

სსიპ „ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი“



საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტი
ბიოლოგიის დეპარტამენტი

თეა ქოიავა

„აჭარაში გავრცელებული ნოზოკომიური ინფექციების
გამომწვევების გამოყოფა, იდენტიფიკაცია და
ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პროფილის შესწავლა“

სპეციალობა: მიკრობიოლოგია

წარდგენილი ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელები:

ასოცირებული პროფესორი ლეილა ახვლედიანი

ასოცირებული პროფესორი მარინა თედიაშვილი

კონსულტანტი - ექიმი ბაქტერიოლოგი ქეთო არობელიძე

ბათუმი

2016

მადლობა!



რუსთაველის ეროვნული სამეცნიერო ფონდი-2012-2013 სასწავლო წელს გამოცხადებული დოქტორანტურის გრანტი. გაწეული ფინანსური დახმარებისათვის.



დკსჯეც - ლ. საყვარელიძის სახელობის დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი. ექიმი-ბაქტერიოლოგი ქეთო არობელიძე, სამსახურის უფროსი ნინო გუგუშვილი.



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



ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ასოცირებული პროფესორი ლეილა ახვლედიანი.



გ. ელიავას სახელობის ბაქტერიოფაგის, მიკრობიოლოგიის და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტი, ასოცირებული პროფესორი მარინე თედიამვილი.

შინაარსი

ცხრილების ჩამონათვალი	6
დიაგრამების ჩამონათვალი	7
სურათების ჩამონათვალი	8
გამოყენებული აბრევიატურა	10
კვლევაში გამოყენებული ანტიბიოტიკები	11
კვლევაში გამოყენებული PCR პრაიმერები	13
შესავალი	16
თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა	18
ქვეთავი I. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> დახასიათება	23
1.1. ტაქსონომია, მახასიათებლები და გავრცელება	23
1.2. იდენტიფიკაცია	26
1.3. ეპიდემიოლოგია	27
ქვეთავი II. <i>Klebsiella spp.</i> დახასიათება	28
2.1. ტაქსონომია, მახასიათებლები და გავრცელება	28
2.2. იდენტიფიკაცია	29
2.3. ეპიდემიოლოგია	30
ქვეთავი III. <i>Acinetobacter baumannii</i> გვარის დახასიათება	32
3.1. ტაქსონომია, მახასიათებლები და გავრცელება	32
3.2. იდენტიფიკაცია	33
3.3. ეპიდემიოლოგია	33
ქვეთავი IV. ანტიბიოტიკები, ანტიბიოტიკორეზისტენტობა	35
4.1. ანტიბიოტიკების დახასიათება	35
4.2. ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მექანიზმები.	37
4.3. β ლაქტამური ანტიბიოტიკების მიმართ ბაქტერიის რეზისტენტობის მექანიზმები	40
ქვეთავი V. გაფართოებული სპექტრის β-ლაქტამაზას (ESBL) წარმომქმნელი ენტერობაქტერიები	44

5.1.	გაფართოებული სპექტრის β-ლაქტამაზების განსაზღვრება	44
5.2.	კლასი A-TEM β-ლაქტამაზა	45
5.3.	კლასი A SHV β-ლაქტამაზა	45
5.4.	კლასი A-CTX-M β-ლაქტამაზა	45
5.5.	კლასი D OXA β-ლაქტამაზა	46
5.6.	კლასი C CMY β-ლაქტამაზა	46
5.7.	კლინიკური და ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა	47
	ქვეთავი VI. კარბაპენემაზები	48
6.1.	კლინიკური და ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა	48
6.2.	MBLs-მეტალო-β ლაქტამაზები	49
6.3.	მეტალო-β ლაქტამაზა-NDM	50
6.4.	კარბაპენემაზების რეზისტენტობის მექანიზმები	52
	თავი II. კვლევის მასალა და მეთოდები	53
	ქვეთავი I. კვლევის მასალა	53
	ქვეთავი II. კვლევის მეთოდები	53
2.1.	კვლევის მიკრობიოლოგიური მეთოდები	53
2.1.1.	კარბაპენემაზას წარმოქმნის დამადასტურებელი მეთოდები	53
2.1.2.	ფენოტიპური დამადასტურებელი მეთოდები	54
2.1.3.	ენტერობაქტერიებისთვის ESBL-ს დამადასტურებელი კომბინირებული დისკის ტესტი (CDT)	54
2.1.4.	ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST)	55
2.1.5.	კარბ-ბაუერის დისკ-დიფუზიის მეთოდი	56
2.1.6.	სისტემა E-TEST	57
2.2.	კვლევის ბიოქიმიური მეთოდები	57
2.2.1.	API 20 E-მიკრობის იდენტიფიკაციის ბიოქიმიური ტესტი	57
2.2.2.	API 20 NE-მიკრობის იდენტიფიკაციის ბიოქიმიური ტესტი	58
2.2.3.	CIM-კარბაპენემ-ინაქტივაციის მეთოდი	59
2.2.4.	Blue-Carba Test (BCT)-ბიოქიმიური ტესტი სხვადასხვა კარბაპენემაზების დასადგენად	61

2.3.	კვლევის მოლეკულური მეთოდები	62
2.3.1.	დნმ-ის ექსტრაქცია	62
2.3.2.	პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია Polymerase Chain Reaction (PCR)	62
2.3.3.	ელექტროფორეზი აგაროზას გელში	65
2.3.4.	გელ-ელექტროფორეზი პულსირებად ველში – Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)	66
2.3.5.	მრავლობითი ლოკუსების სექვენირება- ტიპირება Multilocus sequence typing (MLST)	68
2.3.6.	სრული გენომის სექვენირება	69
	თავი III. შედეგების ანალიზი და განხილვა	71
3.1.	ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევთა სპექტრი	71
3.2.	ანტიბიოტიკორეზისტენტული ნიმუშების მიკრობიოლოგიური და ბიოქიმიური კვლევის შედეგების ანალიზი	74
3.3.	ანტიბიოტიკორეზისტენტობის განმსაზღვრელი გენების მოლეკულური იდენტიფიკაცია	90
3.4.	დასკვნები	119
3.5.	გამოყენებული ლიტერატურა	122

ცხრილების ჩამონათვალი:

- ცხრილი 1. *P.aeruginosa*-ს ბიოქიმიური მახასიათებლები;
- ცხრილი 2. Api 20 E-ბიოქიმიური ტესტები;
- ცხრილი 3. Api 20 NE-ბიოქიმიური ტესტები;
- ცხრილი 4. PCR-ისთვის სხვადასხვა პრაიმერის ინდივიდუალური ოპტიმალური ტემპერატურა;
- ცხრილი 5. *Klebsiella Pneumoniae*-ს მოლეკულური იდენტიფიკაციისთვის გამოყენებული პრაიმერები;
- ცხრილი 6. *Klebsiella Pneumoniae*-ს მოლეკულური იდენტიფიკაციის შედეგები;
- ცხრილი 7. *Klebsiella pneumoniae*-ზე უარყოფითი შედეგების მქონე პრაიმერები;
- ცხრილი 8. NDM გენის სექვენირების შედეგები;
- ცხრილი 9. *Klebsiella Pneumonia* –MLST- 7 წყვილ-პრაიმერების სექვენირების შედეგები;
- ცხრილი 10. *Acinetobacter Baumannii*-ის მოლეკულური იდენტიფიკაციისთვის გამოყენებული პრაიმერები;
- ცხრილი 11. *Acinetobacter Baumannii*-ის მოლეკულური იდენტიფიკაციის შედეგები;
- ცხრილი 12. *Acinetobacter baumannii*-ზე უარყოფითი შედეგების მქონე პრაიმერები;
- ცხრილი 13. *Pseudomonas aeruginosa* მოლეკულური იდენტიფიკაციისთვის გამოყენებული პრაიმერები;
- ცხრილი 14. *Pseudomona aeruginosa*-ის მოლეკულური იდენტიფიკაციის შედეგები;
- ცხრილი 15. *Pseudomona aeruginosa*-ზე უარყოფითი შედეგების მქონე პრაიმერები.

დიაგრამების ჩამონათვალი

- დიაგრამა 1. *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella Oxytoca*-ისა და *Pseudomonas aeruginosa*-ს თანაფარდობა შარდში;
- დიაგრამა 2. *Acinetobacter spp.*-ის, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*-სა და *E. coli*-ის თანაფარდობა ბიოლოგიურ სითხეში;
- დიაგრამა 3. *Acinetobacter spp.* - ის, *Klebsiella pneumoniae*-ის, *Pseudomonas aeruginosa*-ის, *Klebsiella oxytoca*-ისა და *E.Coli*-ის თანაფარდობა ნახველში;
- დიაგრამა 4. *Klebsiella pneumoniae*- ის, *Enterococcus cloacae*-ის და *Candida*-ს თანაფარდობა სისხლში;
- დიაგრამა 5. *Klebsiella pneumoniae* და *Pseudomonas aeruginosa* ESBL დადებითი და უარყოფითი ნიმუშების პროფილი;
- დიაგრამა 6. *Pseudomona aeruginosa*-ს 16 შტამის ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პროფილი
- დიაგრამა 7. *Acinetobacter baumannii*-ს 22 შტამის ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პროფილი;
- დიაგრამა 8. *Klebsiella pneumoniae*-ს 24 შტამის ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პროფილი;
- დიაგრამა 9. *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* და *Pseudomonas aeruginosa* ანტიბიოტიკომგრძობის პროფილი - ფოსფომიცინის, დორიპენემის ტეტრაციკლინის, ტიგერცილინისა და კოლისტინის მიმართ
- დიაგრამა 10. საავადმყოფო A-ში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა სიხშირე და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მაჩვენებელი;
- დიაგრამა 11. საავადმყოფო B-ში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა სიხშირე და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მაჩვენებელი;
- დიაგრამა 12. საავადმყოფო C-ში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა სიხშირე და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მაჩვენებელი;
- დიაგრამა 13. საავადმყოფო D-ში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა სიხშირე და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მაჩვენებელი.

სურათების ჩამონათვალი

- სურ. 1 *Pseudomonas aeruginosa* MacConkey-ის აგარზე;

- სურ. 2. *Klebsiella pneumoniae* MacConkey-ის აგარზე;
- სურ. 3. API 20E სისტემით მიკრობის იდენტიფიკაცია;
- სურ. 4. პენიცილინის ლაქტამური ანტიბიოტიკის სტრუქტურა- R-C₉H₁₁,N₂O₄S;
- სურ.5. -ლაქტამაზური ანტიბიოტიკების ქიმიური სტრუქტურა (I-პენიცილინი; II-ცეფალოსპორინი; III-მონობაქტამები; IV-კარბაპენემები);
- სურ.6. სხვადასხვა თაობის -ლაქტამური ანტიბიოტიკები;
- სურ.7. გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების უჯრედის კედლის სტრუქტურა და ლაქტამაზების მოქმედება მათზე ა-მემბრანა, ბ-პეპტიდოგლიკანური შრე;
- სურ. 8. CTX-M -ლაქტამაზას სხვადასხვა ჯგუფის გავრცელება მსოფლიოში;
- სურ.9. მეტალო- -ლაქტამაზების გავრცელება;
- სურ. 10. ენტერობაქტერიებს შორის ყველაზე მეტად გავრცელებული კარბაპენემაზა - KPC ევროპაში;
- სურ. 11. ნიუ დელის NDM მეტალო- -ლაქტამაზას გავრცელება;
- სურ.12. OXA-48-ს გავრცელება სხვადასხვა ქვეყანაში;
- სურ. 13. კარბაპენემ-ენტერობაქტერიების რეზერვუარი მსოფლიო მასშტაბით;
- სურ. 14. კარბაპენემაზების წარმოქმნის დამადასტურებელი ტესტი;
- სურ. 15. კომბინირებული დისკის ტესტი (CDT);
- სურ. 16. ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST);
- სურ. 17. CIM კარბაპენემ-ინაქტივაციის მეთოდი;
- სურ. 18. CIM კარბაპენემ-ინაქტივაცია *Klebsiella Pneumiae* ნიმუშზე;
- სურ.19.. Blu Carba-ს შედეგების ინტერპრეტაცია;
- სურ. 20. PCR შედეგების წასაკითხი BIO-RAD-ის აპარატი;
- სურ.21. PFGE-პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზი;
- სურ.22. MLST-მრავლობითი ლოკუსების სექვენირება- ტიპირება;
- სურ. 23. *Klebsiella pneumoniae* ანტიბიოტიკომგრძობელობა;
- სურ.24. *Pseudomonas aeruginosa* ანტიბიოტიკომგრძობელობის ტესტი;
- სურ.25. *Acinetobacter baumannii* ანტიბიოტიკომგრძობელობის ტესტი;
- სურ. 26. ESBL დამადასტურებელი ტესტი;
- სურ. 27. E-test-TGC და CO შემცველი Etest-ის ფირფიტა;

- სურ.28. კარბაპენემ-რეზისტენტობის დამადასტურებელი Blu Carba ტესტი;
- სურ.29. *Klebsiella pneumonia*-ს PCR-ის შედეგი CTX-M-G1 გენზე;
- სურ. 30. *Klebsiella pneumonia*-ს PCR-ის შედეგი CTX-M-G15 გენზე;
- სურ.31. *Klebsiella pneumonia*-ს PCR-ის შედეგები CTX-M-G1, CTX-M-G2, CTX-M-G9 გენზე;
- სურ. 32. *Klebsiella pneumonia*-ს PCR-ის შედეგები blaTEM, blaSHV,blaOXA გენზე;
- სურ. 33. *Klebsiella pneumonia*-ს PCR-ის შედეგი SUL1 გენზე;
- სურ. 34. *Klebsiella pneumonia*-ს PCR-ის შედეგი OXA48 გენზე;
- სურ. 35. *Klebsiella pneumonia*-ს PCR-ის შედეგი tet A;
- სურ.36. *Klebsiella pneumonia*-ს PCR-ის შედეგი NDM გენზე;
- სურ.37. *Klebsiella Pneumonia*-ს MLST-7 წყვილ პრაიმერზე დადებითი ამპლიფიკაცია;
- სურ. 38 *Acinetobacter baumannii* -ს PCR-ის შედეგი OXA51 გენზე;
- სურ.39 *Acinetobacter baumannii* -ს PCR-ის შედეგი OXA-40 გენზე;
- სურ.40 *Acinetobacter baumannii*-ს PCR-ის შედეგები CTX-M-G1, CTX-M-G2, CTX-M-G9, CTX-M-G9 გენზე;
- სურ. 41 *Acinetobacter baumannii*-ს PCR-ის შედეგი NDM გენზე;
- სურ. 42 *Acinetobacter baumannii*-ს PCR-ის შედეგი ampC გენზე;
- სურ. 43 *Pseudomona aeruginosa*-ს PCR OXA-48 გენზე;
- სურ. 44 PFGE -პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზი
- სურ. 45 PFGE-პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის შედეგების საფუძველზე შედგენილი დენდოგრამა

გამოყენებული აბრევიატურა

- **Spp** - გვარში გაერთიანებული რამდენიმე სახეობა (Several Species);
- **Bp** - ნუკლეოტიდური ფუძეების წყვილი (base pair);
- **PBPs** - პენიცილინ-შემაკავშირებელი ცილა (Penicillin-Binding-Proteins);
- **PCR** - პოლიმერაზა ჯაჭვური რეაქცია (Polymerase Chain Reaction);
- **EUCAST** - ანტიბიოტიკების მგრძობელობის ტესტის ევროპული კომიტეტი (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing);
- **CLSI** - კლინიკური და ლაბორატორიული სტანდარტების ინსტიტუტი Clinical & Laboratory Standards Institute;
- **MICs** - მინიმალური ინჰიბიტორული კონცენტრაცია (Minimum Inhibitory Concentrations);
- **PFGE** - გელ-ელექტროფორეზი პულსირებად ველში (Pulsed field gel electrophoresis);
- **MLST** - მრავლობითი ლოკუსების სექვენირება- ტიპირება (Multilocus sequence typing);
- **CIM** - კარბაპენემ-ინაქტივაციის მეთოდი;
- **DDST** - Double Disc Synergy Test ორმაგი დისკ-სინერგიზმის მეთოდი;
- **BCT** - ბლუ კარბა ტესტი (Blue-Carba Test);
- **EDTA** - ეთილენდიამინტეტრამმრის მჟავის ბუფერი.

კვლევაში გამოყენებული

ანტიბიოტიკები

Klebsiella pneumoniae

-ლაქტამები

- **AML** Amoxicilin
- **CTX** Cefotaxim
- **FOX** Cefoxitin
- **FEP** Cefepim

მონობაქტამები

- **ATM** Aztreonam
- **EFT** Ceftiofur
- **CAZ** Ceftazidim
- **CXM** Cefuroxim
- **PRL-** Piperacillin
- **CPT** Ceftarolin

AUG Amox. + Ac.
Clavulanic

- **ETP** Ertapenem
- **TE** Tetracilin
- **IMI** Imipenem
- **PIP** Piperacilin
- **TIC** Ticarcilin

- **CT** Colistin**
- **MRP** Meropenem
- **C** Cloranfenicol
- **DOR** Doripenem
- **TGC** Tigeciclin*
- **PIP/TAZ**
Piperacilin/Tazobactam

- **CIP** Ciprofloxacin
- **LEV** Levofloxacin
- **STX**Sulfamet.+ Trimetrop.
- **F** Nitrofurantoin
- **FOS** Fosfomicin
- **TOB** Tobramicin
- **NET** Netilmicin
- **AK** Amikacin
- **CN** Gentamicin

Acinetobacter Baumannii

- **PIP** Piperacilin
- **DOR** Doripenem
- **TIC /ACC**
Ticarcilin/clavulanate
- **LEV** Levofloxacin

- **CTX** Cefotaxim
- **TIC** Ticarcilin
- **MRP** Meropenem
- **FEP** Cefepime
- **CAZ** Ceftazidim
- **IMI** Imipenem
- **TIC /ACC**
Ticarcilin/clavulanate
- **CIP** Ciprofloxacin
- **AK** Amikacin
- **STX** Sulfamet. + Trimetrop
- **CN** Gentamicin
- **TE** Tetracilin
- **TOB** Tobramicin
- **PIP/TAZ**
Piperacilin/Tazobactam
- **NET** Netilmicin
- **CT** Colistin**

Pseudomona aeruginosa

- **CIP** Ciprofloxacin
- **ATM** Aztreonam

- **FEP** Cefepim
- **CAZ** Ceftazidim
- **PIP/TAZ**
Piperacilin/Tazobactam
- **DOR** Doripenem
- **TOB** Tobramicin
- **IMI** Imipenem
- **NET** Netilmicin
- **AK** Amikacin
- **CN** Gentamicin
- **CT** Colistin

კვლევაში გამოყენებული PCR- პრაიმერები:

გენი	სექვენსი (5'- 3')
<i>bla</i> _{TEM}	5'-CATTTCCTGTCGCCCTTATTC-3'
	5'-CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC-3'
<i>bla</i> _{SHV}	5'-AGCCGCTTGAGCAAATTAAC-3'
	5'- ATCCCGCAGATAAATCACCAC-3'
<i>bla</i> _{OXA}	5'-GGCACCAGATTCAACTTTCAAG-3'
	5'-GACCCCAAGTTTCCTGTAAGTG-3'
<i>bla</i> _{CTX-M-GRUPO1}	5'-AAAAATCACTGCGCCAGTTC-3'
	5'- AGCTTATTCATCGCCACGTT-3'
<i>bla</i> _{CTX-M-GRUPO2}	5'- CGACGCTACCCCTGCTATT-3'
	5'- CCAGCGTCAGATTTTTCAGG-3'
<i>bla</i> _{CTX-M-GRUPO8}	5'- TCGCGTTAAGCGGATGATGC-3'
	5'- AACCCACGATGTGGGTAGC-3'
<i>bla</i> _{CTX-M-GRUPO9}	5'- CAAAGAGAGTGCAACGGATG - 3'
	5'- ATTGGAAAGCGTTCATCACC-3'
<i>bla</i> _{CTX-M-GRUPO25}	5'- GCACGATGACATTCGGG-3'
	5'- AACCCACGATGTGGGTAGC-3'
<i>bla</i> _{IMP}	5'-GGT TTA AYA AAA CAA CCA CC- 3'
	5'- GGA ATA GAG TGG CTT AAY TC-3'
<i>bla</i> _{VIM}	5'-GATGGTGTGGTTCGCATA- 3'
	5'-CGAATGCGCAGCACCAG- 3'

<i>bla</i> _{OXA-48}	5'-GCGTGGTTAAGGATGAACAC- 3'
	5'-CATCAAGTTCAACCCAACCG- 3'
<i>bla</i> _{NDM}	5'-GGTTGGCGATCTGGTTTTG-3'
	5'-CGGAATGGCTCATCACGATC-3'
<i>bla</i> _{KPC}	5'-CGTCTAGTTCTGCTGTCTG- 3'
	5'-CTGTGCATCCTTGTAGGCG- 3'
<i>bla</i> _{SIM}	5'-TAATGGCCTGTCCCATGTG-3'
	5'- TACAAGGGATTCGGCATCG-3'
<i>bla</i> _{GIM}	5'-TCGACACACCTTGGTCTGAA-3'
	5'- AACTTCCAACCTTGCCATGC-3'
<i>bla</i> _{BIC}	5'- TATGCAGCTCCTTAAGGGC-3'
	5'- TCATTGGCGGTGCCGTACAC-3'
<i>bla</i> _{SPM}	5'- ACATTATCCGCTGGAACAGG-3'
	5'- AAAATCTGGGTACGCAAACG - 3'
<i>bla</i> _{AIM}	5'- GTTCGGCCACCTCGAATTG-3'
	5'- CTGAAGGTGTACGGAAACAC-3'
<i>bla</i> _{DIM}	5'- GCTTGCTTCGCTTGCTAACG-3
	5'- CGTTCGGCTGGATTGATTTG-3'
<i>bla</i> _{GES}	5'-CTG GCA GGG ATC GCT CAC TC- 3'
	5'- TTC CGA TCA GCC ACC TCT CA- 3'
<i>tetA</i>	5'- GTAATTCTGAGCACTGTCGC-3'
	5'- CTGCCTGGACAACATTGCTT-3'

tetB	5'- CTCAGTATTCCAAGCCTTTG-3'
	5'- ACTCCCCTGAGCTTGAGGGG-3'
tetC	5'- GGTGAAGGCTCTCAAGGGC-3'
	5'- CCTCTTGCGGGATATCGTCC-3'
tetD	5'- CATCCATCCGGAAGTGATAGC-3'
	5'- GGATATCTCACCGCATCTGC-3'
tetE	5'- TGATGATGGCACTGGTCA-3'
	5'- GCTGGCTGTTGCCATTA-3'
tetG	5'- GCAGCGAAAGCGTATTTGCG-3'
	5'- TCCGAAAGCTGTCCAAGCAT-3'
aac(6)-Ib-cr	5'-TTG CGA TGC TCT ATG AGT GG-3
	5'-GCG TGT TCG CTC GAA TGC C-3
aac(3)-IV	5'- GTGTGCTGCTGGTCCACAGC-3'
	5'- AGTTGACCCAGGGCTGTCCG-3'
aac(3)-II	5'- GTCGAACAGGTAGCACTGAG-3'
	5'- TGA AAC GCT GAC GGA GCC TC- 3'
qnrA	5'- GGATGCCAGTTTCGAGGA-3'
	5'- TGCCAGGCACAGATCTTG-3'
qnrB (1-6)	5'- GGMATHGAAATTCGCCACTG-3'
	5'- TTTGTCYGYCAGCCAGTCGAA-3'
qnrC	5'- GGGTTGTACATTTATTGAATC-3'
	5'- TCCACTTTACGAGGTTCT-3'
qnrD	5'- CGAGATCAATTTACGGGGAATA-3

	5'- AACAAAGCTGAAGCGCCTG-3'
qnrS (1-2)	5'- GATCTAAACCGTCGAGTTCGG-3'
	5'- TCGACGTGCTAACTTGCG-3'
sulI	5'- TGAGATCAGACGTATTGCGC-3'
	5'- TTGAAGGTTTCGACAGCACGT-3'
sul 2	5'- GCGCTCAAAGCAGATGGCATT-3'
	5'-GCGTTTGATACCGGCACCCGT-3'
sul 3	5'- CATCTGCAGCTAACCTAGGGCTTTGGA-3'
	5'- GAGCAAGATTTTTGGAATCG-3'
AmpC	5'-CCC CGC TTA TAG AGC AAC AA- 3'
	5'-TCA ATG GTC GAC TTC ACA CC- 3'
	5'-GGG CCC GGA CAC CYT TTT GC- 3'
CMY	5'-TAA GTG TAG ATG ACA RCA GG- 3'
bla_{OXA-23}	5'-ATGAATAAATATTTTACTTGC-3'
	5'- TTAAATAATATTCAGCTGTTT-3'
bla_{OXA-40}	5'- ATGAAAAAATTTATACTTCC-3'
	5'- GGTCTACAKCCMWTCCTCCA-3'
bla_{OXA-51}	5'- ACAGAARTATTTAAGTGGG-3'
	5'- GGTCTACAKCCMWTCCTCCA-3'
bla_{OXA-58}	5'- ATGAAATTATTAATAAATATTGAGTTTAG-3'
	5'- TTATAAATAATGAAAAACACCCAAC-3'

<i>aph(3')</i> <i>-I 1</i>	5'- GCCGATGTGGATTGCGAAAA-3'
<i>aph(3')</i> <i>-I 2</i>	5'- GCTTGATCCCCAGTAAGTCA-3'
<i>aph</i> <i>(3')-II</i> <i>1</i>	5'- GCTATTCGGCTATGACTGGGC-3'
<i>aph</i> <i>(3')-II</i> <i>2</i>	5'- CCACCATGATATTCGGCAAGC-3'
<i>aph(3')</i> <i>- III 1</i>	5'-AAC GTC TTG CTC GAG GCC GCG-3'
<i>aph(3')</i> <i>- III 2</i>	5'-GGC AAG ATC CTG GTA TCG GTC-3'
<i>ant(2"</i> <i>")-I 1</i> <i>"</i>	5'- GGGCGCGTCATGGAGGAGTT-3'
<i>ant(2"</i> <i>")-I 2</i> <i>"</i>	5'- TATCGCGACCTGAAAGCGGC-3'

შესავალი

ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის ინფორმაციით, ინფექციური დაავადებები რჩება ყველაზე უფრო გავრცელებულ დაავადებათა ჯგუფად. მათ შორის მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს ნოზოკომიური (საავადმყოფოსშიდა) ინფექციები. ჰოსპიტალიზებულ პაციენტთა სიკვდილიანობის ყველაზე ხშირი მიზეზი საავადმყოფოსშიდა ინფექციებია, რომლებიც დაკავშირებულია, ზოგადად, სამედიცინო მანიპულაციებთან. ამ ინფექციით ყოველწლიურად ავადდება ორი მილიონი ადამიანი და მათი 5-10% იღუპება. ნოზოკომიური ინფექციები ძირითადად ვრცელდება სტაციონარულ კლინიკებში, მოხუცთა სახლებში და რეაბილიტაციის ცენტრებში. ინფიცირებას უფრო მეტად ექვემდებარებიან იმუნოკომპრომეტირებული პირები - მოხუცები და ახალშობილები. ინფექციათა ამ კატეგორიას მიეკუთვნება ქირურგიული ჭრილობის, სასუნთქი, შარდ-სასქესო, სისხლის და საჭმლის მომწოდებელი სისტემების ინფექციები. ინფექციათა უმრავლესობის გამომწვევი არასტერილური, უსუფთაო გარემო და სამედიცინო ხელსაწყოებია, თუმცა, ზოგ შემთხვევაში ინფიცირება ხდება დასნებოვნებული პერსონალისაგან და საკვებითაც. ზოგადად ითვლება, რომ შარდ-სასქესო სისტემას ამ მხრივ წამყვანი ადგილი უკავია (31%), რაც უმეტესად, კათეტერიზაციის შედეგად ხდება. შემდეგ მოდის პნევმონიები (27%), რაც ხელოვნური სუნთქვის აპარატის გამოყენებით აიხსნება და სისხლის ცირკულაციის ინფექციები (19%), რაც სისხლძარღვის კათეტერიზაციით არის გამოწვეული. ჯანდაცვის მსოფლიო უსაფრთხოების ქსელისა და დაავადებათა კონტროლის ცენტრის მონაცემებით, ჰოსპიტალური ინფექციების შემთხვევათა 30% გამოწვეულია გრამ-უარყოფითი ბაქტერიებით. შემთხვევათა 47%-ში პრევალირებს პნევმონიების გამომწვევი მიკროორგანიზმები [Heidi, 2010: 5].

სამედიცინო ტექნოლოგიების მატებასთან ერთად მოიმატა ნოზოკომიური ინფექციების შემთხვევათა რიცხვმაც. საჭირო გახდა მასიური ანტიბიოტიკოთერაპია. ამან კი, თავის მხრივ, გამოიწვია ინფექციურ დაავადებათა გამომწვევების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გაზრდა. ანტიბიოტიკების ინტენსიური კურსები, მით უფრო, როცა ხდება მათი არამიზნობრივი გამოყენება, იწვევენ რეზისტენტობის ახალი მექანიზმების გაჩენას და მის სწრაფ განვითარებას. ანტიბიოტიკების მიმართ

რეზისტენტული შტამებით გამოწვეული ინფექციები ხასიათდება ხანგრძლივი მიმდინარეობით, რის გამოც პაციენტი დიდხანს ყოვნდება სტაციონარში და მისი მდგომარეობა მძიმდება. ეს, თავის მხრივ, დაკავშირებულია ფინანსურ ხარჯებთან, როგორც პაციენტის, ისე სახელმწიფოსთვის.

თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა

უნდა აღინიშნოს, რომ ლიტერატურული მონაცემები იმის შესახებ, თუ რომელი ბაქტერიები პრევალირებენ ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევთა შორის, განსხვავებულია რეგიონისა და ქვეყნის მიხედვით. ლიტერატურული მონაცემებით, ინფექციის გამომწვევთა შორის ძირითადად გვხვდება: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella spp.* და სხვა [Heidi, 2010:3]. ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა უმრავლესობა გრამ-უარყოფითი ბაქტერიაა. მათ წინააღმდეგ ბრძოლა ყველაზე ხშირად ბეტა-ლაქტამების ჯგუფის ანტიბიოტიკებით ხდება. მათ შორისაა პენიცილინის ჯგუფი (ამპიცილინი, მეტიცილინი) და მესამე თაობის ცეფალოსპორინები. ცეფალოსპორინების გამოყენებას ხანგრძლივი ისტორია აქვს. ისინი ეფექტურად მოქმედებენ ფართო სპექტრის ბაქტერიულ ფლორაზე (Richard...2012). ამ კლასის ანტიმიკრობული პრეპარატების ხანგრძლივმა და მასშტაბურმა გამოყენებამ გამოიწვია მათი ეფექტურობის შემცირება, რადგან გამოჩნდა ისეთი შტამები, რომლებიც ახდენენ ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზების პროდუცირებას. ისინი, ძირითადად, ბეტა-ლაქტამაზების A კლასს მიეკუთვნებიან. ამან საჭირო გახადა მეოთხე თაობის ცეფალოსპორინების გამოყენება, ამასთან დამატებით, ისეთი ანტიბიოტიკებისა, როგორცაა კარბაპენემის ჯგუფი (იმიპენემი, მეროპენემი) და ბეტა-ლაქტამები. ყოველივე ამან გამოიწვია ფერმენტ ბეტა-ლაქტამაზის მაპროდუცირებელი მიკროორგანიზმების ფართოდ გავრცელება.

ბაქტერიათა სხვადასხვა ჯგუფის გავრცელება განსხვავებულია მსოფლიოს სხვადასხვა რეგიონში. გამოხატულია C კლასის ბეტა-ლაქტამაზების გავრცელების სიხშირე. გაჩნდა ისეთი ლაქტამაზებიც, რომლებიც მიეკუთვნებიან B კლასს. როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა შორის *Klebsiella spp.* და *Escherichia coli* მიეკუთვნებიან, სწორედ, ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამურ პროდუცენტებს [Essack...2011: 72].

ამ ბაქტერიებთან ბრძოლის პრობლემა დიდი ხანია, გასცდა ცალკეული ქვეყნის ფარგლებს და მსოფლიო მასშტაბი შეიძინა. სწორედ, ამას ადასტურებს 2001 წელს ჯანმო-ს მიერ შემუშავებული გლობალური სტრატეგია, რომელშიც ხაზგასმითაა

ნათქვამი, რომ აუცილებელია რეზისტენტობის მოლეკულური მექანიზმების გაშიფრვა, რათა შეიქმნას რეზისტენტობის დიაგნოზირების ახალი საშუალებები. აქედან გამომდინარე, კვლევები ამ სფეროში ინტენსიურად მიმდინარეობს.

ბეტა-ლაქტამაზები წარმოადგენენ გენეტიკურად და ფუნქციურად განსხვავებულ ფერმენტთა ფართო ჯგუფს, რომელთა ძირითადი დამახასიათებელი თვისებაა ბეტა-ლაქტამური რგოლის დაღვევის უნარი, რის შედეგადაც ანტიბიოტიკი კარგავს ანტიმიკრობულ აქტივობას. დღეისათვის ცნობილი ბეტა-ლაქტამაზები იყოფა ოთხ მოლეკულურ კლასად. ამ კლასებში შემავალი ბაქტერიები ხასიათდებიან გარკვეული ამინომჟავური ჰომოლოგიით. ცალკეული ჯგუფის შიგნითაც კი ეს ბაქტერიები, შესაძლებელია, განსხვავდებოდეს გენების ლოკალიზაციით. მაგალითად, ასევე ხდება ქრომოსომური ბეტა-ლაქტამაზების C კლასის გენის გადატანა პლაზმიდებში. ასე რომ, ახალი ბეტა-ლაქტამაზების ფორმირება და გავრცელება ძალიან სწრაფად ხდება. ამასთანავე, სხვადასხვა რეგიონში დაფიქსირებულია განსხვავებული გავრცელების მაჩვენებელი [Essack...2011:72].

Klebsiella წარმოადგენს გრამ-უარყოფით ჩხირს. *Klebsiella*-ს რეზისტენტული შტამები ხშირად აწარმოებენ ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზებს. ასეთი შტამებით გამოწვეული ინფექციები კი შემთხვევათა დაახლოებით 15%-ის ლეტალობის მიზეზია. ამ შტამებს გავრცელების სწრაფი უნარი აქვთ და შეიძლება ინფექციური აფეთქებების მიზეზიც გახდეს [Nordmann...2009:79, Won...2011:55]. ალბათ, ამიტომ არის, რომ ჰოსპიტალურ ინფექციათა 8% და ბაქტერიემიათა 14% ამ მიკრობით არის გამოწვეული. აშშ-ში ჩატარებული კვლევების საფუძველზე *Klebsiella pneumoniae* 8 ყველაზე მნიშვნელოვან პათოგენს შორისაა.

Klebsiella pneumoniae-თი გამოწვეულ დაავადებათა ფართო სპექტრი მოიცავს პნევმონიას, ბაქტერიემიას, შარდ-სასქესო ინფექციებს, ქოლევისტიტს, დიარეას, ზედა სასუნთქი გზების ინფექციებს, ჭრილობების ინფექციებს, ოსტეომიელიტსა და მენინგიტს. რესპირაციული სისტემების დამხმარე აღჭურვილობების, საშარდე კათეტერების კონტამინაცია და ანტიბიოტიკების გამოყენება – ეს ის ფაქტორებია, რომლებიც ზრდიან *Klebsiella pneumoniae*-თი გამოწვეული ნოზოკომიური ინფექციების რიცხვს, რაც ასევე დაკავშირებულია ამ მიკრობების მიერ

ბიოფილმების წარმოქმნის უნართან [Liam...2001:58, Warren... 2001:89].

Pseudomonas aeruginosa წარმოადგენს აერობულ გრამ-უარყოფით პათოგენურ მიკროორგანიზმს. იგი ბუნებაში ფართოდაა გავრცელებული. *Pseudomonas aeruginosa* ლოკალური და სისტემური ჩირქოვანი ინფექციების ძირითადი გამომწვევია. მას წამყვანი როლი უკავია უროლოგიური და სასუნთქი სისტემების ინფექციების ეთიოლოგიაში და განსაკუთრებით, ნოზოკომიური დაავადებების განვითარებაში. *Pseudomonas aeruginosa*-ით ყველაზე ხშირად ავადდებიან იმუნოდეფიციტისა და დიაბეტის მქონე პაციენტები [Li Z... 2005:59].

დღესდღეობით მსოფლიოში პრობლემური დაავადების, კისტოზური ფიბროზის - მუკოვისციდოზის მქონე პაციენტების დაახლოებით 60%-ში ადგილი აქვს *Pseudomonas aeruginosa* შტამებით კოლონიზაციას. ამ პაციენტთა უმეტესობაში ავადმყოფობის გართულებისა და სიკვდილიანობის ძირითადი მიზეზი, სწორედ, ეს მიკრობია.

Pseudomonas aeruginosa-ს სხვადასხვა ტიპის ზედაპირზე ბიოფილმების წარმოქმნის უნარი აქვს. მაგალითად, კისტოზური ფიბროზით დაავადებულთა ფილტვების ლორწოვანზე, კათეტერებსა და კონტაქტურ ლინზეებზე. ბიოფილმის წარმოქმნა ეტაპობრივად მიმდინარეობს. ეს პროცესი იწყება თავისუფალი (პლანქტონური) უჯრედების ზედაპირზე ადჰეზიით, უჯრედების ერთმანეთთან აგრეგაციითა და პროლიფერაციით. შემდეგ ხდება ეგზოპოლისაქარიდული მატრიქსის წარმოქმნა, მისი ზრდა, მომწიფება და ბოლოს - გამოცალკეება. ბიოფილმის ეგზოპოლისაქარიდული მატრიქსი ბაქტერიას იცავს ანტიბიოტიკების, სხვადასხვა ქიმიური სადეზინფექციო საშუალებისა და, ასევე, მასპინძელი უჯრედის იმუნური სისტემისაგან. ეგზოპოლისაქარიდული მატრიქსი მეტ რეზისტენტობას მატებს ბაქტერიას და ამით ზრდის ქრონიკული ინფექციების ტოლერანტობას ანტიბიოტიკების მიმართ [Gasik ...2012:17].

ზემოთქმულიდან გამომდინარე, ამ საკითხების შესწავლა რეგიონის დონეზე მნიშვნელოვანი და აქტუალურია, განსაკუთრებით, დასავლეთ საქართველოსთვის, რადგან აჭარაში მსგავსი ტიპის კვლევა ჯერ არ ჩატარებულა.

ყოველივე აღნიშნულიდან გამომდინარე, ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა *Pseudomonas aeruginosa*-ს, *Klebsiella pneumoniae*-სა და *Acinetobacter*

baumannii-ს გავრცელების შესწავლა აჭარის რეგიონში არსებულ სტაციონერებში და ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამების რეზისტენტობის მიზეზების დადგენა.

მიზნის მისაღწევად დისერტაციის ფარგლებში დასახული იქნა შემდეგი ამოცანები:

1. მასალის შეგროვება აჭარის რეგიონის სტაციონარების ინტენსიური თერაპიისა და რენიმიაციული და თერაპიული დეპარტამენტების ნოზოკომიურ ინფექციებზე საექვო პაციენტებიდან;
2. მასალაში დაავადების შესაძლო გამომწვევების დასადგენად ნიმუშის ბაქტერიო-ლოგიური კვლევა, სუფთა კულტურის მეთოდის გამოყენებით გამოყოფა, ნიმუშის დათესვა სხვადასხვა საკვებ არეზე (მიულერ-ჰინტონ, მაკ-კონკი, კლედ-აგარი);
3. ფინჯნების პირველადი დათვალიერების საფუძველზე საექვო კოლონიების არჩევა, შეღებვა და მიკროსკოპირება;
4. სუფთა კულტურების მიღება გადათესვით;
5. მიკროორგანიზმის საბოლოო იდენტიფიკაცია საიდენტიფიკაციო სისტემა Api-20E და Api-20NE-ის მეშვეობით;
6. სუფთა კულტურის დამუშავება, დახარისხება და მათგან საჭირო ნაწილის შენახვა მოლეკულური იდენტიფიცირებისათვის, იზოლატების ბანკის შექმნა;
7. სუფთა კულტურიდან ანტიბიოტიკოგრამის დადგმა და მიკრობთა მგრძნობელობის განსაზღვრა ძირითადად მოხმარებადი ანტიბიოტიკებისადმი;
8. ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზის პროდუცენტების (ESBL) იდენტიფიცირება;
9. სუფთა კულტურის გადათესვა განახლების მიზნით;
10. დნმ-ს გამოყოფა საკვლევი შტამიდან;
11. სხვადასხვა ბეტალაქტამაზის გენზე, გენეტიკური მრავალფეროვნებისა და რეზისტენტობის ჩამოყალიბებასთან ასოცირების დადგენა და დაზუსტება;
12. ამ მიზნით მასალის გენოტიპირება:
 - ა) პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით;
 - ბ) გელ-ელექტროფორეზი პულსირებად ველში (PFGE);
 - გ) მრავლობითი ლოკუსების სექვენირება- ტიპირება (MLST).

კვლევის ობიექტი და მეთოდика

რადგან ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა აჭარის ტერიტორიაზე არსებულ სტაციონარებში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა იდენტიფიცირება და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის დადგენა, კვლევისათვის შერჩეულ იქნა: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* და *Klebsiella pneumoniae*.

საკვლევი მასალის აღება წარმოებდა სხვადასხვა სტაციონარის რეანიმაციულ განყოფილებებში, სტაციონარში ხანგრძლივი მკურნალობის ქვეშ მყოფი იმუნოკომპრომეტირებული, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტული პაციენტებისაგან. საკვლევ მასალად გამოყენებულ იქნა: ბიოლოგიური სითხე, შარდი, სისხლი, ლიქვორი და ნახველი.

სულ გამოკვლეულ იქნა 200 ნიმუში. ყველაზე მეტი რაოდენობით წარმოდგენილი იქნა ნახველი - 75 ნიმუში, სისხლის - 38, შარდის - 49 და ბიოლოგიური სითხის 38 ნიმუში.

ბაქტერიების იზოლაცია და იდენტიფიკაცია ხდებოდა სტანდარტული ბაქტერიოლოგიური მეთოდით, კერძოდ: საკვებ არეებზე კულტურის დათესვით, შემდეგ სუფთა კულტურის გამოყოფით. საბოლოოდ, კულტურათა იდენტიფიკაცია განხორციელდა API-20E და API-20NE ტესტით (სურ.1), ანტიბიოტიკორეზისტენტობის განსაზღვრა კი Kirby – Bauer–ის დისკ– დიფუზიის მეთოდით.

ასევე, განხორციელდა რეზისტენტული შტამების გენოტიპირება სხვადასხვა ბეტალაქტამაზის გენზე.

ქვეთავი I. *Pseudomonas aeruginosa*-ს დახასიათება

1.1 ტაქსონომია, მახასიათებლები და გავრცელება

ოჯახი - *Pseudomonadaceae*

გვარი - *Pseudomonas, Burkholderia*

სახეობა - *Pseudomonas aeruginosa*-ლურჯ-მწვანე ჩირქის ჩხირი

Pseudomonas გვარს სახელწოდება 1894 წელს Migula-მ მიანიჭა. ამ გვარის წარმომადგენლები მან პიგმენტური მახასიათებლების მიხედვით დაყო ხუთ ძირითად ჯგუფად. მას შემდეგ მრავალი მეცნიერი ცდილობდა ამ ტაქსონომიის სრულყოფას. 1970 წელს ეს გვარი წარმოდგენილი იყო შემდეგი ჯგუფების სახით:

I ჯგუფი - rRNA ჰომოლოგიური ჯგუფი - *gamma Proteobactetria*-ს ქვესახეობა;

II ჯგუფი - rRNA ჰომოლოგიური ჯგუფს მიეკუთვნებოდა *Burkholderia*-ს სახეობები;

III ჯგუფი - *Comamonas, Acidovorax* და *Hydrogenophaga*;

IV ჯგუფი - *Brevundimonas*;

V ჯგუფში შედიოდა *Stenotrophomonas* და *Xanthomonas* წარმომადგენლები.

დღესდღეობით *Pseudomonas*-ს გვარის დაახლოებით 160 სახეობაა ცნობილი, კლინიკური მნიშვნელობა კი მხოლოდ 12 მათგანს აქვს, რომლის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი წარმომადგენელია *Pseudomonas aeruginosa* [Anzai...2000:].

Pseudomonas aeruginosa წარმოადგენს გრამ-უარყოფით, არამაფერმენტებელ აერობულ ჩხირს, რომელიც მიეკუთვნება *Pseudomonadaceae*-ს ოჯახს, *Pseudomonas* გვარს და ბაქტერიების Gamma Proteobacteria კლასს. თითქმის ყველა შტამი არის მოძრავი, 1.0-1.5-დან 5.0 μm ზომის და პოლარულად განლაგებული ერთი შოლტით.

Pseudomonas aeruginosa ფართოდაა გავრცელებული. გვხვდება ყველგან: მიწასა და წყალში, მცენარეებსა და ცხოველებში. ზრდისათვის ოპტიმალური ტემპერატურაა 37°C. *Pseudomonas aeruginosa* რეზისტენტულია ტემპერატურისა და სხვა ფიზიკური ფაქტორების მიმართ. უნარი აქვს, გაუძლოს 42°C ტემპერატურას, მარილისა და საღებავების მაღალ კონცენტრაციას და სუსტ ანტისეპტიკებს.

Pseudomonas aeruginosa წარმოქმნის სხვადასხვა ტიპის კოლონიებს. ხშირად ითესება ლორწოვან-მუკოიდური შტამები. მუკოიდურობა განსაზღვრავს შტამის ვირულენტობას - რაც უფრო ლორწოვანია შტამი, მით უფრო ვირულენტურია იგი.

Pseudomonas aeruginosa წარმოქმნის წყალში ხსნად ორი ტიპის პიგმენტს: მოყვითალო-მომწვანო ან მოყვითალო-მოყავისფრო პიოვერდინს (ფლუორესცენს) და ლურჯი ფერის - პიოციანინს. პიოციანინი უხვად წარმოიქმნება დაბალი კონცენტრაციით რკინის შემცველ საკვებ არეში და ფუნქციონირებს ბაქტერიაში რკინის მეტაბოლიზმის პროცესებში. ზოგიერთი შტამი წარმოქმნის, ასევე, პიორუბინს, რომელსაც აქვს მოწითალო-მოყავისფრო შეფერილობა [Mavrodi ...2012:77 Peek...2012: 80].

ეპიდემიოლოგიურმა კვლევებმა აჩვენა, რომ *Pseudomonas aeruginosa* კლინიკური მედიცინის მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს და აღინიშნება ამ მიკრობის ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ზრდა [Cunha...2002:28].

P.aeruginosa მნიშვნელოვანი ნოზოკომიური პათოგენია და იწვევს საშარდე სისტემის, რესპირაციული ტრაქტის, რბილი ქსოვილების, ძვლისა და შემაერთებელი ქსოვილის, გასტროინტესტინალურ ინფექციებს, დერმატიტებს, ბაქტერიემიას და უამრავ სისტემურ დაავადებას. განსაკუთრებით ხშირია იმუნოდეფიციტითა და ალკოჰოლიზმით დაავადებულ ადამიანებში. იგი ასევე, სერიოზულ პრობლემას ქმნის კიბოთი, მუკოვისციდოზითა და დამწვრობებით ჰოსპიტალიზებულ პაციენტებში. სწორედ, ამიტომ ლეტალურ შემთხვევათა რიცხვი ამ ტიპის პაციენტებში 50%-ით მატულობს. CDC-ის მონაცემებით, აშშ-ში ინფექციურ შემთხვევათა 0,4% ამ მიკრობითაა გამოწვეული [Traugott...2011:87 Micek...2005:78].

Pseudomonas aeruginosa ცნობილია ანტიბიოტიკების მიმართ მაღალი რეზისტენტობით, რის გამოც ის საავადმყოფოს ერთ-ერთი ყველაზე სახიფათო და საშიში შიდა პათოგენია. იგი რეზისტენტულია უამრავი ანტიბიოტიკის მიმართ, რაც გრამ-უარყოფითი მემბრანით არის განპირობებული. გარდა ამისა, *Pseudomonas aeruginosa* შეიცავს ანტიბიოტიკორეზისტენტულ პლაზმიდებს [Hoiby ...2010; Traugott..20011:87].

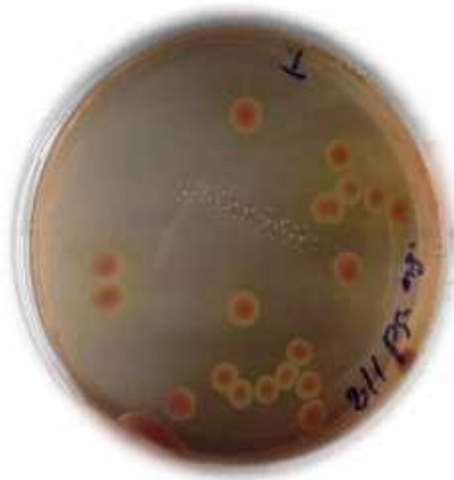
Pseudomonas aeruginosa საკვებ ნიადაგებზე წარმოქმნის სხვადასხვა ტიპის კოლონიებს, სისხლიან აგარზე იძლევა ბეტა ჰემოლიზის ზონებს, თხიერ საკვებ ნიადაგებზე წარმოქმნის მონაცრისფრო-მოვერცხლისფრო აპკს. კულტურას არომატული სუნის აქვს, რადგან ახდენს ციტოქრომოქსიდაზის და ტრიმეთილამინის სინთეზს.

ახდენენ არგინინ-დეჰიდროლაზის პროდუცირებას, შლიან ჟელატინს, იწვევენ კაზეინის ჰიდროლიზს, ახდენენ ჰიალურონიდაზის სინთეზს, იწვევენ ზოგიერთი ამინომჟავის (ვალინის, ალანინის) ჰიდროლიზს, გააჩნია პიგმენტები: მოლურჯო-მწვანე ფერის პიოცინინები, მწვანე - ფლუორესცენი, შავი ფერის პიორუბინი, მოყავისფრო-შავი პიომელანინი, აგრეთვე არსებობენ სუსტპიგმენტური და უპიგმენტო შტამებიც. წყალბად-იონის ოპტიმალური კონცენტრაციაა 7,2-7,5; ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურაა 37°C (ცხრილი 1).

ცხრილი 1. *P.aeruginosa*-ს ბიოქიმიური მახასიათებლები

ტესტი	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. stutzeri</i>	<i>P. cepacia</i>	<i>P. maltophilia</i>	<i>P. pseudo mallei</i>	<i>P. mallei</i>
კატალაზა	+	+	+	+	+	+	+
ოქსიდაზა	+	+	+	v	-	+	v
მოძრაობა 37 ° C	+	+	+	+	+	+	-
ჟელატინის გაღებვა	+	+	-	v	+	+	+
არგინინ-დეჰიდროლაზა	+	+	-	-	-	+	+
ლიზინ-დეკარბოქსილაზა	-	-	-	+	+	-	-
ორნიტინ-დეკარბოქსილაზა	-	-	-	-	-	-	-
ბეტა-გალაქტოზიდაზა	-	-	-	+	+	-	-
პიგმენტი ფლუორესცენი	v	+	-	v	-	-	-
პიგმენტი პიოცინინი	+	v	-	v	-	-	-
დაჟანგვა:							
-გლიკოზის	+	+	+	+	+	+	+
-ლაქტოზის	-	V	-	+	+	+	-
-მალტოზის	-	V	+	V	+	+	V
-ტრეგალოზის	V	V	V	+	-	+	+
-ტრეგალოზის	-	+	-	+	+	+	+

1.2. იდენტიფიკაცია. *P.aeruginosa*-ით გამოწვეული ინფექციების დიაგნოსტიკა ხდება პათოლოგიური მასალიდან გამოყოფილი კულტურის ლაბორატორიული იდენტიფიკაციით. იდენტიფიკაციისათვის დიდი მნიშვნელობა აქვს შტამების მიერ პიგმენტების წარმოქმნის უნარს, რადგან ასეთ მიკროორგანიზმებს ახასიათებთ საკვებ არეებზე ფლუორესცენციის უნარი. ყველაზე ხშირად მიმართავენ სელექციურ ნიადაგებზე დათესვას. საკვებ ნიადაგებზე: სისხლიან, მაკ-კონკის (სურ.1) აგარზე დათესვისას იდენტიფიცირებას ახდენენ კოლონიების მორფოლოგიით. წამოიქმნება მუკოიდური, დაკბილულკიდეებიანი ან მეტალური ბზინვარების მქონე კოლონიები. იდენტიფიკაციისათვის გამოიყენება გრამის წესით შეღებვა ,ოქსიდაზაზე დადებითი რეაქცია, 15% ქელატინის გაჯირჯება, ჟასმინის დამახასიათებელი სურნელის წარმოქმნა და 42°C-ზე ზრდის უნარი [Cooper...2003:68].



სურათი 1. Pseudomonas aeruginosa MacConkey-ის აგარზე

1.3 ეპიდემიოლოგია. *Pseudomonas aeruginosa* ფართოდაა გავრცელებული. აღწერილია რამდენიმე შემთხვევა, როდესაც იგი გამოიყო ჯანმრთელი არაჰოსპიტალიზებული ადამიანის ყელიდანაც. თუმცა, საავადმყოფოებში მოიძებნება ამ მიკრობის შემცველი უამრავი რეზერვუარი: დეზინფექტანტები, შხაპები, იატაკის საწმენდები და ა.შ. ის, ასევე, პერმანენტულად ვლინდება საავადმყოფოს გარემოში საკვებზე, ხილზე, ბოსტნეულზე, მცენარეებზე და სხვადასხვა საშუალებიდან მნახველებსა და პაციენტებზე. მიკრობი ვრცელდება პაციენტიდან პაციენტზე, მედპერსონალის ხელეზე პირდაპირი კონტაქტისა და ასევე, კონტამინირებულ საკვებთან და წყალთან

კონტაქტის გზით [Lyczak ...2000:46, Traugott...2011:87].

P.aeruginosa-ს გავრცელების თავიდან ასაცილებლად საუკეთესო გზაა ასეპტიკური პირობების დაცვა, საავადმყოფოს აღჭურვილობის სტერილიზაცია და მათი დასუფთავება, რესპირატორების, კათეტერების და სხვა ინსტრუმენტების მონიტორინგი. დამწვრობითი ჭრილობების თერაპია ანტიბაქტერიული საშუალებებით, როგორცაა: ვერცხლის სულფოდიაზინის გამოყენება ჭრილობის ქირურგიულ დამუშავებასთან ერთად, რაც დამწვრობით პაციენტებში მკვეთრად ამცირებს *P.aeruginosa*-ით სეფსისით განვითარებული შემთხვევების რიცხვს. *P.aeruginosa* ბუნებრივადაა რეზისტენტული მრავალი ანტიბიოტიკის მიმართ და არამიზანმიმართულმა მკურნალობამ, შესაძლოა, რეზისტენტობა უფრო მეტად გაზარდოს [Hachem...2007: 70, Micek...2005:78].

ქვეთავი II. *Klebsiella spp.* დახასიათება

2.1. ტაქსონომია, მახასიათებლები და გავრცელება

ოჯახი - *Enterobacter*

გვარი - *Klebsiella*

სახეობები - *K.pneumoniae*, *K.rhinoscleromatis*, *K. Ozenae*

Klebsiella-ს გვარს ეს სახელწოდება გერმანელ ბაქტერიოლოგ Edwin Klebs-ის (1834–1913) პატივსაცემად ეწოდა. ამ გვარიდან კლინიკური მნიშვნელობით გამოირჩევა შემდეგი სახეობები: *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella planticola* და *Klebsiella ornithinolytica*. *Klebsiella pneumoniae* გრამ-უარყოფითი ჩხირისებური უძრავი ბაქტერიაა. იგი ფაკულტატური ანაერობია. აქვს ლაქტოზის ფერმენტირებისა და კაფსულის წარმოქმნის უნარი, გვხვდება პირის, კანის და ნაწლავების ნორმალურ ფლორაში. თანამედროვე კლასიფიკაციის მიხედვით *Klebsiella pneumoniae* მიეკუთვნება *Enterobacteriaceae*-ს ოჯახს, *Klebsiella*-ს გვარს, *Klebsiella pneumoniae* - სახეობას [Karumidze...2012:43].

Klebsiella spp. ფართოდაა გავრცელებული ბუნებაში. ის ბინადრობს ადამიანისა და ცხოველების ლორწოვანი გარსების ზედაპირზე, რომლის კოლონიზაციას ახდენს (Brisse...2001).

K.pneumoniae იწვევს პნევმონიას. ამ დროს ადამიანის ფილტვში ხდება დესტრუქციული ცვლილებები. როგორც წესი, *K.pneumoniae*-თი გამოწვეული ინფექციები ძირითადად გვხვდება სუსტი იმუნიტეტის მქონე პირებში. უფრო ხშირად ავადდებიან საშუალო და ხანდაზმული ასაკის ადამიანები. ასევე, ხშირად ინფიცირდებიან დიაბეტით, ალკოჰოლიზმით, ღვიძლის დაავადებებით დაავადებულები. ყველაზე ხშირია საავადმყოფოს შიდა ინფექციები [Sahly...2000:81].

K.pneumoniae ასევე, საშარდე გზების ინფექციების, ღვარამის, ოსტეომიელიტის, მენინგიტის, ბაქტერიემიისა და სეპტიცემიის გამომწვევიცაა [Warren... 2001:89].

K.pneumoniae მოკლე მსხვილი გრამუარყოფითი ჩხირია, ზომით 0,6-6,0 X 0,3-1,0 მკმ. ის ფაკულტატური ანაერობია. მას გააჩნია ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურა 35-

37°C, ოპტიმალური pH 7,2-7,4. ნაცხში ცალ-ცალკე, წვრილად ან მოკლე ძეწკვის სახით გვხვდება, *K.pneumoniae*-ს სპორებს არ წარმოქმნის (სურ.2).



სურათი 2. *Klebsiella pneumoniae* MacConkey-ის აგარზე

Klebsiella spp-ის იდენტიფიკაცია. შტამების ბიოტიპირება დაფუძნებულია ბიოქიმიური და კულტივირების ტესტების ფართო სპექტრზე. ბიოტიპირება, შესაძლოა, ჩატარდეს API 20E სისტემით. API 20E სტანდარტიზებული მიკრომეთოდია, რომელიც მოიცავს 20 ბიოქიმიურ ტესტს, როგორც მე-3 სურათიდან ჩანს, სტრიპები შედგება დეჰიდრატირებული ნიადაგისა და სუბსტრატების შემცველი 20 მიკროსინჯარისგან (სურ 3).



სურათი 3. API 20E სისტემით მიკრობის იდენტიფიკაცია

ეპიდემიოლოგია. საავადმყოფოში *K.Pneumoniae*-თი კოლონიზაცია იქ ყოფნის ხანგრძლივობასთან ერთად პირდაპირპროპორციულად იზრდება. *K.pneumoniae*-ს მატარებლობის შესახებ გამოქვეყნებული ანგარიშით, ეს მიკრობი ითესებოდა ჰოსპიტალიზებული პაციენტების 77%-ის განავალის, 19%-ის ცხვირახახის და 42%-ის პაციენტის ხელიდან აღებული ნიმუშებიდან. როგორც გაირკვა, *K.pneumoniae*-თი კოლონიზაციის მაღალი პროცენტი უფრო მეტად გამოწვეულია ანტიბიოტიკების გამოყენებით, ვიდრე იმ ფაქტორებით, რომლებიც საავადმყოფოში მის გავრცელებას განაპირობებენ. ერთ-ერთ კვლევაში აღწერილი იყო, რომ საავადმყოფოში პაციენტების მიღებიდან ორი კვირის შემდეგ გაიზარდა *K.pneumoniae*-ს შტამებით კოლონიზაცია იმ პაციენტებში, რომლებიც რამდენიმე ან ფართო ჯგუფის ანტიბიოტიკებს იღებდნენ. აღსანიშნავია, რომ ანტიბიოტიკოთერაპია ძალიან ხშირად გამხდარა რეზისტენტული ფორმების გამრავლების მიზეზი საავადმყოფოში. ამიტომ აუცილებელია ანტიბიოტიკების გამოყენების მკაცრი კონტროლი, რათა თავიდან იქნეს აცილებული მისი არამიზნობრივი და გადაჭარბებული გამოყენება [Karumidze...2012: 42].

K.pneumoniae-ს გამრავლებისათვის რეზერვუარია პაციენტის გასტროინტესტინალური ტრაქტი და საავადმყოფოს პერსონალის ხელები. ამ მიკრობის სწრაფად გავრცელების უნარი ხშირად მიდის ნოზოკომიურ აფეთქებამდე, განსაკუთრებით ახალშობილთა განყოფილებებში. 1983-1991 წლებში ლიტერატურაში აღწერილია ეპიდემიური ნოზოკომიური ინფექციების 145 შემთხვევა ინგლისში, მათგან 13 შემთხვევა განპირობებული იყო *K.pneumoniae*-თი. დაავადებათა კონტროლის ცენტრების სტატისტიკური მონაცემებით, *Klebsiella* spp. სახელდება ენდემური ჰოსპიტალური ინფექციების 8%-ისა და ეპიდემიური აფეთქებების 3%-ის მიზეზად [Podschun...1998:34]. შემაშფოთებელია მულტირეზისტენტული შტამებით გამოწვეული ჰოსპიტალური ინფექციების ეპიდემია. 1970-იან წლებში განსაკუთრებით ხშირი იყო ამინოგლიკოზიდებისადმი რეზისტენტული შტამები. 1982 წლიდან კი გავრცელდა ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამების წარმომქმნელი შტამები. ამერიკაში ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზების წარმომქმნელი *Klebsiella*-ს შტამები ეროვნული ნოზოკომიური ინფექციების 5%-ის გამომწვევია. ევროპაში კი, კერძოდ,

საფრანგეთსა და ინგლისში, მსგავსი შემთხვევების მაჩვენებელი კიდევ უფრო მაღალი იყო [Kaye...2004:74 Nordmann ...2009: 79, Podschun...1998: 34].

ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზების გენების შემცველი პლაზმიდების გადატანა ადვილად ხდება ერთი შტამიდან მეორეზე, შედეგად, შეიძლება მოხდეს რეზისტენტული გენების აკუმულაცია ერთ შტამში, რომელიც ჩამოყალიბდება როგორც მულტირეზისტენტული გენების მქონე პლაზმიდის შემცველი ბაქტერია. ამ მიზეზის გამო ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზების წარმომქმნელი შტამები რეზისტენტულია მრავალი ჯგუფის ანტიბიოტიკების მიმართ.

Klebsiella-ს დიფერენცირება და იდენტიფიცირება ხდება მორფოლოგიური, ბიოქიმიური და სეროლოგიური თვისებების საფუძველზე.

***Klebsiella pneumoniae*-ს ბიოქიმიური თვისებები**

- შტამების უმეტესობა იწვევს გლუკოზის ფერმენტაციას მჟავის და აირის წარმოქმნით;
- ოქსიდაზა უარყოფითია;
- კატალაზა დადებითია;
- არ წარმოქმნის ორნითინ-დეკაბოქსილაზას და არგინინ-დეჰიდროლაზას;
- არ წარმოქმნიან H₂S;
- არ აღადგენენ ნიტრატებს.

ქვეთავი III. *Acinetobacter baumannii* გვარის დახასიათება

3.1. ტაქსონომია, მახსიათებლები და გავრცელება

Acinetobacter

- ❖ ოჯახი - *Moraxellaceae*
- ❖ გვარი - *Acinetobacter*
- ❖ რიგი - *Pseudomonales*
- ❖ ძირითადი სახეობა – *Acinetobacter baumannii*

თანამედროვე კლასიფიკაციის მიხედვით, გვარი *Acinetobacter* მიეკუთვნება: სამეფოს - Bacteria, კლასს - Gammaproteobacteria, რიგს - Pseudomonales, ოჯახს - Moraxellaceae. დღეისთვის *Acinetobacter*-ის გვარში 31 სახეობაა იდენტიფიცირებული. აქედან 17-ს აქვს სახელი მინიჭებული (Peleg...2008:), ხოლო 14 უსახელოა და მოიხსენიება, როგორც genomospecies, შესაბამისი ნუმერაციით (Peleg...2008:). ყველა მათგანი ხასიათდება, როგორც გრამ-უარყოფითი, არამაფერმენტბელი კოკობაცილა, მკაცრად აერობული, უმოძრაო, კატალაზა-პოზიტიური და ოქსიდაზა ნეგატიური ბაქტერია. უკანასკნელი 20-30 წლის განმავლობაში მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყანაში ძლიერ შეიძვალა საავადმყოფოს შიდა ინფექციების ეთიოლოგია: გაიზარდა გრამ-უარყოფითი ბაქტერიებით გამოწვეული ინფექციების ხვედრითი წილი, რომელთაგან ბოლო მონაცემებით, ერთ-ერთი მნიშვნელოვანია *Acinetobacter spp.* [Cisneros...2002:49, Dijkshoorn...2007:51, Van...2004:12]. თუ მეოცე საუკუნის სამოციან წლებში *Acinetobacter spp.* არაპათოგენურ ბაქტერიად მიიჩნეოდა, დღეისათვის ის უკვე ყველაზე დიდ პრობლემას უქმნის სამედიცინო პერსონალს [Fournier ...2006:96, Joly-Joly...2005:54, Lee...2001:102, Van ...2004:12]. ინფიცირების შემთხვევაში შედეგი, სამწუხაროდ, ხშირად ლეტალურია [Falagas...2007:95]. ეს ძირითადად დამოკიდებულია ინფიცირების ადგილსა და პაციენტის ფიზიკურ მდგომარეობაზე. თავდაპირველად *Acinetobacter spp.* ასოცირდებოდა პოსტოპერაციულ და შარდ-სასქესო გზების ინფექციებთან, დღესთვის კი ეს ბაქტერია გამოიყოფა ისეთი პაციენტებისგან, რომლებიც დაავადებულნი არიან სეპტიციემიით, პნევმონიით, ენდოკარდიტით, მენინგიტით, ასევე, გამოიყოფა კანისა და ჭრილობის ინფექციის დროს [Richet ...2006:125].

3.2. იდენტიფიკაცია. *Acinetobacter* ზრდის სტაციონარულ ფაზაში იძენს კოკოიდურ ფორმას. ამ ბაქტერიებს აქვთ მიდრეკილება, დაწყვილდნენ ან შექმნან ჯაჭვი, სადაც მათი რაოდენობა ვარიაბელურია. *Acinetobacter spp.* მყარ საკვებ არეზე წარმოქმნის გლუვ კოლონიას. მისი შეფერილობა შეიძლება მერყეობდეს თეთრიდან მკრთალ ყვითლამდე. თუმცა ნაჩვენებია, რომ ზოგიერთ, გარემოდან გამოყოფილ შტამს ახასიათებს ყავისფერი პიგმენტაცია [(Peleg...2008:]. ზოგიერთი კლინიკური შტამისთვის ასევე დამახასიათებელია ჰემოლიზური აქტივობა. გარემოდან გამოყოფილი *Acinetobacter spp.* ძირითადად მეზოფილურია, მისი ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურა არის 25-28⁰C, თუმცა, კლინიკური შტამებისთვის ხშირად ოპტიმალური ტემპერატურა 37⁰C-ია. გვხვდება ისეთი შტამებიც, რომელთაც უნარი აქვთ, გაიზარდონ 0⁰C-ზე.(<http://iliauni.edu.ge/uploads/other/1/1452.pdf>). *Acinetobacter*-ის იდენტიფიკაცია ხდება, ასევე ბიოქიმიური ტესტის გამოყენებით - *Api 20NE*.

3.3. ეპიდემიოლოგია. კლინიკაში *A.baumannii*-ის პირველი გამოვლენიდან დღემდე მკვეთრად შეიცვალა ამ ბაქტერიების მგრძობელობა სხვადასხვა ანტიბიოტიკის მიმართ. დღეისთვის უკვე გავრცელებულია *A.baumannii*-ის ისეთი შტამები, რომლებიც რეზისტენტულია თითქმის ყველა ანტიბიოტიკის მიმართ, მათ შორის: ამინოპენიცილინის, პირველი და მეორე თაობის ცეფალოსპორინების და ქლორამფენიკოლის მიმართ [Dijkshoorn...2007:51, Lee...2011:102]. ყველაზე დიდ პრობლემას წარმოადგენს რეზისტენტული შტამები ანტიბიოტიკების ჯგუფის-კარბაპენემების მიმართ, რომლებიც მიჩნეულია საუკეთესო და უალტერნატივო საშუალებად *Acinetobacter spp.*-ით გამოწვეული ინფექციების სამკურნალოდ. 1970 წლამდე ამ ინფექციების საწინააღმდეგოდ იყენებდნენ გენტამიცინს, მონოციკლინს, ამპიცილინს [Kempf...2012:100], 1970 წლიდან დღემდე ბაქტერიის 17 შტამმა თანდათან განივითარა რეზისტენტობა ამინოპენიცილინის, ამინოგლიკოზიდების, ტეტრაციკლინის მიმართ. ამ მიკრობის წინააღმდეგ ბოლო წლებამდე ყველაზე ეფექტურ საშუალებად იმიპენემი მიიჩნეოდა, მაგრამ დროთა განმავლობაში რეზისტენტობა მის მიმართაც განვითარდა და დღეისათვის ზოგიერთ არეალში იმიპენემრეზისტენტული *Acinetobacter baumannii*-ის რაოდენობა 25%-საც კი აღწევს (Lee...2011). *Acinetobacter baumannii*-ის მიერ გამოწვეული ინფექციების აფეთქებები ევროპაში ჯერ კიდევ მეოცე საუკუნის ოთხმოციან წლებში დაფიქსირდა, ხოლო კარბაპენემრეზისტენტული შტამებით გამოწვეული საავადმყოფოსშიდა აფეთქებების

შემთხვევათა რიცხვი ბოლო ათი წლის განმავლობაში მკვეთრად გაიზარდა [Kempf...2012:100,]. მაგალითად, 2003-2004 წლებში იტალიაში, საფრანგეთში და საბერძნეთში, 2004-2005 წლებში ბელგიაში, 2005-2007 წლებში საბერძნეთში და 2007 წელს იტალიაში დაფიქსირდა საავადმყოფოსშიდა აფეთქებები, სადაც ინფექციის გამომწვევ ბაქტერიებში იმიპენემრეზისტენტობას OXA-58 კარბაპენემზა განაპირობებდა. 2004 წელს საფრანგეთში, 2005-2007 წლებში თურქეთსა და გერმანიაში და 2007 წელს იტალიაში იფეთქა OXA-23-ის მაპროდუცირებელი იმიპენემრეზისტენტული ბაქტერიული შტამით გამოწვეული ინფექციების შემთხვევებმა [Kempf...2012:100].

2008 წელს საქართველოსა და ერაყში დაფიქსირდა bla-OXA24like გენის შემცველი *A.baumannii*. [Kusradze...2011:115], 2009 წელს ხორვატიაში დაფიქსირდა bla-OXA24like გენის შემცველი *A.baumannii*-ით გამოწვეული საავადმყოფოსშიდა აფეთქება. ერთადერთი ანტიბიოტიკი, რომლის მიმართ ჯერ სრული რეზისტენტობა არ გამოუვლენია *A.baumannii*-ის ბაქტერიულ შტამებს, წარმოადგენს კოლისტინი. მიუხედავად დიდი ტოქსიკურობისა, კოლისტინი ჯერჯერობით ერთადერთ უკანასკნელ იმედის მომცემ საშუალებას წარმოადგენს მულტირეზისტენტული შტამების წინააღმდეგ. თუმცა, უნდა აღინიშნოს, რომ ადგილი აქვს კოლისტინის მიმართ რეზისტენტული ფორმების ზრდას (5%-28%), რაც *A. baumannii*-ით გამოწვეული ინფექციების მკურნალობას უალტერნატივოს ხდის [Cai ...2012: 113, Lopez-Rojas...2011:122].

A.baumannii-ს ბაქტერიული შტამებისთვის დამახასიათებელია გენეტიკური ინფორმაციის მაღალი სიხშირით ცვლილება, სადაც პლაზმიდები, ტრანსპოზონები და ინტეგრონები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ.

ქვეთავი IV. ანტიბიოტიკები, ანტიბიოტიკორეზისტენტობა

4.1. ანტიბიოტიკების დახასიათება. ანტიბიოტიკები ქიმიური ნივთიერებებია, რომლებსაც დაავადების გამომწვევი ბაქტერიების ზრდისა და განვითარების შეჩერება, მათი განადგურება შეუძლია. ამ პრეპარატებს ბაქტერიული მიკროფლორით გამოწვეული ანთებითი პროცესების სამკურნალოდ იყენებენ. მათ უნარი შესწევთ, დათრგუნონ მიკროორგანიზმთა, სოკოებისა და უმარტივესთა კლასის წარმომადგენელთა ცხოველქმედება.

ქიმიური ბუნების მიხედვით ანტიბიოტიკები ერთმანეთისგან განსხვავდებიან, თუმცა საერთო თვისებებიც აქვთ. მათი მოლეკულური მასები 150-დან 5 000-მდე ვარიირებს. ზოგიერთი ანტიბიოტიკის მოლეკულა მხოლოდ ნახშირბადისა და წყალბადისგან შედგება, ზოგიერთის – დამატებით შეიცავს ჟანგბადსა და აზოტს. ცნობილია გოგირდის, ფოსფორისა და ჰალოგენების შემცველი ანტიბიოტიკებიც. მათ მოლეკულაში ორგანული ქიმიის ყველა ცნობილი ფუნქციური ჯგუფია წარმოდგენილი. ანტიბიოტიკებს წარმოქმნიან: აქტინომიცეტები და ობის სოკოები, ბაქტერიები, უმაღლესი მცენარეები, ცხოველები და თევზები.

ანტიბიოტიკების მოქმედების მექანიზმები მრავალფეროვანია, თუმცა სამიზნე სტრუქტურის ან პროცესების მიხედვით განიხილება ინჰიბირების ხუთი ძირითადი მექანიზმი, რომელთა მოქმედების შედეგადად ხდება: ბაქტერიული უჯრედის კედლის კომპონენტების სინთეზის დათრგუნვა; ცილების და ნუკლეინის მჟავების – დნმ-სა და რნმ-ის - სინთეზის ინჰიბირება; უჯრედული მემბრანის სტრუქტურული მთლიანობის დარღვევა; სასიცოხლოდ მნიშვნელოვანი მეტაბოლური პროცესების ბლოკირება/დათრგუნვა.

წარმოშობის წყაროს მიხედვით არსებობს: ბუნებრივი ანტიბიოტიკები, რომლებსაც ცოცხალი ორგანიზმები წარმოქმნიან (მაგალითად, ობის სოკოს მიერ სინთეზირებული პენიცილინი); ნახევრად სინთეზური ანტიბიოტიკები, რომლებსაც ბიოლოგიური პროდუქტების მოდიფიკაციით იღებენ (ამოქსიცილინი, ცეფაზოლინი); ხოლო სინთეზური ანტიბიოტიკები (სულფანილამიდები, ნიტროფურანი) მიიღება ქიმიური გზით [ფოჩხუა 2015; 1].

ბაქტერიულ უჯრედზე მოქმედების მიხედვით არჩევენ: ბაქტერიოსტატიკურ

ანტიბიოტიკებს – მათი ზემოქმედებით ბაქტერიები ცოცხალი რჩებიან, მაგრამ კარგავენ გამრავლების უნარს (მაკროლიდები, ტეტრაციკლინი, ლინკომიცინი, ქლორამფენიკოლი); ბაქტერიოციდულ ანტიბიოტიკებს – მათი გავლენით ბაქტერიები იღუპებიან, მაგრამ ფიზიკურად რჩებიან საარსებო არეში (პენიცილინი, ცეფალოსპორინები, ამინოგლიკოზიდები, რიფამპიცინი, პოლიმიქსინი), ბაქტერიოლიზურ ანტიბიოტიკებს – ანადგურებენ ბაქტერიებს და შლიან მათ უჯრედთა გარსს.

ქიმიური სტრუქტურის მიხედვით არსებობს: ბეტა-ლაქტამური ანტიბიოტიკები, რომლებიც მოიცავს ორ ქვეჯგუფს: პენიცილინის ჯგუფის ანტიბიოტიკებს, რომლებსაც წარმოქმნიან ობის სოკო: ცეფალოსპორინებს, რომლებსაც პენიცილინის მსგავსი სტრუქტურა აქვს და იყენებენ პენიცილინისადმი მდგრადი ბაქტერიების საწინააღმდეგოდ.

ცეფალოსპორინები ბუნებრივი და ნახევრადსინთეზური ანტიბიოტიკებია. არსებობს მათი ოთხი თაობა; პირველი – ცეფორინი, ცეფალოტინი, ცეფალექსინი; მეორე – ცეფაზოდინი, ცეფამანდოლი; მესამე – ცეფუროსიმი, ცეფოტაქსიმი, ცეფუროქსიმ-აქსეტილი, ცეფტრიაქსონი, ცეფტაზიმიდი; მეოთხე – ცეფეპიმი, ცეფპირომი და სხვა.

მაკროლიდები ბაქტერიოსტატიკური მოქმედების, რთული ქიმიური ციკლური ბუნების ნაერთებია.

ტეტრაციკლინი ბაქტერიოსტატიკური მოქმედების ანტიბიოტიკია, რომელიც გამოიყენება სასუნთქი გზებისა და შარდ-გამომყოფი სისტემების ინფექციების, განსაკუთრებით საშიში ციმბირის წყლულის, ტულარემიისა და ბრუცელოზის სამკურნალოდ.

ამინოგლიკოზიდები ძლიერი ტოქსიკური ბუნების ანტიბიოტიკებია, რომლებიც მძიმე ინფექციათა სამკურნალოდ გამოიყენება.

დღეისათვის საკმაო რაოდენობის ლიტერატურული და ექსპერიმენტული მონაცემებია დაგროვილი, რომლებიც აღნიშნავენ ანტიბიოტიკების ინტენსიური გამოყენების უარყოფით თვისებებს. პირველ რიგში, აღსანიშნავია დაავადების გამომწვევი მიკროორგანიზმების მუტაციის მაღალი სიხშირე და ანტიბიოტიკების

სელექციური უნარი – მიკრობთა პოპულაციიდან გამოყონ მდგრადი ფორმები, რაც თავის მხრივ ახალი ანტიბიოტიკების წარმოების აუცილებლობას განაპირობებს.

პენიცილინის მიღებიდან მოყოლებული ადამიანებმა დაიწყეს ანტიბიოტიკების მასობრივი წარმოება და გამოყენება. პენიცილინს მოჰყვა უამრავი ახალი ანტიბიოტიკის შექმნა, მაგრამ ასევე ძალიან ძალე მოხდა იმის შეცნობაც, რომ დროთა განმავლობაში ის ანტიბიოტიკები, რომლებიც ბაქტერიების წინააღმდეგ უნივერსალურ საშუალებად ითვლებოდნენ, კარგავდნენ არსებულ ძალას და აღარ მოქმედებდნენ მიკროორგანიზმების მთელ რიგ ჯგუფებზე [ფოჩხუა 2015].

4.2. ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მექანიზმები

ანტიბიოტიკები სხვადასხვა მექანიზმით მოქმედებენ ბაქტერიებზე, ანადგურებენ მათ დამცავ საფარველს, უჯრედის კედელს, ხელს უშლიან ბაქტერიების მიერ ცილის სინთეზს და ა.შ. შესაბამისად, ასეთი მექანიზმის წყალობით, ანტიბიოტიკები იწვევენ ბაქტერიების სიკვდილს ან გამრავლების შეჩერებას. მაგრამ დედამიწაზე არსებული ყველა ორგანიზმი და მათ შორის ბაქტერიებიც, აქტიურად იბრძვის თვითგადარჩენისთვის. დროთა განმავლობაში ისინი განიცდიან გენეტიკურ ცვლილებას ანუ მუტაციას. ეს სპონტანური მოვლენაა, თუმცა, ანტიბიოტიკების ჭარბი და არასწორი გამოყენება ხელს უწყობს ამ მოვლენის დაჩქარებას.

როდესაც პაციენტი ანტიბაქტერიულ პრეპარატს იღებს, პათოგენური მიკრობი კვდება, მაგრამ ერთეულ შემთხვევაში ზოგიერთი მიკრობი გადარჩება და განიცდის მუტაციებს სხვადასხვა მიმართულებით და აღნიშნული ანტიბიოტიკის შემდგომი გამოყენებისას ხდება მდგრადი, რეზისტენტული. ეს პროცესი განსაკუთრებით აქტიურად ვითარდება, როდესაც ავადმყოფი არასწორად დანიშნულ მედიკამენტს ან არასწორ დოზას იღებს. ამასთანავე, თითოეული ანტიბიოტიკი მოქმედებს შესაძლოა მოქმედებდეს მხოლოდ გარკვეული ჯგუფის ბაქტერიულ გამოწვევებზე, ხოლო სხვა შემთხვევაში ის ნაკლებად ეფექტური იყოს.

მეორე თვისება, რომელიც ბაქტერიებს გააჩნიათ, არის სწრაფი გამრავლების და რეზისტენტობის გენების გავრცელების უნარი. ერთ ბაქტერიას შეუძლია 24 საათში ასჯერ გამრავლდეს, შესაბამისად, რეზისტენტული ბაქტერიის შთამომავალი

ბაქტერიებიც მდგრადია სწორედ, იმ ანტიბიოტიკისადმი, რომლის მიმართაც მისი წინაპარი იყო რეზისტენტული. რეზისტენტობის გენების გადაცემა ხდება სხვადასხვა მიმართულებით დნმ-ის რეკომბინაციების გზით. ამ მექანიზმის წყალობით, ბაქტერიებს შეუძლიათ სწრაფი, აქტიური გამრავლება და რეზისტენტობის გავრცელება თაობებში.

მიკროორგანიზმების რეზისტენტული შტამები ჩნდებიან ბაქტერიული გენომის ცვლილებისას – სპონტანური მუტაციების შედეგად. ეს უკანასკნელი დაკავშირებული არ არის ანტიბაქტერიული პრეპარატების ბაქტერიის დნმ-ზე ზემოქმედებასთან და სელექციური აგენტის როლს ასრულებს. ქიმიური პრეპარატების ზემოქმედებით, სელექციის პროცესში იღუპებიან მგრძობიარე მიკროორგანიზმები, რეზისტენტულები კი გადარჩებიან, მრავლდებიან და ვრცელდებიან გარემოში. შეძენილი იმუნიტეტი მტკიცდება და შემდგომი გენერაციით გადაეცემა თაობებს.

მიკრობთა გამძლეობა ანტიბიოტიკისადმი წარმოიშობა მიკროორგანიზმების გენეტიკურ აპარატში ცვლილებების შედეგად. გამოყოფენ ბაქტერიების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გენეტიკური მექანიზმის ორ ტიპს: 1) ქრომოსომურს, რომელიც განპირობებულია ბაქტერიული უჯრედის ქრომოსომურ აპარატში ცვლილებით; 2) არაქრომოსომურს, რომელიც კოდირებულია პლაზმიდებით, კერძოდ R-პლაზმიდებით, რომლებიც განლაგებული არიან ბაქტერიის ციტოპლაზმაში [ფოჩხუა 2015].

ბაქტერიულ პლაზმიდებს, რომლებითაც ხდება წამლისმიერი მდგრადობის დეტერმინანტების გადატანა უჯრედების კონიუგაციის პროცესში, ეწოდა R-ფაქტორი. R- პლაზმიდები (მაკონიუგირებელი) შედგება ორი კომპონენტისაგან – მდგრადობის გადამტანი ფაქტორის RTF-ისა (გენეტიკური ინფორმაციის გადაცემის განმხორციელებლები) და ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობაზე პასუხისმგებელი R-ფაქტორისაგან. ცალკეულ შემთხვევებში არამაკონიუგირებელი პლაზმიდები, R-ფაქტორები, ბაქტერიულ უჯრედში არსებობენ ქრომოსომისაგან დამოუკიდებლად [Otto 2004: 40, Schaberg 1994: 38].

პლაზმიდას უწოდებენ გენეტიკურ არაქრომოსომურ ელემენტს, რომელიც ავტონომიურად არსებობს სტაბილური ფორმით. ეპისომას კი უწოდებენ პლაზმიდას, რომელიც გაერთიანებულია ქრომოსომასთან. გენების უმრავლესობა, რომლებიც

განსაზღვრავენ პათოგენობას, განლაგებული არიან ქრომოსომაზე. რაც შეეხება პლაზმიდებს, ისინი მთელი გენების 1%-ს წარმოადგენენ, მაგრამ მიუხედავად ამისა, პასუხისმგებელი არიან, ბაქტერიის ისეთ თვისებაზე, როგორცაა ვირულენტობა [ფოჩხუა: 2015].

პლაზმიდა მოკლე წრიული დნმ-ის მოლეკულაა, რომელიც არსებობს ქრომოსომისგან დამოუკიდებლად და გააჩნია დამოუკიდებლად რეპლიკაციის უნარი. ხშირ შემთხვევაში პლაზმიდები შეიცავენ ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობის მაკოდირებელ გენებს. ტრანსფორმაციის საშუალებით ხდება ამ პლაზმიდების გავრცელება ბაქტერიულ შტამებს შორის და შედეგად -ანტიბიოტიკორეზისტენტული ფორმების მიღება. უჯრედიდან უჯრედზე R-პლაზმიდების კონიუგაციის ან ტრანსდუქციის გზით გადაცემის უნარით აიხსნება მათი სწრაფი გავრცელება მიკრობულ პოპულაციაში

ტრანსპოზონური ელემენტები წარმოადგენს დნმ-ის ფრაგმენტებს, რომლებიც თავისუფლად გადაადგილდება ერთი რეპლიკონიდან მეორეზე. მათ შემცველობაში შენვალი გენები განსაზღვრავენ ბაქტერიული უჯრედის სხვადასხვა ფენოტიპურ ნიშან-თვისებას, მათ შორის ანტიბიოტიკორეზისტენტობას, და განაპირობებენ ანტიბიოტიკებისადმი მდგრადობის დეტერმინანტების გადატანას პლაზმიდებისა და ფაგების მეშვეობით. ტრანსპოზონებში შემავალი გენები გარშემორტყმულია განსაკუთრებული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობით, რომელიც განაპირობებს არაჰომოლოგიურ გენომში მათ ჩართვას.

ტრანსპოზონი დნმ-ის სეგმენტია, რომელიც წარმოიქმნება ქრომოსომის ერთი უბნიდან და შეუძლია გენომის ირგვლივ მოძრაობა. გააჩნია ანტიბიოტიკორეზისტენტობისა და ტოქსინის მასინთეზირებელი გენები [Fournier ...2006:96].

ინტეგრონი გენეტიკური ელემენტი მას ხშირად ვხვდებით ეპიდემიურ შტამებში. მისი არსებობა, ასევე, დაკავშირებულია ანტიბიოტიკორეზისტენტობასთან (Gallego...2001).

Insertion sequences (IS) დნმ-ის უფრო მცირე ზომის ელემენტებია, რომელთა სიგრძე მერყეობს 10-40bp-მდე და მათ ფუნქციას წარმოადგენს გვერდით მყოფი გენების ექსპრესიის რეგულაცია. ისინი ზოგჯერ დაკავშირებულნი არიან გენების

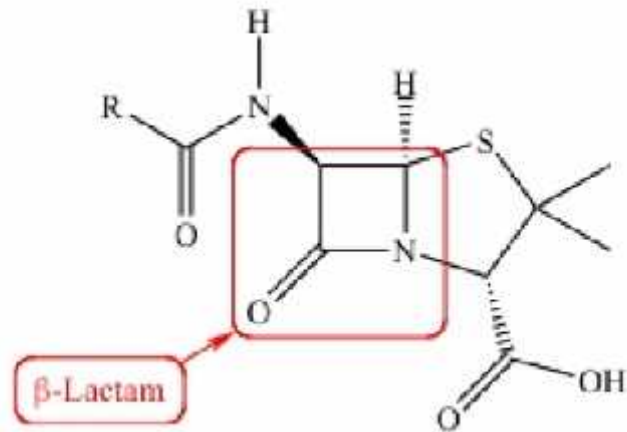
გადატანასთან, დელეციასთან, რეკომბინაციასთან.

რეზისტენტული კუნძულები - გენტიკური ელემენტებია, რომლებიც ქრომოსომაში აღმოჩნდნენ სხვადასხვა მიკრობული შტამიდან გენების ჰორიზონტალური გადატანის შედეგად. ამ კუნძულის სიგრძე შეიძლება მერყეობდეს 10-დან 100 kb-მდე [Ruiz..2007;Touati...2012].

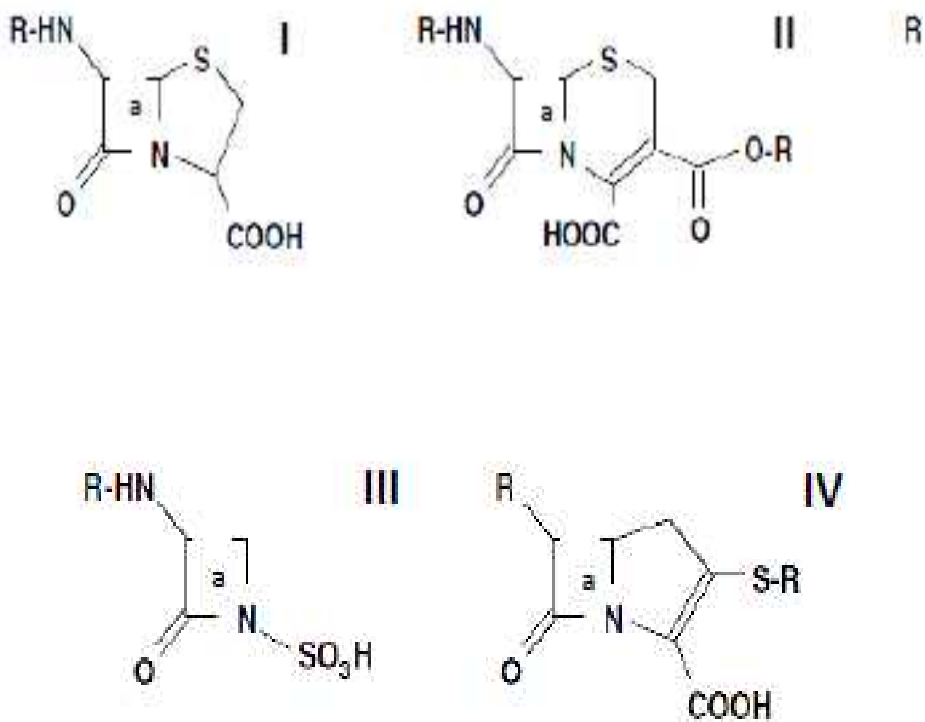
4.3. ლაქტამური ანტიბიოტიკების მიმართ ბაქტერიის რეზისტენტობის მექანიზმები

ESBL-ების (გაფართოებული სპექტრი - ბეტა ლაქტამაზები) დიდი უმრავლესობა წარმოადგენს შემენილ ფერმენტებს, რომლებიც კოდირებულია პლაზმიდებზე არსებული გენებით. შემენილი ESBL-ები გამოვლინდება სხვადასხვა დონეზე და მნიშვნელოვნად განსხვავდება ბიოქიმიური მახასიათებლებით, როგორცაა სპეციფიკური -ლაქტამაზების საწინააღმდეგო მოქმედება (მაგალითად ცეფოტაქსიმი, ცეფტაზიდიმი, აზტრეონამი). გამოვლენის დონე, ფერმენტის თვისებები და რეზისტენტობის სხვა მექანიზმების თანაარსებობა (სხვა -ლაქტამაზები, ეფლუქსი, შეცვლილი შეღწევადობა) განაპირობებს რეზისტენტული ფენოტიპების დიდ მრავალფეროვნებას, რომელიც ნანახია ESBL-ს წარმომქმნელ შტამებში [Naas ...2004:129, Gniadkowski...2008:133, Livermore ...2008:134].

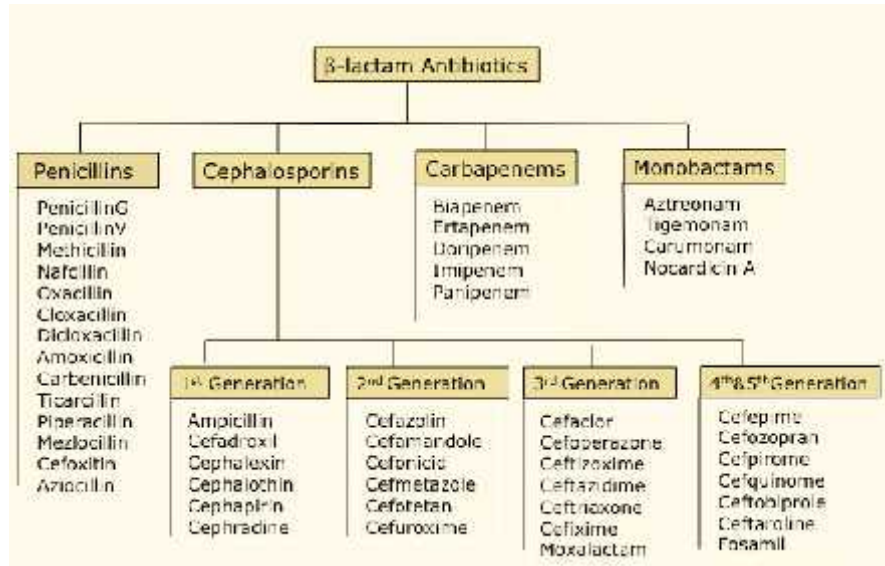
1928 წელს ფლემინგმა აღმოაჩინა პირველი -ლაქტამური ანტიბიოტიკი პენიცილინი ($R-C_9H_{11}N_2O_4S$). სურათზე (სურ.4) წითლად აღნიშნულია -ლაქტამური რგოლი. დღეისთვის ანტიბიოტიკების ეს ჯგუფი ყველაზე ფართოა და ყველაზე ხშირად გამოყენებადი სხვადასხვა ინფექციის დროს. ქიმიური სტრუქტურის (სურ.5) მიხედვით, -ლაქტამური ანტიბიოტიკები იყოფა ოთხ ჯგუფად: I - პენიცილინები, II - ცეფალოსპორინი; III - მონობაქტამები, IV - კარბაპენემები, როგორც მე-6 სურათიდან ჩანს, თოთოეულ ჯგუფს ეკუთვნის სხვადასხვა თაობის ანტიბიოტიკები (სურ.6;) [Brown...2006: 110].



სურათი 4. პენიცილინის ლაქტამური ანტიბიოტიკის სტრუქტურა- $R-C_9H_{11}N_2O_4S$

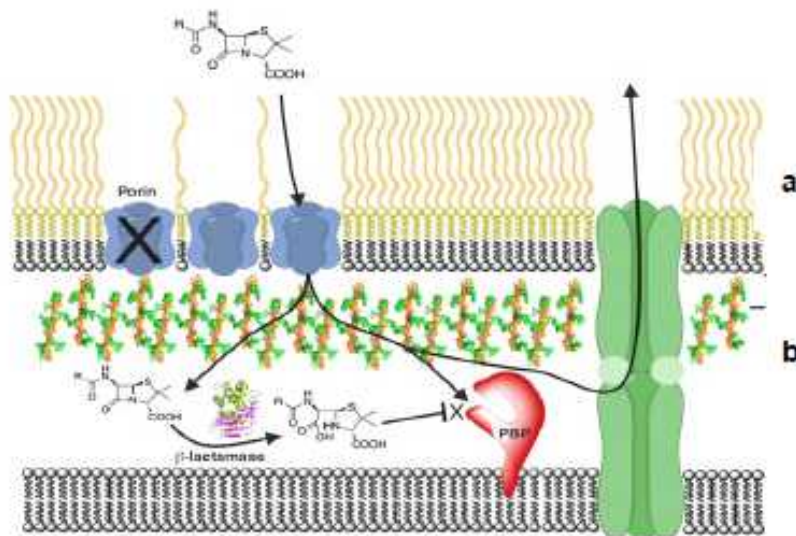


სურათი 5. -ლაქტამური ანტიბიოტიკების ქიმიური სტრუქტურა
 I-პენიცილინი; II-ცეფალოსპორინი; III-მონოზაქტამები; IV-კარბაპენემები



სურათი 6. სხვადასხვა თაობის -ლაქტამური ანტიბიოტიკები

ეს ანტიბიოტიკები ბაქტერიციდული ნივთიერებებია, რომლებიც ახდენენ პეპტიდოგლიკანური შრის სინთეზის ბოლო საფეხურის ინჰიბირებას. ბოლო საფეხურის სინთეზი კი განპირობებულია ტრანსპეპტიდაზით, რომელიც ცნობილია, როგორც PBPs (Penicillin-Binding-Proteins), -ლაქტამ-ანტიბიოტიკები უკავშირდებიან და ბოჭავენ მათ, შედეგად გამოვლინდება უჯრედის კედლის დესტრუქცია (სურ.7) [Walsh...2000:128]. ამ ანტიბიოტიკებისაგან თავის დასაცავად რამდენიმე მექანიზმი ჩამოყალიბდა.



სურათი 7. გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების უჯრედის კედლის სტრუქტურა და ლაქტამაზების მოქმედება მათზე. a-მემბრანა, b-პეპტიდოგლიკანური შრე.

რეზისტენტობის მექანიზმებს განაპირობებს:

- ❖ **მემბრანული განვლადობის ცვლილება:** -ლაქტამური ანტიბიოტიკები წარმოადგენს ჰიდროფილურ მოლეკულებს, რომლებიც უჯრედში ხვდებიან გარე მემბრანული ცილების (OMPs) გავლით, რომლებიც განლაგებულია ბაქტერიულ მემბრანაში. ამ ცილების არარსებობის შემთხვევაში აღინიშნება რეზისტენტობა ამ ანტიბიოტიკების მიმართ [Fernandez-Cuenca ...2003:117].
- ❖ **Efflux pump:** ენერგიადამოკიდებული ეს მექანიზმი გადაისვრის ანტიბიოტიკების მოლეკულებს უჯრედის გარეთ [Fernandez-Cuenca ...2003:117].
- ❖ **სპეციფიკური მოდიფიკაცია:** ამ შემთხვევაში აღინიშნება PBPs-ის სპეციფიკური მოდიფიკაცია, რის შედეგადაც ანტიბიოტიკის მოლეკულა ვეღარ ბოჭავს მას [Fernandez-Cuenca ...2003:117, Perez...2007:123].
- ❖ **-ლაქტამაზის პროდუქცია:** ეს -ლაქტამური ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობის მთავარი მექანიზმია. -ლაქტამაზები სტრუქტურულად მსგავსია PBPs-ისა. სწორედ, ამიტომ ანტიბიოტიკის მოლეკულები უკავშირდებიან -ლაქტამაზებს და შედეგად ხდება მათი ინაქტივაცია. *Acinetobacter spp.*-ის მიკრობული შტამები ახდენენ 50-ზე მეტი -ლაქტამაზის პროდუქციას, რომლებიც გაერთიანებული არიან 4 კლასში (A,B,C,D) (ცხრილი 3) [Poirel ...2006:124]

თავი V. გაფართოებული სპექტრის -ლექტამაზას (ESBL)-წარმოქმნილი ენტერობაქტერიები

5.1 გაფართოებული სპექტრის -ლექტამების განსაზღვრება

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ჩამოყალიბება ბაქტერიებში სერიოზული პრობლემაა არა მარტო შიდაჰოსპიტალური ინფექციების შემთხვევაში, არამედ ზოგადად, საზოგადოებისათვის. ბაქტერიების მიერ გაფართოებული სპექტრის -ლექტამაზების (ESBL) პროდუქცია წარმოადგენს მნიშვნელოვან ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მექანიზმს, რაც ამცირებს ბაქტერიებთან ბრძოლის შესაძლებლობას.

ESBL - ფერმენტებია, რომლებიც ახდენენ პენიცილინებისა და ცეფალოსპორინების უმრავლესობის, მათ შორის ოქსიმინო- -ლექტამის შემადგენელი ნაწილების (ცეფუროქსიმი, მე-3 და მე-4 თაობის ცეფალოსპორინები და აზტრეონამი), მაგრამ არა ცეფამიცინების ან კარბაპენემების ჰიდროლიზს. გაფართოებული სპექტრის -ლექტამაზების უმრავლესობა მიეკუთვნება -ლექტამაზების ამბლერის (Ambler) A კლასს და ინჰიბირდება -ლექტამაზას ინჰიბიტორებით (კლავულანის მჟავა, სულბაქტამი და ტაზობაქტამი). -ლექტამაზის მოლეკულური კლასიფიკაცია დაფუძნებულია ნუკლეოტიდურ და ამინომჟავურ თანმიმდევრობაზე ამ ენზიმებში. დღეისათვის ფუნქციურ კლასიფიკაციასთან შესაბამისობაში აღიარებულია 4 კლასი (A-D). A, C, და D კლასები მოქმედებენ სერინის მექანიზმის საფუძველზე, იმ დროს, როცა B კლასს ანუ მეტალო- -ლექტამაზას მოქმედებისათვის ესაჭიროება თუთია. აღსანიშნავია ის, რომ ჩვენს მიერ გამოკვლეული ბაქტერიების უმრავლესობა, განსაკუთრებით კი *Klebsiella pneumoniae*-ს ყველა შტამი, იყო ESBL დადებითი. თითოეული მიკრობის (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*), როგორც მიკრობიოლოგიური, ასევე მოლეკულური კვლევის შედეგად დაფიქსირდა -ლექტამაზების სხვადასხვა კლასი (TEM, SHV, OXA, VIM, IMP, NDM, KPC), რაც ასოცირდება მაღალი რეზისტენტობის ფაქტორთან და შესაბამისად, მისი რეზისტენტობის მექანიზმების შესწავლა მნიშვნელოვანია.

5.2. კლასი A-TEM -ლაქტამაზა

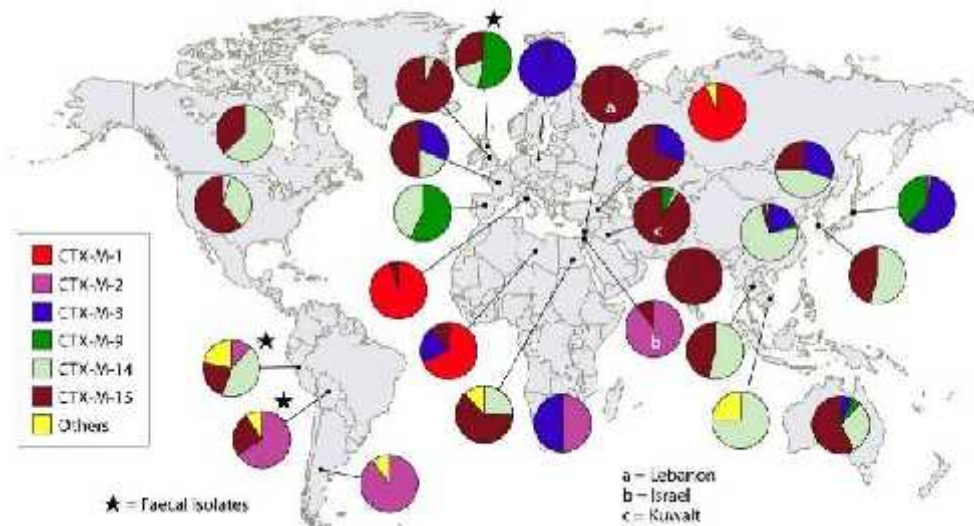
-1 -ლაქტამაზა ყველაზე ხშირად გვხვდება გრამ-უარყოფით ბაქტერიებში. TEM-1-ს წარმოქმნით არის გამოწვეული ამპიცილილის მიმართ 90%-იანი რეზისტენტობა *E.coli*-ში. გარდა ამისა, ამპიცილინისა და პენიცილინის რეზისტენტობის მაღალი ხარისხი გამოხატულია *H.influenzae* და *N.gonorrhoeae*-ში. TEM-ტიპის -ლაქტამაზა აღმოჩენილია *E.coli*-სა და *K.pneumoniae*-ში. ისინი, ასევე, დაფიქსირებულია სხვა სახეობის გრამ-უარყოფით ბაქტერიებში, რომლებშიც, ასევე, განაპირობებს რეზისტენტობის მაღალ ხარისხს [Sibhghatulla...2015:37].

5.3. კლასი A SHV -ლაქტამაზა

SHV-1 და TEM-1-β -ლაქტამაზებს აქვს თითქმის მსგავსი სტრუქტურა. SHV-1 β-ლაქტამაზა აღმოჩენილია *K. pneumoniae*-ში და პასუხისმგებელია ამ სახეობაში პლაზმიდით განპირობებული ამპიცილინ- რეზისტენტობის 20%-ზე. SHV β -ლაქტამაზას 60-ზე მეტი სახესხვაობა არის ცნობილი, მათ შორის SHV-5 და SHV-12-იც გავრცელებული ESBL ტიპია ევროპაში და ამერიკაში. [Sibhghatulla... 2015:37].

5.4. კლასი A-CTX-M ლაქტამა

CTX-M 80-ზე მეტი ფერმენტი არის ცნობილი. ისინი ნაპოვნია *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* და *E. coli*-ს შტამებში, მაგრამ აღწერილია *Enterobacteriaceae* სხვა სახეობებში და არის სამხრეთ ამერიკაში დომინანტი ESBL ტიპი. CTX-M-1, CTX-M-14, CTX-M-3, და CTX-M-2 ფართოდაა გავრცელებული. CTX-M-15 ასევე, ხშირად გვხვდება *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli*-ში. ის დაფიქსირებულია ინგლისში და ასევე, ფართოდაა გავრცელებული სხვადასხვა ქვეყანაში (სურ.8) [Sibhghatulla...2015:].



სურათი 8 CTX-M -ლაქტამაზას სხვადასხვა ჯგუფის გავრცელება მსოფლიოში

5.5 კლასი D-OXA -ლაქტამაზა

OXA β-ლაქტამაზა აღიარებული იყო, როგორც ნაკლებად გავრცელებული, მაგრამ აგრეთვე პლაზიდით განპირობებული β-ლაქტამაზას სახესხვაობა, რომელსაც შეეძლო ოქსაცილინის ჰიდროლიზი. აღნიშნული β-ლაქტამაზა განსხვავდება TEM და SHV ფერმენტებისგან იმით, რომ ის მიეკუთვნება მოლეკულურ D კლასს და D ფუნქციურ ჯგუფს. OXA-ტიპის β-ლაქტამაზები ანიჭებენ მდგრადობას ამპიცილინის ხასიათდებიან მაღალი ჰიდროლიზური მოქმედებით ოქსაცილინისა და კლოაქსაცილინის წინააღმდეგ, ასევე, ისინი ნაკლებად აჩერებენ ზრდას კლავულანის მქავის მოქმედების შედეგად. OXA ტიპის β-ლაქტამაზა ESBLs აღმოჩენილია *Pseudomonas aeruginosa*-ს შტამებში თურქეთში [Sibhghatulla...2015:37].

5.6 კლასი C CMY -ლაქტამაზა

2006 წელს პირველად დაახასიათეს და გამოყვეს *Enterobacter aerogenes* ვირულენტური შტამიდან C კლასი კარბაპენემაზა CMY. პლაზმიდები შეიცავს pYMG-1-ს და ამიტომაც გადაეცემა სხვა ბაქტერიების შტამებს [Sibhghatulla... 2015:37].

5.7. კლინიკური და ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა

ESBL-ს წარმომქმნელი პირველი შტამები გამოვლენილი იქნა 1983 წელს და მას შემდეგ ნანახი იქნა მთელ მსოფლიოში. ასეთი გავრცელება წარმოადგენს პლაზმიდებზე ESBL გენების ჰორიზონტალური გადაცემისა და იშვიათად, მათი ხელახალი წარმოქმნით განპირობებულ, ESBL-წარმომქმნელი ორგანიზმების კლონური ექსპანსიის შედეგს. კლინიკურად ESBL-ის ყველაზე მნიშვნელოვან ჯგუფებს წარმოადგენს CTX-M ფერმენტები, რასაც მოჰყვება SHV- და TEM-დან წარმოქმნილი ESBL-ების [Cantón...2008:130] გარკვეული D კლასის OXA-დან მიღებული ფერმენტები. ასევე მიეკუთვნება ESBL-ს. თუმცა, A კლასის - -ლაქტამაზას ინჰიბიტორების ინჰიბირების ხარისხი უფრო სუსტია, ვიდრე სხვა ESBL-ებისა.

ESBL-ს წარმოქმნა ძირითადად შეინიშნება ენტერობაქტერიებში. თავდაპირველად აღმოჩენილ იქნა საავადმყოფოების პირობებში, მოგვიანებით მოხუცთა სახლებში და 2000 წლიდან მოყოლებული საზოგადოებაში (ამბულატორიული პაციენტები, ჯანმრთელი მატარებლები, ავადმყოფი და ჯანმრთელი ცხოველები, საკვები პროდუქტები) [Livermore...2007:131]. ყველაზე ხშირად გვხვდება ESBL-ს წარმომქმნელი *E.coli* და *K. pneumoniae*. თუმცა, ენტერობაქტერიების ყველა სხვა, კლინიკური მნიშვნელობის სახეობები, ასევე, ჩვეულებრივ გამოიმუშავენ ESBL-ს. ESBL-დადებითი შტამების გავრცელება დამოკიდებულია მთელ რიგ ფაქტორებზე: სახეობაზე, გეოგრაფიულ მდებარეობაზე, საავადმყოფო/განყოფილებაზე, პაციენტების ჯგუფზე, ინფექციის სახეობაზე. აქედან გამომდინარე, მათი მრავალგვარი ვარიაცია იქნა აღწერილი სხვადასხვა კვლევაში [Cantón...2008:130 Carattoli 2008:132]. ევროპის ქვეყნების უმეტესობაში მე-3 თაობის ცეფალოსპორინების მიმართ რეზისტენტული, ინვაზიური *K.pneumoniae*-ს შტამების წილმა გადააჭარბა 10%-ს. რამდენიმე ანგარიშში რეზისტენტობის მაჩვენებელი აღემატება 50%-ს [EUCAST 2013].

ქვეთავი VI. კარბაპენემაზები

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

6.1. კლინიკური და ეპიდემიოლოგიური მნიშვნელობა

კარბაპენემაზების გავრცელების პრობლემა ევროპაში სათავეს იღებს 1990-იანი წლების მეორე ნახევრიდან რამდენიმე ხმელთაშუაზღვისპირა ქვეყანაში და იგი ძირითადად აღინიშნებოდა *P.aeruginosa*-ში [Cantón...2012:135]. ხოლო 2000 წლის დასაწყისში საბერძნეთში ადგილი ჰქონდა *K.Pneumoniae*-ს ვერონა ინტეგრირებით კოდირებული მეტალო- -ლაქტამაზის (VIM) გავრცელებას (სურ.9) (Vatopoulos...2008), რომელსაც მოჰყვა შემდგომ *K.pneumoniae*-ს ისეთი რეზისტენტული ფორმების გავრცელება, რომლებიც შეიცავდნენ კარბაპენემ რეზისტენტულ გენებს (KPC) (სურ.10), აღნიშნული კარბაპენემაზა ამჟამად ევროპაში ენტერობაქტერიებს შორის ყველაზე გავრცელებულია [Cantón...2012: 135]. *K.pneumoniae*-ს ფორმები, რომლებიც არ არიან მგრძობიარე კარბაპენემაზებზე, გვხვდება საბერძნეთსა და იტალიაში (European Centres for Disease Prevention and Control (ECDC), ასევე, სხვა ევროპულ ქვეყნებშიც აღინიშნებოდა რამდენიმე შემთხვევა [Cantón ...2012:135].

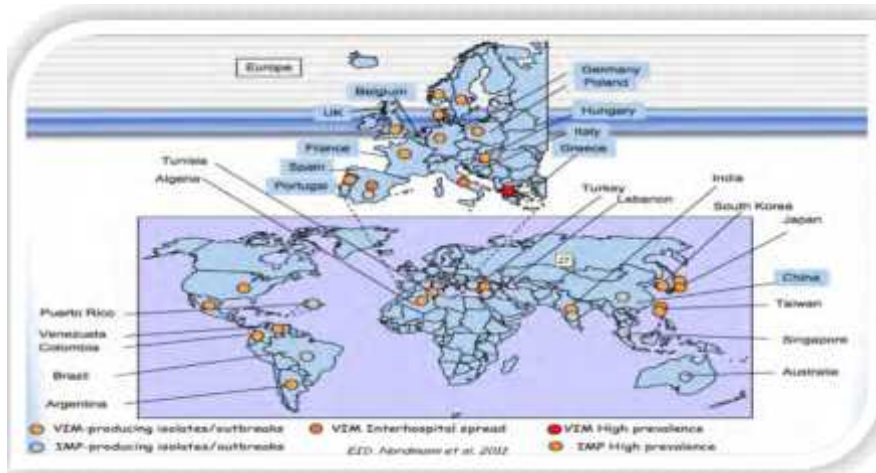
სხვა, განსაკუთრებით პრობლემური კარბაპენემაზები არის ნიუ დელის მეტალო- -ლაქტამაზები (New Delhi metallo- -lactamases (NDMs) (სურ.11), რომლებიც მეტად გავრცელებულია ინდოეთის კონტინენტზე, შუა აღმოსავლეთში და რამდენიმე შემთხვევა დაფიქსირდა ევროპაში.

6.2 MBLs --მეტალო -ლაქტამაზები

MBLs ხასიათდება -ლაქტამური ანტიბიოტიკების ჰიდროლიზის უნარით. მათ ახასიათებთ მაღალი რეზისტენტობა -ლაქტამაზების ინჰიბიტორების მიმართ და მგრძობელობა ისეთი აგენტების მიმართ, როგორცაა EDTA. თავდაპირველად MBLs აღწერილი იყო *Pseudomonas aeruginosa* და *Acinetobacter* spp. ასევე, მოხდა მათი იდენტიფიკაცია ენტერობაქტერიებში მნიშვნელოვანი კლინიკური და ეპიდემიოლოგიური გამოვლინებებით (Helfand...2005; Queenan...2007: 9 Drawz ...2010;

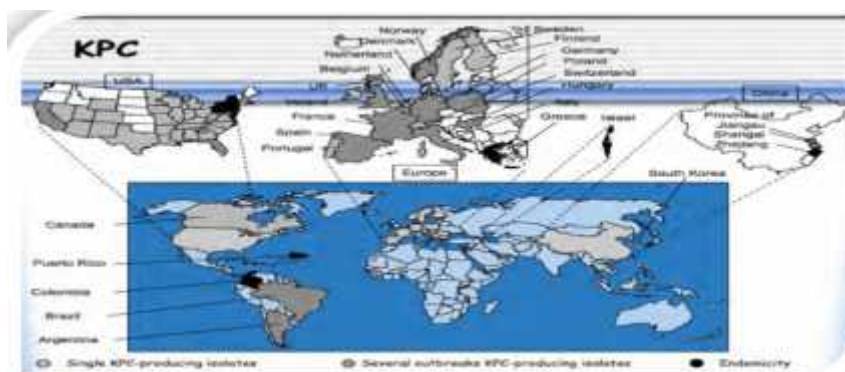
Bush, 2011;) MBLs-მეტალო -ლაქტამაზების ძირითადი კლასებია IMP, VIM, SPM, GIM, SIM. ბოლო პერიოდში გამოვლინდა NDM [Cornaglia...2011:].

MBLs - მეტალო- ლაქტამაზები VIM (ვერონა ინტეგრირებული - ლაქტამაზა) IMP და NDM (ნიუ დელის მეტალო- -ლაქტამაზა) ითვლება კლინიკურად მნიშვნელოვან ლაქტამაზებად, რომლებიც დაკავშირებულია სხვადასხვა სახის ინფექციებთან (Bush, 2011). მე-9 სურათი გვიჩვენებს, რომ კარბაპენემის მიმართ რეზისტენტობის განმაპირობებელი გენები (VIM, IMP, NDM) გავრცელებულია სხვადასხვა ქვეყანაში, კერძოდ: საფრანგეთში, გერმანიაში, იტალიაში, საბერძნეთში, პორტუგალიაში, ესპანეთში, ბულგარეთში და სხვა ევროპულ ქვეყნებში.



სურათი 9. მეტალო-

-ლაქტამაზების გავრცელება (<http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/enseignement/gericco/2012/2012-GERICCO-Nordmann.pdf>)

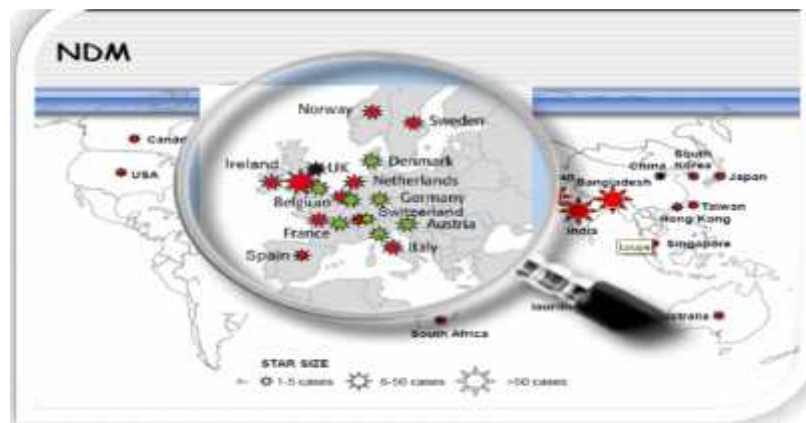


სურათი 10. ენტერობაქტერიებს შორის ყველაზე მეტად გავრცელებული კარბაპენემაზა ევროპაში KPC (<http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/enseignement/gericco/2012/2012-GERICCO-Nordmann.pdf>)

6.3. მეტალო -ლაქტამაზა- NDM

2008 წელს შვეიცარიაში, პაციენტის ნიმუშში იდენტიფიცირებული იქნა NDM-1 (ნიუ დელის მეტალო- -ლაქტამაზა). ეს ფერმენტი აღმოაჩნდა *Klebsiella pneumoniae*-სა და *Escherichia coli*-ს. ამ ბაქტერიებს NDM-1 ათვისებული ჰქონდა ნიუ დელის საავადმყოფოდან (ინდოეთი) (სურ.11). ეს ბაქტერიები ხასიათდებოდა მაღალი რეზისტენტობით კარბაპენემების ჯგუფის ანტიბიოტიკების მიმართ (Pitout, 2008).

პლაზმიდები, რომლებიც შეიცავს blaNDM-1-ის გენს, ფეროტიპს მნიშვნელოვან წამალრეზისტენტობას ანიჭებს, რადგან ის ერთდროულად შეიძლება შეიცავდეს კარბაპენემის მიმართ რეზისტენტობის განმსაზღვრელ სხვა გენებსაც, მაგალითად, blaOXA-48, blaVIM [Grundmann...2010].

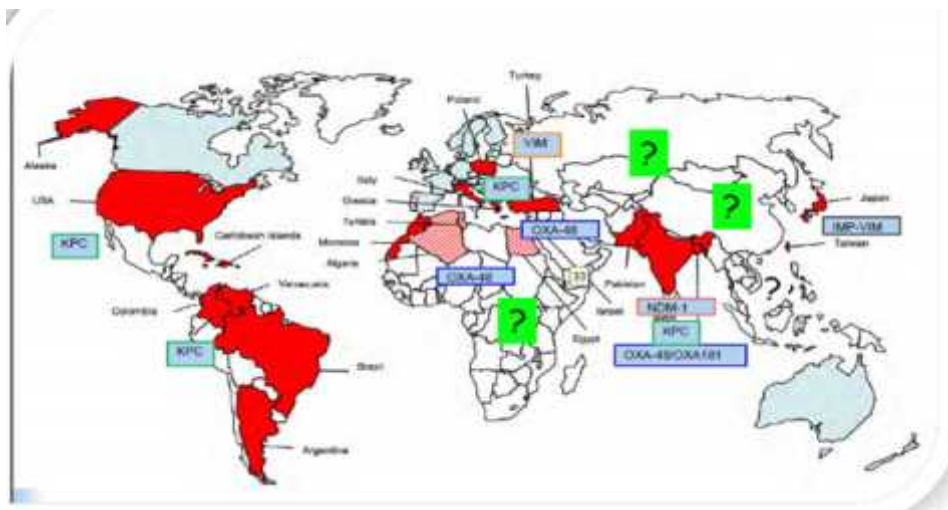


სურათი 11 . ნიუ დელის NDM მეტალო- -ლაქტამაზას გავრცელება
(<http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/enseignement/gericco/2012/2012-GERICCO-Nordmann.pdf>)



სურათი 12. OXA-48 გავრცელება სხვადასხვა ქვეყანაში
(<http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/enseignement/gericco/2012/2012-GERICCO-Nordmann.pdf>)

კარბაპენემაზები წარმოადგენს დიდ საშოშროებას, ვინაიდან მათ შეუძლიათ მიანიჭონ რეზისტენტობა პრაქტიკულად ყველა -ლაქტამურ ანტიბიოტიკს. კარბაპენემაზების წარმომქმნელი შტამები ხშირად ფლობენ რეზისტენტობის მექანიზმებს ანტიმიკრობული აგენტების ფართო სპექტრის მიმართ. კარბაპენემაზას წარმომქმნელი ენტერობაქტერიებით გამოწვეული ინფექციები ასოცირდება სიკვდილიანობის მაღალ მაჩვენებელთან [Souli...2010: 7; Marchaim...2008:] (სურ. 13).



სურათი 13. კარბაპენემ რეზისტენტული ენტერობაქტერიების რეზერვუარი მსოფლიო მასშტაბით (<http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/enseignement/gericco/2012/2012-GERICCO-Nordmann.pdf>)

6.4. კარბაპენემაზების რეზისტენტობის მექანიზმები

კარბაპენემაზების დიდი უმრავლესობა წარმოადგენს შეძენილ ფერმენტებს, რომლებიც კოდირებულია პლაზმიდების ელემენტებზე არსებული გენებით. კარბაპენემაზები გამოხატულია სხვადასხვა დონეზე და მნიშვნელოვნად განსხვავდება, როგორც ბიოქიმიური მახასიათებლებით, ასევე სპეციფიკური -ლაქტამების საწინააღმდეგო მოქმედების მიხედვით. -ლაქტამაზას ექსპრესიის (გამოვლენის) დონე, მისი თავისებურებები და ხშირი ასოციაცია რეზისტენტობის სხვა მექანიზმებთან (სხვა -ლაქტამაზები, ეფლუქსი და/ან შეცვლილი შეღწევადობა) წარმოშობს რეზისტენტობის ფენოტიპების ფართო სპექტრს, აღწერილს კარბაპენემაზას წარმომქმნელ შტამებში [Queenan...2007; Falcone...2009: 10].

თავი II. კვლევის მასალა და მეთოდები

ქვეთავი I. კვლევის მასალა

შესწავლილი იქნა აჭარის ტერიტორიაზე არსებულ სტაციონარებში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევები- *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* და *Pseudomonas aeruginosa* . .

კვლევები განხორციელდა იმუნოკომპრომეტირებულ პირებზე სტაციონარის რეანიმაციულ, თერაპიულ, ქირურგიულ განყოფილებებში, სტაციონარში ხანგრძლივი მკურნალობის ქვეშ მყოფი ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტულ პაციენტებზე.

საკვლევ მასალად გამოყენებულ იქნა ნახველი, შარდი, ბიოლოგიური სითხე, სისხლი.

ქვეთავი II. კვლევის მეთოდები

2.1 კვლევის მიკრობიოლოგიური მეთოდები

2.1.1 კარბაპენემაზას წარმოქმნის დამადასტურებელი მეთოდები

კარბაპენემაზების არსებობის დამადასტურებელი მეთოდებიდან გამოვიყენეთ ფენტოპური მეთოდი, რომელიც მდგომარეობს შემდეგში: ვიღებდით მიულერ-ჰინტონის ნიადაგს, რომელზეც ვათავსებდით მაკფარლანდის სტადარტით განზავებულ კულტურას. შესაბამისი კლასის კარბაპენემაზების დასადგენად ვიყენებდით სხვადასხვა ანტიბიოტიკს, რომლებსაც ვამატებდით ინჰიბიტორს. ბორის მჟავას ვიყენებდით ძირითადად A კლასის კარბაპენემაზების, ხოლო დიპიკოლინის მჟავას B კლასის კარბაპენემაზების ინჰიბირებისათვის.

კვლევისას ვიყენებდით მეროპენემის დისკებს, რომელზეც დატანილი იყო სხვადასხვა ინჰიბიტორი, კერძოდ: მეროპენემს+დიპიკოლინის მჟავა (MRP+DP), მეროპენემს+ბორის მჟავა (MRP+BO), მეროპენემს+კლავულანის მჟავა (MRP+CL). ამავე ფინჯანზე ვათავსებდით მეროპენემის დისკს, რომელსაც ვამატებდით 10 მკ/ლ ეთილენდიამინ-ტეტრა-მმარმჟავას (MRP+EDTA), საკონტროლოდ ვიყენებდით ანტიბიოტიკის ცარიელ დისკს (Blank disk), რომელსაც ვამატებდით მხოლოდ EDTA-ს, და ვათავსებდით ფინჯანის ცენტრში. აღნიშნულ ანტიბიოტიკებთან კომბინაციაში ვიყენებდით სხვადასხვა კარბაპენემ-ანტიბიოტიკებსაც: ერტაპენემს-ETP, იმიპენემს-IMI,

მეროპენემს MRP და თერმოციკლინს-TMO. 24-საათიანი ინკუბაციის შემდეგ ვსაზღვრავდით ინჰიბიციის ზონებს ანტიბიოტიკების მგრძობელობის ტესტის ევროპული კომიტეტის (EUCAS) გაიდლაინის შესაბამისად (სურ. 14).



სურათი 14. კარბაპენემაზების წარმოქმნის დამადასტურებელი ტესტი

2.1.2. ფენოტიპური დამადასტურებელი მეთოდები

გამოყენებული იქნა ESBL–ს დასადასტურებლად რეკომენდირებული კომბინირებული დისკის ტესტი (CDT), ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST) [Hrabák...2012:13] Nordmann...2012: 30].

2.1.3. ენტერობაქტერიებისთვის ESBL–ს დამადასტურებელი კომბინირებული დისკის ტესტი (CDT)

ESBL–ს დასადასტურებლად ენტერობაქტერიებისთვის გამოვიყენეთ კომბინირებული დისკის მეთოდი, რომელიც მდგომარეობს შემდეგში: ვიღებდით მიულერ-ჰინტონის ნიადაგს, რომელზეც ვთესავდით კულტურას მაკფარლანდის სტანდარტით, შემდგომ ვიღებდით მხოლოდ იმ ანტიბიოტიკს, რომელიც შეცავდა ცეფალოსპორინს, კერძოდ, ცეფოტაქსიმს და ასევე, ანტიბიოტიკს, რომელიც შეიცავდა, როგორც ცეფალოსპორინის ჯგუფის ანტიბიოტიკს, ასევე ინჰიბიტორს ცეფოტაქსიმი+კლავულანის მჟავა+კლოქსაცილინი (CTX+CTLC). კლავულანის მჟავასთან კომბინაციაში მყოფი ცეფალოსპორინის დისკის ირგვლივ არსებულ შეკავების ზონას ვადარებდით მხოლოდ ცეფალოსპორინის დისკის ირგვლივ არსებულ ზონას. ტესტი ითვლება დადებითად, თუ ინჰიბიციის ზონის დიამეტრი იყო 5 მმ-ით მეტი

კლავულანის მჟავასთან კომბინაციაში, ვიდრე მის გარეშე (სურ. 15) [Cuzon ...2012:16].



სურათი 15. კომბინირებული დისკის ტესტი (CDT)

2.1.3. ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST)

ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტის დასადგენად ვიყენებდით ბეტა ლაქტამურ ანტიბიოტიკებს: ცეფოტაქსიმს (CTX), ცეფტაზიდიმს (CAZ), ცეფოქსიტინს (FOX), ცეფეპიმს (FEP), ამოქსაცილინს (AML), აზტრეონამს (ATM), ცეფუროქსიმს (CFM) და პიპერაცილინს (PRL), რომლებიც თავსდებოდა ფინჯანზე კლავულანის მჟავას, აუგმენტინის (AUG ამოქსაცილინ-კლავულანის მჟავა) დისკის ირგვლივ. დადებით შედეგებს აღვრიცხავდით ინჰიბიციის ზონის გაზრდით ნებისმიერი ცეფალოსპორინის დისკის ირგვლივ, რომელიც იზრდებოდა კლავულანის მჟავას შემცველი დისკის მიმართულეებით (სურ. 16).

დისკებს შორის მანძილს აქვს კრიტიკული მნიშვნელობა და ცეფალოსპორინის 30 μ გ დისკებისთვის ოპტიმალური აღმოჩნდა 20 მმ ცენტრებს შორის; თუმცა, დასაშვებია მისი შემცირება (15 მმ) ან გაფართოება (30 მმ), შესაბამისად, ძალიან მაღალი ან დაბალი დონის რეზისტენტობის მქონე შტამებისთვის (Hrabák ...2012).



სურათი 16. ორმაგი დისკის სინერგიულობის ტესტი (DDST)

2.1.4. კარბ-ბაუერის დისკ-დიფუზიის მეთოდი

ანტიბიოტიკომგრძობელობა შესწავლილი იქნა დისკ-დიფუზიის მეთოდის გამოყენებით, სადაც თითოეული მიკრობისთვის გამოყენებული იქნა სხვადასხვა სახის ანტიბიოტიკები ამერიკული და ევროპული გაიდლაინების გათვალისწინებით. მგრძობელობის მაჩვენებლები გამოთვლილ იქნა „ანტიბიოტიკების მგრძობელობის ტესტის ევროპული კომიტეტის“ (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing -EUCAST) და ამერიკული კომიტეტის (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI) დებულებების შესაბამისად, რომლის მიხედვითაც, მაგალითად, IMP-სთვის შტამი ითვლება რეზისტენტულად, თუ ინჰიბიტორული ზონის დიამეტრი არის <17მმ და მგრძობიარედ, თუ დიამეტრი არის 22 მმ. ყველა იმ შტამზე, რომლის ინჰიბიტორული ზონის დიამეტრი იყო 17 მმ-ზე ნაკლები, განისაზღვრა მინიმალური ინჰიბიტორული კონცენტრაცია (MICs) E-test - ის საშუალებით.

2.1.5. სისტემა E-TEST

Etest არის ლაბორატორიული ტესტი, რომელიც გამოიყენება მიკრობების ანტიბიოტიკომგრძობელობის და ანტიბიოტიკის მინიმალური ინჰიბიტორული კონცენტრაციის დასადგენად. ეს ტესტი ძირითადად დაფუძნებულია აგარ-დიფუზიურ მეთოდზე და წარმოადგენს მართკუთხედის ფორმის წვრილ ქაღალდს, რომელიც გაჟღენთილია შესასწავლი ანტიბიოტიკით. პეტრის ფინჯანზე კეთდება ბაქტერიის გაზონი და ზედ თავსდება ტესტერი. პრეპარატი დიფუზიის გზით გამოდის აგარის ზედაპირზე. 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ, ტესტერის ირგვლივ შეიმჩნევა ოვალური ინჰიბიტორული ზონა და ტესტერის ის მაჩვენებელი, რომელთანაც მთავრდება ლიზისური ზონა, რაც მიიჩნევა პრეპარატის მინიმალურ ინჰიბიტორულ კონცენტრაციად. მინიმალური ინჰიბიტორული კონცენტრაცია არის ანტიბიოტიკების ის რაოდენობა, რომელსაც შეუძლია მოახდინოს მიკროორგანიზმის ზრდის ინჰიბირება 24- საათიანი ინკუბაციის შემდეგ (სურ. 42).

2.2 კვლევის ბიოქიმიური მეთოდები

2.2.1. API 20 E-მიკრობის იდენტიფიკაციის ბიოქიმიური ტესტი

API 20 E- არის სტანდარტიზებული სისტემა, რომელიც შედგება 23 მინიატურული ბიოქიმიური ტესტისაგან და გამოიყენება ნაწლავური ჯგუფისა და სხვა გრამ-უარყოფითი ჩხირების იდენტიფიკაციისთვის. API 20 E-ს სტრიპი შედგება 20 მიკროსინჯარისგან, რომელიც შეიცავს დეჰიდრირებულ სუბსტრატებს.

სტრიპში შეგვყავდა ბაქტერიული სუსპენზია, რომელიც რეაქციაში შედიოდა მოცემულ სუბსტრატებთან. ინკუბაციის დროს იცვლებოდა ფერი, რაც ისაზღვრებოდა პირდაპირ ან რეაქტივების დამატების შემდეგ. რეაქციებს აღვრიცხავდით საინტერპრეტაციო ცხრილის საშუალებით, ხოლო იდენტიფიკაციას ვახდენდით საიდენტიფიკაციო ცხრილით და ანალიზური კატალოგის საშუალებით (ცხრ. 2).

ცხრილი 2. Api 20E ბიოქიმიური ტესტები

სუბსტრატები	რეაქციები/ფერმენტები	სუბსტრატები	რეაქციები/ფერმენტები
ორთო-ნიტრო-ფენილ-გალაქტოპირანოზიდი	-გალაქტოზიდაზა	გლუკოზა	ფერმენტაცია და ჟანგვა
არგინინი	არგინინ-დეჰიდროლაზა	მანიტი	ფერმენტაცია და ჟანგვა
ლიზინი	ლიზინ-დეკარბოქსილაზა	ინოზიტი	ფერმენტაცია და ჟანგვა
ორნიტინი	ორნიტინ-	სორბიტი	ფერმენტაცია და ჟანგვა
ციტრატე	ციტრატის უტილიზაცია	რამნოზა	ფერმენტაცია და ჟანგვა
თიოსულფატი	H ₂ S-ის პროდუცირება	საქაროზა	ფერმენტაცია და ჟანგვა
შარდოვანა	ურეაზა	მელიბიოზა	ფერმენტაცია და ჟანგვა
ტრიფტოვანი	ტრიფტოვან-დეჰამინაზა	ამიგდალინი	
ტრიფტოვანი	ინდოლის პროდუქცია	არაბინოზა	
პირუვატი	აცეტონის პროდუცირება	ტეტრამეთილ-p-ფენილენ-დიამინ-იზოამიდის სპირტი	ციტოქრომოქსიდაზა
Kohn-ის ჟელატინი	ჟელატინაზა		

2.2.2. API 20 NE-მიკრობის იდენტიფიკაციის ბიოქიმიური ტესტი

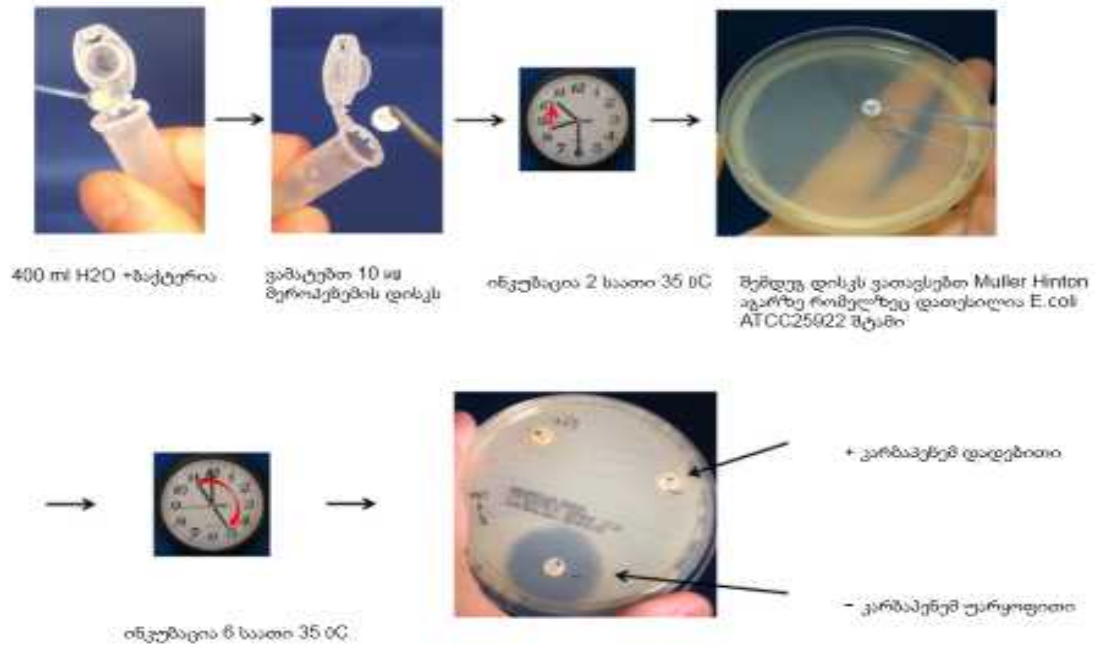
API 20 NE სტანდარტიზებული მიკრომეთოდი, რომელიც მოიცავს 20 ბიოქიმიურ ტესტს იმ გრამ-უარყოფითი ჩხირების საიდენტიფიკაციოდ, რომლებიც არ მიეკუთვნებიან *Enterobacteriaceae* ოჯახს (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas* და ა.შ.). API 20 NE სტრიპები შედგება დეჰიდრატირებული ნიადაგისა და სუბსტრატების შემცველი 20 მიკროსინჯარისგან. ტესტებს ვატარებდით ბაქტერიული სუსპენზიის ინოკულირების გზით მარილიან ხსნარში, რომლითაც ვხსნიდით დეჰიდრატირებულ ნიადაგს. ინკუბაციისას მიკროსინჯარებში ფერი იცვლებოდა მეტაბოლიზმის შედეგად. ეს ცვლილება ხდებოდა თავისთავად ან შესაბამისი რეაქტივების დამატებით. რეაქტივებს აღვრიცხავდით საინტერპრეტაციო ცხრილის საშუალებით, ხოლო იდენტიფიკაციას ვაწარმოებდით საიდენტიფიკაციო ცხრილით და ანალიზური კატალოგის საშუალებით. API 20 NE სტრიპის მომზადება და შემდგომი გამოყენება ხდებოდა თანარსებული ინსტრუქციის მიხედვით (ცხრ. 3).

ცხრილი 3. Api 20NE ბიოქიმიური ტესტები

სუბსტრატები	რეაქციები/ფერმენტები	სუბსტრატები	რეაქციები/ფერმენტები
კალიუმის ნიტრატი	ნიტრატების აღდგენა ნიტრიტებად	მანიტი	ასიმილაცია
ტრიფტოფანი	ინდოლის წარმოქმნა	N-აცეტილ გლუკოზამინი	ასიმილაცია
გლუკოზა	ფერმენტაცია	მალტოზა	ასიმილაცია
არგინინი	არგინინ-დეჰიდროლაზა	გლუკონატი	ასიმილაცია
შარდოვანა	ურეაზა	კაპრატი	ასიმილაცია
ესკულინი	იდროლიზი (-გლუკოზიდაზა)	ადიპატი	ასიმილაცია
ჟელატინი	ჰიდროლიზი (პროტეაზა)	მალატი	ასიმილაცია
p-ნიტრო-ფენილენ- -D- გალაქტოპირანოზიდი	-გლუკოზიდაზა	ციტრატი	ასიმილაცია
გლუკოზა	ასიმილაცია	ფენილ-აცეტატი	ასიმილაცია
არაბინოზა	ასიმილაცია	ტეტრამეთილ -p- ფენილენ- დიამინი	ციტოქრომოქსიდაზა
მანოზა	ასიმილაცია		

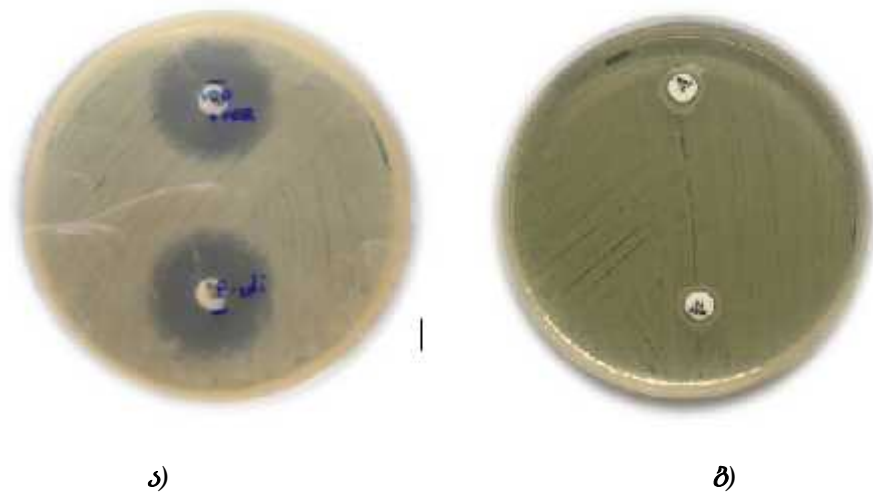
2.2.3. CIM კარბაპენემ ინაქტივაციის მეთოდი

აღნიშნული მეთოდი გამოიყენება სწრაფი დიაგნოსტიკისათვის. მეთოდი აღწერილია მე-17 სურათზე: ვილბთდით 400 μ l წყალს, ვამატებდით მარყუჭით ნიმუშს და მეოპენემის 10 მკლ დისკს, ვათავსებდით ორ საათიან ინკუბაციაზე 35⁰C-ზე, ინკუბაციის შემდეგ დისკს ვათავსებდით Miuler Hinton-ის ნიადაგზე, რომელზეც დათესილი იყო E.coli ATCC25922 შტამი, შემდეგ ისევ ვაინკუბირებდით ექვსი საათის განმავლობაში 35⁰C-ზე. შედეგის ინტერპრეტაციას ვახდენდით ინჰიბიციის ზონის მიხედვით. იმ შემთხვევაში, თუ ინჰიბიციის ზონა არ აღინიშნებოდა, შტამი კარბაპენემ-დადებითად ითვლებოდა, ხოლო თუ აღინიშნებოდა, მაშინ კარბაპენემ-უარყოფითი (სურ. 18).



კარბაპენემ ინაქტივაციის მეთოდი (CIM). მარტივი და იაფი ალტერნატივაა კარბა NP ტესტისთვის, რომ განესაზღვროთ ფემოტიპურად გრამ-უარყოფით ბაქტერიებში კარბაპენემ აქტიურობა.
<http://journals.plos.org/plosone/article?id=info:doi/10.1371/journal.pone.0123660>

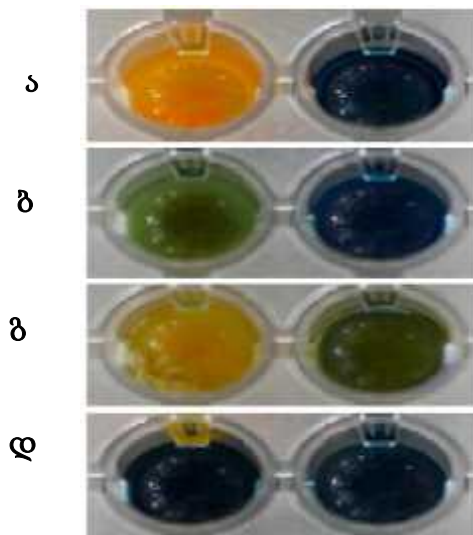
სურათი 17. CIM კარბაპენემ-ინაქტივაციის მეთოდი



სურათი 18. CIM კარბაპენემ-ინაქტივაცია Klebsiella Pneumiae წიმუშზე
 სურათზე მოცემულია კარბაპენემ ინაქტივაციის მეთოდის საკონტროლო ჯგუფი ა) მხოლოდ H₂O და E.coli ATCC25922 გაჟღენთილი მეოპენემის 10 მკლ დისკი და ბ) წიმუშებით გაჟღენთილი მეოპენემის 10 მგ დისკი.

2.2.4. Blu Carba ბიოქიმიური ტესტი სხვადასხვა კარბაპენემაზის დასადგენად

კარბაპენემ-რეზისტენტული ნიმუშებისთვის ვიყენებდით, ასევე, ფენოტიპურ ტესტს Blu Carba-ს. თავდაპირველად ისაზღვრებოდა კარბაპენემ-რეზისტენტული შტამები დისკ-დიფუზიის მეთოდის გამოყენებით, შემდეგ ნიმუშს და ასევე საკონტროლოდ შერჩეულ შტამებს, რომლებიც შეიცავდნენ სხვადასხვა კლასის კარბაპენემაზებს (კლასი A, B, C, D (KPC, IMP, NDM, VIM, SPM, OXA) და *E. coli* ATCC 25922, NCTC13451 (blaOXA, TEM, CTX-M-15), NTCT13440 (blaVIM, SHV), NCTC13438 (KPC, TEM, OXA), ვთესავდით მიულერ-ჰინტონის აგარზე და ვაინკუბირებდით 24 საათის განმავლობაში. მეორე დღეს ვამზადებდით ბრომთიმოლოვის 0.04%-იან ცისფერ წყალხსნარს pH 6.0, 0.1 მმოლი/ლიტრზე ZnSO₄, 3 μg იმიპენემს და უარყოფით კონტროლად ვიყენებდით 0.04% ბრომთიმოლოვის ცისფერ წყალხსნარს, pH 7.0. ვიღებდით ფოსობიან სტრიპებს და აღნიშნულ ფოსოებში ვასხამდით მომზადებულ წყალხსნარს ერთ ზოლში, ხოლო მეორე სვეტში უარყოფითი კონტროლისათვის ბრომთიმოლოვის ცისფერ წყალხსნარს, pH 7.0. შედეგების ინტერპრეტაციას ვახდენდით ფერის ცვლილებით. კერძოდ: ლურჯი-ყვითელთან, ყვითელი-მწვანესთან, მწვანე-ლურჯთან (სურ. 19).



სურ. თი 19. Blu Carba-ს შედეგების ინტერპრეტაცია

ა, ბ, გ- კარბაპენემ-წარმომქნელები და დ - კარბაპენემ არწარმომქნელები

მარცხნივ - წყალხსნარი, მარჯვნივ - უარყოფითი კონტროლი (ა) NDM-1 წარმომქნელი *E. coli*; (ბ) OXA-23 წარმომქნელი *A. baumannii*; (გ) OXA-48 წარმომქნელი *Klebsiella pneumoniae*; (დ) *E. coli* ATCC 25922. სურათი გადაღებულია ორი საათის შემდეგ.

2.3. კვლევის მოლეკულური მეთოდები

2.3.1. დნმ-ის ექსტრაქცია

დნმ-ის გამოყოფისთვის შტამს ვთესავდით მიულერ-ჰინტონის აგარზე და 24 სთ ინკუბაციისათვის ვათავსებდით თერმოსტატში. მეორე დღეს ფინჯანზე გაზრდილი კულტურიდან ვახდენდით დნმ-ის გამოყოფას. ამისათვის მიკროსინჯარაში ვასხამდით 20 მკ ლიზისის ბუფერს, შემდეგ ვათავსებდით მასში შტამს მარყუჟის საშუალებით. მიკროსინჯარას ვდგამდით თერმოციკლერში 15 წუთის განმავლობაში 99°C-ზე, შემდგომ ვამატებდით 180მკ TE ბუფერს, ვათავსებდით ცენტრიფუგაში, 12.000g/15წთ-ის განმავლობაში. ცენტრიფუგირების შემდეგ სინჯარის ზედა ნაწილში არსებულ დნმ 150 მკ, უკვე სუფთა სახით, გადაგვქონდა ახალ მიკროსინჯარაში რომელსაც ვიყენებდით შემდგომი მოლეკულური კვლევისთვის.

2.2.2. PCR (Polymerase Chain Reaction) – პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (პჯრ) მეთოდი

წარმოადგენს მოლეკულურ-ბიოლოგიურ მეთოდს, რომელიც საშუალებას იძლევა, *in vitro* პირობებში დნმ-ის საკვლევი ფრაგმენტის რაოდენობა 10^{12} -ჯერ გავზარდოთ. PCR მეთოდი პირველად 1983 წელს იქნა შემოთავაზებული კერი მულისის (Kary Mullis) მიერ, რისთვისაც მას, მაიკლ სმიტან (Michael Smitch) ერთად, 1993 წელს ნობელის პრემია მიენიჭა. პჯრ მეთოდი საუკუნის არმოჩენადაა მიჩნეული.

მეთოდი ემყარება ფერმენტების მეშვეობით დნმ-ის გარკვეული უბნების შერჩევით კოპირებას ხელოვნურ პირობებში. PCR-ისთვის ვამზადებდით სარეაქციო ნარევის (30 მკლ), რომელიც შეიცავდა: ერთჯერად PCR ბუფერს, 2 მმოლ $MgCl_2$, 0,1 მმოლ თითოეულ dNTP, 0,3 მკმოლ F პრაიმერს, 0,3 მკმოლ R პრაიმერს, 5% DMSO-დიმეთილსულფოქსიდს (Sigma), 1,3U TaqDNA პოლიმერაზას და 15 ნგ დნმ-ს. დნმ-ის კონკრეტული ფრაგმენტის (გენის) ამპლიფიკაციისათვის ვიყენებდით განსაზღვრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის მქონე პრაიმერებს. PCR-ს ვატარებდით წინსწარ დაპროგრამებულ თერმოციკლერში. ტემპერატურული რეჟიმის შერჩევა ხდებოდა გამოყენებული პრაიმერების და დნმ-ის სამიზნე უბნის სპეციფიკიდან გამომდინარე. პირველი სტადია მოიცავდა დნმ-ის დენატურაციას (ლლობას). დნმ-ის ჯაჭვებს შორის არსებული წყალბადური ბმების გაწყვეტა დაახლოებით 95°C-მდე ტემპერატურის

პირობებში წარმოებს. იმისთვის, რომ მომხდარიყო დნმ-ის მატრიცასთან პრაიმერების დაკავშირება (გამოწვა), საჭირო იყო ტემპერატურის დაწევა 50-65°C-მდე; შემდეგ ვზრდიდით ტემპერატურას დნმ-ის პოლიმერიზაციისთვის ოპტიმალური პირობების შესაქმნელად (ჩვეულებრივ, დაახლოებით 72°C-მდე) (ხუხუნაიშვილი, 2015).

ამპლიფიკაციის შედეგად მიღებული პროდუქტების ვიზუალიზაციას ვახდენდით აგაროზას გელში. ვინაიდან კვლევისთვის სხვადასხვა პრაიმერს ვიყენებდით, ყოველი კონკრეტული პრაიმერისათვის შეირჩა ოპტიმალური ტემპერატურული რეჟიმი, რომელიც მოცემულია მეოთხე ცხრილში.

ცხრილი 4. PCR -ისთვის სხვადასხვა პრაიმერების ინდივიდუალური ოპტიმალური ტემპერატურა

გენები/PCR	ტემპერატურული რეჟიმი					
	საწყისი დენატურაცია	დენატურა - ცია	გამოწვა	ელონგაცია	საბოლოო დენატურა ცია	ციკლების რაოდენობა
Multiplex TEM, SHV e OXA	94°C 7min	94°C 40seg	57°C 40seg	72°C 1min	72°C 7min	30x
Multiplex CTX-M (Grupos 1, 2, 8, 9 e 25)	94°C 5min	94°C 25seg	52°C 40seg	72°C 50seg	72°C 6min	30x
Multiplex Carba (NDM, VIM, IMP, KPC e OXA-48)	94°C 10min	94°C 30seg	52°C 40seg	72°C 50seg	72°C 5min	36x
CTX-M-Grupo 1	94°C 10min	94°C 40seg	60°C 40seg	72°C 1min	72°C 7min	30x
aac6'IB-cr	95°C 7min	95°C 40seg	57°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	35x
qnrA	95°C 7min	95°C 40seg	59°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
qnrB	95°C 7min	95°C 40seg	57°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
qnrC	95°C 7min	95°C 40seg	55°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
qnrD	95°C 7min	95°C 40seg	50°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x

qnrS	95°C 7min	95°C 40seg	57°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
tetA	95°C 7min	95°C 40seg	57°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
tetB	95°C 7min	95°C 40seg	53°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
tetC	95°C 7min	95°C 40seg	63°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
tetD	95°C 7min	95°C 40seg	57°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
tetE	95°C 7min	95°C 40seg	57°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
tetG	95°C 7min	95°C 40seg	63°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
sul1	95°C 7min	95°C 40seg	59°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
sul2	95°C 7min	95°C 40seg	70°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
sul3	95°C 7min	95°C 40seg	53°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
aac3-II	95°C 7min	95°C 40seg	55°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
aac-IV	95°C 7min	95°C 40seg	63°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
aac5'	95°C 7min	95°C 40seg	59°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
parC	95°C 7min	95°C 40seg	57°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
gyrA	95°C 7min	95°C 40seg	55°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
aph(3')-III	95°C 7min	95°C 40seg	53°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
aph3-I	95°C 7min	95°C 40seg	68°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
aph3-II	95°C 7min	95°C 40seg	63°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x
ant2	95°C 7min	95°C 40seg	68°C 50seg	72°C 1min	72°C 7min	25x

2.3.3. ელექტროფორეზი აგაროზის გელში

ხშირად, დნმ-მანიპულაციების დროს, დნმ-ის სხვადასხვა სიგრძის ფრაგმენტებთან გვაქვს საქმე. მაგალითად, ორგანიზმიდან ქიმიურად გამოყოფილი დნმ-ის რესტრიქტაზებით დამუშავებისას, უმეტესწილად მიიღება სხვადასხვა სიგრძის დნმ-ფრაგმენტების ნარევი. დნმ-ის ნებისმიერი მოლეკულა წყალხსნარში უარყოფითი მუხტის მატარებელია. ეს მახასიათებელი საშუალებას იძლევა, მოხდეს განსხვავებული სიგრძის ფრაგმენტების ელექტროფორეზული დაყოფა. გელ-ელექტროფორეზის მეთოდი დნმ-ფრაგმენტების სიგრძის მიხედვით დალაგების საშუალებას იძლევა. ამისთვის დნმ თავსდება აგაროზის გელში, გელი თავსდება მუდმივ ელექტრულ ველში. უარყოფითი მუხტის გამო დნმ-ის მოლეკულები გადაადგილდებიან ანოდისკენ (დადებითი ელექტროდი). ამასთან, გადაადგილების სიჩქარე დამოკიდებულია მოლეკულის სიგრძეზე. მოკლე ფრაგმენტები გელში უფრო სწრაფად გადაადგილდებიან, გრძელი - უფრო ნელა. ელექტროფორეზის დასრულების შემდეგ სხვადასხვა სიგრძის ფრაგმენტები გელში წარმოქმნიდა ზოლებს ე.წ. „ბენდებს“, რომელთა სიგრძის გასაზღვრა შესაძლებელია სპეციალური მარკერების საშუალებით (ხუბუნაიშვილი, 2015). ელექტროფორეზისთვის ოპტიმალური აღმოჩნდა 1,5% აგაროზის გელი. გელის დასამზადებლად და ელექტროფორეზისთვის ვიყენებდით TBE ბუფერს. თითოეულ ფოსოზე დატანილი სინჯი შეიცავდა 2 მკლ გელის დასატვირთ ხსნარს და 3 მკლ PCR-ის პროდუქტს. ელექტროფორეზს ვატარებდით ჰორიზონტალური ელექტროფორეზის აპარატში (100-150 V). გელს ვღებავდით ეთიდიუმის ბრომიდის 5 მმლ კონცენტრაციის ხსნარში (Sigma) 20 წუთის განმავლობაში, შემდეგ ვრეცხავდით დისტილირებული წყლით. შედეგების ანალიზს ვახდენდით ულტრაიისფერი UV-ტრანსილუმინაციის მეშვეობით. სურათის დოკუმენტირებისათვის ვიყენებდით Gel-Doc2000 (BIO-RAD) სისტემის ფოტოკამერას და Diversity Database 2.1.1 (BIO-RAD) (სურ. 20) კომპიუტერულ პროგრამას.



სურათი 17. PCR შედეგების წასაკითხი **BIO-RAD** აპარატი

2.3.4 გენომის ზომის დადგენა (PFGE). გელ-ელექტროფორეზი პულსირებად ველში – Pulsed-Field Gel Electrophoresis

(PFGE)-ბაქტერიული შტამების მოლეკულური დიფერენცირების ერთ-ერთ ყველაზე გავრცელებულ მეთოდს წარმოადგენს. PFGE მოლეკულური ტიპირების მეთოდების „ოქროს სტანდარტად“ არის მიჩნეული, ხასიათდება მაღალი გარჩევადობის უნარით და გამოიყენება მრავალი პათოგენის გენოტიპირებისათვის. მეთოდი დაფუძნებულია კულტურიდან ნატიური გენომური დნმ-ის დაუზიანებელი სახით ექსტრაქციაზე და შემდეგ რესტრიქციული ენდონუკლეაზით (XbaI) მის დამუშავებაზე, რის შედეგადაც მიიღება დნმ-ის გრძელი ფრაგმენტები. ფრაგმენტების დაცილება ხდება პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის საშუალებით. ამ მეთოდით შესაძლებელია, ანალიზი ჩატარდეს მაღალი მოლეკულური მასის მქონე დნმ-ის ფრაგმენტებს (20 კილობაზიდან - Kb რამდენიმე მეგაბაზამდე - Mb). მიღებული პროფილი ყველა შტამისთვის ინდივიდუალურია და მისი დნმ-ის ანაბეჭდს წარმოადგენს, რადგან ერთი კლონიდან წარმოქმნილ შტამებს ერთნაირი რესტრიქციული საიტები გააჩნიათ და შესაბამისად, მათი ანაბეჭდიც იდენტურია (სურ. 21),

ცდას ვატარებდით შემდეგი თანმიმდევრობით:

1. მიკროსინჯარაში ვამზადებდით 3% ადვილად ლლობად აგაროზას გელის 0.5×TBE ბუფერში (0.9 M Tris base, 0.9 M boric acid, 0.02 M EDTA, pH 8.0). აგაროზის გასაღობად ეპენდორფებს ვაჩერებდით 100°C ზე heating block-ში (96) (160).

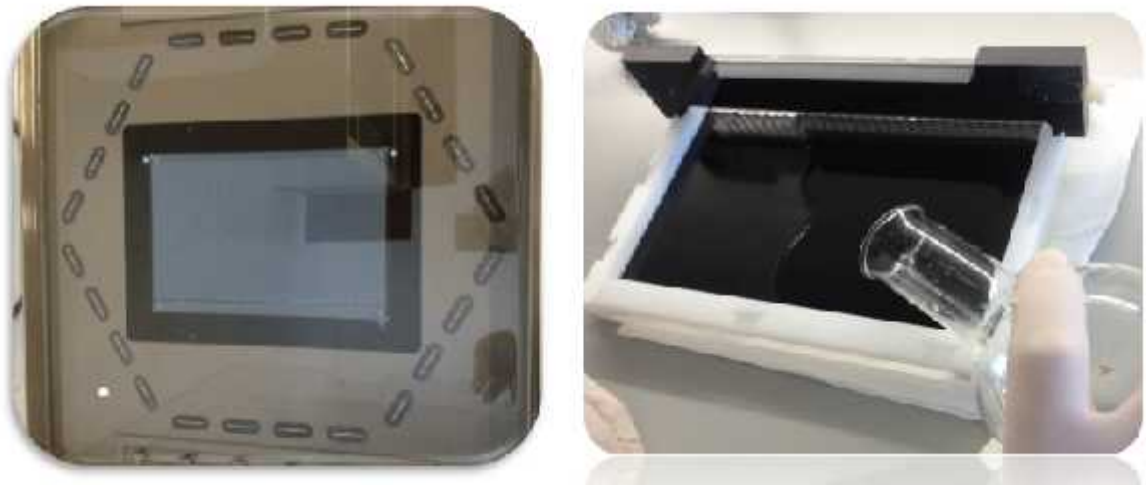
2. 120 µl საკვლევი შტამი გადაგვექონდა ცალკე მიკროსინჯარაში და ვამატებდით 63 µl გაღობილ აგაროზას, ისე, რომ ბუშტები არ წარმოიქმნას და მთლიანი მოცულობა გადაგვექონდა აგაროზიანი საცობების მოსამზადებელ ყალიბში. ყალიბს ვტოვებდით ოთახის ტემპერატურაზე 20 წთ-ით და შემდეგ ვდებდით მაცივარში ნახევარი საათით.

3. ეპენდორფებში გადაგვექონდა დაახლოებით 1მლ ლიზისის ბუფერი (50 mM Tris, 50 mM EDTA [pH 8.0], 1% sarcosine, 0.1 mg/ml proteinase K), რომელშიც ვდებდით ყალიბიდან ფრთხილად ამოღებულ აგაროზის საცობებს და ვტოვებდით წყლის აბაზანაზე 55°C პირობებში 18 საათით.

4. ელექტროფორეზზე გასაშვებად ვამზადებდით 1 % აგაროზის გელს 5×TBE ბუფერში (pH 8.0), რომელსაც ვხსნიდით წინასწარ აწყობილ გელის რეზერვუარში და ვტოვებდით ოთახის ტემპერატურაზე 40 წთ-ის განმავლობაში. ამ დროის განმავლობაში ეპენდორფებს ვიღებდით წყლის აბაზანიდან და პიპეტით ფრთხილად ვაცილებდით ლიზისის ბუფერს ისე, რომ პიპეტი არ შეხებოდა აგაროზის ნაჭრებს. აგაროზის ნაჭრებს სამჯერ ვრეცხავდით 1×TE ბუფერით და გამშრალი ნაჭრებს ბრტყელთავიანი პატარა ნიჩბის საშუალებით ვათავსებდით წინასწარ გამზადებულ გელში, თითოეული აგაროზის საცობს - თითოეულ ნაჭდევში.

5. ელექტროფორეზისათვის ვიყენებდით შემდეგ პირობებს: დენი - 6 volt/cm, დრო - 17 სთ, ტემპერატურა - 14°C , პულსირების დრო - საწყისი 5 წმ, საბოლოო 13 წმ.

6. 17 საათის შემდეგ გელი ამოგვექონდა და ვაყოვნებდით კონტეინერში, რომელშიც ესხა 0.5×TBE (0.9 M Tris base, 0.9 M boric acid, 0.02 M EDTA, pH 8.0) ბუფერი + 100 µl EtBr ეთიდიუმ ბრომიდი, ვტოვებდით სანჯღრეველაზე 30 წთ-ით. გელს ვათვალიერებდით ულტრაიისფერი სხივების დაშუქებით.



სურათი 21. PFGE-პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზი

2.3.5. MLST- Multy locus sequence typing - მრავლობითი ლოკუსის სექვენირება-ტიპირება არის ორგანიზმების გენეტიკური ტიპირების მეთოდი, რომელიც დაფუძნებულია დნმ-ში გენების თანმიმდევრობის დადგენაზე. ამ მეთოდით ხორციელდება „house keeping gene“ ანალიზი და მისი მეშვეობით ადვილად ხდება პოპულაციებს შორის ფილოგენეზური ნათესაობის დადგენა და სისტემატიზაცია, რაც თავის მხრივ, ხელს უწყობს მოცემული ბაქტერიის ეპიდემიოლოგიის შესწავლას. ტექნიკურად MLST შედგება რამდენიმე ეტაპისაგან, პირველ რიგში გამოვყოფდით ბაქტერიის დნმ-ს და ამპლიფიკაცია ხდებოდა PCR-ის მეთოდის გამოყენებით სპეციფიკური შვიდი წყვილი პრაიმერთ (სურ.22), რის შემდეგაც მასალა სექვენირდებოდა ავტომატური სექვენატორით. ფუნქციური ანალიზი ხდება სპეციალური პროგრამით Genewiz და MLST ონლაინ ბაზის გამოყენებით.

2.3.6 სრული გენომის სექვენირება - დღეისათვის დნმ-ის სრული გენომის სექვენირებისათვის ახალი თაობის რამდენიმე განსხვავებული ტექნოლოგია გამოიყენება. დნმ-ის თანმიმდევრობის დასადგენად გამოიყენება Illumina ტექნიკა. მეთოდი შეიძლება გამოყენებული იქნეს მეტაგენომის, მთელი გენომის თანმიმდევრობის ანალიზისთვის, პატარა რნმ-ს აღმოჩენისა და მეთილირების პროფილირებისათვის. თუმცა, Illumina სექვენატორის წაკითხვის სიგრძე არ არის ძალიან დიდი (Morozova, 2008). HiSeq ტიპის

სექვენატორის საშუალებით კი შეიძლება დაახლოებით 90 bp წონის ფრაგმენტის სიგრძის წაკითხვა (Feng...2015).

Illumina სექვენირების მთელი პროცესი პატარა ზომის ჩიპზე მიმდინარეობს, რომლის მყარ სუბსტრატზე დნმ-ზონდებია მიმაგრებული. თავდაპირველად დნმ-ის ფრაგმენტირებული მოლეკულები, სწორედ, ამ ზონდებს უკავშირდებიან და ხიდაკების წარმოქმნით ამპლიფიცირდებიან ისე, რომ კლონური ფრაგმენტების ლოკალურ კოლონიებს ქმნიან. შემდეგ ეტაპზე სარეაქციო არეს ემატება პრაიმერი და ოთხი განსხვავებული შექცევადი ფლუორესცენციული ტერმინატორული ნუკლეოტიდი (A, C, T, G). ციკლის დასრულების შემდეგ ზედმეტი ნუკლეოტიდები გამოირეცხება. ლაზერული კამერა აფიქსირებს ახალი მიმაგრებული ნუკლეოტიდის ფლუორესცენციული ზონდის ნათებას. ყოველი ციკლის შემდეგ დნმ-მატრიცაზე მხოლოდ ერთი ნუკლეოტიდური ფუძის მიმატება ხდება. ყოველი ციკლის წინ 3' ბოლოზე მიმაგრებული ფლუორესცენციული ზონდები ქიმიური დამუშავებით შორდება და ახალი ნუკლეოტიდის მიერთების საშუალებას იძლევა. პროცესი გრძელდება მანამ, სანამ დნმ-ის მონაკვეთი სრულად არ წაკითხება. რეაქციის ბოლოს ასობით მილიონი წაკითხული თანმიმდევრობა სპეციალური კომპიუტერული პროგრამებით მუშავდება და ხდება საბოლოო სრული ჯაჭვის აწყობა, რომელიც ასობით ურთიერთგადაფარვადი ფრაგმენტების ანალიზის შედეგია. გარდა სრული გენომის სექვენირებისა, Illumina ტექნოლოგია ხშირად გამოიყენება ისეთი რთული გენომური უბნების წასაკითხად, როგორცაა ჰომოპოლიმერები და განმეორებადი თანმიმდევრობები. რაკი ყოველი ციკლის განმავლობაში ოთხივე ნუკლეოტიდია წარმოდგენილი, ამგვარი ბუნებრივი კონკურენცია ამცირებს შეცდომების ალბათობას. ხოლო თითო-თითო ნუკლეოტიდის წაკითხვის შედეგად მიღებული თანმიმდევრობა უშეცდომო და სარწმუნო მონაცემების გარანტია.

თავი III. შედეგების ანალიზი და განხილვა

3.1 ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევთა სპექტრი

კვლევის შედეგად დავადგინეთ აჭარის ტერიტორიაზე არსებულ სტაციონარებში ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევების სპექტრი, მოვახდინეთ მათი იდენტიფიცირება და დავადგინეთ ანტიბიოტიკორეზისტენტობა.

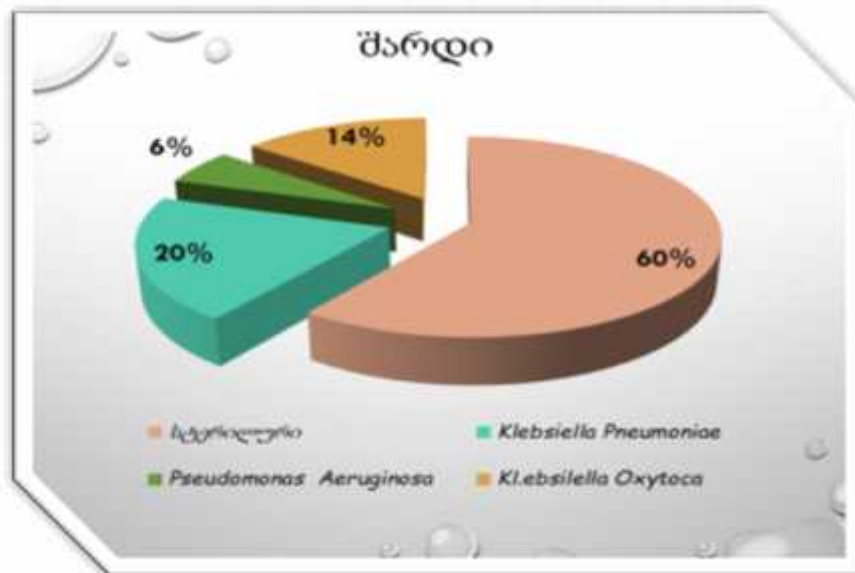
მასალა აღებული იქნა იმუნოკომპრომეტირებული პირებიდან სტაციონარის რეანიმაციულ განყოფილებებში - სტაციონარში ხანგრძლივი მკურნალობის პროცესში მყოფი პაციენტებისაგან.

საკვლევ მასალად გამოყენებული იქნა ნახველი, შარდი, ბიოლოგიური სითხე, სისხლი.

პაციენტების სხვადასხვა ბიოლოგიური მასალიდან აღებულ და გაანალიზებულ 200 ნიმუშში ყველაზე მეტი რაოდენობით წარმოდგენილი იყო ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევი შემდეგი ბაქტერიები:

- ❖ *Klebsiella spp.*
- ❖ *Klebsiella Pneumoniae*
- ❖ *Klebsiella oxytoca*
- ❖ *Acinetobacter. Spp*
- ❖ *Acinetobacter baumannii*
- ❖ *Pseudomonas aeruginosa*
- ❖ *E. coli*

ყველა ტიპის საანალიზო ნიმუშებში - Klebsiella spp., Klebsiella Pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Acinetobacter. Spp, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, E. coli პათოგენთაგან ყველაზე მეტი რაოდენობით დაფიქსირდა: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* და *Acinetobacter baumannii*. კერძოდ, შარდის ნიმუშთა 20%-ში შეგვხვდა *Klebsiella pneumoniae*, 14%-ში - *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa* - 6%-ში, შტამების 60% კი სტერილური აღმოჩნდა. შედეგები წარმოდგენილია დიაგრამა 1-ში.



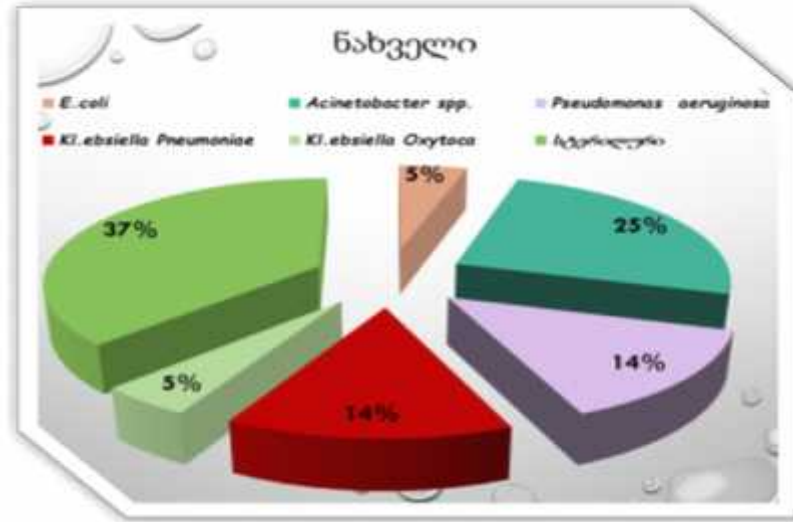
დიაგრამა 1. *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*-ს და *Pseudomonas aeruginosa*-ს თანაფარდობა შარდში

გამოკვლევულ ბიოლოგიურ სიტხეთა 30%-ში ამოიღეს *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli* - 28%-ში, *Acinetobacter spp.* - 17%-ში, ხოლო *Klebsiella pneumoniae* - 8 %-ში (დიაგრამა 2).



დიაგრამა 2. *Acinetobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* და *E. coli* -ის თანაფარდობა ბიოლოგიურ სიტხეში.

ნახველში ამოითეს *Acinetobacter spp* - 25%-ში, *Klebsiella pneumoniae* - 14%-ში, *Pseudomonas aeruginosa*-14%-ში, *Klebsiella oxytoca*-5%-ში, *E. coli*-5%-ში, ნახველის 37% იყო სტერილური (დიაგრამა 3).



დიაგრამა 3. *Acinetobacter spp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* და *E. coli* თანაფარდობა ნახველში

Klebsiella pneumoniae ამოითესა სისხლის ნიმუშების - 5%-ში, *Enterococcus cloacae* - 5%-ში, *Candida* - 3% და სტერილური აღმოჩნდა სისხლის ნიმუშების 87% (დიაგრამა 4).



დიაგრამა 4. *Klebsiella pneumoniae*- ის *Enterococcus cloacae*-ის და *Candida*-ს თანაფარდობა სისხლში.

3.2. ანტიბიოტიკორეზისტენტული ნიმუშების მიკრობიოლოგიური და ბიოქიმიური კვლევის შედეგების ანალიზი

მიკრობიოლოგიური კვლევის შედეგებით, რომელიც ჩავატარეთ *Klebsiella spp.* --ს - 47, *Pseudomona aeruginosa*-ს - 42 და *Acinetobacter spp.*- 50 იზოლატზე, ლ. საყვარელიძის სახელობის დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრის ლაბორატორიის ბაზაზე, დადგინდა რომ აჭარაში ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევთა ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მაჩვენებელი საკმაოდ მაღალია. ანტიბიოტიკო მგრძობელობა განვსაზღვრეთ მხოლოდ დისკ-დიფუზიის მეთოდის გამოყენებით შემდეგ ანტიბიოტიკებზე: Cefalosporine, Ceftriaxone, Cefepime, Piperacillin, Aztreonam, Augmentin, Penicillin, Oxacillin Ciprofloxacin, Colistin, Imipenem, Meropenem, Gentamicin, Amikacin, Ampicillin /sulbactam, Co-trimoxazole, Qloramfenikol, Fosfomycin.

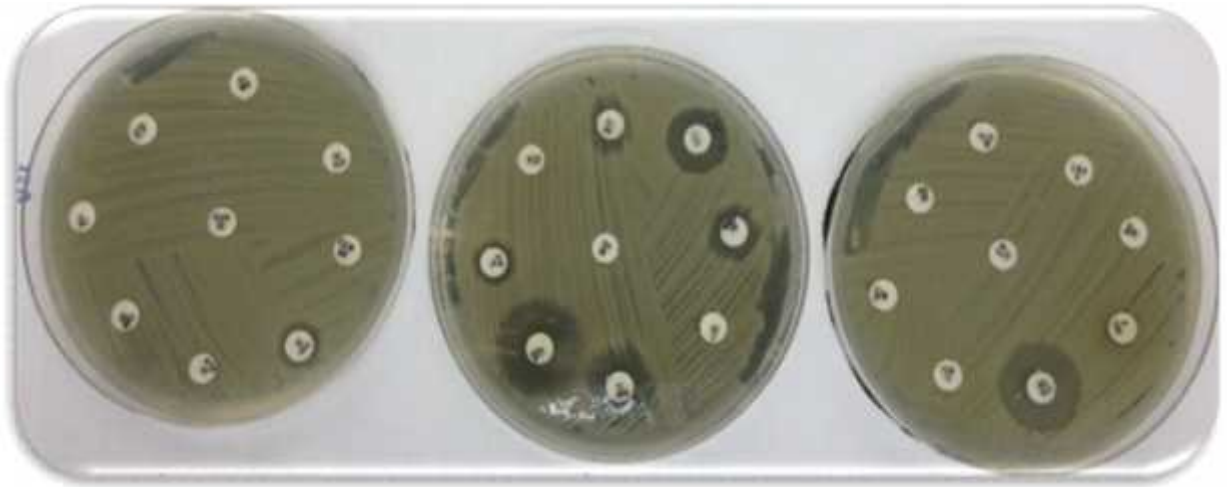
ყველა იზოლატი, რომელმაც აჩვენა მაღალი ანტიბიოტიკორეზისტენტობა, კერძოდ, *Klebsiella pneumoniae*-ს - 24 *Pseudomona aeruginosa*-ს - 16 და *Acinetobacter baumannii*- 22, შევინახეთ და შემდგომ გამოვიკვლიეთ პორტოს უნივერსიტეტის ფარმაციის ფაკულტეტის მიკრობიოლოგიის ლაბორატორიის ბაზაზე ანტიბიოტიკო მგრძობელობის დისკ-დიფუზიის, კარბაპენემ-რეზისტენტობის, ESBL დამადასტურებელი მეთოდების გამოყენებით.

ამასთანავე, უნდა აღინიშნოს, რომ საქართველოში ჩატარებული ანტიბიოტიკომგრძობელობის განსაზღვრისას გამოყენებულ იქნა სამივე მიკრობზე ანტიბიოტიკების ერთიდაიგივე ანაკრები, ხოლო პორტოს უნივერსიტეტში ანტიბიოტიკომგრძობელობა განისაზღვრა ანტიბიოტიკების უფრო ფართო ანაკრებზე და თითოეული მიკრობისთვის გამოყენებული იქნა ანტიბიოტიკების განსხვავებული ჩამონათვალი „ანტიბიოტიკების მგრძობელობის ტესტის ევროპული კომიტეტის“ (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) და ამერიკული კომიტეტის Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) დებულების შესაბამისად.

კერძოდ, ფართო სპექტრის ბეტა-ლაქტამაზას მწარმოებელი *Klebsiella*-ს შტამების ანტიბიოტიკომგრძობელობა განვსაზღვრეთ ფართო სპექტრის შემდეგი ანტიბიოტიკების მიმართ:

<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	• ETP Ertapenem	• FOS Fosfomicin
	• TE Tetracilin	• TOB Tobramicin
β-LACTAMICOS	• IMI Imipenem	• NET Netilmicin
• AML Amoxicilin	• CT Colistin**	• AK Amikacin
• CTX Cefotaxim	• MRP Meropenem	• CN Gentamicin
• FOX Cefoxitin	• C Cloranfenicol	
• FEP Cefepim	• DOR Doripenem	
MONOBACTAMO	• TGC Tigeciclin*	
• ATM Aztreonam	• PIP/TAZ Piperacilin/Tazobactam	
• EFT Ceftiofur	• CIP Ciprofloxacin	
• CAZ Ceftazidim	• LEV Levofloxacin	
• CPT Ceftarolin	• STX Sulfamet.+ Trimetrop.	
β-LACTAMICOS + INIB. β-LACT.	• F Nitrofurantoina	
• AUG Amox. + Ac. Clavulanic		

23-ე სურათზე მოცემულია *Klebsiella pneumoniae*-ს ანტიბიოტიკომგრძნობელობის ტესტი ერთი იზოლატის მაგალითზე.



სურათი 23. *Klebsiella pneumoniae*-ს ერთ-ერთი იზოლატის ანტიბიოტიკომგრძობელობა

გამოკვლეული *Klebsiella pneumoniae*-ს - 50 იზოლატიდან, ორმოცდაათივემ აჩვენა მაღალი ანტიბიოტიკორეზისტენტობა, როგორც იმავე ანტიბიოტიკების მიმართ, რომელიც გამოყენებული იქნა საქართველოში ჩატარებული კვლევისას ასევე, დამატებით სხვა ანტიბიოტიკების მიმართაც (რომელიც გამოვიყენეთ პორტოს ლაბორატორიაში). კვლევის შედეგი დეტალურად ნაჩვენებია მერვე დიაგრამაში. აღნიშნული რეზისტენტული შტამები შევინახეთ მოლეკულური კვლევისათვის.

Pseudomona aeruginosa-ს ანტიბიოტიკომგრძობელობა განვსაზღვრეთ 18 სხვადასხვა ანტიბიოტიკის მიმართ:

Pseudomona aeruginosa

- | | | |
|---|--|-------------------------|
| • PIP Piperacilin | • ATM Aztreonam | • TOB Tobramicin |
| • TIC Ticarcilin | • FEP Cefepime | • IMI Imipenem |
| • TIC /ACC
Ticarcilin/clavulanate | • CAZ Ceftazidim | • NET Netilmicin |
| • LEV Levofloxacin | • PIP/TAZ
Piperacilin/Tazobactam | • AK Amikacin |
| • CIP Ciprofloxacin | • DOR Doripenem | • CN Gentamicin |
| | | • CT Colistin** |

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ტესტმა ნათლად აჩვენა *Pseudomona aeruginosa*-ს მაღალი რეზისტენტობა (სურ.24).

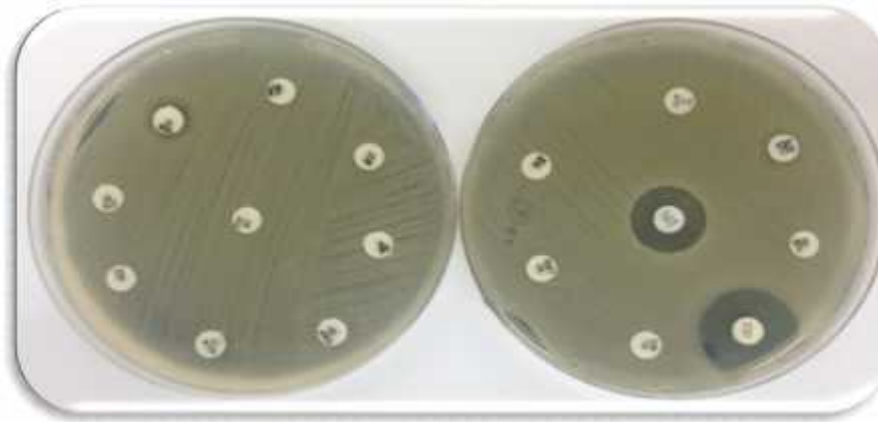


სურათი 24. *Pseudomonas aeruginosa* ანტიბიოტიკომგრძობელობის ტესტი ერთი იზოლატის მაგალითზე.

Acinetobacter baumannii-ს ანტიბიოტიკომგრძობელობა განვსაზღვრეთ შემდეგი ანტიბიოტიკის მიმართ:

- | | |
|---|--|
| • PIP Piperacilin | • CN Gentamicin |
| • DOR Doripenem | • TE Tetracilin |
| • CTX Cefotaxim | • TOB Tobramicin |
| • TIC Ticarcilin | • PIP/TAZ
Piperacilin/Tazobactam |
| • MRP Meropenem | • NET Netilmicin |
| • FEP Cefepime | • CT Colistin** |
| • CAZ Ceftazidim | |
| • IMI Imipenem | |
| • TIC / ACC
Ticarcilin/clavulanate | |
| • CIP Ciprofloxacin | |
| • AK Amikacin | |
| • STX Sulfamet. +
Trimetrop | |

Acinetobacter baumannii-სთვის ანტიბიოტიკომგრძობელობის ტესტმა ნათლად აჩვენა მისი მაღალი რეზისტენტობა (სურ. 25).

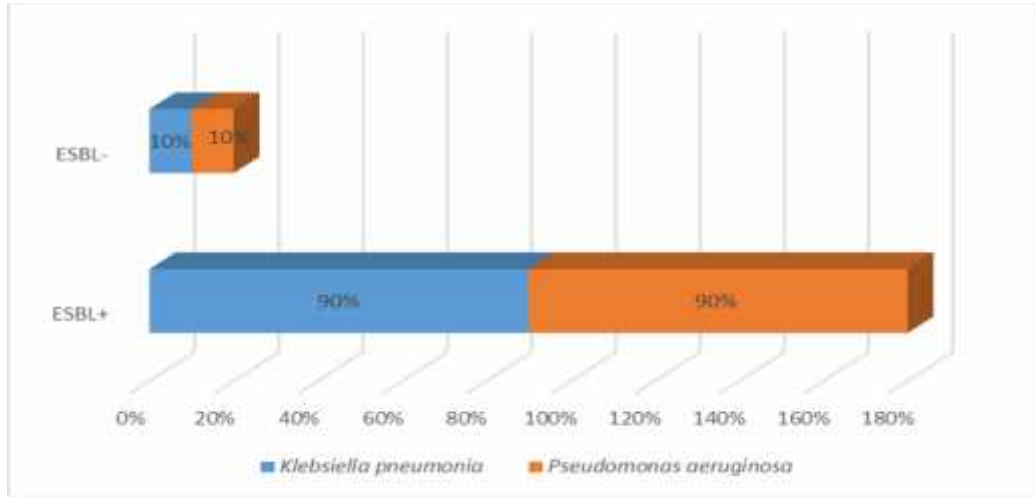


სურათი 25. *Acinetobacter baumannii* ანტიბიოტიკომგრძობელობის ტესტი ერთი იზოლატის მაგალითზე

ყველა თაობის ანტიბიოტიკისმიმართ შტამები ავლენდნენმაღალ რეზისტენტობას. ESBL დამადასტურებლად ვიყენებდით CTX და CTLC (Cefotaxime + Clavulanic acid + Cloxacillin) ანტიბიოტიკს. უკანასკნელის დიაპაზონი 5 მმ ან 5მმ-ზემეტი იყო, რაც ადასტურებდა ESBL-ის არსებობას (სურ. 26).



სურათი 26. ESBL დამადასტურებელი ტესტი



დაგრამა 5. *Klebsiella pneumoniae* და *Pseudomonas aeruginosa* ESBL დადებითი და უარყოფითი შტამების პროფილი

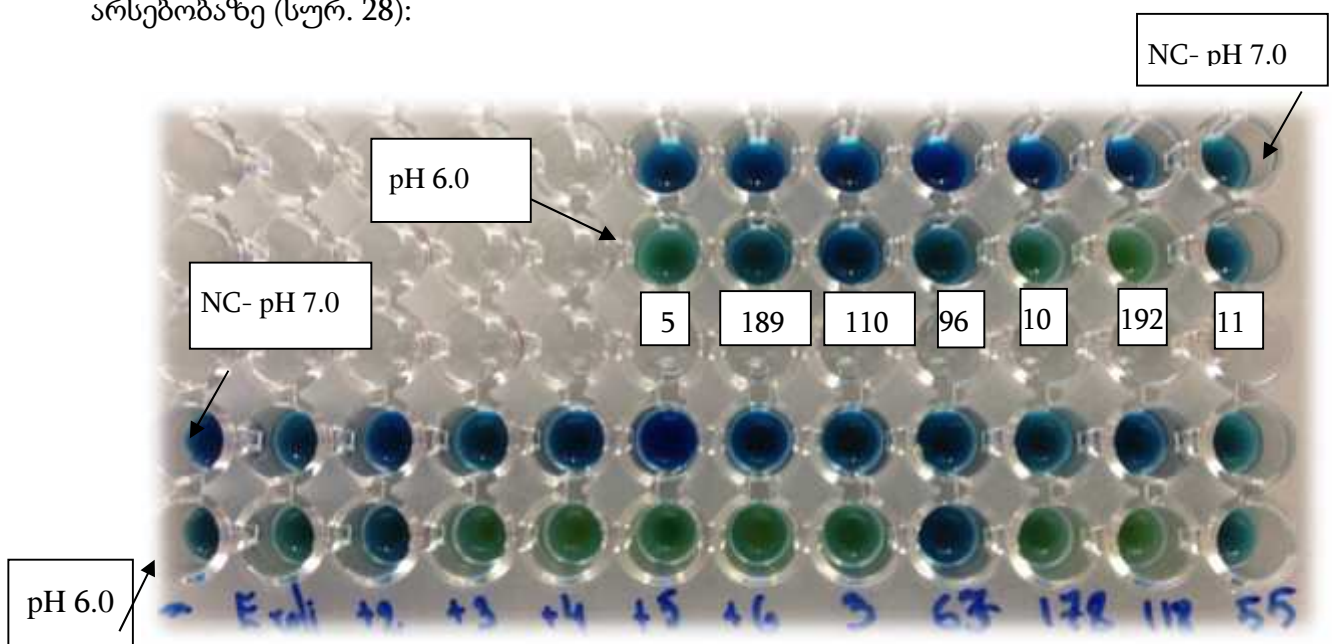
როგორც მეხუთე დიაგრამიდან ჩანს, ჩვენს მიერ გამოკვლეული *Klebsiella pneumoniae*-ს და *Pseudomonas aeruginosa*-ს შტამების 90% ESBL დადებითი აღმოჩნდა [koiava...2016].

ჩვენ ასევე გამოვიყენეთ ანტიბიოტიკებისადმი მგრძობელობის განსაზღვრის დისკ-დიფუზიური მეთოდის მოდიფიცირებული ვარიანტი E-test-ის სახით. აღნიშნული მეთოდით კიდევ ერთხელ დადასტურდა კარბაპენემ-რეზისტენტული *K.pneumoniae*-ს გავრცელება აჭარაში (სურ.27) [Koiava...2016].



სურათი 27. E-test-TGC და CO შემცველი Etest-ის ფირფიტა

კარბაპენემ-რეზისტენტული შტამების გამოსავლენად, ასევე, გამოვიყენეთ ბიოქიმიური ტესტი Blu Carba. მეთოდის შედეგების ინტერპრეტაციას ვახდენდით pH-ის ცვლილებით. როგორც 43-ე სურათიდან ჩანს, გვაქვს ორი რიგი. პირველი რიგი არის ნეგატიური კონტროლი, სადაც pH 7.0-ია, ხოლო მეორე რიგი ბრომთიმოლოვის 0.04%-იანი ლურჯი წყალხსნარია, რომლის pH 6.0, რომელიც შეიცავს 0.1 mmol/liter ZnSO4 და 3 mg/m იმიპენემს. ბრომთიმოლოვის 0.04%-იანი ლურჯი წყალხსნარის შემცველ ორთავე რიგში შეგვყავდა საკვლევი შტამები. ლურჯი შეფერილობის ცვლილება მწვანე ან ყვითელ ფერად მიუთითებდა კარბაპენემ-რეზისტენტული შტამის არსებობაზე (სურ. 28):



სურათი 28. კარბაპენემ-რეზისტენტობის დამადასტურებელი Blu Carba ტესტი

(„-“, კონტროლი, *E. coli* ATCC 25922, „+2“- NCTC13440 (blaVIM1,SHV); „+3“- NCTC13438 (KPC-3,TEM,SHV) „+4“-NDM-1 (NDM-1,TEM-1,SHV); „+5“- IMP-22 (IMP-22, SHV); „+6“- OXA-48 (OXA-48,,TEM,SHV); ხოლო 3,67,178,118,5,189,110, 96, 10,192,11 საკვლევი შტამები)

საკვლევ შტამებს და ასევე საკონტროლოდ შერჩეულ შტამებს, რომლებიც უკვე შეიცავდნენ სხვადასხვა კლასის კარბაპენემებს (კლასი A, B, C, D KPC, IMP, NDM, VIM, SPM, OXA) და *E. coli* ATCC 25922, NCTC13451 (blaOXA, TEM, CTX-M-15), NCTC13440 (blaVIM, SHV), NCTC13438 (KPC, TEM, OXA), ვთესავდით მიულერ-ჰინტონის აგარზე და ვაინკუბირებდით 24 საათის განმავლობაში. ინკუბაციის შემდგომ ვამზადებდით ბრომთიმოლოვის 0.04%-იან ლურჯ წყალხსნარს pH 6.0, რომელიც

შეიცავდა: 0.1 მმოლი/ლიტრზე ZnSO₄-ს და 3 µg იმიპენემს. უარყოფით კონტროლად ვიყენებდით 0.04% ბრომთიმოლოვის ლურჯ წყალხსნარს, pH 7.0. აღნიშნულ წყალხსნარებს ვასხამდით ფოსოებიან პლანშეტში (სურ.28) შემდეგი თანმიმდევრობით. პირველი რიგის ყველა ფოსოში ვასხამდით ბრომთიმოლოვის 0.04%-იან ლურჯ წყალხსნარს pH 6.0-ით, შემდეგ თითოეულ ფოსოში ვათავსებდით შტამებს შემდეგი თანმიმდევრობით: პირველი ფოსო „-“, კონტროლი - შტამის გარეშე; მეორე ფოსო - *E. coli* ATCC 25922; ფოსო „+2“-ში შტამი NCTC13440; რომელიც უკვე შეიცავდა ბეტა-ლაქტამაზურ გენებს -blaVIM1,SHV-ს; ფოსო „+3“-ში შტამი NCTC13438, რომელიც უკვე შეიცავდა KPC-3,TEM,SHV ბეტა-ლაქტამაზურ გენებს; ფოსო „+4“-ში შტამი NDM-1, რომელიც უკვე შეიცავდა NDM-1,TEM-1,SHV ბეტა-ლაქტამაზურ გენებს; ფოსო „+5“-ში შტამი IMP-22, რომელიც უკვე შეიცავდა IMP-22 და SHV გენებს; ფოსო „+6“-ში შტამი OXA-48, რომელიც ასევე შეიცავდა OXA-48,TEM,SHV ბეტა-ლაქტამაზურ გენებს; ხოლო ფოსოებში ნომრად 3,67,178,118,5,189,110, 96, 10,192,11 ვათავსებდით საკვლევ შტამებს., შემდეგ ვაინკუბირებდით 37°C-ზე ორი საათის განმავლობაში, ხოლო შედეგების ინტერპრეტაციას ვახდენდით ფერის ცვლილებით. როგორც სურათიდან ჩანს შტამები ნომერი: 3,67,178,118,5,10,192 კარბაპენემაზული გენების წარმომქნელები არიან რაც დადასტურდა მათი ფერის ცვლილებით ლურჯიდან - მწვანე ან ყვითელ ფერად (სურ. 19).

ჩვენი გამოკვლევებით გამოვლინდა აჭარის რეგიონში გავცელებული ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევი ბაქტერიული შტამების მაღალი რეზისტენტობა ბეტა-ლაქტამური ანტიბიოტიკების, ამინოგლიკოზიდების, ტეტრაციკლინების, სულფონამიდების მიმართ. აღნიშნული ანტიბიოტიკები ბეტა-ლაქტამური ჯგუფის ანტიბიოტიკებია, რომელთა მიმართ რეზისტენტობის პრობლემა მსოფლიო მასშტაბისაა. უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ ეს ანტიბიოტიკები მასიური მოხმარების პრეპარატებია საქართველოში.

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის განვითარების სავარაუდო მიზეზები უნდა იყოს:

- შეცდომები, რომლებიც თან ახლავს რესპირაციული ინფექციების დროს ჩატარებულ ანტიბიოტიკოთერაპიას;
- ანტიბიოტიკის მიღება დაავადების ბაქტერიული წარმოშობის დადგენის გარეშე;

- დანიშნულების მიცემისას რეზისტენტობის ადგილობრივი სიტუაციის გაუთვალისწინებლობა;
- პაციენტის მიერ სიცოცხლის განმავლობაში მიღებულ ანტიბიოტიკებზე კონტროლის არარსებობა;
- ანტიბიოტიკოთერაპიის დაწყება პრეპარატის არასწორი დოზით;
- მიკრობიოლოგიური კვლევისთვის საჭირო სინჯების არაადეკვატური აღება;
- ინფექციის სიმძიმის არასწორი შეფასება;
- ანტიბიოტიკის გაუმართლებელი შეცვლა;
- ანტიბიოტიკოთერაპიის საჭიროზე ხანგრძლივი ან ხანმოკლე კურსი;
- ანტიბიოტიკის მოქმედების გვერდითი ეფექტების გაუთვალისწინებლობა;
- იმ ანტიბიოტიკების გამოყენება, რომელსაც არ შეუძლია ქსოვილებში ღრმად შეღწევა;
- ანტიბიოტიკის არასწორი შერჩევა;
- ანტიბიოტიკის დოზის არასწორი დანიშვნა.

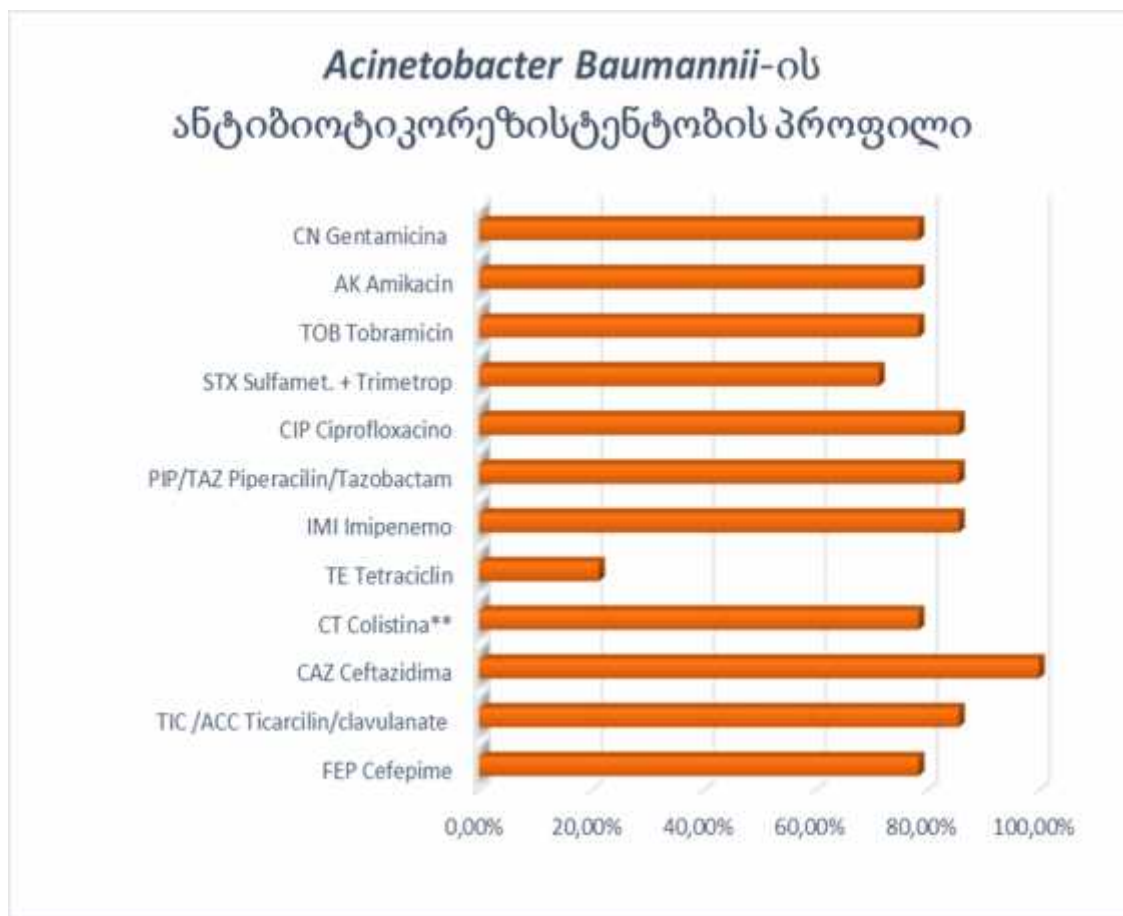
არ არის გამორიცხული ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მითითებული ფაქტორებიდან რომელიმე ან რამდენიმე ფაქტორის კომბინაცია განსაზღვრავდეს ჩვენს მიერ შესწავლილი შტამების რეზისტენტობას ანტიბიოტიკების ასეთი ფართო სპექტრის მიმართ.

Pseudomonas aeruginosa-ს თითქმის ყველა იზოლატი რეზისტენტული იყო: ტიკარცილინის, პიპერაცილინის, აზტრეონამის, ცეფტაზიდიმის, იმიპენემის, გენტამიცინის, ციპროფლოქსაცინის, ლევოფლოქსაცინის, ტიკერაცილინ კლავულანის, ცეფეპიმის, ამიკაცინისა და ნეტილმიცინის მიმართ (დიაგრამა 6):



დიაგრამა 6. *Pseudomona aeruginosa*-ს 16 შტამის ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პროფილი

როგორც დიაგრამიდან ჩანს, სრული რეზისტენტობა გამოვლინდა ტიკარცილინისა და პიპერაცილინის მიმართ **100%**, რადგანაც *Pseudomonas aeruginosa*-ს 24-ვე შტამი რეზისტენტული იყო აღნიშნული ანტიბიოტიკების მიმართ. აზტრეონამისა და ცეფტაზიდიმის მიმართ რეზისტენტული აღმოჩნდა შტამების - **80%**, იმიპენემის, ციპროფლოქსაცინის, ლევოფლოქსაცინის და ტიკარცილინ კლავულანის მჟავის მიმართ - **70%**, ტობრამიციინის მიმართ - **60%**, ამიკაციინის, ნეტილმიციინის და ცეფეპიმის მიმართ - **50%**, ხოლო შედარებით დაბალი რეზისტენტობა დაფიქსირდა დორიპენემისა და ტაზობაქტამის მიმართ-**20%**.



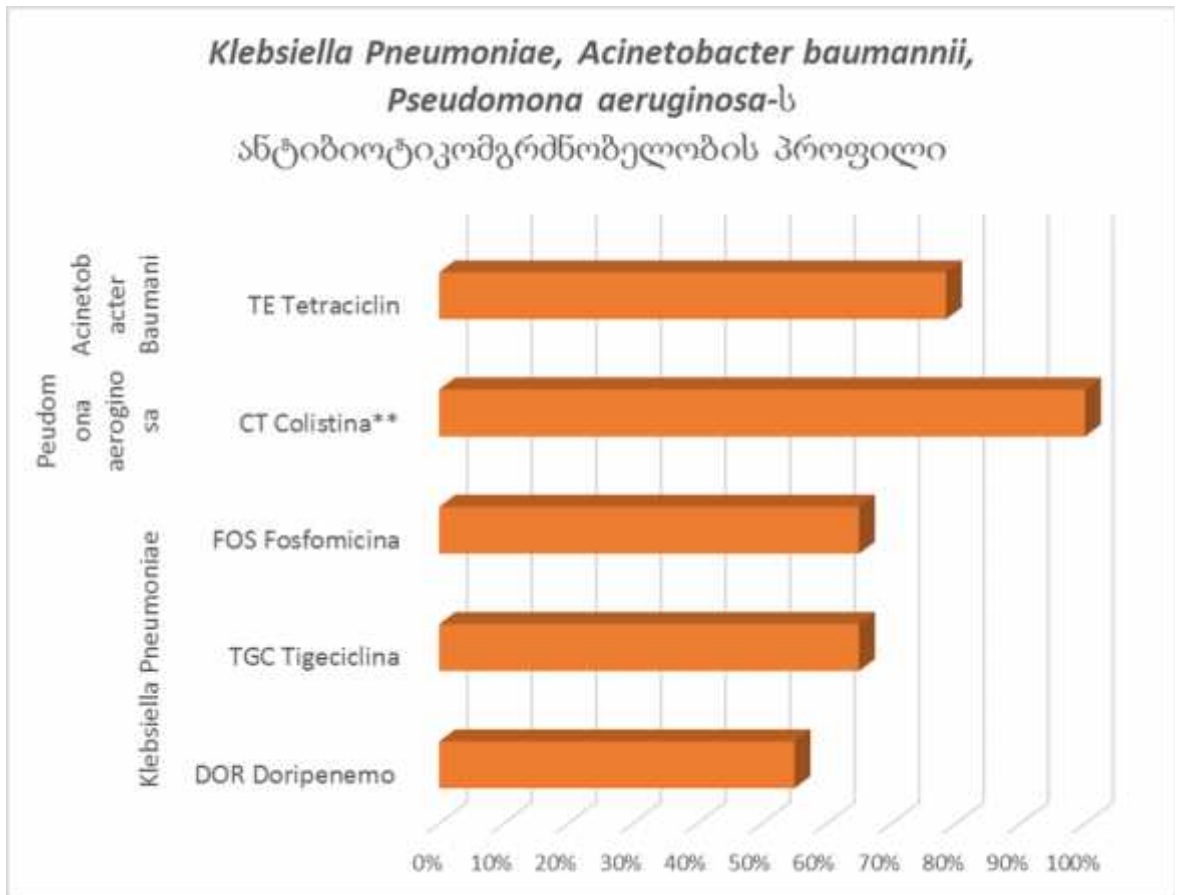
დიაგრამა.7. *Acinetobacter baumannii*-ს 22 შტამის ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პროფილი

Acinetobacter baumannii-მ მაღალი რეზისტენტობა გამოავლინა კვლევისას გამოყენებული თითქმის ყველა ანტიბიოტიკის მიმართ. როგორც მე-7 დიაგრამიდან ჩანს, სრული რეზისტენტობა გამოვლინდა ცეფტაზიდიმის მიმართ - **100%**, ციპროფლოქსაცინის, პიპერაცილინ ტაზობაქტამის, იმიპენემის და ტიკარცილინ კლავულანის მიმართ - **90%**, გენტამიცინის, ამიკაცინის, ტობრამიცინის, კოლისტინის და ცეფეპიმის მიმართ - **80 %**, სულფამიცინის მიმართ - **70%**, ხოლო შედარებით დაბალი რეზისტენტობა დაფიქსირდა ტეტრაციკლინის მიმართ-**20 %** (დიაგრამა 7) [Koiava...2016].



დიაგრამა. 8. *Klebsiella pneumoniae*-ს 24 შტამის ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პროფილი

Klebsiella pneumoniae-ს თითქმის ყველა შტამი რეზისტენტული აღმოჩნდა: ამოქსაცილინის, ცეფოტაქსიმის, ცეფეპიმის, აზტრეონამის, ცეფტრიაქსონის, ცეფტაზიდიმის, პიპერაცილინის, ამოქსაცილინს+კლავულანის მჟავის, ტეტრაციკლინის და სულფონამიდის მიმართ - **100%**, ერტაპენემის, ნიტროფურანის, ტობრამიცინის, ქლორაფენიკოლის, ციპროფლოქსაცინის, ლევოფლოქსაცინისა და ტობრამიცინის მიმართ - **80%**, პიპერაცილინ ტაზობაქტამის მიმართ - **70%**, იმიპენემის, მეროპენემისა, ამიკაცინისა და გენტამიცინის მიმართ - **60%**, ხოლო შედარებით დაბალი რეზისტენტობა დაფიქსირდა ნეტილმიცინის მიმართ - **50%** (დიაგრამა 8):



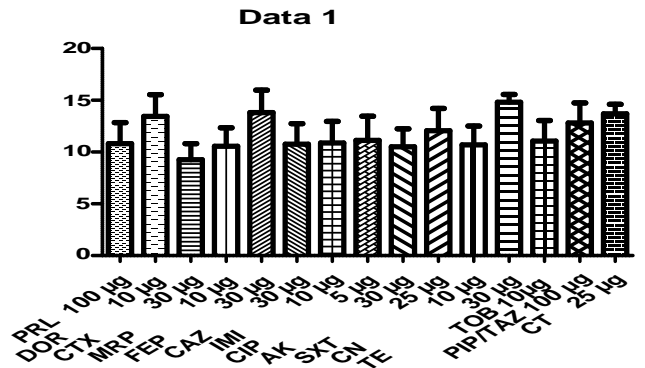
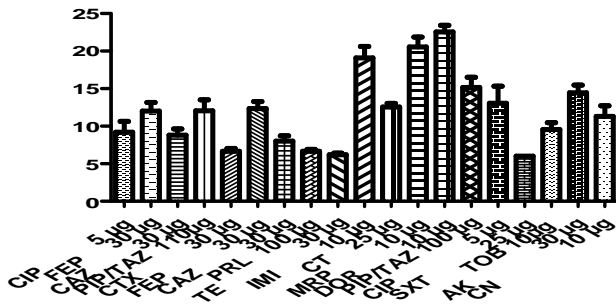
დიაგრამა 9 *Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii* და *Pseudomonas aeruginosa* ანტიბიოტიკომგრძობელობის პროფილი - ფოსფომიცინის, დორიპენემის ტეტრაციკლინის, ტიგერცილინისა და კოლისტინის მიმართ

მიუხედავად ასეთი მაღალი რეზისტენტობისა უმრავლესი ანტიბიოტიკის მიმართ, კვლევისას გამოიკვეთა ანტიბიოტიკები, რომელთა მიმართაც *K. Pneumoniae*-ს, *A. baumannii*-ს და *P. aeruginosa*-ს ყველა შტამი მაღალი მგრძობელობით გამოირჩეოდა.

როგორც დიაგრამიდან ჩანს, *A. Baumannii*-ს შტამების **85%** მგრძობიარე აღმოჩნდა ტეტრაციკლინის მიმართ, *P. aeruginosa*-ს **99%** - კოლისტინის მიმართ, *K. Pneumoniae*-ს, **60%**, - ფოსფომიცინისა და ტიგერცილინის მიმართ, ხოლო - **50%** დორიპენემის მიმართ (დიაგრამა 9).

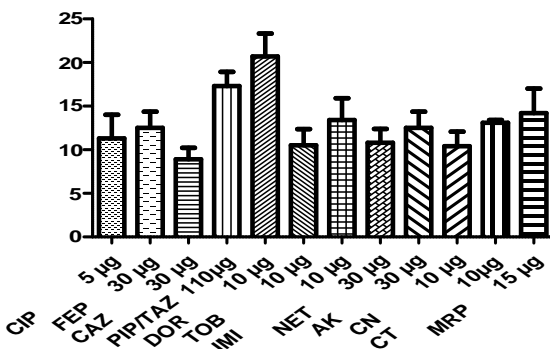
ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის სიხშირე სტატისტიკურად გაანალიზებული იქნა GraphPad-სტატისტიკური მეთოდით (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing -EUCAST და ამერიკული კომიტეტის Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI

გაილაინის მიერ მოწოდებული დიამეტრის ზონის შესაბამისად) ინფექციის გამომწვევ თითოეულ მიკრობთან მიმართებაში.



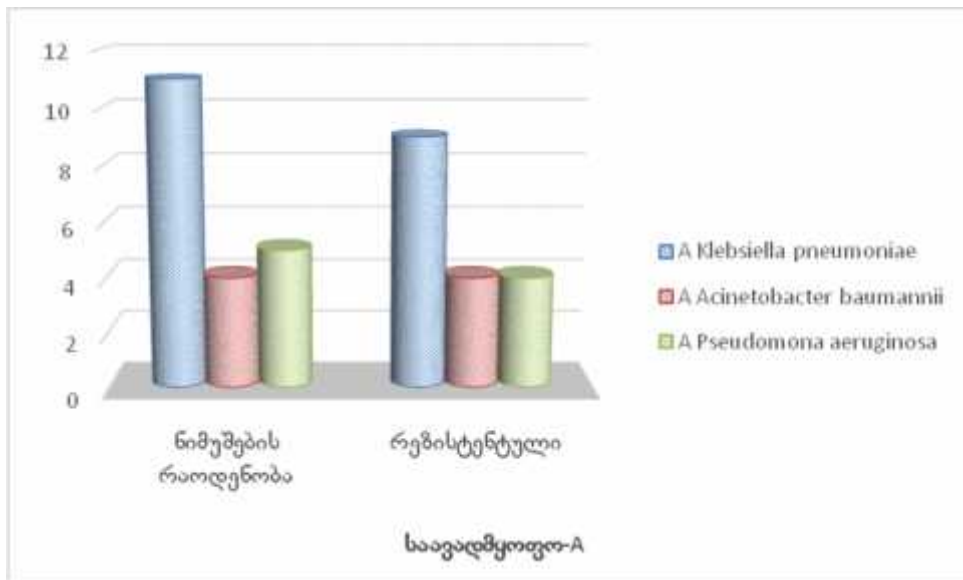
Kruskal-Wallis test	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
P value	< 0,0001
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
P value summary	***
Do the medians vary signif. (P < 0.05)	Yes
Number of groups	19
Kruskal-Wallis statistic	179,5

Kruskal-Wallis test	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P value	0,0143
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
P value summary	*
Do the medians vary signif. (P < 0.05)	Yes
Number of groups	12
Kruskal-Wallis statistic	23,65



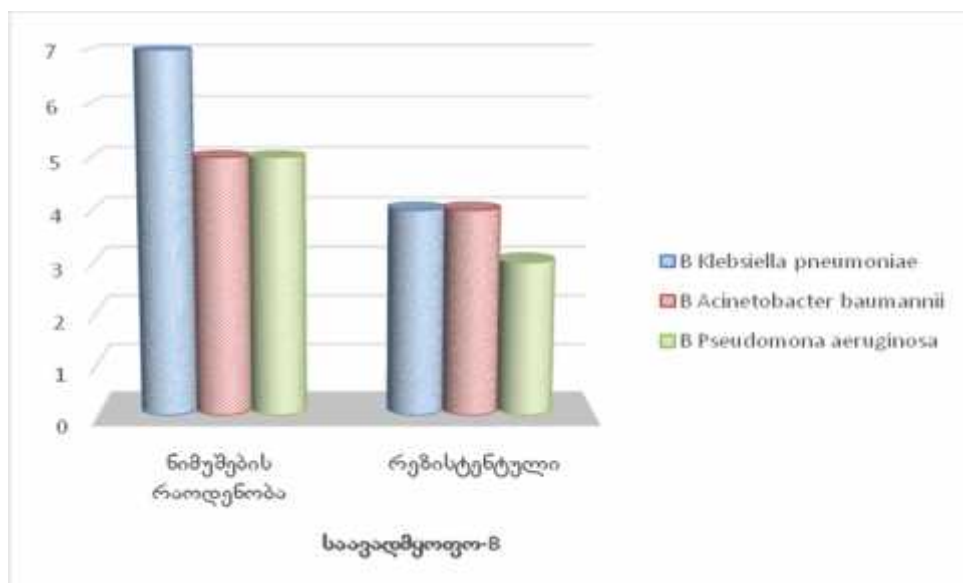
Kruskal-Wallis test	<i>Acinetobacter baumannii</i>
P value	0,0426
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
P value summary	*
Do the medians vary signif. (P < 0.05)	Yes
Number of groups	15
Kruskal-Wallis statistic	24,26

როგორც ზემოთ ავღნიშნეთ, საკვლევი ნიმუშები აღებული იქნა აჭარის რეგიონის ოთხი საავადმყოფოდან (A,B,C,D). აღნიშნულ საავადმყოფოებში ნოზოკომიური ინფექციების გამომწვევთა თანაფარდობა და რეზისტენტობის მაჩვენებელი განსხვავებული იყო. კერძოდ, მე-10 დიაგრამაში მოცემულია აჭარის A საავადმყოფოს მონაცემები ნოზოკომიურ ინფექციათა სიხშირესა და ანტიბიოტიკორეზისტენტობას შორის, როგორც დიაგრამიდან ჩანს, *Klebsiella Pneumoniae*-ს თერთმეტი შტამიდან ცხრა რეზისტენტული იყო ყველა იმ ანტიბიოტიკზე რომლებიც გამოვიყენეთ კვლევაში. ასევე, *Acinetobacter baumannii*-ს ოთხი შტამიდან ოთხივე რეზისტენტული იყო, *Pseudomona aeruginosa*-ს ხუთი შტამიდან დან ოთხი აღმოჩნდა რეზისტენტული.



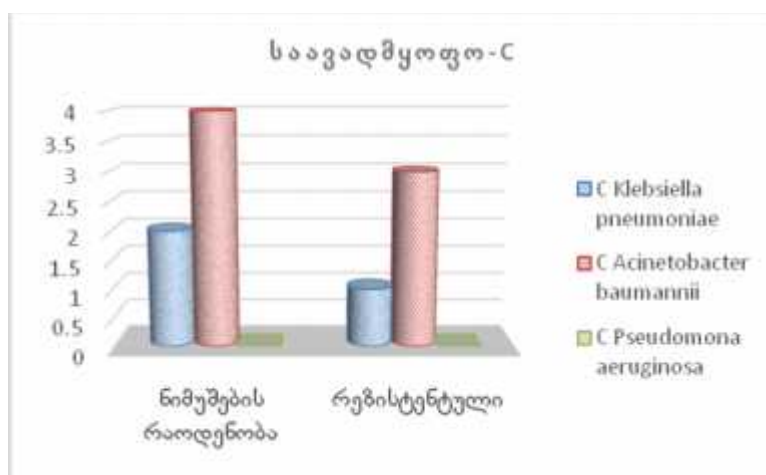
დიაგრამა 10. საავადმყოფო A-ში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა სიხშირე და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მაჩვენებელი

საავადმყოფო B-ში (დიაგრამა 11) *Klebsiella Pneumoniae*-ს შვიდი შტამიდან ოთხი იყო რეზისტენტული ყველა იმ ანტიბიოტიკზე, რომელიც გამოვიყენეთ კვლევაში, ასევე, *Acinetobacter baumannii*-ს შტამიდან დან ოთხი, ხოლო *Pseudomona aeruginosa*-ს შტამიდან სამი რეზისტენტული იყო.



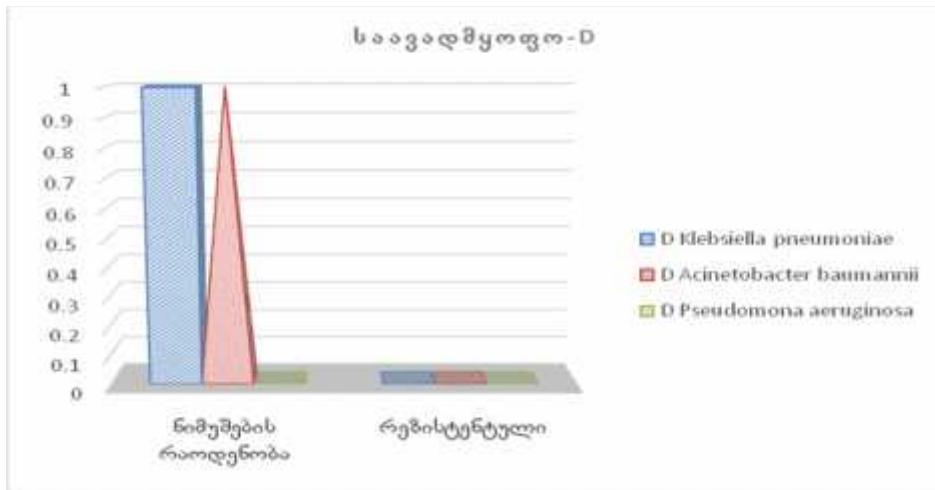
დიაგრამა 11. საავადმყოფო B-ში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა სიხშირე და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მაჩვენებელი

როგორც მე-12 დიაგრამიდან ჩანს, საავადმყოფო C-ში *Klebsiella Pneumoniae*-ს ორი შტამიდან მხოლოდ ერთი აღმოჩნდა რეზისტენტული კვლევაში გამოყენებულ ყველა ანტიბიოტიკზე, ასევე *Acinetobacter baumannii*-ს ოთხი შტამიდან რეზისტენტული აღმოჩნდა სამი, ხოლო *Pseudomonas aeruginosa* აღნიშნულ საავადმყოფოში იდენტიფიცირებული არ იქნა.



დიაგრამა 12. საავადმყოფო C-ში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა სიხშირე და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მაჩვენებელი

როგორც მე-13 დიაგრამიდან ჩანს, საავადმყოფო D-ში არ იქნა იდენტიფიცირებული ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევი *Pseudomona aeruginosa*, გამოვლენილი იქნა მხოლოდ *Klebsiella pneumoniae*-ს და *Acinetobacter baumannii*-შ თითო შტამი, რომლებიც მგრძობიარენი აღმოჩნდნენ კვლევაში გამოყენებული ყველა ანტიბიოტიკის მიმართ.



დიაგრამა 13. საავადმყოფო D-ში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა სიხშირე და ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მაჩვენებელი

აღნიშნული მონაცემები დავამუშავეთ სტატისტიკურად SPSS მეთოდის გამოყენებით, რომლის მიხედვითაც, *Klebsiella pneumoniae*-ს რეზისტენტობის ალბათობის მაჩვენებელი ოთხივე საავადმყოფოში არის 98,72%, *Acinetobacter baumannii*-ს - 93,38%, ხოლო *Pseudomonas aeruginosa*-ს - 96,08%.

სავარაუდოდ, ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ჩამოყალიბებას ხელი შეუწყო მოსახლეობის მიერ შესწავლილი ანტიბიოტიკების თვითნებურად გამოყენებამ, ხშირად, არადანიშნულებისამებრ, ასევე სამედიცინო პერსონალის მიერ წინასწარ არ ხდება ანტიბიოტიკომგრძობელობის ტესტის დადგმა და ხდება პირდაპირ ფართო სპექტრის ანტიბიოტიკების დანიშვნა. როგორც ცნობილია, საქართველოში 2014 წლამდე ურეცეპტოდ ხდებოდა ანტიბიოტიკების რეალიზება. 2014 წლის 18 ივლისის საქართველოს შრომის, ჯანმრთელობისა და სოციალური დაცვის მინისტრის 01-53/ნ ბრძანებით, აიკრძალა გარკვეული ჯგუფის წამლების, მათ შორის ანტიბიოტიკების -

გაცემა ურეცეპტოდ, რაც წინგადადგმული ნაბიჯია აღნიშნული პრობლემის მოსაგვარებლად.

ამრიგად, ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევის შედეგების ანალიზით შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ რეგიონში გავრცელებული პათოგენები რეზისტენტულობას ავლენენ ანტიბიოტიკების ფართო სპექტრის მიმართ, აღნიშნული პათოგენები საავადმყოფოებისათვის დიდ პრობლემას ქმნიან და ამასთანავე, ასეთი დაუდევარი ქმედებით ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამები შემდგომ მთელს ჰოსპიტალში ვრცელდება და იქცევა არა მარტო ლოკალურ, არამედ გლობალურ პრობლემად.

3.3 ანტიბიოტიკორეზისტენტობის განმსაზღვრელი გენების მოლეკულური იდენტიფიკაცია

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გამოვლენილი მაღალი მაჩვენებლის მიზეზის დასადგენად საჭირო იყო მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევის ჩატარება.

მოლეკულური იდენტიფიკაციისთვის შერჩეული იქნა მაღალანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამები და ანტიბიოტიკორეზისტენტობიდან გამომდინარე რეზისტენტობის განმსაზღვრელი შესაბამისი გენები.

კერძოდ, სულფონამიდების-sul1, sul2, sul 3', ტეტრაციკლინების-tet-A, tetD, tetG, tetC, tetE; ამინოგლიკოზიდების-AAC3-II,aph3,-III, AAC3-IV, aph(3')-I, aph(3')-II, ant2, AAC61B-CR კარბაპენემების-TEM, SHV, OXA, OXA48, KPC, NDM ქინოლონებიqnrD, qnrS, qnrB, qnrC, qnrA, parC, ციპროფლოქსაცინების-CTXmG1, CTXm15, CTXmG8, ctx-m G2, ctx-m G9, ctx-m G25რეზისტენტული შტამებისთვის შერჩეული იქნა შესაბამისი გენები.

Klebsiella Pneumoniae-თვის რეზისტენტობის განმაპირობებელი 45 გენის განსასაზღვრავად გამოყენებული იქნა შემდეგი პრაიმერები, რომელიც დეტალურად ნაჩვენებია მეხუთე ცხრილში.

ცხრილი.5 *Klebsiella Pneumoniae*-ს მოლეკულური იდენტიფიკაციისთვის გამოყენებული პრაიმერები

გენი	სექვენსი (5'- 3')		
bla_{TEM}	5'-CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC-3'	bla_{NDM}	5'-CATCAAGTCAACCCAACCG- 3'
	5'-CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC-3'		5'-GGTTTGGCGATCTGGTTTTG-3'
bla_{SHV}	5'-AGCCGCTTGAGCAAATTA AAC-3'	bla_{KPC}	5'-CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG- 3'
	5'- ATCCCGCAGATAAATCACCAC-3'		5'-CTTGTCATCCTTGTTAGGCG- 3'
bla_{OXA}	5'-GGCACCAGATTCAACTTTCAAG-3'	bla_{SIM}	5'-TAATGGCCTGTTCCCATGTG-3'
	5'-GACCCCAAGTTTCTGTAAAGTG-3'		5'- TACAAGGGATTCGGCATCG-3'
bla_{CTX-M-GRUPO1}	5'- AAAAATCACTGCGCCAGTTC-3'	bla_{GIM}	5'-TCGACACACCTTGGTCTGAA-3'
	5'- AGCTTATTCATCGCCACGTT-3'		5'- AACTTCCAACCTTTGCCATGC-3'
bla_{CTX-M-GRUPO2}	5'- CGACGCTACCCCTGCTATT-3'	bla_{BIC}	5'- TATGCAGCTCCTTTAAGGGC-3'
	5'- CCAGCGTCAGATTTTTCAGG-3'		5'- TCATTGGCGGTGCCGTACAC-3'
bla_{CTX-M-GRUPO8}	5'- TCGCGTTAAGCGGATGATGC-3'	bla_{SPM}	5'- ACATTATCCGCTGGAACAGG-3'
	5'- AACCACGATGTGGGTAGC-3'		5'- AAAATCTGGGTACGCAAACG - 3'
bla_{CTX-M-GRUPO9}	5'- CAAAGAGAGTGCAACGGATG - 3'	bla_{AIM}	5'- GTTCGGCCACCTCGAATTG-3'
	5'- ATTGGAAAGCGTTCATCACC-3'		5'- CTGAAGGTGTACGGAAACAC-3'
bla_{CTX-M-GRUPO25}	5'- GCACGATGACATTTCGGG-3'	bla_{DIM}	5'- GCTTGTCTTCGCTTGCTAACG-3
	5'- AACCACGATGTGGGTAGC-3'		5'- CGTTCGGCTGGATTGATTTG-3'
bla_{IMP}	5'-GGT TTA AYA AAA CAA CCA CC- 3'	bla_{GES}	5'-CTG GCA GGG ATC GCT CAC TC- 3'
	5'- GGA ATA GAG TGG CTT AAY TC-3'		5'- TTC CGA TCA GCC ACC TCT CA- 3'
bla_{VIM}	5'-GATGGTGTGTTGGTCGCATA- 3'	tetA	5'- GTAATTCTGAGCACTGTCCG-3'
	5'-CGAATGCGCAGCACCAG- 3'		5'- CTGCCTGGACAACATTGCTT-3'
bla_{OXA-48}	5'-GCGTGGTTAAGGATGAACAC- 3'	tetB	5'- CTCAGTATTCCAAGCCTTTG-3'
			5'- ACTCCCCTGAGCTTGAGGGG-3'

<i>tetC</i>	5'- GGTTGAAGGCTCTCAAGGGC-3'
	5'- CCTCTTGCGGGATATCGTCC-3'
<i>tetD</i>	5'- CATCCATCCGGAAGTGATAGC-3'
	5'- GGATATCTCACCGCATCTGC-3'
<i>tetE</i>	5'- TGATGATGGCACTGGTCA-3'
	5'- GCTGGCTGTTGCCATTA-3'
<i>tetG</i>	5'- GCAGCGAAAGCGTATTTGCG-3'
	5'- TCCGAAAGCTGTCCAAGCAT-3'
<i>aac(6)- Ib-cr</i>	5'-TTG CGA TGC TCT ATG AGT GG-3
	5'-GCG TGT TCG CTC GAA TGC C-3
<i>aac(3)- IV</i>	5'- GTGTGCTGCTGGTCCACAGC-3'
	5'- AGTTGACCCAGGGCTGTCCG-3'
<i>aac(3)- II</i>	5'- GTCGAACAGGTAGCACTGAG-3'
	5'- TGA AAC GCT GAC GGA GCC TC- 3'
<i>qnrA</i>	5'- GGATGCCAGTTTCGAGGA-3'
	5'- TGCCAGGCACAGATCTTG-3'
<i>qnrB (1-6)</i>	5'- GGMATHGAAATTCGCCACTG-3'
	5'- TTTGCGYGYCGCCAGTCGAA-3'
<i>qnrC</i>	5'- GGGTTGTACATTTATTGAATC-3'
	5'- TCCACTTTACGAGGTTCT-3'
<i>qnrD</i>	5'- CGAGATCAATTTACGGGAATA-3
	5'- AACAAAGCTGAAGCGCCTG-3'
<i>qnrS</i>	5'- GATCTAAACCGTCGAGTTCGG-3'

(1-2)	5'- TCGACGTGCTAACTTGCG-3'
<i>sul1</i>	5'- TGAGATCAGACGTATTGCGC-3'
	5'- TTGAAGGTTTCGACAGCACGT-3'
<i>sul 2</i>	5'- GCGCTCAAGGCAGATGGCATT-3'
	5'-GCGTTTGATACCGGCACCCGT-3'
<i>sul 3</i>	5'- CATCTGCAGCTAACCTAGGGCTTTGGA -3'
	5'- GAGCAAGATTTTTGGAATCG-3'
<i>aph(3')- I 1</i>	5'- GCCGATGTGGATTGCGAAAA-3'
<i>aph(3')- I 2</i>	5'- GCTTGATCCCCAGTAAAGTCA-3'
<i>aph (3')-II 1</i>	5'- GCTATTCGGCTATGACTGGGC-3'
<i>aph (3')-II 2</i>	5'- CCACCATGATATTCGGCAAGC-3'
<i>aph(3')- III 1</i>	5'-AAC GTC TTG CTC GAG GCC GCG-3'
<i>aph(3')- III 2</i>	5'-GGC AAG ATC CTG GTA TCG GTC-3'
<i>ant(2^{'''})- I 1 "</i>	5'- GGGCGCGTCATGGAGGAGTT-3'
<i>ant(2^{'''})- I 2 "</i>	5'- TATCGCGACCTGAAAGCGGC-3'

მოლეკულური იდენტიფიკაციის შედეგებმა აჩვენა, რომ *K.pneumoniae* ს ზოგიერთი შტამი (59,118,178,203etp,2013imi,204,208) შეიცავს რეზისტენტობის განმსაზღვრელ რამდენიმე გენს (TEM,SHV, OXA, CTXM-G1, CTXm15) ერთდროულად.

ცხრილი.6 *Klebsiella Pneumoniae*-ს მოლეკულური იდენტიფიკაციის შედეგები

შტამის №	PCR-TEM, OXA e SHV	PCR - CTX-M GRUPOS	PCR-CARB.	PCR-QUIN OLON AS	PCR-AMINOG.	PCR - TETRAC.	PCR - SULFO N.
179	TEM,SHV	CTXm G1/CTXm15/G8			AAC3-II, aph 3, -III	TETD	
3	TEM, SHV, OXA	CTXm G1/CTXm15	NDM	QNRD, QNRS,	ant2 aph 3, -III	TET-A	
19	TEM,SHV	CTXm G1/CTXm15		QNRS,	ant2	TET-A	SUL1,S UL2,
187	TEM,SHV	CTXm G1/CTXm15/G8		QNRB	aph 3, -III	TETD	SUL1,S UL2
180		CTXm G1/CTXm15/G8			AAC3-II aph 3, -III	TETD	SUL1, SUL2
185		CTXm G1/CTXm15/G8		QNRB		TETD	SUL1,S UL2
182	TEM,SHV						SUL2
184		CTXm G1/CTXm15			AAC3-II, aph 3, -III	TETD	
181	SHV				AAC61B-CR		
186	TEM	CTXm G1/CTXm15			AAC3-II, aph 3, -III	TETD	SUL1
59	TEM,SHV,OXA	CTXm G1/CTXm15		QNRS	AAC3-II aph 3, -III	TET-A	SUL1
63	OXA48			QNRD			SUL1, SUL2
188							QNRS, SUL2
67		CTXm G1/CTXm15/G8		QNRS	ant2	TET-A	SUL1,S UL2
99	TEM						QNRS, SUL1
118	TEM,SHV OXA	CTXm G1		QNRB			
178	TEM,SHV,OXA, OXA48	CTXm G1		QNRS	aph3, -III, AAC3-II	TET-A	
101		CTXm G1/CTXm15				TET-A	
209	TEM,SHV OXA	CTXM-G1		qnrB	AAC3-II, AAC61B-CR	TET-A	
201	TEM,SHV	CTXM-G1, CTXm15		parC	AAC3-II	TET-A	sul1
208	TEM,SHV OXA	CTXM-G1,CTXm15	OXA48		AAC3-II, AAC61B-CR	TET-A	sul1
203 etp	TEM,SHV OXA	CTXM-G1,CTXm15	OXA48	parC, qnrB	AAC61B-CR	TET-A	sul1

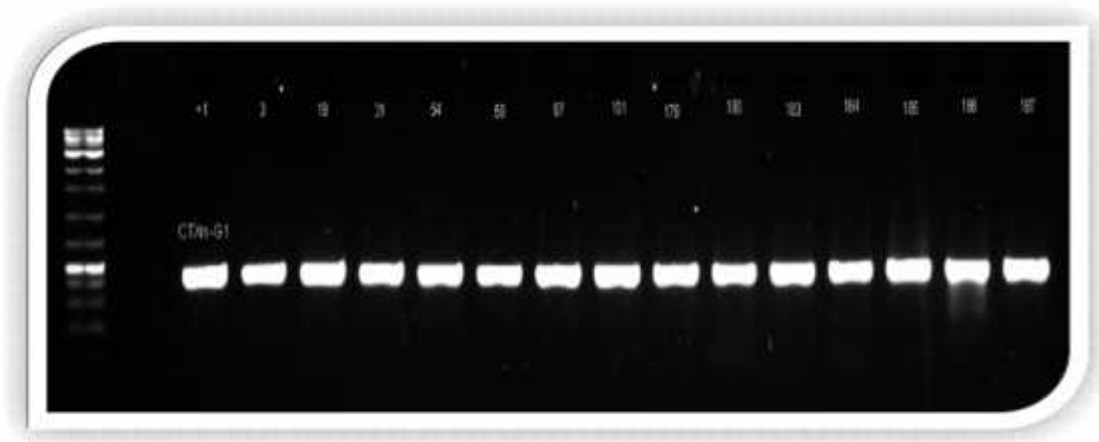
203 imi	TEM,SHV OXA	CTXM-G1,CTXm15	OXA48	parC, qnrB	AAC61B-CR	TET-A	sul1
204	TEM,SHV OXA	CTXM-G1,CTXm15		parC,q nrB	AAC61B-CR		sul1,su I2

მაგალითისთვის განვიხილოთ შტამი- „3“ (ცხრილში ჩარჩოთი არის მონიშნული). როგორც ცხრილიდან ჩანს, აღნიშნული შტამი შეიცავს რეზისტენტობის განმსაზღვრელ სხვადასხვა გენს ერთდროულად, კერძოდ: ბეტა ლაქტამური ჯგუფის ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის გენებს - TEM, SHV და OXA-ს, ციპროფლოქსაცინის ჯგუფის რეზისტენტობის განმსაზღვრელ გენებს - CTXm G1 და CTXm G15-ს, კარბაპენემის ჯგუფის ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის განმსაზღვრელ გენს - NDM-ს, ქინოლონების ჯგუფის ანტიბიოტიკების განსაზღვრელ გენებს - qnrD და qnrS, ამინოგლიკოზიდური ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის განმსაზღვრელ გენებს - ant2 და aph-3-ს და ტეტრაციკლინების ჯგუფის ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის განმსაზღვრელ გენს - tet-A-ს. როგორც ცხილიდან ჩანს, თითოეული შტამი შეიცავს რეზისტენტობის განმსაზღვრელ იმ გენებს, რომლებიც დაკავშირებულია ამინოგლიკოზიდების, კარბაპენემების, ტეტრაციკლინების და სულფომინამიდების მიმართ რეზისტენტობასთან.

ცხრილი 7. პრაიმერები, რომლებზეც *Klebsiella pneumoniae*-ს ყველა შტამმა აჩვენა უარყოფითი შედეგი

<i>Klebsiella pneumoniae</i>
TETG
TETC
TETE
QNRC
QNRA
SUL3
AAC3-IV
aph(3')-I
aph(3')-II
ctx-m G2
ctx-m G9
ctx-m G25

მე-7 ცხრილში მოცემულია ის პრაიმერები, რომლებზეც *K. pneumoniae*-ს აჭარაში გავრცელებულმა შტამებმა უარყოფითი შედეგი აჩვენა. თუმცა, უნდა აღინიშნოს, რომ ტეტრაციკლინების, ქინოლონების, ამინოგლიკოზიდების, ციფროფლოქსაცინების მიმართ რეზისტენტული *K.pneumoniae*-ს რეზისტენტობის განმსაზღვრელი გენები, AAC3-IV და SUL3, რომლებიც არ იქნა იდენტიფიცირებული ჩვენთან, ნაპოვნია ირანში [Khamesipour...2016].



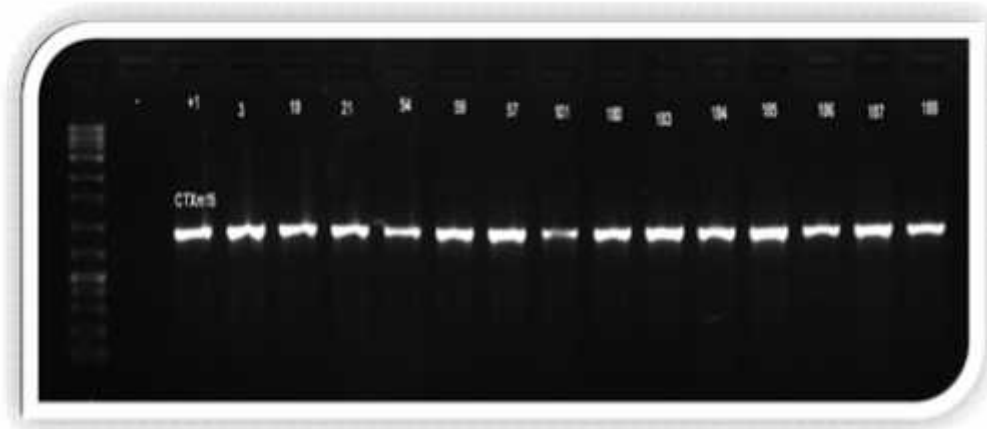
სურათი 29. *Klebsiella pneumoniae*-ს PCR-ის შედეგი CTX-M-G1 გენზე (415bp)

29-ე სურათზე „-“ -ით აღნიშნულია უარყოფითი კონტროლი, ხოლო „+1“ CTX-M-G1 გენის დადებითი კონტროლი. ნომები: 3,19,21,54,59,57,101,180,183,184,185,186,187,188 *Klebsiella Pneumoniae*-ს ნიმუშებია. 30-ე სურათზეც ასევე გამოსახულია *Klebsiella pneumoniae* -ს PCR შედეგები CTX-M-G1 (415bp), CTX-M-G2 (552bp) და CTX-M-G9 (205bp) გენზე. ამავე სურათზე უარყოფითი კონტროლი აღნიშნულია „-“; ხოლო „+1“ - CTX-M-G1 დადებითი კონტროლია; „+26“ დადებითი კონტროლია - CTX-M-G2 გენის; ხოლო „+27“- დადებითი კონტროლია CTX-M-G9 გენის.

29-ე და 30-ე სურათებზე *Klebsiella Pneumoniae*-ს შტამებმ, რომის ნომრებია: 3,19,21,54,59,57,101,180,183,184,185,186,187,188 და 201. 203-ETP, 203-IMI, 208, 209, 118, 178 დადებითი ამპლიფიკაცია აჩვენეს CTX-M-G1 გენზე. მხოლოდ 204-ე შტამმა დადებითი ამპლიფიკაცია აჩვენა ერთდროულად CTX-M-G1 გენზე და CTX-M-G9-გენზეც [Koiava...2016].



სურათი 30. Klebsiella pneumoniae -ს PCR-ის შედეგები CTX-M-G1 (415bp), CTX-M-G2(552bp), CTX-M-G9 (205bp) გენზე



სურათი 31. Klebsiella pneumoniae-ს PCR -ის შედეგი CTX-M-G15 გენზე (1000bp)

31 სურათზე „-“ აღნიშნულია უარყოფითი კონტროლი, ხოლო „+“-ით CTX-M-G15 -ის დადებითი კონტროლი. ნომრები: 3,19,21,54,57,58,101,180,183,184,185,186,187,188 *Klebsiella Pneumoniae-ს* შტამებია და ყველა გვიჩვენებს დადებით ამპლიფიკაციას CTX-M-G15 გენზე [Koiava...2016].



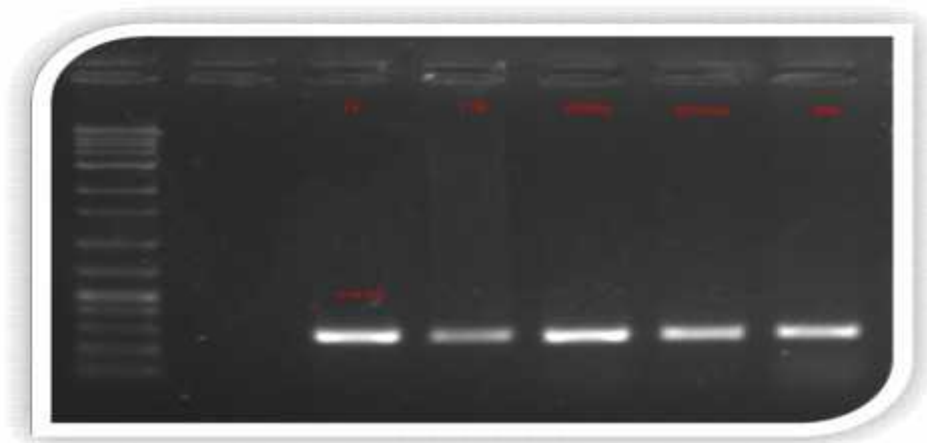
სურათი 32. *Klebsiella pneumoniae*-ს PCR -ის შედეგები *blaTEM* (800bp), *blaSHV* (713bp), *blaOXA* (564bp) გენზე

Klebsiella pneumoniae-ს ყველა შტამში PCR-ით განისაზღვრა *blaTEM*, *blaSHV* და *blaOXA* გენები, აქედან 7 შტამმა დადებითი ამპლიფიკაცია აჩვენა სამთავე გენზე, ესენია: 3, 59, 178, 203, 208, 209, 203ETP. ასევე, შტამებმა -19, 67, 118, 179, 180, 184, 155, 186, 187, 201 აჩვენეს დადებითი ამპლიფიკაცია მხოლოდ ორ -ლაქტამაზურ გენებზე- *TEM*, *SHV* და მხოლოდ ერთმა შტამმა (54) აჩვენა დადებითი ამპლიფიკაცია მხოლოდ - *TEM* ერთ გენზე და 21-ე შტამმა აჩვენა დადებითი ამპლიფიკაცია მხოლოდ - *OXA* ერთ გენზე, შტამებმა : 101, 106, 108, 181 შეიცავდა მხოლოდ ერთ გენს *SHV* მხოლოდ სამ შტამში არ დაფიქსირდა არც ერთი ზემოთაღნიშნული გენი [koiava...2016] (სურათი 32).



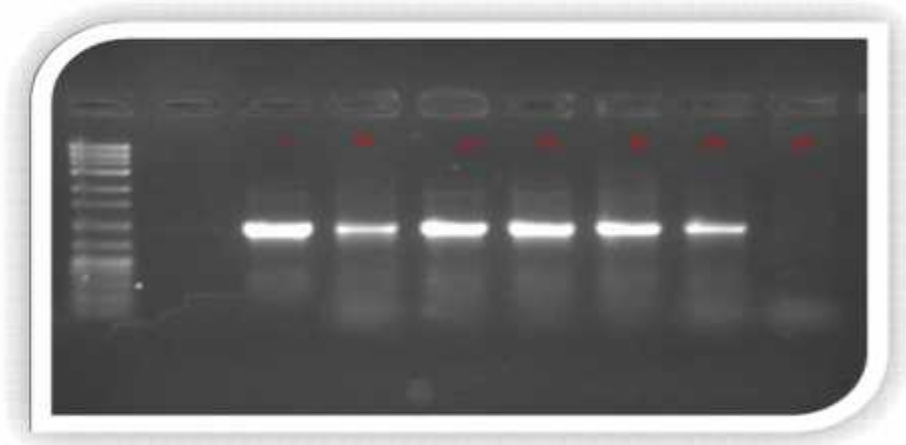
სურათი 33. *Klebsiella pneumoniae*-ს PCR-ის შედეგი SUL1 (400bp) გენზე

SUL1 გენზე კვლევის შედეგებმა აჩვენა, (სურათი 33) *Klebsiella Pneumoniae*-ს შტამებმა ნომერებით: 201, 203-ETP, 203-IMI, 204, 208 დადებითი აღნიშნულ გენზე, ხოლო *Klebsiella Pneumoniae*-ს ნომერი 209 შტამი უარყოფითია SUL1 გენზე. 33-ე სურათზე „+1“ არის აღნიშნული დადებითი კონტროლი SUL1 გენზე.



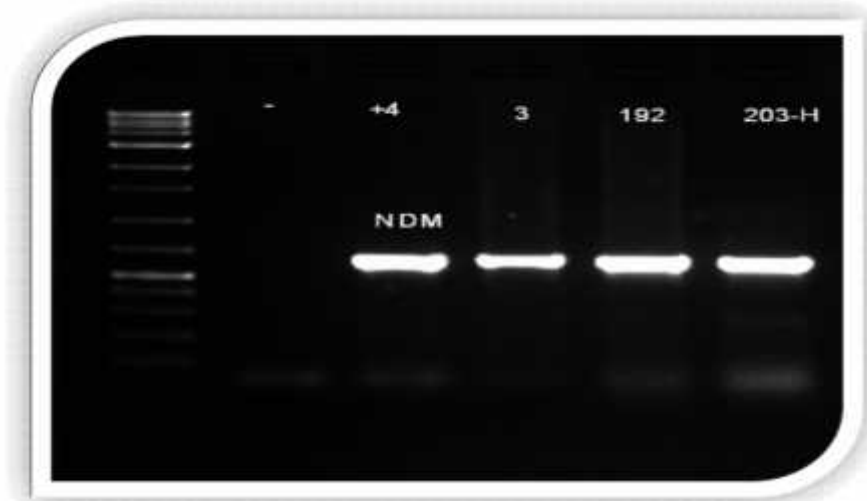
სურათი 34. *Klebsiella pneumoniae* -ს PCR-ის შედეგი OXA48 (400bp) გენზე

34-ე სურათიდან ჩანს, რომ *Klebsiella Pneumoniae*-ს შტამებმა ნომერებით: 178, 203-ETP, 203-IMI, 204, 208 გვიჩვენა დადებითი ამპლიფიკაცია OXA48 გენზე („+1“ დადებითი კონტროლია OXA48-ს).



სურათი 35. *Klebsiella pneumoniae* -ს PCR-ის შედეგი tet A (950bp) გენზე

რაც შეეხება, tet A გენს, კვლევამ აჩვენა რომ (სურათი 35), *Klebsiella pneumoniae*-ს შტამები ნომრებით: 201.203-ETP, 203-IMI, 204, 208, 209 დადებითია აღნიშნულ გენზე („+1“ tet A დადებით კონტროლს აღნიშნავს სურათზე).



სურათი 36. *Klebsiella pneumoniae* -ს PCR-ის შედეგი NDM (7000bp) გენზე („+4“ NDM დადებითი კონტროლი, „3“ - *Klebsiella pneumoniae*-ს და „192, 203-H“ -*Acinetobacter baumannii* -ს შტამები).

განსაკუთრებით უნდა აღნიშნოს, რომ აჭარაში გავრცელებულ *Klebsiella pneumoniae*-სა და *Acinetobacter baumannii*-ში აღმოვაჩინეთ *ნიუ დელის* მეტალო- β -ლაქტამაზები (New Delhi metallo- β -lactamases (NDMs) (სურ 36). აღნიშნულ გენზე დადებითი აღმოჩნდა *Klebsiella pneumoniae*-ს ერთი შტამი და *Acinetobacter baumannii*-ს

ორი შტამი. ეს შტამები ორი სხვადასხვა საავადმყოფოდან აღებული ნიმუშებიდა იყო გამოყოფილი, რაც კიდევ უფრო საყურადღებოს ხდის ამ ფაქტს.

ასევე ჩავატარეთ NDMs გენის სექვენირება, რომელიც ჩატარდა სტაბილურ და ლაბორატორიაში (ლისაბონი) მე-8 ცხრილი გვიჩვენებს გენის სექვენირების შედეგებს.

ცხრილი. 8. NDM გენის სექვენირების შედეგები

NDM F

```
CCCCAGGGTCTGGCAGCACACTTCCTATCTCGACATGCCGGTTTTCGGGGCAGTCGCTTCCAACGGTTTGATCGTCAG
GGATGGCGGCCCGCTGCTGGTGGTCGATAACCGCCTGGACCGATGACCAGACCGCCAGATCCTCAACTGGATCAAGC
AGGAGATCAACCTGCCGGTCGCGCTGGCGGTGGTACTCACGCGCATCAGGACAAGATGGGCGGTATGGACGCGCT
GCATGCGGGCGGGGATTGCGACTTATGCCAATGCGTTGTGCAACCAGCTTGCCCCGAAGAGGGGATGGTTGCGGGCGC
AACACAGCCTGACTTTCGCCCAATGGCTGGGTGCAACCAGCAACCGCGCCAACTTTGGCCCGTCAAGGTATTTT
ACCCCGGCCCGGCCACACAGTGACAATATCACCGTTGGGATCGACGGCACCGACATCGCTTTTGGTGGCTGCCTGA
TCAAGGACAGCAAGGCCAAGTCGCTCGGCAATCTCGGTGATGCCGACACTGAGCACTACGCCGCGTCAGCGCGCGCG
TTTGGTGCGGGCTTCCCCAAGGCCAGCATGATCGTGATGAGCCATTCCGAACAAAAACAACACCAC
```

NDM R

```
GGCCTTGGAAGCGCACAAACGCGCGCGCTGACGCGGCGTAGTGCTCAGTGTGCGGCATCACCGAGATTGCCGAGCGA
CTTGGCCTTGCTGTCCTTGATCAGGCAGCCACCAAAAGCGATGTCGGTGCCGTCGATCCCAACGGTGATATTGTCACT
GGTGTGGCCGGGGCCGGGGTAAAATACCTTGAGCGGGCCAAAGTTGGGCGCGGTTGCTGGTTGACCCAGCCATTG
GCGGCGAAAGTCAGGCTGTGTTGCGCCGAACCATCCCCTTTCGCGGGCAAGCTGGTTCGACAACGCATTGGCATA
AGTCGCAATCCCCGCCGATGCAGCGCGTCCATACCGCCCATTTGCTCTGATGCGCGTGAGTACCACCGCCAGCGC
GACCGGCAGGTTGATCTCCTGCTTGATCCAGTTGAGGATCTGGGCGGTCTGGTCATCGGTCCAGGCGGTATCGACCAC
CAGCACGCGGCCCGCCATCCCCTGACGATCAAACCGTTGGAAGCGACTGCCCCGAAACCCGGCATGTCGAGATAGGAAG
TGTGCTGCCAGACATTCGGTGCAGCTGGCGGAAAACCAGACGGCCCAAACCAAAAGAGAAAGGGGAGGA
```

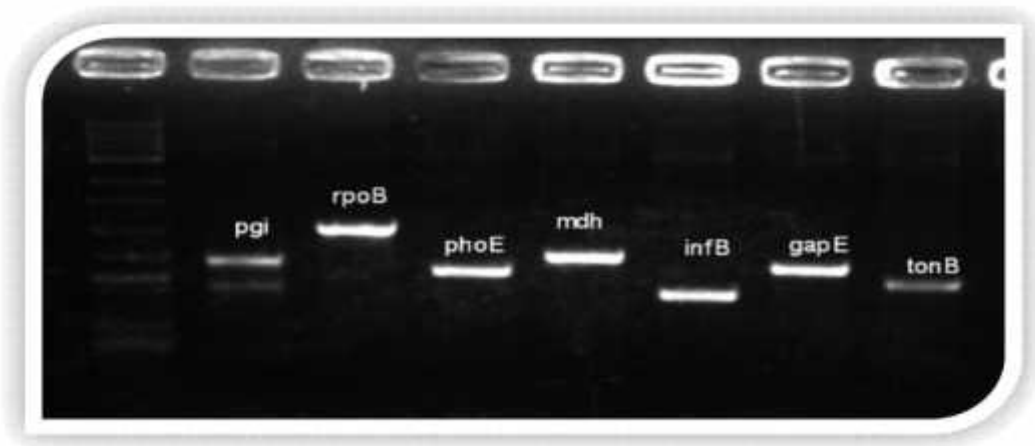
ნიუ დელის მეტალო-β-ლაქტამაზები გავრცელებულია ინდოეთის კონტი-
ნენტზე და შუა აღმოსავლეთში. რამდენიმე შემთხვევა იქნა დაფიქსირებული
(სავარაუდოდ შემოტანილი) ევროპაში. აღნიშნული გენის იდენტიფიკაცია მიუთითებს
შტამის რეზისტენტობაზე თითქმის ყველა თაობის ანტიბიოტიკის მიმართ, რაც
იშვიათია და ჯერჯერობით არ არის ძალიან გავრცელებული მსოფლიოში, მაგრამ
სამწუხაროდ, ის აჭარის რეგიონში სამ შტამში იქნა იდენტიფიცირებული. ეს ფაქტი
მნიშვნელოვან ღირებულებას სძენს ჩვენს კვლევას.

აღმოვაჩინეთ რა შტამებში ნიუ დელის მეტალო β-ლაქტამაზური გენი (New
Delhi metallo-β-lactamases (NDMs)) საინტერესო იყო დაგვედგინა, თუ რომელ ტიპს
მიეკუთვნებოდა ეს მეტალო β-ლაქტამაზა.

ნიუ დელის მეტალო-β-ლაქტამაზების ცხრა სხვადასხვა ტიპი არსებობს, რომელთაგან ყველაზე მეტად გავრცელებულია NDM-1 [Bathoorn...2015], რომელიც პირველად აღმოჩენილი იქნა შვედეთში *Klebsiella pneumoniae* და *E.coli* ნიმუშებში იმ პაციენტში, რომელიც ჰოსპიტალიზებული იყო ინდოეთში [Mazzariol...2012]. მულტირეზისტენტული NDM-5, შტამი-ST648 პირველად იდენტიფიცირებული იყო (*E.coli*) დიდ ბრიტანეთში, შვედი პაციენტიდან, რომელიც თავდაპირველად ჰოსპიტალიზებული იყო ინდოეთში 2011 წელს [http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/21/6/15-0048_article]. 2014 წელს NDM-5 დაფიქსირდა სამხრეთ კორეაში და დანიაში.

სრული გენომის სექვენირების შედეგად დაავადგინეთ, რომ საქართველოში, კერძოდ, აჭარაში გავრცელებულია NDM-5 like-ის მაპროდუცირებელი *Klebsiella pneumoniae* (ცხრ.9).

NDM -ზე დადებითი ამპლიფიკაციის მქონე შტამებზე ჩატარდა PCR-ით მულტი-ლოკუსური სექვენირება, რომელიც დაფუძნებული იყო 7 წყვილი პრაიმერის: *pgi*432bp; *rpoB* 501bp; *phoE*420bp; *mdh*477bp; *infB*318bp; *gapA*450bp; *tonB*414bp ამპლიფიკაციაზე (სურ.37)



სურათი 37. *Klebsiella Pneumoniae*-ს დადებითი ამპლიფიკაცია (შტამი 3, რომელიც დადებითია NDM გენზე) –MLST- 7 წყვილ პრაიმერზე (*pgi*432bp; *rpoB* 501bp; *phoE*420bp; *mdh*477bp; *infB*318bp; *gapA*450bp; *tonB*414bp)

37-ე სურათზე მოცემულია *Klebsiella pneumoniae*-დან გამოყოფილი ის გენები, რომლებიც განაპირობებენ მეტალოკარბაპენემაზა NDM-ის პროდუცირებას ბაქტერიის მიერ, როგორც სურათზე ჩანს, ეს გენები იძლევიან დადებით ამპლიფიკაციას.

აღნიშნული შტამი შემდგომი კვლევისთვის გაიგზავნა ლისაბონში, სტაბვიდას ლაბორატორიაში, იმისათვის, რომ დაგვედინა *Klebsiella Pneumoniae*-ს რომელი სეროტიპი იყო გავრცელებული აჭარაში. სექვენირების შედეგები მოცემულია ცხრილ 9-ში

ცხრილი 9. *Klebsiella pneumoniae* –MLST- 7 წყვილი პრაიმერების

სექვენირების შედეგები

pgi F	GGTTTCCGCGTATAACCGAGCGATTCTGCCGATACGACCAGTACTTGCAGCGCTATT GCCGTTACTTCCGCCAGGGCAACATGGAGTCGAACGGTAAGTATGTTGACCGTAA CGGCCACGCGGTACTACTACCAGACTGGCCCAATCGTCTGGGGTGAGCCGGGCACC AACGGTCAGCACGCGTTCTACCAGCTGATCCACCGGGGCACCAAAATGGTACCGTG CGATTTCAATTGCTCCGGCTATCACCCACAACCCGCTGTCTGACCACCATCAGAACT GCTGTCTAACTTCTCGCCAGACCGAGGCCCTGGCCTTTGGTAAATCCC CGGAAGT GGTTGAGCAGGAATATCGCGATCAGGGTAAAGACCCGGCGACCCTGGAGCACGTG GTGCCGTTCAAAGTGTTCAAGGTAACCGCCCGACTAACTCCATCCTGCTGCGTGA GATCACCCCGTTACGCTCGGGGCGCTGATTGCCCTGTACGAGCACAAAATCTTCAC CCAGGGCGCGATCCTCAACATCTTCACCTTTGACCAGTGGGGCGTTGAGCTGGGCA AACAGCTGGCTAACCGCATCCTGCCGGAGCTGAAAGAGGCAGCGAAGTTAGCAGC CACGACAGCTCTATAACGGCCTGATTACCCGCTATAAAAATTCTTTGGCCA
Pgi R	CTCTGCCTTCTCTCGCTCAGGCAGGATGCCGTTAGCCTGCTGTTT GCCAGCTAAAC GCCCCAATGGTCGAGGTGAAGATGTTGAGGATCGCGCCCTGGGTGAAGATTTTGT GCTCGAACAGGGCAATCATCGCCCCGAGGCTGAACGGGGTGATCTCACGCATTGC GATGGAGTTAGTCGGGCGGTTACGTTCTAACACTTTGAACGGCACCACGTGCTCCA GGGTCGCCGGGTCTTACCCTGATCGCGATATTCCTGCTCAACCACTTCACGATATT TACCAAAGGGCAGGGCCTCGGTATGGGCAAAACAATTACACCGGACTTTCTGATGG TGGT CATA CGCCAGGTTGTGGGTGATATGCGGAACACTGAAATCCCACGGTACCAT TTTGTGGCCTGGTGGATCAGCTGGTAAAACGCGTGCTGACCGTTGGTGCCCGGCT CACCCAGATGATTGGGCCAGTCTGGTAGTCTACCGCGTGGCCGTTACGGTCAACA TACTTACCGTTGACTCCATGTTGCCCTGCTGGAAGTAAGCGGCAAAGCGGTGCAT GTACTGGTCGTACGGCAAATCGCTTCGGTTTCCGCACCGAAGAAGTTGTTGTACC AGATGCCGATAGCCGCCAGCAGAGCAACATGCGG
rpoB F	AAAAGAAGCTTCTCGGACGCAGCCGATAGAGATCAATGGTGCGCCGGCCGAT CTTGAGCCGCCTCCGGCGGCGCAGCCTGTCGTGGAGCCCGTTGTTGAACCCGAACC TGAGCCGGAGCCAGAGGTAGCGCCTGAACCGCCGAAAGAGGCGCCGGTGTTGAT CCATAAACCGGAACCTAAGCCGAAGCCCAAACCTAAACCCAAGCCTAAGCCGGAGA AAAAGGTTGAACAGCCGAAGCGGGAAAGTGAAGCCGGCAGCAGAGCCGCGTCCGG CCTCGCCGTTTGA AAAACAACAATACGGCGCCGGCGCGTACAGCGCCAAGTACCTCG ACCGCAGCGGCTAAACCCACCGTACTGCTCCGAGCGGCCCGCGGGCGATCAGCCG CGTTCAGCCGTCCTATCCGCCGCGGCTCAGGCGCTGCGCATTGAAGGGACGGTAC GGTGAAGTTTGACGTTTCGCTGATGGCCGATTGATAATCTGCAGATCCTCTCCG CCCAGCCGGCAATAAGAACAACCCCCCCCCCCCCCCCCCTTCCCTGTATTATT CACATTA
rpoB R	CGGGAATAATGCGGCCTCCGGCGACGTCAACTTCAACCGTACCGTCCCTTCAATGC GCAGCGCCTGAGCGCGCGGCGGATAGGACGGCTGAACGCGGCTGATCGCCCGCG GGCCGCTCGGAGCAGTAACGGTGGGTTTAGCCGCTGCGGTGAGGACTTGGCGC TGTACGCGCCGGCGCCGATTGTTGTTTTCAAACGGCGAGGCCGGACGCGGCTCTG CTGCCGGCTTCACTTCCCGCTTCGGCTGTTCAACCTTTTTCTCCGGCTTAGGCTTGGG TTTAGGTTTGGGCTTCGGCTTAGGTTCCGGTTTATGGATCACCACCGGCGCCTCTT CGGCGGTTACAGGCGCTACCTCTGGCTCCGGCTCAGGTTCCGGTTCAACAACGGGCT

	CCACGACAGGCTGCGCCGCCGAGGCGGCTCAAGATCGGCCGGCGCCACCATTGT GATCTCTATCGGCTGCGTCGGAGAAGGCTGTTCAATAACCTGATGTACCGAGGTAT AAAGAAACGAAAACAGCACCA
phoE F	TTGGCCCGTTGAGTGAAGACGGTCATCTGGTCGTTAACGGTAAAAAATCCGTGTT ACCGCTGAACGTGACCCGGCTAACCTGAAGTGGGACGAAGTTGGTGTGACGTTGT TGCTGAAGCAACCGGTATCTTCTGACCGACGAAACCGCTCGTAAACACATCACCG CTGGCGCGAAAAAGTCGTTCTGACTGGCCCGTCCAAAGACAACACTCCGATGTTT GTTTCGCGGCGCTAACTTCGACGCTTACGCTGGCCAGGACATCGTTTCCAACGCTTCC TGCACCACTAACTGCCTGGCGCCGCTGGCTAAAGTTATCAACGACAACCTCGGTATC GTTGAAGGCCTGATGACCACCGTCCACGCTACCACCGCTACTCAGAAAACCGTTGA TGGCCCGTCTCACAAGACTGGCGCGGCGGCCGCGGCAGCTCAGAACATCATCC CGTCTCTACCGGCGCTGCTAAAGCAGTAGGTAAAGTACTGCCAGAACTGAACGGC AAACTGACCGGTATGGCGTTCGCGTTCCTCAACTCCGAACGTATCTGTTGTTGACCTG ACCGTTCTGCTGGAAAAAGCAGCGTCTACGAAGAAATCAAGAAAGCCATCAAAGC CGCTTTTCTGAAGAAAGGGCTCCG
phoE R	CTTGTTTTTTCGAAGAAGCTGCTTTTTTCAGACGACGGTCAGGTCAACAACAGATACG TTCGGAGTTGGAACGCGGAACGCCATACCGGTCAAGTTTGGCGTTCAAGTTCTGGCAG TACTTTACCTACTGCTTTAGCAGCGCCGGTAGAGGACGGGATGATGTTCTGAGCTG CGCCGCGGCCGCGCGCCAGTCTTTGTGAGACGGGCCATCAACGGTTTTCTGAGTA GCGGTGGTAGCGTGACGGTGGTCATCAGGCCTTCAACGATAACCGAAGTTGTCGTT GATAACTTTAGCCAGCGGCCAGGCAGTTAGTGGTGCAGGAAGCGTTGGAACG ATGTCCTGGCCAGCGTAAGCGTCAAGTTAGCGCCGGAACGAACATCGGAGTGT GTCTTTGGACGGGCCAGTCAGAACGACTTTTTTCGCGCCAGCGGTGATGTGTTTAC GAGCGGTTTCGTGCGTCAGGAAGATAACCGTTGCTTACGAACAACGTCAACACCA ACTTCGTCCCACCTCAGGTTAGCCGGGTCACGTTACGCGGTAACACGGATTTTTTTA CCGTTAACGACCAGATGACCGTCTTCACTTCAACGGTACCGTCAACGACCGGTGA GTGGATCCATATTTCAAAGTTTGAACGGCCGC
mdh F	GGCGTGACGATCGCTCGGTTACCCGGGCGTGGCGGTAGATCTAAGTCATATCCCC ACAGATGTAAAAATTAAGGATTTTCCGGTGAAGACGCTACTCCGGCGCTGGAAGG CGCGGATGTAGTGCTGATCTCCGCGGGCGTGGCGCGTAAGCCCGGCATGGATCGT TCCGACCTGTTAATGTGAATGCGGGTATCGTGAAGAACCTCGTGCAGCAGATTGC CAAAACCTGCCCGCAGGCCTGCATCGGCATTATACCAACCCGGTGAATACCACCG TGGCTATCGCCGCCAAGTACTGAAAAAAGCCGGCGTGTACGATAAAAAACAACT GTTTCGGCGTTACCACGCTGGACATCATCCGTTCCAATACCTTTGTGGCGGAGCTGAA AGGTAATCGGCAACCGAGGTGGAAGTCCCGGTCATTGGTGGTCACTCCGGGGTC ACCATTCTGCCTTTACTGTCGAGATCCCCGGCGTCAGCTTTAGCGATCAGGAAATT GCCGACCTGACTAAACGTATTGAGAACGCCGGTACTGAAGTCGTGGAAGCGAAAG CGGGCGGGCGGTGCGGACCTTGTGATGGGCCAGGCGGCTGCCCGTTTTGGTCT CTCTCTGGTTGCGCCATGCAGGGGGAAAAAGGCGTGGTGGAGTGCGCCTACGTG GAAGGCGACGGCCACTATGCGCGTTTCTTCCCAGCCGCTGCTGCTGGGGAAAAA CGGGACCCCC
mdh R	GGGCGGGACGCGCATAGTGGCCGTCGCCTTCCACGTAGGCGCACTCCACCACGCCT TTTTCCCCCTGCATGGCGCGAACCAGAGAGAGACCAAAACGGGCAGCCGCTGGCC CATCGACAAGTCCGCCACCCGCCCGCTTTTCGTTCCACGACTTACGTACCGGC GTTCTGAATACGTTTGTAGTCAGGTCGGCAATTTCTGATCGCTAAAGCTGACGCCGG GGATCTGCGACAGTAAAGGCAGAATGGTGACCCCGGAGTGACCACCAATGACCGG GACTTCCACCTCGGTTGCCGATTTACCTTTACGCTCCGCCACAAAGGTATTGGAACG GATGATGTCCAGCGTGGTAACGCCGAACAGTTTGTGTTTTATCGTACACGCCGGCTTT TTTCAGTACTTCGGCGGCGATAGCCACGGTGGTATTACCGGGTTGGTGATAATGC CGATGCAGGCCTGCGGGCAGGTTTTGGCAATCTGCTGCACGAGGTTCTTACGATA CCCGCATTACATTAACAGGTTCGGAACGATCCATGCCGGGCTTACGCGCCACGCC

	CGCGGAGATCAGCACTACATCCGCGCCTTCCAGCGCCGGAGTAGCGTCTTCACCGG AAAATCCTTTAATTTTTACATCTGTGGGGATATGACTTAGATCTACCGCCACGCCCG GTGTAACCGGAGCGATGTCGTACAACGAGAGCTCTGAACTGAGCGGAGGTTGGGG AACGGCG
infB F	GGGGGGGGTTCGCAATCGGTGCTTACCACGTGCAACCGACAACGGCATGATCA CCTTCTGGATAACCCGGGCCACGCCGCGTTTACCTCCATGCGTGCTCGTGGCGCGC AGGCGACGGATATCGTGGTCTGGTGGTGGCGGCAGACGACGGCGTGATGCCGCA GACTATCGAAGCTATCCAGCACGCTAAAGCGGCGCAGGTACCGGTGGTAGTGGCG GTGAACAAGATCGATAAGCCAGAAGCCGATCCGGATCGCGTGAAGAACGAACTGT CCCAGTACGGCATCCTGCCGGAAGAGTGGGGCGGCAGAGCCAGTTCGTCCACGT TTCCGCGAAAGCGGGTACCGGCATCGACGACCTGCTGGACGCGATCCTGCTGCAG GCTGAAGTCTTGAGCTGAAAGCGAAGCGGGGGGGGGGA
infB R	GGGGGGGGACGCGTCAGCAGGTCGTCGATGCCGGTACCCGCTTTCGCGGAAACG TGGACGAACTGGCTCTCGCCGCCCACTTCCGGCAGGATGCCGTAAGTGGGACAG TTCGTTCTTACGCGATCCGGATCGGCTTCTGGCTTATCGATCTTGTTCACCGCCACT ACCACCGGTACCTGCGCCGCTTAGCGTGCTGGATAGCTTCGATAGTCTGCGGCAT CACGCCGTCGTCGCCGCCACCACAGAACCACGATATCCGTCGCTGCGCGCCAC GAGCACGCATGGAGGTAAACGCGGCGTGGCCGGGGTATCCAGGAAGGTGATCAT GCCGTTGTCGTTTCGACGTGGTAAGCACCGATGTGCTGGGTAATACCACCCGCTT CGCCGGAGCAAACCTTAGTAAAGTTGGGGGGAACCG
gapE F	TTGGCCCGTTGAGTGAAGACGGTCATCTGGTCGTTAACGGTAAAAAATCCGTGTT ACCGCTGAACGTGACCCGGCTAACCTGAAGTGGGACGAAGTTGGTGTGACGTTGT TGCTGAAGCAACCGGTATCTTCTGACCGACGAAACCGCTCGTAAACACATCACCG CTGGCGCGAAAAAGTCGTTCTGACTGGCCCGTCCAAAGACAACACTCCGATGTT GTTGCGGCGCTAACTTCGACGCTTACGCTGGCCAGGACATCGTTTCCAACGCTTCC TGCACCACTAACTGCCTGGCGCCGCTGGCTAAAGTTATCAACGACAACCTCGGTATC GTTGAAGGCCTGATGACCACCGTCCACGCTACCACCGCTACTCAGAAAACCGTTGA TGGCCCGTCTACAAAGACTGGCGCGCGGCCGCGCGCAGCTCAGAACATCATCC CGTCTCTACCGGCGCTGCTAAAGCAGTAGGTAAAGTACTGCCAGAACTGAACGGC AAACTGACCGGTATGGCGTTCGCGTTCCTCAACTCCGAACGTATCTGTTGTTGACCTG ACCGTTGCTCTGGAAAAAGCAGCGTCTACGAAGAAATCAAGAAAGCCATCAAAGC CGCTTTTCTGAAGAAAGGGCTCCG
gapE R	CTTGTTTTTTCGAAGAAGCTGCTTTTTTCAGACGACGGTCAGGTCAACAACAGATACG TTCGGAGTTGGAACGCGGAACGCCATACCGGTACGTTTGCCGTTACGTTCTGGCAG TACTTTACCTACTGCTTTAGCAGCGCCGGTAGAGGACGGGATGATGTTCTGAGCTG CGCCGCGGCCGCCGCGCCAGTCTTTGTGAGACGGGCCATCAACGGTTTTCTGAGTA GCGGTGGTAGCGTGGACGCTGGTTCATCAGGCCTTCAACGATAACCGAAGTTGTCGTT GATAACTTTAGCCAGCGGCCAGGCAGTTAGTGGTGCAGGAAGCGTTGGAACG ATGTCCTGGCCAGCGTAAGCGTCGAAGTTAGCGCCGCAACGAACATCGGAGTGT GTCTTTGGACGGGCCAGTCAGAACGACTTTTTTCGCGCCAGCGGTGATGTGTTTAC GAGCGGTTTCGTCGGTCAGGAAGATACCGGTTGCTTACGCAACAACGTCAACACCA ACTTCGTCCTTACGTTAGCCGGGTCACGTTACGCGGTAACACGATTTTTTTA CCGTTAACGACCAGATGACCGTCTTCACTTCAACGGTACCGTCAACGACCGTGA GTGGATCCATATTTCAAAGTTTGAACGGCCG
tonB F	AAAAGAAGCTTCTCGGACGCAGCCGATAGAGATACAATGGTGGCGCCGGCCGAT CTTGAGCCGCTCCGGCGGCGCAGCCTGTCGTGGAGCCCGTTGTTGAACCCGAACC TGAGCCGGAGCCAGAGGTAGCGCCTGAACCGCCGAAAGAGGCGCCGGTGGTGAT CCATAAACCGAACCTAAGCCGAAGCCCAAACCTAAACCCAAAGCCTAAGCCGGAGA AAAAGGTTGAACAGCCGAAGCGGGAAGTGAAGCCGGCAGCAGAGCCGCGTCCGG CCTCGCCGTTTAAAACAACAATACGGCGCCGGCGCGTACAGCGCCAAGTACCTCG ACCGCAGCGGCTAAACCCACCGTACTGCTCCGAGCGGCCCGCGGGCGATCAGCCG

	CGTTCAGCCGTCCTATCCGCCGCGCGCTCAGGCGCTGCGCATTGAAGGGACGGTAC GGGTGAAGTTTGACGTTTCGCTGATGGCCGATTGATAATCTGCAGATCCTCTCCG CCCAGCCGCGAATAAGAACAACCCCCCCCCCCCCCCCCCTTCCCTGTATTATT CACATTA
tonB R	CGGGAATAATGCGGCCTCCGGCGACGTCAACTCACCCGTACCGTCCCTTCAATGC GCAGCGCCTGAGCGCGCGGCGGATAGGACGGCTGAACGCGGCTGATCGCCCGCG GGCCGCTCGGAGCAGTAACGGTGGGTTAGCCGCTGCGGTGCGAGGTACTTGGCGC TGTACGCGCCGGCGCCGTATTGTTGTTTTCAAACGGCGAGGCCGGACGCGGCTCTG CTGCCGCTTCACTTCCCGCTTCGGCTGTTCAACCTTTTTCTCCGGCTTAGGCTTGGG TTTAGGTTTGGGCTTCGGCTTAGGTTCCGGTTTATGGATCACCACGGCGCCTCTTT CGGCGGTTGAGGCGCTACCTCTGGCTCCGGCTCAGGTTGCGGTTCAACAACGGGCT CCACGACAGGCTGCGCCGCGGAGGCGGCTCAAGATCGGCCGGCGCCACCATTGT GATCTCTATCGGCTGCGTCGGAGAAGGCTGTTCAATAACCTGATGTACCGAGGTAT AAAGAAACGAAAACAGCACCA

სექვენირების შედეგად დადგინდა, რომ აჭარაში გავრცელებულია *Klebsiella pneumoniae*-ს **ST395-შტამი**. აღნიშნული სექვენირების ტიპი- **ST-395 შტამი** გვხვდება მაროკოში, საფრანგეთში, ნიდერლანდებში (*Nordmann ...2011*), აღსანიშნავია ისიც, რომ მეზობელ ქვეყანაში თურქეთში გვხვდება *Klebsiella pneumoniae*-ს განსხვავებული ST14 შტამი.

ამრიგად, აჭარაში გავრცელებულია *Klebsiella pneumoniae*-ს ნიუ დელის მეტალო-β-ლაქტამაზა NDM-5-ის მაპროდუცირებელი **შტამი-ST395**. აღნიშნული ბაქტერიების გავრცელების მნიშვნელოვანი მიზეზია მოგზაურობა, სამედიცინო ტურიზმი, (*Cantón...2012*). ხშირად, ამ გენის ენდემური კერიდან შემომტანები, სწორედ, ტურისტებია. რადგან ბოლო პერიოდში აჭარის რეგიონში იმატა ტურისტების ნაკადმა, განსაკუთრებით, სავსებით შესაძლებელია, აღნიშნული შტამი შემოტანილი იყოს სხვა ქვეყნიდან. თუმცა უნდა აღინიშნოს რომ, მიგრაციისა და ემიგრაციის ნაკადი აჭარაში ყველაზე მეტად გამოხატულია მეზობელი თურქეთთან, მაგრამ თურქეთში გავრცელებულია *Klebsiella pneumoniae*-ს განსხვავებული შტამი - ST14.

თუ შტამი ენდემურია, მაშინ აუცილებლად უნდა იქნეს მიღებული რაღაც ზომები, რომ იგი ტურისტების მიერ არ იქნეს გატანილი სხვა ქვეყნებში. ეს საკითხი საჭიროებს დამატებით კვლევას.

ანალოგიურად, *Acinetobacter baumannii*-ის მოლეკულური იდენტიფიკაციისთვის გამოყენებული იქნა სხვადასხვა სახის პრაიმერი, რომლებიც შერჩეული იქნა ანტიბიოტიკომგრძობელობის ტესტის განსაზღვრის შემდეგ (ცხრილი 10):

ცხრილი 10. *Acinetobacter baumannii* -ის მოლეკულური იდენტიფიკაციისთვის გამოყენებული პრაიმერები

გენი	სექვენსი (5'- 3')		
<i>bla_{TEM}</i>	5'-CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC-3'	<i>bla_{VIM}</i>	5'-GATGGTGTGGTTCGCATA- 3'
	5'-CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC-3'		5'-CGAATGCGCAGCACCAG- 3'
<i>bla_{SHV}</i>	5'-AGCCGCTTGAGCAAATTA AAC-3'	<i>bla_{OXA-48}</i>	5'-GCGTGGTTAAGGATGAACAC- 3'
	5'- ATCCCGCAGATAAAATCACCAC-3'		5'-CATCAAGTTCAACCCAACCG- 3'
<i>bla_{OXA}</i>	5'-GGCACCAGATTCAACTTTCAAG-3'	<i>bla_{NDM}</i>	5'-GGTTTGGCGATCTGGTTTTG-3'
	5'-GACCCCAAGTTTCTGTAAAGTG-3'		5'-CGGAATGGCTCATCACGATC-3'
<i>bla_{CTX-M-GRU01}</i>	5'- AAAAATCACTGCGCCAGTTC-3'	<i>bla_{KPC}</i>	5'-CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG- 3'
	5'- AGCTTATTCATCGCCACGTT-3'		5'-CTTGTCATCCTGTTAGGCG- 3'
<i>bla_{CTX-M-GRU02}</i>	5'- CGACGCTACCCCTGCTATT-3'	<i>Amp^C</i>	5'-CCC CGC TTA TAG AGC AAC AA- 3'
	5'- CCAGCGTCAGATTTTTCAGG-3'		5'-TCA ATG GTC GAC TTC ACA CC- 3'
<i>bla_{CTX-M-GRU08}</i>	5'- TCGCGTTAAGCGGATGATGC-3'		<i>bla_{OXA-23}</i>
	5'- AACCCACGATGTGGGTAGC-3'	5'- TTAATAATATTCAGCTGTTT-3'	
<i>bla_{CTX-M-GRU09}</i>	5'- CAAAGAGAGTGCAACGGATG - 3'	<i>bla_{OXA-40}</i>	5'- ATGAAAAAATTTATACTTCC-3'
	5'- ATTGGAAAGCGTTCATCACC-3'		5'- GGTCTACAKCCMWTCCCA-3'
<i>bla_{CTX-M-GRU025}</i>	5'- GCACGATGACATTCGGG-3'	<i>bla_{OXA-51}</i>	5'- ACAGAARTATTTAAGTGGG-3'
	5'- AACCCACGATGTGGGTAGC-3'		5'- GGTCTACAKCCMWTCCCA-3'
<i>bla_{IMP}</i>	5'-GGT TTA AYA AAA CAA CCA CC- 3'	<i>bla_{OXA-58}</i>	5'- ATGAAATTATTA AAAATATTGAGTTTA G-3'
	5'- GGA ATA GAG TGG CTT AAY TC-3'		5'- TTATAAATAATGAAAAACACCCAAC- 3'

Acinetobacter baumannii-ს მოლეკულური იდენტიფიკაციის კვლევამ გვიჩვენა, რომ თითოეული შტამი შეიცავს რეზისტენტობის განმსაზღვრელ გენებს, კერძოდ: NDM, oxa51,oxa40, TEM,SHV, ampC და CTXm-G1,2-ს (ცხრილი 11):

ცხრილი. 11. *Acinetobacter Baumannii*-ის მოლეკულური იდენტიფიკაციის შედეგები

შტამები	კარბაპენემ რეზისტენტობის გენები	oxa51	oxa40	PCR-TEM, OXA e SHV	ampC	PCR - CTX-M GRUPOS
110	OXA48	oxa51		TEM,SHV	ampC	CTXmG1,G2
10		oxa51	oxa40	TEM	ampC	CTXmG2
55		oxa51	oxa40	TEM		CTXmG2
192	NDM, OXA48	oxa51	oxa40		ampC	CTXmG1,G2
5		oxa51	oxa40		ampC	CTXmG2
119						
191						
193						
96		oxa51	oxa40	TEM	ampC	CTXmG1,G2
189		oxa51		TEM,SHV	ampC	
11		oxa51	oxa40			CTXmG1
207		oxa51	oxa40		ampC	CTXm G2
215		oxa51	oxa40		ampC	CTXm G2
216		oxa51	oxa40		ampC	CTXmG1,G2
203-H	NDM	oxa51	oxa40		ampC	CTXmG2

როგორც მე-11 ცხრილიდან ჩანს, *Acinetobacter baumannii*-ის თითოეული შტამი შეიცავს რეზისტენტობის განმსაზღვრელ რამდენიმე გენს. მაგალითისთვის განვიხილოთ შტამი „192“ (ცხრილში მუქადაა მონიშნული). როგორც ცხრილიდან ჩანს, აღნიშნული შტამი შეიცავს რეზისტენტობის მაკოდირებელ სხვადასხვა გენს ერთდროულად. კერძოდ, კარბაპენემების ჯგუფის ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის განმსაზღვრელ გენებს - NDM, OXA48, OXA51 და OXA40-ს,

ციპროფლოქსაცინის ჯგუფის რეზისტენტობის განმსაზღვრელ გენებს - CTXm G1 და CTXm G15-ს და ampC-ს. როგორც ცხრილიდან ჩანს, თითოეული შტამი შეიცავს რეზისტენტობის განმსაზღვრებელ სხვადასხვა გენს, კერძოდ: NDM, oxa51,oxa40, TEM,SHV, ampC და CTXm-G1,2-ს.

მე-12 ცხრილში მოცემულია კარბაპენემ-ჯგუფის ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის განმსაზღვრელი გენები, რომლებიც *Acinetobacter baumannii*-ში არ იქნა იდენტიფიცირებული ჩვენს მიერ -VIM, IMP, KPC, oxa23, oxa58. თუმცა მაგალითად, KPC-2, KPC-3, KPC-4, და KPC-10 იდენტიფიცირებულია პუერტო რიკოში, ხოლო IMP გენი იდენტიფიცირებულია საბერძნეთსა და იტალიაში; OXA23, OXA58 კი იდენტიფიცირებული იქნა ხმელთაშუა ზღვის ქვეყნებში (ალჟირი, ხორვატია, ეგვიპტე, საფრანგეთი, საბერძნეთი, იტალია, ისრაელი, ესპანეთი და თურქეთი) *Acinetobacter baumannii*-ის ნიმუშებში [Djahmi 2014].

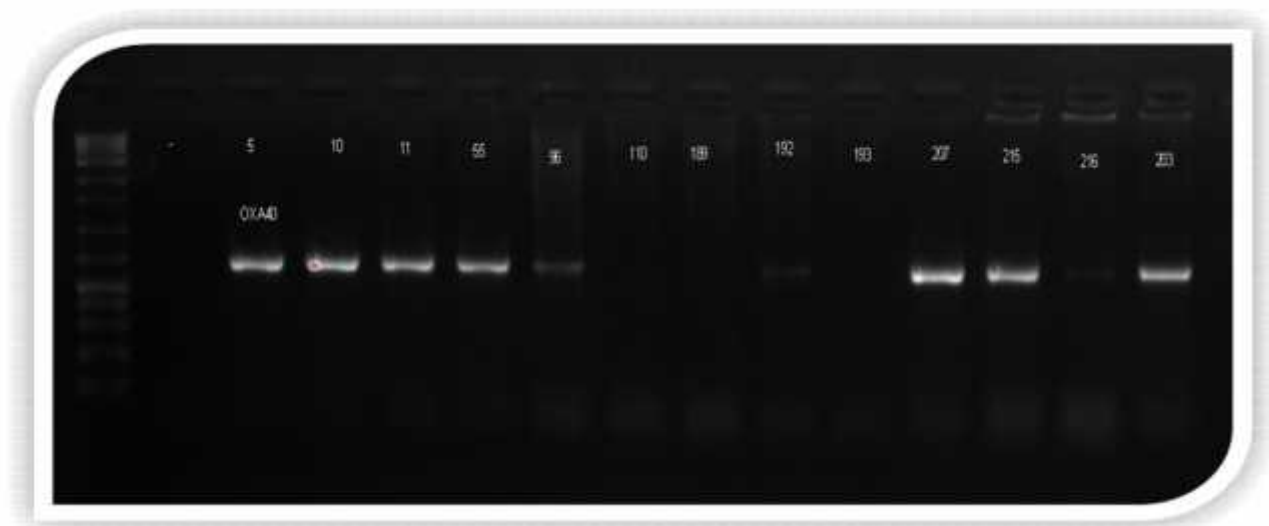
ცხრილი. 12. პრაიმერები, რომლებზეც ყველა Acinetobacter baumannii-ის შტამმა აჩვენა უარყოფითი შედეგი

<u>Acinetobacter baumanie</u>
VIM
IMP
KPC
oxa23
oxa58



სურათი 38. *Acinetobacter baumannii* -ს PCR-ის შედეგი OXA51 (353bp) გენზე

როგორც 38-ე სურათიდან ჩანს, *Acinetobacter baumannii*-ის შტამებმა - ნომრები:10,11,55,96,110,189,192,207,215,216,203 - აჩვენეს დადებითი ამპლიფიკაცია OXA-51 გენზე. 193-ე შტამმა კი უარყოფითი შედეგი აჩვენა, რაც ნიშნავს იმას, რომ აღნიშნული შტამი არ არის *A. baumannii*, რადგან აღნიშნულ გენს *Acinetobacter baumannii* შეიცავს ბუნებრივად და შესაბამისად, ის ერთგვარი ინდიკატორია *A. baumannii*-ის იდენტიფიკაციისთვის [Puyuan...2015] („-“ უარყოფითი კონტროლი, „+“- OXA-51 დადებითი კონტროლი).



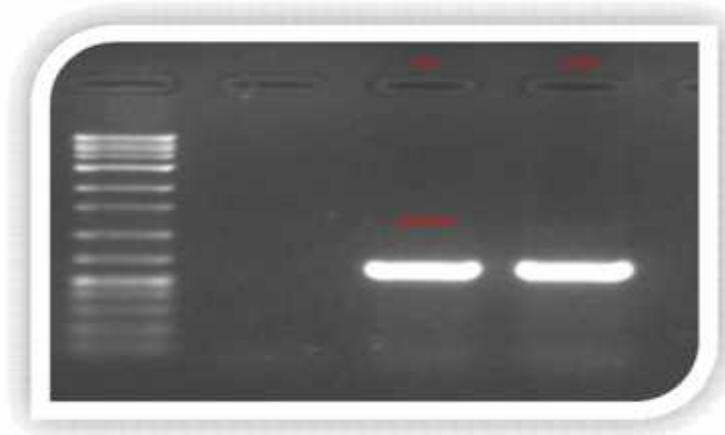
სურათი 39 *Acinetobacter baumannii* -ს PCR-ის შედეგი OXA-40(1000bp) გენზე

როგორც 39-ე სურათიდან ჩანს, *Acinetobacter baumannii*-ის შტამებმა - ნომერი 10,11,55,96, 192,207,215, 203 - გვიჩვენა დადებითი ამპლიფიკაცია OXA-40 გენზე („-“ უარყოფითი კონტროლი, „+5“- OXA-40 დადებითი კონტროლი).



სურათი 40. *Acinetobacter baumannii* -ს PCR-ის შედეგები CTX-M-G1, CTX-M-G2, CTX-M-G9 CTX-M-G9 გენზე.

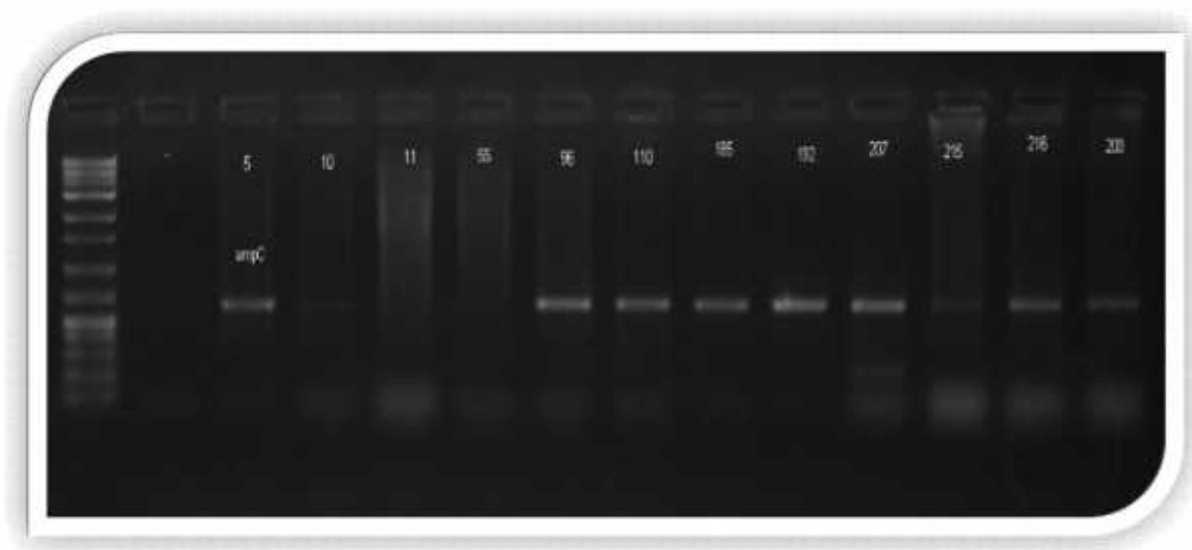
40-ე სურათიდან ჩანს, რომ *Acinetobacter baumannii*-ის შტამებმა - ნომერი 5, 10, 55, 192, 207, 215, 216, 203 - გვიჩვენა დადებითი ამპლიფიკაცია CTX-M-G2 მიმართ, ხოლო 96, 110, 192, 216 შტამებმა - CTX-M-G1-თან („-“, უარყოფითი კონტროლი, „+1“ CTX-M-G1, „+26“ CTX-M-G2, „+27“ CTX-M-G9, „+28“ CTX-M-G2, დადებითი კონტროლი).



სურათი 41. *Acinetobacter baumannii*-ს PCR-ის შედეგი NDM (700bp) გენზე

41-ე სურათიდან ჩანს, რომ *Acinetobacter baumannii*-ის შტამმა - ნომერი 192 - გვიჩვენა დადებითი ამპლიფიკაცია NDM გენზე („-“ უარყოფითი კონტროლი, „+4“ NDM

დადებითი კონტროლი).



სურათი 42. *Acinetobacter baumannii* -ს PCR-ის შედეგი *ampC* (634bp) გენზე.

როგორც სურათი 42-დან ჩანს, *Acinetobacter baumannii*-ს შტამებმა გვიჩვენეს დადებითი ამპლიფიკაცია - ნომერი 96,110,189,192,207,215,216, 203 - ampC გენზე („-“ უარყოფითი კონტროლი, „+5“ - ampC დადებითი კონტროლი).

Pseudomonas aeruginosa მოლეკულური იდენტიფიკაციისთვის გამოყენებული იქნა სხვადასხვა სახის პრაიმერები, რომლებიც შერჩეული იქნა ასევე ანტიბიოტიკომგრძობელობის ტესტის განსაზღვრის შემდეგ, ეს პრაიმერები ნაჩვენებია მეცამეტე ცხრილში.

ცხრილი 13. *Pseudomonas aeruginosa*-ს მოლეკულური იდენტიფიკაციისთვის გამოყენებული პრაიმერები

გენი	სეკვენსი (5'- 3')		5' -CATCAAGTTCAACCCAACCG- 3'
<i>bla</i>_{TEM}	5'-CATTTCCGTGTGCGCCCTTATTC-3'	<i>bla</i>_{NDM}	5'-GGTTTGGCGATCTGGTTTTG-3'
	5'-CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC-3'		5'-CGGAATGGCTCATCACGATC-3'
<i>bla</i>_{SHV}	5'-AGCCGCTTGAGCAAATTA AAC-3'	<i>bla</i>_{KPC}	5' -CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG- 3'
	5'- ATCCCGCAGATAAAATCACCAC-3'		5' -CTTGTTCATCCTTGTAGGCG- 3'
<i>bla</i>_{OXA}	5'-GGCACCAGATTCAACTTTCAAG-3'	<i>bla</i>_{SIM}	5'-TAATGGCCTGTTCCCATGTG-3'
	5'-GACCCCAAGTTTCTGTAAAGTG-3'		5'- TACAAGGGATTTCGGCATCG-3'
<i>bla</i>_{CTX-M-GRUPO1}	5'- AAAAATCACTGCGCCAGTTC-3'	<i>bla</i>_{GIM}	5'-TCGACACACCTTGGTCTGAA-3'
	5'- AGCTTATTCATCGCCACGTT-3'		5'- AACTTCCAACCTTGGCCATGC-3'
<i>bla</i>_{CTX-M-GRUPO2}	5'- CGACGCTACCCCTGCTATT-3'	<i>bla</i>_{BIC}	5'- TATGCAGCTCCTTTAAGGGC-3'
	5'- CCAGCGTCAGATTTTTCAGG-3'		5'- TCATTGGCGGTGCCGTACAC-3'
<i>bla</i>_{CTX-M-GRUPO8}	5'- TCGCGTTAAGCGGATGATGC-3'	<i>bla</i>_{SPM}	5'- ACATTATCCGCTGGAACAGG-3'
	5'- AACCACGATGTGGGTAGC-3'		5'- AAAATCTGGGTACGCAAACG - 3'
<i>bla</i>_{CTX-M-GRUPO9}	5'- CAAAGAGAGTGCAACGGATG - 3'	<i>bla</i>_{AIM}	5'- GTTCGGCCACCTCGAATTG-3'
	5'- ATTGGAAGCGTTCATCACC-3'		5'- CTGAAGGTGTACGAAACAC-3'
<i>bla</i>_{CTX-M-GRUPO25}	5'- GCACGATGACATTCGGG-3'	<i>bla</i>_{DIM}	5'- GCTTGTCTTCGCTTGCTAACG-3
	5'- AACCACGATGTGGGTAGC-3'		5'- CGTTCGGCTGGATTGATTTG-3'
<i>bla</i>_{IMP}	5'-GGT TTA AYA AAA CAA CCA CC- 3'	<i>bla</i>_{GES}	5' -CTG GCA GGG ATC GCT CAC TC- 3'
	5'- GGA ATA GAG TGG CTT AAY TC-3'		5' -TTC CGA TCA GCC ACC TCT CA- 3'
<i>bla</i>_{VIM}	5'-GATGGTGTGTTGGTCGCATA- 3'	<i>tetA</i>	5'- GTAATTCTGAGCACTGTCCG-3'
	5'-CGAATGCGCAGCACCAG- 3'		5'- CTGCCTGGACAACATTGCTT-3'
<i>bla</i>_{OXA-48}	5' -GCGTGTTAAGGATGAACAC- 3'	<i>tetB</i>	5'- CTCAGTATTCCAAGCCTTTG-3'
			5'- ACTCCCCTGAGCTTGAGGGG-3'

<i>tetC</i>	5'- GGTTGAAGGCTCTCAAGGGC-3'
	5'- CCTCTTGC GGGATATCGTCC-3'
<i>tetD</i>	5'- CATCCATCCGGAAGTGATAGC-3'
	5'- GGATATCTCACC GCATCTGC-3'
<i>tetE</i>	5'- TGATGATGGCACTGGTCA-3'
	5'- GCTGGCTGTTGCCATTA-3'
<i>tetG</i>	5'- GCAGCGAAAGCGTATTTGCG-3'
	5'- TCCGAAAGCTGTCCAAGCAT-3'
<i>aac(6')-Ib-cr</i>	5'-TTG CGA TGC TCT ATG AGT GG-3
	5'-GCG TGT TCG CTC GAA TGC C-3
<i>aac(3)-IV</i>	5'- GTGTGCTGCTGGTCCACAGC-3'
	5'- AGTTGACCCAGGGCTGTCGC-3'
<i>aac(3)-II</i>	5'- GTCGAACAGGTAGCACTGAG-3'
	5'- TGA AAC GCT GAC GGA GCC TC- 3'
<i>qnrA</i>	5'- GGATGCCAGTTTTCGAGGA-3'
	5'- TGCCAGGCACAGATCTTG-3'
<i>qnrB (1-6)</i>	5'- GGMATHGAAATTCGCCACTG-3'
	5'- TTTGCYGYCYGCCAGTCGAA-3'
<i>qnrC</i>	5'- GGGTTGTACATTTATTGAATC-3'
	5'- TCCACTTTACGAGTTCT-3'
<i>qnrD</i>	5'- CGAGATCAATTTACGGGGAATA-3
	5'- AACAAAGCTGAAGCGCCTG-3'
<i>qnrS (1-2)</i>	5'- GATCTAAACCGTCGAGTTCGG-3'
	5'- TCGACGTGCTAACTTGGC-3'
<i>sulI</i>	5'- TGAGATCAGACGTATTGCCG-3'
	5'- TTGAAGGTTTCGACAGCACGT-3'

<i>sul 2</i>	5'- GCGCTCAAGGCAGATGGCATT-3'
	5'-GCGTTTGATACCGGCACCCGT-3'
<i>sul 3</i>	5'- CATCTGCAGCTAACCTAGGGCTTTGGA- 3'
	5'- GAGCAAGATTTTTGGAATCG-3'
<i>aph(3')-I 1</i>	5'- GCCGATGTGGATTGCCAAAA-3'
<i>aph(3')-I 2</i>	5'- GCTTGATCCCCAGTAAGTCA-3'
<i>aph(3')-II 1</i>	5'- GCTATTCGGCTATGACTGGGC-3'
<i>aph(3')-II 2</i>	5'- CCACCATGATATTCGGCAAGC-3'
<i>aph(3')-III 1</i>	5'-AAC GTC TTG CTC GAG GCC GCG-3'
<i>aph(3')-III 2</i>	5'-GGC AAG ATC CTG GTA TCG GTC-3'

ცხრილი 14. *Pseudomonas aeruginosa* -ის მოლეკულური იდენტიფიკაციის შედეგები

ნიმუშები	PCR-TEM, OXA e SHV	PCR - CTX-M GRUPOS	PCR-CARB.	PCR- AMINOG.
206		CTXmG2	OXA48	DIM
205		CTXmG2		BIC
104	TEM	CTXmG1/CTXm15	OXA48	AIIM
123		CTXmG1/CTXmG9	OXA48	AIM,DIM
202		CTXmG1	OXA48	DIM
98		CTXmG1	OXA48	DIM
45	TEM,SHV		OXA48	
122		CTXmG1/CTXmG9	OXA48	AIM,SIM,DIM
74	TEM	CTXmG1/CTXm15	OXA48	SIM,GIM,AIM,DOM
97		CTXmG1		DIM

როგორც მე-14 ცხრილიდან ჩანს, რომ *Pseudomonas aeruginosa*-ის თითოეული შტამი შეიცავს რეზისტენტობის განმსაზღვრელ რამდენიმე გენს. მაგალითისთვის განვიხილოთ შტამი „74“ (ცხრილში მუქადაა მონიშნული). როგორც ცხრილიდან ჩანს, აღნიშნული შტამი შეიცავს რეზისტენტობის განმსაზღვრელ სხვადასხვა გენს ერთდროულად, კერძოდ: ბეტა-ლაქტამური ჯგუფის ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის გენს-TEM, კარბაპენემის ჯგუფის ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის განმსაზღვრელ გენს - OXA48, ციპროფლოქსაცინის ჯგუფის რეზისტენტობის განმსაზღვრელ გენებს - CTXm G1 და CTXm G15-ს, ამინოგლიკოზიდური ანტიბიოტიკების რეზისტენტობის განმსაზღვრელ გენებს - SIM, GIM, AIM, DOM. დანარჩენი ნიმუშებიც შეიცავენ რეზისტენტობის განმსაზღვრელ სხვადასხვა გენს, კერძოდ: TEM,SHV,OXA,CTXm-G1,2, 9,15, OXA48, DIM,BIC,AIM, SIM და GIM-ს.

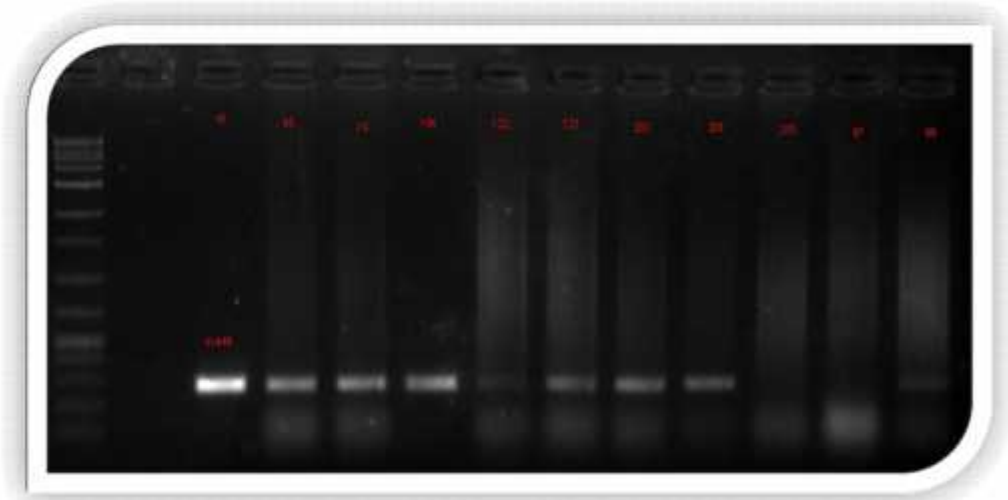
მე-15 ცხრილში მოცემულია ბეტა ლაქტამური, კარბაპენემის, ამინოგლიკოზიდების ანტიბიოტიკების ჯგუფის რეზისტენტობის განმსაზღვრელი გენები, რომლებიც *Pseudomona aeruginosa*-ში არ იქნა იდენტიფიცირებული.

მე-15 ცხრილში მოცემულია რეზისტენტობის განსაზღვრელი ის გენები, რომლებიც *Pseudomonas aeruginosa*-ში არ იქნა იდენტიფიცირებული ჩვენს მიერ, მაგრამ სამხრეთ ჩინეთში ჩატარებული კვლევებიდან იკვეთება, რომ qnrA იდენტიფიცირებული იქნა მხოლოდ ერთ შტამში, ხოლო qnr C-ს იდენტიფიცირება ვერ მოხერხდა [Yang...2015], როგორც ჩვენს შემთხვევაში.

ცხრილი. 15. რეზისტენტობის განმსაზღვრელი სხვადასხვა გენი, რომლებიც არ იდენტიფიცირდა *Pseudomonas aeruginosa*-ს ყველა შტამში

Pseudomonas aeruginosa

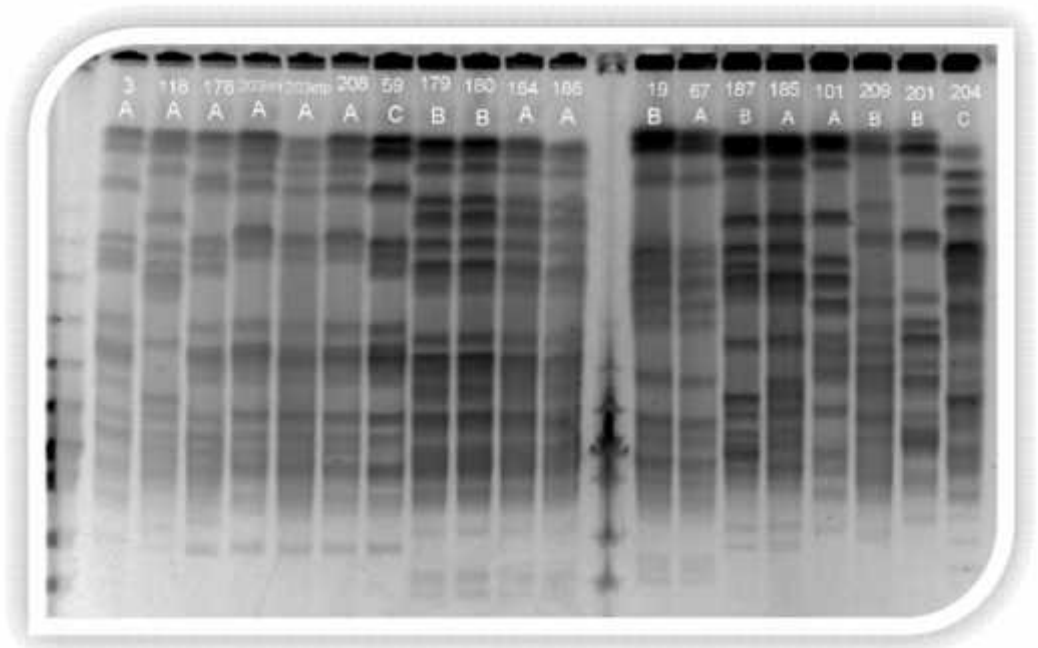
TETG
TETC
TETE
QNRC
QNRA
SUL3
AAC3-IV
aph(3')-I
aph(3')-II
ctx-m G2
ctx-m G9
ctx-m G25



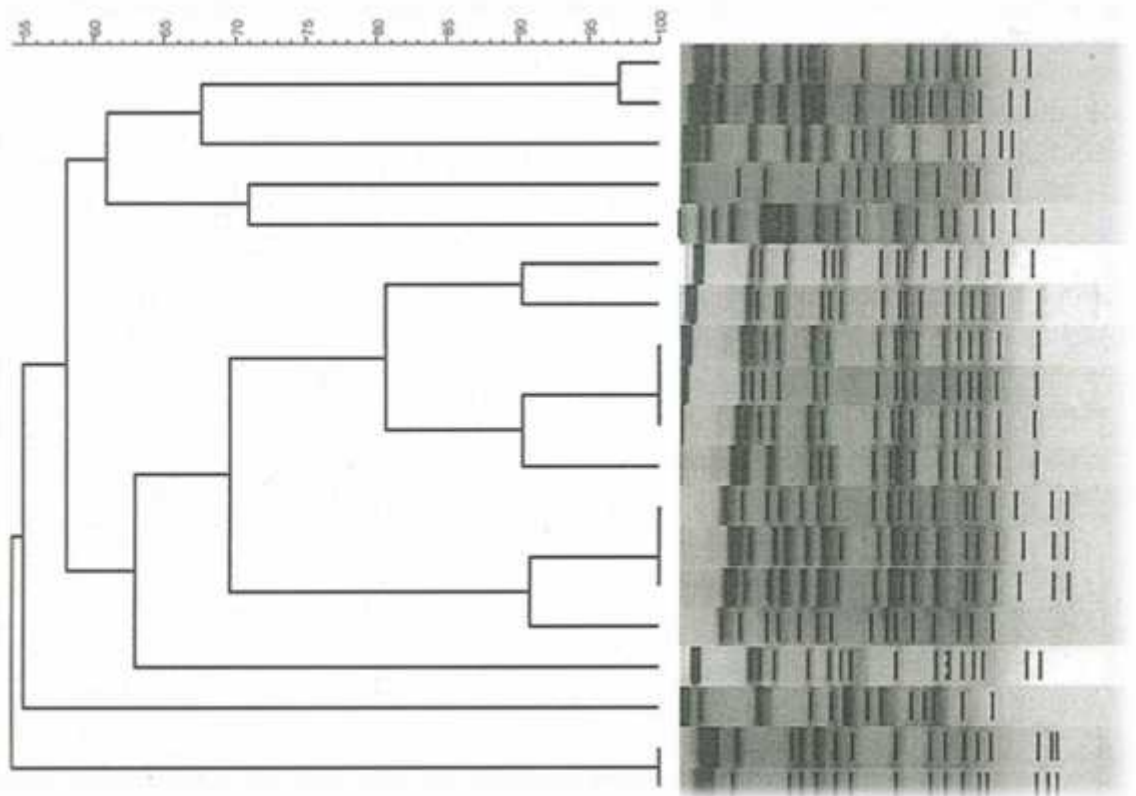
სურათი 43. *Pseudomonas aeruginosa* -ს PCR-ის შედეგი OXA-48 (200bp) გენზე

43-ე სურათიდან ჩანს, რომ შტამებმა - ნომერები: 45,74,104,122,123,202,206,98 - გვიჩვენეს დადებითი ამპლიფიკაცია OXA-48 გენზე („-“ უარყოფითი კონტროლი,“ +6“ OXA-48 დადებითი კონტროლი).

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ფენოტიპური მსგავსებიდან გამომდინარე და შემდგომ მსგავს ფენოტიპურ ნიმუშებში მოლეკულური იდენტიფიკაციის შედეგების გათვალისწინებით, გენოტიპების სრულყოფილი ინდენტიფიცირების მიზნით, საჭირო იყო გენომის ზომის დადგენა (PFGE) აღნიშნულ შტამებში. 44-ე და 45-ე სურათებზე ნაჩვენებია გელში დნმ-ის მოლეკულების ზომების მიხედვით გადანაწილება.



სურათი 44. PFGE-პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზი (A,B,C -აჭარის სხვადასხვა საავადმყოფო; 3, 118, 178, 203, 208, 59, 179, 180, 184, 186, 19, 67, 187, 185, 101, 209, 201, 204 - Klebsiella Pneumoniae-ს საკვლევი შტამები).



სურათი 45. PFGE-პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის (A,B,C -აჭარის სხვადასხვა საავადმყოფო; 3, 118, 178, 203, 208, 59, 179, 180, 184, 186, 19, 67, 187, 185, 101, 209, 201, 204 - Klebsiella Pneumoniae-ს საკვლევი შტამები) შედეგების საფუძველზე შედგენილი დენდოგრამა

როგორც 44 და 45-ე სურათიდან ჩანს, ჩვენ მივიღეთ დნმ-ის რესტრიქციული ფრაგმენტების მსგავსი გადანაწილება *K. pneumoniae*-ს სხვადასხვა შტამის დნმ-ში. კერძოდ, № 3, 178, 203, 208 შტამები ამჟღავნებენ მსგავსებას დნმ-ის რესტრიქციული ფრაგმენტების გადანაწილების (პროფილების) მიხედვით, და ამდენად ისინი შესაძლოა მივაკუთვნოთ ერთსა და იმავე გენეტიკურ ქვეტიპს (სახეობის შიგნით) მიუხედავად იმისა, რომ ეს შტამები აღებულია სხვადასხვა ჰოსპიტლიდან. ეს ფაქტი მიუთითებს *K. pneumoniae*-ს აღნიშნული შტამის შესაძლო გავრცელებაზე ერთი საავადმყოფოდან მეორეში. ასევე, აღნიშნა მსგავსება დნმ-ს რესტრიქციულ პროფილებს შორის სხვადასხვა ჰოსპიტლიდან გამოყოფილი *K. pneumoniae*-ს შემდეგი შტამების შემთხვევაში: ა) № 179, 180, 184 და 186 ბ) № 19 და 67; გ) № 187, 185 და 101. ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის განმსაზღვრელი ერთი და იგივე გენების შემცველი *K. pneumoniae*-ს იდენტური ან ახლოს მდგომი გენეტიკური სუბტიპების გამოვლენა განსხვავებულ კლინიკებში კიდევ ერთხელ ადასტურებს რეზისტენტობის განმსაზღვრელი გენების სწრაფ გავრცელებას რეგიონში.

დასკვნები

1. პირველად განისაზღვრა აჭარის რეგიონში ნოზოკომიური ინფექციის გამომწვევთა ზუსტი სპექტრი და აღმოჩნდა, რომ ყველაზე მეტი რაოდენობით წარმოდგენილია: *Acinetobacter spp*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* და *Klebsiella oxytoca*;
2. გამოკვლეულ ნიმუშებში ყველაზე მეტი რაოდენობით *Klebsiella pneumoniae* და *Klebsiella oxytoca* ამოითესა შარდიდან (34%), *Pseudomonas aeruginosa* (30%) - ბიოლოგიური სითხიდან, *Acinetobacter spp* (25%)-ნახველიდან, ხოლო *E.coli* (28%)- ბიოლოგიური სითხიდან;
3. გამოკვლეული ნიმუშების 50% სტერილური იყო;
4. გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების ყველა იზოლატი მგრძობიარე აღმოჩნდა შემდეგი ანტიბიოტიკებისადმი: ფოსფომიცინი, დორიპენემი, ტეტრაციკლინი, ტიგერცილინი და კოლისტინი;
5. დადგინდა *Klebsiella pneumoniae*-ს მაღალი რეზისტენტობა შემდეგი ანტიბიოტიკების მიმართ: ამოქსაცილინი, ცეფოტაქსიმი, ცეფეპიმი, აზტრეონამი, ცეტაზიდიმი, პიპერაცილინი, აუგმენტინი, ერტაპენემი, ტეტრაციკლინი, იმიპენემი, მეროპენემი, ქლორანფენიკოლი, პიპერაცილინ ტაზობაქტამი, ციპროფლოქსაცინი, ლევოფლოქსაცინი, ტობრამიცინის, ნეტილმიცინი, ამიკაცინი და გენტამიცინი;
6. დადგინდა *Acinetobacter baumannii*-ის თითქმის ყველა შტამის მაღალი რეზისტენტობა შემდეგი ანტიბიოტიკების მიმართ: ცეფეპიმის, ტიკერაცილინი, ტიკერაცილინ-კლავულანის, ცეფტაზიდიმის, კოლისტინის, ტეტრაციკლინის, იმიპენემის, პიპერაცილინ-ტაზობაქტამის, ციპროფლოქსაცინის, სულფონამიდების, ტობრამიცინის, ამიკაცინისა და გენტამიცინის მიმართ;
7. დადგინდა *Pseudomonas aeruginosa*-ს მაღალი რეზისტენტობა შემდეგი ანტიბიოტიკების მიმართ: პიპერაცილინი, ტიკარცილინი, ტიკარცილინი კლავულანი, ლევოფლოქსაცინი, ციპროფლოქსაცინი, აზტრეონამი, ცეფეპიმი, ცეფტაზიდიმი, პიპერაცილინ ტაზობაქტამი, დორიპენემი, ტობრამიცინი, იმიპენემი, ნეტილმიცინი, ამიკაცინი და გენტამიცინი;
8. პირველად დადგინდა აჭარის რეგიონში გავრცელებული *Klebsiella pneumoniae*-ს კარბაპენემაზების, ამინოგლიკოზიდების, ქინოლონების, სულფონამიდების მიმართ

- რეზისტენტობის განმსაზღვრელი გენები, კერძოდ: NDM, TEM,SHV,OXA, CTXm1,15,8, qnrD, qnrS, qnrB, tetD, tetE, sul-1,2, ant2, aph3-III, aac3-II და aac618-CR;
9. პირველად დადგინდა მაღალი რეზისტენტობის განმსაზღვრელი ნიუ-დელის მეტალობეტალაქტამაზას მაპროდუცირებელი -NDM *Klebsiella pneumoniae*-სა და *Acinetobacter baumannii*-ის შტამების არსებობა აჭარაში;
 10. პირველად მოხდა მრავლობითი ლოკუსების სექვენირება- ტიპირება (MLST) ანალიზით აჭარაში დაფიქსირებული NDM-ის სრული გენომის სექვენირება და დადგინდა, რომ საქართველოში გავრცელებულია NDM-5 like, ST-395 სექვენირების ტიპის შტამები;
 11. პირველად იქნა განსაზღვრული აჭარაში გავრცელებული *Acinetobacter baumannii*-ის რეზისტენტობის განმსაზღვრელი შემდეგი გენები: NDM, oxa51,oxa40, TEM,SHV, ampC და CTXm-G1,2;
 12. პირველად იქნა განსაზღვრული აჭარაში გავრცელებული *Pseudomonas aeruginosa*-ს რეზისტენტობის განმსაზღვრელი შემდეგი გენები: TEM,SHV,OXA,CTXm-G1,2, 9,15, OXA48, DIM,BIC,AIM, SIM და GIM-ს.
 13. პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის (PFGE) მეთოდის გამოყენებით დადგინდა, რომ აჭარის რეგიონის საავადმყოფოებიდან აღებულ ნიმუშებში იდენტიფიცირებული მაღალრეზისტენტული *Klebsiella pneumoniae*-ს იზოლატები მოკუთვნა ერთსა და იმავე გენეტიკურ ქვეტიპებს,რაც ერთი საავადმყოფოდან მეორეში ბაქტერიის გავრცელებაზე მიუთითებს;
 14. ზემოთ აღნიშნული ანტიბიოტიკები, რომელთა მიმართ მაღალი რეზისტენტობა დავაფიქსირეთ, ბეტა-ლაქტამაზური ჯგუფის ანტიბიოტიკებია. მათ მიმართ რეზისტენტობის პრობლემა მსოფლიო მასშტაბის პრობლემაა. სავარაუდოდ, ანტიბიოტიკების მასიურმა და უკონტროლო მოხმარებამ საქართველოში მნიშვნელოვანი როლი ითამაშა ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ჩამოყალიბებაში;
 15. *Acinetobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa* და *Klebsiella pneumonias*-ს ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამების ენდემურობის თუ ტურისტების მიერ შემოტანის საკითხი საჭიროებს დამატებით კვლევას, მაგრამ დაბეჯითებით შეგვიძლია ვთქვათ, რომ აუცილებელია პრევენციული ზომების გატარება, რათა ასეთი მაღალრეზისტენტული შტამები არ გავრცელდეს სხვა რეგიონებშიც.

გამოყენებული ლიტერატურა:

- 1 ფოჩხუა 2015: ფოჩხუა ხ. ქ. თბილისში გამოყოფილი S.aureus-ის ანტიბიოტიკორეზისტენტობა (2008–2012 წლები) თბილისი 2007
- 2 ხუხუნაიშვილი 2015: ხუხუნაიშვილი რ. „მოლეკულური ბიოლოგია“ გამომცემლობა „ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი“, ბათუმი, 2015 წელი.
- 3 Heidi 2010: Heidi Riddervold Mourud CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE „Prevention of Nosocomial Infections“ Prague, April 2010
- 4 Kropinski 2009: Kropinski AM, Mazzocco A, Waddell TE, Lingohr E, Johnson RP. 2009. Methods Mol. Biol. 501:69-76
- 5 Souli ...2010: Souli M, Galani I, Antoniadou A, Papadomichelakis E, Poulakou G et al. An outbreak of infection due to β -lactamase Klebsiella pneumoniae carbapenemase 2-producing K. pneumoniae in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. Clin Infect Dis 2010;50:364–73.
- 6 Marchaim ...2008: Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwaber MJ, Carmeli Y. Isolation of imipenem-resistant Enterobacter species: emergence of KPC-2 carbapenemase, molecular characterization, epidemiology, and outcomes. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52:1413-8
- 7 Queenan ...2007: Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. Clin Microbiol Rev 2007;20:440–58
- 8 Falcone ...2009: Falcone M, Mezzatesta ML, Perilli M, Forcella C, Giordano A et al. Infections with VIM-1 metallo- β -lactamase-producing Enterobacter cloacae and their correlation with clinical outcome. J Clin Microbiol 2009;47: 3514–9.
- 9 Giske ...2011: Giske CG, Gezelius L, Samuelsen Ø, Warner M, Sundsfjord A, Woodford N. A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo- β -lactamases and KPC in Klebsiella pneumoniae with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin. Clin Microbiol Infect. 2011;17:552-6
- 10 van Dijk ...2013: van Dijk K, Voets G, Scharringa J, Voskuil S, Fluit A, Rottier W, Leverstein-Van Hall M, Cohen Stuart J. A disc diffusion assay for detection of class A, B and OXA-48 carbapenemases in

- Enterobacteriaceae using phenyl boronic acid, dipicolinic acid, and temocillin. *Clin Microbiol Infect* 2013. In press
- 11 **Hrabák ...2012:** Hrabák J, Studentová V, Walková R, Zemlicková H, Jakubu V et al. Detection of NDM-1, VIM-1, KPC, OXA-48, and OXA-162 carbapenemases by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2012; 50:2441-3
- 12 **Nordmann ...2012:** Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 2012;18:1503-7.
- 13 **Tijet ...2013:** Tijet N, Boyd D, Patel SN, Mulvey MR, Melano RG. Evaluation of the Carba NP test for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 57:4578-80.
- 14 **Cuzon ...2012:** Cuzon G, Naas T, Bogaerts P, Glupczynski Y, Nordmann P. Evaluation of a DNA microarray for the rapid detection of extended-spectrum β -lactamases (TEM, SHV and CTX-M), plasmid-mediated cephalosporinases (CMY-2-like, DHA, FOX, ACC-1, ACT/MIR and CMY-1-like/MOX) and carbapenemases (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM). *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67:1865-9.
- 15 **Gasik ...2012:** M, Van ML, Pierron D, Braem A, Hofmans D et al. 2012. *Adv. Healthc. Mater.*
- 16 **Miriagou ...2013:** Miriagou V, Tzelepi E, Kotsakis SD, Daikos GL, Bou Casals J, Tzouveleki LS. Combined disc methods for the detection of KPC- and/or VIM-positive *Klebsiella pneumoniae*: improving reliability for the double carbapenemase producers. *Clin Microbiol Infect.* 2013; 19: E412-5
- 17 **Canard... 1994:** Canard Bruno; Sarfati, Simon (13 Oct 1994), Novel derivatives usable for the sequencing of nucleic acids, retrieved 2016-03-09
- 18 **Morozova... 2008:** Morozova, Marra O (Nov 2008). "Applications of next-generation sequencing in functional genomics". *Genomics* 92 (5): 255–64. doi:10.1016/j.ygeno.2008.07.001. PMID 18703132.
- 19 **Feng... 2015:** Feng, Y.-J., Q.-F., Chen, M.-Y., Liang, D. and Zhang, P. (2015). "Parallel tagged amplicon sequencing of relatively long PCR products using the Illumina HiSeq platform and transcriptome assembly". *Molecular Ecology Resources.* doi:10.1111/1755-0998.1242

- 20 Nordmann ...2011: Nordmann P, Poirel L, Carrer A, Toleman MA, Walsh TR. How to detect NDM-1 producers. *J Clin Microbiol* 2011; **49**: 718–721.
- 21 Cantón ...2012: Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:413–31. [DOI PubMed](#)
- 22 Helfand ...2005: Helfand MS, Bonomo RA. Current challenges in antimicrobial chemotherapy: the impact of extended-spectrum beta-lactamases and metallo-beta-lactamases on the treatment of resistant Gram-negative pathogens. *Curr Opin Pharmacol.* 2005;**5**(5):452-8.
- 23 Queenan ...2007: Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;**20**(3):440-58
- 24 Drawz ...2010: Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clin Microbiol Rev.* 2010; **23**(1):160-201.
- 25 Bush ...2011: Bush K, Fisher JF. Epidemiological expansion, structural studies, and clinical challenges of new beta-lactamases from gram-negative bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2011; 65:455-78.
- 26 Cunha 2002: Cunha n.BA. 2002. *Semin. Respir. Infect.* 17:231-9
- 27 Cornaglia ...20011: Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? *Lancet Infect Dis.* 2011; **11**(5):381-93.
- 28 Nordmann ...2012: Nordmann P, Cornaglia G. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: a call for action! *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18(5):411-2
- 29 Pitout...2008: Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis.* 2008;**8**(3):159-66.
- 30 Grundmann ...2010: Grundmann H, Livermore DM, Giske CG, Canton R, Rossolini GM, Campos J, Vatopoulos A, Gniadkowski M, Toth A, Pfeifer Y, Jarlier V, Carmeli Y; CNSE Working Group. Carbapenem-non-susceptible *Enterobacteriaceae* in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill.* 2010 18;15(46). pii: 19711.
- 31 Vaux ...2011: Vaux S, Carbonne A, Thiolet JM, Jarlier V, Coignard B; RAISIN and Expert Laboratories Groups. Emergence of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in France, 2004 to 2011. *Euro Surveill.*

2011; 16(22). pii: 19880.

- 32 **Podschun...1998:** Podschun R, Ullmann U. 1998. Clin. Microbiol. Rev. 11:589-603
- 33 **McBride ...2013:** McBride, S. M., V. A. Fischetti, D. J. Leblanc, R. C. Moellering, Jr., and M. S. Gilmore. 2007. Genetic diversity among *Enterococcus faecalis*. PLoS.One. 2:e582.doi:10.1371/journal.pone.0000582
- 34 **Gilmore ...2007:** Gilmore, M. S., F. Lebreton, and S. W. van. 2013. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era. Curr.Opin.Microbiol. 16:10-16. doi:S1369-5274(13)00009-X[pii];10.1016/j.mib.2013.01.006
- 35 **Sibhghatulla... 2015:** Sibhghatulla Shaikh a, Jamale Fatima b, Shazi Shakil b,*,Syed Mohd. Danish Rizvi a, Mohammad Amjad Kamal c,dAntibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment Saudi Journal of Biological Sciences (2015) 22, 90–101
- 36 **Schaberg 1994:** Schaberg D.R. – Resistant gram – positive organisms // Department of Medicine, University of Tennessee-Memphis. Annals of Emergency Medicine. 24(3):462-4, 1994, Sep
- 37 **Bendiak...2009:** Bendiak GN, Ratjen F. 2009. Semin. Respir. Crit Care Med. 30:587-95
- 38 **Otto 2004:** Micek ST
- 39 **Kusradze...2011:** Otto M (2004) Virulence factors of the coagulase-negative staphylococci. Front Biosci 9: 841–863. doi: 10.2741/1295
- 40 **Karumidze ...2012:** Ia Kusradze, Seydina M. Diene, Marina Goderdzishvili, Jean-Marc Rolain Molecular detection of OXA carbapenemase genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Iraq and Georgia. August 2011 Volume 38, Issue 2, Pages 164–168
- Natia Karumidze · Julie A Thomas · Nino Kvatadze · Marina Goderdzishvili · Kevin W Hakala · Susan T Weintraub · Zemphira Alavidze · Stephen C Hardies Characterization of lytic *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages via biological properties and genomic sequences. Appl Microbiol Biotechnol Applied Microbiology and Biotechnology 94(6):1609-17 · May 2012 Impact Factor: 3.34 · DOI: 10.1007/s00253-012-4119-8 · Source: PubMed

- Natia Karumidze · Ia Kusradze · Sophio Rigvava · Marine Goderdzishvili · Kumar Rajakumar · Zemphira Alavidze Isolation and Characterisation of Lytic Bacteriophages of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* *Current Microbiology* 66(3) · November 2012 Impact Factor: 1.42 · DOI: 10.1007/s00284-012-0264-7 · Source: PubMed
- 41 **Karumidze ...2012:**
- Choe HS, Son SW, Choi HA, Kim HJ, Ahn SG et al. 2012. *Am. J. Infect. Control* 40:e249-e254
- 42 **Choe...2012:**
- Read RC, Roberts P, Munro N, Rutman A, Hastie A et al. 1992. *J. Appl. Physiol* 72:2271
- 43 **Read...1992:**
- Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. 2000. *Microbes. Infect.* 2:1051-60
- 44 **Lyczak...2000:**
- Merino S, Camprubi S, Alberti S, Benedi VJ, Tomas JM. 1992. *Infect. Immun.* 60:2529-35
- 45 **Merino...1992:**
- Nordmann. P, Cuzon G, Naas T. 2009. *Lancet Infect. Dis.* 9:228-36
- 46 **Nordmann...2009:**
- Cisneros JM, Rodriguez-Bano J. 2002. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment *Clin. Microbiol. Infect.* 8:687-93
- 47 **Cisneros ...2002:**
- Forbes B, Sahm DF, Weissfeld AS. (2002). *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 11th Edition. Mosby: St. Louis.
- 48 **Forbes 2002:**
- Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. 2007. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* *Nat. Rev. Microbiol.* 5:939-51
- 49 **Dijkshoorn...2007:**
- Horrevorts A, Bergman K, Kollee L, Breuker I, Tjernberg I, Dijkshoorn L. 1995. Clinical and epidemiological investigations of *Acinetobacter* genomospecies 3 in a neonatal intensive care unit *J. Clin. Microbiol.* 33:1567-72
- 50 **Horrevorts...1995:**
- McDonald A, Amyes SG, Paton R. 1999. The persistence and clonal spread of a single strain of *Acinetobacter* 13TU in a large Scottish teaching hospital *J. Chemother.* 11:338
- 51 **McDonald ...1999:**
- Joly-Guillou ML. 2005. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter* *Clin. Microbiol. Infect.* 11:868-73
- 52 **Joly-Guillou... 2005:**
- Won SY, Munoz-Price LS, Lolans K, Hota B, Weinstein RA, Hayden MK. 2011. *Clin. Infect. Dis.* 53:532-40
- 53 **Won ...2011:**
- 54 **Nordmann** Nordmann P, Cuzon G, Naas T. 2009. *Lancet Infect. Dis.* 9:228-36

- ...2009:
- 55 Warren ..2001: Warren JW. 2001. *Int. J. Antimicrob. Agents* 17:299-303
- 56 Liam ...2011: Liam CK, Lim KH, Wong CM. 2001. *Respirology*. 6:259-64
- 57 Li Z ...2005: Li Z, Kosorok MR, Farrell PM, Laxova A, West SE et al. 2005. *JAMA* 293:581-8
- 58 Lavender
...2004: Lavender HF, Jagnow JR, Clegg S. 2004. *Infect. Immun.* 72:4888-90
- 59 Kerksiek 2008: Dr. Kristen Kerksiek Infectious hospitals – The dangerous side of healthcare; August 11, 2008
- 60 Choe ..2012: Choe HS, Son SW, Choi HA, Kim HJ, Ahn SG et al. 2012. *Am. J. Infect. Control*40:e249-e254
- 61 Balestrino
...2005: Balestrino D, Haagensen JA, Rich C, Forestier C. 2005. *J. Bacteriol.* 187:2870-80
- 62 Ma ...2009: Ma L, Conover M, Lu H, Parsek MR, Bayles K, Wozniak DJ. 2009. *PLoS. Pathog.*5:e1000354
- 63 Gasik ...2012: Gasik M, Van ML, Pierron D, Braem A, Hofmans D et al. 2012. *Adv. Healthc. Mater.*1:117-27
- 64 Brisse...2001: Brisse S, Verhoef J. 2001. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51:915-24
- 65 Chavan ...2005: Chavan M, Rafi H, Wertz J, Goldstone C, Riley MA. 2005. *J. Mol. Evol.* 60:546-56
- 66 Cooper ...2003: Cooper M, Tavankar GR, Williams HD. 2003. *Microbiology* 149:1275-84
- 67 Cunha ...2002: Cunha BA. 2002. *Semin. Respir. Infect.* 17:231-9
- 68 Hachem ...2007: Hachem RY, Chemaly RF, Ahmar CA, Jiang Y, Boktour MR et al. 2007. *Antimicrob.Agents Chemother.* 51:1905-11
- 69 Hoiby...2010: Hoiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. 2010. *Int. J. Antimicrob. Agents*35:322-32
- 70 Essack...2011: Essack, S. Y.1 and Connolly, C; Treatment guidelines and nosocomial infections: The South African experience African Journal of Microbiology Research Vol. 5(20), pp. 3122-3125, 30 September, 2011 (ISSN 1996-0808 ©2011 Academic Journals)
- 71 Jagnow...2003: Jagnow J, Clegg S. 2003. *Microbiology* 149:2397-405
- 72 Kaye ...2004: Kaye KS, Engemann JJ, Fraimow HS, Abrutyn E. 2004. *Infect. Dis. Clin. North Am.*18:467-511, viii

- 73 Lin ...2011: Lin CT, Wu CC, Chen YS, Lai YC, Chi C et al. 2011. *Microbiology* 157:419-29
- 74 Lyczak ...2000: Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. 2000. *Microbes. Infect.* 2:1051-60
- 75 Mavrodi ...2012: Mavrodi DV, Parejko JA, Mavrodi OV, Kwak YS, Weller DM et al. 2012. *Environ.Microbiol.*
- 76 Micek...2005: Micek ST, Lloyd AE, Ritchie DJ, Reichley RM, Fraser VJ, Kollef MH. 2005.*Antimicrob. Agents Chemother.* 49:1306-11
- 77 Nordmann ...2009: Nordmann P, Cuzon G, Naas T. 2009. *Lancet Infect. Dis.* 9:228-36
- 78 Peek ...2009: Peek ME, Bhatnagar A, McCarty NA, Zughaier SM. 2012. *Interdiscip. Perspect. Infect.Dis.* 2012:843509
- 79 Sahly ...2000: Sahly H, Podschun R, Ullmann U. 2000. *Adv. Exp. Med. Biol.* 479:237-49
- 80 Schalk ...2012: Schalk IJ, Guillon L. 2012. *Environ. Microbiol.*
- 81 Richard ...2012: Richard A; L. Saiman; Nosocomial Infections in the Neonatal Intensive Care Unit
- 82 Schembri ...2005: Schembri MA, Blom J, Krogfelt KA, Klemm P. 2005. *Infect. Immun.* 73:4626-33
- 83 Shorr ...2009: Shorr AF. 2009. *Crit Care Med.* 37:1463-9
- 84 Sidjabat ...2011: Sidjabat H, Nimmo GR, Walsh TR, Binotto E, Htin A et al. 2011. *Clin. Infect. Dis.*52:481-4
- 85 Traugott...2011: Traugott KA, Echevarria K, Maxwell P, Green K, Lewis JS. 2011. *Pharmacotherapy*31:598-608
- 86 Tu ...2009: Tu YC, Lu MC, Chiang MK, Huang SP, Peng HL et al. 2009. *Infect. Immun.* 77:2657-71
- 87 Warren...2001: Warren JW. 2001. *Int. J. Antimicrob. Agents* 17:299-303
- 88 Barbe...2004: Barbe V, Vallenet D, Fonknechten N, Kreimeyer A, Oztas S et al. 2004. Unique features revealed by the genome sequence of *Acinetobacter* sp. ADP1, a versatile and naturally transformation competent bacterium *Nucleic Acids Res.* 32:5766-79
- 89 Cisneros...2012: Cisneros JM, Rodriguez-Bano J. 2002. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*:epidemiology, clinical features and treatment *Clin. Microbiol. Infect.* 8:687
- 90 Dijkshoorn... Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. 2007. An increasing threat in

- 2007: hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* *Nat. Rev. Microbiol.* 5:939-51
- 91 Donlan...2002: Donlan RM. 2002. Biofilms: microbial life on surfaces *Emerg. Infect. Dis.* 8:881-90
- 92 Asrat 2001: Asrat D, Amanuel YW. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of bacterial isolates from blood culture in Tikur Anbassa Hospital, Addis Ababa, Ethiopia. *Ethiop Med J* 2001Apr;39(2):97-104.
- 93 Falagas ...2007: Falagas ME, Karveli EA, Kelesidis I, Kelesidis T. 2007. Community-acquired *Acinetobacter* infections *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 26:857-68
- 94 Fournier ...2006: Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H et al. 2006. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* *PLoS. Genet.* 2:e7
- 95 Gallego...2001: Gallego L, Towner KJ. 2001. Carriage of class 1 integrons and antibiotic resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from northern Spain *J. Med. Microbiol.* 50:71-7
- 96 Joly-Guillou... 2005: Joly-Guillou ML. 2005. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter* *Clin. Microbiol. Infect.* 11:868-73
- 97 Kappstein...2000: Kappstein I, Grundmann H, Hauer T, Niemeyer C. 2000. Aerators as a reservoir of *Acinetobacter junii*: an outbreak of bacteraemia in paediatric oncology patients *J. Hosp. Infect.* 44:27-30
- 98 Kempf ...2012: Kempf M, Rolain JM, Diatta G, Azza S, Samb B et al. 2012. Carbapenem resistance and *Acinetobacter baumannii* in Senegal: the paradigm of a common phenomenon in natural reservoirs *PLoS. One.* 7:e39495
- 99 Housby ...2009: Housby JN, Mann NH. 2009. Phage therapy *Drug Discov. Today* 14:536-
- 100 Jain ...2004: Jain R, Danziger LH. 2004. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infections: an emerging challenge to clinicians *Ann. Pharmacother.* 38:1449-59
- 101 Kutateladze ...2008: Kutateladze M, Adamia R. 2008. Phage therapy experience at the Eliava Institute *Med. Mal Infect.* 38:426-30
- 102 Peleg...2008: Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen *Clin. Microbiol. Rev.* 21:538-82

- 103 Levison...2004: Levison W. Review of Medical Microbiology & Immunology, Exam&Board Review, 2004
- 104 Rolain...2011: Rolain JM, Roch A, Castanier M, Papazian L, Raoult D. 2011. Acinetobacter baumannii resistant to colistin with impaired virulence: a case report from France *J. Infect. Dis.* 204:1146-7
- 105 Ruiz...2007: Ruiz M, Marti S, Fernandez-Cuenca F, Pascual A, Vila J. 2007. High prevalence of carbapenem- hydrolysing oxacillinases in epidemiologically related and unrelated Acinetobacter baumannii clinical isolates in Spain *Clin. Microbiol. Infect.* 13:1192-8
- 106 Touat...2012: Touati M, Diene SM, Racherache A, Dekhil M, Djahoudi A, Rolain JM. 2012. Emergence of blaOXA-23 and blaOXA-58 carbapenemase-encoding genes in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolates from University Hospital of Annaba, Algeria *Int. J. Antimicrob. Agents* 40:89-
- 107 Chen ...2010: Chen TL, Lee YT, Kuo SC, Hsueh PR, Chang FY et al. 2010. Emergence and Distribution of Plasmids Bearing the blaOXA-51-like gene with an upstream ISAbal in carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii isolates in Taiwan *Antimicrob. Agents Chemother.* 54:4575-81
- 108 Brown ...2006: Brown S, Amyes S. 2006. OXA (beta)-lactamases in Acinetobacter: the story so far *J. Antimicrob. Chemother.* 57:1-3
- 109 Chen ...2010: Chen TL, Lee YT, Kuo SC, Hsueh PR, Chang FY et al. 2010. Emergence and Distribution of Plasmids Bearing the blaOXA-51-like gene with an upstream ISAbal in carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii isolates in Taiwan *Antimicrob. Agents Chemother.* 54:4575-81
- 110 Cisneros ...2002: Cisneros JM, Rodriguez-Bano J. 2002. Nosocomial bacteremia due to Acinetobacter baumannii: epidemiology, clinical features and treatment *Clin. Microbiol. Infect.* 8:687-93
- 111 CAI ...2012: CAI Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. 2012. Colistin resistance of Acinetobacter baumannii: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies *J. Antimicrob. Chemother.* 67:1607-15
- 112 Dijkshoorn ...2007: Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. 2007. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant Acinetobacter baumannii *Nat. Rev. Microbiol.* 5:939-51

- 113 **Kusradze ...2011:** Kusradze I, Diene SM, Goderdzishvili M, Rolain JM. 2011. Molecular detection of OXA carbapenemase genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Iraq and Georgia *Int. J. Antimicrob. Agents* 38:164-8
- 114 **Brooks...2001:** Brooks G. Javetz, Melnick & Alderberg's Medical Microbiology, 2001
- 115 **Fernandez-Cuenca ...2003:** Fernandez-Cuenca F, Martinez-Martinez L, Conejo MC, Ayala JA, Perea EJ, Pascual A. 2003. Relationship between beta-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* *J. Antimicrob. Chemother.* 51:565-74
- 116 **Fournier...2006:** Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H et al. 2006. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* *PLoS. Genet.* 2:e7
- 117 **Joly-Guillou ...2005:** Joly-Guillou ML. 2005. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter* *Clin. Microbiol. Infect.* 11:868-73
- 118 **Lee...2011:** Lee K, Yong D, Jeong SH, Chong Y. 2011. Multidrug-resistant *Acinetobacter* spp.: increasingly problematic nosocomial pathogens *Yonsei Med. J.* 52:879-91
- 119 **Dubrovin...2012:** Dubrovin EV, Popova AV, Kraevskiy SV, Ignatov SG, Ignatyuk TE et al. 2012. Atomic Force Microscopy Analysis of the *Acinetobacter baumannii* Bacteriophage AP22 Lytic Cycle *PLoS. One.* 7:e47348
- 120 **Lopez-Rojas... 2011:** Lopez-Rojas R, Jimenez-Mejias ME, Lepe JA, Pachon J. 2011. *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin alters its antibiotic resistance profile: a case report from Spain *J. Infect. Dis.* 204:1147- 8
- 121 **Perez ...2007:** Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. 2007. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* *Antimicrob. Agents Chemother.* 51:3471-84
- 122 **Poirel...2006:** Poirel L, Nordmann P. 2006. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology *Clin. Microbiol. Infect.* 12:826-36
- 123 **Richet ...2006:** Richet H, Fournier PE. 2006. Nosocomial infections caused by *Acinetobacter baumannii*: a major threat worldwide *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 27:645-6
- 124 **Van ...2004:** Van LM, Goossens H. 2004. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe *Clin. Microbiol. Infect.* 10:684-704

- 125 **Levison...2010:** Levison. W. Review of Medical Microbiology & Immunology, 2010
- 126 **Walsh...2000:** Walsh C. 2000. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance Nature 406:775-81
- 127 **Naas ...2008:** Naas T, Poirel L, Nordmann P. 2008. Minor extended-spectrum β -lactamases. Clin Microbiol Infect. 2008;14(Suppl1):42-52
- 128 **Cantón ...2008:** Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM. Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect. 2008;14(Suppl1):144-153
- 129 **Livermore ...2007:** Livermore DM, Cantón R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern- Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, Woodford N. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. J Antimicrob Chemother. 2007;59:165-174
- 130 **Carattoli...2008:** Carattoli A. Animal reservoirs for extended-spectrum β -lactamase producers. Clin Microbiol Infect. 2008;14(Suppl1):117-123
- 131 **Gniadkowski ...2008:** Gniadkowski M. 2008. Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. Clin Microbiol Infect. 2008;14(Suppl1):11-32
- 132 **Livermore...2008:** Livermore DM. Defining an extended-spectrum β -lactamase. Clin Microbiol Infect. 2008;14(Suppl1):3-10
- 133 **Cantón ...2012:** Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect. 2012;18:413-31
- 134 **Vatopoulos... 2008:** Vatopoulos A. High rates of metallo- β -lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in Greece – a review of the current evidence. Euro Surveill. 2008;13(4). doi:pii: 8023
- 135 **European 2011:** European Centres for Disease Prevention and Control (ECDC). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)
- 136 **Mazzariol... 2012:** Annarita **Mazzariol**, Zrinka Bošnjak, Piero Ballarini, Ana Budimir, Bran and Giuseppe Cornaglia. Emerg Infect Dis. 2012 Mar; 18(3): 532–534.do PMID: PMC3309569

- 137 **Bathoorn...**
2015: E Bathoorn¹, JW Rossen¹, M Lokate¹, AW Friedrich¹, AM Hammerum² ISOLATION OF AN NDM-5-PRODUCING ST16 *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* FROM A DUTCH PATIENT WITHOUT TRAVEL HISTORY ABROAD, AUGUST 2015”
Eurosurveillance, Volume 20, Issue 41, 15 October 2015
Nassima Djahmi,^{1,2} Catherine Dunyach-Remy,^{1,3} Alix Pantel,^{1,3} Mazouz Dekhil,² Albert Sotto,^{1,4} and Jean-Philippe Lavigne^{1,3}
- 138 **Djahmi ...2014:** Epidemiology of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean Countries. *BioMed Research International* Volume 2014 (2014), Article ID 305784, 11 pages
- 139 **Yang ...2015:** Xiaoyan Yang,^{1,*} Bangrong Xing,^{1,*} Caiqian Liang,¹ Zhuopeng Ye,² and Yongbiao Zhang¹ Prevalence and fluoroquinolone resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital of South China. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8(1): 1386–1390. Published online 2015 Jan 15.
PMCID: PMC4358597
- 140 **Puyuan ...2015:** Puyuan Li,^{1,†} Wenkai Niu,^{1,†} Huan Li,^{2,†} Hong Lei,³ Wei Liu,² Xiangna Zhao,² Leijing Guo,¹ Dayang Zou,² Xin Yuan,¹ Huiying Liu,¹ Jing Yuan,^{2,*} and Changqing Bai^{1,*} Rapid detection of *Acinetobacter baumannii* and molecular epidemiology of carbapenem-resistant *A. baumannii* in two comprehensive hospitals of Beijing, China. *Front Microbiol*. 2015; 6: 997. Published online 2015 Sep 23. doi: 10.3389/fmicb.2015.00997, PMCID: PMC4585070
- 141 **Khamesipour...**
2016: Faham Khamesipour¹, Elahe Tajbakhsh^{2*} Analyzed the genotypic and phenotypic antibiotic resistance patterns of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples in Iran. *Biomedical Research* 2016; 27 (4): 1017-1026, ISSN 0970-938X
- 142 **Koiava...2016:** **Koiava, T¹, Gonçalves, D^{2,3}, Palmeira, J², Arobelidze, K.⁴, Tediashvili M⁵ Akhvlediani, L. ¹ Ferreira, H² “PCR detection of CTX-m genes antibiotics resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates hospital in Adjara, Georgia”
Medical news”**

143 Koiava...2016: *¹Koiava, T., ^{2,3}Gonçalves, D., ²Palmeira, J., ⁴Arobelidze, K., ⁵Tediashvili, M., ¹Akhvlediani, L. and ²Ferreira, H. „PHENOTYPIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SHV, TEM, OXA AND EXTENDED- SPECTRUM -LACTAMASE PRODUCED BY KLEBSIELLA PNEUMONIA ISOLATES IN A ADJARA HOSPITAL” International Journal of Current Research, Vol. 8, Issue, 06, pp.32332-32336, June, 201 ISSN: 0975-833X

144 Koiava...2016: Koiava T¹, Gonçalves D^{2,3}, Palmeira J², Arobelidze K.⁴, Tavadze V ⁴, Tediashvili M⁵ and Akhvlediani L.¹ Ferreira H² ”MULTIDRUG-RESISTANT ACINETOBACTER BAUMANNII IN ADJARA REGION” Article DOI: 10.21474/IJAR01/xxx DOI URL: <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/xxx> ISSN:2320-5407

ინტერნეტ მასალები:

- <http://iliauni.edu.ge/uploads/other/1/1452.pdf>
- <http://iliauni.edu.ge/uploads/other/1/1453.pdf>
- <http://www.nplg.gov.ge/dlibrary/collect/0002/000860/Dis.Pochkhua%20Kh..pdf>
- http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/21/6/15-0048_article