ინდიკატორი–ცეფალოსპორინი, რადგანაც ჩვეულებრივ AmpC ბეტა-ლექტამაზები ვერ ახდენენ ცეფეპიმის ჰიდროლიზს. ცეფეპიმი შეიძლება გამოყენებულ იქნას ყველა – CDT, DDST, გრადიენტის ტესტში ან ბულიონის მიკროგანჯავების ტესტების ფორმატებში (27, 33–39). ალტერნატიულ მიდგომაში შედის კლოქსაცილინის გამოყენება, რომელიც წარმოადგენს კარგ ინჰიბიტორს AmpC ფერმენტებისთვის. ტესტის ფორმატი არის კომბინირებული დისკების ტესტი (CDT) ორი ცეფალოსპორინის ინდიკატორის (ცეფოტაქსიმი და ცეფტაზიდიმი) შემცველი დისკით კლავულანის მჟავასა და კლოქსაცილინთან ერთად; და სტანდარტული CDT ან DDST ტესტები აგარის ფინჯნებზე, რომლებსაც დამატებული აქვს 200–250 მგ/ლ კლოქსაცილინი (19). ბაზარზე არსებობს აგრეთვე დისკები ან აბები, რომლებიც შეიცავენ ორივეს – კლავულანის მჟავას და კლოქსაცილინს, მაგრამ არ არსებობს ამგვარი პროდუქტების გამოქვეყნებული შეფასებები /კვლევები.

ESBL–ს არსებობა შეიძლება შენიღბული იყოს აგრეთვე ისეთი კარბაპენემაზებით, როგორიცაა MBLs ან KPCs (მაგრამ არა OXA-48-მსგავსი ფერმენტებით) და / ან შედლწევადობის ძლიერი დეფექტებით (40, 41). იმ შემთხვევაში თუ, გამოვლენა კვლავ მოზანშეწონილად ითვლება, რეკომენდირებულია, რომ გამოყენებული იქნას ESBL–ს აღმოჩენის მოლეკულური მეთოდები.

3.4.4 გენოტიპური დადასტურება

ESBL–ს გენების არსებობის გენოტიპური დადასტურებისთვის, რიგი მეთოდებიდან გამოიყენება პჯრ და სრული გენომის სექვენირება, რომელსაც მოჰყვება რეზისტენტობის გენების “silico mapping”. ხელმისაწვდომია სხვა მიკროტესტებიც, როგორც კომერციული, ისე შიდა გამოყენების. გასათვალისწინებელია რომ, აღნიშნული ტესტები არ არის შემოწმებული, შესაბამისად ეს დოკუმენტი არ მოიცავს მათზე ინფორმაციას. სრული გენომის სექვენირების მიდგომები აღწერილია EUCAST -ის სხვა დოკუმენტში (42).

3.4.5 ხარისხის კონტროლი

ქვემოთ ჩამოტვლილია შასადლო საკონტროლო შტამები ფენოტიპური და გენოტიპური ექსპერიმენტებისათვის. ხარისხის კონტროლის დიაპაზონები ხელმიუწვდომელია აღნიშნული შტამებისათვის. კომერციული მეთოდების გამოყენებისათვის გთხოვთ იხილოთ პაკეტის შიგთავსი, იმ იმფორმაციის მისაღებად თუ რომელი საკონტროლო შტამი უნდა იქნას გამოყენებული.

ცხრილი 4.ESBL-ს აღმოსაჩენი ტესტების ხარისხის კონტროლისთვის საჭირო შტამები

შტამი	მექანიზმი
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	SHV-18 ESBL
<i>E. coli</i> CCUG62975	CTX-M-1 ჯგუფი ESBL დაშემენილი CMY AmpC
<i>E. coli</i> ATCC 25922	ESBL-უარყოფითი

3.5 საცნობარო ლიტერატურა

1. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39:211-1233
2. Livermore DM. β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8:557-584
3. Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:933-951
4. Naas T, Poirel L, Nordmann P. 2008. Minor extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl1):42-52
5. Canton R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM. Prevalence and spread of extended spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl1):144-153
6. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern-Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, Woodford N. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59:165-174
7. Carattoli A. Animal reservoirs for extended-spectrum β -lactamase producers. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl1):117-123
8. European Centres for Disease Prevention and Control (ECDC). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)
9. Gniadkowski M. 2008. Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl1):11-32
10. Livermore DM. Defining an extended-spectrum β -lactamase. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl1):3-10
11. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. EUCAST; 2013. Version 3.0 http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/ (last accessed 23 December 2012).
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-first Informational Supplement M 100-S21. Wayne, PA, USA: CLSI; 2011.
13. Hope R, Potz NA, Warner M, Fagan EJ, Arnold E, Livermore DM. Efficacy of practised screening methods for detection of cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59(1):110-3.
14. Oliver A, Weigel LM, Rasheed JK, McGowan Jr JE Jr, Raney P, Tenover FC. Mechanisms of decreased susceptibility to cefpodoxime in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46:3829-36.
15. Garrec H, Drieux-Rouzet L, Golmard JL, Jarlier V, Robert J. Comparison of nine phenotypic methods for detection of extended-spectrum β -lactamase production by Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2011;49:1048
16. Leverstein-van Hall MA, Fluit AC, Paauf A, Box AT, Brisse S, Verhoef J. Evaluation of the EtestR ESBL and the BD Phoenix, VITEK 1, and VITEK 2 automated instruments for detection of extended-spectrum β -lactamases in multiresistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol.* 2002;40:3703-11.
17. Spanu T, Sanguinetti M, Tumbarello M, D'Inzeo T, Fiori B, Posteraro B, Santangelo R, Cauda R, Fadda G. Evaluation of the new VITEK 2 extended-spectrum β -lactamase (ESBL) test for rapid detection of ESBL production in Enterobacteriaceae isolates. *J Clin Microbiol.* 2006;44:3257-62.
18. Thomson KS, Cornish NE, Hong SG, Hemrick K, Herdt C, Moland ES. Comparison of Phoenix and VITEK 2 extended spectrum- β -lactamase detection tests for analysis of *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates with well characterized β -lactamases. *J Clin Microbiol.* 2007;45:2380-4.
19. Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. Phenotypic detection of extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14 (Suppl 1):90-103.

20. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:657-86
21. Biedenbach DJ, Toleman M, Walsh TR, Jones RN. Analysis of *Salmonella* spp. with resistance to extended-spectrum cephalosporins and fluoroquinolones isolated in North America and Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006;54:13-21.
22. Hirakata Y, Matsuda J, Miyazaki Y, Kamiyama S, Kawakami S et al. Regional variation in the prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region (SENTRY 1998-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005;52:323-9.
23. Jeong SH, Song W, Kim JS, Kim HS, Lee KM. Broth microdilution method to detect extended-spectrum β -lactamases and AmpC β -lactamases in *Enterobacteriaceae* isolates by use of clavulanic acid and boronic acid as inhibitors. *J Clin Microbiol.* 2009;47:3409-12.
24. Platteel TN, Cohen Stuart JW, de Neeling AJ, Voets GM, Scharringa J et al. Multi-centre evaluation of a phenotypic extended spectrum β -lactamase detection guideline in the routine setting. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:70-6.
25. M'Zali FH, Chanawong A, Kerr KG, Birkenhead D, Hawkey PM. Detection of extended-spectrum β -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*: comparison of the MAST DD test, the double disc and the EtestR ESBL. *J Antimicrob Chemother.* 2000;45:881-5.
26. Towne TG, Lewis JS 2nd, Herrera M, Wickes B, Jorgensen JH. Detection of SHV-type extended-spectrum β -lactamase in *Enterobacter* isolates. *J Clin Microbiol.* 2010;48:298-9.
27. Sturenburg E, Sobottka I, Noor D, Laufs R, Mack D. Evaluation of a new cefepime-clavulanate ESBL EtestR to detect extended-spectrum β -lactamases in an *Enterobacteriaceae* strain collection. *J Antimicrob Chemother.* 2004;54:134-8.
28. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Rapid detection of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol.* 2012;50(9):3016-22.
29. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Rapid detection of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in blood cultures. *Emerg Infect Dis.* 2015;21(3):504-7
30. Renvoise A, Decre D, Amarsy-Guerle R, Huang TD, Jost C, et al. Evaluation of the β -Lacta test, a rapid test detecting resistance to third-generation cephalosporins in clinical strains of *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol.* 2013;51(12):4012-7
31. Nukaga M, Mayama K, Crichlow GV, Knox JR. Structure of an extended-spectrum class A β -lactamase from *Proteus vulgaris* K1. *J Mol Biol.* 2002;317:109-17.
32. Petrella S, Renard M, Ziental-Gelus N, Clermont D, Jarlier V, Sougakoff W. Characterization of the chromosomal class A β -lactamase CKO from *Citrobacter koseri*. *FEMS Microbiol Lett.* 2006;254:285-92.
33. Sturenburg E, Sobottka I, Noor D, Laufs R, Mack D. Evaluation of a new cefepime-clavulanate ESBL EtestR to detect extended-spectrum β -lactamases in an *Enterobacteriaceae* strain collection. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 54:134-8.
34. Jacoby GA. AmpC β -lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22:161-82
35. Munier GK, Johnson CL, Snyder JW, Moland ES, et al. Positive extended-spectrum- β -lactamase (ESBL) screening results may be due to AmpC β -lactamases more often than to ESBLs. *J Clin Microbiol.* 2010;48:673-4.
36. Bauernfeind A, Schneider I, Jungwirth R, Sahly H, Ullmann U. A novel type of AmpC β -lactamase, ACC-1, produced by a *Klebsiella pneumoniae* strain causing nosocomial pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:1924-31.
37. Polsfuss S, Bloemberg GV, Giger J, Meyer V, Bottger EC, Hombach M. Evaluation of a diagnostic flow chart for detection and confirmation of extended spectrum β -lactamases (ESBL) in *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:1194-204.
38. Yang JL, Wang JT, Lauderdale TL, Chang SC. Prevalence of extended-spectrum β -lactamases in *Enterobacter cloacae* in Taiwan and comparison of 3 phenotypic confirmatory methods for detecting extended-spectrum β -lactamase production. *J Microbiol Immunol Infect.* 2009;42:310-6.
39. Jeong SH, Song W, Kim JS, Kim HS, Lee KM. Broth microdilution method to detect extended-spectrum β -lactamases and AmpC β -lactamases in *enterobacteriaceae* isolates by use of clavulanic acid and boronic acid as inhibitors. *J Clin Microbiol.* 2009;47:3409-12.
40. Tsakris A, Poulou A, Themeli-Digalaki K, Voulgari E, Pittaras T, Sofianou D, Pournaras S, Petropoulou D. Use of boronic acid disk tests to detect extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of KPC carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol.* 2009;47:3420-6.
41. March A, Aschbacher R, Dhanji H, Livermore DM, Bottcher A et al. Colonization of residents and staff of a long-term-care facility and adjacent acute-care hospital geriatric unit by multiresistant bacteria. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16:934-44.
42. Ellington MJ, Ekelund O, Aarestrup FM, et al. The role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility testing of bacteria: report from the EUCAST Subcommittee. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(1):2-22.

4. შეძენილი AmpC ბეტა-ლექტამაზას წარმომქმნელი ენტერობაქტერიები

რეზისტენტობის მექანიზმის გამოვლენის მნიშვნელოვნება	
აუცილებელია კლინიკური ანტიბიოტიკომგრძნობელობის კატეგორიზაციისთვის	არა
ინფექციური კონტროლი	დიახ
საზოგადოებრივი ჯანმრთელობა	დიახ

4.1 განსაზღვრება

AmpC-ტიპის ცეფალოსპორინაზები არიან ამბლერის C კლასის ბეტა-ლექტამაზები. ისინი შლიან პენიცილინებს, ცეფალოსპორინებს (მე-3 თაობის ჩათვლით, მაგრამ ჩვეულებრივ არ შლიან მე-4 თაობის შემადგენელ პრეპარატებს) და მონობაქტამებს. ზოგადად, AmpC-ტიპის ფერმენტები ცუდად ინჰიბირდება კლასიკური ESBL ინჰიბიტორების მიერ, განსაკუთრებით კლავულანის მჟავის მიერ (1).

4.2 კლინიკური და /ან ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა

პირველი შტამები, რომლებიც წარმოქმნიდნენ შეძენილ AmpC-ებს აღწერილი იქნა 1980-იანი წლების ბოლოს, და მას შემდეგ ისინი ნაწილობრივ მთელს მსოფლიოში როგორც კლონური გავრცელებისა და AMPC გენის ჰორიზონტალური გადაცემის (ხშირად უწოდებენ პლაზმიდის საშუალებით გადაცემულ AMPC) შედეგი. არსებობს მობილური AMPC გენის რამდენიმე წარმომავლობა, რომლებიც მომდინარეობს ბუნებრივი მწარმოებლებისაგან, სახელობრ, *Enterobacter* ჯგუფი (MIR, ACT), *C. freundii* ჯგუფი (CMY-2-მსგავსი, LAT, CFE), *M. morganii* ჯგუფი (DHA), *Hafnia alvei* ჯგუფი (ACC), *Aeromonas* ჯგუფი (CMY-1-მსგავსი, FOX, MOX) და *Acinetobacter baumannii* ჯგუფი (ADC). ყველაზე მეტად პრევალენტური და ფართოდ გავრცელებულია CMY-2-მსგავსი ფერმენტები, მიუხედავად იმისა, რომ ინდუცირებული DHA-მსგავსი ბეტა-ლექტამაზები და ზოგიერთი სხვა სახეობები ასევე ფართოდ გავრცელდა (1).

შეძენილი AmpC-ების ძირითადი მწარმოებელი სახეობები არიან *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Salmonella enterica* და *P. mirabilis*. ამ ფერმენტების მქონე შტამები გამოყოფილი იქნა როგორც ჰოსპიტალიზირებული, ასევე საზოგადოებრივი/ამბულატორიული პაციენტებისაგან და მათი ამოცნობა მოხდა უფრო ადრე ვიდრე კლასიკური ESBL-ფერმენტებისა, ფერმის ცხოველებში და საკვებ პროდუქტებში (in *E. coli* და *S. enterica*). მიუხედავად იმისა, რომ შეძენილი AmpC-ები ფართოდ არის გავრცელებული და დაფიქსირებული იქნა მე-3 თაობის ცეფალოსპორინების მიმართ ენტერობაქტერიული რეზისტენტობის მულტი-ცენტრულ კვლევებში, მათი საერთო სიხშირე საკმაოდ დაბალია ESBL-თან შედარებით, სულ მცირე ევროპაში მაინც. თუმცა, ზოგიერთ ადგილობრივ და სპეციფიკურ ეპიდემიოლოგიურ პირობებში, ასეთი ფერმენტების მწარმოებელი ორგანიზმების მნიშვნელობა შესაძლოა არსებითად გაიზარდოს (1-5).

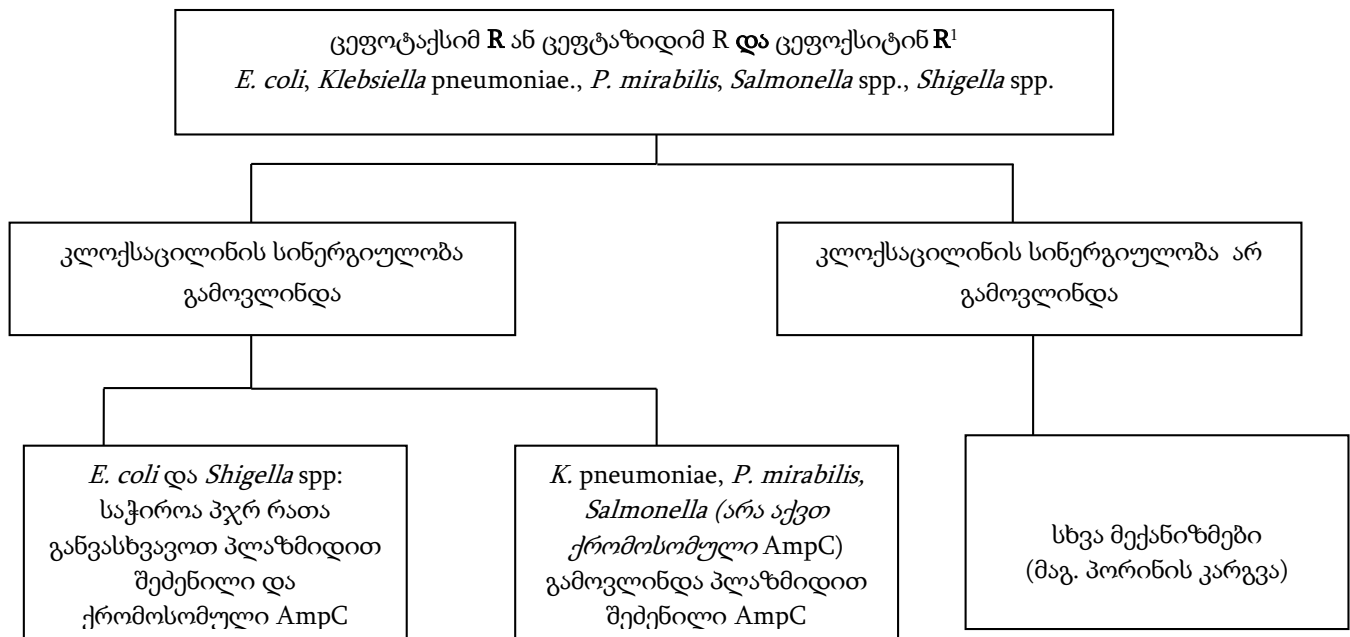
4.3 რეზისტენტობის მექანიზმები

მრავალრიცხოვანი ენტერობაქტერიები და ზოგიერთი სხვა გრამ-უარყოფითი ჩხირები წარმოქმნიან ბუნებრივ AmpC-ებს, ან არსებული კონსტიტუციური სქემის დონეზე (მაგ. *E. coli*, *Shigella spp.*) ან ინდუცირებულად (მაგ. *Enterobacter spp.*, *C. freundii*, *M. morganii*, *P. aeruginosa*). ბუნებრივი AmpC-ების დერეპრესია ან ჰიპერპროდუცირება განპირობებულია სხვადასხვა გენეტიკური ცვლილებებით და ანიჭებენ მაღალი დონის რეზისტენტობას ცეფალოსპორინებისა და პენიცილინ-β-ლექტამაზა მაინჰიბირებელი კომბინაციების მიმართ. C კლასის ცეფალოსპორინაზები შესაძლოა წარმოიშვას, როგორც შეძენილი ფერმენტები, უმთავრესად ენტერობაქტერიებში. ინდუცირებადი DHA ფერმენტის გარდა, შეძენილი AmpC-ები გამოხატულია კონსტიტუციურად და ანიჭებს ისეთ რეზისტენტობას, რომელიც მსგავსია ბუნებრივი AmpC-ების წარმომქმნელების დერეპრესიულ ან ჰიპერმპროდუცირებელ მუტანტებში. რეზისტენტობის დონეები დამოკიდებულია გამოფრქვეული ფერმენტების მოცულობაზე, აგრეთვე რეზისტენტობის სხვა მექანიზმების თანაარსებობაზე. ESBL-ების მსგავსად, შეძენილი AmpC-ები ჩვეულებრივ კოდირებულია გენებით, რომელთა პოვნა შეიძლება პლაზმიდების მეშვეობით (1-3).

4.4 რეკომენდებული მეთოდები ენტერობაქტერიების გვარში შეძენილი AmpC –ს გამოსავლენად

ცეფოქსიტინის მიკ >8 მგ/ლ (ზონის ზომა <19 მმ) კომბინირებული ფენოტიპური რეზისტენტობით ცეფტაზიდიმის და/ან ცეფოტაქსიმის მიმართ (როგორც განისაზღვრება ნორმებით), შესაძლოა გამოყენებულ იქნას ფენოტიპურ კრიტერიუმად 1 ჯგუფის ენტერობაქტერიებში, AmpC–პროდუცირების შესასწავლად. თუმცა ასეთი სტრატეგია ვერ გამოავლენს ACC-1 პლაზმიდებით ტრანსპორტირებად AmpC–ს, რომელიც ვერ ახდენს ცეფოქსიტინის ჰიდროლიზს(6). უნდა აღინიშნოს, რომ ცეფოქსიტინის მიმართ რეზისტენტობა შეიძლება განპირობებული იყოს პორინების დეფიციტითაც (1).

სურათი 1. ალგორითმი AmpC აღმოსაჩენად.



¹ცეფოქსიტინი R აქ განისაზღვრება, როგორც არა-ველური ტიპის (მიკ > 8 მგ /ლ ან ზონის დიამეტრი <19 მმ). ცეფოტაქსიმის და ცეფტაზიდიმის R, წარმოადგენს EUCAST აშუშინდელი ნორმების გამოყენების შედეგს. ისეთი შტამების შესწავლა, რომლებიც არ არის მგრძნობიარე ცეფოტაქსიმის და ცეფტაზიდიმის მიმართ, წარმოადგენს მაღალი მგრძნობელობის მქონე მიდგომას, მაგრამ დაბალი სპეციფიურობით ცეფოქსიტინის მიმართ, რეზისტენტულ შტამებზე ფოკუსირებასთან შედარებით (7). AmpC შეიძლება არსებობდეს დადებითი ESBL-ტესტის მქონე შტამებში (კლავულანის მჟავას სინერგიულობა). ამიტომ შესაძლოა მიზანშეწონილი იყოს ტესტირების ჩატარება მიუხედავად ESBL ტესტის შედეგისა. იმ ლაბორატორიებისთვის, რომლებიც არ ახდენენ ცეფოქსიტინის ტესტირებას, ცეფეპიმიზე მგრძნობიარე, ცეფოტაქსიმზე და /ან ცეფტაზიდიმზე რეზისტენტულთან ერთად წარმოადგენს AmpC–ს ერთ-ერთ ფენოტიპურ ინდიკატორს, თუმცა და ნაკლებ სპეციფიურს.

ფენოტიპური AmpC დამადასტურებელი ტესტები ზოგადად ეყრდნობა AmpC ინჰიბირებას კლოქსაცილინით ან ბორის მჟავას წარმოებულებით. თუმცა, ბორის მჟავას წარმოებულები აგრეთვე აინჰიბირებენ A კლასის კარბაპენემებს, ისევე როგორც A კლასის პენიცილინებს როგორცაა K1 *K. oxytoca*-ში. მიუხედავად იმისა, რომ მონაცემები ამ მეთოდების შეფასების შესახებ არის იშვიათი, დეტექციის გონივრულად ზუსტი, შიდა გამოყენების მეთოდები აღწერილია (8-10) ისევე, როგორც კომერციულად ხელმისაწვდომი ტესტები, როგორცაა – Mast “AmpC Detection Disc Set” (მგრძნობელობა 96-100%, სპეციფიურობა 98%-100%) (11, 12), AmpC გრადიენტის ტესტი, დღეისათვის ხელმისაწვდომია მხოლოდ ბიომერიკის წარმოების bioMérieux (მგრძნობელობა 84-93%, სპეციფიურობა 70-100%) (12, 13) და Rosco აბები ცეფოტაქსიმ–კლოქსაცილინით და ცეფტაზიდიმ–კლოქსაცილინით (მგრძნობელობა 96%, სპეციფიურობა 92%) (7,14). თუმცა *E. coli* –სათვის, AmpC დამადასტურებელი ტესტები ვერ განასხვავებენ შეძენილ AMPC და ქრომოსომული AMPC–ს კონსტიტუციონალურ ჰიპერპროდუცირებას.

შეძენილი AmpC–ების არსებობის დადასტურება ასევე შესაძლებელია PCR მეთოდების გამოყენებით (15, 16), ან დნმ მიკროტესტზე დამყარებული მეთოდით (17).

ქვემოთ ჩამოთვლილია შესაძლო საკონტროლო შტამები ფენოტიპური და გენოტიპური ექსპერიმენტებისათვის. ხარისხის კონტროლის დიაპაზონები ხელმიუწვდომელია აღნიშნული შტამებისათვის. კომერციული მეთოდების

გამოყენებისათვის გთხოვთ იხილოთ პაკეტის შიგთავსი, იმ იმფორმაციის მისაღებად თუ რომელი საკონტროლო შტამი უნდა იქნას გამოყენებული.

ცხრილი 1. AmpC-ს აღმოსაჩენი ტესტების ხარისხის კონტროლისთვის საჭირო შტამები.

შტამი	მექანიზმი
<i>E. coli</i> CCUG 58543	შემენილი CMY-2 AmpC
<i>E. coli</i> CCUG62975	შემენილი CMY AmpC და CTX-M-1 ჯგუფის ESBL
<i>K. pneumoniae</i> CCUG 58 545	შემენილი DHA
<i>E. coli</i> ATCC 25922	AmpC და ESBL უარყოფითი

4.5 საცნობარო ლიტერატურა

- Jacoby GA. AmpC β -lactamases. Clin Microbiol Rev. 2009;22:161-82
- Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46:1-11
- Beceiro A, Bou G. Class C β -lactamases: an increasing problem worldwide. Rev Med Microbiol. 2004;15:141-152
- Empel J, Hrabak J, Kozińska A, Bergerova T, Urbašková P, Kern-Zdanowicz I, Gniadkowski M. DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a teaching hospital in the Czech Republic. Microb Drug Resist. 2010;16:291-295
- D'Andrea MM, Literacka E, Zioga A, Giani T, Baraniak A, Fiett J, Sadowy E, Tassios PT, Rossolini GM, Gniadkowski M, Miriagou V. Evolution of a multi-drug-resistant *Proteus mirabilis* clone with chromosomal AmpC-type cephalosporinases spreading in Europe. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55:2735-2742
- Bauernfeind A, Schneider I, Jungwirth R, Sahly H, Ullmann U. A novel type of AmpC β -lactamase, ACC-1, produced by a *Klebsiella pneumoniae* strain causing nosocomial pneumonia. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43:1924-31.
- Edquist P, Ringman M, Liljequist BO, Wisell KT, Giske CG. 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. 2013; 32:1205-10
- Yagi T, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K et al. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. J Clin Microbiol. 2005;43:2551-8.
- Tenover FC, Emery SL, Spiegel CA, Bradford PA, Eells S et al. Identification of plasmid-mediated AmpC β -lactamases in *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., and *Proteus* spp. can potentially improve reporting of cephalosporin susceptibility testing results. J Clin Microbiol. 2009;47:294-9.
- Tan TY, Ng LS, He J, Koh TH, Hsu LY. Evaluation of screening methods to detect plasmid-mediated AmpC in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis*. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53:146-9
- Martinez-Martinez L. Extended-spectrum β -lactamases and the permeability barrier. Clin Microbiol Infect. 2008;14 Suppl 1:82-9.
- Halstead FD, Vanstone GL, Balakrishnan I. An evaluation of the Mast D69C AmpC Detection Disc Set for the detection of inducible and derepressed AmpC β -lactamases. J Antimicrob Chemother. 2012;67:2303-4.
- Ingram PR, Inglis TJ, Vanzetti TR, Henderson BA, Harnett GB, Murray RJ. Comparison of methods for AmpC β -lactamase detection in Enterobacteriaceae. J Med Microbiol. 2011; 60(Pt 6):715-21.
- Peter-Getzlaff S, Polsfuss S, Poledica M, Hombach M, Giger J et al. Detection of AmpC β -lactamase in *Escherichia coli*: comparison of three phenotypic confirmation assays and genetic analysis. J Clin Microbiol. 2011;49:2924-32.
- Hansen F, Hammerum AM, Skov RL, Giske CG, Sundsfjord A, Samuelsen O. Evaluation of ROSCO Neo-Sensitabs for phenotypic detection and subgrouping of ESBL-, AmpC- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. APMIS. 2012;120:724-32.
- Perez-Perez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. J Clin Microbiol. 2002;40:2153-62.
- Brolund A, Wisell KT, Edquist PJ, Elfstrom L, Walder M, Giske CG. Development of a real-time SYBRGreen PCR assay for rapid detection of acquired AmpC in Enterobacteriaceae. J Microbiol Methods. 2010; 82:229-33.
- Cuzon G, Naas T, Bogaerts P, Glupczynski Y, Nordmann P. Evaluation of a DNA microarray for the rapid detection of extended-spectrum β -lactamases (TEM, SHV and CTX-M), plasmid-mediated cephalosporinases (CMY-2-like, DHA, FOX, ACC-1, ACT/MIR and CMY-1-like/MOX) and carbapenemases (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM). J Antimicrob Chemother. 2012;67:1865-9.

5. პოლიმიქსინ რეზისტენტობა გრამ-უარყოფით ბაცილაში

რეზისტენტობის მექანიზმის გამოვლენის მნიშვნელოვნება	
აუცილებელია კლინიკური ანტიბიოტიკოთერაპიის კატეგორიზაციისთვის	დიახ
ინფექციური კონტროლი	დიახ
საზოგადოებრივი ჯანმრთელობა	დიახ

უკანასკნელი წლების განმავლობაში, მსოფლიოს მასშტაბით, ენტერობაქტერიებში აღმოცენდა პოლიმიქსინის შეძენელი რეზისტენტობა. განსაკუთრებით შემთვებითებელია პლაზმიდით შეძენელი რეზისტენტობა ცხოველებში, საკვებ პროდუქტებსა და ადამიანებში, დამახასიათებელი ჰორიზონტალური გავრცელების გამო.

უწინ, პოლიმიქსინის რეზისტენტობის მექანიზმებისას, რეზისტენტობა უკავშირდებოდა ქრომოსომით შეძენას და მუტაციას რამდენიმე გენში, მათ შორის ორკომპონენტური რეგულაციის სისტემაში, რომელიც პასუხისმგებელია ლიპიდ A-ს ბიოსინთეზზე, შესაბამისად, ლიპოპოლისაქარიდის (LPS) დამუხტვის რეგულირებაზე (1,2). 2015 წელს, პირველად მოხდა პლაზმიდით შეძენილი კოლისტინ რეზისტენტობის მექანიზმების აღმოჩენა, რომელიც უკავშირდებოდა პლაზმიდა კოდირებულ ფოსფოეთანოლამინ ტრანსფერაზას, რომელიც ლიპიდ A-ს ურთავს ფოსფოეთილამინის ჯგუფს. შედეგად მიიღება უარყოფითი დამუხტვის ჯამური შემცირება LPS-ში და შესაბამისად, ნაკლები ინტერაქცია დადებითად დამუხტულ პოლიმიქსინებთან. რეზისტენტობის ახალ განმსაზღვრელს უწოდეს MCR-1 (3). მას მერე, რეზისტენტობის აღნიშნულ მექანიზმში დოკუმენტირდა ყველა კონტინენტზე. ერთ ერთი შტამი თარიღდება 1980-იანი წლებით, მაგრამ როგორც ჩანს, მსოფლიო მასშტაბით აღმოცენება მოხდა დაახლოებით 5 წლის წინ (4). 2016 წლის განმავლობაში, MCR-1-ის 2 ახალი ვარიანტის აღწერა მოხდა - MCR-1.2 and MCR-2 (5, 6).

K. pneumoniae-ის ევროპულ ინვაზიურ შტამებში, საერთო ჯამური რეზისტენტობის მაჩვენებელი კოლისტინის მიმართ უტოლდება 8.6% და შესაძლოა აღწევდეს 29%, კარბაპენემ-რეზისტენტულ შტამებში (7). აღსანიშნავია რომ, მაჩვენებლების ვარიაცია ქვეყნების მიხედვით ძალიან მაღალია და მეთოდოლოგიურმა პრობლემებმა შესაძლოა გამოიწვიოს აღნიშნული მნიშვნელობის არარეალური ზრდა. რეზისტენტობა უმეტესად უკავშირდება ქრომოსომულ მექანიზმებს, თუმცა არსებობს მექანიზმების შემთხვევები MCR-1-ით კარბაპენემაზა-წარმომაქმნელი ენტერობაქტერიების შესახებ(4).

ამჟამად, პოლიმიქსინის რეზისტენტობის სხვადასხვა მექანიზმების ფენოტიპური დახასიათებისათვის არ შეფასებულა სხვა მეთოდები, გარდა ბულიონის მიკროგანზავებით მიკ-ის განსაზღვრისა (ამ კლასის სამკურნალო საშუალებებისათვის გრადიენტული დიფუზია და დისკის დიფუზია არასანდოა). დადგინდა რომ MCR ფერმენტების ჰიდროლიზისათვის საჭიროა ცინკი, და რომ ცინკის ქელატირება აინჰიბირებს მათ აქტივობას (8). გამომდინარე აქედან, გამოყენებულ უნდა იქნას ინჰიბიციის ტესტები რომლებიც ეფუძნება EDTA-ს ან დიპიკოლინი მჟავას. თუმცა, ამჟამად ფოკუსირება ხდება პოლიმიქსინის რეზისტენტობის გამოვლენაზე და არა უშუალოდ მექანიზმზე. ლაბორატორიებისათვის რეკომენდებულია ბულიონის მიკროგანზავება კოლისტინის მგრძნობელობის ტესტისათვის, რის დროსაც გამოყენებულ უნდა იქნას კოლისტინის სულფატი (9). დისკის დიფუზია და გრადიენტის ტესტირება არ უნდა იქნას გამოყენებული, რადგან ისინი უკავშირდება AST შეცდომის მაღალ რისკს(10). ახლახანს, აგრეთვე დაინერგა კოლორიმეტრული მეთოდი, თუმცა არ შემოწმებულა სიზუსტეზე ერთზე მეტ ცენტრში (11).

ამჟამინდელ რეკომენდაციას წარმოადგენს შემდგომი ტესტირების ჩატარება მხოლოდ კოლისტინის მიმართ რეზისტენტულ იზოლატებზე.

კოლისტინის ხარისხის კონტროლი უნდა შესრულდეს მგრძნობიარე QC შტამით (*E. coli* ATCC 25922 ან *P. aeruginosa* ATCC 27853) და კოლისტინ რეზისტენტული *E. coli* NCTC 13846 - ით (*mcr-1* დადებითი). *E. coli* NCTC 13846-თვის, კოლისტინის მიკ სამიზნე მაჩვენებელი არის 4 მგ/ლ და შესაძლოა იყოს მხოლოდ 2 ან 8 მგ/ლ.

5.1 საცნობარო ლიტერატურა

1. Giske CG. Contemporary resistance trends and mechanisms for the old antibiotics colistin, temocillin, fosfomycin, mecillinam and nitrofurantoin. Clin Microbiol Infect. 2015;21(10):899-905
2. Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. Front Microbiol. 2014; 5:643.
3. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016 ;16(2):161-8.
4. Skov RL, Monnet DL. Plasmid-mediated colistin resistance (mcr-1 gene): three months later, the story unfolds. Euro Surveill. 2016;21(9).
5. Di Pilato V, Arena F, Tascini C, Cannatelli A, Henrici De Angelis L, et al. mcr-1.2, a New mcr Variant Carried on a Transferable Plasmid from a Colistin-Resistant KPC Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strain of Sequence Type 512. Antimicrob Agents Chemother. 2016; 60:5612-5.
6. Xavier BB, Lammens C, Ruhel R, Kumar-Singh S, Butaye P, Goossens H, Malhotra-Kumar S. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, mcr-2, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. Euro Surveill. 2016; 21(27).
7. European Centres for Disease Prevention and Control (ECDC). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)
8. Hinchliffe P, Yang QE, Portal E, Young T, Li H, et al. Insights into the Mechanistic Basis of Plasmid-Mediated Colistin Resistance from Crystal Structures of the Catalytic Domain of MCR-1. Sci Rep. 2017;7:39392.
9. Bergen PJ, Li J, Rayner CR, Nation RL. Colistin methanesulfonate is an inactive prodrug of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(6):1953-8.
10. Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, Hadjichristodoulou C, Gennimata V, Pournaras S, Tsakris A. Comparative Evaluation of Colistin Susceptibility Testing Methods among Carbapenem-Nonsusceptible *Klebsiella pneumonia* and *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2015 Aug;59(8):4625-30.
11. Nordmann P, Jayol A, Poirel L. Rapid Detection of Polymyxin Resistance in Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis. 2016;22(6):1038-43.

6. კარბაპენემების წარმომქმნელი *P. aeruginosa* და *Acinetobacter*

რეზისტენტობის მექანიზმის გამოვლენის მნიშვნელოვნება	
აუცილებელია კლინიკური ანტიბიოტიკოთერაპიის კატეგორიზაციისთვის	არა
ინფექციური კონტროლი	დიახ
საზოგადოებრივი ჯანმრთელობა	დიახ

კარბაპენემების წარმომქმნელი *P. aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*-ჯგუფი გავრცელებულია ევროპის მრავალ კუთხეში (1). *P. aeruginosa*-ში, VIM, უმეტესწილად VIM-2, წარმოადგენს დომინანტ ფერმენტს ევროპაში, მაგრამ KPC წარმომქმნელები შეინიშნებიან ლათინური ამერიკის ქვეყნებშიც (2). *Acinetobacter*-ში გვხვდებიან OXA კარბაპენემაზები, ძირითადად OXA-23-, OXA 24/40-, OXA-58-, OXA-143-, OXA-235 - მსგავსი ფერმენტები (3).

ამჟამად არ არსებობს სპეციფიური D კლასის OXA-კარბაპენემაზების ინჰიბიტორები და ფენოტიპური მეთოდებიდან არც-ერთი არ იძლევა დამაკმაყოფილებელ შედეგებს *Acinetobacter* -ში ამ კარბაპენემაზების გამოვლენისათვის/იდენტიფიკაციისათვის. გამოყენებულ იქნა კოლორიმეტრული ტესტები, თუმცა გამოიღო არაზუსტი შედეგები აღნიშნული გვარისათვის (4). *Acinetobacter*-ს შესაძლოა გააჩნდეს MBL ტიპის კარბაპენემაზები, და შესაძლოა რომ ამ ტესტებმა უფრო კარგი შედეგი გამოიღოს აღნიშნულ ფერმენტებთან.

P. aeruginosa-თვის the MBL Etest, ისევე როგორც დისკზე დაფუძნებული ტესტები, გამოიყენებოდა ათწლეულების მანძილზე, თუმცა მათ გამოყენებას აფერხებს დაბალი სფეციფიურობა (5-7). ახალხანს, რამდენიმე ავტორის შემოთავაზებას წარმოადგენდა მრავალი მოდიფიკაცია ტესტის დისკების კომბინაციებში (იმიპინემი ან მეროპენემი სხვადასხვა კლასის B მაინჰიბირებელ ნაერთთან (EDTA ან DPA) კომბინაციაში. მათი ვალიდაცია ხორციელდებოდა ერთ-ცენტრიანი კვლევებით, და რთულია ტესტის სანდოობის დადგენა სხვა ცენტრებში (8,9). კოლორიმეტრული ტესტების გამოყენება *P. aeruginosa*-ში უფრო შედეგენია ვიდრე *Acinetobacter* -ში (10) მიიჩნევა რომ ამ ტესტებს ამჟამად გააჩნიათ საუკეთესო სპეციფიურობა. თუმცა, ითვლება რომ ჯერ კიდევ არ არსებობს ტესტი საკმარისი სპეციფიურობით, რომლის გამოყენებაც შესაძლებელი იქნებოდა მოლეკულური კონფირმაციის გარეშე.

საჭიროა გენოტიპური მიდგომები გამოყენებულ იქნას სავარაუდო კარბაპენემაზა წარმომქმნელი *P. aeruginosa* და *Acinetobacter*-ის დახასიათებისთვის, განსაკუთრებით კი, *P. aeruginosa*-თვის, რომლისთვისაც ზოგიერთი ზემოხსენებული მეთოდი შესაძლოა გამოყენებულ იქნას საწყისი ტესტირების ეტაპებისათვის.

აღსანიშნავია რომ, კარბაპენემაზას ტესტირება კლინიკურად რელევანტური იქნებოდა *P. aeruginosa*-ში, რადგან აღნიშნული სახეობები შესაძლოა იყოს კარბაპენემ რეზისტენტული მრავალი ქრომოსომული მექანიზმის გავლენით (აქტიური ეფლუქსი, პორინების ცვლილება ან ხარვეზი). საპირისპირო შეიძლება ითქვას კარბაპენემ რეზისტენტობაზე *Acinetobacter* -ში, რომელიც მუდმივად განპირობებულია OXA კარბაპენემაზების წარმოქმნით.

შემოთავაზებული საკონტროლო შტამები: *P. aeruginosa* NCTC 13437 (VIM-10-წარმომქმნელი) და *A. baumannii* NCTC 13301 (OXA-23-წარმომქმნელი). აღნიშნული შტამებისათვის არ არსებობენ QC დიაპაზონები.

6.1 საცნობარო ლიტერატურა

1. Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. Int J Antimicrob Agents. 2010;36 Suppl 3:S8-14.
2. Labarca JA, Salles MJ, Seas C, Guzman-Blanco M. Carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in the nosocomial setting in Latin America. Crit Rev Microbiol. 2016; 42:276-92.
3. Higgins PG, Perez-Llarena FJ, Zander E, Fernandez A, Bou G, Seifert H. OXA-235, a novel class D β -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57(5):2121-6
4. Noel A, Huang TD, Berhin C, Hoebeke M, Bouchahrouf W, Yunus S, Bogaerts P, Glupczynski Y. Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria. J Clin Microbiol. 2017;55(2):510-518.

5. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo- β -lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. J Clin Microbiol 2003; 41, 4623-4629
6. Hansen F, Hammerum AM, Skov R, Haldorsen B, Sundsfjord A, Samuelsen O. Evaluation of the total MBL confirm kit (ROSCO) for detection of metallo- β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014;79(4):486-8
7. Samuelsen O, Buaro 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;61(4):827-30
8. Fournier D, Garnier P, Jeannot K, Mille A, Gomez AS, Plesiat P. A convenient method to screen for carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. J Clin Microbiol. 2013;51(11):3846-8.
9. Heinrichs A, Huang TD, Berhin C, Bogaerts P, Glupczynski Y. Evaluation of several phenotypic methods for the detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2015;34(7):1467-74.
10. Kabir MH, Meunier D, Hopkins KL, Giske CG, Woodford N. A two-centre evaluation of RAPIDECR CARBA NP for carbapenemase detection in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. J Antimicrob Chemother. 2016;71(5):1213-6.

7. მეტიცილინის მიმართ რეზისტენტული *Staphylococcus aureus* (MRSA)

რეზისტენტობის მექანიზმის გამოვლენის მნიშვნელოვნება	
აუცილებელია კლინიკური ანტიბიოტიკომგრძნობელობის კატეგორიზაციისთვის	დიახ
ინფექციური კონტროლი	დიახ
საზოგადოებრივი ჯანმრთელობა	დიახ

7.1 განსაზღვრება

S. aureus-ს შტამებს, პენიცილინის-შემბოჭავი დამხმარე პროტეინებით (PBP2a PBP2c კოდირებული *mecA* ან *mecC* გენებით), რომლისთვისაც ბეტა-ლაქტამურ აგენტებს ახასიათებთ დაბალი აფინობა, გარდა ცეფალოსპორინების ახალი კლასისა, რომელთაც აქვთ ანტი-MRSA აქტივობა, (ცეფტაროლინი და ცეფტოზიპროლი).

7.2 კლინიკური და/ან ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა

მეტიცილინ რეზისტენტული *S. aureus* წარმოადგენს ავადობისა და სიკვდილობის მთავარ მიზეზს მთელ მსოფლიოში (1,2). MRSA-ით გამოწვეული სისხლის მიმოქცევის სისტემის ინფექციებთან დაკავშირებული სიკვდილობა ორჯერ აღემატება მეტიცილინ-მგრძნობიარე შტამებით გამოწვეულ მსგავს ინფექციებთან დაკავშირებულ სიკვდილობას დაგვიანებული ადექვატური მკურნალობის სქემისა და უფრო სუსტი, ალტერნატიული მკურნალობის სქემების გამო (3). მსოფლიოს ყველა ნაწილში MRSA ინფექციები ენდემურია როგორც საავადმყოფოში, ასევე საზოგადოებაში.

7.3 რეზისტენტობის მექანიზმი

რეზისტენტობის მექანიზმს წარმოადგენს პენიცილინის-შემბოჭავი დამხმარე პროტეინების PBP2a/ PBP2c წარმოქმნა, რომლებიც განაპირობებენ გამოყოფილი შტამის რეზისტენტობას ყველა ბეტა-ლაქტამაზას მიმართ, გარდა ანტი-MRSA ცეფალოსპორინების ახალი სპეციფიური კლასისა. აღნიშნულ აგენტებს აქვთ საკმარისად დიდი მსგავსება PBP2a-თან, და სავარაუდოდ, აგრეთვე PBP-თან, რომელიც კოდირებულია *mecC*-ით იმისათვის, რომ აქტიური იყოს MRSA-ს წინააღმდეგ (4). დამხმარე PBP-ები კოდირებულია *mecA* გენებით ან ახლახან აღწერილი *mecC* (5). *mec* ელემენტი უცხოა *S. aureus*-თვის და არ არის წარმოდგენილი მეტიცილინ-მგრძნობიარე *S. aureus*-ში. შტამები, რომლებშიც აღსანიშნავია *mecA* გენის ჰეტეროგენური გამოვლინება და ხშირად ოქსაცილინის დაბალი მიკ-ები, ეწინააღმდეგებიან მგრძნობელობის ტესტის სიზუსტეს (5). უფრო მეტიც, ზოგი შტამი ავლენს დაბალი დონის რეზისტენტობას ოქსაცილინის მიმართ, მაგრამ არის *mecA* და *mecC* უარყოფითი და და არ გამოიმუშავებს ალტერნატიულ PBP-ებს. [ზღვარზე მყოფი მგრძნობელობის მქონე *S. aureus* (BORSA)]. ასეთი შტამები შედარებით იშვიათია და რეზისტენტობის მექანიზმი ცუდად არის შესწავლილი, მაგრამ შესაძლოა მოიცავდეს ბეტა-ლაქტამაზების ჰიპერპროდუცირებას ან უკვე არსებული PBP-ების ცვლილებას (6).

mecA დადებითი *S. aureus* შტამები, რომლებიც მგრძნობიარეა ცეფოქსიტინისა და ოქსაცილინის მიმართ (OS-MRSA), *mecA* ინაქტივაციის გამო, აღწერილია მსოფლიოს მრავალ კუთხეში. აღნიშნული შტამები განსხვავდება ჰეტეროგენურად რეზისტენტული MRSA-გან, რომლებიც მგრძნობიარეა ოქსაცილინის მიმართ მაგრამ რეზისტენტულია ცეფოქსიტინის მიმართ (7,8). კომბინირებული კონვენციური ფენოტიპური შედეგების და *mecA*-თვის პჯრ-ის დადებითი შედეგების მიხედვით, აღნიშნული შტამების სიხშირე უტოლდება დაახლოებით 3%. მითიცილინის მიმართ მგრძნობელობიდან რეზისტენტობაზე ცვლილება, ხანგრძლივი ანტიბიოტიკო თერაპიის შედეგად აღწერილია ერთ შემთხვევაში (9) მაგრამ მოსალოდნელია რომ არსებობს სხვა შემთხვევებიც, თუმცა დღეისათვის უცნობია ასეთი ცვლადი რეზისტენტობის მაჩვენებელი. ასეთი შტამები თავისი განსაზღვრებით შესაძლოა გამოვლინდეს მხოლოდ მოლეკულური ანალიზით. აღსანიშნავია რომ, მოლეკულური ანალიზი არ უნდა გაკეთდეს ყველა შტამისათვის, თუმცა ეს ფენომენი შესაძლოა მნიშვნელოვანი იყოს წარუმატებელი თერაპიული მკურნალობისას. იმ შემთხვევაში, თუ *mecA* გენი გამოვლინდა რანდომულად ანდა სკრინინგის შედეგად, წარუმატებელი თერაპიული მკურნალობის გამო, საჭიროა შტამის შეტყობინება როგორც რეზისტენტული.

7.4 რეკომენდირებული მეთოდები მეტიცილინ რეზისტენტული *S. aureus*-ის აღმოსაჩენად

მეტიცილინ/ოქსაცილინის მიმართ რეზისტენტობა შეიძლება დადგინდეს ფენოტიპურად, მიკ-ის განსაზღვრით და დისკის დიფუზიის ტესტებით. PBP2a შეიძლება დადგინდეს აგლუტინაციით, თუმცა არასანდო იქნება PBP2c-ს შემთხვევაში. სანდო მეთოდად ითვლება გამოვლენა გენოტიპურად, პჯრ (PCR)-ს საშუალებით.

7.4.1 აღმოჩენა მიკ-ის განსაზღვრით ან დისკის დიფუზიით

რეზისტენტობის ჰეტეროგენური გამოვლინებით განსაკუთრებით ზარალდება ოქსაცილინის მიკ-ები. ცეფოქსიტინი არის *mecA/mecC*-ით განპირობებული მეტიცილინის მიმართ რეზისტენტობის ძალიან მგრძნობიარე და სპეციფური მარკერი და წარმოადგენს დისკის დიფუზიის მეთოდისთვის შერჩეულ აგენტს. დისკების დიფუზიის დროს ოქსაცილინის გამოყენება მიზანშეწონილი არ არის და *mecA*-ს არსებობისას ცუდი კორელაციის გამო მისი ზონის დიამეტრის საინტერპრეტაციო მონაცემები აღარ არის ჩადებული EUCAST-ის ნორმების ცხრილში.

ა. ბულიონის მიკროგანზავება:

გამოიყენება სტანდარტული მეთოდოლოგია (ISO 20776-1) და შტამები, რომლებსაც აქვთ ცეფოქსიტინის მიკ-ები >4 მგ/ლ უნდა შეატყობინოთ, როგორც მეტიცილინ რეზისტენტული.

ბ. დისკის დიფუზია: გამოიყენება EUCAST დისკის დიფუზიის მეთოდი. შტამები, რომლებსაც აქვთ ცეფოქსიტინის (30 μ გ დისკი) ზონის დიამეტრი <22 მმ უნდა შეატყობინოთ, როგორც მეტიცილინ რეზისტენტული.

7.4.2 აღმოჩენა გენოტიპური და ლატექსზე აგლუტინაციის მეთოდებით

mecA გენის გენოტიპური გამოვლენა პჯრ (PCR)-ით (10,11) და PBP2a პროტეინის აღმოჩენა ლატექსის აგლუტინაციის ნაკრებით შესაძლებელია კომერციული ან ადგილობრივი შიდა ტესტებით. PBP2c დღეისათვის შესაძლოა ვერ იქნას აღმოჩენილი კომერციულად ხელმისაწვდომი მეთოდებით.

7.4.3 საკონტროლო შტამები

ქვემოთ ჩამოთვლილია შესაძლო საკონტროლო შტამები ფენოტიპური და გენოტიპური ექსპერიმენტებისათვის. ხარისხის კონტროლის დიაპაზონები ხელმიუწვდომელია აღნიშნული შტამებისათვის. კომერციული მეთოდების გამოყენებისათვის გთხოვთ იხილოთ პაკეტის შიგთავსი, იმ იმფორმაციის მისაღებად თუ რომელი საკონტროლო შტამი უნდა იქნას გამოყენებული.

ცხრილი 1. მეტიცილინის მიმართ მგრძნობელობის აღმოსაჩენი ტესტების ხარისხის კონტროლისთვის საჭირო შტამები.

შტამი	მექანიზმი
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	მეტიცილინ მგრძნობიარე
<i>S. aureus</i> NCTC 12493	მეტიცილინ რეზისტენტული (<i>mecA</i>)
<i>S. aureus</i> NCTC 13552	მეტიცილინ რეზისტენტული (<i>mecC</i>)

7.5 საცნობარო ლიტერატურა

1. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a metaanalysis. Clin Infect Dis. 2003; 36:53-9.
2. de Kraker ME, Wolkewitz M, Davey PG, Koller W, Berger J, et al. Clinical impact of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay related to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55:1598-605.
3. de Kraker ME, Davey PG, Grundmann H; BURDEN study group. Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. PLoS Med. 2011;8(10):e1001104.
4. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. Nat Rev Microbiol. 2009;7:629-41.
5. Garcia-Alvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. Lancet Infect Dis. 2011;11:595-603.
6. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev. 1997;10:781-91.
7. Hososaka Y, Hanaki H, Endo H, et al. Characterization of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*: a new type of MRSA. J Infect Chemother 2007; 13:79-86.
8. Andrade-Figueiredo M, Leal-Balbino TC. Clonal diversity and epidemiological characteristics of *Staphylococcus aureus*: high prevalence of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) associated with clinical isolates in Brazil. BMC Microbiol. 2016; 16:115
9. Proulx MK, Palace SG, Gandra S, Torres B, Weir S, Stiles T, Ellison RT 3rd, Goguen JD. Reversion From Methicillin Susceptibility to Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* During Treatment of Bacteremia. J Infect Dis. 2016; 213:1041-8.
10. Stegger M, Andersen PS, Kearns A, Pichon B, Holmes MA, Edwards G, Laurent F, Teale C, Skov R, Larsen AR. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecA_{ALGA251}*. Clin Microbiol Infect. 2012; 4:395-400.
11. Pichon B, Hill R, Laurent F, Larsen AR, Skov RL, Holmes M, Edwards GF, Teale C, Kearns AM. Development of a real-time quadruplex PCR assay for simultaneous detection of *nuc*, Panton-Valentine leucocidin (PVL), *mecA* and homologue *mecA_{ALGA251}*. J Antimicrob Chemother. 2012; 67:2338-41.

8. ვანკომიცინის მიმართ რეზისტენტული *Staphylococcus aureus*

რეზისტენტობის მექანიზმის გამოვლენის მნიშვნელოვნება	
აუცილებელია კლინიკური ანტიბიოტიკომგრძნობელობის კატეგორიზაციისთვის	დიახ
ინფექციური კონტროლი	დიახ
საზოგადოებრივი ჯანმრთელობა	დიახ

8.1 განსაზღვრება

S. aureus-ში ვანკომიცინის მიმართ რეზისტენტობის კლინიკური მიკ ნორმა EUCAST-ის მიხედვით არის >2 მგ/ლ. უკანასკნელ წლებში, ვანკომიცინის ნორმები დაიწია, რამაც შესაბამისად ამოაგდო საშუალო მგრძნობელობის ჯგუფი. თუმცა არსებობს მნიშვნელოვანი განსხვავებები რეზისტენტობის მექანიზმებს შორის VanA განპირობებულ მაღალი დონის ვანკომიცინ-რეზისტენტულ *S. aureus* (VRSA) და არა-VanA განპირობებულ დაბალი დონის რეზისტენტული შტამებს შორის. აქედან გამომდინარე, ტერმინები ვანკომიცინზე საშუალო მგრძნობელობის *S. aureus* (VISA) და ჰეტერორეზისტენტული ვანკომიცინზე საშუალო მგრძნობელობის *S. aureus* (hVISA) შენარჩუნდება შტამებისთვის, რომლებსაც აქვთ არა-VanA-განპირობებული დაბალი დონის რეზისტენტობა ვანკომიცინის მიმართ. მიკ უნდა იქნას განსაზღვრული ყოველთვის, როდესაც ხდება ოქროსფერი სტაფილოკოკით გამოწვეული მწვავე ინფექციის მქონე პაციენტის სამკურნალოდ ვანკომიცინის გამოყენება. ცალკეულ შემთხვევებში, მაგალითად, როდესაც ვარაუდობენ მკურნალობის კურსის წარუმატებლობას, გარანტირებული უნდა იყოს ტესტირება hVISA-ზე. ჰეტერორეზისტენტული, გლიკოპეპტიდური, საშუალო მგრძნობელობის *S. aureus* (hVISA)-ის დადასტურების სირთულის გამო, ანტიბიოტიკომგრძნობელობა ფოკუსირებულია VISA-ს და VRSA-ს აღმოჩენაზე.

VRSA: ვანკომიცინ-რეზისტენტული ოქროსფერი სტაფილოკოკი (*S. aureus*): *S. aureus*-ის შტამები, რომლებსაც გააჩნია მაღალი ხარისხის რეზისტენტობა ვანკომიცინის მიმართ (მიკ >8 მგ/ლ).

VISA: ვანკომიცინის მიმართ შუალედური რეზისტენტობის მქონე (ზომიერად მგრძნობიარე) ოქროსფერი სტაფილოკოკი (*S. aureus*): *S. aureus*-ს შტამები, რომლებსაც გააჩნია დაბალი ხარისხის რეზისტენტობა ვანკომიცინის მიმართ (მიკ 4 - 8 მგ/ლ).

hVISA: ჰეტეროგენული, ვანკომიცინის მიმართ, შუალედური რეზისტენტობის მქონე ოქროსფერი სტაფილოკოკი (*S. aureus*): *S. aureus*-ს შტამები, რომლებიც მგრძნობიარეა ვანკომიცინის მიმართ (მიკ-ები ≤ 2 მგ/ლ), მაგრამ პოპულაციების უმცირესობით (10^6 უჯრედიდან ერთი) ვანკომიცინის მიკ-ით >2 მგ/ლ, როგორც აჩვენა პოპულაციური ანალიზის პროფილის კვლევა.

უნდა აღინიშნოს რომ იმისდამიუხედავად, რომ აღნიშნული ტერმინები კვლავ გამოყენებაშია, ყველა ზემოაღნიშნული კატეგორიები ითვლება რეზისტენტულად.

8.2 კლინიკური და /ან ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა

უკანასკნელ ხანებში არ ჩატარებულა გამოკვლევები ევროპაში ისეთი შტამების პრევალენტობის შესახებ, რომლებსაც გააჩნიათ შემცირებული მგრძნობელობა გლიკოპეპტიდების მიმართ. ცალკეული ინსტიტუტების ანგარიშებზე დაყრდნობით არსებობს გაანგარიშება, რომ ევროპაში hVISA-ს პრევალენტობა არის ნაკლები ან ტოლი მეტიცილინ რეზისტენტული სტაფილოკოკის ორი პროცენტისა ($\leq$ MRSA-ს 2%), სადაც VISA არის 0.1%-ზე ქვევით (1). ევროპაში ჯერ-ჯერობით არ არსებობს მონაცემები VRSA-ს შესახებ (1) და დღეისათვის ის განსაკუთრებულად იშვიათად გვხვდება მსოფლიოში (2). ადგილობრივად, hVISA-ს პრევალენტობა შესაძლოა მნიშვნელოვნად მაღალი იყოს (1), რაც უმეტესად ასოცირებულია სპეციფიკური კლონური თაობების გავრცელებით (2). თითქმის ყველა შტამი, რომელსაც აქვს მომატებული მიკ (VISA) ან შეიცავს რეზისტენტულ ქვეპოპულაციებს (hVISA) წარმოადგენს MRSA-ს.

მწელი აღმოჩნდა hGISA-ს კლინიკური მნიშვნელობის განსაზღვრა, რადგან არასოდეს ჩატარებულა კარგად კონტოლირებადი პროსპექტული კვლევები. თუმცა, როგორც ვარაუდობენ, hVISA-ს ფენოტიპის არსებობა, ასოცირდება ცუდ პროგნოზთან, სულ მცირე, სერიოზულ ინფექციებთან (2, 3). ამიტომ გონივრულია, სისხლის მიმოქცევის სისტემის ინფექციების გამოკვლევა hVISA-ზე, როდესაც ისინი არ ემორჩილებიან მკურნალობის არჩეულ კურსს. უკანასკნელ ხანებში, დაგროვდა ფაქტები, რომლებიც ადასტურებენ, რომ შტამები, რომელთა მიკ-ები იმყოფება მგრძნობელობის ფარგლების ზედა ზღვარში (მიკ >1 მგ/ლ), ასოცირებულია ცუდ გამოსავალთან და შესაძლოა

დაკავშირებული იყოს მომატებულ სიკვდილობასთან, მინიმუმ სისხლის მიმოქცევის სისტემის ინფექციებში მაინც (3-8). ჯერ კიდევ გაურკვეველია აღნიშნული დაკვირვების მიზეზი, თუმცა არის ვარაუდი რომ ეს გამოწვეულია ვანკომიცინთან არასაკმარისი ექსპოზიციით (9,10). გარდა ამისა, გამოსავლის ინტერპრეტაციისათვის შემდეგ ფაქტორს წარმოადგენს განსხვავებული ტესტების მიკეები (8,9).

hVISA მექანიზმი არის კომპლექსური და მისი აღმოჩენა დამოკიდებულია პოპულაციურ ანალიზზე (11), რაც არის მოცულობითი და რთული შესასრულებელი, მოითხოვს სპეციალურ აპარატურას და საჭიროებს ტექნიკური ექსპერტიზის მაღალ დონეს. hVISA-ს აღმოსაჩენი მეთოდოლოგია წარმოდგენილი იქნება, მაგრამ ზედმხედველობის მიზნით ანგარიშგება შეზღუდულია VISA-ს და VRSA-სთვის, რომლებიც ერთად განმარტებულია, როგორც შტამები, რომლის მიკ >2მგ/ლ.

8.3 რეზისტენტობის მექანიზმი

VRSA-ს რეზისტენტობას განაპირობებს *vanA* გენი, რომელიც ეგზოგენურად შეიძინა ენტეროკოკებისაგან. ორივე, VISA-ს და hVISA-ს შტამებისთვის რეზისტენტობა არის ენდოგენური (მაგ. ქრომოსომული მუტაციები) და მექანიზმი არის მეტად კომპლექსური, რომელშიც არ არსებობს ცალკეული გენები, პასუხისმგებელი აღნიშნულ მექანიზმზე. VISA / hVISA ფენოტიპი დაკავშირებულია ბაქტერიული უჯრედის კედლის გასქელებასთან, გლიკოპეპტიდების შემოჭავი სამიზნეების ჰიპერპროდუცირებასთან ერთად. hVISA ფენოტიპი ლაბორატორიულ პირობებში ხშირად არასტაბილურია მაგრამ, hVISA-ს აქვს უნარი ინ ვივო გადაიქცეს VISA-დ (2).

8.4 რეკომენდირებული მეთოდები ვანკომიცინის მიმართ არა-მგრძნობიარე *S. aureus* აღმოსაჩენად

დისკის დიფუზიის მეთოდი არ უნდა გამოიყენოთ არც hVISA-ს ან VISA-სთვის, მაგრამ იგი შეიძლება გამოყენებული იქნას VRSA-ს ტესტირებისთვის, თუმცა მცირე იმ კვლევათა რაოდენობა რომელიც ადასტურებს აღნიშნულს (12).

8.4.1 მიკ განსაზღვრა

EUCAST (ISO 20776-1) რეკომენდაციის მიხედვით ბულიონის მიკროგანზავების მეთოდი არის ოქროს სტანდარტი, მაგრამ მიკ-ები შესაძლოა აგრეთვე განისაზღვროს გრადიენტის ზოლების (სტრიპების) მეთოდით, აგარის განზავების ან ავტომატური სისტემების საშუალებით. უნდა აღინიშნოს, რომ გრადიენტის ზოლის მეთოდის შედეგები შეიძლება იყოს 0.5-1, ორჯერადი განზავების საფეხურით მაღლა ვიდრე შედეგები, მიღებული ბულიონის მიკროგანზავების შედეგად (8,9). ოქროსფერ სტაფილოკოკში ვანკომიცინის მიმართ რეზისტენტობის ნორმები EUCAST-ის მიხედვით არის მიკ>2 მგ/ლ. შტამები, რომლებსაც დაუდასტურდებათ მიკ-ები>2 მგ/ლ (ბულიონის მიკროგანზავების შესაბამისად) უნდა გადაიგზავნოს რეფერენს ლაბორატორიაში. hVISA-ს აღმოჩენა არ ხდება მიკ განსაზღვრით.

8.4.2 VRSA, VISA და hVISA-ს გამოსავლენი ტესტი

დასაბუთებულია, რომ hVISA-ს გამოვლენა არის ძალიან რთული და ამიტომ მისი აღმოჩენის პროცესი დაყოფილია ორ ნაწილად: სკრინინგი და დადასტურება. დასადასტურებლად შემუშავებული იქნა რამოდენიმე სპეციალიზირებული მეთოდი. დადასტურება ხდება გამოყოფილი შტამის პოპულაციური პროფილის ანალიზით აგარის ფინჯნებზე, რომლებიც შეიცავს ვანკომიცინის კონცენტრაციების სხვადასხვა სპექტრს (PAP-AUC) (11). აღნიშნული მეთოდი ტექნიკურად საკმაოდ რთულია, მოითხოვს დიდ გამოცდილებას და შესაბამისად, უმეტესად სრულდება რეფერენს ლაბორატორიებში. ვანკომიცინისა და კაზეინის სასკრინინგო აგარის (13) მეთოდმა გამოავლინა მაღალი სპეციფიურობა და მგრძნობელობა, მაგრამ დღემდე შეფასებული იქნა მხოლოდ ერთ კვლევაში და აღნიშნული მიზეზის გამო არ იქნა შეტანილი სახელმძღვანელოში. მომდევნო კვლევები გამოავლენს VRSA და VISA-ს და ისინი შეფასებული იქნა მრავალ-ცენტრული კვლევების მიერ (14, 15).

ა. მაკრო გრადიენტის ტესტი:

აღნიშნული ტესტი გვიჩვენებს შემცირებულ მგრძნობელობას ვანკომიცინის მიმართ, მაგრამ გაითვალისწინეთ, რომ წაკითხვა არ ხდება მიკ-ებით. უფრო მეტიც, ტესტი ვერ განასხვავებს ერთმანეთსაგან hVISA, VISA და VRSA-ს. ტესტის დადგმა ხორციელდება მწარმოებლის ინსტრუქციების შესაბამისად. ასევე ყურადღება მიაქციეთ, რომ ჩასათესი სუსპენზიის სიმღვრივე უფრო მაღალია (2.0 მაკფარლანდი) ვიდრე სტანდარტული გრადიენტის ტესტებში და

გრადინეტის ტესტი გამოიყენება მიულერ ჰინტონის აგარის მაგივრად, ბულიონ „გულის“ ინფუზიის (Broth Heart Infusion BHI) აგარზე. გარდა ამისა, ტესტი წაკითხვა შეიძლება 48 საათის შემდეგ.

დადებითია შედეგი, როდესაც წაკითხული მაჩვენებელი არის ≥ 8 მგ/ლ როგორც ვანკომიცინის, ასევე ტეიკოპლანინისთვის, ან ≥ 12 მგ/ლ მხოლოდ ტეიკოპლანინისთვის.

რამდენადაც ორივე კრიტერიუმი მოიცავს ტეიკოპლანინს, ვანკომიცინის ტესტირება შეიძლება დამოკიდებული იყოს ტეიკოპლანინის ტესტის შედეგებზე. ასეთ შემთხვევაში ალგორითმი იქნება შემდეგი სახის:

- ტეიკოპლანინის შედეგი ≥ 12 მგ/ლ: VRSA, VISA ან hVISA
- ტეიკოპლანინის შედეგი 8 მგ/ლ: ჩაატარეთ ტესტი ვანკომიცინზე. თუ ვანკომიცინის ტესტის შედეგი არის ≥ 8 მგ/ლ მაშინ VRSA, VISA ან hVISA
- ტეიკოპლანინის შედეგი < 8 მგ/ლ: არ არის VRSA, VISA ან hVISA

ბ. გლიკოპეპტიდური რეზისტენტობის გამოვლენა (GRD) გრადინეტის ტესტით:

შეასრულეთ გამოკვლევა მწარმოებლის მითითებების მიხედვით. ტესტის შედეგი ითვლება დადებითად თუ GRD რიგის შედეგი არის ≥ 8 მგ/ლ ან ვანკომიცინის ან ტეიკოპლანინის მიმართ.

გ. ტეიკოპლანინის სკრინინგის აგარი:

გამოიყენება მიულერ-ჰინტონის აგარიანი ფინჯნები, რომელიც შეიცავს 5 მგ/ლ ტეიკოპლანინს (14). რამოდენიმე კოლონია იხსნება 0.9% ფიზიოლოგიურ ხსნარში, რათა მოვიღოთ მაკფარლანდის 2.0 სტანდარტის შესაბამისი სიმღვრივის სუსპენზია. სუსპენზიის 10 მკლ გადაგვაქვს ერთიანი წვეთის სახით აგარის ზედაპირზე და ფინჯნებს ვათავსებთ საინკუბაციოდ 35°C ჰაერზე 24 დან 48 სთ. 48 საათში კოლონიების ნაზარდი მიაწინებს დაქვეითებულ მგრძნობელობაზე გლიკოპეპტიდების მიმართ.

დ. hVISA/VISA-ს დამადასტურებელი ტესტები:

ნებისმიერი შტამი, რომელიც აღმოჩნდება დადებითი შემცირებულ მგრძნობელობაზე და მიკ-ის განსაზღვრის საშუალებით არ იდენტიფიცირდება არც VRSA-ად ან VISA-ად, შესაძლოა იყოს hVISA და შესაძლებელია შესწავლილი იქნას პოპულაციური ანალიზით პროფილი-ფართობის მრუდით (PAP-AUC) (9), როგორც წესი, ასეთ შემთხვევაში მიმართავენ რეფერალურ ლაბორატორიას.

8.4.3 საკონტროლო შტამები

ქვემოთ ჩამოტვლილია შასადლო საკონტროლო შტამები ფენოტიპური ექსპერიმენტებისათვის. ხარისხის კონტროლის დიაპაზონი ხელმიუწვდომელია აღნიშნული შტამებისათვის. კომერციული მეთოდების გამოყენებისათვის გთხოვთ იხილოთ პაკეტის შიგთავსი, იმ იმფორმაციის მისაღებად თუ რომელი საკონტროლო შტამი უნდა იქნას გამოყენებული.

ცხრილი 1. *S. aureus*-ში ვანკომიცინის ტესტირების საკონტროლო შტამების მაგალითები

შტამი	მექანიზმი
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	გლიკოპეპტიდებზე მგრძნობიარე
<i>S. aureus</i> ATCC 700698	hVISA (Mu3)
<i>S. aureus</i> ATCC 700699	VISA (Mu50)

8.5 საცნობარო ლიტერატურა

1. Melo-Cristino J, Resina C, Manuel V, Lito L, Ramirez M. First case of infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. Lancet. 2013;382(9888):205
2. Howden BP, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection and clinical implications. Clin Microbiol Rev 2010;1: 99-139
3. Van Hal SJ, Lodise TP, Paterson DL. The clinical significance of vancomycin minimum inhibitory concentration in *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review and meta-analysis. Clinical Infectious Diseases 2012; 54: 755-771.

4. Chang HJ, Hsu PC, Yang CC, Siu LK, Kuo AJ, et al. Influence of teicoplanin MICs on treatment outcomes among patients with teicoplanin-treated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a hospital based retrospective study. J. Antimicrob Chemother 2012; 67:736-41.
5. Honda H, Doern CD, Michael-Dunne W Jr, Warren DK. The impact of vancomycin susceptibility on treatment outcomes among patients with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. BMC Infect Dis. 2011; 5:11:335.
6. Lodise TP, Graves J, Evans A, Graffunder E, Helmecke M, et al. Relationship between vancomycin MIC and failure among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia treated with vancomycin. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52:3315-20
7. Rojas L, Bunsow E, Munoz P, Cercenado E, Rodriguez-Creixems, Bouza E. Vancomycin MICs do not predict the outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in correctly treated patients. J. Antimicrob Chemother 2012; 7: 1760-8.
8. Sader HS, Jones RN, Rossi KL, Rybak MJ. Occurrence of vancomycin tolerant and heterogeneous vancomycin resistant strains (hVISA) among *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infections in nine USA hospitals. Antimicrob Chemother. 2009; 64: 1024-8.
9. Holmes NE, Turnidge JD, Munckhof WJ, Robinson JO, Korman TM, O'Sullivan MV, Anderson TL, Roberts SA, Warren SJ, Gao W, Howden BP, Johnson PD. Vancomycin AUC/MIC ratio and 30-day mortality in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. Antimicrob Agents Chemother. 2013 Apr;57(4):1654-63.
10. Holmes NE, Turnidge JD, Munckhof WJ, Robinson JO, Korman TM, O'Sullivan MV, Anderson TL, Roberts SA, Warren SJ, Gao W, Johnson PD, Howden BP. Vancomycin minimum inhibitory concentration, host comorbidities and mortality in *Staphylococcus aureus* bacteraemia. Clin Microbiol Infect. 2013 Dec;19(12):1163-8.
11. Wootton M, Howe RA, Hillman R, Walsh TR, Bennett PM, MacGowan AP. A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital. J Antimicrob Chemother. 2001; 47: 399-403
12. Tenover FC, Weigel LM, Appelbaum PC, McDougal LK, Chaitram J, McAllister S, Clark N, Killgore G, O'Hara CM, Jevitt L, Patel JB, Bozdogan B. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania. Antimicrob Agents Chemother. 2004; 48:275-80
13. Satola SW, Farley MM, Anderson KF, Patel JB. Comparison of Detection Methods for Heteroresistant Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*, with the Population Analysis Profile Method as the Reference Method. J Clin Microbiol. 2011; 49: 177-183.
14. Wootton M, MacGowan AP, Walsh TR, Howe RA. A multicenter study evaluating the current strategies for isolating *Staphylococcus aureus* strains with reduced susceptibility to glycopeptides. J Clin Microbiol. 2007;45:329-32.
15. Voss A, Mouton JW, van Elzakker EP, Hendrix RG, Goessens W, et al. A multi-center blinded study on the efficiency of phenotypic screening methods to detect glycopeptide intermediately susceptible *Staphylococcus aureus* (GISA) and heterogeneous GISA (hGISA). Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2007;6:9.

9. ვანკომიცინის მიმართ რეზისტენტული *Enterococcus faecium* და *Enterococcus faecalis*

რეზისტენტობის მექანიზმის გამოვლენის მნიშვნელოვნება	
აუცილებელია კლინიკური ანტიბიოტიკომგრძნობელობის კატეგორიზაციისთვის	დიახ
ინფექციური კონტროლი	დიახ
საზოგადოებრივი ჯანმრთელობა	დიახ

9.1 განსაზღვრება

Enterococcus faecium ან *Enterococcus faecalis*, რომელსაც აქვს რეზისტენტობა ვანკომიცინის მიმართ (VRE) (ვანკომიცინი მიკ>4 მგ/ლ).

9.2 კლინიკური და /ან ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა

ენტეროკოკები, განსაკუთრებით *E. faecium*, ზოგადად რეზისტენტულია კლინიკურად ხელმისაწვდომი ანტიმიკრობული აგენტების უმეტესობის მიმართ. ამიტომ, ვანკომიცინ რეზისტენტული ენტეროკოკებით (VRE) გამოწვეული ინფექციების მკურნალობა გართულებულია სამკურნალო სქემის რამოდენიმე შესაძლო ვერსიით. ცნობილია, რომ VRE ძალიან ეფექტურად ვრცელდება და ცირკულირებს საავადმყოფოს გარემოში, და შეუძლია კოლონიზაცია მრავალ ადამიანში, რომელთაგან მხოლოდ რამოდენიმეს შეიძლება განუვითარდეს ენტეროკოკური ინფექცია (1,2). შტამები, რომლებიც ატარებენ VanB-ს, ფენოტიპურად ზოგადად მგრძნობიარეა ტეიკოპლანინის მიმართ. არსებობს ანგარიშები ორი შემთხვევის შესახებ ტეიკოპლანინ რეზისტენტობის შესახებ VanB-ს მატარებელი ენტეროკოკების მკურნალობის დროს (3, 4), და ახლახანს აღიწერა 4 წარუმატებელი თერაპიის შემთხვევა (5), რომლებიც მიანიშნებენ იმაზე რომ ტეიკოპლანინის გამოყენება VanB-ს მატარებელი ენტეროკოკების წინააღმდეგ უნდა მოხდეს სიფრთხილით.

კლინიკურად ყველაზე მნიშვნელოვანი Van ფერმენტებისთვის ტიპური მიკ მოცულობები წარმოდგენილია #1 ცხრილში.

ცხრილი 1. გლიკოპეპტიდების ტიპური მიკ-ები VanA ან VanB-ს მატარებელი ენტეროკოკებისთვის.

გლიკოპეპტიდი	მიკ (მგ/ლ)	
	VanA	VanB
ვანკომიცინი	64-1024	4-1024
ტეიკოპლანინი	8-512	0.06-1

9.3 რეზისტენტობის მექანიზმები

კლინიკურად მნიშვნელოვანი რეზისტენტობა უმეტესად გადაეცემა პლაზმიდით კოდირებული VanA და VanB ლიგაზებით, რომლებიც პეპტიდოგლიკანში ტერმინალ D-Ala(nine)-ს ჩაანაცვლებენ D-Lac(tate)-ით. ასეთი ჩაანაცვლება ამცირებს გლიკოპეპტიდების მიმაგრებას სამიზნეზე. VanA შტამები ავლენენ რეზისტენტობას როგორც ვანკომიცინის, ასევე ტეიკოპლანინის მიმართ, მაშინ როდესაც VanB შტამები ჩვეულებრივ მგრძნობიარე რჩება ტეიკოპლანინის მიმართ რეზისტენტობის ოპერონის ინდუქციის არარსებობის გამო. სხვა ნაკლებად გავრცელებულ ფერმენტებს წარმოადგენს VanD, VanE, VanG, VanL, VanM და VanN (6-9), თუმცა ჩინეთში შეინიშნება *E. faecium*-ში VanM-ის მატება (10). ენტეროკოკების სხვა დამატებითი სახეობები (მაგალითად. *E. raffinosus*, *E. gallinarum* და *E. casseliflavus*), შესაძლოა შეიცავდეს *vanA*, *vanB* ან სხვა *van* გენებს, რომლებიც აკოდირებენ ზემოთ ჩამოთვლილ ფერმენტებს, მაგრამ ასეთი შტამები შედარებით იშვიათია. ქრომოსომებით კოდირებული VanC ფერმენტები ნაჩვენებია ყველა *E. gallinarum* და *E. casseliflavus* შტამებში. VanC განაპირობებს დაბალი დონის ვანკომიცინ-რეზისტენტობას (მიკ 4-16 მგ/ლ) მაგრამ ზოგადად, ინფექციური კონტროლის თვალსაზრისით მნიშვნელოვნად არ უნდა ჩაითვალოს (11). ვანკომიცინ ცვლადი ენტეროკოკი წარმოადგენს ტერმინს VVE - Vancomycin variable enterocci, რომელიც გულისხმობს რომ *van* გენების ექსპრესია ფენოტიპურად „ჩუმდება“ გენეტიკური გადანაცვლებებით და რაც შესაძლოა შეიცვალოს გლიკოპეპტიდის

შერჩევის წნევით (12,13). გარდა ამისა, დაბალი მიკ VRE წარმოადგენს ტერმინს, რომელიც გამოიყენება *vanB* შტამებისათვის, რომლებსაც თავისმხრივ ვანკომიცინის მიერ ინდუცირების არასათანადო უნარის გამო, ახასიათებთ *vanB* გენების დაბალი ექსპრესია, მიკების დონეების დაბალი ნორმით. აღნიშნულმა დაბალმა მიკ VRE-მ შესაძლოა გადააჭარბოს მიკ ნორმის ვანკომიცინის ხანგრძლივი ექსპოზიციის შემთხვევაში (14). ხშირ შემთხვევაში, ორივე, VVE და დაბალი მიკ VRE შტამების აღმოჩენა შესაძლებელია მხოლოდ მოლეკულური ანალიზით. მათი ამჟამინდელი პრევალენტოვა სხვადასხვა გეოგრაფიულ რეგიონში უცნობია.

9.4 რეკომენდირებული მეთოდები გლიკოპეპტიდების მიმართ რეზისტენტობის აღმოსაჩენად *E. faecium* და *E. faecalis* –ში

ვანკომიცინის მიმართ რეზისტენტობის აღმოჩენა შესაძლებელია მიკ განსაზღვრით, დისკის დიფუზიით და გადამწვეტი მნიშვნელობის მქონე აგარის მეთოდით (breakpoint agar method). სამივე მეთოდისთვის აუცილებელია ფინჯების ინკუბაცია მოხდეს სრული 24 საათით რათა აღმოვაჩინოთ შტამები მზარდი ინდუცირებადი რეზისტენტობით.

სამივე მეთოდი პირდაპირ გამოავლენს *vanA*-ით განპირობებულ რეზისტენტობას. *vanB*-თ განპირობებული რეზისტენტობის აღმოჩენა უფრო დიდი გამოწვევაა. აგარის ან ბულიონის განზავებით მიკ-ის განსაზღვრა VanB-თვის არ არის ყოველთვის სანდო (15, 17). ძველი ანგარიშებიდან ჩანს, რომ *vanB*-თ განპირობებული რეზისტენტობის აღმოჩენა პრობლემურია ავტომატიზირებული მეთოდებისთვის (18). მას შემდეგ მოხდა ავტომატიზირებული მეთოდების განახლება, მაგრამ ბოლო დროინდელი კვლევები იმის შესახებ გაუმჯობესდა თუ არა აღნიშნული მეთოდის შედეგიანობა *vanB*-თ განპირობებული რეზისტენტობის აღმოსაჩენად, სამწუხაროდ არ არსებობს. დისკის დიფუზია ვანკომიცინის 5µg დისკის გამოყენებით შეიძლება რთული იყოს, მაგრამ ტესტი მუშაობს კარგად, უზრუნველყოფილია მითითებები შედეგების წაკითხვისთვის თუ დაწვრილებით იქნება შესრულებული EUCAST-ში მითითებული რეკომენდაციები (19).

მიკ-ს ან დისკის დიფუზიის ტესტის შედეგების ინტერპრეტაციის დროს მნიშვნელოვანია დავრწმუნდეთ, რომ შტამი არ წარმოადგენს *E. gallinarum*-ს ან *E. casseliflavus*-ს, რომლებიც არაბინოზას ტესტის დადებითი შედეგის გამო შეცდომით შეიძლება აღქმული იქნას როგორც *E. faecium*. MALDI-TOF მას-სპექტროფოტომეტრია აგრეთვე გამოსადეგია ენტეროკოკების სახეობების საიდენტიფიკაციოდ (20). MGP (მეთილ-ალფა-D-გლუკოპირანიზიდი) ტესტი ან მოძრაობის ტესტი შეიძლება გამოყენებულ იქნას *E. gallinarum* / *E. casseliflavus*-ს განსასხვავებლად *E. faecium*-საგან (MGP უარყოფითი, უძრავი), იქ სადაც არ მოიპოვება MALDI-TOF.

9.4.1 მიკ განსაზღვრა

მიკ-ის განსაზღვრის ტესტის ჩატარება შესაძლებელია აგარის განზავებით, ბულიონის მიკროგანზავებით ან გრადიენტის მიკ მეთოდებით.

ბულიონის მიკროგანზავება სრულდება ISO სტანდარტ 20776-1-ის მოთხოვნების შესაბამისად EUCAST-ის რეკომენდაციების მიხედვით.

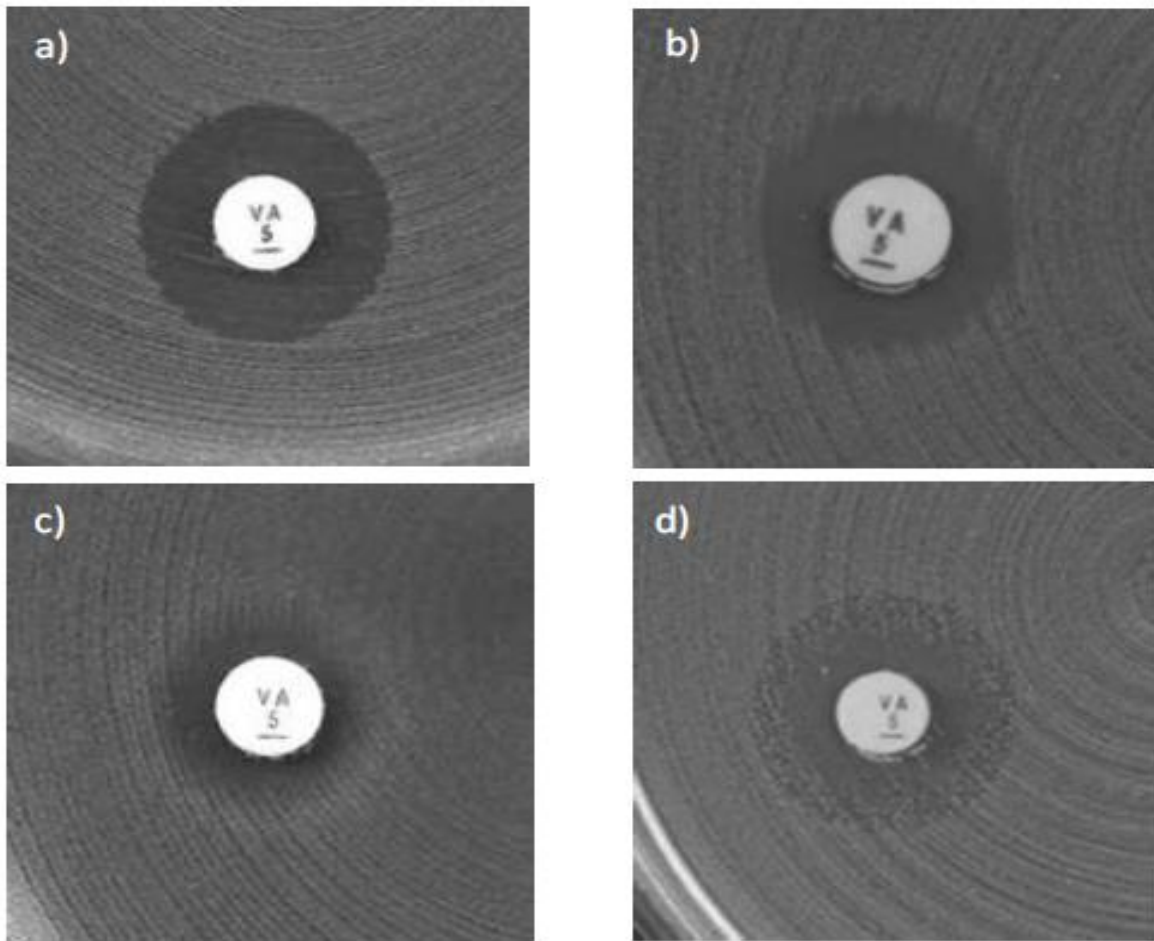
9.4.2 დისკის დიფუზიის მეთოდი

დისკების დიფუზიისთვის EUCAST-ში მითითებული მეთოდი დაწვრილებით უნდა იქნას შესრულებული. გარდამავალ სინათლეზე შეამოწმეთ ზონები არამკაფიო საზღვრის და/ან მიკროკოლონიების არსებობაზე. მკაფიო, მკვეთრი საზღვრები მიაწინებს, რომ შტამი არის მგრძნობიარე და შტამები გამოკვეთილი ზონის საზღვრებით და ნორმაზე მეტი ზონის დიამეტრით, შეიძლება შეატყობინოთ, როგორც ვანკომიცინ-მგრძნობიარე.

შტამები არამკაფიო ზონის საზღვრებით ან ზონის შიგნით არსებული კოლონიებით (სურათი 1.) შეიძლება იყოს რეზისტენტული მიუხედავად ზონის ზომისა და დამადასტურებელი მიკ-განმსაზღვრელი ტესტის ჩატარების გარეშე არ უნდა იქნას შეტყობინებული, როგორც მგრძნობიარე. ბოლო მულტიცენტრული კვლევის მიხედვით, *vanB* - წარმომქმნელი ენტეროკოკის აღმოჩენისათვის დისკის დიფუზიის მეთოდმა იმუშავა უკეთესად ვიდრე VITEK2-მა, განსაკუთრებით არამკაფიო ზონის განსაზღვრის გამოცდილების მქონე ლაბორატორიებში (19).

დისკის დიფუზიის ტესტი ხორციელდება EUCAST დისკის დიფუზიის მეთოდის მიხედვით, რომელიც განკუთვნილია არა-მოძრავი ორგანიზმებისთვის. აუცილებელია ფინჯების ინკუბაცია სრული 24სთ, რათა აღმოვაჩინოთ რეზისტენტობა ზოგიერთი, ინდუცირებადი რეზისტენტობის მქონე შტამებში.

სურათი 1. ვანკომიცინის დისკის დიფუზიის ტესტის წაკითხვა *Enterococcus* spp.



ა) მკვეთრად გამოხატული ზონის კიდეები და ზონის დიამეტრი ≥ 12 მმ. შეატყობინეთ, როგორც მგრძნობიარე.

ბ-დ) არამკაფიო ზონის კიდეები და/ან კოლონიები ზონის შიგნით. შეატყობინეთ, როგორც რეზისტენტული, მიუხედავად ზონის დიამეტრისა.

9.4.3 გადამწვეტი მნიშვნელობის მქონე აგარები

გადამწვეტი მნიშვნელობის მქონე აგარის ტესტები ტვინ გულის ინფუზიური აგარით და 6 მგ/ლ ვანკომიცინით, გამოსადეგია *vanA*- და *vanB*- დადებითი შტამების გამოსავლენად (19). შესაძლებელია გადამწვეტი მნიშვნელობის მქონე აგარის ფინჯნების შეძენა კომერციული მწარმოებლებისაგან ან ლაბორატორიაში დამზადება. გადამწვეტი მნიშვნელობის მქონე აგარის ტესტი სრულდება 1×10^5 - 1×10^6 cfu (0.5 მაკფარლანდის სუსპენზიის 10 μ l) განთავსებით 6 მგ/ლ ვანკომიცინის შემცველი, ტვინ-გულის ინფუზიური აგარის ფინჯანზე. ინკუბაცია 24 სთ $35 \pm 1^\circ\text{C}$ -ზე ოთახის ჰაერი არის საჭირო რათა აღმოვაჩინოთ რეზისტენტობა ზოგიერთ, ინდუცირებადი რეზისტენტობის მქონე შტამებში. ერთზე მეტი კოლონიის გაზრდა ფასდება დადებით ტესტად.

9.4.4 გენოტიპური ტესტირება

ასევე შესაძლებელია ვანკომიცინის მიმართ რეზისტენტობის აღმოსაჩენად პჯრ (PCR) გამოყენება სამიზნე *vanA* და *vanB*-ით, როგორც კომერციული, ასევე შიდა ლაბორატორიული ტესტების გამოყენებით (20-22).

9.4.5 ხარისხის კონტროლი

ქვემოთ ჩამოთვლილია შასაძლო საკონტროლო შტამები ფენოტიპური და გენოტიპური ექსპერიმენტებისათვის. ხარისხის კონტროლის დიაპაზონები ხელმიუწვდომელია აღნიშნული შტამებისათვის. კომერციული მეთოდების

გამოყენებისათვის გთხოვთ იხილოთ პაკეტის შიგთავსი, იმ იმფორმაციის მისაღებად თუ რომელი საკონტროლო შტამი უნდა იქნას გამოყენებული.

ცხრილი 2. ენტეროკოკის ტესტირებისათვის განკუთვნილი საკონტროლო შტამების მაგალითები

შტამი	მექანიზმი
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	ვანკომიცინ მგრძნობიარე
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	ვანკომიცინ რეზისტენტული (<i>vanB</i>)
<i>E. faecium</i> NCTC 12202	ვანკომიცინ რეზისტენტული (<i>vanA</i>)

9.5 საცნობარო ლიტერატურა

1. Mazuski JE. Vancomycin-resistant enterococcus: risk factors, surveillance, infections, and treatment. Surg Infect. 2008;9:567-71.
2. Tenover FC, McDonald LC. Vancomycin-resistant staphylococci and enterococci: epidemiology and control. Curr Opin Infect Dis. 2005;18:300-5.
3. Hayden MK, Trenholme GM, Schultz JE, Sahm DF. In vivo development of teicoplanin resistance in a VanB Enterococcus faecium isolate. J Infect Dis. 1993;167:1224-7.
4. Kawalec M, Gniadkowski M, Kedzierska J, Skotnicki A, Fiett J, Hryniewicz W. Selection of a teicoplanin-resistant Enterococcus faecium mutant during an outbreak caused by vancomycin-resistant enterococci with the vanB phenotype. J Clin Microbiol. 2001;39:4274-82.
5. Holmes NE, Ballard SA, Lam MM, Johnson PD, Grayson ML, Stinear TP, Howden BP. Genomic analysis of teicoplanin resistance emerging during treatment of vanB vancomycin-resistant Enterococcus faecium infections in solid organ transplant recipients including donor-derived cases. J Antimicrob Chemother. 2013;68(9):2134-9.
6. Depardieu F, Perichon B, Courvalin P. Detection of the van alphabet and identification of enterococci and staphylococci at the species level by multiplex PCR. J Clin Microbiol. 2004;42:5857-60.
7. Boyd DA, Willey BM, Fawcett D, Gillani N, Mulvey MR. Molecular characterization of Enterococcus faecalis N06-0364 with low-level vancomycin resistance harboring a novel D-Ala-D-Ser gene cluster, vanL. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52:2667-72.
8. Xu X, Lin D, Yan G, Ye X, Wu S, Guo Y, Zhu D, Hu F, Zhang Y, Wang F, Jacoby GA, Wang M. vanM, a new glycopeptide resistance gene cluster found in Enterococcus faecium. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54:4643-7.
9. Lebreton F, Depardieu F, Bourdon N, Fines-Guyon M, Berger P, Camiade S, Leclercq R, Courvalin P, Cattoir V. DAla-d-Ser VanN-type transferable vancomycin resistance in Enterococcus faecium. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(10):4606-12.
10. Chen C, Sun J, Guo Y, Lin D, Guo Q, et al. High Prevalence of vanM in Vancomycin-Resistant Enterococcus faecium Isolates from Shanghai, China. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(12):7795-8.
11. Ramotar K, Woods W, Larocque L, Toye B. Comparison of phenotypic methods to identify enterococci intrinsically resistant to vancomycin (VanC VRE). Diagn Microbiol Infect Dis. 2000;36:119-24.
12. Sivertsen A, Pedersen T, Larssen KW, Bergh K, Rønning TG, et al. A Silenced vanA Gene Cluster on a Transferable Plasmid Caused an Outbreak of Vancomycin-Variable Enterococci. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60(7):4119-27.
13. Thaker MN, Kalan L, Waglechner N, Eshaghi A, Patel SN, et al. Vancomycin-variable enterococci can give rise to constitutive resistance during antibiotic therapy. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(3):1405-10.
14. Grabsch EA, Chua K, Xie S, Byrne J, Ballard SA, Ward PB, Grayson ML. Improved Detection of vanB2-Containing Enterococcus faecium with Vancomycin Susceptibility by Etest Using Oxgall Supplementation. J. Clin. Microbiol 2008; 46: 1961-4
15. Swenson JM, Clark NC, Sahm DF, Ferraro MJ, Doern G, Hindler J, Jorgensen JH, Pfaller MA, Reller LB, Weinstein MP, et al. Molecular characterization and multilaboratory evaluation of Enterococcus faecalis ATCC 51299 for quality control of screening tests for vancomycin and high-level aminoglycoside resistance in enterococci. J Clin Microbiol. 1995;33:3019-21.
16. Klare I, Fleige C, Geringer U, Witte W, Werner G. Performance of three chromogenic VRE screening agars, two Etest® vancomycin protocols, and different microdilution methods in detecting vanB genotype Enterococcus faecium with varying vancomycin MICs. Diagn Microbiol Infect Dis. 2012;74:171-6.
17. Wijesuriya TM, Perry P, Pryce T, Boehm J, Kay I, Flexman J, Coombs GW, Ingram PR. Low vancomycin MICs and fecal densities reduce the sensitivity of screening methods for vancomycin resistance in Enterococci. J Clin Microbiol. 2014 Aug;52(8):2829-33

18. Endtz HP, Van Den Braak N, Van Belkum A, Goessens WH, Kreft D, Stroebe AB, Verbrugh HA. Comparison of eight methods to detect vancomycin resistance in enterococci. *J Clin Microbiol.* 1998;36:592-4.
19. Hegstad K, Giske CG, Haldorsen B, Matuschek E, Schønning K, et al. Performance of the EUCAST disk diffusion method, the CLSI agar screen method, and the Vitek 2 automated antimicrobial susceptibility testing system for detection of clinical isolates of Enterococci with low- and medium-level VanB-type vancomycin resistance: a multicenter study. *J Clin Microbiol.* 2014;52(5):1582-9
20. Fang H, Ohlsson AK, Ullberg M, Özenci V. Evaluation of species-specific PCR, Bruker MS, VITEK MS and the VITEK2 system for the identification of clinical Enterococcus isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012; 31: 3073-7
21. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol.* 1995;33:1434.
22. Dahl KH, Simonsen GS, Olsvik O, Sundsfjord A. Heterogeneity in the vanB gene cluster of genomically diverse clinical strains of vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:1105-10.
23. Gazin M, Lammens C, Goossens H, Malhotra-Kumar S; MOSAR WP2 Study Team. Evaluation of GeneOhm VanR and Xpert vanA/vanB molecular assays for the rapid detection of vancomycin-resistant enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31:273-6.

10. პენიცილინის მიმართ არა-მგრძნობიარე (არა-ველური) *Streptococcus pneumoniae*

რეზისტენტობის მექანიზმის გამოვლენის მნიშვნელოვნება	
აუცილებელია კლინიკური ანტიბიოტიკომგრძნობელობის კატეგორიზაციისთვის	დიახ
ინფექციური კონტროლი	არა
საზოგადოებრივი ჯანმრთელობა	დიახ

10.1 განსაზღვრება

S. pneumoniae-ს შტამები პენიცილინის მიმართ შემცირებული მგრძნობელობით (მიკ-ები ველურ ტიპზე მაღალი, მაგალითად >0.06 მგ/ლ), რაც განპირობებულია მოდიფიცირებული პენიცილინის-შემბოჭავი (penicillin-binding) პროტეინების (PBP-ები) არსებობით, რომლებსაც აქვთ დაბალი აფინობა ბეტა-ლექტამების მიმართ.

10.2 კლინიკური და /ან ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა

S. pneumoniae წარმოადგენს პნევმონიის ყველაზე გავრცელებულ მიზეზს მსოფლიოში. ავადობა და სიკვდილობა მაღალია და დაახლოებითი გამოთვლებით წელიწადში სამი მილიონი ადამიანი კვდება პნევმოკოკური ინფექციებით. დაბალი დონის რეზისტენტობა პენიცილინის მიმართ ასოცირებულია გაზრდილ სიკვდილობასთან, როდესაც ხდება მენინგიტების მკურნალობა ბენზილპენიცილინით (1). სხვა ტიპის ინფექციებში, დაბალი დონის რეზისტენტობის შემთხვევაში არ აღინიშნა გაზრდილი სიკვდილობა, თუ მაღალი დოზები იქნა გამოყენებული. მრავალი ქვეყანა ატარებს ვაქცინაციის პროგრამას რამოდენიმე პნევმოკოკური სეროტიპის საწინააღმდეგოდ და ამან შესაძლოა გავლენა მოახდინოს რეზისტენტობის დონეებზე, რომლებიც ნაწილობრივ იქნა ინვაზიურ შტამებში (2). თუმცა, პენიცილინზე არა-მგრძნობიარე *S. pneumoniae* კვლავ რჩება უმთავრეს კლინიკურ პრობლემად საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის დაცვის თვალსაზრისით, მიუხედავად იმისა, რომ ეს მიკროორგანიზმები არ ასოცირდება ჯანმრთელობის დაცვის ინსტიტუტებში გავრცელებასთან, როგორც ეს ახასიათებთ წარმოდგენილ დოკუმენტში აღწერილ სხვა პათოგენებს.

10.3 რეზისტენტობის მექანიზმი

S. pneumoniae შეიცავს ექვს PBP-ს, რომელთაგან PBP 2x წარმოადგენს პენიცილინის პირველად სამიზნეს (3). „მოზაიკური გენების“ არსებობა, რომლებიც აკოდირებს დაბალი აფინობის PBP-ებს, წარმოადგენს სინანტროპული *viridans streptococci*-ებიდან გენების ჰორიზონტალურად გადატანის შედეგს (3). ბეტა-ლექტამური რეზისტენტობის დონე დამოკიდებულია არა მხოლოდ დაბალი აფინობის მოზაიკური PBP-ების არსებობაზე შტამში, არამედ სპეციფიური PBP-ების მოდიფიკაციებზეც, რომელსაც არსებითი მნიშვნელობა აქვს *S. pneumoniae*-სთვის (4). შტამები, რომელთა ბენზილპენიცილინის მიკ არის 0.12 დან 2 მგ/ლ ფარგლებში, განიხილება როგორც მგრძნობიარე არა-მენინგიტურ ინფექციებში, როდესაც პენიცილინი არის გამოყენებული უფრო მაღალი დოზით, მაშინ, როდესაც მენინგიტისთვის ასეთი შტამები ყოველთვის შეტყობინებული უნდა იყოს, როგორც რეზისტენტული (5).

10.4 რეკომენდირებული მეთოდები პენიცილინზე არა-მგრძნობიარე *S.pneumoniae*-ს აღმოსაჩენად

პენიცილინზე არა-მგრძნობიარობა შესაძლოა გამოვლენილი იქნას ფენოტიპურად მიკ-ით ან დისკის დიფუზიის მეთოდებით.

8.4.1 დისკის დიფუზიის მეთოდი

დისკის დიფუზიის მეთოდი $1\mu\text{g}$ ოქსაცილინის დისკის გამოყენებით წარმოადგენს ეფექტურ სასკრინინგო მეთოდს პენიცილინზე არა-მგრძნობიარე პნევმოკოკების აღმოსაჩენად (6-8). მეთოდი ძალიან მგრძნობიარეა, მაგრამ არ გააჩნია მაღალი სპეციფიურობა, რადგან შტამებს, რომელთა ზონის დიამეტრი ≤ 19 მმ, შესაძლოა ჰქონდეთ სხვადასხვა

მგრძნობელობა ბენზილპენიცილინის მიმართ, და ბენზილპენიცილინის მიკ უნდა განისაზღვროს ყველა შტამისთვის, რომელიც არ არის მგრძნობიარე სკრინინგ მეთოდით (8).

ბენზილპენიცილინისგან განსხვავებული სხვა ბეტა-ლექტამებისთვის, ოქსაცილინის ზონის დიამეტრი შეიძლება გამოყენებული იქნას მგრძნობელობის პროგნოზირებისთვის, როგორც ეს ნაჩვენებია ცხრილში 1.

ცხრილი 1. ბეტა-ლექტამური რეზისტენტობის სკრინინგი *S. pneumoniae*-ში

ზონის დიამეტრი (მმ) ოქსაცილინთან ერთად (1µg)	ანტიმიკრობული აგენტი	შემდგომი ტესტირება და/ან ინტერპრეტაცია
≥ 20 მმ	ყველა ბეტა-ლექტამური აგენტი, რომლისთვისაც კლინიკური ნორმები ჩამოთვლილია („შენიშვნის“ მქონეების ჩათვლით)	შეტყობინება მგრძნობიარე, მიუხედავად კლინიკური მაჩვენებლებისა, გარდა ცეფალოლოსპორინებისა, რომელიც შეტყობინების შემთხვევაში უნდა შეატყობინოთ „საშუალოდ მგრძნობიარე“
< 20 მმ*	ბენზილპენიცილინი (მენინგიტი) და ფენოქსიმეთილპენიცილინი (ყველა ჩვენება)	შეტყობინება „რეზისტენტული“
	ამპიცილინი, ამოქსიცილინი და პიპერაცილინი (β-ლექტამაზას ინჰიბიტორით და მის გარეშე), ცეფოტაქსიმი, ცეფტრიაქსონი, ცეფტაროლინი და ცეფეპიმი, ცეფტოზიმოლი	ოქსაცილინის ზონის დიამეტრი ≥ 8 მმ: შეტყობინება-მგრძნობიარე.
	სხვა ბეტა-ლექტამური აგენტები	ოქსაცილინის ზონის დიამეტრი < 8 მმ: განსაზღვრეთ მიკ და მოახდინეთ ინტერპრეტაცია კლინიკური ნორმების შესაბამისად. ამპიცილინის, ამოქსიცილინის და პიპერაცილინისთვის (β-ლექტამაზას ინჰიბიტორით და მის გარეშე), გამოთვალეთ მგრძნობელობა ამპიცილინის მიკ-დან.

*ოქსაცილინი 1 µg <20 მმ: ყოველთვის განსაზღვრეთ ბენზილპენიცილინის მიკ მაგრამ არ დააყოვნოთ შეტყობინება სხვა ბეტა-ლექტამების შესახებ როგორც ზევით არის რეკომენდირებული.

10.4.2 კლინიკური ნორმები

თავდაპირველად პენიცილინის ნორმები შემუშავებული იქნა პნევმოკოკური მენინგიტის მკურნალობის წარმატების უზრუნველსაყოფად. თუმცა, კლინიკურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ ისეთი პნევმოკოკური პნევმონიის გამოსავალი, რომელიც გამოწვეული იყო პენიცილინის მიმართ საშუალო მგრძნობელობის მქონე შტამებით და ნამკურნალები იყო პარენტერალური პენიცილინით, არ განსხვავდებოდა იმ პაციენტებისაგან, რომლებსაც ჩაუტარდათ მკურნალობა სხვა ანტიბიოტიკებით. მიკრობიოლოგიური, ფარმაცოკინეტიკური და ფარმაცოდინამიკური მონაცემების გათვალისწინებით, არა-მენინგიტისთვის ბენზილპენიცილინის კლინიკური ნორმები გადაიხედა (4) და ამჟამინდელი EUCAST-ის ნორმები წარმოდგენილია ცხრილში #1.

ცხრილი 2. ბენზილპენიცილინის მიმართ მგრძნობელობის შესახებ ანგარიშგება მენინგიტებში და არა-მენინგიტებში

ჩვენება	მიკ ნორმები (მგ/ლ)		შენიშვნა
	მგრძნობიარე ≤	რეზისტენტული >	
ბენზილ-პენიცილინი (არა-მენინგიტი)	0.06	2	პნევმონიის დროს, როდესაც დოზა 1.2 გრ x 4 არის გამოყენებული, შტამები მიკ-ით ≤0.5 მგ/ლ უნდა ჩაითვალოს, როგორც მგრძნობიარე ბენზილპენიცილინის მიმართ. პნევმონიის დროს, როცა არის გამოყენებული დოზა 2.4 გრ x 4 ან 1.2 გრ x 6, შტამები მიკ-ით ≤1 მგ/ლ უნდა ჩაითვალოს როგორც მგრძნობიარე ბენზილპენიცილინის მიმართ. პნევმონიის დროს, როცა არის გამოყენებული დოზა 2.4 გრ x 6, შტამები მიკ-ით ≤2მგ/ლ უნდა ჩაითვალოს როგორც მგრძნობიარე.
ბენზილ-პენიცილინი (მენინგიტი)	0.06	0.06	

10.4.3 ხარისხის კონტროლი

ფენოტიპური ტესტირებისათვის შესაძლო საკონტროლო შტამები ნაჩვენებია მე-3 ცხრილში.

ცხრილი 3. ბენზილპენიცილინის მიმართ მგრძნობელობის ტესტის ხარისხის კონტროლისთვის განკუთვნილი შტამები.

შტამი	მექანიზმი
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	მოზაიკური PBP, ბენზილპენიცილინის მიკ 0.5 მგ/ლ

10.5 საცნობარო ლიტერატურა

1. Kaplan SL, Mason EO Jr. Management of infections due to antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*. ClinMicrobiol Rev. 1998;11(4):628-44.
2. Dagan R. Impact of pneumococcal conjugate vaccine on infections caused by antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Clin Microbiol Infect. 2009;15 (Suppl 3):16-20.
3. Hakenbeck R, Kaminski K, Konig A, van der Linden M, Paik J, Reichmann P, Zahner D. Penicillin-binding proteins in beta-lactam-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Microb Drug Resist 1999; 5: 91-99.
4. Grebe T, Hakenbeck R. Penicillin-binding proteins 2b and 2x of *Streptococcus pneumoniae* are primary resistance determinants for different classes of β-lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 829-834.
5. Weinstein MP, Klugman KP, Jones RN. Rationale for revised penicillin susceptibility breakpoints versus *Streptococcus pneumoniae*: Coping with antimicrobial susceptibility in an era of resistance. Clin Infect Dis 2009; 48: 1596 – 1600.
6. Dixon JMS, Lipinski AE, Graham MEP. Detection and prevalence of pneumococci with increased resistance to penicillin. Can Med Assoc J 1977; 117: 1159-61.
7. Swenson JM, Hill BC, Thornsberry C. Screening pneumococci for penicillin resistance. J Clin Microbiol 1986; 24: 749-52.
8. Jette LP and C Sinave. Use of an oxacillin disk screening test for detection of penicillin- and ceftriaxone-resistant pneumococci. J Clin Microbiol 1999; 37: 1178-81.

