სსიპ ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტი
ბიოლოგიის დეპარტამენტი

დოქტორანტი ვიქტორია თავაძე

აჭარაში გავრცელებული ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევი *E.coli*-ის იდენტიფიკაცია და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პროფილის შესწავლა

ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარდგენილი
დისერტაცია
სპეციალობა: მიკრობიოლოგია

ხელმძღვანელები:

ლეილა ახვლედიანი – ბიოლოგიის დოქტორი,
ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო
უნივერსიტეტის ასოც. პროფესორი
რუსუდან ხუხუნაიშვილი - ბიოლოგიის დოქტორი,
ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო
უნივერსიტეტის, პროფესორი

ბათუმი, 2021 წელი

მე, ვიქტორია თავაძე, როგორც წარდგენილი სადისერტაციო ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

ვიქტორია თავაძე

ვ. თავაძე

შინაარსი

შესავალი 6

თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა 13

ქვეთავი I. ნოზოკომიური ინფექციები, როგორც ჯანდაცვის სისტემის მწვავე პრობლემა **13**

ქვეთავი II. *Escherichia Coli* -ის დახასიათება **16**

2.1. ტაქსონომია და ძირითადი მახასიათებლები 16

2.2. გავრცელება 19

2.3 კლინიკური მნიშვნელობა 20

2.4 *E. coli-ის* როლი ბიოგარსის ფორმირებაში 22

2.5 *E. coli*-ის იდენტიფიკაცია 26

ქვეთავი III. ძირითადი ანტიბაქტერიული პრეპარატები. 27

3.1 ანტიბიოტიკების დახასიათება 27

3.2 β -ლაქტამური ანტიბიოტიკები 31

3.3 *E.coli-ის* საწინააღმდეგოდ გამოყენებადი ანტიბიოტიკების ეფექტურობა 36

ქვეთავი IV. ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ბიოქიმიური და მოლეკულურ-გენეტიკური საფუძვლები 38

4.1. ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ბიოქიმიური მექანიზმი 38

4.2 გენეტიკური დეტერმინანტების გადაცემის მექანიზმები 41

4.3 გაფართოებული სპექტრის β-ლაქტამების განსაზღვრება 44

4.4 კარბაპენემაზები 55

თავი II. კვლევის მასალა და მეთოდები **61**

ქვეთავი I. კვლევის მასალა 61

ქვეთავი II. კვლევის მეთოდები 61

2.1 კვლევაში გამოყენებული მიკრობიოლოგიური მეთოდები 61

2.2 კვლევაში გამოყენებული ბიოქიმიური მეთოდები 64

2.2.1 პირველადი ბიოქიმიური ტესტები 64

2. 2. 2 API 20 E -ენტერობაქტერიების იდენტიფიკაციის ბიოქიმიური ტესტი 64

2.3 ფენოტიპური ანტიბიოტიკორეზისტენტობის დადგენა 67

2.3.1 კირბ-ბაუერის დისკ-დიფუზიის მეთოდი 67

2.3.2 ანტიბიოტიკის მინიმალური ინჰიბიციის კონცენტრაციის განსაზღვრა. სისტემა E-TEST და სერიული განზავების მეთოდი 67

2.3.3 ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST) 70

2.4 კვლევის მოლეკულური მეთოდები 71

2.4.1 დნმ-ის ექსტრაქცია 71

2.4.2 პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდი (PCR) 72

2.4.3 ელექტროფორეზი აგაროზის გელში 75

2.4.4 რევერს ჰიბრიდიზაცია 77

თავი III. შედეგები და მათი განსჯა 81
3.1 *E.coli*-ის ანტიბიოტიკორეზისტენტობის შესწავლის შედეგები 81
3.2 *E.coli*-ის ESBL მაპროდუცირებელი შტამების მოლეკულურის კვლევის შედეგები 95
დასკვნები: 106
რეკომენდაციები: 108
გამოყენებული ლიტერატურა 110

გამოყენებული აბრევიატურა

- **Bp**- ნუკლეოტიდური ფუძეების წყვილი ;
- **CDC**-ამერიკის დაავადებათა კონტროლის ცენტრი
- **CLSI** -კლინიკური და ლაბორატორიული სტანდარტების ინსტიტუტი;
- **DAEC**-დიფუზურ-ადჰეზიური ნაწლავური ჩხირი;
- **DDST -** ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი
- **EAEC** - ენტერო აგრეგატიული ნაწლავის ჩხირი;
- **EDTA** - ეთილენ- დიამინ- ტეტრა-ძმრის მჟავის ბუფერი;
- **EHEC** - ენტეროჰემორაგიული ნაწლავის ჩხირი;
- **EIEC** - ენტეროინვაზიური ნაწალავის ჩხირი;
- **EPEC** - ენტეროპათოგენური ნაწლავის ჩხირი;
- **ESBL -** ფართო სპექტრის ბეტალაქტამაზები;
- **ETEC** - ენტეროტოქსიგენური ნაწლავის ჩხირი;
- **EUCAST -** ანტიბიოტიკების მგრძნობელობის ტესტის ევროპული კომიტეტი;
- **MICs -** მინიმალური ინჰიბიტორული კონცენტრაცია;
- **PBPs -** პენიცილინ-შემაკავშირებელი ცილა ;
- **PCR** - პოლიმერაზა ჯაჭვური რეაქცია;
- **Spp** - გვარში გაერთიანებული რამოდენიმე სახეობა;
- **STEC** – შიგატოქსინის მაპროდუცირებელი E. coli;
- **VTEC** - ვეროტოქსინის მაპროდუცირებელი E.coli;
- **HUS, ჰუს** - ჰემოლიტიკო-ურემიული სინდრომი;
- **MBL** - მეტალო-ბეტა -ლაქტამაზები;
- **MIC** - მინიმალური მაინჰიბირებელი კონცენტრაცია.

შესავალი

ანტიბიოტიკორეზისტენტობა მსოფლიო ჯანდაცვის ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი და გლობალური პრობლემაა, რადგან სწრაფად ვრცელდება და მატულობს იმ მიკროორგანიზმთა სახეობები, რომლებიც რეზისტენტულები არიან ერთდროულად რამდენიმე ანტიბიოტიკის მიმართ (Jacopin….2020; Khan 2020). რეზისტენტული შტამების ჩამოყალიბებას და გავრცელებას ხელს უწყობს ინფექციის არასათანადო კონტროლი ჯანდაცვის სფეროში, ანტიბიოტიკების არასწორად გამოყენება ადამიანებში, ასევე მეცხოველეობის და მეფრინველეობის ფერმებში, არადამაკმაყოფილებელი ჰიგიენური და სანიტარული პირობები (Sarina … 2020; Boonyasiri …2014).

ანტიბიოტიკორეზისტენტობასთან ბრძოლაში მთავარი მიმართულებებია: სისტემის მონიტორინგის ორგანიზება, რეზისტენტული მიკროორგანიზმების და რეზისტენტობის გენების ცირკულაციის დადგენა, ანტიბიოტიკებისადმი მიკროორგანიზმების მგრძნობელობის განსაზღვრის ერთიანი სტანდარტიზირებული მეთოდოლოგიის შემუშავება და დანერგვა. რეზისტენტობის მექანიზმების ცოდნასა და ფარმაკოდინამიკა-ფარმაკოკინეტიკაზე დაფუძნებული ინტერპრეტაციის ერთიანი კრიტერიუმები იძლევა გამოკვლევების გაუმჯობესებისა და ეფექტური მონიტორინგის ჩატარების საშუალებას არა მარტო ცალკეული სტაციონარის დონეზე, არამედ რეგიონსა და ქვეყანაშიც. მეორე მხრივ, ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პრობლემა მიკროორგანიზმების განსაზღვრული პოლირეზისტენტული კლონების სწრაფად და გლობალურად გავრცელებაში მდგომარეობს, რასაც ხელს უწყობს გლობალიზაცია, რომლის შედეგია მოსახლეობის მასიური მიგრაცია სხვადახვა ქვეყნებში. თანამედროვე სამყაროში ექიმს შეიძლება მიმართოს პაციენტმა, რომელიც იმყოფებოდა მსოფლიოს სხვადასხვა წერტილის სტაციონარში. „საერთაშორისო“ პაციენტი შეიძლება იყოს ადამიანი, რომელიც იძულებით ტოვებს საცხოვრებელს, ან გაურბის ბუნებრივ კატასტროფებს; ასევე ტურისტი, რომელიც ჰოსპიტალიზდება მოგზაურობის დროს, უბედური შემთხვევების გამო; პაციენტი, რომელიც სამედიცინო ტურიზმის მეშვეობით იღებს სამედიცინო დახმარებას უფრო იაფად, ვიდრე მის ქვეყანაში (სტომატოლოგია, ოფთალმოლოგია და ა.შ.).

სხვა ქვეყნის სტაციონარში ჰოსპიტალიზაციას თან სდევს პოლირეზისტენტული მიკროორგანიზმებით ინფიცირების რისკი, რომელიც გადაადგილდება პაციენტებთან ერთად ერთი ქვეყნის სტაციონარიდან მეორეში, სადაც ისინი ადრე არ ცირკულირებდნენ. ნათელია, რომ ასეთი მიკროორგანიზმების მონიტორინგი უნდა ჩატარდეს საერთაშორისო დონეზე (Antimicrobial Resistance… 2014; Singh… 2012).

სხვა მიკრობებთან ერთად ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამები დაფიქსირდა ენტერობაქტერიებშიც, განსაკუთრებით ბეტა ლაქტამების მიმართ. ბეტალაქტამური ანტიბიოტიკების მიმართ ენტერობაქტერიის რეზისტენტობის ჩამოყალიბებაში β-ლაქტამაზების პროდუქცია (ESBL) ერთ-ერთი ყველაზე უფრო გავრცელებული და კლინიკურად მნიშვნელოვანი მექანიზმია (Moglad…..2020).

ESBL არის ფერმენტი, რომელიც განაპირობებს რეზისტენტობას β-ლაქტამური ანტიბიოტიკების, მათ შორის: პენიცილინების, ცეფალოსპორინების და მონობაქტამების მიმართ. ინფექციები, რომელსაც იწვევენ ეს ბაქტერიები, ხასიათდება ხშირი ლეტალობით (Hashemi B…. 2018). მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეეყანაში დაფიქსირდა ანტიმიკრობული რეზისტენტობა მესამე თაობის ცეფალოსპორინების მიმართაც.

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ერთ-ერთი საუკეთესო მაგალითია მრავლობით ანტიბიოტიკორეზისტენტული და ESBL-მაპროდუცირებელი *Escherichia coli,* რომელსაც შეუძლია გამოიწვიოს სიცოცხლისათვის საშიში ინფექცია (Pormohammad… 2019). მართალია *E. coli* ადამიანის ნაწლავის ფლორის ნაწილია, მაგრამ მან შესაძლოა გამოიწვიოს ნაწლავის, საშარდე გზების და ცენტრალური ნერვული სისტემის დაავადებები. ცხოველები *E. coli* -ის მნიშვნელოვანი რეზერვუარია და ამ ცხოველებში ანტიბიოტიკების ხანგრძლივად გამოყენება ანტიბიოტიკორეზისტენტული ნაწლავის ჩხირის წყარო ხდება ადამიანისთვისაც, რადგან ის გადაეცემა ადამიანს გარემოდან პირდაპირი და არაპირდაპირი კონტაქტის გზით. იმისთვის, რომ ჩატარდეს ამა თუ იმ ინფექციის ეფექტური მკურნალობა, აუცილებელია ინფორმაციის ფლობა არა მარტო ამ ინფექციის

გავრცელების, არამედ ინფექციის გამომწვევის ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძნობელობის შესახებ.

ყოველივე ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, ბაქტერიული რეზისტენტობის მექანიზმების დადგენას ძალიან დიდი მნიშველობა აქვს ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ჩამოყალიბების წინააღმდეგ ბრძოლის მეთოდების შემუშავებაში.

ვინაიდან რეზისტენტული შტამების უმეტესი წილი მოდის გრამ-უარყოფით ბაქტერიებზე, მათ წინააღმდეგ ბრძოლა ყველაზე ხშირად β-ლაქტამური ჯგუფის ანტიბიოტიკებით ხდება, რომელთა შორისაა პენიცილინის ჯგუფის ანტიბიოტიკები (ამპიცილინი, მეტიცილინი) და ცეფალოსპორინები. მესამე თაობის ცეფალოსპორინების გამოყენებას ხანგრძლივი ისტორია აქვს. ისინი ეფექტურად მოქმედებენ ფართო სპექტრის ბაქტერიულ ფლორაზე (Richard...2012). ამ კლასის ანტიმიკრობული პრეპარატების ხანგრძლივმა და მასშტაბურმა გამოყენებამ გამოიწვია მათი ეფექტურობის შემცირება, რადგან გამოჩნდა ისეთი შტამები, რომლებიც აპროდუცირებდნენ ფართო სპექტრის β-ლაქტამაზებს. ისინი ძირითადად A კლასს მიეკუთვნებიან. ამან საჭირო გახადა მეოთხე თაობის ცეფალოსპორინების, კარბეპენემის ჯგუფის (იმიპენემი, მეროპენემი) და ინჰიბიტორ-დაცული β-ლაქტამების გამოყენება. ყოველივე ამან გამოიწვია ფერმენტ β-ლაქტამაზას მაპროდუცირებელი მიკროორგანიზმების ფართოდ გავრცელება. ბაქტერიათა სხვადასხვა ჯგუფის გავრცელება განსხვავებულია მსოფლიოს სხვადასხვა რეგიონში. ყველაზე მეტად გამოხატულია C კლასის β-ლაქტამაზების გავრცელება. გაჩნდა ისეთი ლაქტამაზებიც, რომლებიც მიეკუთვნებიან B კლასს. როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა ჩამონათვალში *Klebsiella spp.* და *Escherichia coli* მიეკუთვნებიან სწორედ ფართო სპექტრის β-ლაქტამაზა პროდუცენტებს (Essack...2011; van Loon…2017; Sheu…..2019).

β-ლაქტამაზები წარმოადგენენ გენეტიკურად და ფუნქციურად განსხვავებულ ფერმენტთა ფართო ჯგუფს, რომელთა ძირითადი დამახასიათებელი თვისებაა β-ლაქტამური რგოლის დაზიანების უნარი, რის შედეგადაც ანტიბიოტიკი კარგავს ანტიმიკრობულ აქტივობას. დღეისათვის ცნობილი β-ლაქტამაზები იყოფა ოთხ

მოლეკულურ კლასად. ამ კლასში შემავალი ბაქტერიები ხასიათდებიან გარკვეული ამინომჟავური ჰომოლოგიით. საქმე იმაშია, რომ ცალკეული ჯგუფების შიგნითაც კი ეს ბაქტერიები, შესაძლებელია განსხვავდებოდეს გენების ლოკალიზაციით. ასევე ხდება β-ლაქტამაზების C კლასის გენის გადატანა პლაზმიდებში. ასე რომ, ახალი β-ლაქტამაზების ფორმირება და გავრცელება ხდება ძალიან სწრაფად. ამასთანავე, სხვადასხვა რეგიონში დაფიქსირებულია განსხვავებული გავრცელების მაჩვენებელი (Essack...2011).

მიუხედავად იმისა, რომ რეზისტენტული მიკროორგანიზმებით გამოწვეული ნოზოკომიური ინფექციების გავრცელება მსოფლიო ჯანდაცვის მწვავე პრობლემას წარმოადგენს, საქართველოში *E. coli*-ის პათოგენური შტამებით გამოწვეული ნოზოკომიური ინფექციების შესახებ მონაცემები ძალიან მწირია. არაფერია ცნობილი აჭარის რეგიონის სტაციონარებში ამ ბაქტერიის რეზისტენტული შტამების გავრცელების შესახებ.

აღნიშნულიდან გამომდინარე, ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ადგილობრივ სტაციონერებში გავრცელებეული ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევათა შორის *E. coli*-ის დეტექცია, იდენტიფიკაცია და რეზისტენტობის მოლეკულურ-გენეტიკური საფუძვლების დადგენა.

მიზნის მისაღწევად დისერტაციის ფარგლებში დასახული იქნა შემდეგი ამოცანები:

- მასალის შეგროვება ნოზოკომიურ ინფექციებზე საეჭვო პაციენტებიდან;
- მასალაში დაავადების შესაძლო გამომწვევების დასადგენად ნიმუშის ბაქტერიოლოგიური კვლევა;
- ანტიბიოტიკოგრამა, მიკრობთა მგრძნობელობის განსაზღვრა;
- ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამების ფენოტიპური შესწავლა;
- იზოლანტების ბანკის შექმნა შემდგომი მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევებისთვის;
- ფართო სპექტრის β-ლაქტამაზა პროდუცენტების (ESBL) იდენტიფიცირება;
- დნმ-ის გამოყოფა კულტურიდან და გენეტიკური პროფილის შესწავლა რეზისტენტობის მიზეზების დადგენის მიზნით;
-

კვლევის მასალა და მეთოდიკა:

კვლევის ობიექტებად შერჩეული იქნა შიდა ჰოსპიტალური ინფექციის გამომწვევი ნაწლავის ჩხირი *E. coli*.

საკვლევი მასალა შეგროვდა სტაციონარების რეანიმაციულ და ინტენსიურ-თერაპიულ განყოფილებებში ხანგრძლივი მკურნალობის ქვეშ მყოფი პაციენტებისაგან, რომლთა სამედიცინო დაწესებულებაში დაყოვნების დრო შეადგენდა არანაკლებ 48 საათს. საკვლევ მასალად გამოყენებული იქნა ზემოთ აღნიშნული პაციენტებიდან აღებული შემდეგი ბიოლოგიური ნიმუშები: ბიოლოგიური სითხე აღებული ცენტრალური ვენის და შარდის ბუშტის კათეტერებიდან, შარდი, სისხლი, ნახველი და ნაცხი ჭრილობიდან.

სულ გაანალიზდა 540 ნიმუში. აღებული ნიმუშებიდან 236 არ შეესაბამებოდა ჩვენი კვლევის მიერ გათვალისწინებულ ემპირიულ შემდეგ კრიტერიუმებს:

- ნიმუში კონტამინირებული იყო;
- კვლევის შედეგად ეტიოლოგიურად მნიშვნელოვანი მიკროფლრა არ ამოითესა;
- ამოითესა Candida-ს გვარის სოკო და გრამ-დადებითი ბაცილები.

ხოლო 82 ნიმუშიდან ამოითესა გრამ-დადებითი ბაქტერია. დარჩენილი 222 ნიმუშიდან ამოითესა *Enterobacteriaceae ოჯახის* წარმომადგენლები და სხვა გრამ-უარყოფითი ბაცილა. ზემოთ ჩამოთვლილი 222 ნიმუშიდან *E.coli* ამოითესა 48 ნიმუშში, ამათგან 22 ანტიბიოტიკომგრძნობიარე იყო და 26-რეზისტენტული, ამ უკანასკნელთაგან 23 ESBL პროდუცენტი აღმოჩნდა.

ბაქტერიების იზოლაცია და იდენტიფიკაცია ჩატარდა კლასიკური ბაქტერიოლოგიური მეთოდით. გამოყოფილი მიკრობული კულტურების ბიოქიმიური კვლევა განხორციელდა API–20E საიდენტიფიკაციო სისტემით, ანტიბიოტიკორეზისტენტობა კი განსაზღვრული იქნა კირბ-ბაუერის დისკ-დიფუზიის მეთოდით.

რეზისტენტული შტამების გენოტიპირება ჩატარდა β-ლაქტამაზების მაკოდირებელ სხვადასხვა გენზე პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (RAPID-PCR, მულტიპლექსური PCR) და გელ-ელექტროფორეზის მეთოდების გამოყენებით. β-ლაქტამაზური გენების: TEM, SHV, KPC და ასევე CTX-M მულტირეზისტენტული

გენების დეტექცია განხორციელდა რევერს ჰიბრიდიზაციის მეთოდით.

კვლევის შედეგებიდან გამომდინარე, *E.coli*-ის პათოგენურმა შტამებმა 100% რეზისტენტობა გამოავლინეს პენიცილინების და ცეფალოსპორინების მიმართ. ასევე უნდა აღინიშნოს, რომ ზემოთჩამოთვლილი ანტიბიოტიკების უდიდესი უმრავლესობა ფართო სპექტრის β-ლაქტამური ანტიბიოტიკებია და მათში რეზისტენტობის ჩამოყალიბების მიზეზი არის *E.coli*-ს მიერ ESBL-გაფართოებული სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზის გამომუშავების უნარი. როგორც ცნობილია, ბეტა-ლაქტამაზას მასინთეზებელი გენი განლაგებულია პლაზმიდაში და ადვილად ვრცელდება. რაც შეეხება კარბაპენემებს, IPM-იმიპენემის და MEM-მეროპენემის მიმართ დაახლოებით 85%-მა შეინარჩუნა ეფექტურობა. ჩვენი კვლევის შედეგად CIP-ციპროფლოქსაცინის მიმართ დაფიქსირდა 70%–მდე რეზისტენტობა E.coli–ს იზოლანტებში, ასეთივე მაჩვენებელი მივიღეთ LVX-ლევოფლოქსაცინის, AMC-ამოქსაცილინ/კლავულონის და SXT-ტრიმეტოპრიმ/სულფამეტოქსაზოლის მიმართ. ამინოგლიკოზიდებიდან AMK-ამიკაცინი შედარებით ეფექტური აღმოჩნდა და იზოლანტების 73% მგრძნობიარე იყო მის მიმართ, ხოლო გენტამიცინის შემთხვევაში მხოლოდ 42%. ჩვენი კვლევის საფუძველზე შეიძლება ითქვას, რომ მხოლოდ ოთხი ანტიბიოტიკი შეიძლება გამოყენებულ იქნას მაქსიმალურად ეფექტურად *E.coli-ის* საწინააღმდეგოდ, ესენია CST-კოლისტინი (100% მგრძნობელობით), PIP/TZP - პიპერაცილინ/ტაზობაქტამი (88%), IPM-იმიპენემი და MEM-მეროპენემი (85%).

მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევის შედეგად ESBL მაპროდუცირებელი ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევ *E.coli-ს* შტამებში გამოვლინდა CTX და KPC გენები. პენიცილინების, მე-3 და მე-4 თაობის ცეფალოსპორინების და ინჰიბიტორების მიმართ ფენოტიპურად რეზისტენტულ შტამებში მოხერხდა CTX, TEM და SHV გენების დეტექცია, ხოლო ორ ნიმუშში ველურ გენებთან ერთად დაფიქსირდა ESBL კლასის TEM ტიპის მუტანტური გენები: TEM AS 104 E, TEM AS 238G, TEM AS 238 S .

სამეცნიერო სიახლე:

- აჭარაში პირველად იქნა შესწავლილი ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევი *E. coli*-ის გავრცელება;

- განისაზღვრა *E.coli*-ის როლი ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევ გრამ-უარყოფით ბაქტერიებს შორის;
- მიღებული იქნა მონაცემები ნოზოკომიური შტამების ანტიბიოტიკომიკრობული მგრძნობელობის შესახებ;
- აჭარის რეგიონში პირველად მოხდა *E. coli -ს* რეზისტენტობის გენების ცირკულაციის დადგენა.

სამეცნიერო და პრაქტიკული ღირებულება:

- მიღებული მონაცემების გათვალისწინებით ESBL-ის მაპროდუცირებელი *E. coli* ფართო გავრცელების გამო, მიეცემა რეკომენდაცია დაავადებათა კონტროლის ეროვნულ ცენტრს, მოხდეს ყველა სადიაგნოსტიკო შტამის დეტექცია β-ლაქტამაზის პროდუცირებაზე;
- გამოვლინდა აჭარის საავადმყოფოების რეანიმაციულ და ინტენსიურ-თერაპიულ განყოფილებებში დაფიქსირებული *E. coli*-ის რეზისტენტული შტამების მიმართ ყველაზე ეფექტური ანტიბიოტიკები;
- გამოვლინდა ანტიბიოტიკები, რომლებმაც ამ ეტაპისათვის დაკარგეს ეფექტურობა ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევი *E. coli*-ის მიმართ; აღნიშნული ინფორმაცია გადაეცემა როგორც დაავადებათა კონტროლის ეროვნულ ცენტრს, ასევე აჭარის რეგიონის სტაციონარების ექიმებს;
- ასევე, მონაცემები გადაეცემა ჯანდაცვის შესაბამის სამსახურებს ეტიოტროპული და ემპირიული თერაპიული ღონისძიების შესამუშავებლად.

თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა

ქვეთავი I. ნოზოკომიური ინფექციები, როგორც ჯანდაცვის სისტემის მწვავე პრობლემა

ნოზოკომიური ინფექცია (ლათინური სიტყვა: nosocomium - საავადმყოფო, ბერძნული სიტყვა: nosokomeo - ავადმოყოფის მოვლა). ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის ევროპული რეგიონალური ბიუროს განსაზღვრებით, ნოზოკომიური ინფექცია არის ნებისმიერი კლინიკური ინფექციური დაავადება, რომელიც პაციენტს უვითარდება მკურნალობის ან მოვლის პროცესში. ასევე, საავადმყოფოს პერსონალის ნებისმიერი ინფექციური დაავადება, განვითარებული ამავე შენობაში მისი მუშაობის შედეგად, რომელიც არანაირ კავშირში არ არის სიმპტოპების გამოვლენის დროსთან (საავადმყოფოში ყოფნა/არყოფნის დროს). ინფექციებს მიიჩნევენ საავადმყოფოს შიდად, თუ ისინი ვითარდება საავადმყოფოში მიღების არანაკლებ 48 საათის შემდეგ (იმ შემთხვევების გამორიცხვით, როდესაც პაციენტი მიღებულია სამკურნალო დაწესებულებაში ინფექციური დაავადების ინკუბაციურ პერიოდში, რომლის ხანგრძლივობა არა უმეტეს 48 საათია (Tchouaket Nguemeleu...2020).

ნოზოკომიური ინფექციები სერიოზული სამედიცინო-სოციალური, ეკონომიური და იურიდიული პრობლემაა ცალკეულ ინტენსიურ თერაპიაში. ინფექციური დაავადებების გართულება რეანიმაცია-ინტენსიური თერაპიის პაციენტებს შორის (რეანიმაციული განყოფილება და ინტენსიური თერაპია) არსებითად ამაღლებს ლეტალობას, ზრდის დაყოვნების ხანგრძლივობას და სტაციონარული მკურნალობის ღირებულებას. ინფექციების გამომწვევები, რომლებიც ეგზოგენურ და ენდოგენურ რეზერვუარებში ბინადრობენ, დინამიურ ურთიერთქმედებაში იმყოფებიან.

ინფექციამ, რომელიც გამოწვეულია გამომწვევების მაპროვოცირებელი ენდოგენური წყაროდან ერთ პაციენტში, შეიძლება მიგვიყვანოს განყოფილებაში ნოზოკომიური ინფექციის ეპიდაფეთქებამდე ჯვარედინი ინფიცირების შედეგად. ეს მოვლენა მდგომარეობს ერთი პაციენტიდან მეორე პაციენტთან გამომწვევთა ინფექციის გადაცემით გამჭოლი რეზერვუარის საშუალებით: სამედიცინო ინვენტარი, მოვლის საგნები, სამედიცინო პერსონალის ხელები და ხელთათმნები.

ასევე განსაზღვრულია მობილური ტელეფონის და ფონენდოსკოპის როლი ჰოსპიტალური მიკროფლორის გავრცელებაში(Teresa ....2019).

ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევ წყაროდ მიჩნეულია მიკროორგანიზმები, რომლებიც სტაციონარში ხანგრძლივად არსებობისას ადაპტირდნენ არსებულ პირობებთან. ეს მიკროორგანიზმები შეიძლება იყოს სოკოები, ბაქტერიები და ვირუსები. საქართველოს მრავალპროფილური სტაციონარების უმეტეს ნაწილში ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევებად ბაქტერიები გვევლინება, თუმცაღა მათი პროცენტული შემადგენლობა სტაციონარის ტერიტორიის ფარგლებში ვარირებს და დამოკიდებულია პაციენტების პოპულაციაზე, ინფექციის ლოკალიზაციაზე, ანტიბიოტიკების გამოყენების რუტინულ პრაქტიკაზე, გამოყენებული მეთოდების ინფექციურ კონტროლზე და ა.შ. (T.Koiava… 2017). უკანასკნელ წლებში სხვადასხვა ქვეყნის სტაციონარებში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა შორის ლიდერობს გრამ-უარყოფითი ბაქტერიები. გრამ-უარყოფითი ბაქტერიებიდან ნაწლავის ჩხირის ინფექციით განსაკუთრებით ხშირად ინფიცირდებიან პაციენტები, რომლებიც უროლოგიურ განყოფილებაში გადიან მკურნალობის კურსს, ასევეა რეანიმციისა და ინტენსიური თერაპიის პაციენტებში. პაციენტების ინფიცირების ხშირი მიზეზია დიაგნოსტიკური და სამედიცინო მოწყობილობების გამოყენება, ასევე მედპერსონალის ხელების დაბალი ჰიგიენა. მაგალითად, გამოკვლეული იქნა ვენტილატორ-ასოცირებული პნევმონიის შემთხვევები, ასევე სისხლის ინფექციები, რომელიც დაკავშირებულია ცენტრალურ ინტრავენურ კათეტერთან და საშარდე გზების ინფექციებთან. სწორედ საშარდე ინფექციების ძირითადი გამომწვევია *E. coli* , ან ძირითადი თუ არა, უპირატესი გამომწვევი ბაქტერიაა. აღსანიშნავია *E. coli* -ით განპირობებული ინფექციების ლოკალიზაცია სხვადასხვა ადგილებზე: ქვედა სასუნთქი და საშარდე გზები, კანი და რბილი ქსოვილები, ინტრააბდომინულური და ა.შ. (Arndt …2011).

რეანიმაციისა და ინტენსიური თერაპიის განყოფილებები განსხვავდება სხვა მრავალპროფილური სტაციონარებისაგან იმით, რომ სწორედ აქ არის მუდმივი კონტაქტი პაციენტსა და მედპერსონალს შორის. გარდა ამისა, პაციენტები ექვემდებარებიან მრავალრიცხოვან ინვაზიურ პროცედურებს. ამ განყოფილებებში

ანტიმიკრობული პრეპარატების ხანგრძლივი გამოყენება უქმნის პირობებს შტამების სელექციას, რომლებსაც ჩამოუყალიბდათ რეზისტენტობის მექანიზმები ანტიბიოტიკების მიმართ. ასე იზრდება იმ გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების მდგრადობა, რომლებიც ადრე მგრძნობიარენი იყვნენ ამა თუ იმ ანტიბიოტიკების მიმართ. მაგალითად, როგორიცაა *E. coli, Klebsiella spp, Citrobacter spp. Acinetobacter baumani*, *Pseudomonas aeruginosa.* ყველაზე მეტად სწორედ ეს მიკრობები არიან სტაციონარში გავრცელებული ინფექციების მიზეზი.

ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევებთან ბრძოლის პრობლემა დიდი ხანია გაცდა ცალკეული ქვეყნის ფარგლებს და მსოფლიო მასშტაბები შეიძინა. სწორედ ამას ადასტურებს 2001 წელს ჯანმო-ს მიერ შემუშავებული გლობალური სტრატეგია, რომლშიც ხაზგასმითაა ნათქვამი, რომ აუცილებელია რეზისტენტობის მოლეკულური მექანიზმების გაშიფვრა, რათა შეიქმნას რეზისტენტობის დიაგნოზირების ახალი საშუალებები. კვლევები ამ სფეროში ინტენსიურად მიმდინარეობს. აღნიშნულიდან გამომდინარე, ამ ინფექციების გამომწვევთა გავრცელების შესწავლა და ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობელობის გამოკვლევა, ხოლო შემდგომ ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მიზეზების დადგენა მნიშვნელოვანია და აქტუალობას არ კარგავს. ისევე, როგროც სხვა ქვეყნები, საქართველოც დადგა ნოზოკომიური ინფექციის სწრაფი გავრცელების პრობლემების წინაშე. ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამების შემაშფოთებელი მატების პრობლემიდან გამომდინარე საქართველოს მთავრობამ მიიღო განკარგულება №29 2017 წელს 11 იანვარს, რის საფუძველზეც გამოქვეყნებული იქნა ანტიმიკრობული რეზისტენტობის საწინააღმდეგო 2017-2020 წლების ეროვნული სტრატეგია და მისი განხორციელების სამოქმედო გეგმა, რაც ძალიან დიდი წინ გადადგმული ნაბიჯია აღნიშნული პრობლემის დასაძლევად.

ქვეთავი II. *Escherichia coli* -ის დახასიათება

2.1. ტაქსონომია და ძირითადი მახასიათებლები

გერმანელმა პედიატრმა, თეოდორ ეშერიხმა, 1885 წელს აღმოაჩინა ნაწლავის ჩხირი (სურ.1), რომელსაც *Bacterium Coli Communis* (მსხვილი ნაწლავის ბაქტერია ჩვეულებრივი) დაარქვა, ხოლო მისი გარდაცვალების შემდეგ ბაქტერიას აღმომჩენის სახელი *Escherichia Coli* (*E. coli*) ეწოდა (სურ.1).

ოჯახი-*Enterobacteriaceae*

გვარი-*Escherichia*

სახეობა-*coli*

სურათი 1. E. coli

ბაქტერიების ამ ოჯახის სახელწოდება - *Enterobacteriaceae* იქედან წარმოდგება, რომ ზოგიერთი მისი ტიპური წარმომადგენელი მუდმივად არსებობს ძუძუმწოვრების და ადამიანების მსხვილ ნაწლავში (entero – ნაწლავი ბერძნულიდან). *Enterobacteriaceae-ს* ოჯახი მოითვლის 30-ზე მეტ გვარს და 100 სახეობას. ენტერობაქტერიები არსებობენ ყველგან: ნიადაგში, წყალში, ხილზე, ბოსტნეულზე, მარცვლეულზე, ყვავილოვან მცენარეებზე და ხეებზე, ადამიანის და ცხოველების ორგანიზმშიც. *Escherichia* გვარი შედგება ხუთი სახეობისაგან: *E. coli, E. fergusonii, E. hermannii, E.vulneris, E. blattae.* მის ტიპურ სახეობას *E. coli* -ის უდიდესი მნიშვნელობა აქვს მედიცინაში. ენტერობაქტერიები თავისი *E. coli* -ის ტიპური

წარმომადგენლით ინტენსიური კვლევის ობიექტს წარმოადგენს შემდეგი მიზეზებით:

- სწრაფი ზრდა და გამრავლება. მაგალითად, *E. coli* -ის ბაქტერიების გენერაციის დრო ოპტიმალურ პირობებში შეადგენს 20 წთ;
- ზრდისთვის არ საჭროებს რთულ პირობებს;
- *E. coli* ყოველთვის არ ბინადრობს მხოლოდ კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში. გარკვეული დროის პერიოდში, სიცოცხლის შენარჩუნების უნარი ხდის მათ მნიშვნელოვან ინდიკატორად გარემოს (მაგ.სასმელი წყალი და წყალსაცავები) ფეკალური დაბინძურების ხარისხის კვლევის დროს.

თეოდორ ეშერიხმა ეს ჩხირისმაგვარი მიკრობი აღმოაჩინა ჩვილის საფენებში, რომელიც ნებისმიერ საკვებ არეში სწრაფად მრავლდებოდა. ნაწლავის ჩხირი (*Escherichia coli*) ფაკულტატიურ-ანაერობული, გრამ-უარყოფითი, მოძრავი ჩხირია. ის შედის ნაწლავის ნორმალური მიკროფლორის შემადგენლობაში, მათ შორის ადამიანებისაც. არსებობს ნაწლავის ჩხირის სეროლოგიური ტიპები, რომელთა უმრავლესობა უვნებელია ან სასარგებლოა თავად მატარებელისათვის. ბაქტერიები, რომლებიც ნორმალურ მიკროფლორაში შედის, ეწინააღმდეგება სხვა ბაქტერიების გამრავლებას, მათ შორის პათოგენურსაც. ამის გარდა, ნაწლავური ჩხირი გამოიმუშავებს ვიტამინ K-ს. ზოგიერთი *E. coli-ს* სეროტიპს შეუძლია გამოიწვიოს მძიმე დაავადებები. მორფოლოგიურად უვნებელი და პათოგენური ნაწლავის ჩხირები არ განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან, ამიტომაც მიკროორგანიზმის პათოგენურობის განსაზღვრისათვის აუცილებელია მისი ანტიგენის იდენტიფიცირება.

ნაწლავის ჩხირის ბაქტერიები შეიძლება ეკუთვნოდეს სხვადასხვა სერო-ჯგუფებს, ჰქონდეს სხვადასხვა ანტიგენეური შედგენილობა. ერთ სერო-ჯგუფში გაერთიანებულია ბაქტერიების ისეთი ჯგუფი, რომლებსაც აქვთ საერთო ანტიგენი. ის შეიძლება მოიცავდეს არაუმეტეს ერთ სეროტიპს, სახეობას ან გვარს. *E. coli -ს* ვარიაციებს შორის ყველაზე მეტად ცნობილია ენტეროპათოგენური ნაწლავის ჩხირის 026 სეროჯგუფი. ამ ჯგუფებს შეიძლება ეკუთვნოდეს ასევე სხვა ტიპის ნაწლავის ჩხირები. მაგალითად, DAEC-ში (დიფუზურ-ადჰეზიური ნაწლავის ჩხირი)

გამოვლენილია სეროჯგუფები O86, O127, O142 და O158. გამოყოფენ 6 ტიპის პათოგენურ ნაწლავურ ჩხირს (Croxen ….2013).

EHEC - ენტეროჰემორაგიული *E.coli* , STEC–შიგა ტოქსინის მაპროდუცირებელი, VTEC - ვეროტოქსინ მაპროდუცირებელი გამოიმუშავებენ ტოქსინს, რომლებსაც ვეროტოქსინებს ან შიგას მსგავსს ტოქსინებს უწოდებენ. EHEC იწვევს დაავადებებს, რომლებიც სიმპტომებით დიზინტერიას ჰგავს და ჰემორაგიული დიარეით მიმდინარეობს. *E. coli -ის* შტამები, მაგალითად, O157:H7, O121, O104:H21 აპროდუცირებენ ადამიანისთვის პოტენციურად ლეტალურ ტოქსინებს (Baumgart…2007). მაგალითად, ჰემოლიზურ-ურემიული სინდრომი (HUS- ჰუს) არის სიცოცხლისთვის საშიში მდგომარეობა და ვითარდება *E. coli -ს* O157 შტამებით ინფიცირებისას, შიგა-ტოქსინის პროდუცირებით. ენტეროტოქსიგენური ნაწლავის ჩხირი (ETEC) გამოიმუშავებს თერმოლაბილურ და თერმოსტაბილურ ტოქსინებს. ეს უკანასკნელი ჰგავს ქოლერის ვიბრიონის ტოქსინს. ამ ბაქტერიით გამოწვეულ დაავადებას ახასიათებს წყლიანი დიარეა, მაღალი ტემპერატურა და ზოგიერთ შემთხვევაში გულისრევის შეგრძნება. დაავადებათა კონტროლის ცენტრის მონაცემებით (CDC), 1995-დან 2001 წლის ჩათვლით, აშშ-ში დარეგისტრირდა ETEC-ით გამოწვეული 10 აფეთქება (Hilbert…2011), იგივე შტამი საქართველოში გამოიყო სხვადასხვა გართულებით მიმდინარე დიარეის მქონე პაციენტებისგან.

ენტეროინვაზიური ნაწალავის ჩხირი (EIEC) იწვევს დაავადებას, რომლებიც ჰგავს ბაქტერიულ დიზენტერიას. ეს ბაქტერიები აღწევენ ნაწლავის ეპითელის უჯრედებში და მასში მრავლდებიან. EIEC - ინფექციები საკმაოდ იშვიათია აშშ-ში და უფრო ნაკლებად გვხდება სხვა ქვეყნებში. უკანასკნელ წლებში აშშ-ში დარეგისტრირდა ენტეროინვაზიური ნაწლავის ჩხირით გამოწვეული სამი ინფექციური აფეთქება (Bopp…2003). ენტეროპათოგენური ნაწლავის ჩხირი (EPEC) ბავშვებში უფრო ხშირად იწვევს EPEC-ით გამოწვეულ დაავადებებს და შეიძლება გაგრძელდეს 2 კვირამდე. EPEC-ასოცირებული ინფექციების აფეთქება 1960 წლიდან მნიშვნელოვნად შემცირდა, თუმცა უკანასკნელი 20 წლის მანძილზე აშშ-ში დარეგისტრირებულ იქნა რამდენიმე აფეთქება, ძირითადად საბავშვო ბაღებში. განვითარებულ ქვეყნებში EPEC-ასოცირებული ინფექციები იშვიათია (Bopp ...2003).

ენტერო აგრეგაციული ნაწლავის ჩხირი (EAEC) ასევე, დაავადებებს იწვევს ძირითადად ბავშვებში. ბაქტერია მიემაგრება ნაწლავის ეპითელს, გამოყოფს ტოქსინებს. დიფუზურ-ადჰეზიური ნაწლავის ჩხირი (DAEC) ბავშვებში იწვევს მსუბუქ დიარეას, განსაკუთრებით 2 წლამდე ასაკის ბავშვებში. თუმცა ეს მიკროორგანიზმი აღმოჩენილ იქნა ჯანმრთელ ბავშვებსა და ზრდასრული ასაკის ჯანმრთელ ადამიანებშიც.

2.2. გავრცელება

E. coli არის ერთ-ერთი ყველაზე ხშირი პათოგენი. მის წილზე მოდის საავადმყოფოშიდა ინფექციების დაახლოებით 19%. ასევე, ამ ბაქტერიამ ბოლო წლების განმავლობაში მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყნაში ნოზოკომიური ინფექციების სტრუქტურაში წამყვანი როლი დაიკავა. 2000-იანი წლიდან მნიშვნელოვნად მოიმატა გაფართოებული სპექტრის β-ლაქტამაზას მაპროდუცირებელი ნაწლავის ჩხირის გავრცელების მაჩვენებელმა, რამაც განაპირობა მისი მდგრადობა რამდენიმე მნიშვნელოვანი ანტიმიკრობული პრეპარატების მიმართ (Pitout...2012). საავადმყოფოების რეანიმაციისა და ინტენსიური თერაპიის განყოფილებებში, სადაც გაცილებით ხშირია სამედიცინო პერსონალთან კონტაქტები, ტარდება დიდი რაოდენობით ინვაზიური პროცედურები, მუდმივ გამოყენებაშია ანტიმიკრობული პრეპარატები და იქმნება განსაკუთრებით ხელსაყრელი პირობები ანტიბიოტიკებისადმი მდგრადი შტამების ჩამოყალიბებისათვის.

E.coli მოიცავს არაპათოგენურ კომენსალურ იზოლანტებს, რომლებიც ადამიანისა და ცხოველთა ნორმალური ფლორის ნაწილია (Tenaillon et al…2017). ადამიანებში ისინი წარმოადგენენ ნაწლავის ძირითად აერობულ მიკროორგანიზმს, რომელიც ასევე გვხვდება ნიადაგსა და წყალში, ძირითადად ფეკალური დაბინძურების შედეგად. გადამცემი მექანიზმი უმეტესად ფეკალურ-ორალურია თუმცა, ასევე გადაეცემა: საყოფაცხოვრებო, კვებითი, წყლისმიერი და სხვა გზებით. უკანასკნელ წლებში გამოიკვეთა შიგატოქსინ მაპროდუცირებელი *E. coli -ით* (STEC) გამოწვეული ინფექციების მატება, რომელიც ადამიანებში ჰემოლიზურ-ურემიული სინდრომის (HUS) და ასევე ენტეროვირუსული და სისტემური ინფექციების

აფეთქების ძირითად გამომწვევს წარმოადგენს (Jokiranta TS…2017). UTI სისტემური ინფექციები მოიცავს ბაქტერიემიას, ნოზოკომიურ პნევმონიას, ქოლეცისტიტს, მენინგიტს (Ким…2012). საქართველოში ინფექციური დიარეებით მიმდინარე დაავადებების მაჩვენებელმა ბოლო წლებში საკმაოდ მოიმატა. საქართველოს დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრის (NCDC) მონაცემებით 100000 მოსახლეზე მოდის 170-226 შემთხვევა. ამავე ცენტრის მონაცემებით 2009 წელს ქვეყანაში მოიმატა ჰემორაგიული კოლიტებისა და HUS-ის გართულებულმა შემთხვევებმა. ამ მატებამ ეპიდემიოლოგიური აფეთქების სახე მიიღო და დაფიქსირდა 7 ლეტალური შემთხვევა. ორ შემთხვევაში დაფიქსირდა *E.coli* O104:H4 შტამის - 2009 EL-2050, 2009 EL-2071 დეტექცია.

2011 წელს კი STEC ინფექციაზე საეჭვო 157 გამოკვლეული პაციენტიდან 76 დადებითი აღმოჩნდა STEC-ის ტოქსიგენობის სხვადასხვა მარკერზე. აღნიშნული შემთხვევების შესწავლამ და აგრეთვე შემდგომმა კვლევებმა გამოავლინეს საქართველოში non-O157 STEC შტამების ეტიოლოგიური როლი HUS-ის განვითარებაში.

2.3 კლინიკური მნიშვნელობა

Escherichia coli-ის ბაქტერიას მნიშვნელოვანი ადგილი უჭირავს, როგორც საშარდე გზების, ასევე მუცლის ღრუს ქირურგიის და გინეკოლოგიის ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა შორის.

ექსტრა-ნაწლავური პათოგენური *E.coli* (ExPEC) ყველაზე ხშირად ასოცირდება ადამიანის ინფექციებთან ნაწლავის ტრაქტის გარეთ და არის ყველაზე გავრცელებული გრამ-უარყოფითი ბაქტერიული პათოგენი, რომელიც იწვევს კლინიკური დაავადებების ფართო სპექტრს და ვრცელდება ყველა ასაკობრივ ჯგუფში. *E.coli* (ExPEC) ენტეროვირუსული ინფექციების და სისტემური ინფექციების ძირითად გამომწვევს წარმოადგენს (Джонсон...2013). სისტემური ინფექციები მოიცავს ბაქტერიემიას, ნოზოკომიურ პნევმონიას, ქოლეცისტიტს, მენინგიტს (Ким...2012). განსაკუთრებით საყურადღებოა საშარდე გზების

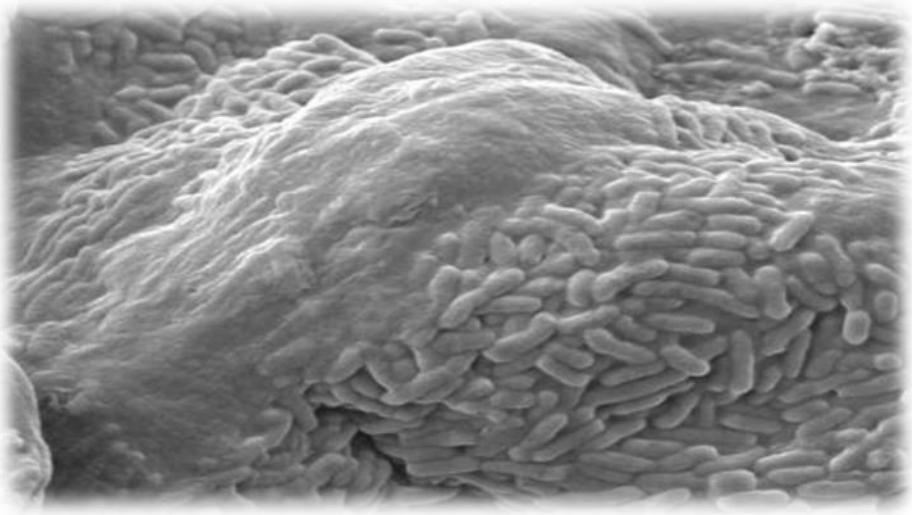
ინფექციების უროპათოგენური *E.coli* (UPEC) (Фоксман...2010). *E.coli -ის* გამოყოფა ხდება სხვადასხვა ადგილებიდან, მათ შორის სასუნთქი გზების, ზურგ-ტვინის სითხისა და სხვადასხვა სახის აბსცესებიდან. დაავადებათა კონტროლის ცენტრის მონაცემებით, ადამიანთა 80%-მდე ინფექციური პათოლოგიები შეიძლება იყოს დაკავშირებული ბიოგარსის ფორმირება-ჩამოყალიბებასთან. ყველაზე ხშირად ბიოგარსები ფორმირდებიან კათეტერებზე (გულის, შიდა ვენური, შარდის ბუშტის), გულის ხელოვნურ სარქველებზე (ინფექციური ენდოკარდიტების ძირითადი მიზეზი), ხელოვნურ სახსრებზე, კონტაქტურ ლინზებზე (ხშირად კერატიტების მიზეზი). რადგან *E. coli* შედის ბიოგარსის სახეობების შემადგენლობაში, ამიტომაც იზრდება საავადმყოფოსშიდა ინფექციები, რომლებიც გამოწვეულია ამ მიკროორგანიზმებით (Lewis...2010). ბიოგარსის მქონე ბაქტერიები ხასიათდებიან მაღალი რეზისტენტობით, რაც განპირობებულია რიგი ფაქტორებით. ერთ-ერთი მათ შორის არის *E. coli -ის* CagD ცილა, რომელიც ააქტიურებს ფიბრიების ზრდას და პოლისაქარიდების უჯრედოვან სინთეზს, რაც ხელს უწყობს ბიოგარსის წარმოქმნას (HallStoodley…2009; Chebotar..2012). ნაწლავის ჩხირი ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული პირობით-პათოგენური ენტერობაქტერიაა. კომენსალ შტამებთან ერთად, *E.coli*-ის რიგმა მაღალადაპტირებულმა კლონებმა შეიძინა სპეციფიური ვირულენტურობის ფაქტორები, რომლებიც ახალ პირობებში შესანიშნავად ადაპტირებენ და იწვევენ დაავადებათა ფართო სპექტრს (Manning…2010). ნაწლავის გარეთ *E. coli* ყველაზე ხშირია ნოზოკომიურ და საავადმყოფოშიდა ინფექციების გამომწვევ ენტერობაქტერიებს შორის (Siegman-Igra…2004). ისინი ასევე იწვევენ საშარდე გზების და მუცლის ღრუს შიდა ინფექციებს, პნევმონიას, ინფექციებს ქირურგიული ჩარევისას, მენინგიტებს, კათეტერ-ასოცირებულ, კანისა და რბილი ქსოვილების ინფექციებს, ოსტეომიელიტს. ამავდროულად, ნებისმიერ ინფექციას შეიძლება თან ახლდეს ბაქტერიემია და სეფსისი თუმცა ყველაზე სერიოზულ პრობლემას *E. coli* წარმოადგენს იმ პაციენტებში, რომლებიც სტაციონალურ მკურნალობას გადიან, რადგანაც ეს ბაქტერია ნოზოკომიური ინფექციების საკმაოდ ხშირი გამომწვევია. ეს ნაწილობრივ შესაძლებელია *E. coli* -ის უნარით, შეინარჩუნოს სასიცოცხლო ფუნქციები ზედაპირებზე 1,5-დან 16 თვემდე (Kramer …2006).

უკანასკნელ წლებში აღინიშნება ნოზოკომიური *E.coli-ის* რეზისტენტული ინფექციების მქონე პაციენტების მკურნალობის შედეგების გაუმჯობესება, რისთვისაც აუცილებელია თანამედროვე და სარწმუნო მონაცემები ამ ინფექციის გავრცელების შესახებ. *E.coli* მიკროორგანიზმია, რომლსაც შეუძლია აქტიურად გაცვალოს გენეტიკური ინფორმაცია (გენების ჰორიზონტალურად გადაცემა/გადატანის გზით) როგორც *E. coli -ის* ქვესახეობებს, ასევე სხვა ენტერობაქტერიებს შორის (*Salmonella spp., Shigella spp., Klebsiella spp).*

როგორც წესი, გენეტიკური ინფორმაციის გაცვლა ხდება მობილური გენეტიკური ელემენტების კონიუგაციის, ტრანსფორმაციის ან ტრანსდუქციის გზით. მუდმივად ხდება გენეტიკური ინფორმაციის გაცვლა, როგორც ცოცხალ ორგანიზმში (ადამიანი და ცხოველი), ასევე გარემოსთან. ამ ფაქტს ადასტურებს პოპულაციაში სწრაფი, პრაქტიკულად უმართავი რეზისტენტობის დონის ზრდა ანტიმიკრობული პრეპარატებისადმი ენტერობაქტერიებში, რომელიც მობილური გენეტიკური ელემენტებით განაპირობებენ რეზისტენტული გენების ჰორიზონტალურად გადაცემას. *E. coli* შედის იმ შვიდ მიკროორგანიზმთა რიცხვში, რომელიც შეირჩა ევროპული მეთვალყურეობის სისტემის მიერ განვითარებადი რეზისტენტობის ინდიკატორად (EARS-Net).

2.4 *E.coli-ის* როლი ბიოგარსის ფორმირებაში

ბიოგარსი (სურ.2) წარმოადგენს მიკროორგანიზმების სოციალურ-ორგანიზებულ საზოგადოებას და მიმაგრებულია რომელიმე სუბსტრატზე .ამჟამად საფუძვლიანად დამტკიცებულია ბიოგარსის წარმომქმნელი ბაქტერიების როლი საავადმყოფოს შტამების ფორმირებაში. საავადმყოფოებში გამოყოფილ შტამებში აღინიშნა უმაღლესი აპკის წარმოქმნის აქტივობა.



სურათი 2. კათეტერში არსებული ბიოგარსი

E.coli-ის შტამების ბიოგარსის წარმოქმნის მაღალი უნარი უზრუნველყოფს კონკურენტულ უპირატესობას და როგორც ჩანს, შეიძლება გახდეს საავადმყოფოსშიდა იზოლანტების ერთ-ერთი მარკერი. ბიოგარსის ფორმირება შეუძლია კონიუგაციურ პილებს. ფიქრობდნენ, რომ კონიუგაციური პილები *E. coli -ის* მატრიქსის ძირითადი კომპონენტია, იმ დროს, როდესაც სხვა ბიოაგარსის წარმომშობი ცნობილი ფაქტორები, ისეთი, როგორიცაა Ag43 და I ტიპის ფიბრიები, ნაკლებად მნიშვნელოვანია. კონიუგაციური პილების სტრუქტურაში უმნიშვნელო ცვლილებები, მაგალითად, გამოწვეული traX (ტრანსლინ ასოცირებული ფაქტორი X) გენის დელეციით, იწვევს ბიოაგარსის წარმოქმნას და სივრცითი სტრუქტურის დაზიანებით თრგუნავს ბიოგარსის ფორმირებას (Elio...2018). ე.წ. „Curly» ჟგუტები - თხელი ამილოიდომსგავსი სტრუქტურაა, რომელიც უჯრედის ზედაპირზე გვევლინება ჩახლართულ ამორფულ მატრიქსის მსგავსად. მათ აქვთ როგორც უჯრედულ ადჰეზიებად, ასევე უჯრედულ ზედაპირად ფუნქციონირების უნარი (Zogaj…2013). „Curly“ ჟგუტები თავდაპირველად აღმოჩენილ იქნა *E. coli -ში,* მაგრამ შემდგომში ისინი *Salmonella, Citrobacter* და *Enterobacter* შტამებშიც დაფიქსირდა . ცილა CsgA «curly» ჟგუტების წამყვანი სტრუქტურული კომპონენტია, ხოლო ცილა CsgB - მნიშვნელოვანი მცირე სტრუქტურული ერთეულია. «curly» ჟგუტების პოლიმერიზაცია მიმდინარეობს უჯრედების ზედაპირზე ე.წ. არაუჯრედოვანი „ნუკლეაციის“ პროცესში. ეს „ ნუკლეაცია“ დამოკიდებულია CsgB-ზე. მუტაციის

კვლევებმა აჩვენეს, რომ CsgA და CsgB მუტანტების შერწყმას მივყავართ «curly» ჟგუტების სუბერთეულების ნალექის წარმოქმნამდე CsgA-მუტანტის ზედაპირზე. ბიოგარსის ფორმირების სტიმულირება ხდება უჯრედული ადჰეზიის გაზრდის გზით. ჟგუტები ახდენენ მასპინძელი უჯრედების ურთიერთქმედების დემონსტრირებას. ბიოგარსის ფორმირებაში დიდ როლს თამაშობს ისეთი ენტერობაქტერიები როგორიცაა: *E. coli, Enterobacter spp. Citrobacter spp.* და *Salmonella Enterica.* ცნობილია, რომ «curly» ჟგუტების და ცელულოზის ექსპრესიის კოორდინაცია რეგულირდება CsgD რეგულატორის ტრანსკრიფციით, აგრეთვე GGDEF დომენითა და AdrA პროტეინით. (Kostakioti … 2013). *E. coli* -ში აღმოჩენილია აუტოტრანსპორტერებად წოდებული (self associating autotransporters, SAAT) ზედაპირული ცილების ჯგუფი (Ag43, AIDA и TibA). ამ ცილებს აქვს რიგი მსგავსება და საერთო თვისებები: უჯრედული აგრეგაციის სტიმულირება და ბიოგარსის ფორმირება. უჯრედშორისი ურთიერთქმედება, რომელსაც ხელს უწყობს ეს ცილები, საკუთარი იდენტიფიკაციის გამოვლენის შესაძლებლობას იძლევა. ბიოგარსის შემადგენლობაში შეიძლება შედიოდეს რამდენიმე სახეობა, რომელიც ერთიანობაში ქმნის რთულ ორგანიზებულ საზოგადოებას. ბიოგარსის შიგნით ხდება გენეტიკური მასალის, მათ შორის პათოგენურ კუნძულების შეცვლა. შესაბამისად, იზრდება მიკრობების პოპულაციის საერთო პათოგენური პოტენციალი. ეს ყველაფერი ხელს უწყობს მიკროორგანიზმების ეფექტურ ფუნქციონირებას და ქმნის მრავალ უპირატესობას ინფექციური პროცესის თვალსაზრისით. ამჟამად ცნობილია, რომ ყველა ინფექციურ დაავადებას 80%-ში თან ახლავს ბიოგარისის წარმოქმნა. კლინიკური თვალსაზრისით ბიოგარის მქონე ინფექციები ცუდად ან საერთოდ არ ექვემდებარება ტრადიციულ ანტიბიოტიკებს. ბიოგარსიანი მატრიქსი ეფექტურად ეწინააღმდეგება ანტიბიოტიკების შეღწევას ბიოგარსის სიღრმეში. მატრიქსში მომხდარი უცხო გვარის ნივთიერებები გამოიდევნება ეფლუქსის სისტემის გზით ან ნადგურდება სპეციფიკური ფერმენტებით. ანტიბიოტიკოთერაპიის დანერგვას ასევე ეწინააღმდეგება უჯრედების შენელებული მეტაბოლიზმი (Ovchinnikov…2015). მიკრობების განადგურებისათვის ანტიბიოტიკების ეფექტური კონცენტრაციები ბიოგარსის შემადგენლობაში ათობით და ასჯერ უფრო მაღალი უნდა იყოს, ვიდრე იმ

მიკრობთათვის, რომლებიც პლანქტონის მდომარეობაშია. ანტობიოტიკების ხანგრძლივი ზემოქმედებისას იღუპება მხოლოდ ბიოგარსის ზედაპირული ფენები, თუმცა ბიოგარსის სიღრმეში შენარჩუნებულია განსაკუთრებული ტიპის სიცოცხლისუნარიანი უჯრედები ე.წ. უჯრედი-პერსისტიები ძალიან შენელებული მეტაბოლიზმით, რომელთაც აქვთ უნარი გადაიტანონ ყველაზე არახელსაყრელი პირობები და შემდგომში ბიოგარსს მისცენ ახალი ცხოვრება. გარდა ამისა, ბიოგარსები საიმედოდ დაცულია მაკროორგანიზმის იმუნური დაცვის ფაქტორებისაგან, ასევე სხვადასხვა სადეზინფექციო საშუალებების ზემოქმედებისაგან. უნდა აღინიშნოს, რომ ბიოგარსების წარმოქმნას მივყავართ ქრონიკულ ინფექციურ პროცესთან. ბიოგარსოვანი ინფექციების წარმატებული მკურნალობის შემთხვევაშიც კი, ძალიან ხშირია რეციდივების ალბათობა. ამის ნათელი მაგალითია ჭრილობის ინფექციები, რომლის დროსაც დიდი ალბათობით წარმოქმნება ბიოგარსები. ჭრილობები წარმოადგენს იდეალურ სუბსტრატს მიკრობული კონტამინაციასა და ბიოგარსის შემდგომი ფორმირებისათვის. ბიოგარსები ჭრილობაში ქმნის გარემოს გარკვეული მიკროკლიმატს, რომელიც ხასიათდება ჟანგბადის დაბალი შემცველობით. ბიოგარსები აფერხებენ კერატინოციტების მიგრაციასა და პროლიფერაციას, რაც ხელს უშლის დამცავი იმუნური მექანიზმების ინჰიბირებას, ხოლო გარედან ქმნის დამცავ ფენას, რომელიც ასევე აფერხებს ადგილობრივ ანტიმიკრობული პრეპარატების შეღწევას. თუ ბიოგარსმა შეძლო ჭრილობებში ჩაბუდება, მაშინ ეს პროცესი ქრონიკულ ხასიათს ღებულობს. როგორც წესი, ასეთი დაზიანებული ჭრილობის მედიკამენტური მკურნალობა ძალიან რთულია და გამოჯანმრთელება პრაქტიკულად შეუძლებელია დაზიანებული ქსოვილების ამოკვეთის გარეშე (Ovchinnikov…2015). ზედაპირული ინფექციების გარდა, ბიოგარსები ხელს უწყობს საშარდე გზების, კათეტერულ-ასოციირებული ინფექციების, სინუსიტების, ენდოკარდიტების, იმპლანტატ-ასოცირებული ინფექციების განვითარებას. ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, ბიოგარსები გადამწყვეტ როლს ასრულებს როგორც ზედაპირული, ასევე ღრმა ინფექციური დაავადებების ფართო სპექტრის პათოგენეზში (Figueredo …2012).

2.5 *E.coli*-ის იდენტიფიკაცია

E.coli-ის კოლონიების იდენტიფიცირება ხდება პათოლოგიური მასალიდან გამოყოფილი კულტურის სხვადასხვა საკვებ არეზე ამოთესვით. ნაწლავის ჩხირების ბაქტერიების ჯგუფი - ეს არის მოკლე (სიგრძე 1-3 მკმ, სიგანე 0,5-0,8 მკმ), პოლიმორფული, მოძრავი და უძრავი გრამ-უარყოფითი ჩხირები, რომლებიც არ წარმოშობენ სპორებს. ნაწლავის ჩხირი - ფაკულტატური ანაერობია, ჩვეულებრივ კარგად იზრდება, როგორც მარტივ, ასევე, სელექტიურ საკვებ არეებზე 15°-დან 46°C ტემპერატურის პირობებში. მორფოლოგიური, კულტურალური და ფერმენტაციული თვისებებით პათოგენური და არაპათოგენური *E. coli-ის* სახეობები არ განსხვავდება ერთმანეთისაგან, რაც ართულებს ინფექციური დიარეის გამომწვევის გამოყოფას და იდენტიფიკაციას. ამ ბაქტერიის იდენტიფიკაციისთვის გამოიყენება დიფერენციურ-დიაგნოსტიკური საკვები არეები: ენდო, მაკკონკის და ასევე ქრომ-აგარი (Chromocult Coliform Agar). *E.coli* ენდოს აგარზე წარმოქმნის საშუალო ზომის ბრტყელ, წითელ კოლონიებს. წითელი კოლონიები შეიძლება იყოს მუქი, მეტალის ფერის, ბრზინვარების გარეშე. ნაწლავის ჩხირის ლაქტოზო-უარყოფით ვარიანტებს ახასიათებს უფერო კოლონიები. მაკ-კონკის აგარზე იზრდება მოვარდისფრო-წითელი ან უფერო კოლონიები. ქრომ-აგარზე (Chromocult Coliform) წარმოქმნის მოლურჯო კოლონიებს. მრავლდება 37°C ტემპერატურაზე. საკვებ არეზე წარმოქმნის S და R-კოლონიებს. თხევად გარემოში წარმოქმნის სიმღვრივეს, რომელიც შემდეგ ილექება. შენჯღრევისას ნალექი ქრება და წარმოიქმნება ჰომოგენური შენაწონი. გრამის წესით შეღებილ ნაცხში წარმოდგენილია კლასტერებად განლაგებული გრამ-უარყოფითი ბაცილები. იდენტიფიკაციისას დიდი ყურადღება ექცევა ბიოქიმიურ ტესტებს. ბაქტერია ახდენს გლუკოზის, ლაქტოზის და სხვა შაქრების ფერმენტაციას აირის გამოყოფით. არ ახასიათებს ოქსიდაზური აქტიურობა; მოძრავია, ინდოლ და კატალაზა დადებითია. *E. coli -ის* საბოლოო იდენტიფიკაცია ხდება Api 20 E (სურ.3) სისტემის მეშვეობით, რომელიც წარმოდგენილია ბიოქიმიური პანელით ენტერობაქტერიების ოჯახის წევრების იდენტიფიკაციისა და დიფერენცირ-ებისათვის.

ქვეთავი III. ძირითადი ანტიბაქტერიული პრეპარატები.

3.1 ანტიბიოტიკების დახასიათება

ანტიბიოტიკი მიკრობული, ცხოველური ან მცენარეული წარმოშობის ნივთიერებაა, რომელსაც შეუძლია შეზღუდოს გარკვეული მიკროორგანიზმის ზრდა ან სრულად გაანადგუროს ისინი.

დღეისათვის არსებობს სხვადასხვა წარმოშობის ანტიბიოტიკები:

- **ბუნებრივი**-ბაქტერიებიდან (გრამიციდინი), აქტინომიცეტებიდან (სტრეპტომიცინი), სოკოებიდან (პენიცილინი, ცეფალოსპორინები);
- **ნახევრადსინთეზური**-მოლეკულების მოდიფიკაციის პროდუქტი-ოქსაცილინი,ამპიცილინი;
- **სინთეზური**-სულფონილამიდები და ქლორამფენიკოლი.

ბაქტერიულ უჯრედზე ზემოქმედების ხასიათის მიხედვით ანტიბიოტიკები შეიძლება დაიყოს ორ ჯგუფად:

- **ბაქტერიოსტატიკური** (ბაქტერიები ცოცხალი რჩება, მაგრამ არ შეუძლია რეპროდუცირება);
- **ბაქტერიციდული** (ბაქტერიები იღუპებიან და შემდგომში განიდევნებიან ორგანიზმიდან).

ზემოქმედების სპექტრის მიხედვით ანტიბიოტიკები იყოფა:ვიწრო სპექტრის - ეს პრეპარატები მოქმედებენ მიზანმიმართულად სპეციალური, გარკვეული ტიპის (ან ჯგუფი) მიკროორგანიზმებზე და არ თრგუნავს პაციენტის ჯანსაღ მიკროფლორას და ფართო სპექტრის პრეპარატები, რომლებიც მოქმედებენ როგორც გრამ-დადებით, ასევე გრამ-უარყოფით ბაქტერიებზე. აგრეთვე რიკეტსიებზე და მსხვილ ვირუსებზე.

ანტიბიოტიკების ძირითადი ტიპები:

- ბეტა ლაქტამები
- მაკროლიდები
- ფტოროქინოლონები
- ტეტრაციკლინები
- ამინოგლიკოზიდები

β-ლაქტამები დღემდე რჩება არჩევით პრეპარატებად სხვადასხვა ეტიოლოგიის დაავადებების სამკურნალოდ. არსებობს β-ლაქტამების 4 ქვეჯგუფი: პენიცილინები, ცეფალოსპორინები, მონობაქტამები და კარბაპენემები. ცეფალოსპორინებს, რომლებსაც პენიცილინის მსგავსი სტრუქტურა აქვს, იყენებენ პენიცილინისადმი რეზისტენტული ბაქტერიების საწინააღმდეგოდ.

მაკროლიდებს აქვს ბაქტერიოსტატიკური ეფექტი. ისინი ხელს უშლიან ბაქტერიების ზრდას და გაყოფას. მაკროლიდები პირდაპირ მოქმედებენ ანთებით კერაზე. თანამედროვე ანტიბიოტიკებს შორის მაკროლიდები ითვლება მინიმალურად ტოქსიკურ ანტიბიოტიკებად და იშვიათად იწვევენ ორგანიზმის ალერგიულ რეაქციას. მაკროლიდებით მკურნალობა ხდება მოკლე კურსებით 3-5 დღის განმავლობაში იმიტომ, რომ ხდება მათი აკუმულირება ორგანიზმში. გამოიყენება ზედა სასუნთქი გზების, ფილტვების და ბრონქების ანთების, მენჯის ინფექციების მკურნალობის დროს. მაკროლიდები წარმოდგენილია შემდეგი პრეპარატებით: ერითრომიცინი, როქსიტრომიცინი, აზიტრომიცინი და კლარიტრომიცინი.

ტეტრაციკლინი ბუნებრივი და ხელოვნური წარმოშობის პრეპარატია. აქვს ბაქტერიოსტატიკური მოქმედება. ტეტრაციკლინის მოლეკულის ბირთვი შედგება დაკავშირებულ ოთხი ციკლური რგოლისაგან. ისინი შეუქცევადად უკავშირდებიან ბაქტერიული რიბოსომის 30S სუბერთეულს და ბლოკავენ სატრანსპორტო რნმ-სა და დნმ-რიბოსომის კომპლექსის ფორმირებას. რეზისტენტობის შეძენა ტეტრაციკლინის მიმართ ხშირად განპირობებულია სატრანსპორტო მექანიზმის ცვლილებით ისე, რომ ისინი არ გროვდებიან ბაქტერიებში. იმის გამო, რომ ტეტრაციკლინები აკუმულირდებიან უჯრედში, ისინი ეფექტურად გამოიყენება უჯრედშიდა ინფექციებთან ბრძოლაში.

ამინოგლიკოზიდები წარმოადგენენ ბუნებრივ და ნახევრად სინთეტიკურ ანტიბაქტერიულ პრეპარატს. ამჟამად ცნობილია ამ ჯგუფის ათამდე ბუნებრივი (სოკოების: *Actinomyces* და *Micromonospora*) პროდუცენტი და მათგან წარმოებული რამდენიმე ნახევრად სინთეტიკური ანტიბიოტიკი (Mohr KI...2016).

ამინოგლიკოზიდები მიეკუთვნება ადრეული ანტიბიოტიკების კლასს. პირველი ამინოგლიკოზიდი, სტრეპტომიცინი 1943 წელს იქნა მიღებული. სტრეპტომიცინი პირველი ქიმიოთერაპიული პრეპარატი იყო, რომელიც ტუბერკულოზის სამკურნალოდ იქნა გამოყენებული. ამჟამად გამოყოფენ ამინოგლიკოზიდების ოთხ თაობას.

ამინოგლიკოზიდების სტრუქტურის აგებაში მონაწილეობს ორი ან მეტი ამინოშაქარი, რომელიც გლიკოზიდური ხიდით უკავშირდება ამინოციკლურ რგოლს. ამ ჯგუფის ანტიბიოტიკებს ბაქტერიის უჯრედში შეღწევა შეუძლიათ უჯრედული მემბრანის ფორებიდან პასიური დიფუზიის გზით და აქტიური ტრანსპორტის მეშვეობით. ციტოპლაზმურ მემბრანაში ამინოგლიკოზიდების შეღწევადობის უნარზე გავლენას ახდენს Ca^+ და Mg^+ იონები და pH დაბალი მაჩვენებელი. აუცილებელ პირობას წარმოადგენს აერობული გარემო. ანაერობულ პირობებში (აბსცესი, კავერნა) ანტიბაქტერიული აქტივობა მკვეთრად ეცემა.

ბაქტერიაში შეღწევისას ამინოგლიკოზიდები უკავშირდებიან რიბოსომების რნმ-ს 30S სუბერთეულს, რაც არღვევს რიბოსომული რნმ-დან ინფორმაციის წაკითხვის პროცესს და იწვევს ცილის სინთეზის დათრგუნვას. რიბოსომიდან ჩამოდის ცილა, რომლის სინთეზი არ არის დასრულებული ან იწვევს ერთეულ ამინომჟავურ ცვლილებას მზარდ პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში, რის გამოც სინთეზირდება დეფექტური ცილის მოლეკულა.

მეორე, მესამე და მეოთხე თაობის ამინოგლიკოზიდებისთვის დამახასიათებელია დოზა დამოკიდებული ბაქტერიოციდული აქტივობა *Enterobacteriaceae* გრამ-უარყოფითი მიკროორგანიზმების (*E.coli, Proteus spp., Klebsiella spp., Enterobacter spp., Serratia spp.* და სხვ.) მიმართ. ამინოგლიკოზიდები აქტიურები არიან სტაფილოკოკების მიმამართ, სტრეპტომიცინი და კანამიცინი ეფექტურად ზემოქმედებენ ტულარემიის, ბრუცელოზის გამომწვევებზე. ამავდროულად ამინოგლიკოზიდები არა აქტიურნი არიან *S.pneumoniae*, *S.maltophilia*, *B.cepacia* და სხვა ანაერობების მიმართ. არსებობს მონაცემები, რომ ამინოგლიკოზიდების ჯგუფის ანტიბიოტიკები აქტიურები არიან შიგელას, სალმონელას, ლეგიონელას მიმართ *In vitro* პირობებში, თუმცა ამ პათოგენებით

გამოწვეული ინფექციების მკურნალობის ეფექტურობა დადგენილი არ არის. (http://www.antibiotic.ru/ab/033-37.shtml)

ქინოლები სინთეზური ანტიბიოტიკებია. ქიმიური სტრუქტურის საფუძველს შეადგენს ბირთვი, რომელიც შედგება ორ ერთად შეერთებული 6–წევრიანი რგოლისაგან. ქინოლები ზღუდავენ ბაქტერიულ დნმ-ჰირაზას და ტოპოიზომერაზას ფერმენტებს. შეძენილი რეზისტენტობა შეიძლება განვითარდეს ბაქტერიის განვლადობის შემცირების ან დნმ ჰირაზის სტრუქტურის შეცვლის გამო.
არსებობს ქინოლონების 4 თაობა: არაფტორული (I თაობა) და ფტორული (ფტორქინოლონები II - IV თაობა).

ამ ჯგუფის პირველი წარმომადგენელი იყო ნალიდიქსინის მჟავა, მაგრამ მისი დაბალი აქტიურობის და რეზისტენტობის სწრაფი შეძენის გამო არ მიიღო ფართო კლინიკური გამოყენება. ფტორქინოლების მეორე თაობის პრეპარატები აქტიური არიან გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების და ზოგი გრამ-დადებითი ბაქტერიების მიმართ. მესამე, მეოთხე თაობის ფტორქინოლების პრეპარატები უფრო აქტიურია გრამ-დადებითი და ატიპიური ბაქტერიების მიმართ. ამავდროულად, მოქსიფლოქსაცინი აქტიურია სპორების წარმომქმნელი ანაერობების მიმართ. ქინოლები უმეტესად მოქმედებენ ბაქტერიოციდულად და მაღალ აქტიურნი არიან *Enterobacteriaceae, Haemophilus, Moraxellacatarrhalis* მიმართ და ციპროფლოქსაცინი *P. Aeruginosa-ს* შემთხვევაში.

დღეისათვის საკმაო რაოდენობის ლიტერატურული და ექსპერიმენტული მონაცემებია დაგროვილი, რომლებიც ადასტურებენ ანტიბიოტიკების ინტენსიური გამოყენების უარყოფით თვისებებს. პირველ რიგში აღსანიშნავია დაავადების გამომწვევი მიკროორგანიზმების მუტაციის მაღალი სიხშირე და ანტიბიოტიკების სელექციური უნარი – მიკრობთა პოპულაციიდან გამოყონ მდგრადი ფორმები, რაც თავის მხრივ ახალი ანტიბიოტიკების წარმოების აუცილებლობას განაპირობებს.

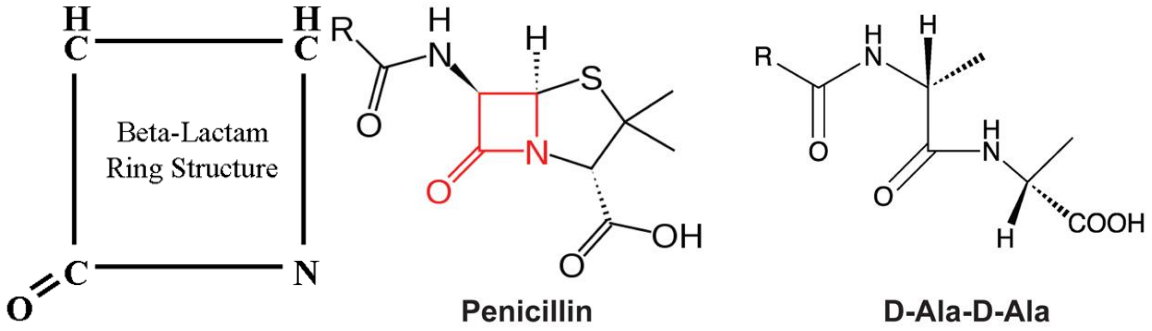
პენიცილინის მიღებიდან დღემდე ადამიანები მასიურად აწარმოებენ ატიბიოტიკებს და მასიურადვე გამოიყენებენ. პენიცილინს მოჰყვა უამრავი ახალი ანტიბიოტიკის შექმნა, მაგრამ ასევე ძალიან მალე მოხდა იმის გაცნობიერებაც, რომ დროთა განმავლობაში ის ანტიბიოტიკები, რომლებიც ბაქტერიების წინააღმდეგ

უნივერსალურ საშუალებად ითვლებოდნენ, კარგავდნენ არსებულ ძალას და აღარ მოქმედებდნენ მიკროორგანიზმების მთელ რიგ ჯგუფებზე.

3.2 β -ლაქტამური ანტიბიოტიკები

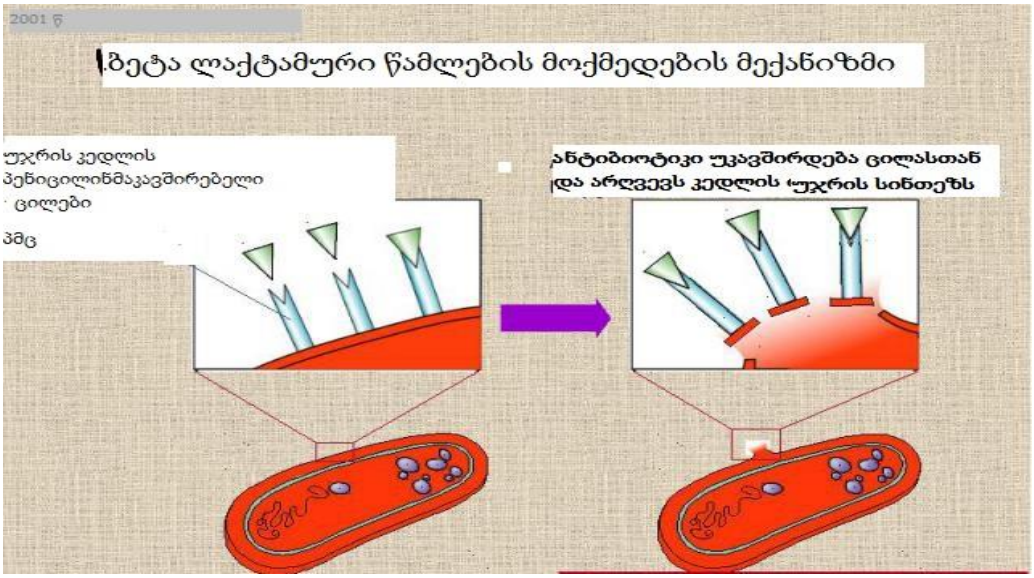
ამ პრეპარატების ანტიბაქტერიულ თვისებებს უზრუნველყოფს β-ლაქტამური რგოლი, რომლის ზემოქმედების შედეგად ხდება ფერმენტ ტრანსპეპტიდაზის (მონაწილეობს უჯრის გარსის სინთეზში) ინაქტივაცია ან წყდება ფერმენტ პენიცილინშემაკავშირებელი ცილების მოქმედება. ნებისმიერ შემთხვევაში აღინიშნება მზარდი ბაქტერიების განადგურება. β -ლაქტამების უნარი, შეაღწიონ ბაქტერიების გარე მემბრანაში, განაპირობებს პრეპარატების აქტივობას. თუ გრამ-დადებით ბაქტერიებში ანტიბიოტიკის შეღწევა ხდება ადვილად, გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების ლიპოპოლისაქარიდული გარსი იცავს ბაქტერიულ უჯრედს პრეპარატის შეღწევისაგან. ამიტომ β-ლაქტამური ანტიბიოტიკები ვერ ახდენენ გავლენას ზოგიერთ გრამ-უარყოფით ბაქტერიაზე.

β-ლაქტამური ანტიბიოტიკების ჯგუფი შედგება 4-წევრიანი აზოტის შემცველი β-ლაქტამური რგოლისაგან (სხვადასხვა რადიკალებით რგოლში). ყველა მათგანის (პენიცილინები, ცეფალოსპორინები და კარბაპენემი) რგოლში იმყოფება გოგირდი (სურ.3). ისინი ზღუდავენ ბაქტერიული უჯრედის კედლის სინთეზს. კერძოდ, β-ლაქტამები ახდენენ D-Ala-D-Ala ბაქტერიული უჯრედის კედლის სტრუქტურის მიმიკრიას და რადგან ეს უბანი წარმოადგენს ტრანსპეპტიდაზას სუბსტრატს, ეს იწვევს ტრანსპეპტიდაზას დათრგუნვას. სწორედ ამ უბნის გამოცნობა ხდება პენიცილინის მიერ (პენიცილინის სამიზნეა). ის უკავშირდება პენიცილინის მაკავშირებელი ცილის (პმც) აქტიურ უბანს და ეს ხელს უშლის პეპტიდოგლიკანის ჯვარედინ დაკავშირებას, რაც თავის მხრივ აზიანებს ბაქტერიის მემბრანას.



სურათი 3. β-ლაქტამების რგოლის აგებულება

ანტიბიოტიკის მოქმედების ძირითადი მექანიზმი მდგომარეობს იმაში, რომ წყალბადი უკავშირდება ამიდის ჯგუფს და წარმოქმნის ტეტრაედრულ შუალედურ რგოლს, რომელიც სუსტდება, ამიდური ბმა წყდება, ხოლო აზოტი მცირდება და პენიცილინ მაკავშირებელი ცილა კოვალენტურად უკავშირდება წამალს და კარგავს ჯვარედინი დაკავშირების უნარს (სურ.4).



სურათი 4. β-ლაქტამური ანტიბიოტიკების მოქმედების მექანიზმი

β-ლაქტამურ ანტიბიოტიკებს აქვს ბაქტერიოციდული ეფექტი, რომელიც კავშირშია მოქმედების დროსთან. მათი ელიმინაცია ხდება უცვლელი ფორმით თირკმლების გზით. ამიტომ ეს ანტიბიოტიკები გამოიყენება შარდ–სასქესო ინფექციების დროს.

β-ლაქტამური ანტიბიოტიკები იყოფა ოთხ ქვეჯგუფად:

- პენიცილინები;
- ცეფალოსპორინები;
- კარბაპენემები;
- მონობაქტამები.

პენიცილინი ნივთიერებაა,რომელიც გამომუშავდება საფუარი სოკოს *Penicillinum*-ის მიერ. ბუნებრივი და ხელოვნური პენიცილინის წარმოებულები ხასიათდებიან ბაქტერიციდული ეფექტით. ისინი ანადგურებენ ბაქტერიების უჯრედის კედელს, რაც იწვევს უჯრედის სიკვდილს. პენიცილინები არღვევენ უჯრედის კედლის გვიანი ეტაპის სინთეზს, აინჰიბირებენ ფერმენტ ტრანსპეპტიდაზას და ხელს უშლიან პეპტიდური კავშირების წარმოქმნას. გარდა ტრანსპეპტიდაზისა, არსებობს ფერმენტები კარბოქსიპეპტიდაზები და ენდოპეპტიდაზები. პენიცილინები სხვადასხავა სიჩქარით უკავშირდებიან ცილებს და ახდენენ კოვალენტური ბმების ფორმირებას. ამ დროს ხდება პენიცილინშემაკავშირებელი ცილების ინაქტივაცია. ბაქტერიების უჯრედი განიცდის ლიზისს.

პენიცილინის ჯგუფის ანტიბიოტიკები:

ბუნებრივი წარმოშობის პენიცილინი-პენიცილინაზა არ არის დაცული ფერმენტისაგან, რომელიც გამოიმუშავება მოდიფიცირებული ბაქტერიებით და ანადგურებს ანტიბიოტიკს;

ნახევრად სინთეზური - რეზისტენტული არიან ბაქტერიული ფერმენტის მიმართ; ბიოსინთეზური პენიცილინ G, ამინოპენიცილინი(ამოქსიცილინი, ამპიცილინი), ნახევრადსინთეზური პენიცილინი (მეტიცილინი, ოქსაცილინი, კლოქსაციკლინი);

ცეფალოსპორინები- შედგებიან β-ლაქტამური რგოლისაგან, რომელიც დაკავშირებულია 6-წევრიან გოგირდ შემცველ დიჰიდროთიაზინურ რგოლთან .

ცნობილია 4 თაობის ცეფალოსპორინები:

- პირველი თაობა-ცეფალექსინი, ციპორინი;
- მეორე თაობა-ცეფამეზინი, ცეფუროქსიმი, ცეფაზოლინი;
- მესამე თაობა-ცეფოტაქსიმი, ცეფტრიაქსონი, ცეფტაზიდიმი, ცეფტიბუტენი, ცეფოპერაზონი;
- მეოთხე თაობა-ცეფპირომი, ცეფეპიმი.

ცეფალოსპორინების აქტივობა იზრდება პირველიდან მეოთხე თაობამდე. ანტისტაფილოკოკური აქტივობა პირველიდან მესამე თაობამდე მცირდება მაშინ, როცა ანტისტრეპტოკოკური ინარჩუნებს აქტივობას. ცეფალოსპორინები პრაქტიკულად არ ნადგურდებიან სტაფილოკოკური β-ლაქტამაზით. პენიცილინისაგან განსხვავებით,ცეფალოსპორინები არ არიან აქტიური ენტეროკოკების, *Listeria monocytogenes* და პენიცილინის მსგავსად მეტიცილინ რეზისტენტული სტაფილოკოკის მიმართ.

ცეფალოსპორინები იწვევენ ორგანიზმის ალერგიულ რეაქციას.ეს პრეპარატები გამოიყენება ქირურგიული ჩარევისას გართულების თავიდან ასაცილებლად და პიელონეფრიტის,გონორეის და ყელ-ყურის დაავადებების დროს.

კარბოპენემები შედგება β-ლაქტამური რგოლისაგან, რომელიც მიერთებულია 5-წევრიანი ნახშირბად-შემცველ პენემის რგოლთან. კარბოპენემები β-ლაქტამებია, რომელთაც გააჩნია ბაქტერიოციდული თვისებები, ბაქტერიული უჯრედის კედლის სითეზის ინჰიბირების შედეგად. ყველა არსებული ანტიბიოტიკებიდან, კარბოპენემებს აქვს ყველაზე ფართო მოქმედების სპექტრი და ყველაზე მდგრადია სხვა β-ლაქტამაზებთან შედარებით. ისინი აქტიურები არიან შემდეგი მიკროორგანიზმების: სტრეპტოკოკების, სტაფილოკოკების, *Enterobacteriaceae, P.Aeruginosa* მიმართ. ცეფალოსპორინების მსგავსად, კარბოპენემები არ არიან აქტიური *L. monocytogenes* და მეტიცილინ რეზისტენტული სტაფილოკოკების მიმართ. ისინი ეფექტური არიან პნევმონიების, ინტრააბდომინალური ინფექციების, ენდოკარდიტის, ბაქტერიემიების და ოსტეომიელიტების დროს. ხშირად ამ ჯგუფის ანტიბიოტიკებს იყენებენ სამკურნალოდ, როცა სხვა დანარჩენი ჯგუფის ანტიბიოტიკების მიმართ ბაქტერიები რეზისტენტულნი არიან. კარბოპენემების

ფართო მოქმედების სპექტრი საშუალებას გვაძლევს ვებრძოლოთ პოლიმიკრობულ ინფექციას და არ გამოვიყენოთ ორი ან სამი სხვადასხვა სახის ანტიბიოტიკი.

მონობაქტამები შედგება β-ლაქტამური რგოლისაგან, რომელიც არის მიერთებული სულფონის მჟავასთან. აზტრეონამი არის ერთ-ერთი გამოყენებადი მონობაქტამი. აზტრეონამი აქტიურია მხოლოდ აერობული გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების მიმართ, მათ შორის *P. aeruginosa.* სხვა β-ლაქტამური ანტიბიოტიკებისაგან განსხვავებით, არ არის აქტიური გრამ-დადებითი ბაქტერიების მიმართ. აზტრეონამის შეყვანა შეიძლება მხოლოდ პარენტერალურად. აზტრეონამი პრაქტიკულად არ იწვევს ალერგიულ რეაქციას და შეიძლება იქნეს გამოყენებული პაციენტებში, რომელთაც აქვთ ალერგიული რექცია ცეფალოსპორინების და პენიცილინების მიმართ.

β-ლაქტამაზების ინჰიბიტორები. კლინიკური გამოყენების მიზნით იყო მიღებული რამოდენიმე სპეციფიური β-ლაქტამაზების ინჰიბიტორები: კლავულონის მჟავა, სულბაქტამი, ტაზობაქტამი.

ყველა ეს პრეპარატი შეიცავს β-ლაქტამურ რგოლს, მაგრამ ცალ-ცალკე არ გამოიყენება მკურნალობისათვის, ანუ თითოეული მათგანი არაეფექტურია მონოთერაპიის დროს. ისინი კოვალენტურად უკავშირდებიან ბაქტერიულ β-ლაქტამაზას, ახდენენ მის ინაქტივაციას და ამით ინარჩუნებენ ანტიბიოტიკების β-ლაქტამურ რგოლს. წინააღმდეგ შემთხვევაში β-ლაქტამაზის მეშვეობით რგოლი იშლება და ანტიბიოტიკი კარგავს მის ანტიბაქტერიულ ეფექტს. β-ლაქტამაზურ ინჰიბიტორებს იყენებენ პენიცილინთან ერთად. B-ლაქტამაზების ინჰიბიტორები ზღუდავენ ყველაზე მნიშვნელოვან ბაქტერიულ β-ლაქტამაზებს, მათ შორის ლაქტამაზა მაპროდუცირებელ სტაფილოკოკებს, გონოკოკებს, *H. influenzae, B. fragilis* და *Enterobacteriaceae* გარკვეული ოჯახის წევრებს.

3.3 *E.coli-ob* საწინააღმდეგოდ გამოყენებადი ანტიბიოტიკების ეფექტურობა

E.coli-o მსხვილი ნაწლავის აერობულ კომენსალებს შორის ყველაზე მრავალრიცხოვანია. ადამიანის ორგანიზმის სტერილურ სივრცეებში მოხვედრისას მას შეუძლია გამოიწვიოს სხვადასხვა გენეზის ანთებები, რომელთა სამკურნალოდ აუცილებელია ანტიბიოტიკების გამოყენება.

მსოფლიოში არსებობს ანტიბიოტიკების ჩამონათვალთა სტანდარტი, რომელიც გამოიყენება მიკრობული ფლორის სხვადასხვა წარმომადგენელის ანტიბიოტიკომგრძნობელობის ფენოტიპური კვლევის დროს. ეს სტანდარტი შემუშავებულია კლინიკური მიკრობიოლოგიისა და ინფექციური დაავადებების ევროპული საზოგადოების (EUCAST) და ასევე აშშ-ის კლინიკური და ლაბორატორიული სტანდარტების ინსტიტუტის მიერ (CLSI).

ანტიმიკრობული აგენტების (მედიკამენტების) მიმართ მიკროორგანიზმების მგრძნობელობის შეფასების (განსაზღვრის) მთავარი მიზანია ინფექციების მკურნალობაში მათი ეფექტურობის წინასწარ განსაზღვრა მიკროორგანიზმების ბუნებრივი წინააღმდეგობის გათვალისწინებით. მგრძნობელობის განსაზღვრა ასევე ხორციელდება მიკროორგანიზმებს შორის რეზისტენტობის გავრცელებაზე მონიტორინგის დროს და ახალი პრეპარატების შესწავლის პროცესში.

ნაწლავის ჩხირით გამოწვეული ინფექციების სამკურნალო ანტიბიოტიკების ჩამონათვალში შედის: ამინოპენიცილინები, ცეფალოსპორინები, კარბაპენემები, ფტოროქინოლონები, ამინოგლიკოზიდები.

β-ლაქტამური ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის მექანიზმი ენტერობაქტერიებში განპირობებულია ESBL-გაფართოებული სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზის გამომუშავებით, რომელთა გენები ლოკალიზებულია პლაზმიდებში. მათ აქვთ ამ გენების გადაცემის უნარი სახეობის შიგნით, სახეობათა შორის და გვარის დონეზეც. ამასთანავე, ეს მიკროორგანიზმები გამოირჩევიან სხვა ანტიბიოტიკების მიმართ ასოცირებული რეზისტენტობით. მაგალითად, გენტამიცინის მიმართ შეადგენს 80%-ს ციპროფლოქსაცინის მიმართ 40–60 %-ს (Hoban...2011).

ანტიბაქტერიულ პრეპრატებს შორის ერტაპენემი და იმიპენემი შედარებით ყველაზე ეფექტური აღმოჩდა. ამ ანტიბიოტიკებმა შეინარჩუნეს აქტივობა *E. coli-ის* შტამების 98%-თან მიმართებაში.

E. coli-ის იზოლატების 17,9% წარმოადგენს გაფართოებული სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზა მაპროდუცირებელს. ამიკაცინი და პიპერაცილინ/ტაზობაქტამი ეფექტური აღმოჩნდა მხოლოდ იმ ბაქტერიებთან მიმართებაში, რომლებიც არ წარმოადგენდნენ ESBL-მაპროდუცირებელს (მგრძნობელობა 90%). ციპროფლოქსაცინი და ლევოფლოქსაცინი აღმოჩნდა არაეფექტური ESBL-პროდუცენტების მიმართ, მგრძნობიარე შტამები შესაბამისად შეადგენდა 14.6% და 15.9%-ს.

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე აუცილებელია, რომ გაგრძელდეს *E. coli-ის* ნოზოკომიური შტამების მგრძნობელობის მონიტორინგი.

ამრიგად, ანტიბიოტიკების მიმართ ბაქტერიული რეზისტენტობის გავრცელების დროულ გამოვლენას უდიდესი პრაქტიკული და თეორიული მნიშვნელობა აქვს, რადგან ეს საშუალებას გვაძლევს მოვახდინოთ ნოზოკომიური ინფექციების ანტიბიოტიკოთერაპიის რეკომენდაციების კორექტირება. შევიმუშაოთ ექსპრეს-მოლეკულური მეთოდები ანტიბაქტერიული რეზისტენტობის დეტექციის მიზნით. აღნიშნული ასევე მნიშვნელოვან ინფორმაციას იძლევა ანტიმიკრობული რეზისტენტობის დასაძლევად, რათა დროებით შეჩერდეს ზოგიერთი არაეფექტური პრეპარატის გამოყენება და შეიქმნას ახალი, გაცილებით ეფექტური პრეპარატები.

ქვეთავი IV. ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ბიოქიმიური და მოლეკულურ-გენეტიკური საფუძვლები

4.1. ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ბიოქიმიური მექანიზმი

ანტიბიოტიკორეზისტენტობა შეიძლება იყოს ბუნებრივი და შეძენილი. მიკროორგანიზმის ბუნებრივი რეზისტენტობა წარმოადგენს მუდმივ სახეობრივ თვისებას და ადვილად პროგნოზირებადია. ბუნებრივ რეზისტენტობას განაპირობებს მიკროორგანიზმში სამიზნეს არარსებობა ან ფერმენტული ინაქტივაცია. გარკვეულ ბაქტერიებს ახასითებთ შეძენელი რეზისტენტობა. ეს ბაქტერიები სიცოცხლისუნარიანი რჩებიან იმ ანტიბიოტიკების კონცენტრაციის მიმართ, რომელიც თრგუნავს მიკრობული პოპულაციის ძირითად ნაწილს. არ არის აუცილებელი, რომ შეძენილი რეზისტენტობის ჩამოყალიბებას თან ახლდეს ანტიბიოტიკის კლინიკური ეფექტის შემცირება სხვა სახეობის მიკროორგანიზმის მიმართ.

ნებისმიერ შემთხვევაში რეზისტენტობის ჩამოყალიბება არის გენეტიკურად განპირობებული პროცესი. ამ დროს ხდება ახალი გენეტიკური ინფორმაციის შეძენა ან საკუთარი გენების ექსპრესიის დონის ცვლილება. ყველაზე კარგად შესწავლილია ბაქტერიული რეზისტენტობის ოთხი ძირითადი ბიოქიმიური მექანიზმი:

- ანტიბიოტიკის ენზიმური ინაქტივაცია;
- სამიზნე-მოლეკულის მოდიფიკაცია;
- ანტიბიოტიკის აქტიური ელიმინაცია(გამოდევნა) მიკრობული უჯრედიდან;
- მიკრობული უჯრედის გარე მემბრანის განვლადობის ცვლილება.

ამ ძირითადი მექანიზმების გარდა, ბოლო წლებში გამოვლინდა

რეზისტენტობის სხვა მექანიზმი. მაგალითად, მეტაბოლური „შუნტის“ ფორმირება (ალტერნატიული გენების შეძენა, რომელებიც ინჰიბირდება ანტიბიოტიკებით), სამიზნე-მოლეკულის იმიტაცია, სამიზნე-მოლეკულის ზეექსპრესია.

ანტიბიოტიკის ფერმენტული ინაქტივაცია

ანტიბიოტიკის რეზისტენტობის ყველაზე გავრცელებული მექანიზმია ინაქტივაციის რეაქცია. მსგავსი მექანიზმები მრავალფეროვანია და ფუნქციონირებენ ბევრი სხვადასხვა ქიმიური ჯგუფის ნივთიერების მიმართ: ß-ლაქტამების, ამინოგლიკოზიდების, ქლორამფენიკოლის, ერითრომიცინის, ლინკომიცინის და სხვა. ინაქტივაცია ხდება ფერმენტების სინთეზის ხარჯზე, რომლებიც სპეციფიურად რეაგირებენ ანტიბიოტიკთან:

- ახდენენ მის მოდიფიცირებას;
- არღვევენ მის აფინობას სამიზნესთან;
- შეუქცევადად ურთიერთქმედებენ ;
- არ აძლევენ საშუალებას რეაგირება მოახდინოს სამიზნესთან;
- მთლიანად ანადგურებენ ანტიბიოტიკის მოლეკულას.

სამიზნე-მოლეკულის მოდიფიკაცია

რეზისტენტობის ეს მექანიზმი ეფუძნება სამიზნე-მოლეკულის სტრუქტურის შეცვლას, რომელთანაც ხდება ანტიბიოტიკის დაკავშირება. რეზისტენტობის ეს ტიპი შეიძლება იყოს განპირობებული ორი სხვადასხვა მექანიზმით. პირველი დაკავშირებულია სპონტანური გენური მუტაციების წარმოშობასთან, რომელიც იწვევს სამიზნე-მოლეკულების სტრუქტურულ ცვლილებას და არღვევს კავშირს ანტიბიოტიკთან; მექაანიზმის მეორე გზაა გენების არსებობა, რომლთა გადაცემა შესაძლოა მოხდეს ჰორიზონტალური ტრანსფერის საშუალებით. ამ გენების პროდუქტები ახდენენ სამიზნე-მოლეკულების მოდიფიცირებას. შეცვლილი სამიზნე ნაწილობრივად ან მთლიანად თრგუნავს ანტიბიოტიკების მასთან მიერთების პროცესს. ასეთი მექანიზმი აღწერილია ერითრომიცინთან და ლინკომიცინთან მიმართებაში. ეს ანტიბიოტიკები არღვევენ რიბოსომების ფუნქციას. რიბოსომული რნმ-ის მეთილირება ბაქტერიულ უჯრედს ეფექტურად იცავს ერითრომიცინის მოქმედებისგან.

ანტიბიოტიკის გადევნა მიკრობული უჯრედიდან

რეზისტენტობის ეს მექანიზმი ასევე ხშირად გვხვდება და განპირობებულია ანტიბიოტიკის შემცირებით უჯრედში და აქედან გამომდინარე მისი წვდომა სამიზნესთან შემცირებულია. ეს მექანიზმი შეიძლება განხორციელდეს ორი ძირითადი სახით:

- ანტიბიოტიკის აქტიური გამოდევნით მიკრობული უჯრედიდან;
- გარე მემბრანის მიკრობული უჯრედის განვლადობის დარღვევით.

რეზისტენტობის ეს ორი მექანიზმი მოქმედებს შეთანხმებულად, კორეგულაციის პრინციპით. რეზისტენტობის მექანიზმი განპირობებულია ანტიბიოტიკის აქტიური გამოდევნით ბაქტერიული უჯრედიდან, რომელიც ეფუძნება სპეციალიზებული ცილების ნაკრების მუშაობას. ისინი ქმნიან ე.წ. ტრანსმემბრანულ პომპებს. პომპებს აქვთ საშუალება, გლიკოპეპტიდების გარდა, უჯრედშიდა სივრციდან გარემოში გამოდევნონ ტოქსიური ნივთიერებები, ქსენობიოტიკები და ანტიბიოტიკები. ამჟამად ცნობილია ბაქტერიული პროტონური პომპების ხუთი ძირითადი სუპეროჯახი: ABC, MF, MATE, SMR და RND. ABC და MF ხშირია გრამ დადებით ბაქტერიებში, სტაფილოკოკებში და ენტეროკოკებში, რაც უზრუნველყოფს მის რეზისტენტობას მაკროლიდების და სხვა სტრუქტურულად მსგავსი ნივთიერებების მიმართ.

მიკრობული უჯრედის გარე მემბრანის განვლადობის ცვლილება

უჯრედის მემბრანის ქიმიური შედგენილობის შეცვლის გამო ხდება მისი განვლადობის შემცირება ანტიბიოტიკების და სხვა ქიმიური ნაერთების მიმართ. ეს არის გრამ ნეგატიური ბაქტერიების რეზისტენტობის ერთ-ერთი მექანიზმი. გარე მემბრანა ძალიან დიდ როლს თამაშობს და წარმოადგენს დამატებით უჯრედის დაცვის ფიზიკურ ბარიერს. გარე მემბრანა წარმოადგენს მაკრომოლეკულურ ნივთიერების რთულ კომბინაციას, რომელთაც აქვთ სპეციფიკური განვლადობის პარამეტრები. გარე მემბრანა გვევლინება როგორც სელექტიური ბარიერი და მოქმედებს ანტიბიოტიკების მიმართ ბაქტერიული უჯრედის მგრძნობელობაზე. მაკროლიდები, პოლიმიქსინები და სხვა ჰიდროფობური პრეპარატები

დიფუნდირებენ ბილიპიდური ფენიდან. მაგალითად, β-ლაქტამები აღწევენ უჯრედის შიგნით პორინებიდან, ხოლო ლიპოსაქარიდების პორინული ნაწილი განლაგებულია მემბრანის ზედა ფენაში და წარმოადგენს მემბრანის ძირითადი ბარიერს .

არანაკლებ მნიშვნელოვანია რეზისტენტობა, რომელიც კონტროლდება პორინებით. როგორც იყო ზემოთ აღნიშნული, β-ლაქტმური ჯგუფის ანტიბიოტიკები, ტეტრაციკლინები, ფტორქინოლები აღწევენ მემბრანული სტრუქტურებიდან შიდა უჯრედის სივრცეში. ამიტომ, ძირითადი რეზისტენტობის მექანიზმი იწვევს გენების ექსპრესიის დაქვეითებას, რომლებიც აკოდირებენ სხვადასხვა ტიპების პორინებს. გენების ექსპრესიის რეგულატორული ცვლილებები ასევე ცვლიან პორინების შემადგენლობას და შეუძლიათ მნიშვნელოვნად გაზარდონ მინიმალური ინჰიბიტორული კონცენტრაციები ანტიბიოტიკების მიმართ, როგორიცაა ცეფოტაქსიმი და ცეფოქსიტინი. ზოგი ბაქტერიას აქვს რეზისტენტობა მემბრანის შეღწევადობის დონეზე. მაგალითად, *Pseudomonas aeruginosa*-ს მემბრანის შემადგენლობაში აქვს ძალიან ცოტა პორინები და ტრანსმემბრანული პომპის მაღალეფექტურ მუშაობასთან ერთად, მიკროორგანიზმი ხდება რეზისტენტული ფართო სპექტრის ანტიბიოტიკების მიმართ.

აღსანიშნავია, რომ ერთი და იგივე ანტიბიოტიკის მიმართ რეზისტენტობას შესაძლოა სხვადასხვა მექანიზმი განაპირობებდეს.

4.2 გენეტიკური დეტერმინანტების გადაცემის მექანიზმები

ანტიბიოტიკების მიმართ ბაქტერიული უჯრედების რეზისტენტობა შეიძლება განისაზღვროს მრავალი გენით. ეს გენები აკოდირებენ ანტიბიოტიკების დამშლელ სპეციფიკურ ცილებს (β-ლაქტამაზებს), რომლებიც იცავს ანტიბიოტიკების მოქმედების მიზანს (RPP ცილის გენი). ანტიბიოტიკების დამშლელი ცილების მაკოდირებელი გენები უზრუნველყოფს აქტიური ანტიბიოტიკების განდევნას.

გარდა ამისა, რეზისტენტობა შეიძლება ასოცირებული იყოს ანტიბიოტიკების სამიზნეების მაკოდირებელი გენების მუტაციებთან.

გენების ეს მრავალრიცხოვანი ვარიანტები, რომლებიც ბაქტერიებს ანიჭებს რეზისტენტობას ერთდროულად რამდენიმე ანტიბიოტიკის მიმართ, დიდი ალბათობით ვერ ჩამოყალიბდებოდა მოკლე დროში ერთ შტამში მუტაციის პროცესის გამო. ბაქტერიებს აქვთ ფენოტიპების უზარმაზარი მრავალფეროვნება, რაც მათ საშუალებას აძლევს თითქმის ყველგან იცხოვრონ.

ამ მრავალფეროვნებას უზრუნველყოფს ბაქტერიების დნმ–ის უბანი და მათთან გენეტიკური ინფორმაციის გადატანა უშუალოდ უჯრედიდან უჯრედში. ინფორმაციის გადაცემის ამ გზას გენის ჰორიზონტალური გადაცემა ეწოდება, განსხვავებით ვერტიკალური გადაცემისგან, რაც გულისხმობს წინაპრებიდან შთამომავლებზე გადაცემას. ჰორიზონტალურად გადაცემის უნარის გამოყენებით, უჯრედს შეუძლია მეზობელ უჯრედს გადასცეს გენი, რომელიც ანიჭებს ანტიბიოტიკორეზისტენტობას ან ახალი ნივთიერების მეტაბოლიზმის შესაძლებლობას. ბაქტერიას შეუძლია განახორციელოს ინფორმაციის სპეციფიკური გაცვლა არა მხოლოდ სახეობის შიგნით, არამედ სახეობათა შორის.

ფიქრობენ, რომ რეზისტენტობის სხვადასხვა გენების ჰორიზონტალური გადაცემა წარმოადგენს ბაქტერიებში მულტირეზისტენტობის სწრაფი ჩამოყალიბების მთავარ მიზეზს. ამ პროცესში ცენტრალურ როლს ასრულებს სხვადასხვა მობილური გენეტიკური ელემენტები - პლაზმიდები, ტრანსპოზონები, IS- ელემენტები, ინტეგონები.

პლაზმიდები მცირე ზომის ცირკულირებადი დნმ-ის მოლეკულებია, რომლებიც თავისუფლად მოძრაობენ ციტოპლაზმაში. პლაზმიდები ბაქტერიული უჯრედის დამოუკიდებელი გენეტიკური ელემენტია. ისინი აკოდირებენ ცილებს, უზრუნველყოფენ სხვადასხვა ადაპტაციურ თვისებებს. პლაზმური გენების გადატანა ძირითადად ხორციელდება ორი ბაქტერიული უჯრედის კონტაქტით კონიუგირების დროს. შესაბამისად პლაზმიდებს, რომელთა ურთიერთგაცვლა ხდება ბაქტერიებს შორის, უწოდებენ კონიუგაციურს.

პლაზმიდების მნიშვნელოვანი მახასიათებელია დამოუკიდებელი რეპლიკაციის უნარი, ანუ შვილეული ასლების შექმნა მშობლიური მოლეკულის მატრიცაზე. უჯრედის გაყოფის შემდეგ ახალ წარმოქმნილი უჯრედი იღებს დნმ-ის მოლეკულის

ერთ ასლს, რომელიც ანალოგიურია საწყისი უჯრედის დნმ-ის მოლეკულის. რეპლიკაციის პროცესი წარიმართება 15-20 ცილოვანი ანსამბლისაგან შემდგარი ფერმენტული კომპლექსის - რეპლისომის მეშვეობით.

ტრანსპოზონი ასევე ბაქტერიული გენების ჰორიზონტალურ გადატანაში ჩართულ ელემენტს წარმოადგენს. ტრანსპოზონები იყოფა რთულ და მარტივ ტრანსპოზონებად, რომლებიც სავარაუდოდ, რთულისაგან განვითარდნენ. ვარაუდობენ, რომ რთული ტრანსპოზონები შესაძლოა წარმოიშვა IS ელემენტებისგან, რომლებიც შემთხვევით აღმოჩნდნენ ერთმანეთის გვერდით. ისინი შეიცავენ ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გენებს, რომლებიც წარმოდგენილია IS ელემენტების იდენტური (ან თითქმის იდენტური) ასლებით. მუტაციის შედეგად ერთი ელემენტის ინაქტივაცია ხელს არ უშლის თავად ტრანსპოზონის გადაადგილების შესაძლებლობას. თუ ტრანსპოზონი მცირე პლაზმიდაზეა ლოკალიზებული, მაშინ ის იქცევა ისე, როგორც ორი განსხვავებული ტრანსპოზონი (Darmon….2014).

ინტეგრონები რეკომბინაციული სისტემაა, რომელსაც შეუძლია კასეტის ფორმით მიითვისონ გენები. მიუხედავად იმისა, რომ ინტეგრონები თავისთავად მობილური ელემენტები არ არიან, მათი ასოციაცია ტრანსპოზონებთან, IS-თან და შემაერთებელ პლაზმიდებთან აქცევს მათ სხვადასხვა ბაქტერიების სახეობათა შორის ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გენების გადამტან მთავარ ვექტორებად (Kaushik…2017).

რეზისტენტული კუნძულები კიდევ უფრო დიდი მობილური ელემენტებია. ეს ელემენტები შეიცავენ ფუნქციურ ან ფარულ, ინტეგრაზულ გენებს, შეუძლიათ ჩაშენება პროკარიოტულ ქრომოსომაში და სხვა მასპინძლებზე კონიუგირებით გადაცემა (Juhas…2009). გენების გადაცემა ხდება მოძრავი რგოლის მექანიზმის საშუალებით. ეს პროცესი ჩვეულებრივ პირობებში (ზრდის შესვლის ფაზა) ICE, IME ან GI ქრომოსომაში არააქტიურია. გენეტიკური მასალის გადაცემა შესაძლებელია მხოლოდ უჯრედების რიგ თაობებში. ჰორიზონტალური გადაცემა ჩვეულებრივ წარმოებს ძალიან დაბალი სიხშირით, მაგრამ გარკვეულ პირობებში (SOS სისტემის გააქტიურება, ჰოსპიტალიზაცია ან უჯრედის მაღალი სიმკვრივე). ამგვარი

ელემენტების ჰორიზონტალური გადაცემა ხდება ანტიბიოტიკების თანაობისას, რაც ხელს უწყობს პროცესის აქტივაციას. მაგალითად, ტეტრაციკლინის არსებობა ააქტიურებს tetR რეზისტენტობის გენს Tn916– ში, რაც იწვევს ინტეგრაზის გამოხატვას და განაპირობებს ICE– ს მობილიზაციას (Delavat…2017).

IS ელემენტი არის პირველი მობილური გენეტიკური ელემენტები, რომლებიც ბაქტერიებში აღმოაჩინეს. ეს ელემენტები შეიცავს ტრანსკრიფციულ გაჩერების სიგნალებს (გარდა IS1– ისა). თითოეული IS ელემენტის ბოლოებში არის 16–41 bp სიგრძის ინვერტირებადი განმეორებები. განმეორებების ზომა სპეციფიკურია თითოეული ელემენტისთვის და შეიძლება ინტეგრირდეს ნებისმიერ ორიენტაციით. როგორც წესი, IS ელემენტი შეიცავს მინიმუმ ორ გახსნილ წასაკითხ ჩარჩოს: პირველი აკოდირებს ტრანსპოსაზას, აუცილებელს IS ელემენტის გადაადგილებისათვის, მეორე არეგულირებს ტრანსპოსაზის აქტივობას. მიუხედავად იმისა, რომ IS არ შეიცავს შერჩეულ ნიშნებს, მათ შეუძლიათ გადაიტანონ რეზისტენტობის გენები, რომლებიც განთავსებულია ორ IS ელემენტს შორის. ასე რომ, ბაქტერიული საზოგადოება შეიძლება ჩაითვალოს ერთ აწყობილ გენომად (ე.წ. "სუპერგენი"). არ არის აუცილებელი, რომ კონკრეტულ უჯრედს ჰქონდეს ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის ყველა გენი და გადასცეს ის მთელ რიგ თაობებს იმ პირობების მოლოდინში, რომელშიც რეზისტენტობის გენები მოიპოვებენ სელექტიურ უპირატესობას. საკმარისია, თუ მიკრობიომის ან მიკროორგანიზმების საზოგადოებაში იქნება სხვადასხვა უჯრედები, რომლებიც მიეკუთვნებიან რეზისტენტობის თუნდაც სხვადასხვა სახეობებს. გადარჩევის მექანიზმით და ჰორიზონტალური გადატანის მეშვეობით ყოველთვის არის შესაძლებელი საჭირო რეზისტენტობის გენების შერწყმა მუტანტ გენების ვარიანტებთან -ანტიბიოტიკების სამიზნეები, რაც გამოიწვევს შტამის ახალი ადაპტირებული ვარიანტის გაჩენას.

4.3 გაფართოებული სპექტრის β-ლაქტამების განსაზღვრება

ESBL-ფერმენტებია, რომლებიც ახდენენ პენიცილინებისა და ცეფალოსპორინების უმრავლესობის, მათ შორის ოქსიმინო–β-ლაქტამის შემადგენელი ნაწილების (ცეფუროქსიმი, მე–3 და მე–4 თაობის ცეფალოსპორინები და აზტრეონამი), მაგრამ

არაცეფამიცინების ან კარბაპენემების ჰიდროლიზს. გაფართოებული სპექტრის β-ლაქტამაზების უმრავლესობა მიეკუთვნება β-ლაქტამაზების ამბლერის (Ambler) A კლასს და ინჰიბირდება β-ლაქტამაზას ინჰიბიტორებით (კლავულანის მჟავა, სულბაქტამი და ტაზობაქტამი). არსებობს რეზისტენტობის სხვადასხვა მექანიზმი ცეფალოსპორინების მიმართ, მაგრამ ძირითად საშიშროებას მაინც წარმოადგენს ESBL. გაფართოებული სპექტრის β-ლაქტამაზა არის ანტიბიოტიკებისგან ბაქტერიების დაცვის მძლავრი იარაღი. თანამედროვე მონაცემებით β-ლაქტამაზები იყოფა ოთხ მოლეკულურ ჯგუფად: A,B,C და D. B-ჯგუფის ფერმენტები მიეკუთვნება მეტალოენზიმებს, რადგან კოფერმენტს წარმოადგენს თუთიის ატომი. დანარჩენებს გოგირდ შემცვლელი ტიპის ფერმენტებს მიაკუთვნებენ.

ESBL- რეზისტენტობის მექანიზმები

გამოყოფენ ESBL რეზისტენტობის სამ ძირითად მექანიზმს. ყველაზე მნიშვნელოვანია ბაქტერიული β-ლაქტამაზებით ანტიბიოტიკის β-ლაქტამური რგოლის ფერმენტული ჰიდროლიზი. ეს ფერმენტი აქვთ სტაფილოკოკებს, გონოკოკებს, ენტერობაქტერიებს და *Bacteroides fragilis;* რეზისტენტობის მეორე მექანიზმი მდგომარეობს პენიცილინ შემაკავშირებელი ცილების უბნის ცვლილებაში. სპეციფიური პენიცილინ შემაკავშირებელი ცილის მოდიფიკაცია არის ერთ-ერთი მთავარი რეზისტენტობის მექანიზმი *Staphylococcus aureus*-ის მეტიცილინის და ასევე პნევმოკოკის პენიცილინის მიმართ; რეზისტენტობის მესამე მექანიზმი მდგომარეობს გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების მემბრანის გამტარიანობის შემცირებაში.

მიკროორანიზმები 99% შემთხვევში მგრძნიბიარენი არიან კარბოპენემების მიმართ, თუმცა უკანასკნელ პერიოდში შეინიშნება კარბოპენემების მიმართ რეზისტენტობის მზარდი ტენდეცია, როცა ბაქტერიები გამოიმუშავებენ ფერმენტ მეტალობეტალაქტამაზას. ამ მიკროორგანიზმებით ინფიცირების პრობლემა შემდეგია:

- რეზისტენტობა პენიცილინების და ცეფოლოსპორინების მიმართ ზღუდავს ძირითადი და მნიშვნელოვანი ანტიბიოტიკების ჯგუფების გამოყენებას;

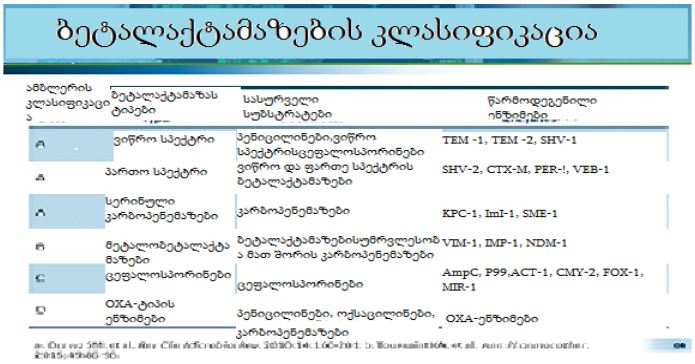
- თანდაყოლილი პოლირეზისტენტობა სხვა ანტიბიოტიკების მიმართ (ამინოგლიკოზიდები,ფტორქინოლები და ა.შ);
- ESBL-ის სწრაფი გავრცელება სხვა გრამ-უარყოფით ბაქტერიებს შორის, რომლებიც მიეკუთვნება სხვა გვარს;
- ESBL-ის გამოვლენის სირთულე ზოგადად მიღებული ბაქტერიოლოგიური მეთოდებით;
- ხშირი არაეფექტური კლინიკური მკურნალობა.

ESBL-მაპროდუცირებული ბაქტერიების ტიპიური წარმომადგენლებია *E.coli* და *Klebsiella spp*. ამ ბაქტერიების გარდა ESBL- შეიძლება შეგვხვდეს სხვა ნოზოკომიურ შტამებში:*Proteus spp, Serratia spp, Citrobacter spp* და სხვა ენტერობაქტერიებში (მათ შორის სალმონელები). ბოლო წლების განმავლობაში ISBL რეგისტრირდება არამაფერმენტირებელ ბაქტერიებში, როგორიცაა *Pseudomona spp.* და *Acinetobacter spp.* ზემოთ ჩვენ უკვე აღვნიშნეთ, რომ ESBL- მოპროდუცირებელ ბაქტერიებს ასოცირებული რეზისტენტობა აქვთ არამარტო პენიცილინების და ცეფალოსპორინების მიმართ, არამედ ანტიბიოტიკების სხვა ჯგუფებთან: ამინოგლიკოზიდებთან, ფტორქინოლებთან, კო-ტრიმოქსაზოლთან, აზტრეონამთან. ანტიბიოტიკების მიმაგრების დროს β-ლაქტამაზებთან ხდება ლაქტამური რგოლის ჰიდროლიზი. გენები, რომლებიც პასუხისმგებლები არიან β-ლაქტამაზების სინთეზის კოდირებაზე, განლაგებული არიან როგორც ქრომოსომებზე, ასევე სხვა მოძრავ გენეტიკური ელემენტებზე. მაგრამ ეს მიკროორანიზმები მგრძნობელობას ავლენენ β-ლაქტამაზების ინჰიბიტორების მიმართ (კლავულონატი, ტაზობაქტამი, სულბაქტამი). სწორედ ამას ეფუძნება ESBL--ის გამოვლენა. ლაბორატორიული ტესტირებისათვის გამოიყენება კლავულონატი. თუ ნიადაგში კლავულონატის დამატებით მესამე თაობის ცეფოლოსპორინების აქტივობა იზრდება ტესტირებული შტამის მიმართ, ეს მიუთითებს, რომ შტამი არის ESBL- მაპროდუცირებელი.

β-ლაქტამაზების კლასიფიკაცია

ESBL-ისკლასიფიკაციის ორი სისტემა არსებობს:მოლეკულური - ამბერის და ფუნქციური - ბუშ-ჯაკობი-მედიეროსის.

მოლეკულური კლასიფიკაცია დაფუძნებულია აქტიურ ნაწილში ამინომჟავების ჰომოლოგიაზე და ფერმენტების ცენტრის აქტიურ სტრუქტურაზე. β-ლაქტამაზები ამინომჟავების ჰომოლოგის თანმიმდევრობის ხარისხზე დამოკიდებულებით იყოფა ოთხ მოლეკულურ ჯგუფად:A, B, C და D (ცხრილი 1). A, C და D ჯგუფები სერინული ტიპის პროტეაზებია, ხოლო ჯგუფი B აქტიურ ცენტრში შეიცავს ერთ ან ორ თუთიის ატომს. ამიტომ მათ ასევე მეტალო-ბეტა-ლაქტამაზებს (მ.ბ.ლ) უწოდებენ. შედარებით პოპულარულობით სარგებლობს კლასიფიკაცია, რომელშიც გათვალისწინებულია ბეტალაქტამაზების, როგორც ფუნქციური, ასევე სტრუქტურული თვისებები. პირველად ის გამოქვეყნდა 1995 წელს და გადამუშავდა 2010 წელს (Lushniak ... 2014).



ბეტალაქტამაზების კლასიფიკაცია

ამბლერის კლასიფიკაცია	ბეტალაქტამაზას ტიპები	სასურველი სუბსტრატები	წარმოდგენილი ენზიმები
A	ვიწრო სპექტრი	პენიცილინები,ვიწრო სპექტრისცეფალოსპორინები	TEM -1, TEM -2, SHV-1
A	პართო სპექტრი	ვიწრო და ფართე სპექტრის ბეტალაქტამაზები	SHV-2, CTX-M, PER-!, VEB-1
A	სერინული კარბოპენემაზები	კარბოპენემაზები	KPC-1, ImI-1, SME-1
B	მეტალობეტალაქტამაზები	ბეტალაქტამაზებისყმრვლესობ ა მათ შორის კარბოპენემაზები	VIM-1, IMP-1, NDM-1
C	ცეფალოსპორინები	ცეფალოსპორინები	AmpC, P99,ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
D	OXA-ტიპის ენზიმები	პენიცილინები, ოქსაცილინები, კარბოპენემაზები	OXA-ენზიმები

ცხრილი 1. მოლეკულური კლასიფიკაცია ამბლერის სისტემით

ფუნქციური კლასიფიკაცია ეყრდნობა ფერმენტების სუბსტრატულ სპეციფიკურობას (დაწყებული პენიცილინაზებიდან და ცეფალოსპორინაზებიდან აქტივობის ვიწრო სპექტრით, დამთავრებული გაფართოებული სპექტრით β-ლაქტამაზებით (ESBL და კარბაპენემაზებით) და მათ მგრძნობელობას ინჰიბიტორების მიმართ (კლავულანი მჟავა, სულბაქტამი და ტაზობაქტამი) (ცხრილი2)

ფუნქციური ფგუფი	სუბსტრ.პროფილი	მოლეკულური ჯგუფი	ინჰიბიტორებ	წარმომადგენელი
1	Cephalosporinase	C	Oxa	AmpC, MIR-1
2a	Penicillinase	A	Clav.	*S.aureus*
2b	Broad spectrum	A	Clav.	TEM-1/2, SHV-1
2be	Extended spectrum	A	Clav.	TEM 3-29, TEM46-104 SHV2-28, CTX-M types
2br	Inhibition resistant	A	-	TEM 30-41 (IRT1-12)
2c	Carbenicillinase	A	Clav.	PSE-1
2d	Oxacillinase	D	(Clav.)	OXA-1 (OXA-2 &-10 derived ESBL)
2e	Cephalosporinase	A	Clav.	FPM-1 *P. vulgaris*, CepA *B. fragilis*.
2f	Carbapenemase	A	Clav.	IMI-1, NmcA, Sme 1-3
3	Metallo-enzyme	B	-	*S.maltophilia*
4	Penicillinase	-	-	*B.cepacia*

ცხრილი 2. ფუნქციურიკლასიფიკაცია ბუშ-ჯაკობი-მედიეროსის სისტემით

პირველი ჯგუფი (კლასი C) ცეფალოსპორინაზები

პირველი ჯგუფი მოიცავს კლავულანის მჟავის მიმართ მდგრად ცეფალოსპორინაზებს. გენები, რომლებიც გამოიმუშავებენ ამ ფერმენტებს, ლოკალიზდებიან როგორც ენტერობაქტერიების ოჯახის, ასევე სხვა ოჯახის ბაქტერიების ქრომოსომებში. ბევრი სახეობის ბაქტერიაში: *Citrobacter freundii, Enterobacter cloacae, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa AmpC*-გენის გამოხატვა დაბალია, რაც დამოკიდებულია ბეტა-ლაქტამების (ამოქსაცილინი, ამპიცილინი, იმიპენემი და კლავულონოვური მჟავა) ექსპოზიციის დროზე.

როცა ბაქტერია გამოიმუშავებს დიდი რაოდენობით ცეფალოსპორინაზებს, შესაძლებელია ჩამოყალიბდეს რეზისტენტობა კარბოპენემთან და განსაკუთრებით ერტაპენემთან (Jacoby...2009; Quale...2006). თუმცა გენების გადატანა AmpC პლაზმიდებზე, რომელიც ამ ბოლოს დროს შეინიშნება, ქმინის რეალურ წინაპირობას მათი ფართო გავრცელებისათვის.

პირველი ჯგუფის პლაზმიდური β-ლაქტამაზები გვხვდება იშვიათად, ვიდრე β-ლაქტამაზები 2be (Doi ... 2009).

მეორე ჯგუფი (კლასი A და D) ფართო სპექტრის, ინჰიბიტორ-რეზისტენტული და გაფართოებული სპექტრის β-ლაქტამაზები

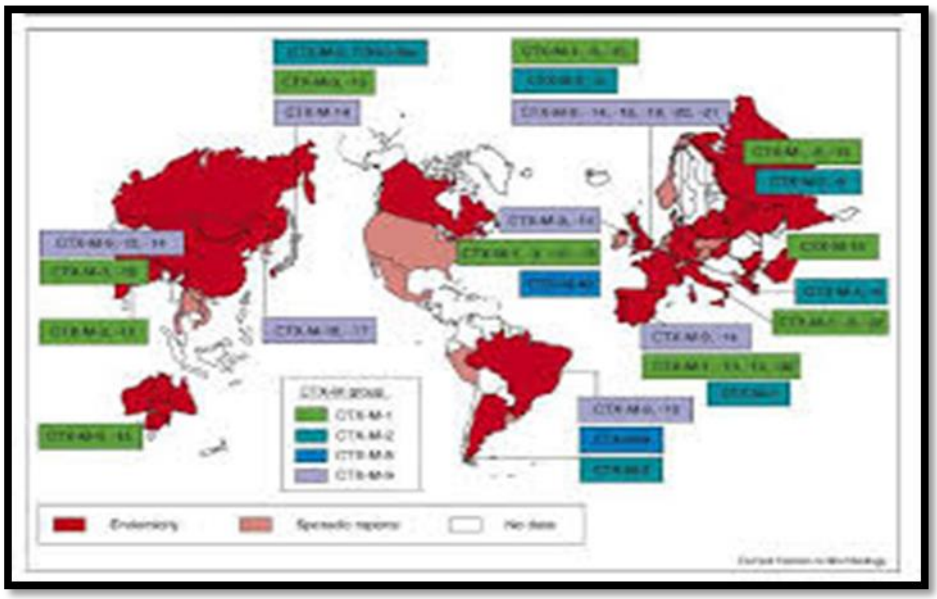
ეს ჯგუფი მოიცავს პენიცილინაზებს და ცეფალოსპორინაზებს, რომელიც ითრგუნება კლავულანის მჟავათი და ამბერის კლასიფიკაციით მიეკუთვნება A და D კლასს. ეს β-ლაქტამაზების დიდი ჯგუფია, რომლიც წარმოიქმნა ბოლო 20 წლის განმავლობაში. პენიცილინაზების ქვეჯფუფი 2a წარმოადგენს β-ლაქტაზების შედარებით პატარა ჯგუფს, რომლსაცშეზღუდული აქვს ჰიდროლიზური აქტივობა. ისინი წამყვანი β-ლაქტამაზებია გრამ დადებით კოკებში, კერძოდ სტაფილოკოკებსა და იშვიათად ენტეროკოკებში. უპირატესად ახდენენ პენიცილინის და მის წარმოებულების (ამპიცილინი და სხვა) ჰიდროლიზს და 10-ჯერ უფრო ნაკლებად ცეფალოსპორინების. კარბაპენემების და მონობაქტამის გენები, რომლებიც პასუხ-ისმგენელნი არიან მათ გამომუშავებაზე, ლოკალიზდებიან ქრომოსომებში, თუმცა ზოგიერთი სტაფილოკოკური პელიცილინაზების გენები პლაზმიდებშიც გვხვდება.

ქვეჯგუფ 2b-ში გაერთიანებულია β-ლაქტამაზები, რომლებიც იოლად აჰიდროლიზებენ პელიცილინებს და სხვადასხვა ცეფალოსპორინებს. ისინი მაღალმ-გრძნობიარეები არიან β-ლაქტამაზების ინჰიბიტორების მიმართ (კლავულონის მჟავა, ტაზობაქტამი, სულბაქტამი).

ქვეჯუფი *2be*-ს, რომელიც მიეკუთვნება ESBL-ს ახდენენ ოქსიმინოცეფალოსპორ-ინების (ცეფოტაქსიმი, ცეფოტაზიდიმი, ცეფტრიაქსონი, ცეფუროქსიმი და ცეფეპიმი) და მონობაქტამების (აზტრეონამი) ჰიდროლიზს, მაგრამ არ ახდენენ ცეფამიცინის (ცეფოქსიტინი, ცეფოტეტანი) და კარბაპენემების (იმიპენემი, მეროპენემი, დორიპენემი და ერტაპენემი) ჰიდროლიზს. ეს ფერმენტები ინჰიბირებულია β-ლაქტამაზების კლასიკური ინჰიბიტორებით (კლავულანის მჟავა, სულბაქტამები და ტაზობაქტამები). უმეტესი ESBL მიეკუთვნება კლას A-ს და მოიცავს SHVდა TEM ტიპებს. SHV და TEM წარმოიქმნენ β-ლაქტამაზების აქტიურ უბანში წერტილოვანი მუტაციების შედეგად, რამაც გამოიწვია ამინომჟავების ჩანაცვლება. ამავდროულად, აღწერილი იქნა ESBL ახალი ოჯახი, CTX-M-t ტიპის ESBL, რომელიც ძირითადად გვხვდება *Salmonella* და *Escherichia coli* -ში (Saladin...2012).

ESBL ტიპის CTX-M ხშირად ლოკალიზდებიან პლაზმიდებზე, თუმცა მიეკუთვნება A კლასს. TEM ან SHV ტიპებისგან განსხვავებით, ისინი არ არიან ბეტა-ლაქტამაზების სხვა კლასის მონათესავე, CTX-M ფერმენტების ტიპები აქტიურად აჰიდროლიზებენ ცეფოტაქსიმს და ცეფტრიაქსონს, ვიდრე ცეფტაზიმიდს. მიუხედავად ამისა, ზოგიერთი ფერმენტის აქტიური ცენტრების ახლოს მდებარე წერტილოვანი მუტაციები მიეკუთვნება CTX-M-1 და CTX-M-*9* ჯგუფებს. ამ ყველაფერმა მნიშვნელოვნად გაზარდა ცეფტაზიმიდის ჰიდროლიზების უნარი (Степанова ... 2011).

ამა თუ იმ ჯგუფის CTX-M-ები განსხვავდებიან გეოგრაფიული გავრცელების მიხედვით. მხოლოდ CTX-M-15 გვხვდება ყველგან. ყველაზე მეტი სიხშირით რუსეთსა და ევროპაში გვხვდება ბეტა-ლაქტამების შემდეგი ვარიანტები: CTX-M-15, CTX-M-3, CTX-M-14 (Сидоренко...2011; Степанова...2011; Rossolini...2008)(სურ.5).



სურათი 5. CTX-M გავრცელება მსოფლიოს სხდასხვა ქვეყანაში

2br-ქვეჯგუფში შესულია ფართო სპექტრის β-ლაქტამაზები, მაგრამ მათ შეიძინეს მდგრადობა კლავულანის მჟავას მიმართ. ყველა მათგანი მიეკუთვნება TEM ან SHV ტიპებს. არცერთი CTX-M ტიპის ფერმენტები, რომლებიც შედიან ამ ქვეჯგუფში მსგავსი თვისებებით,მდგრადობით კლავულანის მჟავის მიმართ, დღემდე აღწერილი

არა. პენიცილინაზები ქვეჯგუფ 2c-ში ახდენენ კარბენიცილის და ტიკარცილინის ჰიდროლიზს. ოქსაცილინის და კლოქსაცილინის ჰიდროლიზება ორჯერ უფრო ნელა მიმდინარეობს, ვიდრე ბენზილპენიცილინის.

ბოლო ათწლეულის განმავლობაში აღწერილია ამავე ჯგუფში შემავალი რამოდენიმე ახალი β-ლაქტამაზა. ეს დაკავშირებულია იმასთან, რომ დღეს კარბენიცილინი კლინიკურ პრაქტიკაში თითქმის არ გამოიყენება. (Bushet...2010;). ამ ჯგუფის ფერმენტები იოლად ინჰიბირდებიან კლავულანური მჟავით და ტაზობაქტამით.ქვეჯგუფი 2ceმოიცავს კარბენიცილინაზას, რომელიც გამოირჩევა მომატებული აქტიურობით ცეფეპიმის და ცეფპირომის მიმართ(Potron ... 2015).

ქვეჯგუფი 2d წარმოდგენილია β-ლაქტამაზებით, რომლებიც აჰიდროლიზებენ ოქსაცილინს და კლოქსაცილინს ორჯერ უფრო მაღალი სიჩქარით. ამის გამო მათ „OXA-ფერმენტები“ უწოდეს. ეს β-ლაქტამაზების მეორე ჯგუფია. ისინი იოლად აჰიდროლიზებენ კარბენიცილინს. ამ ჯგუფის ფერმენტების უმეტესობა ინჰიბირდებიან ნატრიუმის ქლორიდთან. ახალ ქვეჯგუფში - 2de შედის ოქსაცილინ და კლოქსაცილინ ჰიდროლიზებული β-ლაქტამაზები. ისინი აქტიურნი არიან ოქსიმო β-ლაქტამების მიმართ, მაგრამ არა კარბოპენემის მიმართ. ამ ქვეჯგუფის ფერმენტები ხშირად გვხვდება *P.aeruginosa-ს* იზოლატებში, ამასთან ცეფტაზიდიმთან რეზისტენტობა უფრო ხშირად, ვიდრე ცეფოტაქსმინთან და აზტრეონამთან. „OXA- ფერმენტები“ - შედიან აგრეთვე ახალ ქვეჯგუფში 2df და ახდენენ კარბაპენემის ჰიდროლიზს. მათი მაკოდირებელი გენები ჩვეულებრივ ლოკალიზდებიან ქრომოსომებზე (Waltheret...2006), თუმცა ზოგიერთი განლაგებულია პლაზმიდებში.

მეორე ქვეჯგუფში შემავალი ცეფალოსპორინაზები ახდენენ ფართო სპექტრის ცეფალოსპორინების ჰიდროლიზს და ინჰიბირდებიან კლავულანის მჟავათი, ტაზობოქტამით.

ხშირ შემთხვევაში ეს ინდუციბელური β-ლაქტამაზებია ქრომოსომული ლოკალიზებით და აღმოაჩენილია *Proteus*-ის გვარის წარმომადგენლებში.

A კლასის სერინული კარბოპენემაზები შედიან მეორე 2f ქვეჯგუფში, ისინი ინჰიბირდებიან უფრო ტაზობაქტამით, ვიდრე კლავულანის მჟავათი. მესამე

ქვეჯგუფის მეტალო β-ლაქტამაზები შეიცავენ თუთიის იონს აქტიურ ცენტრში. ისინი ახდენენ ყველა β-ლაქტამების ჰიდროლიზს, აზტრეონამის გარდა. მათი აქტივობა ინჰიბირდება EDTA-თი და არა კლავულონატით.

ამრიგად, ეს ორი კლასიფიკაცია საკმაოდ ეფექტურია და გამოყენებადია ბაქტერიების იდენტიფიკაციისას.

ESBL ტიპები

სხვადასხვა პათოგენებში აღწერილ მრავალ ESBL შორის ნაჩვენებია, რომ CTX-M, TEM და SHV ტიპები ყველაზე მნიშვნელოვანია შემთხვევითი კავშირების თვალსაზრისით და გავრცელებულია სხვადასხვა ეპიდემიოლოგიურ ნიშებში. ითვლება, რომ სხვადასხვა გრამ-უარყოფითმა ბაქტერიებმა, როგორიცაა *E. coli* და *K. pneumoniae,* „აირჩიეს“ ორი ძირითადი ევოლუციური სტრატეგია: უკვე გავრცელებული ბეტა ლაქტამური ტიპების TEM და SHV მუტანტების ასორტიმენტი და ბუნებრივი მეტაგენომიდან ESBL-ის ახალი გენების დაპყრობა. მიუხედავად იმისა რომ ამ საკითხთან დაკავშირებით გამოქვეყნებულია მრავალი პუბლიკაცია, ESBL-ის ტიპები ისე სწრაფად იცვლება, რომ სასურველია რეგულარულად მოხდეს ამ გენეტიკური დეტერმინანტების სტრუქტურული და ფუნქციური ცოდნის განახლება (Sadeequr...2018).

TEM ტიპის ბეტა-ლაქტამაზები

თითქმის 90% ამპიცილინის მიმართ რეზისტენტული გრამ ნეგატიური ბაქტერიებისა განპირობებულია TEM -ით კოდირებული გენებით (Rice...2009). ESBL TEM ტიპი ხშირად განპირობრბულია პლაზმიდების შუამავლობით და კლასიკურ TEM გენებში მუტაციიდანერთი ან რამდენიმე ამინომჟავის შეცვლით *E. coli* -ის აქტიური საიტის ირგვლივ.პირველად ეს *E. coli* გამოყოფილი იქნა 1965 წელს საბერძნეთში პაციენტიდან, სახელად Temoneira (აქედან TEM), რომლის რეზისტენტობაც განპირობებული იყო TEM-1-ით (Sadeequr...2018). რამოდენიმე წლის შემდეგ აღმოაჩინეს TEM-2. ის განსხვავდებაTEM-1-გან ერთი ამინომჟავის მუტაციით (Gln39Lys).

TEM ტიპის აქამდე აღწერილი ყველა β-ლაქტამები არიან TEM-1β-ლაქტამაზების ვარიანტები და განსხვავდებიან საწყისი ფერმენტებისგან ერთეული ამინომჟავების შემცველობით (Teiji Sawa ...2020).

ამ დროისთვის მუტაციები ნაპოვნია 60 მდგომარეობაში, თუმცა მათი სიხშირე ძლიერ მერყეობს. ყველაზე ხშირად გვხვდება მუტაციები: 21, 39, 69, 104, 164, 182, 238, 240, 244, 265 და 275 პოზიციებში. დადგენილია, რომ TEM-1-ში შემავალი *Glu104Lys, Arg164Ser(His), Glu240Lys* ამინომჟავების შეყვანით იცვლება ცილა გლობულის საერთო შემადგენლობა. *Gly238Ser-ის* მუტაცია იწვევს ფერმენტების წარმოქმნას, რომლებიც კარგად აჰიდროლიზებენ როგორც ცეფოტაქსიმებს, ისე ცეფტაზიდიმებს. როცა ფერმენტები, რომლებიც შეიცავენ *Arg164Ser* მუტაციებს, უფრო აქტიურად შლიან ცეფტაზიდიმებს. ზოგიერთი ტიპის მუტაცია (69, 244, 275 და 276 პოზიციებში) განაპირობებს ისეთი ფერმენტების სინთეზს, რომლებიც განსაზღვრავენ ინჰიბიტორების მიმართ მდგრადობას.

β-ლაქტამური გენების 6 წყვილი: *TEM-1*და*TEM-98*;*TEM-3 და* TEM-14; TEM-10 და TEM-23; TEM-30 და TEM-99; TEM-34 და TEM-97; TEM-63 და TEM-64 ხასიათდება იდენტური სტრუქტურით. შემთხვევითი და მიმართულებითი მუტაგენეზის მეთოდების გამოყენებით მეცნიერებმა მიიღეს ხელოვნური სინთეზური მუტანტები აქტიურობის ფართო სპექტრით. ისინი პროგნოზირებენ ახალი TEM ბეტალაქტამაზების გამოჩენას კლინიკურ გამოვლინებამდე.

SHV ტიპის ბეტა-ლაქტამაზები

SHV-2 იყო SHV ESBL-ის პირველი ტიპი, რომელიც აღმოჩენილი იქნა გერმანიაში 1983 წელს, *Klebsiella ozaenae*-ში. როგორც ცნობილია, ზოგიერთი სახეობა ატარებენ SHV-1 გენებს ქრომოსომაში. SHV-2 ფერმენტი წარმოიშვა SHV-1-ში წერტილოვანი მუტაციის შედეგად, რამაც გამოიწვია გლიცინის შეცვლა სერინით 238 (Gly238Ser*)* პოზიციებზე და მისი ჰიდროლიზური სუბსტრატის პროფილის გაფართოება ცეფოტაქსიმის ჩართვით და უფრო ნაკლებად ცეფტაზიდიმისა (Sadeequr...2018).

მონაცემთა ბაზაში არსებობს მონაცემები SHV ტიპის β-ლაქტამაზების 126 მუტანტზე. ყველა ისინი SHV-1 ფერმენტიდან. მუტაციები აღმოჩენილია 79

მდგომარეობაში, აგრეთვე, აღწერილია დელეცია 54 y SHV-9 და ჩანართი 163DRWET167 SHV-16 პოზიციებში.

იმის მიხედვით, თუ რომელი ტიპით განხორციელდა ჩანაცვლება, TEM და SHV მუტაციები განსხვავდებიან სპეციფიური სუბსტრატული პროფილით ცეფალოსპორინებთან მიმართებაში. უფრო ხშირია მუტაციები 35, 238 და 240 მდგომარეობაში. ასევე აღწერილია β-ლაქტამაზა SHV-10. ის ESBL *SHV*-9-გან მხოლოდ ერთი ამონომჟავის შემცველობთ (*Ser130Gly)* განსხვავდება.

CTX-M ტიპის β-ლაქტამაზა

მიუხედავად იმისა, რომ დიდი დრო არ არის გასული CTX-M გენები აღმოაჩენიდან, ისინი წარმოადგენენ რეზისტენტობასთან დაკავშირებული ფერმენტების ყველაზე გავრცელებულ ტიპებს. ამ ტიპის ფერმენტი გამოყოფილი იქნა 1989 წელს *E. coli*-ის შტამებიდან. CTX-M ფერმენტები არის პლაზმიდებით კოდირებული ცეფოტაქსიმაზები, რომლებიც ქმნიან სწრაფად მზარდ ESBL-ის ოჯახს. სხვა ESBL-თა შორის, CTX-M ფერმენტები ყველაზე ეფექტური აღმოჩნდა შემთხვევითი კავშირების და უპირატესობის თვალსაზრისით სხვადასხვა ეპიდემიოლოგიურ გარემოში, სადაც მათ ძირითადად ჩაანაცვლეს და გაუსწრეს ESBL-ის სხვა ტიპებს (TEM, SHV). SHV ESBL-გან განსხვავებით. CTX-M ტიპის ფერმენტები არ არის წარმოქმნილი არსებული ფერმენტების ცვლილებების შედეგად. ფიქრობენ, რომ ეს გენები წარმოიშვა მუტაციური გზით ლატერალური გენის გადატანით Kluyvera spp-დან.

მიუხედავად იმისა, რომ CTX-M–ის ძირითადი ვარიანტები ბიოლოგიურად განსხვავებულია CTX-M-15 და CTX-M-14-გან, ის არის ყველაზე გავრცელებული ვარიანტი, რომელიც გლობალურად გვხვდება მნიშვნელოვან მიკრობებში. მათ მოყვება CTX-M-2, CTX-M-3 და CTX გენები. მე-20 საუკუნის 90-იანი წლების დასაწყისში გამოჩნდა მონაცემები ამ ფერმენტების გამრავლებისა და მათი გავრცელების უნარზე გეოგრაფიულად ქვეყნებში. ამ დროისათვის ასევე შეინიშნებოდა დივერსიფიკაცია, რასაც კარგად მოწმობს CTX-M-3, რომელიც მჭიდრო კავშირშია CTX-M-1-თან და განსხვავდებული ამინომჟავებით ოთხ პოზიციაში (V77, D114, S140A და N288D). ამ კონტექსტში CTX-M-10 დაფიქსირდა ხმელთაშუა ზღვაში

და CTX-M-15 ნიუ დელიში (Sadeequr...2018). CTX-M განსხვავდება 10CTX-M-3-დან ორი ამინომჟავით (A27A და R38Q პოზიციებზე), ხოლო CTX-M-15-დან ერთი ამინომჟავით (D240G)-ზე. სავარაუდოდ ამ სამივე გენს ჰყავს საერთო წინაპარი. CTX-M ტიპის ფერმენტებს შორის განსხვავება მდგომარეობს კატალიზური აქტივობების ცვლილებაში სხვადასხვა ცეფალოსპორინებთან მიმართებაში: ცეფოტაქსიმი, ცეფტაზიდიმი და ცეფეპიმი. დადგენილია, რომ ამ ტიპის ფერმენტებისთვის არსებობს მუტაციები, მაგალითად: 167 და 240 მდგომარეობაში. აღსანიშნავია რომ CTX-M ტიპის β-ლაქტამაზები ხშირად გამოვლინდება სხვადასხვა ინფექციის გამომწვევებში.

4.4 კარბაპენემაზები

კარბაპენემაზები წარმოადგენენ β-ლაქტამაზებს, რომლებიც ახდენენ პენიცილინების, უმეტეს შემთხვევაში ცეფალოსპორინების და სხვადასხვა ხარისხით კარბაპენემებისა და მონობაქტამების (ეს უკანასკნელი არ ჰიდროლიზირდება მეტალო-β-ლაქტამაზების მიერ) ჰიდროლიზს.

კლინიკური და ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა

ოცდაათ წელზე მეტი ხნის განმავლობაში, კარბოპენემების ჯგუფის ანტიბიოტიკები იყო მთავარი რგოლი ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევი იმ პათოგენების სამკურნალოდ, რომლებიც რეზისტენტული იყო სხვა ჯგუფის ანტიბიოტიკების მიმართ. ESBL–ის სწრაფმა გავრცელებამ გამოიწვია β-ლაქტამების როლის მკვეთრი შემცირება მძიმე ჰოსპიტალური ინფექციების სამკურნალოდ და გაზარდა კარბაპენემების გამოყენების სიხშირე. ამის შედეგი გახდა კარბაპენემების მიმართ რეზისტენტობის ფორმირება და გავრცელება. კარბაპენემიური ანტიბიოტიკების მიმართ შეძენილი რეზისტენტობის ფორმირების სხვადასხვა მექანიზმების არსებობის მიუხედავად, მთელ მსოფლიოში ყველაზე დიდ საფრთხედ მოიაზრება რეზისტენტობის გავრცელება ანტიბიოტიკების მოლეკულის ინაქტივაციის გამო. ინფექციები, გამოწვეული კარბაპენემაზა მაპროდუცირებელი

ენტერობაქტერიების მიერ, დაკავშირებულია სიკვდილიანობის მაღალ დონესთან (სხვადასხვაშეფასებით 50-90%) (Schwaber ... 2008, Ben-David ... 2012).

CDC ექსპერტების აზრით, კარბაპენემების მიმართ გამძლე ენტერობაქტერიების გავრცელება ითვლება ერთ-ერთ ყველაზე სერიოზული საფრთხედ ჯანდაცვის სისტემაში (Enfield ... 2014). კარბაპენემაზების მაკოდირებელი ყველაზე მნიშვნელოვანი გენების სპეციფიკური მახასიათებელია მათი ლოკალიზაცია მობილურ გენეტიკურ ელემენტებზე, რაც უზრუნველყოფს მათ სწრაფ და სახეობათაშიდა განაწილებას ჰორიზონტალური გადატანის დროს (Gasink, Edelstein ... 2009) კარბაპენემაზების პროდუცენტების სწრაფი გავრცელების საშიშროებას ამძიმებს მრავალი მნიშვნელოვანი ფაქტი, რადგან ამ ბაქტერიებს ახასიათებთ უმეტესი ჯგუფის ანტიბიოტიკებთან ასოცირებული რეზისტენტობა. ზოგიერთ შემთხვევაში შესაძლებელია „პანრეზისტენტული“ შტამების წარმოქმნა. ამავე დროს, მომდევნო 4-5 წლის განმავლობაში, სამედიცინო პრაქტიკაში ახალი ანტიბიოტიკების გამოჩენა, რომლებიც დაძლევენ ამ წინააღმდეგობის მექანიზმს, ნაკლებად სავარაუდოა. არსებული ვითარება ასოცირდება "ანტიბიოტიკებამდე ეპოქაში" დაბრუნების რისკთან, როდესაც თანამედროვე წარმოდგენით მსუბუქი ინფექციებიც კი ლეტალური გამოსავლით დასრულდება. აშკარაა, რომ კარბაპენემაზების გავრცელების შემცირება თანამედროვე ჯანდაცვის უკიდურესად მწვავე პრობლემად მოიაზრება. თავისმხრივ, ცხადია რომ აღნიშნული ამოცანის ეფექტურად გადაჭრა შეუძლებელია რეზისტენტობის გავრცელების ხანგრძლივი, კანონზომიერი პროცესის დეტალური შესწავლის გარაშე.

სერინული (გოგირდის შემცველი) კარბაპენემაზების და MBLs მეტალო-β-ლაქტამაზები

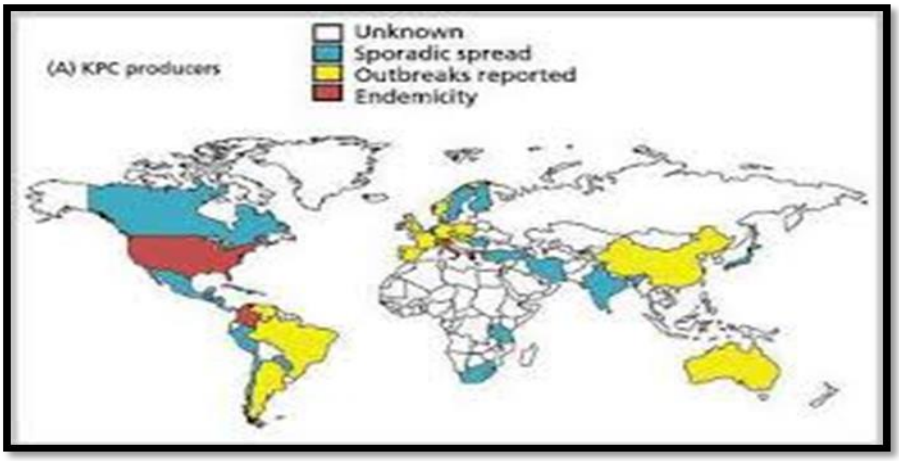
კარბაპენემების ჰიდროლიზაციის უნარი აქვთ β-ლაქტამაზების სხვადასხვა მოლეკულური კლასის წარმომადგენლებს (Queenana...2007), მაგრამ სერინული კარბაპენემაზები KPC (მოლეკულური კლასი A), მეტალო-β-ლაქტამაზები MBL (მოლეკულური კლასი B) და ზოგიერთი OXA (მოლეკულური კლასი D) ამჟამად ყველაზე მეტად გავრცელებული და კლინიკურად მნიშვნელოვანია.

A მოლეკულური კლასის სერინული კარბაპენემაზების ყველაზე

გავრცელებული ტიპია KPC, რომელიც აქტიურია პენიცილინების, IV თაობის ცეფალოსპორინების, კარბაპენემებისა და აზტრეონამის მიმართ. უმეტეს შემთხვევაში აღინიშნა KPC პროდუცენტების კლონური გავრცელება, რომელიც ფართოდაა გავრცელებული მასოფლიოში (სურ.6). blaKPC გენები ხშირად შედის მობილურ ელემენტებში (Tn4401) ტიპის ტრანსპოზონები) ამიტომ, კლონური გავრცელების გარდა, შესაძლებელია მათი ჰორიზონტალური გადატანა შტამებს შორის (Walsh ...2008; Pournaras ....2009; Woodford ....2008).

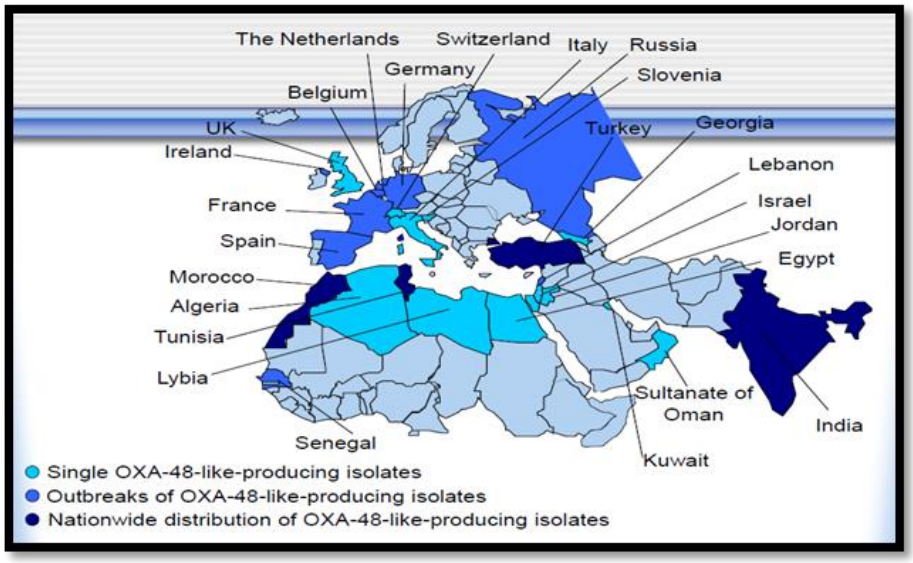
მეტალო-β-ლაქტამაზები, რომლებიც მიეკუთვნებიან მოლეკულურ B კლასს, წარმოადგენს ლითონის შემცველ ჰიდროლაზებს, რომელთა აქტიური ცენტრი შეიცავს თუთიის ატომს. ისინი ახდენენ არა მხოლოდ კარბაპენემების ჰიდროლიზებას, არამედ სხვა β-ლაქტამიანი ანტიბიოტიკების: პენიცილინები და ცეფალოსპორინები, მაგრამ ამავედროულადარ ავლენენ აქტივობას მონობაქტამების მიმართ. მეტალო-β-ლაქტამაზები არ ავლენენ მგრძნობელობას სერინული β-ლაქტამაზების ინჰიბიტორების მიმართ (კლავულანატი, სულბაქტამი, ტაზობაქტამი). მათ მეტალო-β-ლაქტამაზურ აქტივობას თრგუნავს EDTA და სხვა ლითონის ქელატორები, მაგრამ ამ ნაერთების გამოყენება ანტიბაქტერიულ საშუალებად შეუძლებელია მაღალი ტოქსიკურობის გამო (Gupta....2008). შეძენილი მეტალო-β-ლაქტამაზის მაკოდირებელი გენების უმეტესობა წარმოადგენს ინტეგრონების ნაწილს, რომლებიც ძალზე მობილურია და სწრაფად ვრცელდება მიკროორგანიზმებს შორის პლაზმიდების და ტრანსპოზონების მეშვეობით. მეტალო-β-ლაქტამაზა მაკოდირებელი გენების გარდა, ამგვარი ინტეგრონები შეიცავს დამატებით გენურ კასეტებს, რომლებიც ატარებენ სხვა კლასის ანტიბაქტერიული პრეპარატების (მაგალითად, ამინოგლიკოზიდები და ქლორამფენიკოლი) მიმართ რეზისტენტობის განმსაზღვრელ ფაქტორებს (Walshe..2005). სხვა β- ლაქტამაზების გენები შეიძლება ასევე იყოს ინტეგრონებში, ამიტომ ინტეგრონების გადატანა ერთდროულად იწვევს მრავალფუნქციური რეზისტენტობის რთული ფენოტიპის გადაცემას. ამჟამად, არსებობს სულ მცირე, ცხრა სხვადასხვა ტიპის მეტალო-β-ლაქტამაზა: IMP, VIM, SPM, GIM, SIM, AIM, KHM, NDM, TMB. გავრცელების და კლინიკური მნიშვნელობის თვალსაზრისით ყველაზე მნიშვნელოვანია MBL ტიპის

IMP, VIM და NDM



სურათი 6. KPC -გენის გავრცელება სხვადასხვა ქვეყანაში

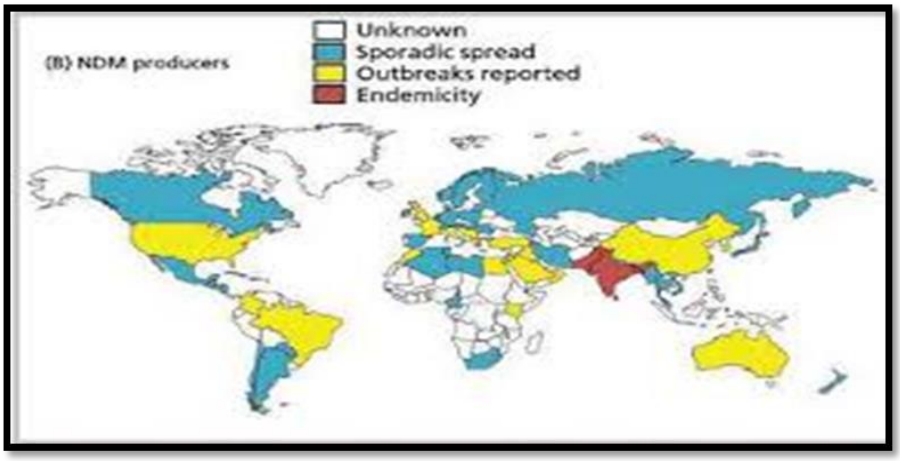
ენტერობაქტერიებისათვის დამახასიათებელი ფერმენტ OXA-48 და მისი მოდიფიცირება OXA-181-ს მაკოდირებელ გენებს აქვს პლაზმიდური ლოკალიზაცია და წარმოადგენენ ერთ-ერთ მთავარ საფრთხეს, რადგან განაპირობებენ კარბაპენების მიმართ მდგრადობას. კარბაპენემაზები ავლენენ აქტიურობას, რომელიც უფრო გამოხატულია იმიპენემთან, ვიდრე მეროპენემთან. ბენზილპენიცილინი და ოქსაცილინი ჰიდროლიზდებიან 40-50-ჯერ უფრო სწრაფად, ვიდრე კარბაპენემი. როგორც წესი, ისინი არ ნადგურდებიან კლავულანის მჟავით (Waltheret ... 2006). ეს გენები ფართოდაა გავრცელებული ევროპაში (სურ.7).



სურათი 7. OXA-48 გენის გავრცელება სხვადასხვა ქვეყანაში

მეტალო-β-ლაქტამაზა NDM

ახალი ტიპის მეტალო-β-ლაქტამაზამ მიიღო NDM სახელწოდება "New Delhi Metallo Beta Lactamase"-გან, რადგან ამ ფერმენტის გამომუშავების პირველი შტამი იზოლირებული იყო ინდური წარმოშობის შვედეთის მოქალაქისგან, რომელიც 2008 წელს შეიყვანეს ნიუ დელის საავადმყოფოში საშარდე სისტემის ინფექციით (Kumarasamy ...2010). პლაზმიდური გენით კოდირებული NDM კარბაპენემაზა ექვემდებარება აქტიურ ჰორიზონტალურ გადაცემას და ძალიან სწრაფად ვრცელდება გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების სხვადასხვა სახეობებს შორის. ის პირველად აღწერილი იყო *K. pneumoniae*-ში, მოგვიანებით კი დაფიქსირდა სხვა ენტერობაქტერიებში:*Escherichia coli*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, აგრეთვე არამაფერმენტებელ ბაქტერიებში *Acinetobacter baumanii* და *Pseudomonas Aeruginosa.* ამჟამად NDM რეგისტრირებულია არა მხოლოდ ინდოეთის ტერიტორიაზე, სადაც იგი თავდაპირველად იყო აღწერილი, არამედ მოიცვა მსოფლიოს მრავალი ქვეყანა:პაკისტანი, დიდი ბრიტანეთი, ჩრდილოეთ ირლანდია, აშშ, კანადა, ავსტრალია, ბელგია, იაპონია, შვედეთი, ვიეტნამი, სამხრეთ კორეა, ტაივანი, ჩინეთი, სლოვენია (სურ.8)(WHO…2010).



სურათი 8. NDM გავრცელება სხვადასხვა ქვეყანაში

კარბაპენემაზების რეზისტენტობის მექანიზმები

კარბაპენემაზები წარმოადგენენ ბეტა-ლაქტამაზებს, რომლებიც ახდენენ პენიცილინების, უმეტეს შემთხვევაში ცეფალოსპორინებისდა სხვადასხვა ხარისხით კარბაპენემებისა და მონობაქტამების (ეს უკანასკნელი არ ჰიდროლიზირდება მეტალო-β-ლაქტამაზების მიერ) ჰიდროლიზს.

კარბაპენემაზების დიდი უმრავლესობა წარმოადგენს შეძენილ ფერმენტებს, რომლებიც კოდირებულია პლაზმიდებზე განლაგებულ მობილურ ელემენტებზე არსებული გენებით. კარბაპენემაზები მნიშვნელოვნად განსხვავდება, როგორც ბიოქიმიური მახასიათებლებით, ასევე სპეციფიური β-ლაქტამაზების საწინააღმდეგო მოქმედების მიხედვით. β-ლაქტამაზას ექსპრესიის (გამოვლენის) დონე, მისი თავისებურებები და ხშირი ასოციაცია რეზისტენტობის სხვა მექანიზმებთან (სხვა β-ლაქტამაზები, ეფლუქსი/შეცვლილი შეღწევადობა), წარმოშობს რეზისტენტობის ფენოტიპების ფართო სპექტრს კარბაპენემაზას წარმომქმნელ შტამებში (Queenan ...2007; Falcone ...2009).

მკლევარების განსაკუთრებული ყურადღება მიმართულია SHV, TEM და CTX-მეტალო-ბეტა-ლაქტამაზების შესასწავლად. ყველა მათგანი აქტიურ ცენტრში შეიცავს სერინს.

თავი II. კვლევის მასალა და მეთოდები

ქვეთავი I. კვლევის მასალა

საკვლევ მასალად გამოყენებული იქნა აჭარის რეგიონის, კერძოდ ქ.ბათუმის სამი მრავალპროფილური ჰოსპიტლის რეანიმაციისა და ინტენსიური თერაპიის განყოფილებებში ნოზოკომიური ინფექციით ეჭვის ქვეშ მყოფი პაციენტებისაგან აღებული ნიმუშები.

ყველა პაციენტი იმყოფებოდა ხანგრძლივი მკურნალობის ქვეშ და ისინი გადიოდნენ ანტიბიოტიკოთერაპიის ხანგრძლივ კურსს. სტაციონარში მათი დაყოვნება აღემატებოდა 48 საათს.

მასალა აღებული იქნა სხვადასხვა ლოკალიზაციის მქონე პაციენტებიდან (სასუნთქი გზების, ინტრაბდომინური, კანის და რბილი ქსოვილების, საშარდე გზების და სისხლის ინფექციები და სხვა). საკვლევად აღებული იქნა ხუთი სხვადასხვა ტიპის ნიმუში: შარდი, სისხლი, ნახველი და ბიოლოგიური სითხე ცენტრალური ვენის და შარდის კათეტერებიდან, ნაცხი ჭრილობიდნ. კვლევისათვის შეგროვდა 540 ნიმუში იმ პაციენტებიდან, რომელთაც დაჰყვეს ჰოსპიტალში არანაკლებ 48 საათი.

ქვეთავი II. კვლევის მეთოდები

2.1 კვლევაში გამოყენებული მიკრობიოლოგიური მეთოდები

ბაქტერიების იზოლაცია და იდენტიფიკაცია ხდებოდა სტანდარტული ბაქტერიოლოგიური მეთოდით, კერძოდ: შესაბამის საკვებ ნიადაგებზე (5%-იანი ცხვრის სისხლიანი აგარი, მაკ-კონკის აგარი, ენდო აგარი, ქრომ-აგარი, სისხლის საკულტივაციო ნიადაგი) სინჯის დათესვა დაშტრიხვის მეთოდით. (ლომთათიძე...2018). (ცხრილი 3).

ცხრილი 3. ბაქტერიოლოგიურ კვლევაში გამოყენებული საკვები ნიადაგები

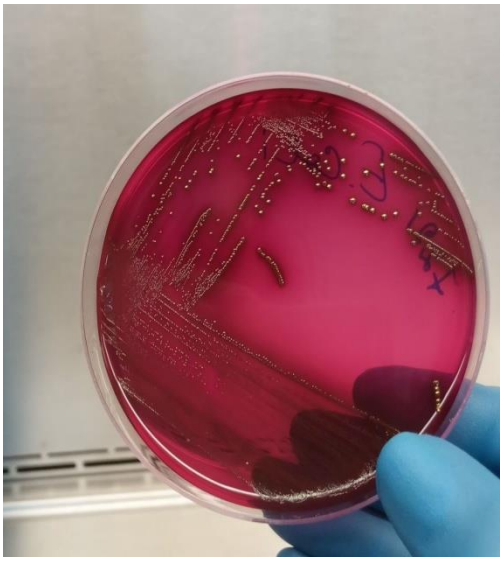
ნიმუში/ საკვები	5%-იანი ცხვრის სისხლიანი	მაკ-კონკი	ენდო	ქრომ აგარი	სისხლის საკულტივაციო ნიადაგი
<u>ბიოლოგიური სითხეები აღებული კათეტერიდან</u>	+	+	+	+	
შარდი	+	+	+	+	
სისხლი	+ (ამოთესვის შემთხვევაში)	+ (ამოთესვის შემთხვევაში)	+ (ამოთესვის შემთხვევაში)	+ (ამოთესვის შემთხვევაში)	+
ნახველი	+	+	+	+	
ნაცხი ჭრილობიდან	+	+	+	+	

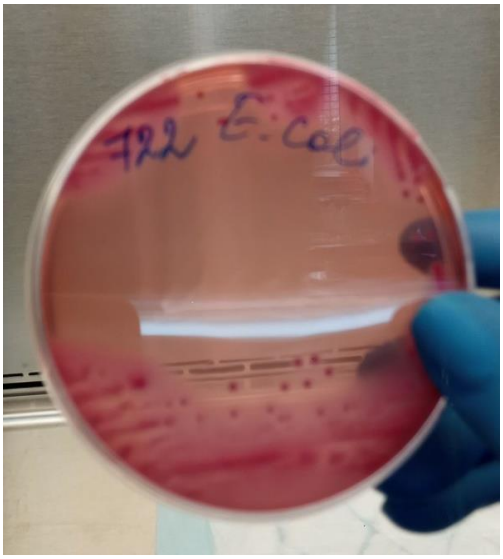
ინოკულირებული ფინჯნები თავსდებოდა თერმოსტატში 36^{0}C ტემპერატურის პირობებში. 24-საათიანი ინკუბაციის შემდეგ ხდებოდა ინოკულირებული ფინჯნების დათვალიერება. მიღებულ პირველად მასალაში შეირჩა *E. coli*-ის მორფოლოგიურად მსგავსი კოლონიები:

- ენდოს საკვები არე-მსხვილი, ლაქტოზო-დადებითი, მეტალური ბზინვარების მქონე კოლონიები (სურ.9);
- მაკ-კონკის საკვები არე- მსხვილი, ლაქტოზო-დადებითი/ლაქტოზო-უარყოფითი კოლონიები (სურ.10);
- 5%-იანი ცხვრის საკვები არე-მსხვილი, მონაცრისფრო, გამა ან ბეტა-ჰემოლიზური კოლონიები;

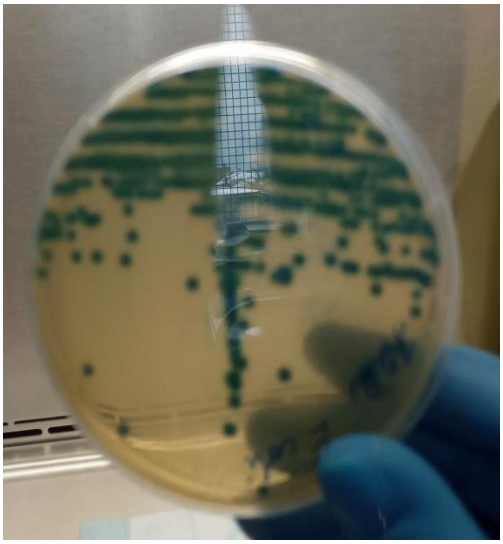
- ქრომ-აგარის საკვები არე- მსხვილი, დამახასიათებელი მოლურჯო ელფერის მქონე კოლონიები (სურ.11).

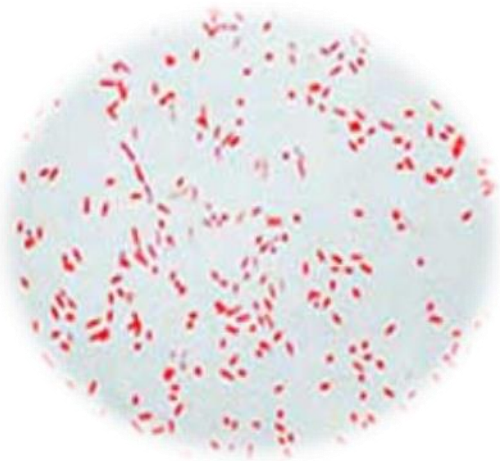
შემდგომ ეტაპზე ნიმუშები შეიღება გრამის წესით და ჩატარდა მიკროსკოპული დათვალიერება. მიკროსკოპიის შემდეგ ყველა გრამ-უარყოფითი ბაცილა (სურ.13) სუბკულტურის მისაღებად გაითესა დაშტრიხვის მეთოდით კაზეინ-სოიოს საკვებ არეზე, ხოლო 24-საათიანი ინკუბაციის შემდეგ ჩატარდა ინოკულირებული ფინჯნების დათვალიერება.





სურათი9.E.coli -ის ზრდა ენდოაგარზე *სურათი 10.E.coli* -ის ზრდა მაკკონკი აგარზე





სურათი.11E. coli -ის ზრდა *Chromocult Coliform* აგარზე *სურათი 13. E. coli*-ი გრამ „-'' ბაცილა

2.2 კვლევაში გამოყენებული ბიოქიმიური მეთოდები

2.2.1 პირველადი ბიოქიმიური ტესტები

კაზეინ-სოიოს საკვებარეზე მიღებული სუბკულტურებიდან დაიდგა პირველადი ბიოქიმიური ტესტები (ცხრილი4).

ცხრილიN 4. ბიოქიმიური ტესტები

ბიოქიმიური ტესტი	შედეგი
კატალაზა	დადებითი
ინდოლი	დადებითი
სამშაქრიანი TSI(ლაქტოზა, გლუკოზა,საქაროზა,H_2S	აირის წარმოქმნა, გლუკოზის ფერმეტაცია-დადებითი, H_2S - უარყოფითი
ურეაზა	უარყოფითი
სიმონსის ციტრატი	უარყოფითი
მოძრაობა	დადებითი
ოქსიდაზა	უარყოფითი

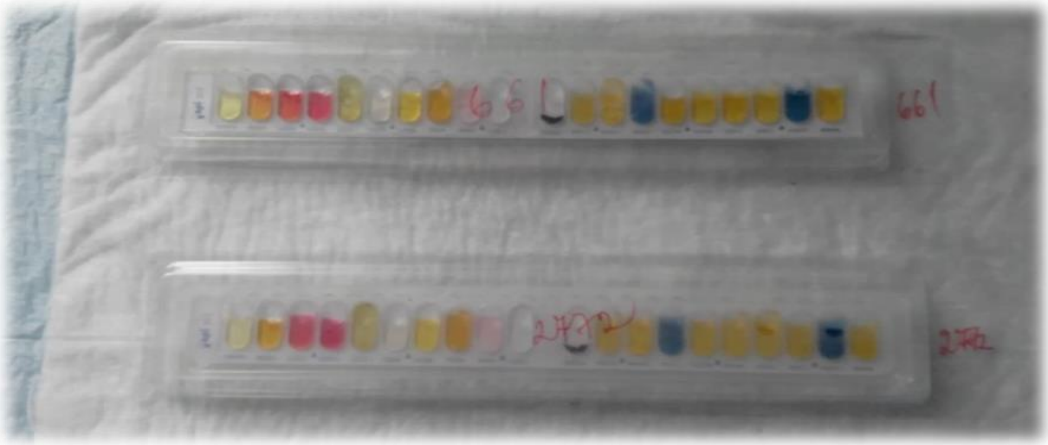
პირველადი ბიოქიმიური ტესტების საფუძველზე მიღებული შედეგების გათვალისწინებით, ყველა საეჭვო *E.coli* -ის კულტურის საბოლოო იდენტიფიკაცია მოხდა საიდენტიფიკაციო API 20 E სისტემის საშუალებით.

2.2.2 API 20 E მიკრობის იდენტიფიკაციის ბიოქიმიური ტესტი

API 20 E რეფერენს საიდენტიფიკაციო სისტემაა, რომელიც მინიმალიზაციით და ტრადიციული ბიოქიმიური მეთოდების სტანდარტიზაციით, გახდა მარტივი, სწრაფი და საიმედო. 23 ბიოქიმიური ტესტი, რომელიც კომპაქტურად არის

განლაგებული ერთ სტრიპზე, საშუალებას გვაძლევს მოკლე დროში მოვახდინოთ ნაწლავური ჯგუფისა და სხვა გრამ-უარყოფითი ჩხირების იდენტიფიკაცია. API 20 E სტრიპი შედგება 20 მიკროსინჯარისგან, რომელიც შეიცავს დეჰიდრირებულ სუბსტრატებს (ცხრილი 5). გარდა ამისა, პანელის გარეთ განისაზღვრება ციტოქრომოქსიდაზა, გლუკოზის დაჟანგვა - ფერმენტაცია და მიკროორგანიზმის მოძრაობა. ნაკრებში ასევე შედის რეაგენტები ინდოლის, ტრიპტოფანდეამინაზას, აცეტოინის, ნიტრიტების და ოქსიდაზას დასადგენად.

24 საათიანი სუბკულტურიდან მზადდება სუსპენზია მაკ-ფარლანდის 0,5 სიმღვრივის სტანდარტით მიხედვით. ყველა მიკრომილში შეგვქონდა 100 მკლ ბაქტერიული სუსპენზია. მიკრომილებში ურეაზას, ლიზინის დეკარბოქსილაზას, ორნიტინის დეკარბოქსილაზას, არგინინის დიჰიდროლაზას, წყალბადის სულფიდს ვამატებდით 50 მკლ. ვაზელინის ზეთს. სტრიპის ინკუბაცია ხდებოდა 36°C ტემპერატურაზე 18 - 24 საათის განმავლობაში, რის შემდეგაც ვამატებდით აცეტონის, ინდოლის, ტრიპტოფანდესამინაზის, ნიტრიტების რეაგენტებს. შედეგების აღრიცხვა ხდებოდა ვიზუალურად მიკროსინჯარების ფერის შეცვლით, რაც ისაზღვრებოდა პირდაპირ ან რეაქტივების დამატების შემდეგ. რეაქციებს ვღრიცხავდით საინტერპრეტაციო ცხრილის საშუალებით, ხოლო მიღებული შვიდნიშნა კოდის იდენტიფიკაციას ვახდენდით საიდენტიფიკაციო ცხრილით და ანალიტიკური კატალოგის საშუალებით /https://apiweb.biomerieux.com, რომელიც გვაძლევს *E. coli*-ის საბოლოო დადასტურებას(სურ 12).



სურათი 12.Api 20 E სისტემით იდენტიფიკაცია

ცხრილი5. Api 20E ბიოქიმიური ტესტები

ტესტისწაკითხვა (Api 20 E)				
ტესტები	სუბსტრატები	რექციატესტზე	უარყოფითიშედეგი	დადებითიშედეგი
ONPG	ONPG	ბეტა-გალაქტოზიდაზა	გამჭვირვალე	ყვითელი
ADH	არგინინი	არგინინისდიჰიდროლაზა	ყვითელი	წითელი/ნარინჯისფერი
LDC	ლიზინი	ლიზინისდეკარბოქსილაზა	ყვითელი	წითელი/ნარინჯისფერი
ODC	ორნითინი	ორნითინისდეკარბოქსილაზა	ყვითელი	წითელი/ნარინჯისფერი
CIT	ციტრატი	ციტრატისუტილიზაცია	მკრთალიმწვანე/ყვითელი	მოლურჯო-მომწვანო/ლურჯი
H2S	ნატრიუმისთიოსულფატი	H2S პროდუქცია	გამჭვირვალე/ნაცრისფერი	შავი
URE	შარდოვანა	შარდოვანასჰიდროლიზი	ყვითელი	წითელი/ნარინჯისფერი
TDA	ტრიპტოროფანი	დეამინაზა	ყვითელი	ყავისფერი/წითელი
IND	ტრიპტოფანი	ინდოლისპროდუქცია	ყვითელი	წითელი (2 წუთი)
VP	ნატრიუმისპიროვატი	აცეტიონისპროდუქცია	გამჭვირვალე	ვარდისფერი/წითელი (10 წუთი)
GEL	ჟელატინი	ჟელატინაზა	შავიდიფუზიაარარის	შავიდიფუზია (გაჯირჯვება)
GLU	გლუკოზა	ფერმენტაცია / დაჟანგვა	ლურჯი/მოლურჯო-მომწვანო	ყვითელი
MAN	მანიტოლი	ფერმენტაცია / დაჟანგვა	ლურჯი/მოლურჯო-მომწვანო	ყვითელი
INO	ინოზიტი	ფერმენტაცია / დაჟანგვა	ლურჯი/მოლურჯო-მომწვანო	ყვითელი
SOR	სორბიტოლი	ფერმენტაცია / დაჟანგვა	ლურჯი/მოლურჯო-მომწვანო	ყვითელი
RHA	რანოზა	ფერმენტაცია / დაჟანგვა	ლურჯი/მოლურჯო-მომწვანო	ყვითელი
SAC	საქაროზა	ფერმენტაცია / დაჟანგვა	ლურჯი/მოლურჯო-მომწვანო	ყვითელი
MEL	მელიბიოზა	ფერმენტაცია / დაჟანგვა	ლურჯი/მოლურჯო-მომწვანო	ყვითელი
AMY	ამიგლადინი	ფერმენტაცია / დაჟანგვა	ლურჯი/მოლურჯო-მომწვანო	ყვითელი
ARA	არაბინოზა	ფერმენტაცია / დაჟანგვა	ლურჯი/მოლურჯო-მომწვანო	ყვითელი
OX	ოქსიდაზა	ოქსიდაზა	გამჭვირვალე/ყვითელი	იისფერი

2.3 ფენოტიპური ანტიბიოტიკორეზისტენტობის დადგენა

2.3.1 კირბ-ბაუერის დისკ-დიფუზიის მეთოდი

ანტიბიოტიკომგრძნობელობა იქნა შესწავლილი ნახევრად რაოდენობრივი დისკო-დიფუზური მეთოდის გამოყენებით. ანტიბიოტიკების სპექტრი იყო შერჩეული ევროპული გაიდლაინების გათვალისწინებით. მგრძნობელობის მაჩვენებლები გამოითვალა „ანტიბიოტიკების მგრძნმობელობის ტესტის ევროპული კომიტეტის'' (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing -EUCAST) დებულებების მგრძნობელობის განსაზღვრის ხარისხის შესაბამისად. პარალელურად ამისა, ხარისხის კონტროლის სტანდარტით გამოყენებული იქნა საკონტროლო (ეტალონური) შტამები E. coli ATCC 25922, E. coli ATCC 35218.

გამზადებული სუსპენზია ტესტ-მიკროორგანიზმებისაგან კონცენტრაციით 1.5x108 CFU /მლ თანაბრად გავანაწილებით პეტრიის ფინჯანზე ჩხირ-ბამბის მეშვეობით. კერძოდ მიულერ-ჰინტონის აგარზე. ორ ინოკულირებულ, დიამეტრით 90 მმ ფინჯანის ზედაპირზე დავალაგეთ ანტიბიოტიკის დისკები 20 მმ-ის დაშორებით ერთმანეთისგან და ფინჯანის კიდედან. თითო ფინჯანზე თავსთება 6 ცალი დისკი. ინკუბაცია ხდებოდა 35C ტემპერატურაზე 18-20 საათის განმავლობაში. დისკიდან ანტიბიოტიკი ცენტრიდანული გზით დიფუზირდება აგარში. მისი მოქმედების ადგილზე მიკროორგანიზმები იღუპებიან ზრდის შეფერხების ზონის წარმოქმნით. საკვები არის სხვა ადგილებში მიკროორგანიზმები შეუფერხებლად იზრდება. ინკუბაციის შემდეგ ხდებოდა ზრდის ინჰიბირების ზონების დიამეტრის მმ-ში განსაზღვრა და შედარება ზრდის ინჰიბირების ზონების სტანდარტულ მნიშვნელობებთან, რომელთა საფუძველზეც მიკროორგანიზმები კლასიფიცირდება როგორც მგრძნობიარე-S, ზომიერად მგრძნობიარე-I ან რეზისტენტული-R.

2.3.2 ანტიბიოტიკის მინიმალური ინჰიბიტორული კონცენტრაციის განსაზღვრა. სისტემა E-TEST და სერიული განზავების მეთოდი

სისტემა E-TEST

E-ტესტი არის გრადუირებული ზოლები, რომელზეც მოთავსებულია ანტიბიოტიკის სხვადასხვა კონცენტრაციის გრადიენტი. E-ტესტის ანტიბიოტიკის (კოლისტინი) ზოლი კონცენტრაციით 0.016-256 მგ/მლ განვათავსეთ მკვრივი საკვები არის ზედაპირზე, ინოკულირებული საკვლევი შტამით. 18-24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ იქმნებოდა ზრდის დათრგუნვის ოვალური ზონა. ამ ზონის ზოლთან გადაკვეთის ადგილის მიხედვით ხდებოდა შედეგის განსაზღვრა (ინჰიბირების მინიმალურ ზონის მნიშვნელობა). მინიმალური ინჰიბიტორული კონცენტრაცია არის ანტიბიოტიკებისის რაოდენობა, რომელსაც შეუძლია მოახდინოს მიკროორგანიზმების ზრდის ინჰიბირება.

სერიული განზავების მეთოდი

განზავების მეთოდის ჩასატარებლად გამოყენებული იქნა მიკროორგანიზმების ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობელობის განსაზღვის რეაგენტების კომპლექტი MIKROLATEST "MIC Colistin". გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების მგრძნობელობა კოლისტინის მიმართ განისაზღვრება MIC (მინიმალური ინჰიბიტორული კონცენტრაციის) განსაზღვრის საფუძველზე.

ნაკრები შეიცავს 36 ზოლს.ტესტი ემყარება ანტიბიოტიკრბის რეჰიდრატაციას მიულერ-ჰინტონის ნახარშით და ბაქტერიული სუსპენზიით ფოსოებში.შედეგები ვიზუალურად იკითხება ინკუბაციის შემდეგ16-20 საატში.

ბაქტერიურლი სუსპენზიის მომზადება:

- ვიღებთ სისხლიანი აგარიდან 18-24 საათიან რამდენიმე კულტურის კოლონიას და ვამზადებთბაქტერიურლ სუსპენზიას ფიზიოლოგიური ხსნარის მეშვეობით 0,5 მაკ-ფარლანდის სტანდარტით;
- მიღებული 60 მკლ ბაქტერიურლ სუსპენზიას ვამატებთ სინჯარაში 13 მლ სასუსპენზიო ნიადაგში -MIC;
- ვახდენთ სუსპენზიის ჰომოგენიზაციას.

ინოკულაცია ფოსოებში.

ერთ ნიმუშზე გათვლილია 8 ფოსო. თითოეულ ფოსოში ვამატებთ მიღებულ ბაქტერიურლ სუსპენზიას 100 მკლ. პირველ ფოსოში ვახდენთ ზრდის კონტროლს. მეორედან მერვე ჩათვლით ფოსოები მოფენილია სხვადსხვა განზავების ანტიბიოტიკით (0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 32 მგ/მლ) რაოდენობით(ცხრილი 6). ფოსოების ინკუბაცია ხდება 35± 2° C ტემპერატურაზე 16-20 საათის განმავლობაში.

ცხრილი 6. კოლისტინის განზავება ფოსოებში მგ/მლ

A	COL 16	COL 16	COL 16	COL 16	COL 16	COL 16	COL 16	COL 16	COL 16	COL 16	COL 16	COL 16
B	COL 8	COL 8	COL 8	COL 8	COL 8	COL 8	COL 8	COL 8	COL 8	COL 8	COL 8	COL 8
C	COL 4	COL 4	COL 4	COL 4	COL 4	COL 4	COL 4	COL 4	COL 4	COL 4	COL 4	COL 4
D	COL 2	COL 2	COL 2	COL 2	COL 2	COL 2	COL 2	COL 2	COL 2	COL 2	COL 2	COL 2
E	COL 1	COL 1	COL 1	COL 1	COL 1	COL 1	COL 1	COL 1	COL 1	COL 1	COL 1	COL 1
F	COL 0,5	COL 0,5	COL 0,5	COL 0,5	COL 0,5	COL 0,5	COL 0,5	COL 0,5	COL 0,5	COL 0,5	COL 0,5	COL 0,5
G	COL 0,25	COL 0,25	COL 0,25	COL 0,25	COL 0,25	COL 0,25	COL 0,25	COL 0,25	COL 0,25	COL 0,25	COL 0,25	COL 0,25
H	Контроль роста	Контроль роста	Контроль роста	Контроль роста	Контроль роста	Контроль роста	Контроль роста	Контроль роста	Контроль роста	Контроль роста	Контроль роста	Контроль роста
	Colistin 1	Colistin 2	Colistin 3	Colistin 4	Colistin 5	Colistin 6	Colistin 7	Colistin 8	Colistin 9	Colistin 10	Colistin 11	Colistin 12

ინკუბაციის შემდეგ ხდება ფოსოების დათვალიერება ნაცრისფერ ფონზე, კარგ განათებაზე.შედეგების შეფასებამდე აუცილებლად ვაკვირდებით ზრდას საკონტროლო ფოსოში.თუ მასში ზრდა არ აღინიშნება, კვლევა არ ითვლება ვალიდურას. კვლევის შედეგად ვაფიქსირებთ პირველ ფოსოს იმ კონცენტრაციით, სადაც არ აღინიშნება ზრდა(ფიქსირდეა სრული გამჭვირვალობა). საკვლევი შტამი ითვლება მგრძნობიარე კოლისტინის მიმართ, როცა მინიმალური მაინჰიბირებელი კონცენტრაცია ≤ 2 (მგ/მლ)(ცხრილი 7).

ცხრილი 7 კოლისტინის კლინიკური MIC კონტროლის წერტილები(მგ/მლ)

	EUCAST		
	მგრძნობიარე	ზომიერად მგრძნობიარე	რეზისტენტული
Enterobacteriaceae	≤ 2		≥ 4
Pseudomonas spp. (*P. aeruginosa* CLSI)	≤ 2		≥ 4*
Acinetobacter spp.	≤ 2		≥ 4

2.3.3 ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST)

ESBL-ის სკრინინგისათვის გამოყენებული იქნა ორმაგი დისკის მეთოდი: ამოქსიცილინის/კლავულანატის (20/10 მკგ), ცეფიტაქსიმის (30კგ), ცეფტაზიდიმის (30მკგ), ცეფეპიმის(30მკგ) და აზტრეონამის (30მკგ) დისკების გამოყენებით. ESBL-ის პროდუცირება განისაზღვრებოდა მესამე/მეოთხე თაობის ცეფალოსპორინების და აზტრეონამის დისკით, კლავულონატის დისკის საპისრისპიროდ საკვლევი შტამის ზრდის დათრგუნვის გაფართოვების ზონის სიდიდით. ტესტირების დროს გამოიყენებოდა სტანდარტული დისკები რეკომენდირებული EUCAST მიერ. ინოკულუმის მომზადებისათვის გამოვიყენეთ 24 საათიანი სუბკულტურა. ინოკულუმს ვამზადებდით მაკფარლანდის მიხედვით-0,5 სიმღვრის სტანადარტით და სტერილურად ვაფენდით მიულერ-ჰინტონის საკვები არის ზედაპირზე. 5-15 წუთის დაყოვნების შემდეგ, ზედაპირზე ეწყობოდა ანტიბიოტიკების დისკები. დისკებს ვალაგებდით შემდეგი თანმიმდევრობით: ცენტრში კლავულონის მჟავას შემცველი დისკი, ჩვეულებრივ ამოქსიცილინი/კლავულანტის კომბინაციის სახით და გვერდებზე ცეფალოსპორინების დისკები. ცენტრში მოთავსებული ამოქსიცილინი/კლავულანტის დისკიდან ირგვლივ არსებული დისკების

ცენტრებს შორის მანძილი 20/30 მმ. თითოეული ანტიბიოტიკის ორი დისკის გამოყენება, რომელიც სხვადასხვა დისტანციაზე მდებარეობს, საშუალებას იძლეოდა გაგვეზარდა ESBL-ს გამოვლენის ეფექტურობა. პეტრის ფინჯნების ინკუბირება მოხდა თერმოსტატში 35C ტემპერატურაზე 18–20 საათის განმავლობაში. დათრგუნვის ზონის გაფართოვება ერთი ან რამოდენიმე მესამე თაობის ცეფალოსპორინის და კლავულონის მჟავის დისკს შორის მიუთითებს ESBL არსებობაზე.

2.4 კვლევის მოლეკულური მეთოდები

2.4.1 დნმ-ის ექსტრაქცია

დნმ-ის გამოყოფა ნიმუშიდან, ხდებოდა ნუკლეინის მჟავების ექსტრაქციის EURx წარმოების (GeneMATRIX Viral RNA/DNA Purification Kit) მზა ნაკრებით. ექსტაქციის ეტაპი მოიცავდა რამოდენიმე საფეხურს:

- ნიმუშების უჯრედების ლიზისი;
- ცილების, მეორადი მეტაბოლიტების და ლიპიდების მოცილება გამრეცხი ბუფერების საშუალებით;
- სუფთა ნუკლეინის მჟავების ნიმუშების მიღება ელუციის ეტაპზე.

  კულტურის განახლების მიზნით საკვლევი პათოგენის ინოკულაციასვახდენდით მიულერ-ჰილტონის აგარზე. დნმ-ის ექსტრაქცია წარმოებდა 24 საათიანი ინკუბაცის შემდეგ მიღებული ბაქტერიული კულტურიდან.

პროცედურა:

- 20 მკლ Proteinase K შეგვაქვს 1,5 მლ-იან ეპენდორფის სინჯარაში;
- სინჯარაში ვამატებთ 200 მკლ ნიმუშს;
- ემატება 220 მკლ Sol V ბუფერი (ბუფერი შეიცავს RNA Carrier-ს 5 მკლ RNA Carrier +215 მკლ Sol V ბუფერი);
- სინჯარას ეხურება თავი და ხდება შენჯღრევა ვორტექსით;
- ნიმუშის ინკუბაცია 60°C-ზე 15წთ;

- წვეთების ჩამოყრა დაბალ სიჩქარეზე (Short speed);
- ვამატებთ 250 მკლ 96%-100%-იანი ეთანოლი;
- ინკუბაცია 1 წთ. ოთახის ტემპერატურაზე;
- 690 მკლ ნარევი (ლიზატი) შეგვაქვს მემბრანიან სინჯარებში.სინჯარებს ვხურავთ და ვაცენტიფუგებთ 1 წუთი 8000 x g ბრუნზე. ყოველ ეტაპზე იცვლება საკოლექციო სინჯარები;
- ემატება 500 მკლ Wash V 1 ბუფერი და ცენტრიფუგირდება 1 წთ. 8000 x g ბრუნზე;
- ემატება 500 მკლ Wash RBW ბუფერი და ცენტრიფუგირდება 1 წთ. 8000 x g ბრუნზე;
- ისევ იცვლება საკოლექციო სინჯარა და ცენტრიფუგირდება ცარიელი 2 წუთის განმავლობაში მაქსიმალურ ბრუნზე (მშრალი);
- გადაგვაქვს ფილტრიანი სვეტის ახალი ეპინდორფის სინჯარაში და ვამატებთ 50-100 მკლრნმ-აზასაგან თავისუფალი წყალს;
- ინკუბაცია 2 წთ. ოთახის ტემპერატურაზე და დაცენტრიფუგება მაქსიმალურ ბრუნზე 2 წთ;
- მიღებული დნმ-ის შენახვა შეიძლება ერთი-ორი დღით მაცივარში 2°C- 8°C ტემპერატურის პირობებში ან ხანგრძლივად -20°C-ზე. ასეთ პირობში შენახული ნიმუშები ვარგისია შემდგომი მოლეკულური კვლევისთვის.

2.4.2 პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდი (PCR)

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (PCR), დღეისათვის მოლეკულურ კვლევასა და დიაგნოსტიკაში ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული და შეიძლება ითქვას შეუცვლელი მეთოდია. PCR მეთოდი პირველად 1983 წელს ქერი მულისის მიერ იქნა მოწოდებული და მიჩნეულია საუკუნის აღმოჩენად. ამჟამად მისი მრავალი ვარიაციაა შექმნილი. ზოგადად, მეთოდი გულისხმობს დნმ-ის განსაზღვრული უბნის მრავალი ასლის დამზადებას in vitro, გათბობისა და გაგრილების ტემპერატურული რეჟიმის განმეორებითი ციკლების მონაცვლეობით. PCR მეშვეობით შესაძლებელია მხოლოდ დნმ-ის მოკლე, არა უმეტეს 3000 ნუკლეოტიდური წყვილს (3 kbp) სიგრძის მქონე უბნების ამპფლიფიკაცია,

რეაქციის განუყოფელი ნაწილია თერმოსტაბილური დნმ პოლიმერაზა-Tag პოლიმერაზა, რომელიც გამოიყენება ყველა PCR-მეთოდის ყველა ვარიაციაში. ეს არის ფერმენტი, რომელიც გამოყოფილი იქნა თერმოფილური ბაქტერიების, Thermus Aquaticus-გან. ისევე, როგორც დნმ-ის რეპლიკაციისათვის ცოცხალ ორგანიზმში, PCR საჭიროებს ფერმენტს დნმ – პოლიმერაზას, რომელიც ქმნის ახალ დნმ–ის ჯაჭვებს უკვე არსებული ჯაჭვების მატრიცაზე. PCR-რეაქციის ჩატარებისთვის ამზადებენ სარეაქციო ნაზავს.

ჩვენს მიერ ჩატარებულ კვლევაში გამოყენებული იქნა 30 მკლ მოცულობის სარეაქციო ნარევი, რომელიც შეიცავდა შემდეგ რეაგენტებს:

- 1 მკმოლთითოეული dNTP;
- 2 მკმოლ MgCl2;
- 00,3 მკმოლ F პრაიმერს;
- 0,3 მკმოლ R პრაიმერს;
- 5% DMSO-დიმეთილსულფოქსიდს (Sigma);
- 1,3U TaqDNA პოლიმერაზასა;
- 15 ნგ დნმ-ის ერთჯერადი პჯრ ბუფერს,ო პტიმალური pH- ის შენარჩუნებლად.

ჩვეულებრივ, დნმ-ის სამიზნე უბნების (გენის) ამპფლიფიკაციისათვის იყენებენ პრაიმერებს, რომელთა თანმიმდევრობა წინასწარ არის განსაზღვრული. მულტიპლექსური პჯრ-ის დროს ერთი და იგივე სარეაქციო გარემოში მიმდინარეობს სხვადასხვა დნმ-ის მატრიცის კოამპლიფიკაციის პროცესი, სადაც გამოიყენება რამდენიმე წყვილი სპეციფიური პრაიმერი. ეს პროცესი გვაძლევს საშუალებას მოვახდინოთ ერთდროულად რამდენიმე პათოგენის დეტექცია ერთ კვლევაში.

PCR რეაქციის წარმართვისათვის დიდი მნიშვნელობა ენიჭება პრაიმერების დიზაინს და ფრაგმენტების გამოვლენას. ამჟამად ცნობილია სამი ძირითადი ტიპის გენის, კერძოდ TEM, SHV, CTX-M-1გენების ფრაგმენტების ამპფლიფიკონები. მეთოდი გვაძლევს საშუალებას მოვახერხოთ იმის იდენტიფიკაცია, თუ რომელი გენის ფერმენტი მიეკუთვნება განსაზღვრული ტიპის ბეტა-ლაქტამებს. პოლიმერაული ჯაჭვურ რეაქციას ატარებენ სპეციალურ აპარატში თერმოციკლერში.

გამოყენებული პრაიმერების და დნმ-ის სამიზნე უბნის სპეციფიკაზე დამოკიდებულია ტემპერატურული რეჟიმები.

დნმ-ის სამიზნე უბნის გამოყოფის ძირითადი საფუძვლები:

- პირველ ეტაპი მოიცავს დნმ-ის მოლეკულის დენატურაციის პროცესს, რომელსაც დენატურაცია ან ლღობა ეწოდება. სარეაქციო ნარევის გახურება 94-98°C ტემპერატურამდე იწვევს წყალბადური ბმებისა და სტეკინგ-ურთიერთქმედებების რღვევას დნმ-ის მატრიცულ ჯაჭვში. შედეგად წარმოებს ორმაგი დნმ-ის შაბლონის ჯაჭვების განცალკევება. თითოეული ჯაჭვი წარმოადგენს მატრიცას და შესაძლებელი ხდება პრაიმერების მიმაგრებაკომპლემენტარულ უბნებთან;
- პრაიმერების მიმაგრებისათვის საჭიროა ტემპერატურის დაწევა საშუალოდ 50-60°C-მდე. პრაიმერის მიმაგრების პროცესს სასურველი ფრაგმენტის კიდეების გასწვრივ ეწოდება პრაიმერების ანელინგი (aneling- გამოწვა).
- მას შემდეგ, რაც პრაიმერები დაუკავშირდება კომპლემენტარულ უბნებს ფრაგმენტის დასაწყისში და ბოლოში, ტემპერატურა იზრდება 72°C-მდე. ამით იქმნება ოპტიმალური პირობები Taq პოლიმერაზას მოქმედებისათვის. ფერმენტი იწყებს პრაიმერების დაგრძელებას ორივე მიმართულებით ანუ ადგილი აქვს ელონგაციის პროცესს.
- PCR რეაქციის დროს მატრიცად გამოიყენება არა მარტო საწყისი დნმ, არამედ წინა ეტაპებზე დასინთეზებული დნმ-ასლებიც. სინჯარაში პრაიმერებისა და Taq-პოლიმერაზას აქტივობა უზრუნველყოფს თითოეული ციკლის შემდეგ დნმ-ის ასლების გაორმაგებას ყოველი ციკლის დროს. შესაბამისად, ადგილი აქვს დნმ-ის მოლეკულების ექსპოტენციურ ზრდას. საბოლოოდ, სამიზნე უბნის ერთი ასლიდან მიიღება მილიარდობით ახალი ასლი. მიღებული ასლების ვიზუალიზაციის შესაძლებელია გელ-ელექტროფორეზის მეთოდით. სარწმუნო შედეგების მიღებისათვის, აუცილებებლია ზუსტი პრაიმერებისა და რეაქციის ჩატარების ოპტიმალური პირობების შერჩევა. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის წარმართვისათვის ჩვენს მიერ შერჩეულ იქნა სხვადასხვა პრაიმერისათვის მისაღები ტემპერატურული რეჟიმები (ცხრილი 8).

ცხრილი 8. დნმ ამპლიფიკაციის ოპტიმალური ტემპერატურული რეჟიმი სხვადასხვა პრაიმერების გამოყენებისას

გენები/PCR	*ინდივიდუალური ტემპერატურული რეჟიმი*					
	საწყ.დენატ.	დენატურაცია	გამოწვა	ელონგაცია	ციკლი	საბოლოო დენატურაცია
Multiplex TEM, SHV e OXA	94°C 7წთ	94°C 40წმ	57°C 40წმ	72°C 1წთ	30	72°C 7წთ
CTX-M-G1	94°C 10 წთ	94°C 40 წმ	60°C 40წმ	72°C 1წთ	30	72°C 7წთ
Multiplex Carba (NDM, VIM, IMP, KPC e OXA-48)	94°C 10წთ	94°C 30 წმ	52°C 40წმ	72°C 50 წთ	36	72°C 5წთ

2.4.3 ელექტროფორეზი აგაროზის გელში

გელ-ელქტროფორეზის მოლეკულური კვლევის ერთ-ერთი კარგად აპრობირებული მეთოდია, რომელიც გულისხმობს დნმ-ის (ან სხვა მოლეკულების, მაგ. რნმ-ის ან ცილების) ფრაგმენტების განცალკევებას ზომისა და მუხტის მიხედვით. ელექტროფორეზში დენს ატარებენ საკვლევი მოლეკულების შემცველ გელში, რომელიც იონურ ბუფერშია განთავსებული. ეს იწვევს მოლეკულების გადაადგილებას სხვადასხვა მიმართულებით ან სიჩქარით, მათი ზომისა დამუხტის მიხედვით და საბოლოოდ, მათ ერთმანეთისგან განცალკავებას. დნმ-ის ნიმუშების კვლევისათვის ჩვეულებრივ გამოიყენება აგაროზის გელი, ან პოლიაკრილამიდის გელი, თუ საკვლევი დნმ-ის ფრაგმენტების ზომა არ აღემატება რამდენიმე ათეულ ნუკლეოტიდურ წყვილს. გელში არსებული ფორები ასრულებს ერთგავარი ცხაურის როლს, რომელშიც მოლეკულები ადვილად მოძრაობენ. დნმ-ის ნიმუშები ფოსოებში (ჩაღრმავებებში) თავსდება გელის ერთ ბოლოზე. შაქარ-ფოსფატური ხერხემლის უარყოფითი მუხტის გამო დნმ-ის მოლეკულები გადაადგილდებიან ანოდისკენ

(დადებითი ელექტროდი). ამასთან გადაადგილების სიჩქარე დამოკიდებულია მოლეკულის სიგრძეზე. მოკლე ფრაგმენტები გელში უფრო სწრაფად მოძრაობენ, გრძელი - უფრო ნელა. ელექტროფორეზის დასრულების შემდეგ სხვადასხვა სიგრძის ფრაგმენტები გელში წარმოქნის ზოლებს ე.წ. ,,ბენდებს", რომელთა სიგრძის გასაზღვრა შესაძლებელია სპეციალური მარკერების (DNA ladder) საშუალებით (ხუხუნაიშვილი 2015).

ოპტიმალური შედეგის მისაღწევად კვლევაში ჩვენს მიერ აპრობირებული იქნა სხვადასხვა კონცენტრაციის გელი. საბოლოოდ შერჩეულ იქნა 1,5%-იანი აგაროზის გელი. ელექტოფორეზის ჩასატარებლად ვიყენებდით TBE (tris-borate) იონური ბუფერს. თითოეულ ფოსოზე დატანილი სინჯი შეიცავდა 2 მკლ გელის დასატვირთ ხსნარსდა 3 მკლ PCR- პროდუქტს. ელექტროფორეზს ვატარებდით ჰორიზონტალურ აპარატში 100-150V ძაბვის პირობებში. გელის შესაღებად ვიყენებდით ეთიდიუმბრომიდის 5მმოლ ხსნარს (Sigma). საღებავში 20 წუთიანი დაყოვნების შემდეგ გელი ირეცხებოდა დისტილირებული წყლით. შედეგების ანალიზს ვახდენდით ულტრაიისფერი UV-ტრანსილუმინაციის მეშვეობით. სურათის დოკუმენტირებისათვის ვიყენებდით Gel-Doc2000 (BIO-RAD) სისტემის ფოტოკამერას და Diversity Database (BIO-RAD) (სურ. 13) კომპიუტერულ პროგრამას.

სურ. 13. PCR შედეგების წასაკითხი BIO-RAD აპარატი

2.4.4 რევერს ჰიბრიდიზაცია

მოლეკულური კვლევის რევერს-ჰიბრიდიზაციის მეთოდი ეფუძნება დნმ-ის ჰიბრიდიზაციას ოლიგონუკლეინის ზონდებით. ჩვენს მიერ გამოყენებულ მეთოდიკაში ვიყებნებდით ზონდებს, რომლებიც 16S გენების ჰომოლოგიურია. იმის გამო, რომ მემბრანაზე პირველად ფიქსირდება ზონდი და არა ნიმუში, ამ მეთოდს უკუჰიბრიდიზაციასაც უწოდებენ. ჰიბრიდიზაციის წინ ტარდება პოლიმერაზულ ჯაჭვურ რეაქცია და ამპფლიფიკანტების მონიშვნა. ოლიგონუკლეოტიდული ჰიბრიდიზაცია შეიძლება იყოს უფრო სპეციფიკური, ვიდრე ორიგინალური მეთოდი. მეთოდის უპირატესობას წარმოადგენს ის, რომ შესაძლებელია გამოყენებული იქნეს ზონდები არაკულტივირებული მიკროორგანიზმებისათვის, თუ დადგენილია თანმიმდევრობა 16 S გენთან.

კვლევაში გამოვიყენეთ (AID Autoimmun Diagnostika GmbH, გერმანია) ნაკრები დაფუძნებული მულტიპლექსურ PCR-ზე, რომელსაც მოსდევს რევერს-ჰიბრიდიზაცია სექვენს-სპეციფიკური ოლიგონუკლეოტიდური ზონდების გამოყენებით. PCR-რეაქცია განხორციელდა PN-Mix გამოყენებით. შედეგად მიიღება ბიოტინილირებული ამპფლიკონები, რომლებზეც ვატარებდით ჰიბრიდიზაციის ტესტს.

ეს ტესტი იძლევა საშუალებას ზუსტად და სწრაფად აღმოვაჩინოთ CTXდა KPC β-ლაქტამაზას გენები, ასევე წერტილოვანი მუტაციები TEM და SHV β-ლაქტამაზაში. ბიოტინილირებული ამპფლიკონები ხასიათდებიან ჰიბრიდიზაციის რეაქციით SSOP-თან β-ლაქტამაზებისა და კონტროლისათვის, რომლებიც იმობილიზირებულია ნიტროცელულოზურ მემბრანებზე განსხვავებული ფორმატით (წარმოდგენილი ხაზის სახით).

ჰიბრიდიზაციის დროს ამპფლიკონები უკავშირდებიან გენურ ზონდებს, რომლებიც მიმაგრებულია ზოლებზე. მაღალ სპეციფიური გამორეცხვის პროცედურა გვაძლევს გარანტიას, რომ ჰიბრიდები გადარჩება იმ შემთხვევაში, თუკი ზონდის თანმიმდევრობა 100%-ით კომპლემენტურია დნმ-ის ამპფლიფიცირებულ თანმიმდევრობებთან. სტრეპტოვიდინთან (ცილა) დაკავშირებული ტუტე-ფოსფატაზა უერთდება ბიოტინილირებულ ჰიბრიდებს და ეს კომპლექსი შემდეგ

ვლინდება ფერადი რეაქციის დროს სუბსტრატ NBT / BCIP დამატებისას. ზოლის შაბლონისანალისთვის ხდება შეფასების ფურცლის საშუალებით N-Mix-თან დნმ-ის გამოყენებით.

PCR რეაქციისთვის ვამზადებდით ნარევს: PN-Mix, ბუფერი, MgCl2, დნმ-პოლიმერაზა და საჭიროების შემთხვევაში წყალი. მიღებული ნარევი 23 მკლ ოდენობით შეგვქონდა მიკროსინჯარებში და ვამატებდით 2მკლ დნმ-ს, რომელიც ექსტრაგირებული იყო წინასწარ, საკვლევი შტამებიდან. ჩვენს შემთხვევაში, ასევე იქნა ჩატარებული დაბინძურების კონტროლი ყოველი ტესტისთვის. კონტროლისათვის დნმ-ის ნაცვლად გამოვიყენეთ დისტილირებული წყალი. დადებითი კონტროლისთვის დავამატეთ 2მკლ საკონტროლო დნმ რეაგენტის ნაკრები მომწოდებლის კომპლექტით. სინჯარები ნარევით მოვათავსეთ დნმ-ის ასლის მისაღებად ამპფლიფიკაციისთვის თერმოციკლერში. სარეაქციო პირობები წარმოდგენილია მე-9 ცხრილში.

ცხრილი 9. პჯრ რეაქციის სარეაქციო პირობები

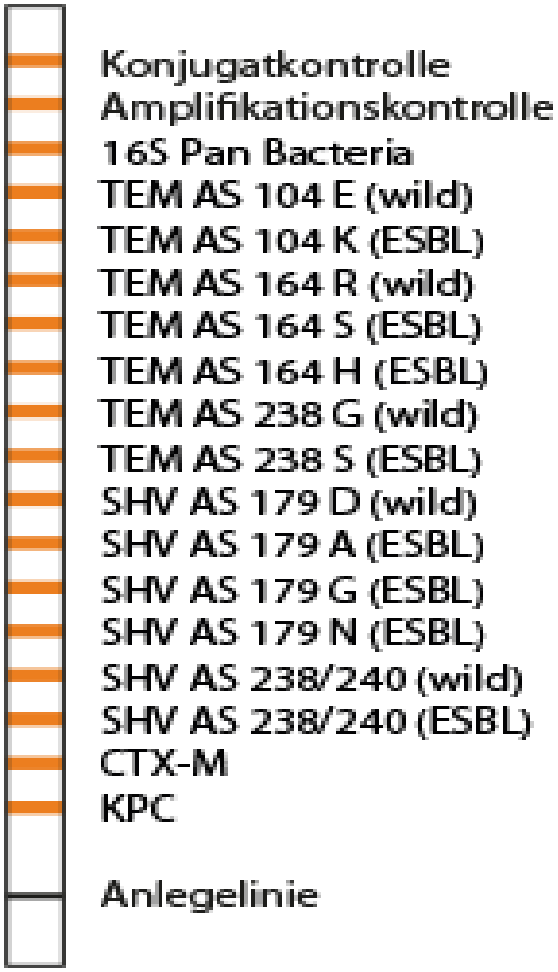
დრო	**ტემპერატურული რეჟიმი**	**ციკლი**
5 წთ	95°C	1 ციკლი
30 წმ **2 წთ**	95°C 60°C	10 ციკლი
10 წმ **30 წმ** **30 წმ**	95°C 55°C 72°C	22 ციკლი
8 წთ □	72°C 8°C	1 ციკლი

რევერს ჰიბრიდიზაციის მეთოდით განხორციელებული ტესტის პროცედურა მოიცავს შემდეგ ეტაპებს:

- თითოეულ მინიშნულ ფოსოში შეგვაქვს 20 მკლ დენატურაციის რეაგენტი;

- იმავე ფოსოში ვამატებთ 20 მკლ მიღებულPCRპროდუქტს (ამპფლიკონი);
- მიღებული ნარევის ინკუბაცია 5 წთ ოთახისტემპერატურაზე;
- ინკუბაციის შემდეგ თითოეულ ფოსოში ემატება 1 მლ ჰიბრიდიზაციის ბუფერი;
- სტრიპებების დანომვრა (თითოეულ სტრიპის მარკირება უნდა იყოს თვალსაჩინო, ნომერი უნდა დაეწეროს ზემოდან);
- სტრიპები ნუმერაციის მიხედვით გადაიტანება ფოსოებში ისე, რომ მთლიანად არ დაიფაროს ხსნარში. ინკუბაცია ხდება 30 წუთით წყლის სანჯღრეველაზე 47^0 C ტემპერატურაზე;
- ჰიბრიდიზაციის ბუფერის გადაღვრის შემდეგ სწრაფად (1 წუთის განმავლობაში) წარმოებს სტრიპების გადარეცხვა ორჯერ 47°C ტემპერატურამდე გამთბარი გამრეცხი ხსნარით (Stringent wash solution);
- შემდეგ თითოეულ სტრიპს ემატება 1 მლ გამთბარი გამრეცხი ხსნარი და გადაიტანება სანჯღრეველაზე 15 წუთით, ინკუბაცია წარმოებს 47°C ტემპერატურის პირობებში;
- გამრეცხი ხსნარი უნდა გადაიღვაროს და სტრიპებს დაემატოს 1 მლ გასავლები ხსნარი (Rinse solution);
- სტრიპები ვაცილებთ (გადავღვრით) სავლებ ხსნარს და ვამატებთკონცენტრირებული კონიუგატი 1 მლ-ის ოდენობით;
- ინკუბაცია ჰორიზონტალურ სანჯღრეველაზე 30 წთ;
- თოითოეული სტრიპები კვლავ ირეცხება 1მლ ხსნარის დამატებით 1წთ-ის დაყოვნებით;
- გარეცხილ სტრიპებს ემატება 1 მლ სუბსტრატი 10 წთ გაჩერდეს ოთახის ტემპერატურაზე;
- სუბსტრატის გადასხმის შემდეგ სტრიპები ორჯერადად ირეცხება დისტილირებული წყლით;
- გარეცხილი სტრიპების გაშრობა ხდება აბსორბენტის ქაღალდზე და ინახება ბნელ ადგილას. მიღებული შედეგის აღრიცხვა ხდება შეფასებისფურცელზე.

შეფასების ფურცელზე აღინიშნება რეაქციის ზონები (სურ. 14), რომელიც გამოიყენება შედეგების შესაფასებლად. რეაქციული ზონა იდენტიფიცირდება, თუკი აღნიშნული პოზიცია, რომელიც მოცემულია შაბლონზე, ზუსტად შეესაბამება ამ რეაქციულ ზონას ზოლზე. ყოველ ზოლს გააჩნია შეერთების ზონა და გაძლიერების კონტროლი. ორივე რეაქციული ზონა სრულიად უნდა იყოს განვითარებული ცდის დროს.



სურათი 14. რევერსჰიბრიდიზაციის შედეგების *შეფასების ფურცელი*

თავი III. შედეგები და მათი განსჯა

აჭარის რეგიონის კლინიკებში *E.coli*-ით გამოწვეული ნოზოკომიური ინფექციების ეტიოლოგიის დადგენისა და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პროფილის შესწავლის მიზნით კვლევა ჩატარდა ორ ეტაპად:

- *E.coli*-ის გამოყოფა ბიოლოგიური მასალებიდან და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ფენოტიპური გამოვლენა;
- რეზისტენტობის მაკოდირებელი გენების დეტექცია.

ექსპერიმენტი ჩატარდა ძირითადად ქალაქ ბათუმის სამი მულტიპროფილური კლინიკის რეანიმაციისა და ინტენსიურ თერაპიის განყოფილებების ნოზოკომიურ ინფექციაზე სავარაუდო დიაგნოზით პაციენტებისაგან აღებულ ნიმუშებში. კლინიკაში მყოფი პაციენტები ნოზოკომიური პათოგენებით ინფიცირების ყველაზე მაღალ რისკ-ჯგუფებს წარმოადგენენ სამედიცინო პერსონალთან მუდმივი კონტაქტისა და დიდი რაოდენობით ინვაზიური პროცედურების გამო (Teresa ....2019). დამატებით ფაქტორად შეიძლება ჩაითვალოს ანტიბიოტიკოთერაპია, რომელიც თითქმის რეგულარულად გამოიყენება ამ პაციენტების მიმართ, რაც ხელს უწყობს ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტული შტამების სელექციას. გამომდინარე იქედან, რომ *E.coli* ასოცირდება ადამიანის მრავალ განსხვავებულ ინფექციასთან, პათოგენის დეტექცია შესაძლებელია სხვადასხვა ბიოლოგიურ მასალაში. *E.coli-ის* შტამების იზოლაცია მოვახდინეთ შემდეგი ნიმუშებიდან: შარდი, სისხლი, ნახველი, ჭრილობიდან ნაცხი, ბიოლოგიური სითხე ცენტრალური ვენის და შარდის კათეტერებიდან.

3.1 *E.coli*-ის ანტიბიოტიკორეზისტენტობის შესწავლის შედეგები

კვლევის პირველ ეტაპზე განვახორციელეთ ანტიბიოტიკომგრძნობელობის ფენოტიპური გამოვლენა. ექსპერიმენტი მოიცავდა ბაქტერიების იზოლაციას და იდენტიფიკაციას სტანდარტული ბაქტერიოლოგიური მეთოდების გამოყენებით: საკვებ არეებზე სინჯის დათესვა, შემდეგ სუფთა კულტურის გამოყოფა და იდენტიფიკაცია. შესწავლილი იქნა *E.coli*-ის ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობელობა

და სკრინინგი ფართო სპექტრის β-ლაქტამაზა პროდუცენტების (ESBL) დეტექციის მიზნით.

ჩვენს მიერ ჩატარებულ კვლევაში შესწავლილი იქნა 540 ნიმუში. აღნიშნული ნიმუშებიდან 236 არ შეესაბამებოდა ჩვენი კვლევის მიერ გათვალისწინებულ ემპირიულ (მასალის ვარგისიანობის კრიტერიუმი) კრიტერიუმებს :

- ნიმუში კონტამინირებულია;
- კვლევის შედეგად ეტიოლოგიურად მნიშვნელოვანი მიკროფლრა არ ამოითესა;
- ამოითესა Candida-ს გვარის სოკო და გრამ-დადებითი ბაცილები.

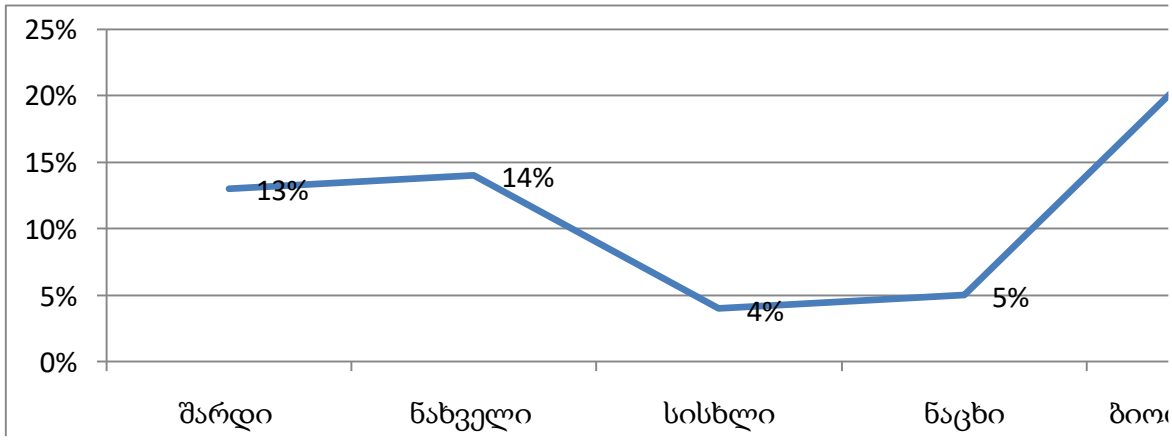
82 ნიმუშიდან ამოითესა გრამ-დადებითი ბაქტერია. დარჩენილი 222 ნიმუშიდან: ნახველზე მოდიოდა - 89, სისხლზე -52, შარდზე - 47, ვენის და შარდის ბუშტის კათეტერების წვერიდან აღებულ ბიოლოგიურ სითხეზე- 22, ჭრილობის ნაცხზე -12.

ზემოთ ჩამოთვლილი 222 ნიმუშიდან *E.coli* ამოითესა მხოლოდ 48-ში, რომელთაგანაც 26 აღმოჩდა მულტირეზისტენტული, რაც შეადგენდა გამოყოფილი *E.coli*-ის 54 %-ს. 174 ნიმუშიდან იდენტიფიცირებული იყო შემდეგი გრამ-ნეგატიური ბაცილები*: Klebsiella spp, Acinetobacter baumani*, *Pseudomonas aeruginosa, Citrobacter spp, Enterobacter cloacae* , *Serratia marcescens* . აჭარის ყველა ჰოსპიტალში, რომელიც იყო ჩართული ჩვენს კვლევაში, პრევალირებდა *Klebsiella spp.* გამოვლენა. ჩატარებული კვლევების შედეგად და მიღებული მონაცემების დამუშავებისას გამოვლინდა, რომ გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების პოპულაციაში *E.coli* შეადგენს 21%-ს, ხოლო რეზისტენტული *E.coli*-ის წილი 12%-ს. *E. coli–ის* ამოთესვა ნიმუშებიდან შემდეგნაირად გადანაწილდა: შარდი-6 (12,8%), ნახველი –12 (13,5%), სისხლი –2 (3,9%), ნაცხი ჭრილობიდან –12 (8,3%), ბიოლოგიური სითხეები აღებული კათეტერიდან–5 (22,7%) (ცხრილი 10).

ცხრილი 10. E.coli – ის ამოთესვა ნიმუშებიდან

ბიოლოგიური მასალის დაასახელება	სულ გამოკვლეული ნიმუშების რაოდენობა	ამოთესილი E.coli რაოდენობა	% რაოდენობა ამოთესილი *E.Coli*-ის
შარდი	47	6	12,8
ნახველი	89	12	13,5
სისხლი	52	2	3,9
ნაცხი ჭრილობიდან	12	1	8,3
ბიოლოგიური სითხეები აღებული კათეტერიდან	22	5	22,7

რაოდენობრივად *E.coli-ის* იდენტიფიკაცია ჭარბობს ნახველის ნიმუშებიდან, მაგრამ პროცენტული შეფარდების დროს *E.coli* პრივალირებს ბიოლოგიურ სითხეებში (დიაგრამა 1). ეს ნიმუშები აღებულია კათეტერებიდან, რაც შეიძლება იყოს დაკავშირებული *E.coli -ის* ბიოგარსების ფორმირების უნართან (Elio...2018).



დიაგრამა 1. % შეფარდება ამოთესილი კულტურების სხვადასხვა ბიოლოგიური მასალებთან.

ნიმუშების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მიკრობიოლოგიური ანალიზი

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ფენოტიპური კვლევის ჩატარების შედეგად, დისკ-დიფუზიის მეთოდის და ESBL დამადასტურებელი ტესტების გამოყენებით დადგინდა, რომ აჭარაში საკმაოდ საყურადღებო მგდომარეობაა E.coli-ის რეზისტენტული შტამების დეტექციის თავლსაზრისით. ანტიბიოტიკომგრძნობელობის შესწავლა მოხდა დისკ-დიფუზური მეთოდის გამოყენებით, სადაც სხვადასხვა ანტიბიოტიკის ჯგუფები და თაობები იქნა გამოყენებული. მიკროორგანიზმის მგრძნობელობის მაჩვენებლების გამოთვლა მოხდა „ანტიბიოტიკების მგრძნობელობის ტესტის ევროპული“ -EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) სტანდარტით. კვლევაში გამოყენებულია EUCAST სტანდარტი-ვერსია 9.0 (ძალაშია 01.01.2019 წლიდან). გამოყენებული იქნა ანტიმიკრობული მგრძნობელობის დისკები (კატრიჯებში 50 ცალი) Bio-Rad ფირმის. ცხრილში №11 მოყვანილია ანტბიოტიკები, რომელიც იყო გამოყენებული *E.coli*-ს ანტიბიოტიკომგრძნობილობის განსაზღვრისათვის.

ცხრილი 11. ანტიბიოტიკების ჩამონათვალი და აბრევიატურა

N	აბრევიატურა	ანტიბიოტიკის დასახელება	კონცენტრაციია (მკგ)	ინჯიბიციის ზონები (მმ)
1	AMP	Ampicillin	10	14-14
2	AMC	Amoxicillin/clavulanic acid	20/10	20-19
3	CXM	Cefuroxime	30	19-19
4	CRO	Ceftriaxone	30	25-22
5	CAZ	Ceftazidime	10	22-19
6	CTX	Cefotaxime	5	20-17
7	FEP	Cefepime	30	27-24
8	CIP	Ciprofloxacin	5	26-24
9	LVX	Levofloxacin	5	23-19
10	GEN	Gentamicin	10	17-14
11	AMK	Amikacin	30	18-15
12	ATM	Aztreonam	30	26-21

13	IPM	Imipenem	10	22-16
14	MER	Meropenem	10	22-16
15	SXT	Trimethoprim/sulfamethoxazole	23.75 / 1.25	14-11

ცეფალოსპორინები:II-თაობა Cefuroxime, III-თაობა Ceftriaxone,Ceftazidime,Cefotaxime, IV-თაობა Cefepime.

პენიცილინები და მათი კომბინაციები ბეტა ლაქტომურ ინჰიბიტორებთან: Ampicillin, Amoxicillin/clavulanic acid, Piperacillin/tazobactam.

კარბოპენემები: Meropenem,Imipenem.

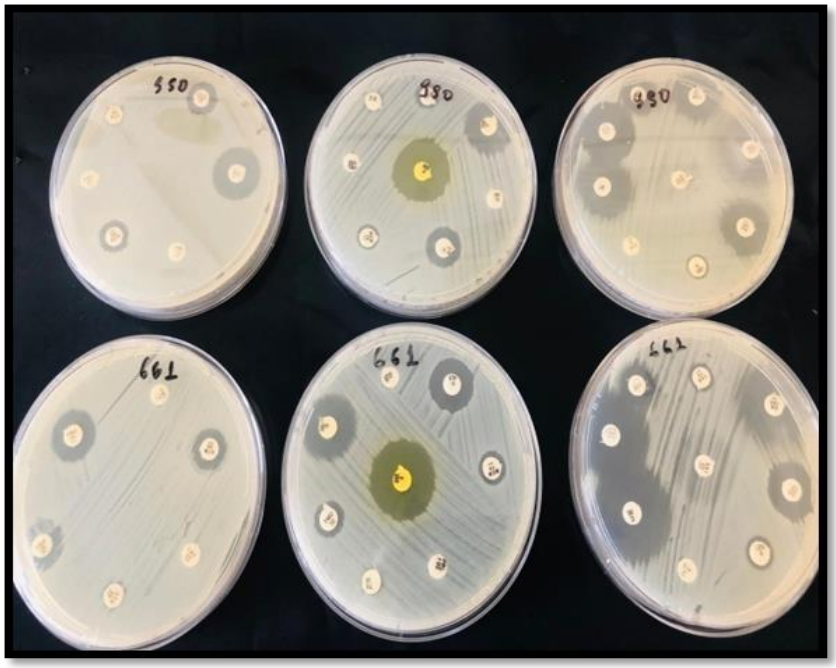
ფტორქინოლები: II-თაობა Ciprofloxacin, III-თაობა Levofloxacin.

ამინოგლიკოზიდები: II-თაობა Gentamicin,III-თაობა Amikacin.

მონობაქტამი:Aztreonam.

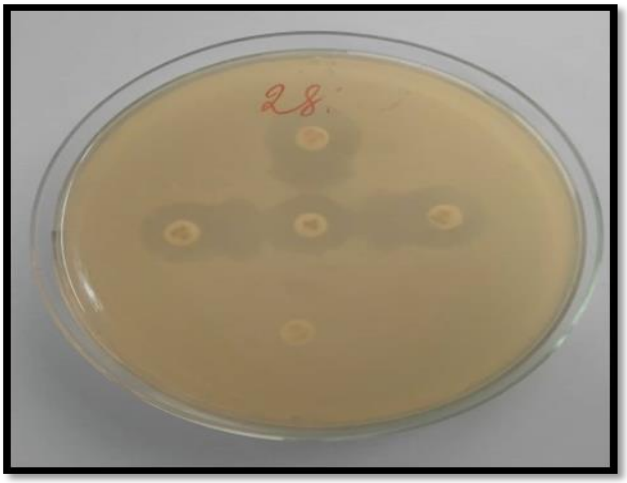
სულფონილამიდი:Trimethoprim/sulfamethoxazole.

ანტიბიოტიკომგრძნობელობის ტესტმა ნათლად აჩვენა *E.coli* -ის მაღალი რეზისტენტობა გამოყენებული ანტიბიოტიკების მიმართ (სურ. *15).*

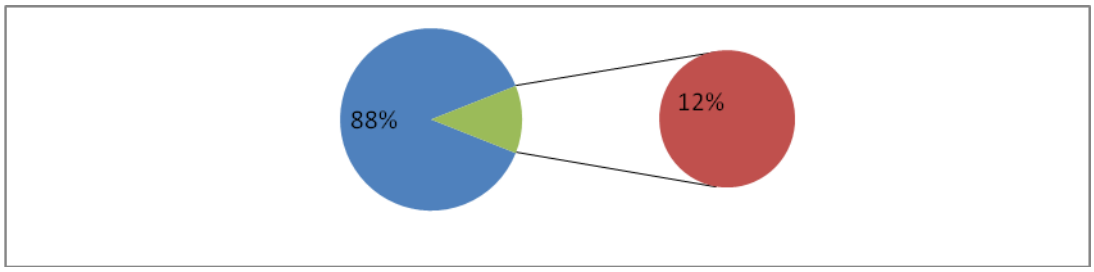


სურათი 15. E. Coli -ს ანტიბიოტიკომოგრძნობელობა

როგორც ცნობილია, *ESBL* პროდუცირება პირდაპირ კავშირშია მიკრორგანიზმის მულტირეზისტენტობასთან. ამიტომ იქნა ჩატარებული ფენოტიპური სკრინინგი ბეტა-ლაქტამაზას პროდუცირებაზე. ჩვენი კვლევის ფარგლებში ყველა შტამი, რომელმაც გამოავლინა რეზისტენტობა β-ლაქტამური ანტიბიოტიკების მიმართ, ტესტირებული იქნა β-ლაქტამაზას (ESBL) პროდუცირებაზე ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტით. როგორც სურათიდან (სურ.16) ჩანს, დათრგუნვის ზონის გაფართოვება მესამე თაობის ცეფალოსპორინების და კლავულონის მჟავას დისკებს შორის მიუთითებს ESBL არსებობაზე საკვლევ შტამებში. ჩვენს მიერ ჩატარებული სკრინინგის შედეგად 26 რეზისტენტული შტამიდან, რომლებმაც გამოავლინეს რეზისტენტობა ცეფალოსპორინების მიმართ, 23 შტამი აღმოჩდა ESBL მაპროდუცირებელი, რაც შეადგენს 88%-ს საერთო რაოდენობიდან (დიაგრამა 2). რადგან უმრავლესობა იზოლანტებისა იყო ESBL მაპროდუცირებელი და მხოლოდ 3 იზოლანტი იყო გამონაკლისი და ეს იმდენად მცირე რაოდენობაა, რომ ანტიბიოტიკომგრძნობელობის პროფილის შედარება ESBL მაპროდუცირებელსა და ESBL არამაპროდუცირებელს შორის ვალიდური არ იქნებოდა,რის გამოც არ გაგვიხორციელებია. უნდა აღინიშნოს რომ ESBL არამაპროდუცირებელი იზოლანტების ანტიბიოტიკორეზისტენტობაც საკმაოდ მაღალი აღმოჩნდა.



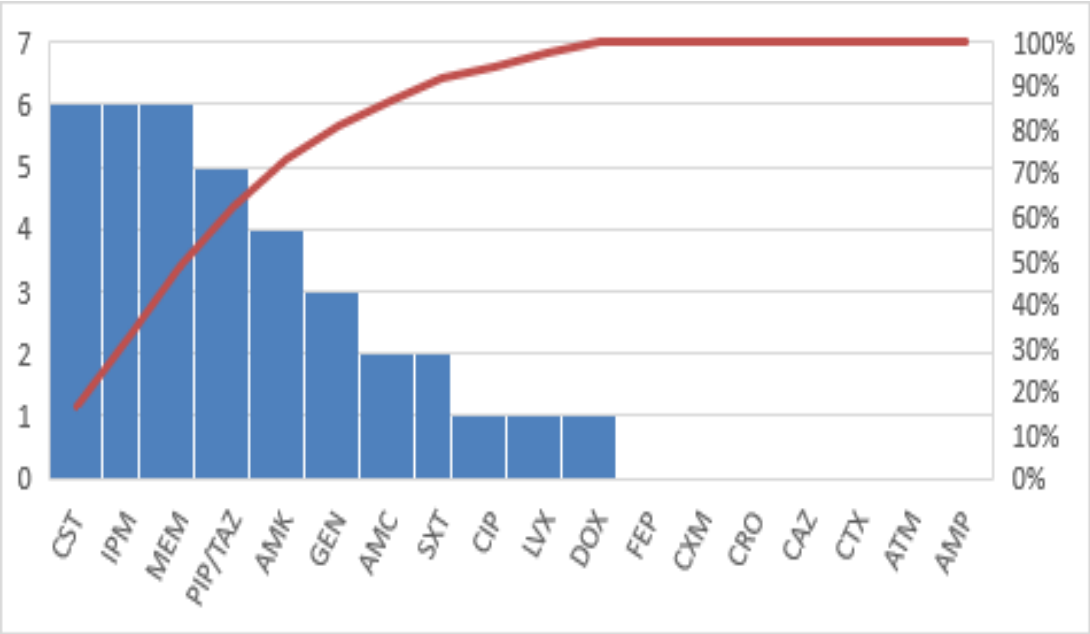
სურათი 16. ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი



დიაგრამა 2. ESBL მაპროდუცირებელი E.coli-ის დადებითი და უარყოფითი პროფილი

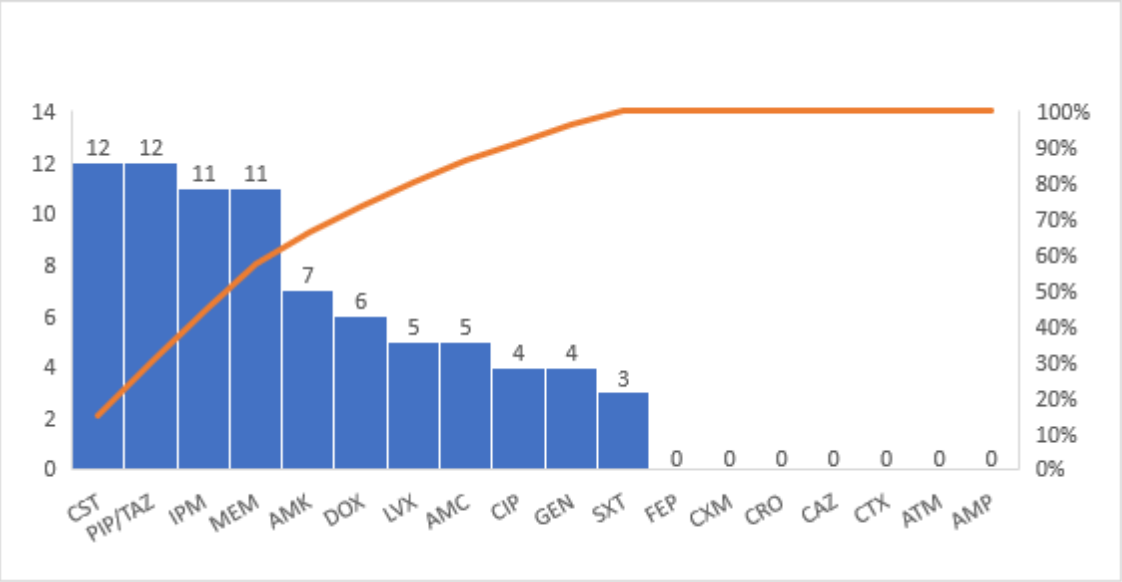
ვინაიდან 2017 წლამდე EUCAST სტანდარტით კოლისტინის მიმართ მგრძნობელობა ისაზღვრებოდა E- ტესტით და ჩვენი კვლევა უკვე დაწყებული იყო, შესაბამისად შტამების ნაწილი გაიტესტა EUCAST შესაბამისი სტანდარტით. კოლისტინის მგრძნობელობის განსაზღვრა ჩვენი კვლევის ფარგლებში გაგრძელდა ორი სხვადასხვა MIC-მეთოდით, რაც მოგვცემდა მიღებული შედეგების კორელაციის საშუალებას. E- ტესტის პარალელურად, Colistin-ზე მგრძნობელობა განხორციელდა სერიული განზავების მეთოდით, MIKROLATEST რეაგენტების კომპლექტის გამოყენებით. ორივე ტესტით მიღებული შედეგები იდენტური იყო კოლისტინის მიმართ. კოლისტინის მინიმალური მაინჰიბირებელი დოზის კლინიკური საკონტროლო წერტილები ≤ 2 მგ/მლ შეადგენდა. ყველა გამოკვლეული შტამი მგრძნობიარე აღმოჩნდა კოლისტინის მიმართ.

თითოეული იზოლანტის დეტალურად განხილვისას აღმოჩნდა, რომ შარდის იზოლანტების 100% რეზისტენტულია პენიცილინების, ცეფალოსპორინების და მონობაქტანმების მიმართ. 83% რეზისტენტული იყო CIP-ციპროფლოქსაცინის, LVX-ლევოფლოქსაცინის; 67% რეზისტენტული იყო AMC-ამოქსაცილინ/კლავულონის მჟავის და SXT- ტრიმეტოპრინ/სულფამეტოქსაზოლის მიმართ. *E.coli* იზოლანტების ყველაზე მაღალი მგრძნობელობა (100%) დაფიქსირდა CST-კოლისტინის, IPM-იმიპენემის და MEM-მეროპენემის მიმართ, ხოლო PIP/TZP-პიპერაცილინ/ტაზობაქტამის (83%) და 67% AMK-ამიკაცინის მიმართ შედარებით ნაკლები (დიაგრამა 3).



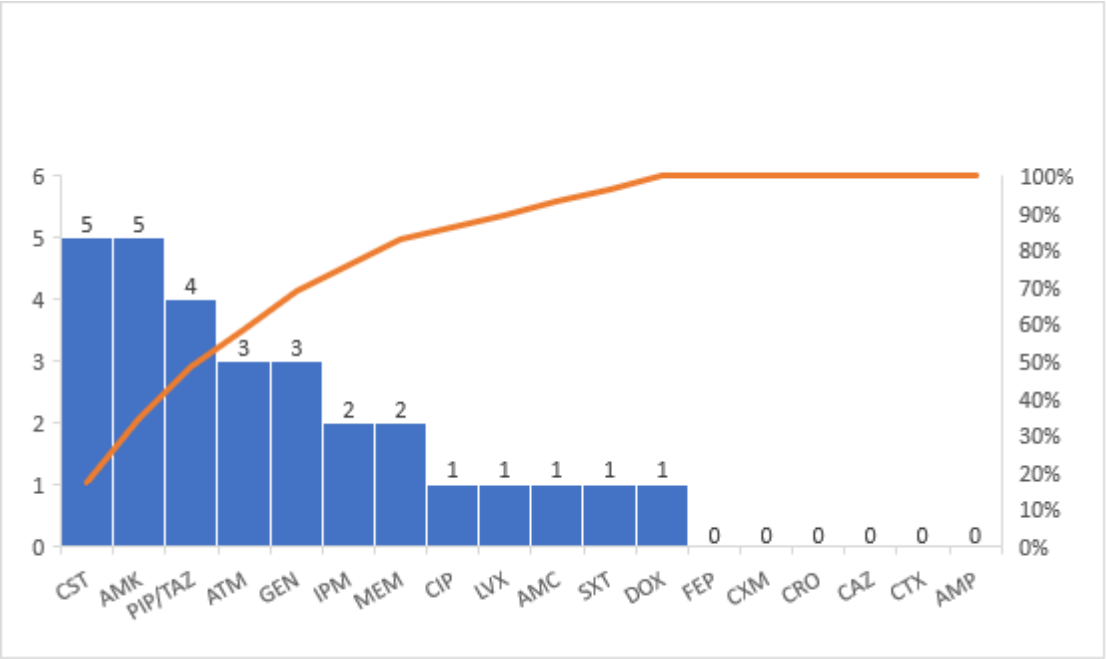
დიაგრამა 3. შარდის ნიმუშებიდან გამოყოფილი E.coli-ს ანტიბიოტიკომგრძნობელობა

ნახველიდან გამოყოფილი ნაწლავის ჩხირის იზოლანტები აღმოჩდა მაღალრეზისტენტული 7 ანტიბიოტიკის მიმართ. კერძოდ, გამოვლინდა 100% რეზისტენტობა შემდეგი ჯგუფების: პენიცილინების, ცეფალოსპორინების და მონობაქტანმების მიმართ. 30%-ზე ნაკლები მგრძნობელობა დაფიქსირდა: მეორე თაობის ფტორქინოლების და ამინოგლიკოზიდების მიმართ. ასეთივე მგრძნობელობა დაფიქსირდა სულფონილამიდის მიმართ. 50% ნაკლები მგრძნობელობა დაფიქსირად მესამე თაობის ფტორქინოლების და ბეტა-ლაქტამაზა ინჰიბიტორების, კერძოდ AMC მიმართ. ხოლო მესამე ტაობის ამინოგლიკოზიდები შეინარჩუნეს მგრძნობელობა 50%-ში. რაც შეეხება, CST, PIP/TZP და კარბაპენემების მიმართ პირიქით დაფიქსირდა 100% და 90% მგრძნობელობა(დიაგრამა 4).



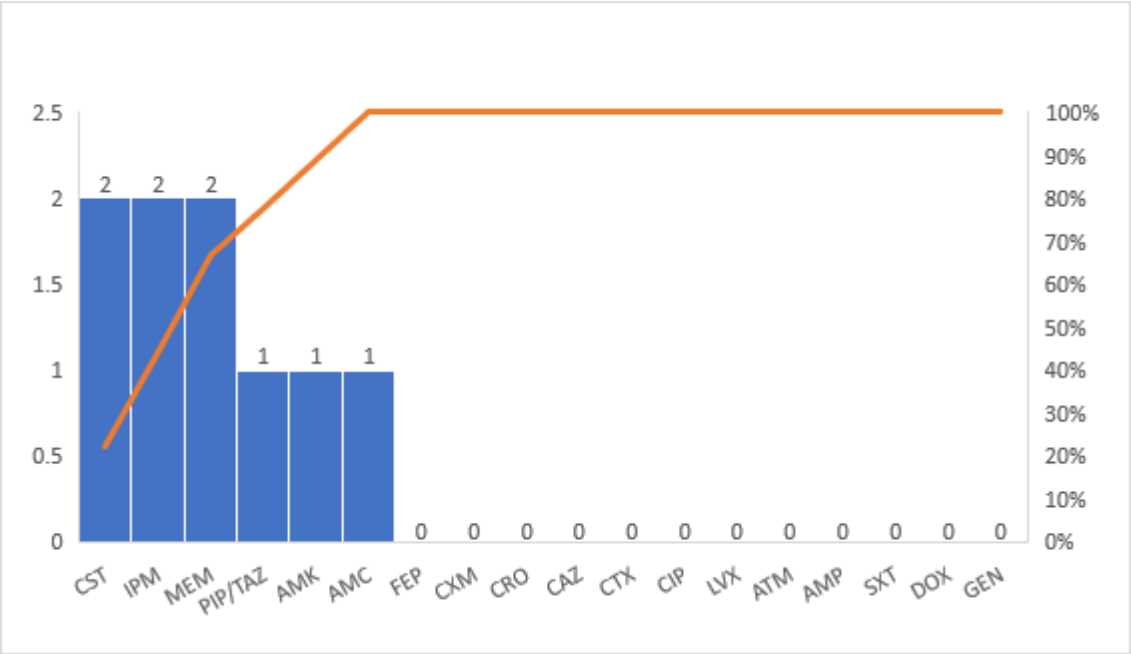
დიაგრამა 4. ნახველის ნიმუშებიდან გამოყოფილი E.coli-ს ანტიბიოტიკომგრძნობელობა

ბიოლოგიურ სითხეებში, აღებული ვენის და შარდის ბუშტის კათეტერებიდან იზოლანტების კვლევისას აღმოჩნა, რომ *E.coli* რეზისტენტულია 6 ანტიბიოტიკის მიმართ. კერძოდ, გამოვლინდა 100% რეზისტენტობა შემდეგი ანტიბიოტიკების მიმართ: პენიცილინები, და ცეფალოსპორინები. 80% რეზისტენტობა დაფიქსირდა CIP, LVX, AMC და SXT. სამი შტამი რეზისტენტული აღმოჩნდა კარბოპენემების მიმართ, რამაც შეამცირა მგრძნობელობა ამ ჯგუფის მიმართ 40%-დე. მონობაქტამის მიმართ დაფიქსირდა 60% მგრძნობელობა. 100% მგრძნობელობა *E.coli-ს* მხოლოდ 2 ანტიბიოტიკის - CST და AMK მიმართ ჰქონდა შენარჩუნებული, ხოლო 80%-იანი ერთის, კერძოდ PIP/TZP მიმართ (დიაგრამა 5).



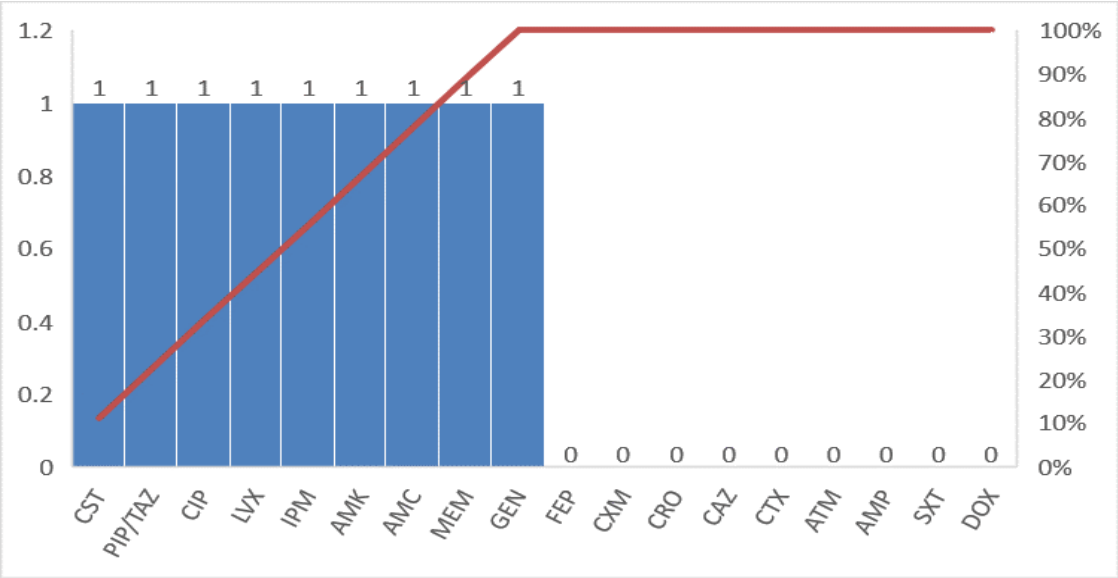
დიაგრამა 5. ცენტრალური ვენის და შარდის ბუშტის კათეტერებიდან აღებული ბიოლოგიური სითხიდან გამოყოფილი E.coli-ს ანტიბიოტიკომგრძნობელობა

რაც შეეხება სისხლიდან იდენტიფიცირებულ იზოლანტებს, ორმა გამოავლინა რეზისტენტობა პენიცილინების, ცეფალოსპორინების, ფტორქინოლების, ამინოგლიკოზიდების, მონობაქტამების და სულფონილამიდების მიმართ. ორმა იზლონატმა აჩვენა მგრძნობელობა კარბოპენემების და კოლისტინის მიმართ. ერთმა სისხლის იზოლანტმა შეინარჩუნა მგრძნობელობა: პეპარაცილინ/ტაზობაქტამის, ამიკაცინის და ამოქსაცილინ/კლავულონის მიმართ (დიაგრამა 6).



დიაგრამა 6. სისხლის ნიმუშებიდან გამოყოფილი E.coli-ს ანტიბიოტიკომგრძნობელობა

ჭრილობის იდენტიფიცირებულმა ერთმა იზოლატმა გამოავლინა მულტირეზისტენტობა. კერძოდ, აღმოჩნდა რეზისტენტული შემდეგი ანტიბიოტიკების მიმართ: პენიცილინები, ცეფალოსპორინები, მონობაქტამების და სულფონილამიდები. ხოლო ფტორქინოლები, ამინოგლიკოზიდები, კარბოპენემები, კოლისტინი და ინჰობიტორები, დაფიქსირდა მგრძნობელობა (დიაგრამა 7).



დიაგრამა 7. ჭრილობის ნიმუშებიდან გამოყოფილი E.coli-ს ანტიბიოტიკომგრძნობელობა

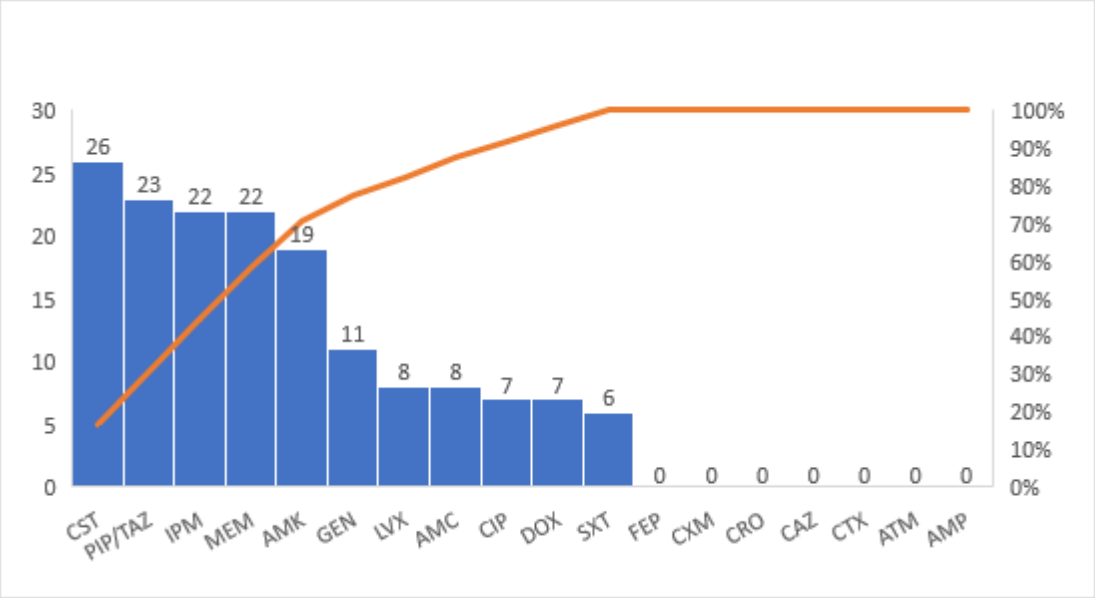
ამრიგად, აჭარის სამედიცინო დაწესებულებების რეანიმაციულ განყოფილებებში იზოლირებული *E.coli*–ის ანტიბიოტიკორეზისტენტობა საკმაოდ მაღალი იყო. თუ განვიხილავთ ყველა სახის ნიმუშს ერთად, ყველა იზოლანტმა გამოავლინა 100% რეზისტენტობა ცეფალოსპორინების და პენიცილინების მიმართ. ასეთი მაღალი რეზისტენტობა ცეფალოსპორინების მიმართს ხშირი არ არის, მაგრამ აღწერილია ზოგიერთი მკვლევარის მიერ, მაგალითად: CTX -ცეფოტაქსიმის მიმართ 71,2%, CAZ-ცეფტაზიდიმის 54,0%, FEP-ცეფეპიმის 54,0% დააფიქსირეს კორშუნკოვა და მკვლევართა ჯგუფმა (Kutsevalova ...2020). ასევე უნდა აღინიშნოს, რომ ზემოთჩამოთვლილი ანტიბიოტიკების უდიდესი უმრავლესობა ფართო სპექტრის ბეტა ლაქტამური ანტიბიოტიკებია და მათში რეზისტენტობის ჩამოყალიბების მიზეზი არის *E.coli*-ს მიერ ESBL გაფართოებული სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზის გამომუშავების უნარი. როგორც ცნობილია, ბეტა ლაქტამაზას მასინთეზებელი გენი განლაგებულია პლაზმიდაში და ადვილად ვრცელდება. ახალი კლასის ბეტა-ლაქტამური ანტიბიოტიკი მონობაქტამების წარმომადგენელი ATM-აზტრეონამი არაეფექტური აღმოჩნდა. ამ ანტიბიოტიკმა გამოავლინა 11.5 % მგრძნობელობა. კარბოპენემების შემთხვევაში კი პირიქით, IPM-იმიპენემ და MEM-მეროპენემის მიმართ იზოლანტების 85%-მა შეინარჩუნა მგრძნობელობა.

აღნიშნული ანტიბიოტიკების *E.coli*-ის მიმართ თითქმის ანალოგიური ეფექტურობა იქნა აღმოჩენილი სხვა ავტორების მიერ (იმიპენემი - 97%) (მეროპენემი - 98%) (Kutsevalova ...2020).

ESBL-გაფართოებული სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზის მასინთეზებელი *E.coli* გამოირჩევა სხვადასხვა ჯგუფის ანტიბიოტიკის მიმართ შესაბამისი რეზისტენტობით. მაგალითად, გენტამიცინის მიმართ შეადგენს 80%-ს, ციპროფლოქსაცინის მიმართ 40–60 %-ს (Hoban...2011).

ჩვენი კვლევის შედეგად CIP-ციპროფლოქსაცინის მიმართ დაფიქსირდა 70-80%–მდე რეზისტენტობა, ასეთივე მაჩვენებელი მივიღეთ LVX-ლევოფლოქსაცინის, AMC-ამოქსაცილინ/კლავულონის და SXT-ტრიმეტოპრიმ/სულფამეტოქსაზოლის მიმართ. ციპროფლოქსაცინის მიმართ 74,6% რეზისტენტობა აღწერილი აქვთ კიბერტს და თანაავტორებსაც (Kibret & Abera... 2011), რაც ახლოს დგას ჩვენს შედეგებთან. ამინოგლიკოზიდებიდან AMK-ამიკაცინი შედარებით ეფექტური აღმოჩნდა და იზოლანტების 65% მგრძნობელი იყო მის მიმართ, ხოლო გენტამიცინის შემთხვევაში მხოლოდ 35%. ამინოგლიკოზიდებისადმი მსგავსი რეზისტენტობა აღწერა ავტორმა (Смольянинова ..2020), სადაც E. coli- ის პოლირეზისტენტული შტამების რეზისტენტობა იყო 37%, ხოლო E. coli-მრავალრეზისტენტულის კი 53,3%.

ჩვენი კვლევის საფუძველზე შეიძლება ითქვას, რომ მხოლოდ ოთხი ანტიბიოტიკი შეიძლება გამოყენებულ იქნას მაქსიმალურად ეფექტურად *E.coli-ის* საწინააღმდეგოდ, როგორიცაა CST-კოლისტინი (100% მგრძნობელობთ), PIP/TZP-პიპერაცილინ/ტაზობაქტამი (88%), IPM და MEM-მეროპენემის (85%) (დიაგრამა 8).



დიაგრამა 8. ნიმუშებიდან გამოყოფილი E.coli-ს ანტიბიოტიკომგრძნობელობა

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ასეთი მაღალი მაჩვენებელი გამოწვეულია მთელი რიგი მიზეზებით, კერძოდ: ხდება პაციენტების მიერ ანტიბიოტიკების თვითნებურად და უკონტროლოდ გამოყენება. სამწუხაროდ, ხშირად ამის გაკონტროლება შეუძლებელია, რადგან ატიბიოტიკების შეძენა სააფთიაქო ქსელში ყოველგვარი რეცეპტის გარეშე ხდება, მიუხედავად იმისა, რომ კანონში ჯანმრთელობის დაცვის შესახებ 2015 წელს შევიდა ცვლილება რეცეპტის აუცილებლობის შესახებ, მაგრამ სამწუხაროდ, ვერ მოხდა კანონის ეფექტურად აღსრულება.

როგორც მოგეხსენებათ, ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობის დადგენას 48-72 საათი სჭირდება. ამიტომ, ხშირ შემათვევაში ეტიოტროპული მკურნალობა იწყება მანამდე, სანამ განისაღვრება ანტიბიოტორეზისტენტობის სურათი, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს ანტიბიოტიკების არასწორი არჩევანი.

კიდევ ერთ დიდ პრობლემას წარმოადგენს ანტიბიოტიკების გამოყენება მეცხოველეობაში, მეფრინველეობაში და მეთევზაობაში, რომლებიც შემდგომ კვებითი პროდუქციის ჯაჭვით ადამიანის ორგანიზმში აღწევს.

ყოველივე ზემოაღნიშნულმა შეიძლება გამოიწვიოს რეზისტენტული შტამების სწრაფი გამრავლება და გავრცელება მოსახლეობაში არა მხოლოდ ჩვენს რეგიონში,

არამედ მისი საზღვრების მიღმა, რადგან აჭარა არის საკურორტო ზონა, რომელსაც სტუმრობს დიდი რაოდენობით ტურისტი სხვადასხვა ქვეყნიდან.

3.2 *E.coli*-ის ESBL მაპროდუცირებელი შტამების მოლეკულური კვლევის შედეგები

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ზუსტი მიზეზების დადგენა გენეტიკური დეტემინანტების იდენტიფიკაციის გარეშე შეუძლებელია. ბაქტერიის გენომში მომხდარი მუტაციების გამოვლენისა და რეზისტენტობაზე პასუხისმგებელი გენების ზუსტი დეტექციის საშუალებას მხოლოდ მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევები იძლევა, რომელიც ფენოტიპურ კვლევებთან ერთად სარწმუნო სურათის დადგენის საშუალებას წარმოადგენს. გამომდინარე აქედან, კვლევის შემდეგ ეტაპზე 23 ESBL მამროდუცირებელი შტამიდან შერჩეულ 15 იზოლანტზე განვახორციელეთ ჩვენს მიერ ჩატარებული მიკრობიოლოგიური და ბიოქიმიური მეთოდებით გამოვლენილი რეზისტენტული შტამების: № 254, № 832, № 528, № 287, № 990, №722, №189, № 989, №440, №720, №861, №812, №28, №591 და №436 მოლეკულური ანალიზი.

შერჩევის კრიტერიუმი დაფუძვნებული იყო ამ იზოლანტების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პროფილის გამოვლენაზე:

- ოთხმა იზოლანტმა (№254-ნახველიდან, №722, № 436 და №832 -ბიოლოგიური ექსუდატი შარდის და სისხლის კათეტერებიდან) გამოავლინა რეზისტენტობა კარბოპენემების მიმართ;
- სამ იზოლანტში (№861, №591-სისხლიდან და №990-ჭრილობიდან) დაფიქსირდა მრავლობითი რეზისტენტობა;
- რვა იზოლანტი (№ 287, №812, № 989-შარდიდან, №189, №28, № 528, №440-ნახველიდან, №720-ბიოლოგიური ექსუდატი შარდის და სისხლის კათეტერებიდან), რეზისტენტული აღმოჩნდა არა მარტო პენიცილინების და ცეფალოსპორინების, არამედ ინჰიბიტორების მიმართაც. რეზისტენტობის მაკოდირებელი გენების დეტექციის და იდენტიფიკაციის მიზნით ნიმუშები გაანალიზდა კლინიკურ მიკრობიოლოგიაში აპრობირებული მეთოდებით: PCR (RAPID-PCR და

მულტიპლექსური PCR) და რევერს ჰიბრიდიზაცია. დადგენილია, რომ *E.coli* -ს პათოგენური შტამების ESBL რეზისტენტობის ძირითად მიზეზად მოიაზრება TEM და SHV ტიპის გენებში წარმოქმნილი წერტილოვანი მუტაციები. თუმცა უკანასკნელ პერიოდში მკვეთრად მატულობს CTX-M ოჯახის გენებით განპირობებული რეზისტენტობის შემთხვევები (Yusha'u....2015; Hassuna....2020). დადგენილი გვქონდა რა რეზისტენტობის სპექტრი ESBL წარმომქნელი შტამებისათვის, მოლეკულურ-გენეტიკური ანალიზით განვახორციელეთ CTX-M-1, IMP, VIM, OXA-48, NDM, KPS, TEM და SHV გენების დეტექცია და იდენტიფიკაცია. მულტიპლექსური PCR მეთოდით ჩატარებულმა ანალიზმა საშუალება მოგვცა ერთდროულად მიგვეღო ჩვენთვის საინტერესო გენების ამპფლიკონები. აღნიშნული გენების მიმართ გამოყენებული იქნა სპეციფიკური პრაიმერების R (revers) F (forvard) წყვილები(ცხრილი 12).

ცხრილი 12.E.coli -ს მოლეკულური იდენტიფიკაციისთვის გამოყენებული პრაიმერები

გენი	**სექვენსი (5'- 3')**
***bla*CTX-M**	5´- AAAAATCACTGCGCCAGTTC-3´
	5 ´- AGCTTATTCATCGCCACGTT-3 ´
***bla*IMP**	5' -GGT TTA AYA AAA CAA CCA CC- 3'
	5´- GGA ATA GAG TGG CTT AAY TC-3´
bla VIM	*5´-GATGGTGTTTGGTCGCATA- 3´*
	5´-CGAATGCGCAGCACCAG- 3´
***bla*OXA-48**	5' -GCGTGGTTAAGGATGAACAC- 3'
	5' -CATCAAGTTCAACCCAACCG- 3'
***bla*NDM**	5´-GGTTTGGCGATCTGGTTTTG-3´
	5´-CGGAATGGCTCATCACGATC-3´
***bla*KPC**	5' -CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG- 3'
	5' -CTTGTCATCCTTGTTAGGCG- 3'
***bla* TEM F**	AAACGCTGGTGAAAGTA
***bla* TEMR**	TAATCAGTGAGGCACCTATCTC
***bla* SHV F**	TTATCTCCCTGTTAGCCACC
***bla*SHVR**	TGCTTTGTTATTCGGGCCAA

გენების დეტექციისთვის ჩატარდა გელ-ელექტროფორეზი და რევერსული ჰიბრიდიზაცია. ამპფლიკონების ვიზუალიზაციის ალტერნატიული მიდგომების გამოყენებამ არა მარტო რეზისტენტობის მაკოდირებელი გენების, არამედ ამ გენებში წარმოქმნილი წერტილოვანი მუტაციების გამოვლენის საშუალება მოგვცა.

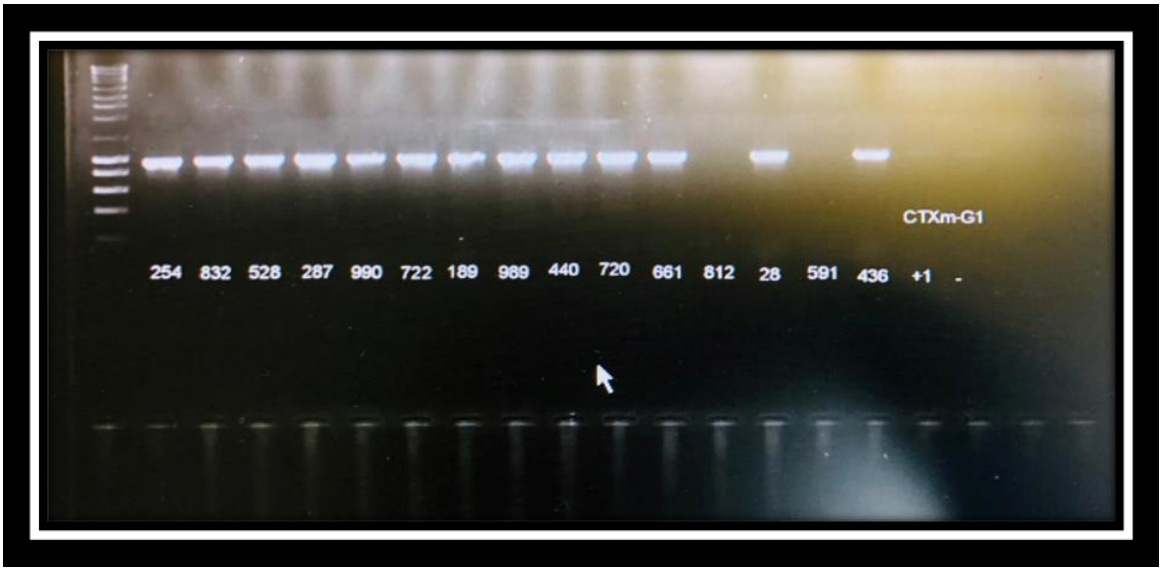
ჩვენს მიერ შერჩეული *E coli-ს* 15 რეზისტენტული შტამის CTX-M-1, IMP, VIM, OXA-48, NDM, KPC გენების გამოვლენის მიზნით ჩატარდა გელ-ელექტროფორეზი 1,5 %-იან აგაროზის გელში. ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ სარეაქციო ნარევი (Sigma), PCR შედეგების წაკითხვა განხორციელდა BIO-RAD აპარატით. კვლევა ჩატარდა ქ. პორტოს (პორტუგალია) უნივერსიტეტის ფარმაციის ფაკულტეტზე. ასევე, აღნიშნული რეზისტენტული შტამებიდან 7 შტამი რევერს ჰიბრიდიზაციის მეთოდით შემოწმდა CTX, KPC, TEM და SHV გენების არსებობაზე. კვლევაში გამოვიყენეთ (AID Autoimmun Diagnostika GmbH, გერმანია) ნაკრები დაფუძნებული მულტიპლექსურ PCR-ზე, რომელსაც მოსდევს რევერს ჰიბრიდიზაცია სექვენს-სპეციფიკური ოლიგონუკლეოტიდური ზონდების გამოყენებით. კვლევა ჩატარდა საქართველოში დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნულ ცენტრში (NCDC).

გენების: CTX-M-1 და KPC ამპფლიკონები ექსპერიმენტის ვალიდაციის დადგენის მიზნით ორივე მეთოდით გადამოწმდა. განსაკუთრებით დავინტერსდით CTX-M-1 გენით, რაც იმით იყო განპირობებული, რომ უკანასკნელ პერიოდში *E. coli -ის* ნოზოკომიურ შტამებს შორის შეინიშნება ამ გენის გავრცელების სიხშირის განსაკუთრებული ზრდა (Hassuna .... 2020).

CTX-M-1 გენის იდენტიფიკაციისა და გენოტიპ – ფენოტიპური კორელაციების დასადგენად PCR კვლევა ჩავატარეთ გაფართოებული სპექტრის ბეტა ლაქტამაზას წარმომქმნელი *Escherichia coli–ს* კლინიკურ იზოლანტებში: № 254, № 832, № 528, № 287, № 990, №722, №189, № 989, №440, №720, №861, №812, №28, №591 და №436. აღსანიშნავია, რომ ამ დროისათვის ცნობილია CTX გენის 172 ვარიანტზე მეტი, ხოლო CTX-M ტიპის ექვსი განსხვავებული ჯგუფი. მიუხედავად CTX გენების მრავალი ვარიანტისა, ყველაზე ფართოდ მაინც CTX-M ჯგუფია გავრცელებული. ეს

ჯგუფი გამოვლენილია მსოფლიოს სხვადასხვა რეგიონის ენტერობაქტერიებიდან მიღებულ იზოლანტებში (Zhao...2013).

ჩვენს მიერ ჩატარებული CTX-M-G1 გენის მოლეკულური ანალიზის შედეგები წარმოდგენილია ელექტროფორეგრამაზე (სურ.17). გენის შესატყვისი ფრაგმენტის სიგრძე შეადგენს 585 bp. გენის ამპლიფიკაციის პროდუქტებში აღნიშნული გენი გამოვლინდა 13 შტამში: № 254, № 832, № 528, № 287, № 990, №722, №189, № 989, №440, №720, №861, №28 და №436. მიუხედავად იმისა, რომ ელექტროფორეგრამაზე წარმოდგენილი ყველა ნიმუში ფენოტიპურად რეზისტენტული შტამია, ორ შემთხვევაში (შტამები №812 და № 591) CTX-M-1-გენის დეტექცია არ მოხდა.



სურათი 17. E.coli- ს PCR CTX-M-G1 გენზე

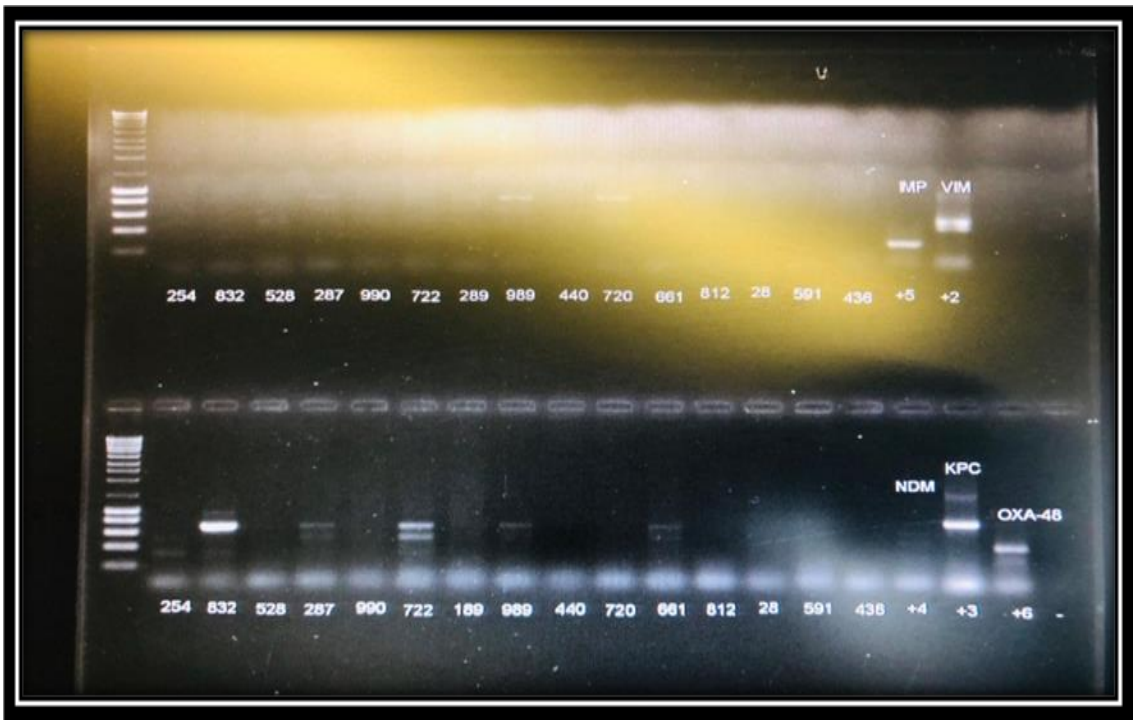
კარბოპენემების მიმართ ბაქტერიული ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ჩამოყალიბებაში მნიშვნელოვან როლს თამაშობს კარბოპენამაზების მაკოდირებელი გენები. ამასთან, *E.coli-ის* შტამებში კარბოპენამაზების სინთეზი არ არის ისეთი ინტენსიური, როგორც სხვა მიკროორგანიზმებში, თუმცა უკანასკნელი კვლევების თანახმად, კარბაპენემრეზისტენტული გენები დაფიქსირდა *E.coli-ის* იზოლანტებშიც. ფიქრობენ, რომ ძალიან მალე შესაძლოა მან კლინიკური მნიშვნელობაც შეიძინოს (Galdino da Cruz Silva...2020).

ანტიმიკრობული რეზისტენტობის პროფილის დადგენის შემდეგ *E. coli -ის* ჩვენს

მიერ შესწავლილ ოთხ ნიმუშში (№254, №722, № 436, №832) დაფიქსირდა კარბოპენემრეზისტენტობა. ამდენად, ეს ნიმუშები საინტერესო აღმოჩნდა მოლეკულური კვლევის თვალსაზრისითაც.

შესაბამისად, სატესტო ნიმუშები გამოვიკვლიეთ გოგირდშემცველი - OXA-48, KPC და მეტალობეტალაქტამაზების პროდუცენტ - NDM, IMP, VIM გენებზე.

ჩატარებული კვლევის შედეგების თანახმად KPC გენი დაფიქსირდა ოთხი ფენოტიპურად რეზისტენტული შტამიდან ორში: №832 და №722 (სურ.18). ფრაგმენტის სიგრძე შეადგენს 753 bp-ს. ხოლო MBL მაპროდუცირებელი შტამები გაანალიზებულ არც ერთ ნიმუშში არ გამოვლინდა. ასეთი შტამები განსაკუთრებით სახიფათოა კლინიკური და ეპიდემიოლოგიური თვალსაზრისით გამომდინარე, რადგან ჩვენს მიერ შესწავლი VIM-, IMP- და NDM- კარბაპენემაზებისათვის დამახასიათებელია მაღალი კატალიზური აქტივობა ფარტო სპექტრის β-ლაქტამების მიმართ და არ ავლენენ მგრძნობელობას β-ლაქტამაზას ინჰიბიტორების მიმართ. შესაბამისად, მიღებული შედეგი აჭარის ჰოსპიტალურ სექტორისათვის დადებითი მაჩვენებელად შეიძლება იქნეს მიჩნეული.



სურათი 18.E.coli- ს PCR OXA-и KPC NDM MP VM გენზე

ცხრილი 13. E.coli- ს მოლეკულური იდენტიფიკაციის და რეზისტენტული გენების დეტექციის შედეგი.

ნიმუშები	PCR - CTX-M-1	PCR-OXA,KPC, NDM,MP, VIM.
254	CTXm	-
832	CTXm	KPC
528	CTXm	-
287	CTXm	-
990	CTXm	-
722	CTXm	KPC
289	CTXm	-
989	CTXm	-
440	CTXm	-
720	CTXm	-
661	CTXm	-
812	-	-
28	CTXm	-
591	-	-
438	CTXm	-

ჩატარებული კვლევის შედეგების ანალიზმა აჩვენა, რომ ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ფენოტიპური და მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევის შედეგები ყოველთვის არ არის სრულ თანხვედრაში. ამრიგად, კარბოპენემის ოთხ ფენოტიპურად რეზისტენტულ შტამში, რომელიც შეადგენდა მოლეკულურად გამოკვლეული იზოლანტების 27% , მხოლოდ ორ შემთხვევაში (13,5%) იქნა იდენტიფიცირებული KPC გენი, რომელიც პასუხისმგებელია კარბოპენემების მიმართ რეზისტენტობაზე. ორ შემთხვევაში კი KPC გენი არ დადასტურდა (ცხრილი13). ზემოთ აღნიშნული შეეძლება აიხსნას იმით რომ, ფენოტიპური რეზისტენტობა განპირობებულია სხვადასხვა რეზისტენტობის მექანიზმებით: პორინის დეფექტით, რომელიც არ აძლევს საშუალებას ანტიმიკრობულ პრეპარატს შეაღწიოს უჯრედის შიგნით და ასევე პრეპარატის განდევნით (ეფლუქსი) უჯრედიდან (Elshamy…2020). აღსანიშნავია ისიც, რომ მუტაციების მიმართ

ფენოტიპური ანალიზის მგრძნობელობა შედარებით დაბალია. მიუხედავად ამისა, რიგ შემთხვევებში, კვლევის ეს მეთოდები ფაქტობრივად იდენტურ შედეგზე გადის, რაც კარგად გამოვლინდა *E. coli -ის* რეზისტენტული შტამების CTX-M1 გენის შესწავლის საფუძველზე. ამ გენის დეტექცია მოხერხდა შესწავლილი შტამების აბსოლუტურ უმრავლესობაში (13 შტამი). CTX-M-1 გენის გამოვლენის მაღალი მაღალი მაჩვენებელი დაფიქსირებულია და აღწერილი სხვა ქვეყნებშიც (Zeynudin….2018). შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ანტიბიოტიკების მრავლობითი რეზისტენტობა, რომელიც გამოვლინდა ჩვენ შესწავლილ შტამებში სწორედ CTX-M-1 გენის არსებობით იყო განპირობებული. CTX-M-1 გენის მატარებელი *E. coli-ის* პოლირეზისტენტობა ანტიბიოტიკების მიმართ აღწერილია რიგ სამეცნიერო კვლევებში (Kesavaram.....2016). ორ შტამში დეტექცია CTX-M-1 გენის არ გამოვლინდა რაც შეიძლება იყოს განპირობებული სხვა რეზისტენტული დეტერმინენტებით.

ამრიგად, ეს ორი მეთოდი ნამდვილად ავსებს ერთმანეთს და კომპლექსური მიდგომა ზრდის კვლევის შედეგების ვალიდურობას. კარბოპენემაზების დეტექცია ნოზოკომიურ ნიმუშებში საგანგაშო სიგნალია აჭარის რეგიონის ტურისტული მნიშვნელობიდან გამომდინარე, რადგან ეს გენები ადვილად გადაეცემა პლაზმიდებისა და ტრანსპოზონების მეშვეობით და შესაძლოა ეპიდემიოლოგიურად საფრთხის შემცველი პოლირეზისტენტული შტამების ჩამოყალიბებისა და გავრცელების მიზეზი გახდეს.

შვიდი იზოლანტი (№254,№ 436 ,№861, №990 ,№ 989, №218, № 72) CTX, KPC, TEM და SHV გენების არსებობაზე გაიტესტა რევერს ჰიბრიდიზაციის მეთოდის გამოყენებით. ამ მეთოდმა საშუალება მოგვცა ერთდროულად გაგვესაზღვრა სხვადასხვა გენეტიკური დეტერმინანტები: CTX-M, TEM AS 104 E, TEM AS 164 R, TEM AS 238 G, TEMAS 238 S , SHV AS 238 / 240 და KPC. ასევე, გაგვეხორციელებინა ბეტა-ლაქტამაზას ტიპის გენების მუტანტური ფორმების დეტექცია.

კვლევა მოიცავდა გოგირდის χგუფის შემცველი ბეტა-ლაქტამაზების მაკოდირებელი ყველაზე ცნობილი წარმომადგენლების - TEM და SHV გენების იდენტიფიკაციას. სწორედ ეს ბეტა-ლაქტამაზური გენები გვხვდება ყველაზე ხშირად ნაწლავის ჩხირსა და სხვა ენტერობაქტერიებში.

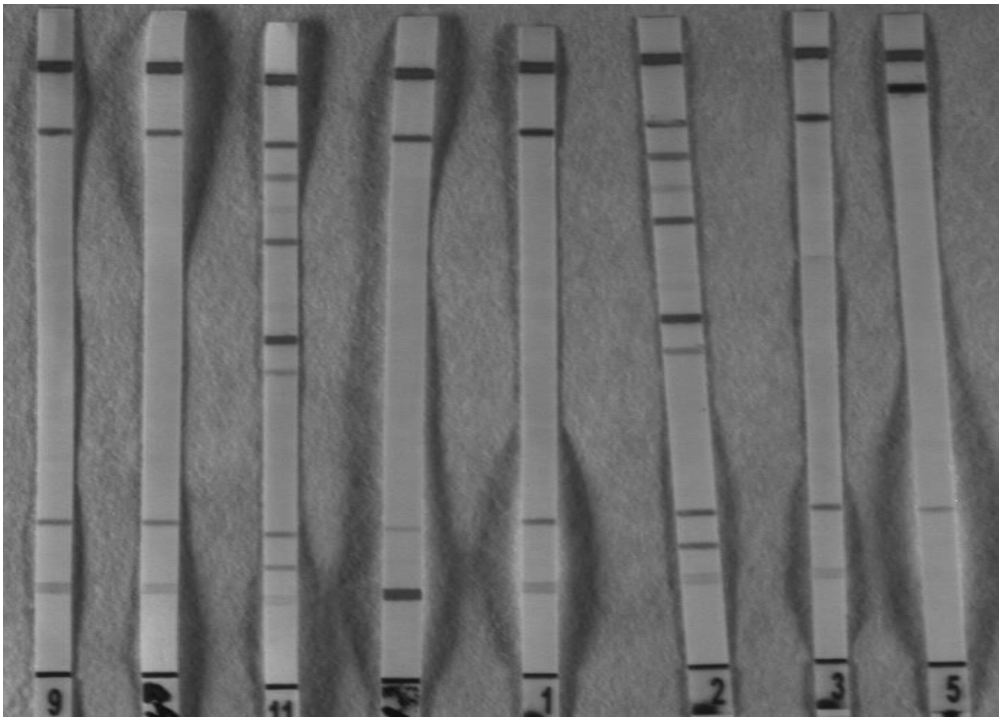
TEM ტიპს ფერმენტებში მუტაციები გამოწვეული ამინომჟავური ცვლილებები შედარებით შეზღუდულ პოზიციებში ხდება, მაგრამ ამ პოზიციებში მომხდარი ჩანაცლებები, მაგალითად, გლუტამატი/ლიზინიდ104 პოზიციაზე, არგინინი/სერინი/ჰისტიდინი 164 პოზიციაზე, გლიცინი/სერინი 238 პოზიციაზე და გლუტამატი/ლიზინი 240 პოზიციაზე იწვევს სწორედ ცვლილებებს ESBL ფენოტიპებში. ფიქრობენ, რომ მუტაციური ვარიანტების ჩამოყალიბება ფლუქტუაციური ცვლილებების სელექციის შედეგია და არა ერთი კონკრეტული აგენტის სელექციისა (Rahman….2018). ბეტა-ლაქტამაზები ყველაზე ეფექტურად ახდენენ პენიცილინების ჰიდროლიზს. ფერმენტული მუტანტები შედის ბეტალაქტამაზას გაფართოებული სპექტრის ჯგუფში, რომელსაც შეუძლია ეფექტურად დაშალოს არა მხოლოდ პენიცილინები, არამედ I-IV თაობების ცეფალოსპორინები. აღსანიშნავია, რომ TEM ტიპის გაფართოებული სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზებში 238 პოზიციაზე არსებული სერინის ნარჩენები გადამწყვეტია ცეფტაზიდიმის, ხოლო ლიზინის ნარჩენები მნიშვნელოვანია ცეფოტაქსიმის ეფექტური ჰიდროლიზისთვის.

რეზისტენტობის მექანიზმების დასადგენად TEM ტიპის ბეტა-ლაქტამაზები განსაკუთრებით საინტერესოა, რადგან მათი მაკოდირებელი გენები ყველაზე ხანგრძლივი ევოლუციის შედეგია და ყველაზე ხშირად განიცდიან მუტაციებს (Григоренко... 2017). SHV ტიპის გენები, TEM ტიპის ბეტა-ლაქტამაზური გენებისგან განსხვავებით ნაკლებად ექვემდებარებიან ცვლილებებს. მიუხედავად ამისა, SHV ტიპის ბეტა-ლაქტამაზები არანაკლებ საინტერესოა, რადგან რეზისტენტობის მექანიზმებს საფუძვლად უდევს გენეტიკური თავისებურებები. ამ ფერმენტის მაკოდირებელი გენები ლოკალიზებულია, როგორც ბაქტერიულ ქროსომაში, ასევე პლაზმიდებზე (Степанова ...2011).

მე-19 სურათზე მოცემულია მრავლობითი PCR ამპფლიკონები ნიტროცელულიტურ მემბრანებზე ხაზების სახით, რომლებიც განსხვავებულ პოზიციებზე არის ლოკალიზებული.

მიღებული შედეგების ანალიზის საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ საკვლევი შტამების რეზისტენტობა განაპირობა ერთდროულად რამდენიმე

გენეტიკური დეტერმინანტის არსებობამ (ცხრილი 14). გამოვლენილ იქნა, როგორც ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზური გენები (ველური ტიპი), ასევე გაფართოებული სპექტრის (ESBL), რომლებიც იწვევენ ბეტა-ლაქტამური რგოლის დაშლას და საბოლოო ჯამში განაპირობებენ რეზისტენტობას ანტიბიტიკების მიმართ.



№861 №990 №436 №812 № 720 №254 № 989 C

სურათი 19. E.coli- ს დიაგნოსტიკა მრავლობითი PCR ამპლიფიკაციით (Autoimmun Diagnostika Gmb HESBL)

როგორც მეცამეტე ცხრილიდან ჩანს, ყველა საკვლევ შტამში დაფიქსირდა SHV AS 238/240 ტიპის მუტაციები და CTX-M გენის დეტექცია. (G238^S/A и E240^>K) გამოწვეული ამინომჟავური ჩანაცვლებები იწვევს სუბსტრატული სპეციფიკურობის სპექტრის გაფართოებას ცეფალოსპორინების, განსაკუთრებით ცეფტაზიმიდის მიმართ.

ცხრილი 14. E.coli- ს გამოვლენილი რეზისტრნტული გენები მრავლობითი PCR ამპლიფიკაციით

ნიმუშები	PCR-TEM	PCR- SHV	PCR- *CTX-M- G1*	PCR*KPS*
861	-	*SHVAS 238/240 wild*	*CTX-M-G1*	-
990	-	*SHVAS 238/240 wild*	*CTX-M-G1*	-
436	*TEMAS 104 E wild* *TEMAS 164R wild* *TEMAS 238G wild* *TEMAS 238S ESBL*	*SHVAS 238/240 wild* *SHVAS 238/240ESBL*	*CTX-M-G1*	-
812	-	*SHVAS 238/240 wild*	*CTX-M-G1*	--
720	-	*SHVAS 238/240 wild*	*CTX-M-G1*	-
254	*TEMAS 104 E wild* *TEMAS 164R wild* *TEMAS 238G wild* *TEMAS 238S ESBL*	*SHVAS 238/240 wild* *SHVAS 238/240ESBL*	*CTX-M-G1*	-
989	-	*SHVAS 238/240 wild*	*CTX-M-G1*	-

საკვლევი შტამებიდან ორში (№254 და №436) რეზისტენობის განმაპირობებელი ერთდროულად რამდენიმე დეტერმინანტის დეტექცია მოხდა: CTX-M, TEM AS 104 E, TEM AS 164 R, TEM AS 238 G, TEMAS 238 S და SHV AS 238/240. ვინაიდან SHV და TEM გენების აღმოჩენა არ არის ESBL- ის აქტივობის ერთმნიშვნელოვანი მტკიცებულება, აღმოჩენილი ამ გენებში მუტაციები კიდევ ერთხელ ადასტურებს III-IV თაობის ცეფალოსპორინების საწინააღმდეგო აქტივობის სპექტრის ზრდას (Kesavaram.....2016).

ESBL კლასის TEM ტიპის გენების მუტანტური ფორმები: TEM AS 104 E, TEM AS 238 G ,TEM AS 238 S ატარებს წერტილოვან მუტაციას 104-ე, 164-ე და 238-ე პოზიციებში შესაბამისად, აქვე გვინდა გამოვყოთ ჩვენს საკვლევ ნიმუშებში იდენტიფიცირებული TEM AS 238 S გენეტიკური დეტერმინანტი (Gly238Ser მუტაცია). ამ გენის მიერ კოდირებული ფერმენტი თანაბრად ზემოქმედებს და ადვილად შლის ცეფოტაქსიმსა და ცეფტაზიდიმს, მაშინ, როცა მეორე გოგირდის ჯგუფის შემცველი ბეტა-ლაქტამაზური TEM AS 164 R გენის მიერ პროდუცირებული ფერმენტი (მუტაციაArg164Ser) გაცილებით აქტიურია ცეფტაზიდინის, ვიდრე ცეფოტაქსიმის მიმართ.

ამრიგად, ჩვენს მიერ სხვადასხვა ბიოლოგიური მასალიდან გამოყოფილი იდენტიფიცირებულ *E. coli* -ის რეზისტენტულ შტამებში გამოვლენილ იქნა

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ფართო სპექტრის გენები: CTX-M, TEM, SHV, ხოლო ორ ნიმუშში ველურ გენებთან ერთად მუტანტური ფორმებიც დაფიქსირდა. აღსანიშნავია, რომ ეს შტამები ამოითესა კათეტერ-ასოცირებული ინფექციების მქონე პაციენტების ნიმუშებიდან და ფენოტიპურად გამოავლინეს რეზისტენტობა კარბოპენემების მიმართ.

ცნობილია, რომ კათეტერზე წარმოქმნილ ბიოგარსში იყოს მიკროორგ-ანიზმების მთელი სპექტრი და მათ შორის გრამ-უარყოფითი ბაქტერიებიც. ეს ბაქტერიები ადვილად გადასცემენ ერთმანეთს გენეტიკურ ინფორმაციას და მათ შორის რეზისტენტობის გენებს (Elio...2018).

მულტიპლექსური PCR მეთოდით შვიდივე შტამში განხორციელდა CTX-M და SHV გენების დეტექცია. გამომდინარე აქედან, შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ აჭარის რეგიონში გავრცელებული ნაწლავის ჩხირის რეზისტენტობას სწორედ ეს გენები განაპირობებს. გაანალიზებული შტამებიდან (№254 და №436), რომელებიც ფენოტიპურად რეზისტენტული აღმოჩნდნენ კარბოპენების მიმართ, რეზისტე-ნტობის მაკოდირებელი გენი KPC არ დაფიქსირდა ისევე, როგორც გელ-ელექტრ-ოფორეზის დროს, რაც მიუთითებს ორივე კვლევის კორელაციაზე და იმაზე, რომ ყოველი კლინიკურად საეჭვო შემთხვევა სკურპულოზურ მიდგომას მოითხოვს და საჭიროების შემთხვევაში უნდა გადამოწმდეს მოლეკულურ-დიაგნოსტიკური მეთოდებით.

დასკვნები:

1. აჭარის ჰოსპიტალურ სექტორში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა შორის *E.coli* გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების კლინიკური იზოლანტების 21%-ს, ხოლო რეზისტენტულის 12%-ს შეადგენს;

2. ანტიბიოტიკების: FEP-ცეფეპიმი, CXM-ცეფუროქსიმი, CRO-ცეფტრიაქსონი, CAZ-ცეფტაზიდიმი, CTX-ცეფოტაქსიმი და AMP-ამპიცილინი გამოყენება არაეფექტურია *E.coli-ს* პათოგენური შტამების მიმართ, რადგან ის სრულ რეზისტენტობას ავლენს აღნიშნული ანტიბიოტიკებისადმი;

3. *E.coli*-ის ნოზოკომიური შტამების მიმართ ყველაზე ეფექტურია სარეზერვო ანტიბიოტიკი კოლისტინი და პიპერაცილინ/ტაზობაქტამი; შედარებით დაბალია ამიკაცინის და კარბოპენემების ეფექტურობა;

4. რეგიონში გავრცელებულ *E.coli*-ის რეზისტენტული შტამების 88 % ESBL მაპროდუცირებელია, რაც ამცირებს მათ საწინააღმდეგოდ ცეფალოსპორინების გამოყენების ეფექტურობას;

5. პენიცილინების, მე-3 და მე-4 თაობის ცეფალოსპორინების და ინჰიბიტორების მიმართ ფენოტიპურად რეზისტენტულ შტამებში რეზისტენტობა დადასტურდა CTX-M-1, TEM და SHV გენების იდენტიფიცირებით, ხოლო ორ ნიმუშში ველურ გენებთან ერთად დაფიქსირდა ESBL კლასის TEM ტიპის მუტანტური გენები: TEM AS 104 E, TEM AS 238G, TEM AS 238 S; ამ გენების იდენტიფიცირება ნოზოკომიურ შტამებში მინიმუმამდე ამცირებს სამკურნალოდ გამოყენებადი ანტიბიოტიკების სპექტრს, რაც თავის მხრივ მნიშვნელოვნად ართულებს პაციენტთა მკურნალობას, ზრდის სტაციონარში დაყოვნების ხარჯებს და ხშირად ლეტალური დასასრულის მიზეზიც შეიძლება გახდეს;

6. მართალია, კარბაპენემაზების სინთეზზე პასუხიმგებელი გენი OXA-48 არ იდენტიფიცირდა, მაგრამ დაფიქსირდა KPC გენი, რაც გარკვეულწილად ხსნის კარბაპენემების მიმარ მხოლოდ 85% მგრძნობელობას; კარბაპენემების მიმართ რეზისტენტული *E.coli*-ის შტამების გამოჩენა გარკვეული სიგნალია, რაც

კარბოპენემების მიმართ რეზისტენტენტობის ფართო გავრცელების არასასურველ გლობალურ ტენდენციას ადასტურებს;

7. აჭარაში არსებული *E.coli*-ის იზოლანტები არ აპროდუცირებენ მეტალო-β-ლაქტამაზებს, რადგან არ იქნა იდენტიფიცირებული IMP, VIM, NDM გენები.

რეკომენდაციები:

1. სასურველია კლინიკური მიკრობიოლოგიის, განსაკუთრებით ბაქტერიოლოგიის დარგში მკურნალი ექიმებისათვის ტრენინგებისა ჩატარება, რეზისტენტული შტამების სწრაფი ჩამოყალიბებისა და გავრცელების მიზეზებზე;
2. მულტიპროფილურ საავადმყოფოებში მიკრობიოლოგიური ლაბორატორიების გახსნა, რაც საშუალებას მოგვცემს დროულად მოხდეს ინფექციური დაავადების გამომწვევის დადგენა და ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძნობელობის განსაზღვრა; ეს მისცემს შესაძლებლობას ექიმს დროულად შეცვალოს მედიკამენტი იზოლირებული პათოგენის ტიპისა და მგრძნობელობის გათვალისწინებით.
3. აუცილებელია საავადმყოფოში ცირკულირებადი იზოლანტების მონაცემთა ბაზისა და მათი ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობის პროფილის შექმნა, რაც საშუალებას მისცემს ნოზოკომიურ ინფექციაზე ეჭვმიტანილი პაციენტების სამკურნალოდ დადგენილ იქნას წამყვანი მგრძნობიარე ანტიბიოტიკების ჩამონათვალი. ეტიოტროპული, უკვე ცნობილი მედიკამენტების მიზნობრივი გამოყენება მკურნალობაში, შეამცირებს პაციენტების გამოჯანმრთელების და საავადმყოფოში ყოფნის დროს. ყოველივე ეს, თავის მხრივ, მნიშვნელივნად შეამცირებს პაციენტის გაცემული სერვისის ღირებულებას;
4. სასურველია გამოკვლეულ იქნას ინტენსიური თერაპიის და რეანიმაციულ განყოფილებაში შემოსული ყველა პაციენტი, მიუხედავად ინფექციის წყაროსა, პათოგენური მიკროფლორის არსებობისა და ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის პროფილის განსაზღვრის მიზნით. ეს საშუალებას მოგვცემს ადრეული ეტაპიდან იქნას დადგენილი მიკროფლორა და თავიდან ავიცილოთ ნოზოკომიური შტამების გარე პოპულაციიდან რეგიონის საავადმყოფოებში გადასვლა;

მადლობა

სადისერტაციო ნაშრომის ავტორი გაწეული დახმარებისთვის მადლობას უხდის იმ დაწესებულების ხელმძღვანელებს და ლაბორატორიების თანამშომლებს, რომელთა ბაზაზე შესრულდა სადისერტაციო კვლევის გარკვეული ნაწილი:

ლ.საყვარელიძის სახელობის დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი (დკსჯეც). პაატა იმნაძე სამეცნიერო საბჭოს თავმჯდომარე; მთავარი სპეციალისტი, სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა დოქტორი თეა თევდორაძე;

ლ.საყვარელიძის სახელობის დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი აჭრის სამმართველოს უფროსი ნინო გუგუშვილი.

პორტოს უნივერსიტეტი; ფარმაციის ფაკულტეტი, მიკრობიოლოგიის ლაბორატორიის ხელმძღვანელი, პროფესორი ჰელენა ფერეირა ნეტო.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. **ლომთათიძე...2018;** ზაურ ლომტათიძე, მიკრობიოლოგიის კვლევის ტანამედროვე მეთოდები;

2. **ქოიავა.... 2016**; თეაქოიავა „აჭარაში გავრცელებული ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევების გამოყოფა, იდენტიფიკაცია და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პროფილის შესწავლა "ბათუმი 2016 «წ;

3. **ხუხუნაიშვილი...2015; რუსუდან** ხუხუნაიშვილი ,,მოლეკულური ბიოლოგია" გამომცემლობა ,,ბათუმის შოთარუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი", ბათუმი 2015 წელი;

4. **Antimicrobial Resistance …2014**; Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations-2014;

5. **Arndt …2011;** Arndt S., Lauf H., Weiss G. Spectrum of microbial colo- nisation and re-sistance of a surgical ICU in a systematic comparison of the 10-year time period 1996-2005 using routine microbiological testing. Zentralbl Chir 2011; 136:152-8.

6. **Baumgart…2007**;M., Dogan B., Rishniw M., et al. Culture independent analysis of ileal mucosa reveals a selective increase in invasive *Escherichia coli* of novel phylogeny relative to depletion of Clostridiales in Crohn's disease involving the ileum. SME J 2007;1:403-18;

7. **Bonnet …2004**;Bonnet, R. (2004) Antimicrob. Agents Chemother., 48, 1–14';

8. **Bonnet …2004**;Bonnet, R., Champs, C.D., Sirot, D., Chanal, C., Labia, R., Sirot, J. (1999) Antimicrob. Agents Chemother., 43, 2671–2677;

9. **Boonyasiri..2014**;Adhiratha Boonyasiri, Teerawit Tangkoskul, Chrakrapong Seena-ma, Jatuporn Saiyarin, Surapee Tiengrim, and Visanu Thamlikitkul. Prevalence of antibiotic resistant bacteria in healthy adults, foods, food animals, and the environment in selected are-as in Thailand.Pathog Glob Health. 2014 Jul; 108(5): 235–245.

10. **Boonyasiri… 2014;**Boonyasiri A, Tangkoskul T, Seenama C, Saiyarin J, Tiengrim S, Thamlikitkul V. Prevalence of antibiotic resistant bacteria in healthy adults, foods, food ani-mals, and the environment in selected areas in Thailand. *Pathog Glob Health*. 2014;108(5):235–245. doi:10.1179/2047773214Y.0000000148 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar];

11. Bush …2010;Bush K., Jacoby G.A. Updated functional classification of blactamases //Antimicrob. Agents Chemother. - 2010. - №54 (3). - P.969 – 976;

12. **Cambrea ...2015**; Cambrea, S. (2015). Antibiotic susceptibility of Escherichia coli strains isolated in a pediatric population from South Eastern Romania. Journal of Pediatric Infectious Diseases, 09(03), 157–162. https://doi.org/10.3233/JPI-140430;

13. **CDC ….2009**; uropean centre for disease prevention and control, european medicines agency. The bacterial challenge: time to react ECDC/EMEA joint technical report. Stockholm: ECDC; 2009. 42 p;

14. **Chebotar..2012** ;Chebotar I.V. et al. Antimicrobial Resistance of Bacteria inBiofilms. Clinical Microbiology and antimicrobial chemotherapy.-2012,-v.14,-p.51-58;

15. **Croxen MA ….2013**; Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, Finlay BB. Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. Clin Microbiol Rev. 2013; 26: 822-80. [PubMed];

16. **Danny ….2011**; Danny C.T. Ong, Tse-Hsien Koh, Nur Syahidah, Prabha Krishnan, Thean Yen Tan. Rapid detection of the blaNDM-1 gene by real-time PCR // J. Antimicrob. Chemother. — 2011. — Vol. 66, N 7. — P. 1647–1649;

17. **Darmon….2014;**Darmon E, Leach DR. Bacterial genome instability. Microbiol Mol Biol Rev. 2014;78(1):1-39. doi: 10.1128/ MMBR.00035-13.

18. **Delavat…2017**;Delavat F, Miyazaki R, Carraro N, et al. The hidden life of integrative and conjugative elements. FEMS Microbiol Rev. 2017;41(4):512-537. doi: 10.1093/femsre/ fux008

19. **Doi …2009;** Doi Y., Paterson D.L., AdamsHaduch J.M. et al. Reduced susceptibility to cefepime among Escherichia coli clinical isolates producing novel variants of CMY2 β-lactamase //Antimicrob. Agents Chemother. – 2009 .- №53. - P. 3159-3161;

20. **Ehssan…2020;**Ehssan H. Moglad. Antibiotics Profile, Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL), and Multidrug-Resistant *Enterobacteriaceae* from Different Clinical Samples in Khartoum State, Sudanlume 2020 |Article ID 8898430 |

21. **Elio...2018;** Elio RossiIt's a gut feeling" – *Escherichia coli* biofilm formation in the gastrointestinal tract environment. Volume 44, 2018

22. **Elshamy ….2020**; Elshamy AA, Aboshanab KM. A review on bacterial resistance to carbapenems: Epidemiology, detection and treatment options. Future Sci OA. 2020; 6: 3. doi: 10.2144/fsoa-2019-0098

23. **Enfield .... 2014**; Enfield K. B., Huq N. N., Gosseling M. F., Low D. J., Hazen K. C., Toney D. M., Slitt G., Zapata H. J., Cox H. L., Lewis J. D., Kundzins J. R., Mathers A. J., Sifri C. D. Control of simultaneous outbreaks of carbapenemase-producing enterobacteriaceae and extensively drugresistant Acinetobacter baumannii infection in an intensive care unit using interventions promoted in the Centers for Disease Control and Prevention 2012 carbapenemase-resistant Enterobacteriaceae Toolkit // Infect Control Hosp Epidemiol. — 2014. — V. 35, №;

24. **Essack...2011;**Essack, S. Y.1 and Connolly, C; Treatment guidelines and nosocomial infections: TheSouth African experience African Journal of Microbiology Research Vol. 5(20), pp. 3122-3125, 30 September, 2011 (ISSN 1996-0808 ©2011 Academic Journals);

25. **Figueredo …2012;** Figueredo L., Cafarchia C, Desantis S., Otranto D. Biofilm formation of Malassezia pachydermatis from dogs. Veterinary Microbiology 160 (2012); 126-131;.

26. **Galdino da Cruz Silva ...2020;** Gedean Galdino da Cruz Silva , Eloiza Helena Campana , Priscylla Carvalho Vasconcelos , Núbia Michelle Vieira da Silva , Lauro Santos Filho , Elma Lima Leite , Patrícia Emília Naves Givisiez , Wondwossen Abebe Gebreyes and Celso José Bruno de Oliveira. Occurrence of KPC-Producing Escherichia coli in Psittaciformes Rescued from Trafficking in Paraíba, Brazil. 2020 Dec 25;18(1):95.

27. **Gasink..... 2009;** Gasink L. B., Edelstein P. H., Lautenbach E., Synnestvedt M., Fishman N. O. Risk factors and clinical impact of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae // Infect Control Hosp Epidemiol. — 2009. — V. 30, № 12. — P. 1180-5;

28. **Gupta…2008**;Gupta, V. Metallo beta lactamases in Pseudomonas aeruginosa and Aci! netobacter species // Expert Opinion on Investigational Drugs. – 2008. – Vol. 17. – P. 131 – 143;

29. **Hall-Stoodley …2004;** *Hall-Stoodley L, Costerton J., Stoodley P. Bacterial bio-films: from the natural environment to infectious diseases. Nat Rev Microbiol. 2004; 2(2):95-108;*

30. **HallStoodley…2009**; HallStoodley L. et al. Evolving concepts in biofilm infections. Cell Microbiol. 2009,-v.11,-p.1034-1043.);

31. **Hashemi… 2018;** Hashemi B, Abdollahi M, Rafiei A, et al. The comparison of MAMA PCR and SSCP PCR to study chromosomal resistance against Ciprofloxacin and Nalidixic acid in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. Microb Pathog. 2018;120:181–186. doi:10.1016/j.micpath.2018.05.005 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar];

32. **Hassuna....2020;** Noha A. Hassuna, Ahmed S. Khairalla, Eman M. Farahat, Adel M. Hammad, Medhat Abdel-Fattah. Molecular characterization of Extended-spectrum β lactamase- producing *E. coli* recovered from community-acquired urinary tract infections in Upper Egypt //Published .- 2020 .-Vol. 10, N 1.- P. 2772

33. **Hilbert …2011**; Hilbert D.V. Uropathogenic *Escherichia coli*: The Pre- EminentUrinaryTractInfectionPathogenNovaScience Publishers 2004–2011; p. 1-6;.

34. **Hoban….2011**;Hoban D.J. and all Antimicrobial susceptibility of global inpatient urinary tract isolates of Escherichia coli: results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program: 2009–2010./ Diagn Microbiol Infect Dis. 2011; 70(4): 507–11;

35. **Jacoby ..2009**; Jacoby G.A. AmpC blactamases //Clin. Microbiol. Rev. - 2009. - №22. - P. 161-182;

36. **Jacopin...2020;**Eliott Jacopin, Sonja Lehtinen ,Florence Débarre, François BlanquartFactors favouring the evolution of multidrug resistance in bacteria.Published:**29 July** 2020https://doi.org/10.1098/rsif. 2020.0105

37. **Juhas…2009**;Juhas M, van der Meer JR, Gaillard M, et al. Genomic islands: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution. FEMS Microbiology Reviews. 2009;33(2):376-393. doi: 10.1111/j.1574- 6976.2008.00136.x.

38. **kaushik…2017**;Kaushik M, Kumar S, Kapoor RK, et al. Integrons in Enterobacteriaceae: diversity, distribution and epidemiology. Int J Antimicrob Agents. 2018;51(2):167-176. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.10.004.

39. **Kesavaram ...2016**;Multidrug Resistant CTX-M-Producing *Escherichia coli*: A Growing Threat among HIV Patients in India Kesavaram Padmavathy,[1] Krishnan Padma,[2] and Sikhamani Rajasekaran[3] Volume 2016 |Article ID 4152704 | https://doi.org/10.1155/2016/4152704

40. **Khan...2020;** Khan Muhammad Imran Khan.Assessment of multidrug resistance in bacterial isolates from urinary tract-infected patients. January 2020Journal of Radiation Research and Applied Sciences

41. **Kibret & Abera... 2011** Kibret, M. and Abera, B. (2011) Antimicrobial Susceptibility Patterns of E. coli from Clinical Sources in Northeast Ethiopia. African Health Sciences, 11, 40-45.
https://doi.org/10.4314/ahs.v11i3.70069

42. **Kramer …2006**; Kramer A., Schwebke I., Kampf1 G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematicreview.BMCInfectiousDiseases2006,6:130;

43. **Kumarasamy …2010;** Kumarasamy K.K., Toleman M.A., Walsh T.R., Bagaria J., Butt F., Balakrishnan R., Chaudhary U., Doumith M., Giske C.G., Irfan S., Krishnan P., Kumar A.V., Maharjan S., Mushtaq S., Noorie T., Paterson D.L., Pearson A., Perry C., Pike R., Rao B., Ray U., Sarma J.B., Sharma M., Sheridan E., Thirunarayan M.A., Turton J., Upadhyay S., Warner M., Welfare W., Livermore D.M., Woodford N. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study // Lancet Infect. Dis. — 2010. — Vol. 10, N 9. — P. 597–602;

44. **Kumarasamy…2010;**Kumarasamy, K. K., Toleman M. A., Walsh T. R., et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study // The Lancet Infectious Diseases. – 2010. – Vol. 10. – P. 597602;

45. **Kutsevalova ...2020;** Antimicrobial resistance of gram-negative pathogens isolated from hospitalized patients in Rostov region Kutsevalova O.Yu.1, Kozel Yu.Yu.1, Rozenko D.A.1, Martynov D.V.2, Korshunkova O.V;

46. **Lewis...2010 Lewis***;* K. Persister cells. // Annual Review of Microbiology. — 2010. — № 64. — С. 357-372;

47. **Lushniak …2014**; Lushniak BD. Antibiotic resistance: a public health crisis. Public Health Rep. 2014;

48. **Lushniak …2014**; Lushniak BD. Antibiotic resistance: a public health crisis. Public Health Rep. 2014;

49. **Manning…2010**;Manning S.D., H. Babcock, Heymann D.L. *Escherichia coli*infections.2nded.ChelseaHouse,NewYork,2010;

50. **Maria … 2013;** Maria Kostakioti , Maria Hadjifrangiskou, Bacterial Biofilms: Development, Dispersal, and Therapeutic Strategies in the Dawn of the Postantibiotic Era. Cold Spring Harb Perspect Med. 2013 Apr; 3(4): a010306.

51. **Moglad .... 2020;** Ehssan H. Moglad Antibiotics Profile, Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL), and Multidrug-Resistant *Enterobacteriaceae* from Different Clinical Samples in Khartoum State, Sudan; Volume 2020; Article ID 8898430

52. **Ovchinnikov…2015;**BIOFILMS, DRUG RESISTANCE AND NOSOCOMIAL INFECTIONS CONTEMPORARY REALITIES OF SUPERFICIAL INFECTIOUS DISEASES;

53. **Paterson …2005;**Paterson D.L., Bonomo R.A. Extendedspectrum betalactamases: a clinical update //Clin. Microbiol. Rev. - 2005. - №18 (4). – P. 657-686;

54. **Petroni …2005**; Petroni A., Melano R.G., Saka H.A. et al. CARB9, a carbenicillinase encoded in the VCR region of Vibrio cholerae nonO1, nonO139 belongs to a family of cassetteencoded blactamases //Antimicrob. Agents Chemother. - 2004. - №48. – P. 4042 – 4046;

55. **Pitout….2012;** PitoutJD. Экстраинтестинальная патогенная Escherichiacoli: обновление противомикробной резистентности, лабораторная диагностика и лечение. Expert Rev Anti Infect Ther 2012; 10: 1165-76. [PubMed];

56. **PitoutJD….2008;** PitoutJD, LauplandKB. Бета-лактамаза с расширенным спектром Enterobacteriaceae: возникающая проблема общественного здравоохранения. Lancet Infect Dis. 2008; 8: 159-66. [PubMed]

57. **Poirel …2005;**Poirel L., Lartigue M.F., Decousser J.W. et al. ISEcp1Bmediated transposition of blaCTXM in Escherichia coli //Antimicrob. Agents Chemother. - 2005. - №49 (1). – P. 447 - 450.

58. **Poirel …2008**; Poirel L., Naas T., Nordmann P. Genetic support of extendedspectrum betalactamases //Clin. Microbiol. Infect. - 2008. - №14 (Suppl. 1). P. 75 – 81;

59. Pormohammad ... 2019; Pormohammad A, Pouriran R, Azimi H, Goudarzi M. Prevalence of integron classes in Gram-negative clinical isolated bacteria in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Iran J Basic Med Sci*. 2019;22(2):118–127;

60. **Potron ….2015**; Potron A., Poirel L., Croizé J. et al. Genetic and biochemical characterization of the first extendedspectrum CARBtype blactamase, RTG4, from Acinetobacter baumannii //Antimicrob. Agents Chemother. - 2009. - №53. –P. 3010 - 3016. 227 ВЕСТНИК КАЗНМУ №3-2015 ;

61. **Pournaras…2009;**Pournaras, S., Protonotariou E., Voulgari E. et al. Clonal spread of KPC2 carbapenemaseproducing Klebsiella pneumoniae strains in Greece // Jour! nal of Antimicrobial Chemotherapy.!2009. – Vol. 64. – P. 348 – 352;

62. **Quale …2006**; Quale J., Bratu S., Gupta J., Landman D. Interplay of efflux system, ampC, and oprD expression in carbapenem resistance of Pseudomonas aeruginosa clinical isolates //Antimicrob. Agents Chemother. - 2006. - №50. - P.1633-1641;

63. **Queenana…2007**;ueenan, A. M., Bush K. Carbapenemases: the versatile beta!lactamases // Clinical Microbiology Reviews. – 2007. – Vol. 20. – P. 440 – 458;

64. **Rahman...2018;** Sadeequr Rahman, Tariq Ali, Ijaz Ali, Nazir Ahmad Khan,Bo Han, and Jian Gao. The Growing Genetic and Functional Diversity of Extended Spectrum Beta-Lactamases //- 2018.-https://doi.org/10.1155/2018/9519718.

65. **Richard ...2012;** Richard A; L. Saiman; Nosocomial Infections in the Neonatal Intensive Care Unit;

66. **Rossolini …2008**;Rossolini G. M., D'Andrea M., Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum β-lactamases. //Clin Microbiol Infect. – 2008. - №14(Suppl.1). – P. 33 – 41;

67. **Russo …2003**; Russo T., Johnson J. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to Escherichia coli: an over- looked epidemic. Microbes and Infect 2003;5:449–56;

68. **Sadeequr...2018;**Sadeequr Rahman, Tariq Ali, Ijaz Ali, Nazir Ahmad Khan,Bo Han, and Jian Gao(2018);The Growing Genetic and Functional Diversity of Extended Spectrum Beta-Lactamases .

69. **Saladin …2006;**Saladin M, Cao VT, Lambert T, Donay JL, Herrmann JL, Ould Hocine Z, et al. Diversity of CTX-M β-lactamases and their promoter regions from *Enterobacteriaceae* isolated in three Parisian hospitals. FEMS Microbiol Lett. 2002;209:161–8 [PubMed] [Google Scholar];

70. **Sarina….2020;** Sarina Pradhan Thapa, Smriti Shrestha, Anil Kumar Anal, Addressing the antibiotic resistance and improving the food safety in food supply chain (farm-to-fork) in Southeast Asia;// Food Conmtrol 2020; 108;

71. **Schwaber .... 2008**; Ben-David et al. 2012.- Schwaber M. J., Klarfeld-Lidji S., Navon-Venezia S., Schwartz D., Leavitt A., Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality // Antimicrob Agents Chemother. — 2008 V. 52, № 3. — P. 1028-33;

72. **Sheu ...2019;** Sheu CC, Chang YT, Lin SY, Chen YH, Hsueh PR. Infections caused by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: an update on therapeutic options. Front Microbiol. 2019;10:80

73. **Singh et al.. 2012;** Wright, 2005; Queenan et al., 2010; Ramirez et al., 2010; Singh et al., 2012;

74. **Stephen…2010**; Stephen J., Mutnick A., Jones R.N. Assessment of pathogens and resistance (R) patterns among intensive care unit (ICU)patients in North America (NA): initial report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2001).Proceedings of the 42nd Interscience Congress of Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Diego, USA. 2002; Abst. C2-297);

75. **T. Koiava...2017**.T., Gonçalves, D., Palmeira, J., Arobelidze, K., Tediashvili, M., 1akhvlediani, L. And Ferreira, H. ,,Phenotypic And Molecular Characterization Of Shv, Tem, Oxa And Extended- Spectrum B-Lactamase Produced By Klebsiella pneumoniae Isolates In A Adjara Hospital" International Journal Of Current Research, Vol. 8, Issue, 06, Pp.32332-32336, June, 2017 Issn: 0975-833x;

76. **Tchouaket Nguemeleu… 2020;** Tchouaket Nguemeleu, E., Boivin, S., Robins, S., Sia, D., Kilpatrick, K., Brousseau, S., Dubreuil, B., Larouche, C., & Parisien, N. (2020). Development and validation of a time and motion guide to assess the costs of prevention and control interventions for nosocomial infections: A Delphi method among experts. PloS One, 15(11), e0242212. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242212

77. **Teiji Sawa** …**2020**; Teiji Sawa, Kiyoshi Moriyama, Kunihiko Kooguchi. Molecular diversity of extended-spectrum β-lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance December 2020;

78. **Tenaillon…2017;** O Tenaillon, JE Barrick, N Ribeck, DE Deatherage, JL Blanchard, … Nature 536 … 10, **2017**. The E. coli molecular phenotype under different growth conditions.

79. **Teresa ….2019;**CDC/NHSN surveillance definition of health care–associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting Teresa C. Horan, MPH, Mary Andrus, RN, BA, CIC, and Margaret A. Dudeck, MPH Atlanta, Georgia 05.03.2019 ;

80. **Tian…2018**; Tian, L., Sun, Z., & Zhang, Z. (2018). Antimicrobial resistance of pathogens causing nosocomial bloodstream infection in Hubei Province, China, from 2014 to 2016: A multicenter retrospective study. BMC Public Health, 18(1), 1121. https://doi.org/10.1186/s12889-018-6013-5;

81. **Ullah …2009**; Ullah, F., Malik, S., & Ahmed, J. (2009). Antibiotic susceptibility pattern and ESBL prevalence in nosocomial Escherichia coli from urinary tract infections in Pakistan. African Journal of Biotechnology, 8(16), Article 16. https://doi.org/10.4314/ajb.v8i16.62081;

82. **van Loon …2017**; van Loon K, Voor In ’t Holt AF, Vos MC. A systematic review and meta-analyses of the clinical epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother. 2017;62:e01730–17.

83. **Walsh….2008;**Walsh, T. R. Clinically signi?cant carbapenemases: an update. Current Opinion in Infectious Diseases. – 2008. – Vol. 21. – P. 367 – 371;.

84. **Walsh…2005;** Walsh, T. R., Toleman M. A., Poirel L., Nordmann P. Metallo!beta!lactama ses: the quiet before the storm? // Clinical Microbiology Reviews. – 2005. – Vol. 18. – P. 306 – 325;

85. **Walther…2006**; WaltherRasmussen J., Hoiby N. OXAtype carbapenemases //J. Antimicrob. Chemother. - 2006. - №57. – P. 373 – 383;

86. **Walther…2006**; WaltherRasmussen J., Hoiby N. OXAtype carbapenemases //J. Antimicrob. Chemother. - 2006. - №57. – P. 373 – 383;

87. **WHO…2010**;Antimicrobial, resistance: revisiting the «tragedy of the commons» // Bulletin of the World Health Organization.2010.Vol. 88..P.805806

88. **Woodford…2008**;Woodford, N., Zhang J., Warner M. et al. Arrival of Klebsiella pneumoniae producing KPC carbapenemase in the United Kingdom // Journal of Antimicro! bial Chemotherapy. – 2008. – Vol. 62. – P. 1261 – 126;

89. **Yang… 2009;**Yang C, Lin M, Liao P, et al. Comparison of antimicrobial resistance patterns between clinical and sewage isolates in a regional hospital in Taiwan. *Lett* Appl Microbiol. 2009;48(5):560–565. doi:10.1111/j.1472-765X.2009.02572.x [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar];

90. **Yusha'u ...2010**;Yusha'u M, Umar MI, Suleiman K. Indigenous commercial drinks as potential sources of extended spectrum β-lactamases (ESBLS) producing organisms in Kano, Nigeria // Int J Biomed Health Sci.- 2010.-Vol. 6, N1.-P. 103–108.

91. **Yusha'u ...2010**;Yusha'u M, Umar MI, Suleiman K. Indigenous commercial drinks as potential sources of extended spectrum β-lactamases (ESBLS) producing organisms in Kano, Nigeria // Int J Biomed Health Sci.- 2010.-Vol. 6, N1.-P. 103–108.

92. **Zeynudin ....2018**;Ahmed Zeynudin, Michael Pritsch, Sören Schubert, Maxim Messerer, Gabriele Liegl, Michael Hoelscher, Tefara Belachew , Andreas Wieser Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of CTX-M type extended-spectrum β-lactamases among clinical isolates of gram-negative bacilli in Jimma, Ethiopia*BMC Infectious Diseases* volume 18, Article number: 524 (2018) Cite this article;

93. **Zhao ...2013;** W.-H. Zhao and Z.-Q. Hu, "Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum *β*-lactamases in Gram-negative bacteria" //*Critical Reviews in Microbiology*- 2013.-Vol. 39.- P. 79–101.

94. **Zogaj …2013**; Zogaj X, Bokranz W, Nimtz M et. al. Production of cellulose and curli fmbriae by members of the family Enterobacteriaceae isolated from the human gastrointestinal tract. Infect. Immun.2003;71: 4151–4158;

95. **Григоренко… 2017** Бактериальные сериновые бета-лактамазы ТЕМ типа: структура и анализ мутаций Григоренко В.Г., Рубцова М.Ю., Упоров И.В., Иштубаев И.В., Андреева И.П., Щербинин Д.С., Веселовский А.В., Егоров А.М. в журнале *Биомедицинская химия*, том 63, № 6, с. 499-507

96. **Джонсон …2013;** Джонсон А.П., Вудфорд Н. Глобальное распространение резистентности к антибиотикам: пример антиоксидантной устойчивости к карбапенемам, связанным с металлом бета-лактамазой в Нью-Дели. Журнал медицинской микробиологии.2013; 62: 499-513. [PubMed];

97. **Джордж …2010**; Джордж Д.Б., Мангес А.Р. Систематический обзор исследований вспышек и вне вспышек внеуниверсальной патогенной Escherichiacoli, вызывающей инфекции, приобретенные в сообществе. EpidemiolInfect 2010, 138: 1679-90. [PubMed];

98. **Ким ....2012**; Ким К.С. Современные концепции патогенеза менингита Escherichiacoli: последствия для терапии и профилактики.CurrOpinInfectDis. 2012; 25: 273-8. [PubMed];

99. **Сидоренко ..2013**;Сидоренко С. В., Березин А. Г., Иванов Д. В. Молекулярные механизмы устойчивости грамотрицательных бактерий семейства Enterobacteriaceae к цефалоспориновым антибиотикам. //Антибиотики и химиотерапия. - 2011. - №49(3). – С.6 – 16;

100. **Смольянинов...2020;**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ ШТАММОВ ESCHERICHIA COLI, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ . Смольянинова Д.С Батищева Г.А. Габбасова Н.В. Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 5 1 0.17513/spno.30188;

101. **Степанова …2011;** Степанова М. Н. Мутациоонная изменчивость СТХ-Мβ-лактамаз и формирование устойчивости к цефтазидиму у клинических и лабораторных штаммов Escherichiacoli. //Автореф. уч.степени канд.биол.наук. - 2011. - С.23;

102. **Тительман…2011;**ТительманЭ, ИверсенА, КалметтерГ, ГискеК.Г. Противомикробнаявосприимчивостькпарентеральнымипероральнымагентамвосновном поликлональномнаборепродуцирующихCTX-M-14 иCTX-M-15 EscherichiacoliиKlebsiellapneumoniae. APMIS 2011, 119: 853-63. [PubMed];

103. **Фоксман …2010;** Фоксман Б. Эпидемиология инфекции мочевых путей. NatRevUrol. 2010; 7: 653-60. [PubMed].