სსიპ ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი საბუნებისმეტყველო მეცნიერებატა და
ჯანდაცვის დეპარტამენტი

ვიქტორია თავაძე

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

წარდგენილი ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის

მოსაპოვებლად სპეციალობა: მიკრობიოლოგია

ა ნ ო ტ ა ც ი ა

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:
ლეილა ახვლედიანი
ბიოლოგის დოქტორი ბსუ-ს
ასოცირებული პროფესორი.
რუსუდან ხუხუნაიშვილი
ბიოლოგიის დოქტორი ბსუ-ს პ
როფესორი

ბათუმი-*2021*

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებული ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის, საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტის ბიოლოგიის დეპარტამენტში.

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

ლეილა ახვლედიანი
ბიოლოგიის დოქტორი, ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ასოცირერბული პროფესორი.

რუსუდან ხუხუნაიშვილი
ბიოლოგიის დოქტორი. ბათუმის შოთა რუსთაველის სახლმწიფო უნივერსიტეტის პროფესორი.

უცხოელი შემფასებლები:

საულე ახმეტოვა
კარაგანდის სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი.

მადლობა

NCDC 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 აჭარის სამმართველოს უფროსი ნინო გუგუშვილი.

U.PORTO FACULDADE DE FARMÁCIA UNIVERSIDADE DO PORTO პორტოს უნივერსიტეტი; ფარმაციის ფაკულტეტი, მიკრობიოლოგიის ლაბორატორიის ხელმძღვანელი , პროფესორი ჰელენა ფერეირა ნეტო.

შესავალი

საკვლევი თემის აქტუალობა:

ანტიბიოტიკორეზისტენტობამსოფლიო 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, (Yang … 2009; Boonyasiri …2014)

ანტიბიოტიკორეზისტენტობასთან ბრძოლაში მთავარი მიმართულებებია: სისტემის მონიტორინგის ორგანიზება, რეზისტენტული მიკროორგანიზმების და რეზისტენტობის გენების ცირკულაციის დადგენა, ანტიბიოტიკებისადმი მიკროო-რგანიზმების მგრძნობელობის განსაზღვრის ერთიანი სტანდარტი-ზირებული მეთოდოლოგიის შემუშავება და დანერგვა. რეზისტენ-ტობის მექანიზმების ცოდნასა და ფარმაკოდინამიკა-ფარმაკ-ოკინეტიკაზე დაფუძნებული ინტერპრიტაციის ერთიანი კრიტე-რიუმები 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 სწრაფადდა 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, სახლს 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 მიმართ. მათ შორის: პენიცილინები, ცეფალოსპორინები, მონობაქტამები. ინფექციები, რომელსაც იწვევენეს ბაქტერიები, ხასიათდება ხშირი ლეტალობით(Hashemi B…. 2018). მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეეყანაში დაფიქსირდა ანტიმიკრობული რეზისტენტობა მესამე თაობის ცეფალოსპორინების

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ერთ-ერთი საუკეთესო მაგალითი არის მრავლობით წამალ-რეზისტენტული და ESBL-

მაპროდუცირებელი *Escherichia coli,* რომელსაც შეუძლია გამოიწვიოს სიცოცხლისათვის საშიში ინფექცია (Pormohammad… 2019). მართალია *E. coli* ადამიანის ნაწლავის ფლორის ნაწილია, მაგრამ მან შესაძლოა გამოიწვიოსნაწლავის, საშარდე გზების და ცენტრალური ნერვული სისტემის დაავადებები. ცხოველები *E. coli* -ის მნიშვნელოვანი რეზერვუარია და ამ ცხოველებში ანტიბიოტიკების ხანგრძლივად გამოყენება ანტიბიოტიკორ-ეზისტენტული 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, ბაქტე-რიული რეზისტენტობის მექანიზმების დადგენას ძალიან დიდი მნიშველობა აქვს ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ჩამოყალიბების წინააღმდეგ ბრძოლის მეთოდების შემუშავებაში.

დისერტაციის სტრუქტურა და შინაარსი:

სადისერტაციო ნაშრომი შეიცავს 3 თავს: ლიტერატურულ მიმოხილვას, კვლევის ობიექტებს და მეთოდებს. გარდა ამისა ექსპერიმენრულ ნაწილს, დასკვნებს და გამოყენებულ ლიტერატურას. (ცხრილების ჩამონათვალი-13, დიაგრამები-8, სურათები-19, კვლევაში გამოყენებული ანტიბიოტიკები; კვლევაში გამოყენებული PCR პრაიმერები; გამოყენებული ლიტერატურა 103).

კვლევის მიზანი და ამოცანები:

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;
- ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამების ფენოტ-იპური შესწავლა და რეზისტენტობის მიზეზების დადგენა;
- მასალაში დაავადების შესაძლო გამომწვევების დასადგენად ნიმუშის ბაქტერიოლოგიური კვლევა;
- იზოლანტების ბანკის შექმნა შემდგომი მოლე-კულურ-გენეტიკური კვლევებისთვის;
- ანტიბიოტიკონგრძნობელობა, მიკრობთა მგრძნო-ბელობის განსაზღვრა;
- ფართო სპექტრის β–ლაქტამაზა პროდუცენტების (ESBL) იდენტიფიცირება;
- დნმ–ის გამოყოფა კულტურიდან და გენეტიკური პროფილის შესწავლა რეზისტენტობასთან ასოცირების გამოვლენის 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/სულფა-მეტოქსაზოლის 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 გამო-ყენებულ იქნას მაქსიმალურად ეფექტურად *E.coli-ის* საწინააღ-მდეგოდ, ესენია CST-კოლისტინი (100% მგრძნობელობით), PIP/TZP - პიპერაცილინ/ტაზობაქტამი (88%), IPM-იმიპენემი და MEM-მეროპენემი (85%).

მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევის შედეგად ESBL მაპრო-დუცირებელი 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 ჩატარდა *E. coli*-ით გამოწვეული ნოზოკომიური ინფექციების გავრცელების კვლევა;
- განისაზღვრა *E.coli*-ის როლი ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევ გრამ უარყოფით ბაქტერიებს შორის;
- მიღებული იქნა მონაცემები რეანიმაციულ და თერაპიულ განყოფილებებში დაფიქსირებული ნოზოკომიური შტამების ანტიბიოტიკომიკრობული მგრძნობელობის შესახებ;
- აჭარის რეგიონში პირველად მოხდა რეზისტენტობის გენების ცირკულაციის დადგენა *E. coli -ში.*

სამეცნიერო და პრაქტიკული ღირებულება:

- მიღებული მონაცემების გათვალისწინებით ESBL-ის მაპროდუცირებელი *E. coli*-ის 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.

კვლევის მიკრობიოლოგიური მეთოდები:

- ESBL დამადასტურებელი მეთოდი;
- ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST);
- Kirby – Bauer-ის დისკ-დიფუზიის მეთოდი;
- ანტიბიოტიკის მინიმალური ინჰიბიციის კონცენტრაციის განსაზღვრა. სისტემა E-TEST და სერიული განზავების მეთოდი .

კვლევის ბიოქიმიური მეთოდები:

- პირველადი ბიოქიმიური ტესტები;
- API 20 E-მიკრობის იდენტიფიკაციის ბიოქიმიური ტესტი.

კვლევის მოლეკულური მეთოდები:

- დნმ-ის ექსტრაქცია;
- პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდი (PCR) ;
- ელექტროფორეზი აგაროზის გელში;
- რევერს ჰიბრიდიზაციის მეთოდი.

ლიტერატურული მიმოხილვა

ნოზოკომიური ინფექცია (ლათინურისიტყვა: 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).

ნოზოკომიური ინფექციები სერიოზული სამედიცინო-სოციალური, ეკონომიური და იურიდიული პრობლემაა ცალკეულ ინტენსიურ თერაპიაში.

ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევ წყაროდ მიჩნეულია მიკროორგანიზმები, რომლებიც სტაციონარში ხანგრძლივად არსებობისას ადაპტირდნენ არსებულ პირობებთან. ეს შეიძლება იყოს სოკოები, ბაქტერიები და ვირუსები. საქართველოს მრავალპროფილური სტაციონარების უმეტეს ნაწილში ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევებად ბაქტერიები გვევლინება, თუმცაღა მათი პროცენტული შემადგენლობა სტაციონარის ტერიტორიის ფარგლებში ვარირებს. ის დამოკიდებულია პაციენტების პოპულაციაზე, ინფექციის ლოკალიზაციაზე, ანტიბიოტიკების გამოყენების რუტინულ პრაქტიკაზე, გამოყენებული მეთოდების ინფექციურ კონტროლზედა ა.შ. (Vincent…2003; T. Koiava… 2017). უკანასკნელი წლებში სხვადასხვა ქვეყნის სტაციონარებში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა შორის ლიდერობს გრამ-უარყოფითი ბაქტერიები. ნაწლავის ჩხირის ინფექციით განსაკუთრებით ხშირად ინფიცირდებიან პაციენტები, რომლებიც უროლოგიურ განყოფილებაში გადიან მკურნალობის კურსს, ასევეა რეანიმციისა და ინტენსიური თერაპიის პაციენტებშიც (Stephen…2001). პაციენტების დაინფიცირების ხშირი მიზეზია დიაგნოსტიკური და სამედიცინო მოწყობილობების გამოყენება, ასევე მედპერსონალის ხელების დაბალი ჰიგიენა. გამოკვლეული იქნა ვენტილატორ-ასოცირებული პნევმონიის შემთხვევები, ასევე სისხლის ინფექციები, რომელიც დაკავშირებულია ცენტრალურ ინტრავენურ კათეტერთანდასაშარდე გზების ინფექციებთან.

საშარდე ინფექციების ძირითადი გამომწვევია *E. coli* . რიგ სხვა კვლევებში *E. coli* არ აღმოჩნდა უპირატესი გამომწვევი ბაქტერია, თუმცა მისი წილი საკმაოდ მნიშვნელოვანი იყო. 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 სტაციონარები საგანიმით, 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 ადრე მგრძნობიარე გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების მდგრადობა. მაგალითად, როგორიცაა *E.coli, Klebsiella spp, Acinetobacter baumani*, *Pseudomonas aeruginosa, Citrobacter spp.* ყველაზე მეტად სწორედ ეს მიკრობები არის 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-სმიერ შემუშავებული გლობალურის ტრატეგია, რომლშიც ხაზგასმითაა ნათქვამი, რომ აუცილებელია რეზისტენტობის მოლეკულური მექანიზმების გაშიფვრა, რათა შეიქმნას რეზისტენტობის დიაგნოსტირების ახალი საშუალებები. კვლევები ამ სფეროში ინტენსიურად მიმდინარეობს. აღნიშნულიდან გამომდინარე, ამ ინფექციების გამომწვევთა გავრცელების შესწავლა დ აანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობე-ლობის გამოკვლევა, ხოლო შემდგომ ანტიბიოტიკორეზის-ტენტობის მიზეზების დადგენა მნიშვნელოვანია და აქტუალობას

არ კარგავს. ისევე, როგროც სხვა ქვეყნები, საქართველოც დადგა ნოზოკომიური ინფექციის სწრაფი გავრცელე ბის პრობლემების წინაშე. ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამებისშემაშფოთებელი მატების პრობლემიდან გამომდინარესაქართველოს მთავრობამ მიიღო განკარგულება №29 2017 წელს 11 იანვარს, რის საფუძველზე გამოქვეყნებული იქნა ანტიმიკრობულირეზისტენტ-ობის საწინააღმდეგო 2017-2020 წლების ეროვნული სტრატეგიადა მისი განხორციელების სამოქმედოგეგმა, რაც ძალაინ დიდი წინ გადადგმული ნაბიჯია აღნიშნული პრობლემის დასაძლევად.

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 -

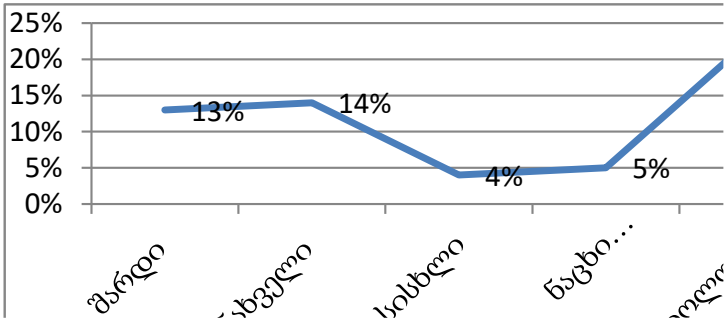
52, შარდზე - 47, ვენის და შარდის ბუშტის კათეტერების წვერიდან აღებულ ბიოლოგიურ სითხეზე- 22, ჭრილობის ნაცხზე -12.

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 1).

ცხრილი 1. E.coli – ის ამოთესვა ნიმუშებიდან

ბიოლოგიური მასალის დაასახელება	სულ გამოკვლე ული ნიმუშებისრაოდენობა	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 №2 მოყვანილია ანტბიოტიკები, რომელიც იყო გამოყენებული *E.coli*-ს ანტიბიოტიკომგრძნობ-ილობის განსაზღვრისათვის.

ცხრილი 2. ანტიბიოტიკების ჩამონათვალი და აბრევიატურა

N	აბრევიატ ურა	ანტიბიოტიკის დასახელება	კონცენტრაცი ა (მკგ)	ინჯიბიციისზ ონები (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.

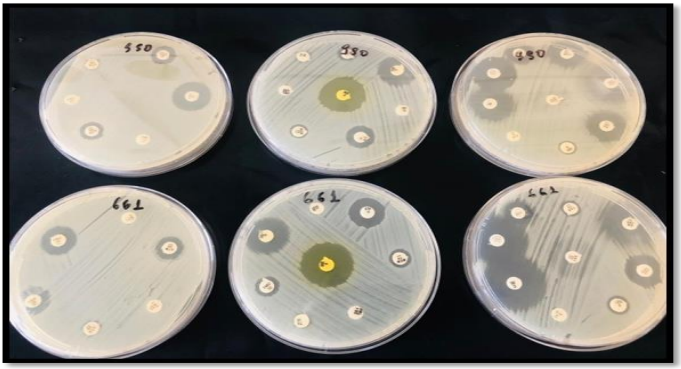
ფტორქინოლები: II-თაობა Ciprofloxacin, III-თაობა Levofloxacin.

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

მონობაქტამი:Aztreonam.

სულფონილამიდი:Trimethoprim/sulfamethoxazole.

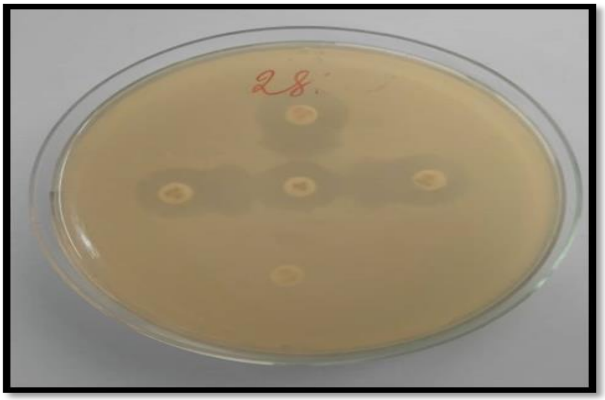
ანტიბიოტიკომგრძნობელობის ტესტმა ნათლად აჩვენა *E.coli* -ის მაღალი რეზისტენტობა გამოყენებული ანტიბიოტიკების მიმართ (სურ. *1).*



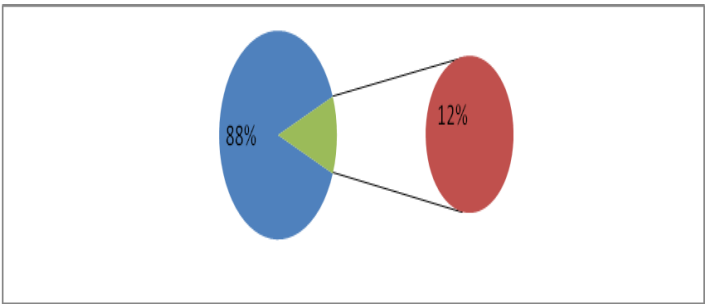
სურათი 1. E. Coli -ს ანტიბიოტიკომოგრძნობელობა

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.2) 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 2. ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი

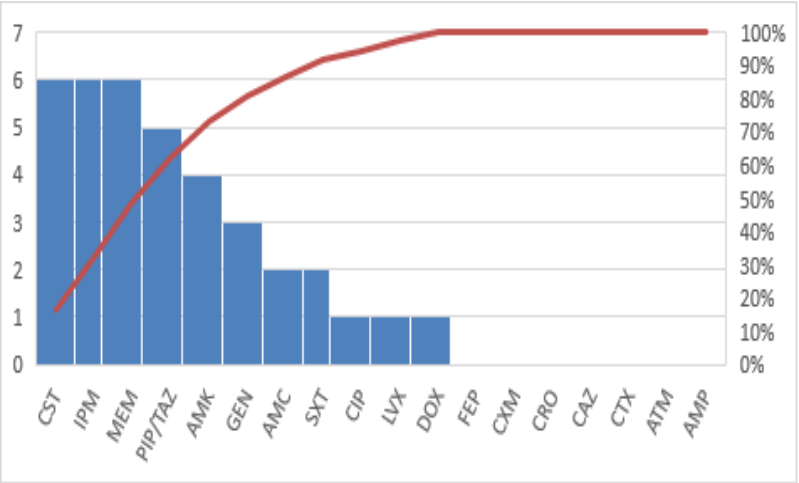


დიაგრამა 2. ESBL მაპროდუცირებელი E.coli-ის დადებითი და უარყოფითი პროფილი

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

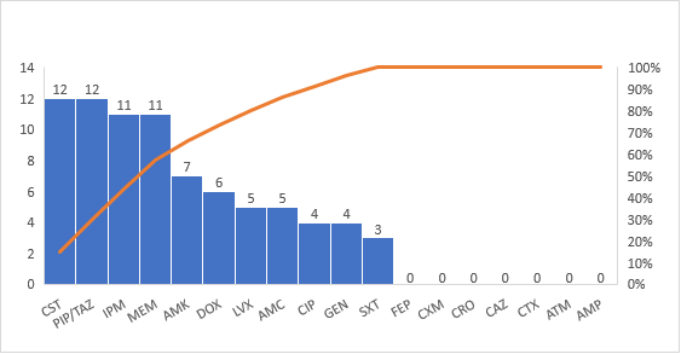
მაღალი მგრძნობელობა (100%) დაფიქსირდა CST-კოლისტინის, IPM-იმიპენემის და MEM-მეროპენემის მიმართ, ხოლო PIP/TZP-პიპერაცილინ/ტაზობაქტამის (83%) და 67% AMK-ამიკაცინის მიმართ შედარებით ნაკლები (დიაგრამა 3).



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

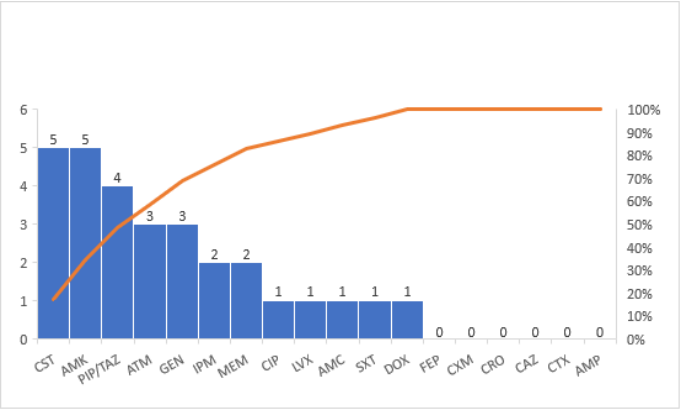
ნახველიდან გამოყოფილი ნაწლავის ჩხირის იზოლანტები აღმოჩდა მაღალრეზისტენტული 7 ანტიბიოტიკის მიმართ. კერძოდ, გამოვლინდა 100% რეზისტენტობა შემდეგი ჯგუფების: პენიცილინების, ცეფალოსპორინების და მონობაქტანმების მიმართ. 30%-ზე ნაკლები მგრძნობელობა დაფიქსირდა: მეორე თაობის ფტორქინოლების და ამინოგლიკოზიდების მიმართ. 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).



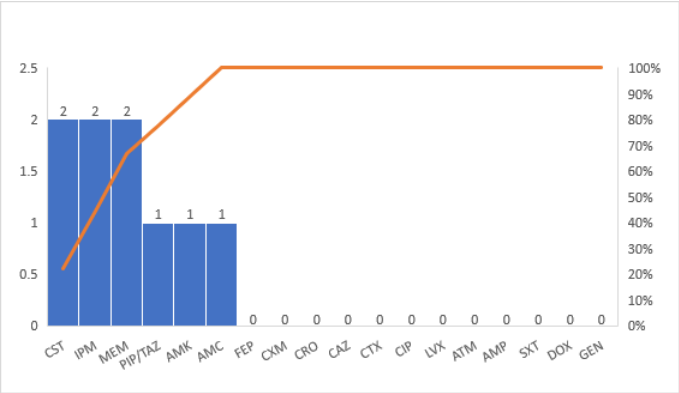
დიაგრამა 4. ნახველის ნიმუშებიდან გამოყოფილი E.coli-ს ანტიბიოტიკომგრძნობელობა

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).



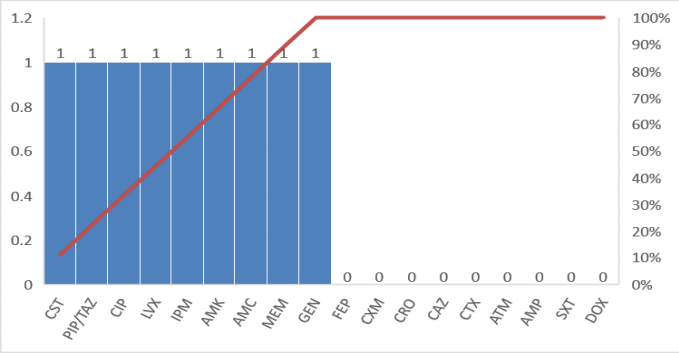
დიაგრამა 5. ცენტრალური ვენის და შარდის ბუშტის კათეტერებიდან აღებული ბიოლოგიური სითხიდან გამოყოფილი E.coli-ს ანტიბიოტიკომგრძნობელობა

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).



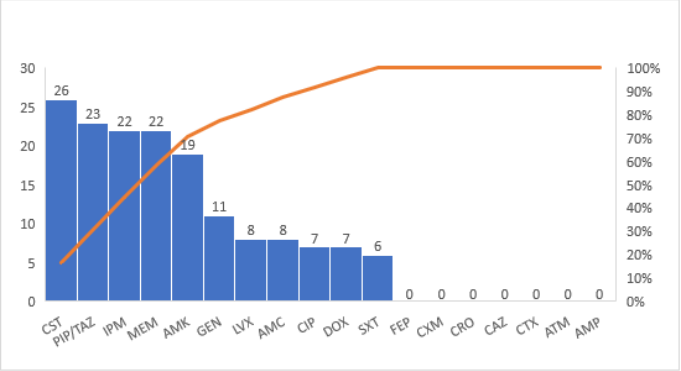
დიაგრამა 7. ჭრილობის ნიმუშებიდან გამოყოფილი E.coli-ს ანტიბიოტიკომგრძნობელობა

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 3).

ცხრილი 3. 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*SHV R	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.

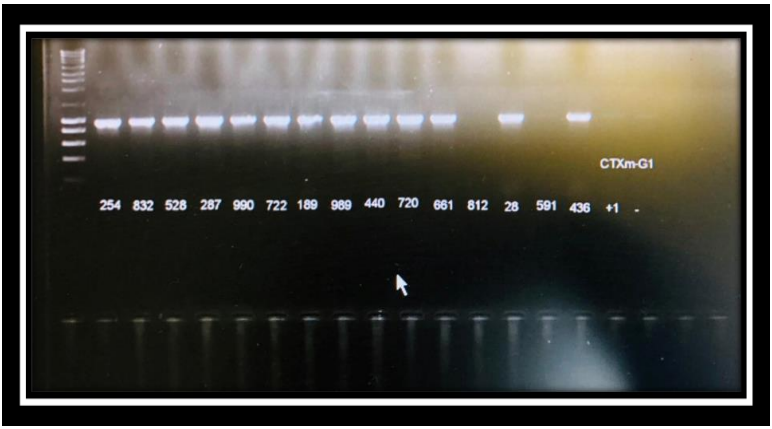
ჩვენს მიერ შერჩეული *E coli-ს* 15 რეზისტენტული შტამის CTX-M-1, IMP, VIM, OXA-48, NDM, KPC გენების გამოვლენის მიზნით ჩატარდა გელ-ელექტროფორეზი 1,5 %-იან აგაროზის გელში. ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ სარეაქციო ნარევი (Sigma), PCR შედეგების წაკითხვა განხორციელდა BIO-RAD აპარატით. კვლევა ჩატარდა ქ. პორტოს (პორტუგალია) 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.3). გენის შესატყვისი ფრაგმენტის სიგრძე შეადგენს 585 bp. გენის ამპფლიფიკაციის 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 3. E.coli- ს PCR CTX-M-G1 გენზე

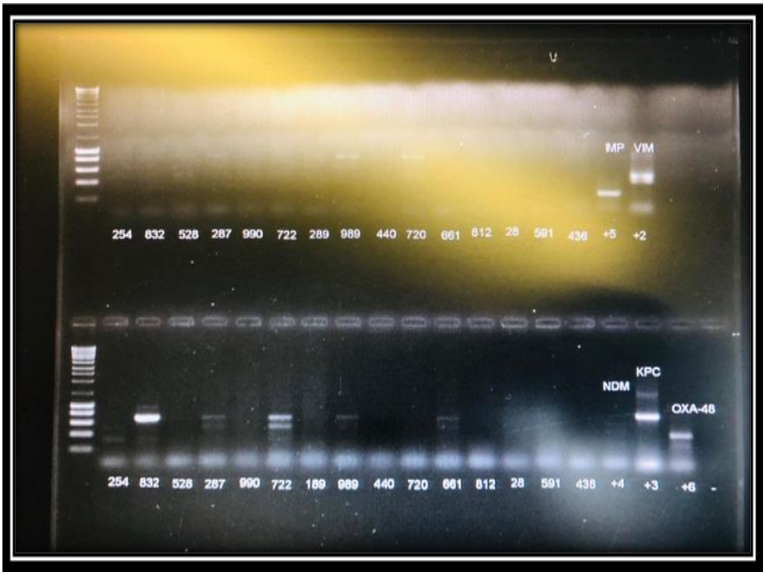
კარბოპენემების მიმართ ბაქტერიული ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ჩამოყალიბებაში მნიშვნელოვან როლს თამაშობს კარბოპენამაზების მაკოდირებელი გენები. ამასთან, *E.coli-ის* შტამებში კარბოპენამაზების სინთეზი არ არის ისეთი ინტენსიური, როგორც სხვა მიკროორგანიზმებში, თუმცა უკანასკნელი კვლევების თანახმად, კარბაპენემრეზისტენტული 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.4). ფრაგმენტის სიგრძე შეადგენს 753 bp-ს. ხოლო MBL მაპროდუცირებელი შტამები გაანალიზებულ არც ერთ ნიმუშში არ გამოვლინდა. ასეთი შტამები განსაკუთრებით სახიფათოა კლინიკური და ეპიდემიოლოგიური თვალსაზრისით გამომდინარერადგან 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 4.E.coli- ს PCR OXA-и KPC NDM MP VM გენზე

ცხრილი 4. 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
189	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 (ცხრილი 4). 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-M-1გენის შესწავლის საფუძველზე. ამ გენის დეტექცია მოხერხდა შესწავლილი შტამების აბსოლუტურ უმრავლესობაში (13 შტამი). CTX-M-1 გენის გამოვლენის 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 ჯგუფის შემცველი ბეტა-ლაქტამაზების მაკოდირებელი ყველაზე ცნობილი წარმომად-გენლების - TEM და SHV გენების იდენტიფიკაციას. სწორედ ეს ბეტა-ლაქტამაზური გენები გვხვდება ყველაზე ხშირად ნაწლავის ჩხირსა და სხვა ენტერობაქტერიებში.

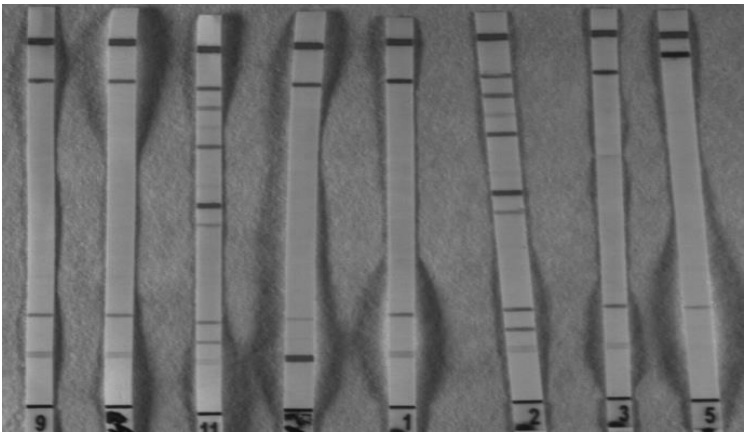
TEM ტიპს ფერმენტებში მუტაციები გამოწვეული ამინო-მჟავური ცვლილებები შედარებით შეზღუდულ პოზიციებში ხდება, მაგრამ ამ პოზიციებში მომხდარი ჩანაცლებები, მაგალითად, გლუტამატი/ლიზინიდ 104 პოზიციაზე, არგინინი/სერინი/ჰისტიდინი 164 პოზიციაზე, გლიცინი/სერინი 238 პოზიციაზე და გლუტამატი/ლიზინი 240 პოზიციაზე იწვევს 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 გაფართოებუ-ლი სპექტრის ჯგუფში, რომელსაც შეუძლია ეფექტურად დაშალოს არა მხოლოდ პენიცილინები, არამედ I-IV თაობების ცეფალოსპ-ორინები. აღსანიშნავია, რომ TEM ტიპის გაფართოებული სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზებში 238 პოზიციაზე არსებული სერინის ნარჩენები გადამწყვეტია ცეფტაზიდიმის, ხოლო ლიზინის ნარჩენები მნიშვნელოვანია ცეფოტაქსიმის ეფექტური ჰიდრო-ლიზისთვის.

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 ცვლილ-ებებს. 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-5 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 5). 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 5. E.coli- ს დიაგნოსტიკა მრავლობითი PCR ამპლიფიკაციით (Autoimmun Diagnostika Gmb HESBL)

როგორც 5 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 5. 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 მიკროორგანიზმების 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, რეზისტენტობის მაკოდირებელი გენი KPC არ დაფიქსირდა ისევე, როგორც გელ-ელექტროფორეზის 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. აუცილებელია ფარმაცევტულ ბაზარზე არსებული მედიკამენტების შემადგენლობის ხარისხის მკაცრი კონტროლი სახელმწიფოს მიერ;

2. სასურველია კლინიკური მიკრობიოლოგიის, განსაკუთრებით ბაქტერიოლოგიის დარგში მკურნალი ექიმებისათვის ტრენინგებისა ჩატარება, რეზისტენტული შტამების სწრაფი ჩამოყალიბებისა და გავრცელების მიზეზებზე;

3. მულტიპროფილურ საავადმყოფოებში მიკრობიოლოგიური ლაბორატორიების გახსნა, რაც საშუალებას მოგვცემს დროულად მოხდეს ინფექციური დაავადების გამომწვევის დადგენა და განსაზღვროს ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძნობელობა; ეს ექიმს მისცემს შესაძლებლობას დროულად შეცვალოს მედიკამენტი იზოლირებული პათოგენის ტიპისა და მგრძნობელობის გათვალისწინებით.

4. სასურველია გაიზარდოს ექიმ-ბაქტერიოლოგების როლი ინფექციის კონტროლში, რომლებიც მკურნალ ექიმებთან და ეპიდემიოლოგებთან ერთად მიიღებენ მონაწილეობას სამედიცინი დაწესებულებაში რეკომენდაციების შემუშავებაში და წამყვანი მედიკამენტების ჩამონათვალის დადგენაში სტაციონარში;

5. 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, მნიშვნელოვნად შეამცირებს პაციენტის გაცემული სერვისის ღირებულებას;

6. 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;

7. მულტირეზისტენტული *E.coli*-ის შტამების ფართო და სწრაფი გავრცელება მოითხოვს მიკროორგანიზმების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის უწყვეტ მონიტორინგს და მათი რეზისტენტობის მექანიზმების ანალიზს, ასევე აჭარის რეგიონში ნოზოკომიური შტამების გავრცელების დაკვირვებაზე კონტროლის გაზრდას, გამკაცრებას და ნოზოკომიური ინფექციების შესახებ საავადმყოფოებიდან მიღებული ანგარიშების ადეკვატურობის აუდიტს

სადისერტაციო ნაშრომის ირგვლივ გამოქვეყნებული შრომები:

სადისერტაციო ნაშრომის ირგვლივ გამოყენებული შრომები

1.V. Tavadze1, L. Akhvlediani1,2, R. Khukhunaishvili1, T. koiava1. ANTIMICROBIAL DRUG RESISTANCE OF *ESCHERICHIA COLI* WHICH CAUSE NOSOCOMIAL INFECTION

2.V. Tavadze1, L. Akhvlediani1,2, R. Khukhunaishvili1, T. koiava1, M. Nagervadze1. Antibiotic Resistance Status of E.coli Isolated from Intensive Care Units of Adjara Hospitals

3.V. Tavadze1, L. Akhvlediani1,2, R. Khukhunaishvili1, T. koiava1. Genetic properties of blaCTX-M, blaSHV and blaTEM genes in ESBL producingE. coli clinical isolates

4.Koiava T1 , Gonçalves D2,3, Palmeira J2 , Arobelidze K.4 , **Tavadze V** 4 , Tediashvili M5 and Akhvlediani L.1 Ferreira H2 ,,MULTIDRUGRESISTANT ACINETOBACTER BAUMANNII IN ADJARA REGION" Article DOI: 10.21474/IJAR01/xxx DOI URL: http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/xxx ISSN:2320-5407

5.Farlow J*c,d, Nozadze Ma, Mitaishvili Na, Kotorashvili Ae, Kotaria Ne, Arobelidze Ke, **Tavadze Ve**, Simsive Te, Imnadze Pe, Latif Na, Nikolich Mb, Washington Ma, Hinkle MKb, Kwon Pa, and Trapaidze NaComparative genomic analysis of four multidrug resistant strains of Acinetobacter baumannii from the country of Georgia. **November** 2019Journal of Global Antimicrobial Resistance 21.DOI: 10.1016/j.jgar.2019.11.002.

საერთაშორისო კონფერენციები:

1.The 8th International Bacillus ACT Conference will be held October 1-5, 2017 in Victoria, British Columbia.Canada. ANTIBIOTIC RESISTANCE OF BACILLUS CEREUS ISOLATED FROM NOSOCOMIAL INFECTIONS (BATUMI GEORGIA)

2.11 th International Congress for Veterinary Virology-ESVV-EPIZONE 2018,Vienna27-30 August, 2018. Human Anthrax Meningitis in the Black Sea Coast, Country of Georgia.

3. Randomized, Double-Blind, Multi-Center Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Intravenous to Oral Solithromycin (CEM-101) Compared to Intravenous to Oral Moxifloxacin in the Treatment of Adult Patients with Community-Acquired Bacterial Pneumonia".International Meeting.Istanbul.2014.

4. ტრენინგი ცენტრალური აზიისა და აღმოსავლეთ ევროპის ეპიდზედამხედველობა ანტიმიკრობულ რეზისტენტობაზე (CAESAR) და ანტიმიკრობულ იმგრძნობელობის ტესტირების ევროპული კომიტეტის (EUCAST) მიერ შემუშავებული მიკების დაზონისდიამეტრებისინტერპრეტაცია.2-3 ივლისი, 2015წ. თბილისი. ლუგარის ცენტრი.მომხ.ქეთო არობელიძე, ,აჭარაში-გავრცელებული ნოზოკომიური ინფეციები და ანტიბიოტიკორე-ზისტენტობისპროფილი"

"Batum Shota Rustaveli State University"

Victoria Tavadze

Faculty of Natural Sciences and Healt Department of Biology

Identification of *E.coli,* which causes nosocomial infections in Adjara, and study of the antibiotic resistance profile

Academic degree of the Ph.D Specialty: Microbiology

A n n o t a t I o n

Leila Akhvlediani
Doctor of Biology, Associate
Professor of Batumi
Shota Rustaveli State University.
Rusudan Khukhunaishvili
Doctor of Biology. Professor of Batumi
Shota Rustaveli State University.

Batumi-2021

The dissertation was conducted by the Department of Biology of the Faculty of Natural Sciences and Health of the Shota RustaveliBatumiState University.

Scientific Leaders: **Leila Akhvlediani-Doctor of Biology, Associate Professor of Batumi Shota Rustaveli State University.**

Rusudan Khukhunaishvili- Doctor of Biology. Professor of Batumi Shota Rustaveli State University.

Foreign appraisers: Saule Akhmetova Karaganda Medical University Professor

Thanks to!

L.SAKVARELIDZE National Center for Disease Control and Public Health (NCDC) Paata Imnadze Chairman of the Scientific council; Chief Specialist, Doctor of Life StudiesTea Tevdoradze . NinoGugushvili, Head of the Adjara Division, National Center for Disease Control and Public Health.

University of Cporto; Faculty of Pharmacy, Head of Laboratory of Microbiology, Professor Helena Ferreira Neto.

Introduction

Relevance of the research topic:

Antibiotic resistance is one of the most important and global health problems, as it quickly spreads and increases the types of microorganisms, which are resistant to several antibiotics (Jacopin .... 2020; Khan 2020). Formation and distribution of sustainable strains, as well as incorrect use of antibiotics among people, unsatisfactory hygienic and sanitary conditions complicate control over health care infection, as well as in the field of animal husbandry and poultry farming (Yang 2009, Boonyasiri …2014).

In the fight against antibiotic-resistant, the main directions are: the organization of monitoring of the system, which determines the circulation of sustainable microorganisms and their gene resistance, development and implementation of a single standardized methodology to determine the sensitivity of microorganisms to antibiotics. Criteria for knowledge of resistance mechanisms and interaction based on pharmacodynamics-pharmacokinetics make it possible to improve, make effective monitoring not only at the level of individual hospitals, but also in the region and in the country. On the other hand, the problem of antibiotic resistance is poly-resistance to the global spread of microorganisms, this contributes to globalization, which is the result of mass migration of the population in different countries.

In the modern world, a patient who is located in the hospital in another country of the world may apply to the doctor. Patient "International" This may be a person who is forced to live in another country due to natural disasters; as well as a tourist who is hospitalized while traveling due to accidents; The patient who receives medical care medical tourism is cheaper than in his country (dentistry, ophthalmology, etc.).

Hospitalization in the hospital in another country is accompanied by a risk of infection with poly resistant microorganisms that move from

the patient to the patient from one country to another, where they did not apply earlier. It is clear that monitoring of such microorganisms should be conducted at the international level(Antimicrobial Resistance… 2014; Singh… 2012).

Along with other microbes, antibiotic-resistant strains were observed in enterobacteria, especially in relation to beta-lactam. One of the most common and clinically important mechanisms (MOGLAD ..... 2020) in the formation of the resistance of enterobacteria against beta lactam antibiotics is the beta lactamase ESBL

ESBL is an enzyme that causes resistance to β-lactam antibiotics. Among them: Penicillin, cephalosporins, monobactams. Infections caused by bacteria are characterized by frequent mortal cases (Hashemi B .... 2018). In different countries of the world, antimicrobial resistance to the third generation cephalosporins was recorded.

One of the best examples of antibiotic resistance is poly resistant to drugs, and ESBL producing *Escherichia coli*, which can cause life-threatening infection (Pormhammad ... 2019). It is true that *E. coli* is part of a human intestinal flora, but it can cause diseases such as urinary tract diseases and diseases of the central nervous system.

Animals are an important *E. coli* tank, and the use of antibiotics in these animals is an *E. coli* antibiotic resistance source for people, as it is transmitted to man through direct and indirect contact. To begin effective treatment of infection, it is necessary to have information not only about the distribution of this infection, but also the sensitivity of infection to antibiotics.

Based on the above, to identify the formation mechanisms of resistant bacteria are of great importance to develop methods to combat antibiotic resistant strains.

Structure and dissertation of thesis:

The dissertation contains 3 chapters: literary reviews, research facilities and methods, experimental part, conclusions and used

literature. (List of tables -12, charts -8, images -21, antibiotics used in the study; primers used in the study; literature 109).

Objectives and purpose

Based on the foregoing, the purpose of our research was the detection of nosocomial infections caused by *E.coli*, their identification, detection, molecular genetic substantiation of resistance

The following objectives were pushed in dissertation:

- Collecting materials from nosocomial infections from suspicious patients;
- Phenotypic study of antibiotic resistant strains and determining the reasons for resistance;
- Bacteriological examination of the sample to determine the possible bonds of the disease in the material;
- Creating an Isolate Bank for further molecular genetic studies;
- Antibiotic gram, microbe sensitivity determination;
- Identification of the production of β-lactamase (ESBL) of a wide range of action;
- DNA release from culture and study of the genetic profile in order to detect resistance.

The object of research and methodology

As an object for the study was taken the causativeagent of nosocomial infections -*E. coli*

Material for research was examination of immunocompromising patients in the intensive care unit for infections of the respiratory tract, intra-abdominal organs, skin and soft tissues, urinary tract and blood after 48 hours or more (total 540): sputum, urine, wound swabs, blood, venous material and material from bladder, from the surface of the catheter tip. Total ,540 samples were analyzed. Of the samples which were taken, 236 did not meet the following empirical criteria provided by our study:

/ The sample was contaminated ;

/ The study did not identify etiologically significant microflora;

./Indicated Candida and gram-positive bacilli.

And only from 82 samples, a gram-positive bacteria were sown. Of the remaining 222 specimens, representatives of the Enterobacteriaceae family and other gram-negative bacilli were identified. Of the 222 samples listed above, E.coli was identified in 48 samples, of which 22 were antibiotic-sensitive and 26-resistant, 23 of the latter being ESBL derivatives.

The bacteria were isolated and identified by standard bacteriological methods, namely by sampling from the appropriate nutrient zones and then by separating the pure culture. Finally, cultures were identified using the API test, and antibiotic susceptibility was determined by Kirby-Bauer diffusion and E-test. The double disc method was used to determine the producers of *E. coli* broad spectrum beta-lactamases (ESBL).

A total of 540 samples were examined, of these, 26 were resistant, and 22 were susceptible to antibiotics, of the latter found the ISBL produce.

The bacteria were isolated and identified by standard bacteriological methods, namely by sampling from the appropriate nutrient zones and then by separating the pure culture. Finally, cultures were identified using the API test, and antibiotic susceptibility was determined by Kirby-Bauer diffusion

Sustainable strain genotypes were studied using polymerase chain reaction methods (RAPID-PCR, Multilex PCR) and gel electrophoresis methods.

Genes of the class ESBL TEM, ESBL SHV and CTX-M were found in these samples as a result of molecular studies of genes causing phenotypic genotypic correlation and resistance.

The multiresistance genes detection have been carried out by the reversehybridization method.

Based on the results of the study, pathogenic strains of E.coli showed 100% resistance to the following antibiotics: FEP-cefepim, CXM-cephaloxime, CRO-cephalaxone, CAZ-Ceftazidim, CTX-Cefotaxime, ATM-Astreonam and AMP-Ampicillin. It should also be noted that the vast majority of the above antibiotics are beta-lactam antibiotics in the broad spectrum and the reason for their resistance is the ability of E.coli to produce beta-lactamase in the extended spectrum of ESBL-extended spectrum. It is known that the mastic gene for beta lactamase is located in the plasmid and is easily spread. As for carbapenems, about 85% retained efficacy against IPM-imipenem and MEM-meropenem.

As a result of our study, CIP-ciprofloxacin had a resistance of up to 70% in *E.coli* isolates, with the same rate of LVX-levofloxacin, AMC-amoxacillin, DOX-doxycycline, and SXT-trimethoprim/sulfamoxazole.

From aminoglycosides - AMK-amikacin was relatively effective and 73% of isolants were sensitive to it, and in the case of gentamicin only 42%.

Based on our research, it can be said that only four antibiotics can be used as effectively as possible against *E.coli*, such as CST-colistin (almost 100% susceptibility), PIP/TZP-piperacillin/tazobactam (88%) , IPM and MEM meropenem 85% sensitivity.

Molecular-genetic research has revealed CTX and KPC genes in strains of *E.coli* that cause reproductive nosocomial infection in ESBL. In phenotypic-resistant strains with penicillins, 3rd and 4th generation cephalosporins, and inhibitors, CTX, TEM, and SHV genes were detected in phenotypic-resistant strains, and in two samples with wild genes, ESBL class TEM type mutant genes were observed: TEM AS 104 E, TEM AS 238 .

Scientific news:

- For the first time in Adjara, a study was conducted in the dissemination of nosocomial infections caused by *E. coli;*
- It was determined by the role of *E. coli* in nosocomial infection among the grams of negative bacteria.
- The data were obtained from nosocomial strains registered in the intensive care and therapeutic departments sensitive to antibiotics.
- For the first time in the Adjara region, the circulation of *E.coli* resistance genes was determined.

Scientific and practical value

Considering the data obtained of ESBL-reproductive *E. coli*, will be given a recommendation for the National Center for Disease Control detect all diagnostic strains for the production of β-lactamase;

The most effective antibiotics for *E. coli*-resistant strains have been identified, observed in resuscitation and intensive-therapeutic departments of Adjara hospitals;

Antibiotics have been identified ,but have lost their effectiveness at this stage in relation to E. coli, which cause of nosocomial infection; This information will be provided to both the National Center for Disease Control and doctors in hospitals in the Adjara region;

. Also, the data will be transferred to the relevant health services for the development of etiotropic and empirical therapeutic measures.

Microbiological research methods:

- ESBL confirmation method;
- Dual disk synergy test (DDST) ;
- KarbaBauer's disk diffusion method ;
- E-TEST system.

Research on biochemical methods:

- Primary biochemical tests;
- Biochemical test for API20E microbial identification.

Molecular methods of research:

- DNA-extraction;
- Polymerase Chain Reaction Method (PCR);
- Electrophoresis in Agarose gel;
- Revers hybridization method.

Literary Review

Nosocomial infection (Latin: nosocomium - hospital, Greek word: nosokomeo - care for the sick). According to the European Regional Bureau of the World Health Organization, nosocomial infection is any clinical infectious disease that develops in the patient during treatment or care. Also, any infectious disease of the hospital staff, developed as a result of its work in the same building, which has nothing to do with the detection of symptoms (being in the hospital / or not). Infections are considered to be hospitalized if they develop after at least 48 hours of hospital admission (excluding cases where the patient is admitted to a medical facility during the incubation period of infectious disease, the duration of which is not more than 48 hours).Nosocomial infections are a serious medical-social, economic, and legal problem in individual intensive care.

Microorganisms are considered to be the source of nosocomial infections that have adapted to existing conditions during long-term stay in the hospital. It can be fungi, bacteria, and viruses. In most of Georgia's multifunctional inpatients, bacteria are found to cause nosocomial infections, although their percentage is within the area of the hospital. It depends on the population of patients, the localization of infection, the routine practice of using antibiotics, the infectious control of the methods used, etc. (Vincent..2003; T. Koiava... 2017). Gram-negative bacteria have been among the leading causes of nosocomial infection in hospitals in different countries in recent years. Patients who undergo a course of treatment in the urological department, as well as in patients

with resuscitation and intensive care, are particularly often infected with *E.coli* infection (Stephen..2001). Frequent causes of infection in patients are the use of diagnostic and medical devices, as well as low hygiene of medpersonal hands. Cases of ventilator-associated pneumonia have been investigated, as well as blood infections associated with central intravenous catheters in urinary tract infections. The main cause of urinary tract infections is *E. coli* . In a number of other studies, *E. coli* was not found to be the predominant causative bacterium, although its share was quite significant. Noteworthy is the localization of caused by *E. coli* in different places: lower respiratory and infections of urinary tract, skin and soft tissues, intraabdominal, ect. (Arndt ...2011).

Resuscitationand Intensive Care Departments differ from other multifunctional inpatient subjects in that it is here that there is constant contact between the patient and the medicalpersons. In addition, patients are subjected to numerous invasive procedures. Prolonged use of antimicrobial drugs in these departments creates conditions for the selection of strains that have developed resistance mechanisms to antibiotics. This increases the resistance of previously sensitive gram-negative bacteria. For example, such as *E.coli, Klebsiella spp, Acinetobacter Bauman, Pseudomonas aeruginosa, Citrobacter spp.* Most of all, these microbes are the cause of infections in the hospital.

The problem of combating the causes of nosocomial infections has long been missed within a particular country and has been acquired worldwide. This is evidenced by the 2001 Janmo-Smier designed global trend, which emphasizes the need to decipher molecular mechanisms of resistance in order to create new means of diagnosing resistance. Studies in this area are intensive. Therefore, the study of the prevalence of these infections is a study of susceptibility to antibiotics, and the subsequent determination of the causes of antibiotic resistance is important and does not lose relevance. Like other countries, Georgia has faced rapid spread of nosocomial infection. The Georgian government has issued an

ordinance on №29 on January 11, 2017, based on the issue of the alarming rise of antibiotic-resistant strains, on the basis of which the 2017-2020 National Strategy for anti-microbial resistance was published.

Results and their judgment

In the clinics of the Adjara region, in order to determine the etiology of nosocomial infections caused by *E.coli* and to study the profile of antibiotic resistance, the study was conducted in two stages:

- Separation of *E.coli* from biological materials and phenotypic detection of antibiotic resistance ;
- Detection of resistance-encoding genes.

The experiment was conducted mainly in samples taken from suspected patients on nosocomial infection of three multipurpose clinics in the city of Batumi. Patients in the clinic are the highest risk groups for infection with nosocomial pathogens due to constant contact with medical staff and a large number by cause of invasive procedures. (Teresa …2019) An additional factor may be antibiotic therapy, which is used almost regularly against these patients, which contributes to the selection of antibiotic-resistant strains. Since *E.coli* is associated with many different human infections, pathogen detection is possible in different biological materials. We isolated the strains of *E.coli* from the biological material: urine, blood, liqueur, sputum, and smear from the wound. Washes from central vein and urine catheters were also used.

Results of E.coli antibiotic resistance study

In the first stage of the study, we performed phenotypic detection of antibiotic sensitivity. The experiment included isolating and identifying bacteria using standard bacteriological methods: sowing samples in food areas, then isolating and identifying pure culture. Sensitivity to *E.coli* antibiotics and screening for a wide range of β-lactamase derivatives (ESBL) have been studied.

The study, conducted by us, examined 540 samples.

Of these samples, 236 did not meet the empirical (material suitability criterion)

Criteria provided by our study:

/Sample is contaminated ;

/ The study did not identify etiologically significant microflora ;

./Indicated Candida and gram-positive bacilli.

Gram-positive bacteria were extracted from 82 samples. Of the remaining 222 specimens: sputum - 89, blood -52, urine - 47, biological fluid taken from the tip of the vein and bladder catheters - 22, wound smear -12.

Of the 222 samples studied, *E.coli* was identified and identified from 48, of which 26 were found to be multiresistant, accounting for 54% of the allocated *E.coli*.

The following gram-negative bacilli were identified from 174 specimens: Klebsiella spp, Acinetobacter baumani, Pseudomonas aeruginosa, Citrobacter spp, Enterobacter cloacae, Serratia marcescens. In all the hospitals in Adjara that were involved in our research, Klebsiella spp. was prevail.

Studies have shown that *E.coli* accounts for 21% of the population of gram-negative bacteria and 12% of the resistant *E.coli* population. *E. coli* was sampled as follows: urine - 6 strains (12.8%), sputum -12 (13.5%), blood -2 (3.9%), smear from wound -1 (4.5%), exudates -5 (22.7%) (Table 1).

Table 1. E.coli is extracted from samples

Name of biological material	**Total number of samples examined**	**Results of *E.coli* seeding**	**Number % E.*Coli* seeding**
Urine	47	6	12,8
Sputum	89	12	13,5
Blood	52	2	3,9
Smear from wound	12	1	4,5
Biological fluids taken from the catheter	22	5	22,7

Quantitatively, the identification of *E.coli* predominates over sputum samples, but at the percentage ratio *E.coli* predominates in the prevalence of biological fluids (Diagram 1). These samples are taken from catheters, which may be related to *E.coli's* ability to form biomembrans. (Elio…2018)

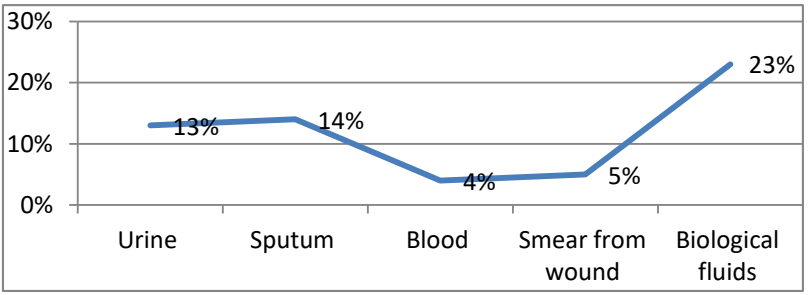


Diagram 1. % Ratio to various biological materials of seeding cultures.

Microbiological analysis of antibiotic resistance of samples

As a result of phenotypic studies of antibiotic resistance, the use of the disc-diffusion method and ESBL-proof tests has been shown to be quite severe in Adjara, in terms of *E.coli*-resistant strains in terms of detection. Antibiotic sensitivity has been studied using a disc-diffuse method where different antibiotic groups and generations have been

used. The susceptibility of the microorganism was calculated in accordance with the European-EUCAST (European Commission on Antimicrobial Susceptibility Testing) The study used the EUCAST standard-version 9.0 (effective from 01.01.2019). Antimicrobial susceptibility discs (50 pieces in matrices) were used by Bio-Rad. Table №2 lists the antibiotics used to determine the antibiotic sensitivity of E.coli.

Table 2. Antibiotics list and abbreviation

N	abbreviation	antibiotics	Concentration (microgram)	Ingibition area (mm)
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

CefalosporineII-generation:Cefuroxime,
III-generation Ceftriaxone,Ceftazidime,Cefotaxime,
IV-generation Cefepime.

Penicilin and its combination with beta lactam inhibitores

Ampicillin, Amoxicillin/clavulanic acid, Piperacillin/tazobactam.

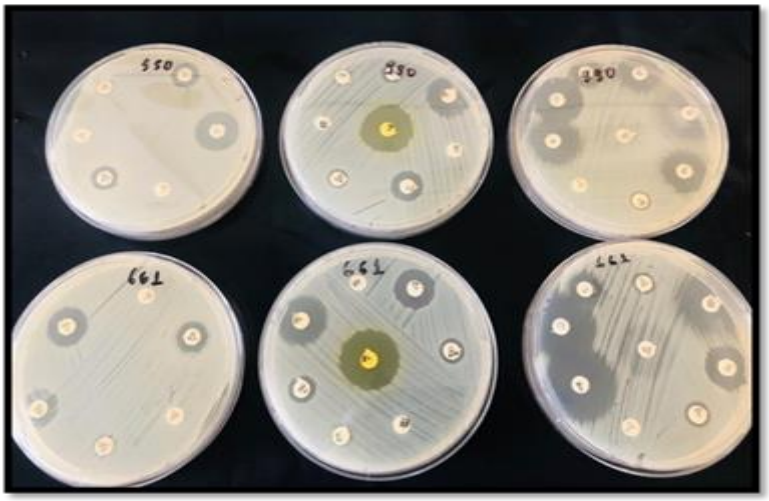
Carbopinemes : Meropenem,Imipenem.

Fluoroquinolones II-generation:Ciprofloxacin, III-generation Levofloxacin.

Aminoglycosides : II-generation Gentamicin,III-თაობა Amikacin.

Monobactames:Aztreonam.

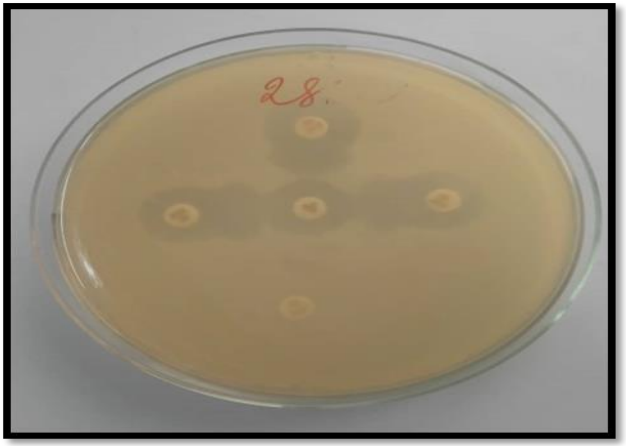
The antibiotic sensitivity test clearly showed a high resistance of *E.coli* to the antibiotics used (pic. 1).



Pic 1. E. Coli's antibiotic sensitivity

As part of our study, all strains that showed resistance to β-lactam antibiotics were tested for β-lactamase production (ESBL) with a double disc synergy test. As can be seen from the picture (pic. 2), the inhibition zone between third-generation cephalosporin and clavulanic acid discs indicates the presence of ESBL in the study strains. As a result of our screening of 26 resistant strains that showed resistance to cephalosporins, 23 strains were found to reproduce ESBL, accounting for 88% of the total number (Diagram 2.). Because most of the isolators

were ESBL reproducers and only 3 isolates were the exception, and this was such a small amount that comparing the antibiotic-sensitive profile between the ESBL reproducer and the ESBL non-producer would not be valid and unfulfilled. It should be noted that the antibiotic resistance of ESBL non-productive isolates was also quite high.



Pic 2. Double disc synergy test

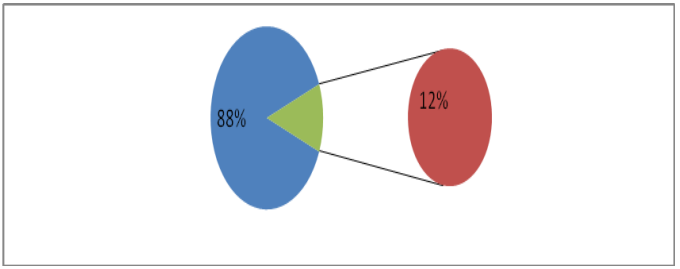


Diagram 2. Positive and negative profile of ESBL reproducing E.coli

Since until 2017, the EUCAST standard for colistine was determined by the E-test, and our research has already begun, part of the strains have been tested by the relevant EUCAST standard. Determination of colistine sensitivity within our study continued with

two different MIC-methods, which would allow us to correlate the results obtained. In parallel with the E-test, sensitivity to Colistin was performed by serial dilution method using a set of MIKROLATEST reagents. The results of both tests were identical to those of colistine. The clinical control points of the minimum minimizing dose of colistine were ≤ 2 mg / ml. All examined strains were sensitive to colistine.

A detailed review of each isolant found that 100% of urine isolates were resistant to penicillins, cephalosporins, and monobactans.

In a detailed review of each isolate, it was found that 83% of urinary isolates were resistant to CIP-ciprofloxacin, LVX-levofloxacin, and DOX-doxycycline, 67% resistant to AMC-amoxicillin/clavulanic acid and SXT-trimethoprim. The highest susceptibility of *E.coli* isolates (100%) was observed to CST-colistin, IPM-imipenem, and MEM-meropenem, while PIP/TZP-piperacillin/tazobactam (83%) and 67% compared to AMK-amikacin relatively less (diagram 3).

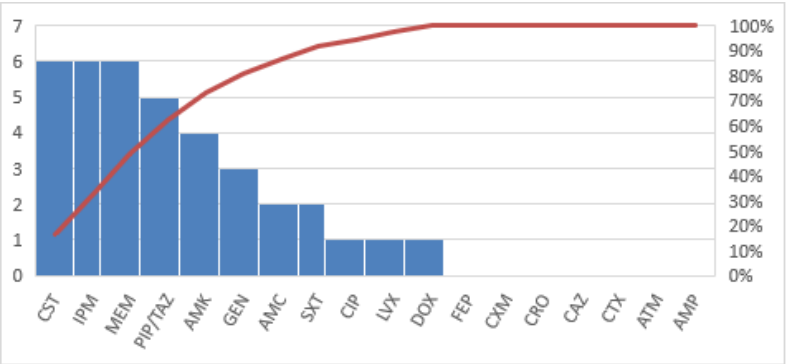


Diagram 3. Antibiotic sensitivity of E.coli separated from urine samples

Isolates of intestinal sticks separated from sputum have been found to be highly resistant to 7 antibiotics. In particular, 100% resistance to the following groups was detected: penicillins, cephalosporins, and monobactans. Less than 30% sensitivity was observed to second-

generation fluoroquinols and aminoglycosides. Such sensitivity was observed to sulfonylamide. 50% less susceptibility to third-generation fluorquinols and beta-lactamase inhibitors, particularly AMC. And third-generation aminoglycosides maintained sensitivity at 50%. As for CST, PIP/TZP and carbapenems, on the contrary, 100% and 90% sensitivity were observed (diagram 4).

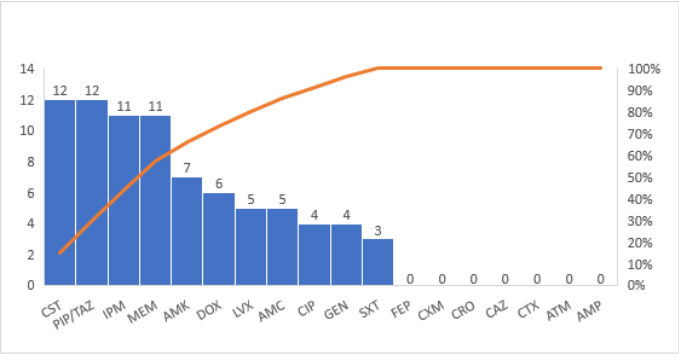


Diagram 4. E.coli separated from sputum specimens

In biological fluids, a study of isolants from vein and bladder catheters found that E.coli was resistant to 6 antibiotics. In particular, 100% resistance to the following antibiotics was detected: penicillins, and cephalosporins. 80% resistance was observed in CIP, LVX, AMC and SXT. Three strains were resistant to carbopenems, which reduced sensitivity to this group by 40%. 60% sensitivity to monobactam was observed. 100% sensitivity to E.coli was maintained for only 2 antibiotics - CST and AMK, and 80% to one, namely PIP/TZP (Figure 5)

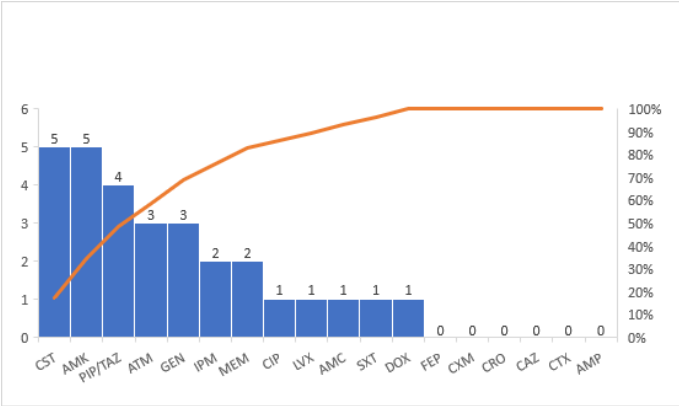


Diagram 5. Antibiotic sensitivity of E.coli separated from catheter runoff samples

As for blood-identified isolants, the two showed resistance to penicillins, cephalosporins, fluorquinols, aminoglycosides, monobactamines, and sulfonylamides. Two islonates showed sensitivity to carbopenems and colistine. One blood isolator maintained sensitivity to peparacillin/tazobactam, amikacin, and amoxacillin/clavulone (Diagram 6).

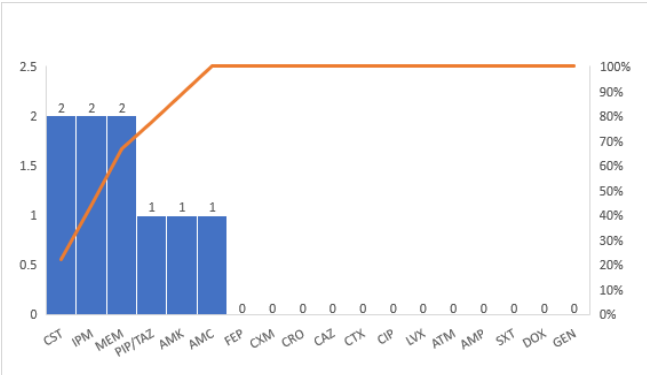


Diagram 6. Antibiotic sensitivity of E.coli separated from blood samples

One of the isolates identified by the wound revealed multirection. In particular, it has been shown to be resistant to the following

antibiotics: penicillins, cephalosporins, monobactamines and sulfonylamides. And fluoroquinols, aminoglycosides, carbopenems, colistine, and inhobitors were observed to be susceptible (Figure 7)

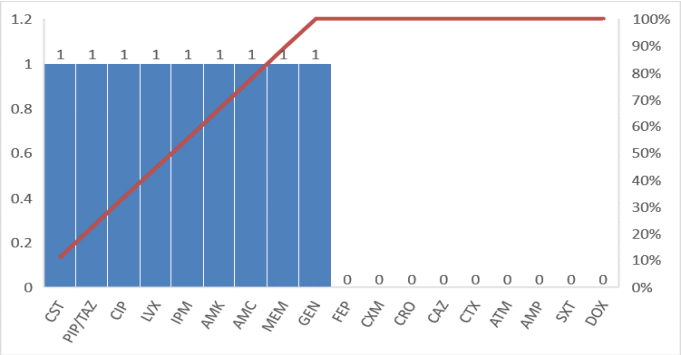


Diagram 7. Antibiotic sensitivity of E.coli separated from smear wound samples

Thus, the antibiotic resistance of *E.coli* isolated in the resuscitation departments of Adjara medical institutions was quite high. If we consider all kinds of samples together, all isolates have shown 100% resistance to the following antibiotics: resistance to cephalosporins and penicillins. Such high resistance to cephalosporins is not common, but has been described by some researchers, such as CTX-Cefotaxime 71.2%, CAZ-Ceftazidim 54.0%, FEP-Cephepim 54.0%, Korshunkova, and a group of researchers (Kutsevalova...2020). It should also be noted that the vast majority of the above antibiotics are beta-lactam antibiotics in the broad spectrum and the reason for their resistance is the ability of *E.coli* to produce beta-lactamase in the extended spectrum of ESBL-extended spectrum. It is known that the mastic gene for beta lactamase is located in the plasmid and easily spreads. A new class of beta-lactam antibiotic monobactamate ATM-aztreonam has been found to be ineffective. In the case of carbopenems, 85% of isolates against IPM and MEM-meropenem have maintained sensitivity. Almost similar efficacy

against these antibiotics *E.coli* has been found by various authors (imipenem - 97%,) (Meropenem - 98%) (Kutsevalova …2020).

ESBL-extended spectrum beta-lactamase masseur *E.coli* is characterized by associated resistance to other antibiotics. For example, gentamicin accounts for 80% to 40–60% of ciprofloxacin (Hoban...2011).

As a result of our study, CIP-ciprofloxacin had a resistance of up to 70-80% in *E.coli* isolates, with the same rate of LVX-levofloxacin, AMC-amoxacillin, DOX-doxycycline, and SXT-trimethoprim/sulfamoxazole. 74.6% resistance to ciprofloxacin has been described by cyber and co-authors (Kibret&Abera... 2011), which is close to our results. From aminoglycosides - AMK-amikacin was relatively effective and 65% of isolants were sensitive to it, and in the case of gentamicin only 35%. A similar resistance to aminoglycosides was described by the author (Смольянинова ..2020), where the resistance of E. coli to polyresistant strains was 37%, and E. coli-multi-resistant even 53.3%.

Based on our research, it can be said that only four antibiotics can be used as efficiently as possible against *E.coli,* such as CST-colistin (almost 100% susceptibility), PIP/TZP-piperacillin/tazobactam (88%) IPM and MEM-meropinem (85%) (diagram 8).

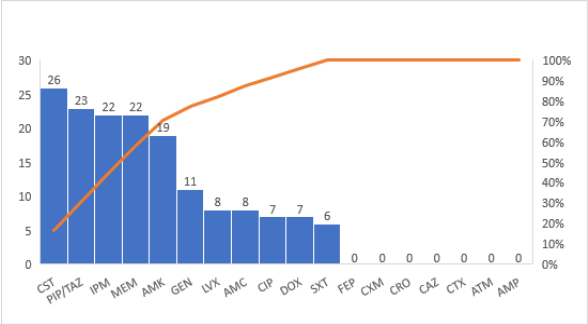


Diagram 8. Antibiotic sensitivity of E.coli separated from the samples

Such a high rate of antibiotic resistance is due to a number of reasons, namely: not all medical facilities have a microbiological

diagnostic laboratory, so it is often necessary to apply to the laboratory of the Adjara region of one local disease control center to determine antibiotic sensitivity. The antibiotic-sensitive test itself takes 48-72 hours for incubation, so this is another extra time that often does not have a patient placed in the resuscitation department. All of this makes it forced the doctor to use a wide range of antibiotics, often completely ineffective.

The next reason is the unintentional use of antibiotics in outpatient practice, and in some cases it is attached to it, incorrect selection of antibiotics by a doctor and incorrect dose, or even the use of large amounts of generics in the pharmaceutical market, the quality of which is almost impossible to control.

Antibiotics are also used arbitrarily and uncontrollably by patients. Unfortunately, it is often impossible to control this because the purchase of atibiotics in the pharmacy network takes place without any prescription, even though the law on health care was amended in 2015 on the need for a prescription, but unfortunately failed to enforce the law effectively.

Another major problem is the use of antibiotics in livestock, poultry and fisheries, which then reach the human body with a chain of food products.

All of the above can lead to the rapid proliferation and spread of resistant strains among the population not only in our region but also beyond its borders, as Adjara is a resort area visited by a lot of tourists from different countries.

Results of molecular research of *E.coli* ESBL reproductive strains

It is impossible to determine the exact causes of antibiotic resistance without identifying genetic determinants. Only molecular-genetic studies that allow for the detection of mutations in the bacterial genome and the exact detection of genes responsible for resistance allow for phenotypic studies that allow for the determination of a reliable

image. Therefore, at the next stage of the study, we performed a molecular analysis of the resistant strains detected by microbiological and biochemical methods. Therefore, in the next stage of the study, we performed 15 isolates selected from 23 ESBL produce strains using resistant strains detected by microbiological and biochemical methods: № 254, № 832, № 528, № 287, № 990, №722, №189, № 989, №440, №720, №861, №812, №28, №591 ᲓᲐ №436 The selection criterion was based on the detection of the antibiotic resistance profile of these isolants:

4 Isolants (from №254-view, №722, № 436 and №832 -biological fluid from urine and blood catheters) showed resistance to carbopenems

3 Isolants (№861, №591-blood and №990-wound) has shown multiple resistance ;

. 8 Isolants (№ 287, №812, № 989-urine, №189, №28, № 528, №440-sputum, №720-biological fluid from urine and blood catheters), which was resistant not only to penicillins and cephalosporins, but also to inhibitors.

In order to detect and specify resistance-encoding genes, samples were analyzed using methods proven in clinical microbiology: PCR (RAPID-PCR and multiplex PCR) and reverse hybridization. It has been established that *E.coli* is mainly the cause of ESBL resistance to pathogenic strains as a result of point mutations in TEM and SHVtype genes.

In recent times, however, there has been a sharp increase in resistance to CTX-M family genes (Yusha'u....2015; Hassuna....2020) We have determined the range of resistance for ESBL-generating resistant strains, by molecular-genetic analysis we have identified and identified CTX, IMP, VIM, OXA-48, NDM, KPS, TEM and SHV genes. The analysis of the multiplex PCR method allowed us to simultaneously obtain amplicons of genes of interest to us. Couples of specific primers R (revers) F (forward) were used for these genes (Table 3).

Table 3. Primers used for molecular identification of E.coli

gene	sequencing(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´
blaVIM	*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

Gel-electrophoresis and reversible hybridization were performed to detect genes. The use of alternative approaches to the visualization of amplicons is not only for resistance-encoding genes

It allowed us to detect point mutations in genes.

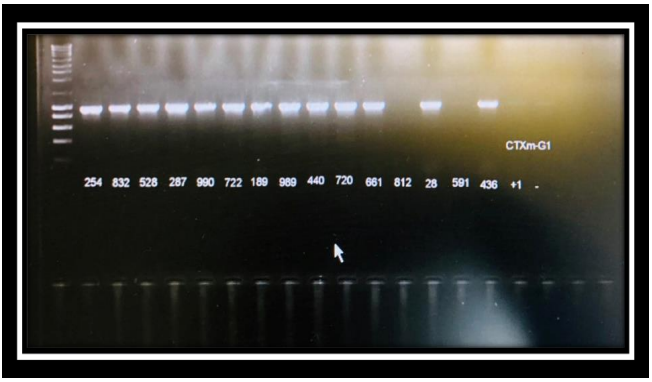
In order to detect 15 strains of CTX, IMP, VIM, OXA-18, NDM, KPC genes selected from our research bank of *E coli*-resistant crops, gel-electrophoresis was performed in a 1.5% agarose gel. Extraction was performed using GeneMATRIX Viral RNA/DNA Purification Kit. The reaction mixture (Sigma) was used for the reaction and the PCR results were read on the platform of the BIO-RAD firm amphitheater. The study was conducted in St. Petersburg. Faculty of Pharmacy, University of Porto (Portugal). In parallel, 7 strains were selected from 15 strains. These strains were identified by reverse hybridization method for the

presence of CTX ,, KPC, TEM, and SHV genes. In the study, we used (AID Autoimmun Diagnostika GmbH, Germany) a set based on a multiplex PCR followed by a reverse hybridization using Sequen-specific oligonucleotide probes. The study was conducted at the National Center for Disease Control and Public Health in Georgia (NCDC).

Genes: CTX and KPC amplicons were tested by both methods to determine the validation of the experiment. We were particularly concerned with the CTX gene, which was due to the recent increase in the frequency of spread of this gene between the nosocomial strains of *E. coli* (Hassuna ...2020).

To identify CTX -M1 genes and genotype phenotypic correlations, we conducted a PCR study in the clinical isolates of Escherichia coli, a derivative of the expanded spectrum beta lactamase. № 254, № 832, № 528, № 287, № 990, №722, №189, № 989, №440, №720, №861, №812, №28, №591 და №436. It is noteworthy that more than 172 variants of the CTX gene are known at this time, and six different groups of the CTX-M type are known. Despite the many variants of CTX genes, the most widespread is still the CTX-M-G1 group. CTX-M-G1 has been identified in isolates derived from enterobacteria in different regions of the world (Zhao...2013).

The results of the molecular analysis of the CTX-M-G1 gene conducted by us are presented on an electropherogram (pic3). The length of the gene matching fragment is 585 bp. In gene amplification products, this gene was detected in 13 strains: № 254, № 832, № 528, № 287, № 990, №722, №189, № 989, №440, №720, №861, №28 და №436. Although all samples presented on the electropherogram are phenotypically resistant strains, in two cases no CTX-gene was detected.



Pic 3.E.coli- PCR CTX-M-G1 gene

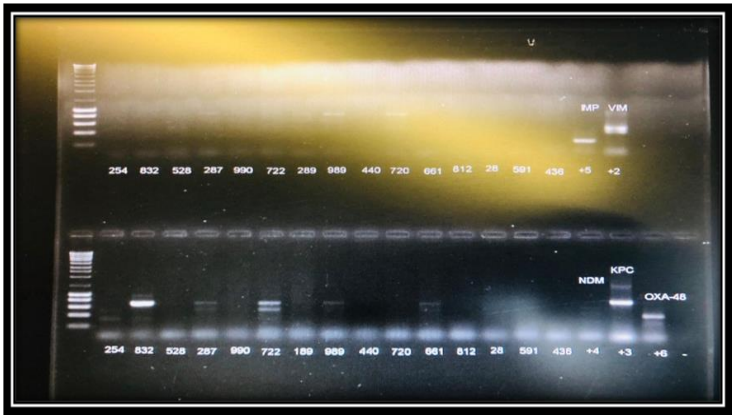
Carbopenamate-coaginating genes play an important role in the formation of bacterial antibiotic resistance to carbopenes. However, the synthesis of carbopenamases in *E.coli* strains is not as intense as in other microorganisms, although recent studies have shown that carbapenemresistant genes have been observed in *E.coli* isolates as well. It is thought that very soon he may acquire clinical significance (Galdino da Cruz Silva...2020).

After determining the profile of antimicrobial resistance in the four (№254, №722, № 436, №832) samples studied by *E. coli* carbopene resistance was observed. So many, these patterns proved interesting in terms of molecular research.

Accordingly, we examined the samples examined on the CTX gene for sulfur-containing - OXA-48,KPC genes and metalobetalactamases - NDM, IMP, VIM genes.

The electrophoregram shows that no MBL reproductive strain has been observed, as evidenced by molecular-genetic methods of research. The absence of MBL-reproductive strains is a positive sign because VIM-, IMP- and NDM-carbapenemases have a higher catalytic activity, an extended range of substrate specificity involving almost all β-lactamabi and indifferent aria-lactamase inhibitors. And the KPC gene was

observed in two of the four phenotypically resistant strains: №832 and №722 (pic.4). The length of the fragment is 753 bp. During the research process



Pic. 4.E.coli on PCR OXA and KPC NDM MP VM genes

Table 4 The result of the molecular identification of

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

Analysis of the results of the study showed that the results of phenotypic and molecular-genetic studies of antibiotic resistance are not always complete. Thus, in four phenotypic-resistant strains of carbopenem, which accounted for 27% of molecularly studied isolants, only in two cases (13.5%) was the KPC gene identified for resistance to carbopenems. In two cases, the KPC gene was not confirmed (Table 4). The above can be explained by the fact that phenotypic resistance is due to various resistance mechanisms: a porin defect that does not allow the antimicrobial drug to penetrate inside the cell and also by expelling the drug (Eflux) from the cell (Elshamy..2020). It should also be noted that the sensitivity of phenotypic analysis to mutations is relatively low. Nevertheless, in some cases, these methods of research are actually based on an identical result, which was well established based on the study of CTX-M-1 gene resistant strains of E. coli. This gene was detected in 13 strains, accounting for 87% of the strains we examined. Such a high detection of the CTX-M-1 gene was observed in 92.3% in Ethiopia and is described by the author (Zeynudin...2018). It can be assumed that the multiple resistance of antibiotics observed in our strains was due to the presence of the CTX-M-1 gene. CTX-M-1 gene carrier E. coli polyresistence against antibiotics is described by the author (Kesavaram.....2016). Detention in two strains of the CTX-M-1 gene was not detected, which may be due to other resistant determinants.

Thus, these two methods really complement each other, and a complex approach increases the validity of research results. Detection of carbopenemases in nosocomial specimens is an alarming signal due to the tourist significance of the Adjara region, as these genes are easily transmitted through plazid and transposons and may be the cause of the formation and spread of epidemiologically endangered polyresistential strains.

In addition, 7 isolants selected from 15 strains (№254,№ 436, №861, №990, № 989, №812, № 720) tested the presence of CTX, KPC, TEM,

and SHV genes using the Rever hybridization method. The reverse hybridization method allowed us to simultaneously identify various genetic determinants: CTX-M, TEM AS 104 E, TEM AS 164 R, TEM AS 238 G, TEMAS 238 S, SHV AS 238/240, and KPC.

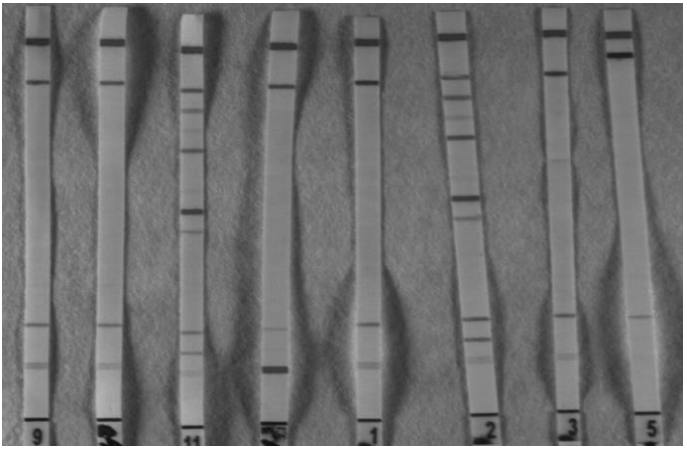
Also, perform a detonation of mutant forms of beta-lactamase type genes.

The study identified the most well-known representatives of beta-lactamases containing sulfur group - TEM and SHV genes. It is these betalactamase genes that are most commonly found in intestinal sticks and other enterobacteria. Mutations in TEM-type enzymes The amino acid changes in relatively limited positions occur, but in these positions, for example, glutamate / lysine 104 position, arginine / serine / histidine 164 position, glycine / serine 238 position, and glutamate / lysine 240 position. It is thought that the formation of mutational variants is the result of selection of fluctive changes, and not beta-lactamases of one particular agent selection (Rahman...2018) are the most effective hydrolysis of penicillins. Enzymatic mutants are included in the extended spectrum group of betalactamase, which can effectively decompose not only penicillins but also cephalosporins of I-IV generations. It should be noted that the residues of serine in position 238 in beta-lactamases of the extended range of TEM type are crucial for the effective hydrolysis of ceftazidim, while lysine residues are important for the effective hydrolysis of cefotaxime.

To determine resistance mechanisms, TEM-type beta-lactamases are particularly interesting because their decoding genes are the result of the longest evolution and most often undergo mutations (Gregory)... 2017). SHV genes, unlike TEM-type beta-lactamase genes, are less susceptible to change. Nevertheless, SHV type beta-lactamases are no less interesting because resistance mechanisms are based on genetic characteristics. The genes encoding of this enzyme are localized in both bacterial chromosomes and plasids (Stepanova ...2011).

Pic.3 shows multiple PCR ampflicons on nitrocellular membranes in the form of lines that are localized to different positions.

Based on the analysis of the results obtained, we can conclude that the resistance of research strains was due to the presence of several genetic determinants simultaneously (Tabl 5). Both a wide range of beta-lactamase genes (wild type) and an enlarged spectrum (ESBL) have been identified that cause the beta-lactam ring to disintegrate and ultimately cause resistance to antibiotics.



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

Pic 5. Diagnosis of E.coli with multiple PCR amplification (Autoimmun Diagnostika Gmb HESBL)

As can be seen from the 5 table, mutations in the SHV AS 238/240 type and CTX-M gene were observed in all study strains. (G238^S/A and E240^>K) Amino acid substitutions cause an extension of the substrate specificity spectrum to cephalosporins, especially ceftazimid.

Table 5. Resistant genes detected by E.coli with multiple PCR amplification

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*	-

Several determinants were identified in two of the study strains#254,#436 : CTX-M, TEM AS 104 E, TEM AS 164 R, TEM AS 238 G, TEMAS 238 Sda SHV AS 238/240. Since the discovery of SHV and TEM genes is not unambiguous evidence of ESBL activity, mutations found in these genes once again confirm an increase in the range of activity against III-IV generation cephalosporins (Kesavaram..2016).

Mutant Forms of EBLS Class TEC Genes: EM AS 104 E, TEM AS 238 G, TEM AS 238 S conducts point mutations in positions 104, 164 and 238, respectively, here we would like to highlight the TEMAS 238 S genetic determinant identified in our study specimens. Gly23. The enzyme encoded by this gene is equally affected and easily removes cefotaxim and ceftazidim, while the beta-lactamase enzyme produced by the second sulfur group TEM AS 164 R gene (mutation Arg164Ser) is much more active in ceftazidine than in cefotaxime.

Thus, in the resistant strains of E. coli identified by different biological materials, a wide range of antibiotic resistance genes were identified: CTX-M, TEM, SHV, and in two samples, mutant forms were observed in combination with wild genes. It should be noted that these strains were removed from the runoff samples of medical catheters in patients with suspected catheters.

It is known that the whole range of microorganisms in the apk produced on the catheter can be, including gram-negative bacteria. These bacteria easily transmit genetic information to each other, including resistance genes.(Elio …2018)

CTX-M-G1 and SHV genes were detected in all seven strains using the multiplex PCR method. Therefore, we can assume that the resistance of intestinal sticks in the Adjara region is determined by these genes. In one of the analyzed strains, which was phenotypically resistant to carbopens, resistance-encoding genes were not observed, as in gel-electrophoresis. This once again suggests that each clinically suspicious case requires a scurpulous approach and should be verified by molecular-diagnostic methods if necessary.

Conclusions :

1.*E.coli* intestinal sticks in the hospital sector of Adjara among the causes of nosocomial infection, 21% of the clinical isolates of gram-negative bacteria, and resistant to 12% ;

2.Antibiotics: FEP-cephalus, CXM-Cefuroxime, CRO-Ceftriaxone, CAZ-Ceftazidim, CTX-Cefotaxime and AMP-ampicillin are ineffective in the pathogenic strains of *E.coli;*

3. The most effective reserve antibiotic colistine and piperacillin / tazobactam are most effective against *E.coli* nosocomial strains; Amikacin and carbopenems are relatively less effective;

4. 88% of *E.coli*-resistant strains distributed in the region are reproduced by ESBL, which reduces the effectiveness of the use of cephalosporins against them;

5. Penicillins, Resistance to phenotypic-resistant strains with respect to cephalosporins and inhibitors of the 3rd and 4th generation was confirmed by CTX, By identifying TEM and SHV genes, And in two samples, along with wild genes, mutant genes of the ESBL class TEM type were observed: TEM AS 104 E, TEM AS 238G, TEM AS 238 S; Identifying these genes in nosocomial strains minimizes the range of antibiotics used for treatment, Which in turn significantly complicates patient treatment, It increases the cost of delays in the hospital and can often be the cause of lethal end;

6. It is true that the OXA gene, which is responsible for the synthesis of carbapenem has not been identified, but the KPC gene has been observed, which to some extent explains only 85% of the sensitivity of carbapenems ; The appearance of strains of *E.coli* resistant to carbapenems is a disturbing signal, which confirms the undesirable global trend of widespread resistance to carbopenem;

7.Isolants of *E.coli* in Adjara do not reproduce metal-β-lactamases because they have not been identified in the reproductive IMP, VIM, NDM gene

Recommendations :

1. It is desirable to conduct trainings for physicians in the field of clinical microbiology, especially bacteriology, on the reasons for the rapid formation and spread of resistant strains;

2. Opening of microbiological laboratories in multifunctional hospitals, which will allow us to determine the cause of infectious disease in a timely manner and determine susceptibility to antibiotics; This will allow the doctor to change the medication in a timely manner taking into account the type and susceptibility of the isolated pathogen.

3. It is necessary to create a resistance profile to the database of circulating isolants in the hospital and their antibiotics, which will allow a list of leading susceptible antibiotics to be prescribed for the treatment of patients suspected of nosocomial infection. Targeted use of etiotropic, already known medications in treatment will reduce patient recovery and hospitalization. All this, in turn, will significantly reduce the cost of the patient's services;

4. It is advisable to examine all patients admitted to intensive care and resuscitation department, regardless of the source of the infection, in order to determine the presence of pathogenic microflora and the antibiotic resistance profile. This will allow us to establish a microflora from an early stage and avoid switching from the external population of nosocomial strains to the hospitals of the region ;

Works published around the dissertation :

An article to add

1. **V.Tavadze**, L. Akhvlediani1,2, R. Khukhunaishvili1, T. koiava1. ANTIMICROBIAL DRUG RESISTANCE OF ESCHERICHIA COLI WHICH CAUSE NOSOCOMIAL INFECTION

2.**V. Tavadze1**, L. Akhvlediani1,2, R. Khukhunaishvili1, T. koiava1, M. Nagervadze1. Antibiotic Resistance Status of E.coli Isolated from Intensive Care Units of Adjara Hospitals

3.**V. Tavadze1**, L. Akhvlediani1,2, R. Khukhunaishvili1, T. Koiava1. Genetic properties of blaCTX-M, blaSHV and blaTEM genes in ESBL producingE. coli clinical isolates

4.Koiava T1 , Gonçalves D2,3, Palmeira J2 , Arobelidze K.4 , **Tavadze V** 4 , Tediashvili M5 and Akhvlediani L.1 Ferreira H2 „MULTIDRUGRESISTANT ACINETOBACTER BAUMANNII IN ADJARA REGION" Article DOI: 10.21474/IJAR01/xxx DOI URL: http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/xxx ISSN:2320-5407

5.Farlow J*c,d, Nozadze Ma, Mitaishvili Na, Kotorashvili Ae, Kotaria Ne, Arobelidze Ke, **Tavadze Ve**, Simsive Te, Imnadze Pe, Latif Na, Nikolich Mb, Washington Ma, Hinkle MKb, Kwon Pa, and Trapaidze NaComparative genomic analysis of four multidrug resistant strains of Acinetobacter baumannii from the country of Georgia. **November** 2019Journal of Global Antimicrobial Resistance 21.DOI: 10.1016/j.jgar.2019.11.002.

International Conferences:

1.The 8th International Bacillus ACT Conference will be held October 1-5, 2017 in Victoria, British Columbia.Canada. ANTIBIOTIC RESISTANCE OF BACILLUS CEREUS ISOLATED FROM NOSOCOMIAL INFECTIONS (BATUMI GEORGIA)

2.11 th International Congress for Veterinary Virology-ESVV-EPIZONE 2018, Vienna27-30 August, 2018. Human Anthrax Meningitis in the Black Sea Coast, Country of Georgia.

3. Randomized, Double-Blind, Multi-Center Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Intravenous to Oral Solithromycin (CEM-101) Compared to Intravenous to Oral Moxifloxacin in the Creatment of Adult Patients with Community-Acquired Bacter.

4.Training-Central Asia-Eastern European Monitoring on Antimicrobial Resistance (CAESAR) Interpretations of Mycenae Determination Developed by the European Committee for the Testing of Antimicrobial Sensitivity (EUCAST).Tbilisi.Lugarcenter.Figs.Ketorobelidze, nosocomial infections and antibiotic-reisistance profile