|  |  |
| --- | --- |
|  | **ЄВРОПЕЙСЬКИЙ КОМІТЕТ ІЗ ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО АНТИБІОТИКІВ** |
| **Європейське товариство з клінічної мікробіології та інфекційних хвороб** | |

**Керівництво EUCAST із визначення механізмів антимікробної та специфічної резистентності, що мають особливе клінічне та/або епідеміологічне значення**

**Версія 2.01**

**Липень 2017**

1 **Базується на версії 1.0 від грудня 2013 року розробленій підкомітетом EUCAST із виявлення механізмів резистентності і специфічної стійкості, що мають клінічне та / або епідеміологічного значення**. Авторами оригінальної версії є: Крістіан Г. Гіске (Швеція, координаційна група EUCAST та EARS-Net; голова), Луїс Мартінес-Мартінес (Іспанія), Рафаель Кантон (Іспанія, EUCAST), Стефанія Стефані (Італія), Роберт Сков (Німеччина), Йоурі Глупкзинські (Бельгія), Патріс Нордманн (Франція), Манді Вооттон (Великобританія), Віві Міріагоу (Греція), Гуннар Сков Сімонсен (Норвегія, координаційна група мережі EARS-Net), Хелена Землікова (Республіка Чехія, координаційна група мережі EARS-Net), Джеймс Кохен-Стюарт (Нідерланди) та Марек Гніадковські (Польща).

**Зміст**

**Розділ Сторінка**

1. Вступ 3

2. Ентеробактерії, що продукують карбапенемази 4

3. Ентеробактерії, що продукують β-лактамази розширеного спектру (БЛРС) 13

4. Ентеробактерії, що продукують набуті AmpC β-лактамази 22

5. Стійкіcть до колістину у грам-негативних паличок 26

6. *P. aeruginosa* та *Acinetobacter* стійкі до карбапенемів 28

7. Метицилін-резистентні *Staphylococcus aureus (MRSA)* 30

8. *Staphylococcus aureus*, резистентні до глікопептидів 33

9. *Enterococcus faecium* та *Enterococcus faecalis* резистентні до ванкоміцину 37

10. Не дикий тип *Streptococcus pneumoniae*, резистентний до пеніциліну 42

**1. Вступ**

Поточний документ є оновленням керівних принципів, розроблених підкомітетом EUCAST щодо виявлення механізмів резистентності. Керівний комітет EUCAST здійснив поточне оновлення. Документ розроблений головним чином для рутинного використання в клінічних лабораторіях і не охоплює технічних процедур для ідентифікації механізмів резистентності на молекулярному рівні у референсних або експертних лабораторіях. Однак більша частина вмісту також може застосовуватись у національних референс-лабораторіях. Крім того, важливо відзначити, що документ не охоплює скринінг щодо безсимптомного носійства (колонізації) мультирезистентних мікроорганізмів або пряме виявлення стійкості в клінічних зразках.

Усі розділи цього документа містять визначення механізмів резистентності або специфічної резистентності, пояснення клінічних потреби та/або потреб в охороні здоров'я у виявленні механізмів резистентності або специфічної стійкості, короткий опис рекомендованих методів виявлення та посилання на докладні описи методів. Необхідність ідентифікації механізмів резистентності та рівня ідентифікації, необхідних для цілей охорони здоров'я або інфекційного контролю, можуть змінюватися як географічно, так і тимчасово в залежності від поширеності та неоднорідності різних механізмів резистентності. Настанови були розроблені шляхом проведення літературних пошуків, а рекомендації базуються на багатоцентрових дослідженнях або більш ніж одному центровому дослідженні. Декілька методів, які наразі розробляються, не були включені в керівні принципи, оскільки багатоцентрові оцінки або декілька оцінок в одному центрі ще не завершені. Проекти версій цих рекомендацій підлягали широкому обговоренню через консультаційні списки контактів EUCAST, веб-сайт EUCAST та контактні особи ECDC.

Крістіан Г. Гіске

Голова EUCAST, колишній голова підкомітету з виявлення механізмів резистентності

**2. Ентеробактерії, що продукують карбапенемази**

|  |  |
| --- | --- |
| **Важливість виявляння механізму резистентності** | |
| Вимагається для клінічної категорізації антимікробної чутливості | Ні |
| Для цілей інфекційного контролю | Так |
| Для цілей громадського здоров’я | Так |

**2.1. Визначення**

Карбапенемази є β-лактамазами, які гідролізують пеніциліни, у більшості випадків цефалоспорини, та у різній ступені карбапенеми і монобактами (останні не піддаються гідролізу за рахунок метало-β-лактамаз).

**2.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення**

Проблема поширення карбапенемаз в Європі виникла у другій половині 1990-х в деяких країнах Середземноморського регіону та спостерігалася головним чином у *Pseudomonas aeruginosa* (1). На початку 2000-х Греція пережила епідемію пов’язану із *Klebsiella рneumoniae,* що продукувала метало-β-лактомазу, яка кодується інтегроном Верона (VIM) (2), а потім епідемію пов’язану із *K. рneumoniae,* що продукувала карбапенемазу (KPC) (1). В даний час карбапенемази OXA-48 складають найшвидше зростаючу групу карбапенемаз в Європі (3). В Греції та Італії приблизно 62% та 33%, відповідно, інвазивних *K. pneumoniae* зараз є нечутливими до карбапенемів (4). У 2015 році 13 із 38 країн повідомили про міжрегіональне поширення або ендемічну ситуацію для ентеробактерій, що продукують карбапенемази (CPE), порівняно з 6 із 38 у 2013 році. Тільки три країни відповіли, що не визначили жодного випадку CPE (3). Інші особливо проблематичні карбапенемази – це Нью-Делі метало-β-лактомаза (NDM), яка дуже поширена на індійському субконтиненті та на Ближньому Сході і що були ввезені до Європи (3), також є приклади регіонального поширення в деяких країнах (5). IMP-карбапенемази також поширені в деяких частинах світу (6).

Карбапенемази є джерелом занепокоєння, оскільки вони можуть викликати резистентність практично до всіх β-лактамів і легко переносяться. Крім того, штами, що продукують карбапенемази, часто володіють механізмами резистентності до широкого кола антимікробних препаратів, а інфекції викликані ентеробактеріями, що продукують карбапенемази, пов'язані з високими показниками смертності (7-9).

**2.3. Механізми резистентності**

Переважна більшість карбапенемаз – це набуті ферменти, що кодуються генами на рухливих елементах, які розміщуються на плазмідах. Карбапенемази експресуються на різних рівнях та суттєво відрізняються, як за біохімічними характеристиками, так і за активністю проти специфічних β-лактамів. Рівень експресії та властивості β-лактамаз і частий зв’язок з іншими механізмами резистентності (інші β-лактамази, ефлюкс та/або змінена проникність) призводять до широкого діапазону фенотипів резистентності, що спостерігаються серед ізолятів, які продукують карбапенемази (10, 11). Проте, знижена сприйнятливість до карбапенемів в Enterobacteriaceae також може бути викликана або β-лактамазами розширеного спектру (ESBL), або ферментами AmpC у поєднанні зі зниженою проникністю через зміну або зниження регуляції порінів (12) і, можливо, також пеніцилін-зв'язуючих білків (13).

Ентеробактерії, що продукують карбапенемази (СРЕ), як правило, мають знижену чутливість до карбапенемів, і в більшості випадків є стійкими до широкого спектру (оксиіміно) цефалоспоринів (тобто цефотаксим, цефтріаксон, цефтазидим та/або цефепім) (14). Однак, з деякими ферментами (наприклад, OXA-48-подібними) мікроорганізми можуть бути повністю чутливі до цефалоспоринів. В даний час більшість ізолятів СРЕ також ко-експресують ферменти, що гідролізують цефалоспорин, такі як ESBL типу CTX-M, а потім також стають стійкими до цефалоспоринів. Вважається, що карбапенемази мають високу епідеміологічну значущість, особливо коли вони надають зменшену чутливість до карбапенемів (іміпенем, меропенем, ертапенем і доріпенем), тобто, коли значення MIК перевищують значення епідеміологічного включення (ECOFF), визначені EUCAST (15).

**2.4. Рекомендовані методи для виявлення карбапенемаз у Enterobacteriaceae**

*2.4.1. Скринінг продукції карбапенемаз*

МІКи карбапенемів для Enterobacteriaceae, що продукують карбапенемази, можуть бути нижче клінічних граничних значень (14-16). Однак, величини ECOFF, як визначено EUCAST, можна використовувати для виявляння продуцентів карбапенемази. Меропенем показує найкращий компроміс між чутливістю та специфічністю стосовно виявляння продуцентів карбапенемази (14, 17). Ертапенем має відмінну чутливість, але погану специфічність, зокрема у таких видів, як *Enterobacter* spp., по причині своєї відносної нестійкості до β-лактамаз розширеного спектру (БЛРС) та AmpC β-лактамаз в комбінації з втратою поринів (14). Відповідні граничні значення для виявлення можливих продуцентів карбапенемази наведені у Таблиці 1. Необхідно відзначити, що для збільшення специфічності граничні величини скринінгу для іміпенему та ертапенему знаходяться на один ступінь розведення більше, ніж поточні визначені величини ECOFF.

Таблиця 1. Клінічні граничні значення та граничні значення скринінгу для Enterobacteriaceae, що продукують карбапенемази (згідно методології EUCAST).

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Карбапенем** | **МІК (мг/л)** | | | **Діаметр зони затримки росту (мм) із вмістом у дисках 10 мкг** | | |
| **Граничне значення Ч/П** | **Граничне значення скринінгу** | **Граничне значення Ч/П** | | **Граничне значення скринінгу** |
| Меропенем 1 | <2 | >0.125 | >22 | | <282 |
| Ертапенем3 | <0.5 | >0.125 | >25 | | <25 |

1 Найкращий баланс чутливості та специфічності

2 Ізоляти із діаметром зони затримки росту 25-27 мм потрібно досліджувати лише щодо продукції карбапенемаз у випадку, якщо вони стійкі до піперацилін-тазобактаму та/або темоциліну (темоцилін сприяє більшій специфічності). Виявлення карбапенемаз завжди виправдано, якщо діаметр зони затримки росту для меропенему <25 мм.

3 Висока чутливість, але низька специфічність. Може використовуватись як альтернативний скринінговий препарат, але ізоляти із БЛРС та AmpC можуть бути стійкими без наявності карбапенемаз.

Після виявлення зниженої чутливості до карбапенемів під час рутинного визначення чутливості необхідно застосовувати фенотипічні методи виявлення карбапенемаз. Основними категоріями методів є комбіновані методи визначення за допомогою дисків, колориметричні тести на основі гідролізу карбапенемів, інші методи виявлення гідролізу карбапенемів і, нарешті, метод горизонтального проточного аналізу. Нижче описані різні тести.

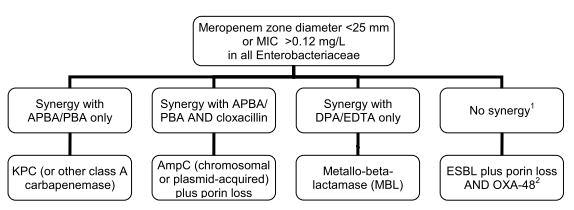
*2.4.2. Метод комбінованих дисків*

Метод комбінованих дисків є комерційно доступний від декількох виробників і був першим фенотиповим тестом, який став доступним (MAST, Великобританія; Rosco, Данія) (18-20). Диски або таблетки містять меропенем ± різні інгібітори. Коротко кажучи, борна кислота пригнічує карбапенемази класу А (хоча дані за КРС недостатні), а дипіколінова кислота і етилендіамінтетраоцтова кислота (ЕДТА) інгібують карбапенемази класу В. Більш того, OXA-48 інгібується авібактамом, який до цих пір не був включений в фенотипічні панелі (21, 22). Клоксацилін, який інгібує β-лактамази AmpC, був доданий до тестів для диференціації гіперпродукції AmpC плюс втрата порину і продукції карбапенемаз. Алгоритм інтерпретації цих інгібіторних тестів наведено на мал. 1 і в таблиці 2. Основний недолік цих методів полягає в тому, що вони тривають 18 годин (на практиці інкубація потягом ночі), тому були введені нові швидкі методи.

Малюнок 1. Алгоритм виявлення карбапенемаз

Діаметр зони затримки росту для меропенему < 28 мм (або МІК >0,125 мг/л) для усіх Enterobacteriaceae

Виключення: меропенем 25-27 мм та піперацилін-тазобактам=П/Ч: подальші дослідження не потрібні



AmpC (хромосомна або опосередкована плазмидами) плюс втрата порину

Синергія відсутня1

Темоцилін С2: ОХА-48

Темоцилін Ч: БЛРС плюс втарата порину

Синергія тільки з ДПК

Метало-бета-лактамаза (МБЛ)

Синергія з борною кислотою та клоксациліном

Синергія тільки з борною кислотою

КРС (або інший клас А карбапенемаз)

1 Комбінація декількох карбапенемаз може також сприяти відсутності синергії - напр. MBL і KPC у поєднанні. У таких випадках, зазвичай, необхідно молекулярне дослідження.

2 Резистентність до темоциліну високого рівня (> 128 мг/л, діаметр зони <11 мм) є фенотиповим індикатором продукування ОХА-48.

Алгоритм у Таблиці 2 розрізняє металло-β-лактамази, карбапенемази класу А, карбапенемази класу D і некарбапенемази (БЛРС та/або AmpC плюс втрата порину). Дослідження можуть бути виконані за допомогою диско-дифузійного методу EUCAST для невибагливих організмів. Комерційні тести повинні бути виконані відповідно до інструкцій виробника для кожного тесту.

В даний час немає доступних інгібіторів для OXA-48-подібних ферментів. Високий рівень резистентності до темоциліну (MIC> 128 мг / л) був запропонований як фенотипічний маркер для передбачуваних продуцентів карбапенемази, подібних до OXA-48 (23, 24). Однак цей маркер не є специфічним для карбапенемаз типу OXA-48, оскільки інші механізми резистентності можуть забезпечувати цей фенотип. Присутність OXA-48-подібних ферментів повинна бути підтверджена іншими методами.

Використання модифікованого тесту конюшиного листа (Ходжа) в даний час не рекомендується, оскільки результати важко інтерпретувати, специфічність погана, а в деяких випадках чутливість також є неоптимальною (12). Були описані деякі нові модифікації техніки, але вони обтяжливі для використання в звичайних клінічних лабораторіях і не вирішують усіх проблем чутливості та специфічності.

Таблиця 2. Інтерпретація феноипових тестів (карбапенемази жирним шрифтом) диско-дифузійним методом або таблетками. Точне визначення синергії наводяться в упаковках для різних комерційних продуктів.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| β-лактамаза | Синергія, що спостерігається, як збільшення діаметру зони (мм) із 10 мкг меропенему у диску/таблетці. | | | МІК темоциліну >128 мг/л або діаметр зони <11 мм |
|  | ЕДТА | ФБК | CLX |  |
| **МБЛ** | + | - | - | Непостійне1 |
| **КРС** | - | + | - | Непостійне1 |
| **МБЛ + КРС2** | Непостійне | Непостійне | - | Непостійне1 |
| **OXA-48-подібні** | - | - | - | Так |
| AmpC + втрата порину | - | + | + | Непостійне1 |
| ESBL + втрата порину | - | - | - | Ні |

Скорочення: МБЛ = метало-бета-лактамаза, КРС = карбапенемаза *Klebsiella pneumoniae,* ДПК = діпіколінова кислота, ЕДТК = етилендіамінтетраоцтова кислота, АФБК = амінофеніл борна кислота, ФБК = феніл борна кислота, CLX = клоксацилін.

1 Визначення чутливості до темоциліну рекомендується тільки у випадках, коли виявляється відсутність синергії, щоб розрізняти БЛРС + втрата порину та ферменти подібні ОХА-48 (23, 24). Коли присутні інші ферменти, чутливість непостійна та не представляє ніяких ознак присутності β-лактамази.

2 Існує тільки одне згадування, що підтримує використання наявних у продажу таблеток, які містять подвійні інгібітори (ДПК або ЕДТК плюс АФБК чи ФБК) (25), але бракує багатоцентрових чи численних одноцентрових досліджень. Ця комбінація забезпечує резистентність до карбапенемів високого рівня та рідко зустрічається поза межами Греції.

*2.4.3. Біохімічні (колориметричні) методи*

Тест CarbaNP є швидким (<2 год) тестом для виявлення гідролізу карбапенемів, який спричиняє зміну рівня рН, який призводить до зміни кольору з червоного на жовтий розчину фенолового червоного (26, 27). Тест Carba NP був перевірений з бактеріальними колоніями, які виростили на середовищі Мюлер-Хінтону, середовищі з кров’яним агаром, триптиказо-соєвому агарі та більшості селективних середовищ, що використовуються для скринінгу продукції карбапенемаз. Тест Carba NP не можна проводити з колоніями бактерій, які виростили на середовищі Дрігалського або МакКонкі. Для отримання результатів, що можуть бути відтвореними, необхідно суворо дотримуватися усіх кроків в цьому методі. Кілька публікацій свідчать про високу чутливість і специфічність методу (28), тоді як в одній публікації спостерігаються проблеми чутливості для ізолятів з слизовим фенотипом і для деяких ентеробактерій, що продукують OXA-48 (29). Було показано, що один комерційний варіант методу добре працює для виявлення карбапенемаз в Enterobacteriacae (30, 31). При деяких комерційних аналізах, включаючи комерційну версію тесту CarbaNP, існують деякі проблеми інтерпретації, засновані на візуальному читанні зміщення кольору з сумнівними результатами і певною часткою (3-5%) результатів, які не інтерпретуються.

Похідний тест CarbaNP-тесту, тест Blue-Carba (BCT), є біохімічним тестом на швидке (<2 год) виявлення продукції карбапенемази (32, 33). Він заснований на гідролізі іміпенему in vitro бактеріальними колоніями (безпосередня інокуляція без попереднього лізису), яка виявляється за допомогою зміни значень рН, виявлених за допомогою індикатора бромтимолового синього (з синього до зеленого/жовтого або зеленого до жовтого). У великому дослідженні, виконаному Pasteran та інш. (34), але проведеному тільки в одній лабораторії, було встановлено, що тест володіє чудовою чутливістю для ферментів класу А і В, але субоптимальною чутливістю для виявлення ферментів OXA-48.

Третім біохімічним тестом є тест β CARBA, який також може бути проведений через <2 години. Дослідження проводять шляхом змішування 1 - 3 колоній з реагентами. Облік результатів слід проводити через максимум 30 хвилин інкубації. Зміна кольору від жовтого до помаранчевого, червоного або пурпурового означає позитивну реакцію. Одне дослідження показало, що 0,5-годинний час інкубації, рекомендований виробником, занадто короткий для штамів, що продукують OXA-48. Оцінка збору штаму була досить обмеженою, і було запропоновано більш широке дослідження, щоб дослідити, як тест порівнюється з іншими біохімічними тестами (35). В іншій оцінці тест 3 Carba показав чудову продуктивність для виявлення CPE, і особливо OXA-48. Проте, здатність виявляти інші карбапенемази класу А повинна бути додатково перевірена, і деякі помилкові позитивні результати сталися з іншими β-лактамазами, такими як гіперпродукція β-лактамази К1 у *Klebsiella oxytoca* (33).

*2.4.4. Метод інактивації крбапенемів*

Принцип цього методу полягає у виявленні ферментативного гідролізу шляхом інкубації карбапенема із бактеріальною суспензією. В цьому тесті використовується диск для визначення чутливості до антибіотиків в якості субстрата. Після двох годин інкубації повної петлі бактерій із диском з меропенемом диск поміщають на агар, інокульований *Escherichia coli* ATCC 25922. Ферментативна інактивація не призводить до утворення зони затримки росту, тоді як відсутність карбапенемази буде давати зону, так як меропенем в диску не був гідролізований. Даний тест мав змінну продуктивність у різних дослідженнях (36-38), але залишається можливою альтернативою, хоча негативна прогностична цінність теста все еще не ясна. Одним із основних недоліків цього метода є те, що для отримання результатів звичайно потрібно не менше 18 годин.

*2.4.5.Виявлення гідролізу карбапенемів за допомогою MALDI-TOF*

Принцип полягає в тому, щоб виявити за допомогою мас-спектрометра (MALDI TOF) зменшення або зникнення певних специфічних піків карбапенемів в мас-спектрах, після інкубації бактеріальної суспензії з карбапенемом (39, 40). Спектри вимірюють після сушіння між m/z 160 і 600, використовуючи мас-спектрометр Microflex LT (39). Метод показав в ряді досліджень хорошу чутливість і специфічність, але крім ферментів OXA-48. Для виправлення цієї проблеми до реакції може бути доданий NH4HCO3, і ця модифікація була використана в одному дослідженні для поліпшення виявлення OXA-48 (41). Однак новий метод досі не оцінювався в багатоцентровому дослідженні або в декількох дослідженнях в одному центрі. Іншою малопридатною особливістю є те, що параметри для MALDI-TOF повинні бути змінені порівняно з тим, що використовується для визначення видів (41).

*Горизонтальний проточний аналіз*

Нещодавно був описаний новий імунохроматографічний горизонтальний проточний аналіз. Тест заснований на імунологічному захопленні епітопів OXA-48, використовуючи наночастинки колоїдного золота, пов'язані з нітроцелюлозною мембраною в пристрої для проточного аналізу. Принцип тесту полягає в тому, що моноклональні анти-OXA-48 антитіла вибираються як специфічні реагенти захоплення, для прямої ідентифікації OXA-48-подібних ферментів (42). Аналіз триває близько чотирьох хвилин і оцінюється як з колоній, так і з флаконів з культурами крові (43-46). Нещодавно був розроблений аналогічний тест для КРС, але його надійність не оцінювалася кількома дослідженнями в одному центрі або одним багатоцентровим дослідженням (46).

*2.4.6. Контрольні штами*

Нижче наведені деякі можливі контрольні штами для фенотипових і генотипових експериментів для зручності. Діапазони контролю якості для цих штамів недоступні. Користувачі комерційних методів повинні вивчити вкладену інструкцію для інформації про те, які штами контролю використовувати.

Таблиця 3. Можливі контрольні штами для визначення карбапенемаз.

|  |  |
| --- | --- |
| **Штам** | **Механізм** |
| *Enterobacter cloacae* із колекції CCUG 59627 | AmpC у комбінації зі зменшеною експресією порину. |
| *K. pneumoniae* із колекції CCUG 58547 або *K. pneumoniae* із колекції NCTC 13440 | Метало-β-лактамаза (за типом VIM) |
| *K. pneumoniae* із колекції NCTC 13443 | Метало-β-лактамаза (за типом NDM-1) |
| *E. coli* із колекції NCTC 13476 | Метало-β-лактамаза (за типом IMP) |
| *K. pneumoniae* із колекції CCUG 56233 або *K. pneumoniae* із колекції NCTC 13438 | Карбапенемаза *Klebsiella pneumoniae* (КРС) |
| *K. pneumoniae* із колекції NCTC 13442 | Карбапенемаза OXA-48 |
| *K. pneumoniae* із колекції ATCC 25955 | Негативний контроль |

2.5 Посилання

1. Canton R, Akova M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect. 2012;18:413-31
2. Vatopoulos A. High rates of metallo-ß-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in Greece - a review of the current evidence. Euro Surveill. 2008;13 (4). doi:pii: 8023
3. Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. Euro Surveill. 2015;20(45).
4. European Centres for Disease Prevention and Control ( ECDC). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network ( EARS-Net)
5. Baraniak A, Izdebski R, Fiett J, Gawryszewska I, Bojarska K, et al. NDM-producing Enterobacteriaceae in Poland, 2012-2014: interregional outbreak of Klebsiella pneumoniae ST11 and sporadic cases. J Antimicrob Chemother. 2016;71:85-91
6. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis. 2011;17 (10):1791-8.
7. Souli M, Galani I, Antoniadou A, Papadomichelakis E, Poulakou G et al. An outbreak of infection due to ß- lactamase Klebsiella pneumoniae carbapenemase 2-producing K. pneumoniae in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. Clin Infect Dis 2010;50:364-73.
8. Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, Quale J. Rapid spread of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. Arch Intern Med. 2005; 165:1430-5.
9. Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwaber MJ, Carmeli Y. Isolation of imipenem-resistant Enterobacter species: emergence of KPC-2 carbapenemase, molecular characterization, epidemiology, and outcomes. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52:1413-8
10. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile ß-lactamases. Clin Microbiol Rev 2007;20:440-58
11. Falcone M, Mezzatesta ML, Perilli M, Forcella C, Giordano A et al. Infections with VIM-1 metallo ß-lactamase- producing Enterobacter cloacae and their correlation with clinical outcome. J Clin Microbiol 2009;47: 3514-9.
12. Doumith M, Ellington MJ, Livermore DM, Woodford N. Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant Klebsiella and Enterobacter spp. clinical isolates from the UK. J Antimicrob Chemother. 2009;63:659-67
13. Yamachika S, Sugihara C, Kamai Y, Yamashita M. Correlation between penicillin-binding protein 2 mutations and carbapenem resistance in Escherichia coli. J Med Microbiol. 2013;62:429-36.
14. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect. 2012;18:432-8.
15. European Committee on Antimicrobial Susceptibilty Testing ( EUCAST). Website with MIC-distributions. (<http://mic.eucast.org/>, accessed on 23 December 2012)
16. Glupczynski Y, Huang TD, Bouchahrouf W, Rezende de Castro R, Bauraing C et al. Rapid emergence and spread of OXA-48-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates in Belgian hospitals. Int J Antimicrob Agents. 2012;39:168-72
17. Tato M, Coque TM, Ruiz-Garbajosa P, Pintado V, Cobo J et al. Complex clonal and plasmid epidemiology in the first outbreak of Enterobacteriaceae infection involving VIM-1 metallo-ß-lactamase in Spain: toward endemicity? Clin Infect Dis. 2007;45 ( 9):1171-8.
18. Vading M, Samuelsen 0, Haldorsen B, Sundsfjord AS, Giske CG. Comparison of disk diffusion, Etest® and VITEK2 for detection of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae with the EUCAST and CLSI breakpoint systems. Clin Microbiol Infect. 2011;17:668-74.
19. Giske CG, Gezelius L, Samuelsen 0, Warner M, Sundsfjord A, Woodford N. A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo-ß-lactamases and KPC in Klebsiella pneumoniae with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin. Clin Microbiol Infect. 2011;17:552-6.
20. Doyle D, Peirano G, Lascols C, Lloyd T, Church DL, Pitout JD. Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases. J Clin Microbiol. 2012;50:3877-80.
21. Porres-Osante N, de Champs C, Dupont H, Torres C, Mammeri H. Use of avibactam to detect Ambler class A carbapenemases and OXA-48 ß-lactamases in Enterobacteriaceae. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014; 79:399-400.
22. Huang TD, Berhin C, Bogaerts P, Glupczynski Y. Evaluation of avibactam-supplemented combination disk tests for the detection of OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014;79:252- 4.
23. van Dijk K, Voets G, Scharringa J, Voskuil S, Fluit A, Rottier W, Leverstein-Van Hall M, Cohen Stuart J. A disc diffusion assay for detection of class A, B and OXA-48 carbapenemases in Enterobacteriaceae using phenyl boronic acid, dipicolinic acid, and temocillin. Clin Microbiol Infect 2013. In press
24. Hartl R, Widhalm S, Kerschner H, Apfalter P. Temocillin and meropenem to discriminate resistance mechanisms leading to decreased carbapenem susceptibility with focus on OXA-48 in Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect. 2013;19:E230-2.
25. Miriagou V, Tzelepi E, Kotsakis SD, Daikos GL, Bou Casals J, Tzouvelekis LS. Combined disc methods for the detection of KPC- and/or VIM-positive Klebsiella pneumoniae: improving reliability for the double carbapenemase producers. Clin Microbiol Infect. 2013;19:E412-5
26. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis. 2012;18:1503-7.
27. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Rapid Identification of carbapenemase types in Enterobacteriaceae and Pseudomonas spp. by using a biochemical test. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56:6437-40.
28. Vasoo S, Cunningham SA, Kohner PC, Simner PJ, Mandrekar JN, Lolans K, Hayden MK, Patel R. Comparison of a novel, rapid chromogenic biochemical assay, the Carba NP test, with the modified Hodge test for detection of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli. J Clin Microbiol. 2013;51:3097-101.
29. Tijet N, Boyd D, Patel SN, Mulvey MR, Melano RG. Evaluation of the Carba NP test for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57:4578-80.
30. Dortet L, Agathine A, Naas T, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. Evaluation of the RAPIDEC® CARBA NP, the Rapid CARB Screen® and the Carba NP test for biochemical detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother. 2015 ; 70):3014-22.
31. Kabir MH, Meunier D, Hopkins KL, Giske CG, Woodford N. A two-centre evaluation of RAPIDEC® CARBA NP for carbapenemase detection in Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter spp. J Antimicrob Chemother. 2016 ;71:1213-6.
32. Huang TD, Berhin C, Bogaerts P, Glupczynski Y. Comparative evaluation of two chromogenic tests for rapid detection of carbapenemase in Enterobacteriaceae and in Pseudomonas aeruginosa isolates. J Clin Microbiol. 2014;52 8):3060-3.
33. Noël A, Huang TD, Berhin C, Hoebeke M, et al. Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria. J Clin Microbiol. 2017 Feb;55 ( 2):510-518
34. Pasteran F, Veliz O, Ceriana P, Lucero C, Rapoport M, et al. Evaluation of the Blue-Carba test for rapid detection of carbapenemases in gram-negative bacilli. J Clin Microbiol. 2015 ;53 (6):1996-8.
35. Compain F, Gallah S, Eckert C, Arlet G, Ramahefasolo A, et al. Assessment of Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae with the Rapid and Easy-to-Use Chromogenic P-Carba Test. J Clin Microbiol. 2016;54(12):3065-3068
36. van der Zwaluw K, de Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, de Neeling AJ, et al. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. PLoS One. 2015;10 ( 3):e0123690
37. Yamada K, Kashiwa M, Arai K, Nagano N, Saito R. Comparison of the Modified-Hodge test, Carba NP test, and carbapenem inactivation method as screening methods for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Microbiol Methods. 2016;128:48-51.
38. Tijet N, Patel SN, Melano RG. Detection of carbapenemase activity in Enterobacteriaceae: comparison of the carbapenem inactivation method versus the Carba NP test J Antimicrob Chemother. 2016 ;71(1):274-6.
39. Hrabak J, Studentova V, Walkova R, Zemlickova H, Jakubu V et al. Detection of NDM-1, VIM-1, KPC, OXA-48, and OXA-162 carbapenemases by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. J Clin Microbiol. 2012;50:2441-3
40. Lasserre C, De Saint Martin L, Cuzon G, Bogaerts P, Lamar E, et al. Efficient Detection of Carbapenemase Activity in Enterobacteriaceae by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry in Less Than 30 Minutes. J Clin Microbiol. 2015; 53:2163-71.
41. Papagiannitsis CC, Studentova V, Izdebski R, Oikonomou O, Pfeifer Y, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry meropenem hydrolysis assay with NH4HCO3, a reliable tool for direct detection of carbapenemase activity. J Clin Microbiol. 2015;53 (5):1731
42. Pasteran F, Denorme L, Ote I, Gomez S, De Belder D, Glupczynski Y, Bogaerts P, Ghiglione B, Power P, Mertens P, Corso A. Rapid identification of OXA-48 and OXA-163 Subfamilies in carbapenem-resistant gram-negative bacilli with a novel immunochromatographic lateral flow assay. J Clin Microbiol. 2016;54(11):2832-2836
43. Dortet L, Jousset A, Sainte-Rose V, Cuzon G, Naas T. Prospective evaluation of the OXA-48 K-SeT assay, an immunochromatographic test for the rapid detection of OXA-48-type carbapenemases. J Antimicrob Chemother. 2016;71(7):1834-40.
44. Wareham DW, Shah R, Betts JW, Phee LM, Momin MH. Evaluation of an Immunochromatographic Lateral Flow Assay ( OXA-48 K-SeT) for Rapid Detection of OXA-48-Like Carbapenemases in Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. 2016;54(2):471-3
45. Meunier D, Vickers A, Pike R, Hill RL, Woodford N, Hopkins KL. Evaluation of the K-SeT R.E.S.I.S.T. immunochromatographic assay for the rapid detection of KPC and OXA-48-like carbapenemases. J Antimicrob Chemother. 2016;71 8):2357-9.
46. Glupczynski Y, Evrard S, Ote I, Mertens P, Huang TD, et al. Evaluation of two new commercial immunochromatographic assays for the rapid detection of OXA-48 and KPC carbapenemases from cultured bacteria. J Antimicrob Chemother. 2016;71 ( 5):1217-22.

**3. Enterobacteriaceae, що продукують β-лактамази розширеного спектру (БЛРС)**

|  |  |
| --- | --- |
| **Важливість виявляння механізму резистентності** | |
| Вимагається для клінічної категоризації антимікробної чутливості | **Ні** |
| Для цілей інфекційного контролю | **Так** |
| Для цілей громадського здоров’я | **Так** |

**3.1. Визначення**

БЛРС – це ферменти, що піддають гідролізу більшість пеніцилінів та цефалоспоринів, у тому числі, оксиіміно-β-лактамні сполуки (цефуроксим, цефалоспорини третього та четвертого покоління та азтреонам), але не цефаміцинів або карбапенемів. Більшість БЛРС належать до β-лактамаз класу А за класифікацією Амблеру та інгібуються інгібіторами β-лактамаз (клавуланова кислота, сульбактам та тазобактам) та діазабіциклоотанонами (авібактам) (1).

**3.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення**

Перші штами, які продукують БЛРС, були виявлені у 1983, та з того часу їх спостерігали в усьому світі. Це розповсюдження є результатом експансії клонів мікроорганізмів-продуцентів, горизонтального трансферу генів БЛРС на плазмідах, та, рідше, їх появи з самого початку. Поза усяким сумнівом найбільш клінічно важливі групи БЛРС представляють собою ферменти СТХ-М, які з’явились на початку 2000, за якими слідують БЛРС за типом SHV та TEM (2-5).

Продукування БЛРС спостерігалося головним чином у Enterobacteriaceae, спочатку в зовнішньому середовищі лікарень, потім будинках інвалідів, і приблизно з 2000 року серед громади (амбулаторні хворі, здорові носії, хворі та здорові тварини, продукти харчування). Більшість видів, які продукують БЛРС, які найчастіше зустрічаються - це *Escherichia coli* та *K. pneumoniae.* Однак всі інші клінічно важливі види Enterobacteriaceae також є поширеними продуцентами БЛРС. Переважання позитивних ізолятів БЛРС залежить від численних факторів, у тому числі від видів, географічного розташування, лікарні/палати, групи пацієнтів та типу інфекції, і в різних дослідженнях відзначалися великі варіації (2, 3, 6, 7). Дані мережі EARS-Net за 2015 рік продемонстрували, що рівень інвазивних ізолятів *K. рneumoniae,* не чутливих до цефалоспоринів третього покоління у більшості європейських країн перевищувала 25% або навіть 50%. За винятком Греції та Італії з високою часткою ізолятів, що продукують карбапенемази типу КРС, більшість з цих ізолятів вважалися виробниками БЛРС на основі місцевих результатів визначення БЛРС (8).

**3.3. Механізми резистентності**

Переважна більшість БЛРС є набутими ферментами, що кодуються генами на плазмідах. Набуті БЛРС експресуються на різних рівнях та суттєво відрізняються за біохімічними характеристиками, такими як активність щодо специфічних β-лактамів (наприклад, цефотаксим, цефтазидим, азтреонам). Рівень експресії та властивості ферменту і спільна присутність інших механізмів резистентності (інші β-лактамази, активний ефлюкс, змінена проникність) спричиняють велику різноманітність фенотипів резистентності, що спостерігається серед БЛРС-позитивних ізолятів (1-4, 9, 11).

**3.4. Методи, рекомендовані для виявляння БЛРС у Enterobacteriaceae**

В багатьох установах виявляння БЛРС та їх характеристика є рекомендованим або обов’язковим для цілей інфекційного контролю. Рекомендована стратегія для виявляння БЛРС у Enterobacteriaceae заснована на нечутливості до індикаторних оксиіміноцефалоспоринів, за чим слідують фенотипові (та у деяких випадках генотипові) підтверджуючі дослідження (Таблиця 1, Малюнок 1).

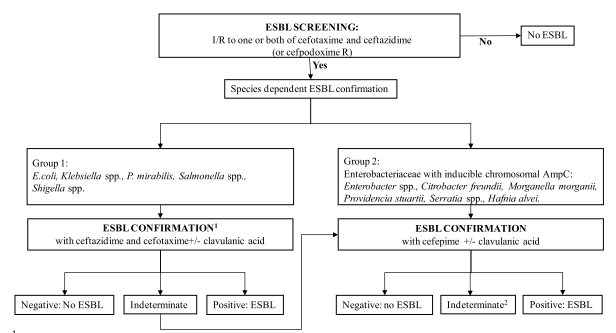
Граничне значення скринінгу >1 мг/л рекомендується для цефотаксиму, цефтриаксону, цефтазидиму та цефподоксиму у відповідності до рекомендацій, виданих EUCAST та CLSI (Таблиця 1) (12, 13). Клінічне граничне значення EUCAST для Enterobacteriaceae також дорівнює S ≤1 мг/л (12). Цефподоксим є найбільш чутливим індивідуальним індикаторним цефалоспорином для виявляння продукування БЛРС та може використовуватися для скринінгу. Однак він менш специфічний, ніж комбінація цефотаксиму (або цефтриаксону) та цефтазидиму (14, 15) та тільки останні сполуки використовуються у дослідженнях щодо підтвердження. Відповідні діаметри зони для індикаторних цефалоспоринів наведені у Таблиці 1.

Таблиця 1. Скринінговий метод виявлення БЛРС у Enterobacteriaceae (13-19).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Метод** | **Антибіотик** | **Проводити випробування БЛРС, якщо** |
| Розведення у бульйоні або агарі1 | Цефотаксим / цефтриаксон  ТА  Цефтазидим | МІК >1 мг/л для кожного препарату |
| Цефподоксим | МІК >1 мг/л |
| Диско-дифузійний метод1 | Цефотаксим (5 мкг) або цефтриаксон (30 мкг)  ТА цефтазидим (10 мкг) | Зона інгібування < 21 мм  Зона інгібування < 23 мм  Зона інгібування < 22 мм |
| Цефподоксим (10 мкг) | Зона інгібування < 21 мм |

1 В усіх методах можна досліджувати цефотаксим або цефтриаксон ТА цефтазидим АБО цефподоксим, а також ці антибіотики окремо.

Малюнок 1. Алгоритм для фенотипового виявляння БЛРС



Позитивне: БЛРС

**Так**

Не визначено2

**СКРИНІНГ БЛРС:**

П/С до одного чи обох (цефотаксим та цефтазидим) (або С до цефподоксиму)

Не визначено2

Негативне: відсутність БЛРС

Позитивне: БЛРС

Негативне: відсутність БЛПС

Група 2:

Enterobacteriaceae із індукованим хромосомним AmpC: *Enterobacter* spp*., Citrobacter freundii, Morganella morganii, Providencia stuartii, Serratia* spp*., Hafnia alvei.*

Група 1:

*E.coli, Klebsiella* spp*., P. mirabilis, Salmonella* spp*., Shigella* spp.

**ПІДТВЕРДЖЕННЯ БЛРС**

із цефепімом ± клавуланова кислота

**ПІДТВЕРДЖЕННЯ БЛРС1**

із цефтазидимом та цефотаксимом ± клавуланова кислота

**Ні**

Види, що залежать від підтвердження БЛРС

Відсутність БЛРС

1 Якщо цефотаксим був досліджений та має МІК більше 8 мг/л, провести дослідження щодо підтвердження із цефепімом ± клавулановою кислотою.

2 Результат не може бути визначений як позитивний або негативний (наприклад, якщо смужку не можна інтерпретувати по причині росту поза межами діапазону МІК або при відсутності чіткої синергії при дослідженні комбінованими дисками та синергідними тестами подвійних дисків). У разі якщо підтвердження із цефепімом ± клавулановою кислотою все ще не визначено, потрібне генотипове випробування.

*3.4.1. Скринінг БЛРС у Enterobacteriaceae*

А. Скринінг у Enterobacteriaceae групи 1 *(E. coli, Klebsiella* spp*., Raoultella* spp*., P. mirabilis, Salmonella* spp*., Shigella* spp*.)*

Методи, рекомендовані для скринінгу БЛРС у Enterobacteriaceae групи 1 - це розведення у бульйоні, розведення у агарі, диско-дифузійний метод або автоматизована система (13, 20, 21). Вимагається, щоб цефотаксим (або цефтриаксон) та цефтазидим використовувалися у якості індикаторних цефалоспоринів, оскільки можуть виникнути значні різниці в МІК цефотаксиму (або цефтриаксону) та цефтазидиму для різних ізолятів, що продукують БЛРС (14, 22, 23).

Алгоритм для скринінгу та фенотипових методів підтвердження БЛРС у Enterobacteriaceae групи 1, що є позитивними у скринінгових дослідженнях, описані на Малюнку 1 та Таблиці 2.

Б. Скринінг у Enterobacteriaceae групи 2 *(Enterobacter spp, Serratia spp., Citrobacter freundii, Morganella morganii , Providencia spp, Hafnia alvei)*

Для Enterobacteriaceae групи 2 рекомендується проводити скринінг БЛРС у відповідності до методів, описаних для *Enterobacteriaceae* групи 1 (Малюнок 1 та Таблиця 3) (19). Однак дуже поширений механізм резистентності у цих видів є пригнічена хромосомна AmpC β-лактамаза. Оскільки цефепім стійкий до гідролізу AmpC, його можна використовувати у фенотиповому випробуванні з клавулановою кислотою.

*3.4.2. Фенотипові методи підтвердження*

Чотири із декількох фенотипових методів засновані на *in vitro* інгібіції активності БЛРС клавулановою кислотою, рекомендуються для підтвердження БЛРС: метод комбінованих дисків (МКД), синергідний тест подвійних дисків (СТПД), градієнтний метод БЛРС та метод мікророзведення у бульйоні (Таблиці 2 та 3) (20, 21, 24). Метод комбінованих дисків продемонстрував кращу специфічність, ніж метод градієнту БЛРС у порівнянні із чутливістю в одному багатоцентровому дослідженні (25). Виробники автоматичних систем визначення чутливості запровадили визначення на основі інгібування ферментів БЛРС клавулановою кислотою. Реалізація методів підтвердження відрізняється в різних дослідженнях в залежності від колекції штамів, які використвуються, та пристрою, що використовується (17-19).

А. Метод комбінованих дисків (МКД)

Для кожного методу застосовуються диски або таблетки, що містять один із цефалоспоринів (цефотаксим, цефтазидим, цефепім) та їх комбінації з клавулановою кислотою. Зону інгібування навколо диску або таблетки з цефалоспорином у поєднанні з клавулановою кислотою порівнюють із зоною навколо диску або таблетки з одним цефалоспорином. Результат позитивний, якщо діаметр зони інгібування ≥ 5 мм навколо диску із клавулановою кислотою, ніж навколо диску без неї (Таблиця 3) (26, 27).

Б. Синергідний тест подвійних дисків(СТПД)

Диски, що містять цефалоспорини (цефотаксим, цефтазидим, цефепім) кладуть на середовище поблизу з диском із клавулановою кислотою (амоксицилін – клавулановою кислотою). Позитивним результат вважають, коли зони інгібування навколо будь-якого з дисків із цефалоспорином збільшуються у напрямку диску, що містить клавуланову кислоту. Відстань між дисками є критичною та було встановлено, що 20 мм від центру до центру є оптимальною відстанню для 30 мкг дисків із цефалоспорином; однак її можна зменшити (до 15 мм) або збільшити (до 30 мм) для штамів з дуже високими або низькими рівнями резистентності, відповідно (20). Рекомендації потрібно переглядати для дисків із меншим вмістом цефалоспоринів, які використовується в диско-дифузійному методі EUCAST.

В. Градієнтний метод визначення

Визначення градієнту проводять, враховують та інтерпретують у відповідності до інструкцій виробника. Результат позитивний, якщо спостерігається зменшення у ≥8 разів МІК цефалоспорину у поєднанні з клавулановою кислотою у порівнянні з МІК одного цефалоспорину або якщо присутня зона фантому чи деформований овал (ілюстрації дивись в інструкціях виробника) (Таблиця 3). Результат дослідження залишається невизначеним, якщо результат неможливо тлумачити по причині росту поза межами діапазону МІК смужки. В усіх інших випадках результат дослідження негативний. Градієнтне випробування БЛРС необхідно використовувати тільки для підтвердження продукування БЛРС, та воно є ненадійним для визначення МІК.

Г. Мікророзведення у бульйоні

Мікророзведення у бульйоні проводять у бульйоні Мюлер-Хінтону, що містить серійні двократні розведення цефотаксиму, цефтазидиму та цефепіму в концентраціях від 0,25 до 512 мг/л із та без додавання клавуланової кислоти при фіксованій концентрації в 4 мг/л.

Результат позитивний, якщо спостерігається зменшення у ≥8 разів в МІК цефалоспорину у поєднанні з клавулановою кислотою у порівнянні з МІК одного цефалоспорину. В усіх інших випадках результат дослідження негативний (24).

Е. Біохімічний (колориметричний) метод

Тест БЛРС NDP був описаний спочатку в 2012 році і використовує цефотаксим як індикаторний антимікробний препарат, при цьому тазобактам як інгібітор (28). Його проводять в 96-лункових планшетах або в окремих пробірках. Зміна кольору від червоного до жовтого вважається позитивним тестом. Тест також був використаний безпосередньо на зразках пацієнтів (29). Було описано відмінну чутливість і специфічність, але тест не оцінювався в будь-якому багатоцентровому дослідженні.

Тест β-LACTA - колориметричний тест з використанням хромогенного субстрату цефалоспорину (HMRZ-86) на ізолятах, а також безпосередньо на клінічних зразках (30). У проспективному багатоцентровому дослідженні в Бельгії та Франції було виявлено чудову чутливість і специфічність для *E. coli* і *K. pneumoniae* (відповідно 96% і 100%), у той же час він показав більш низьку чутливість (67%) для видів, що виробляють індуцибельні AmpC β-лактамази. Висока негативна прогностична цінність для *E. coli* і *K. pneumoniae* (99% у районах з поширеністю C3G стійкості в межах 10-30%) робить цей простий тест дуже ефективним для прогнозування стійкості до цефалоспоринів третього покоління, особливо у штамів що продукують БЛРС.

Ґ. Особливі міркування в інтерпретації

Дослідження щодо підтвердження БЛРС, де використовують цефотаксим у якості індикаторного цефалоспорину, можуть бути хибно позитивними для штамів *Klebsiella oxytoca* з гіперпродукцією хромосомних К1 (за типом OXY) β-лактамаз (31). Схожий фенотип також може зустрічатися в *Proteus vulgaris, Proteus penneri, Citrobacter koseri* та *Kluyvera spp.,* у деяких видах, що відносяться до *C. koseri,* наприклад, *C. sedlakii, C. farmeri* та *C. amalonaticus,* які мають хромосомні β-лактамази, що інгібуються клавулановою кислотою (32, 33). Інша причина хибно позитивних результатів полягає в гіперпродукції β-лактамаз розширеного спектру за типом SHV-1-, TEM-1- або OXA-1 у поєднанні зі зміненою проникністю (18). Схожі проблеми з хибно позитивними результатами дослідження для *K. oxytoca*, що продукують К1, або *E.coli*, продукують ОХА-1 також можуть виникати, коли дослідження проводять для підтвердження на основі тільки цефепіму (34).

Таблиця 2. Методи підтвердження продукції БЛРС для Enterobacteriaceae, що є позитивними у скринінгових дослідженнях продукції БЛРС (дивись Таблицю 1). Enterobacteriaceae групи 1 (дивись Малюнок 1).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Метод** | **Антимікробний препарат (вміст диску)** | **Підтвердження БЛПС позитивне, якщо** |
| Визначення градієнту БЛРС | Цефотаксим ± клавуланова кислота | Відношення МІК ≥ 8 або присутній деформований овал |
| Цефтазидим ± клавуланова кислота | Відношення МІК ≥ 8 або присутній деформований овал |
| Метод комбінованих дисків (МКД) | Цефотаксим (30 мкг) ± клавуланова кислота (10 мкг) | Збільшення в зоні інгібування ≥ 5 мм |
| Цефтазидим (30 мкг) ± клавуланова кислота (10 мкг) | Збільшення в зоні інгібування ≥ 5 мм |
| Мікророзведення у бульйоні | Цефотаксим ± клавуланова кислота (4 мкг) | Відношення МІК ≥ 8 |
| Цефтазидим ± клавуланова кислота (4 мкг) | Відношення МІК ≥ 8 |
| Цефепім ± клавуланова кислота (4 мкг) | Відношення МІК ≥ 8 |
| Синергідний тест подвійних дисків (СПД) | Цефотаксим, цефтазидим та цефепім | Розширення зони інгібування індикаторного цефалоспорину у напрямку диску з амоксициліном та клавулановою кислотою. |

Таблиця 3. Методи підтвердження продукції БЛРС для Enterobacteriaceae, що є позитивними у скринігових дослідженнях продукції БЛРС (дивись Таблицю 1). Enterobacteriaceae групи 2 (дивись Малюнок 1).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Метод** | **Антимікробний препарат (вміст диску)** | **Підтвердження БЛПС позитивне, якщо** |
| Визначення градієнту БЛРС Виявлення продукції БЛРС із невизначеними результатами | Цефепім ± клавуланова кислота | Відношення МІК ≥ 8 або присутній деформований овал |
| Метод комбінованих дисків (МКД) | Цефепім (30 мкг) ± клавуланова кислота (10 мкг) | Збільшення в зоні інгібування ≥ 5 мм |
| Мікророзведення у бульйоні | Цефепім ± клавуланова кислота (фіксована концентрація 4 мг/л) | Відношення МІК ≥ 8 |
| Синергідний тест подвійних дисків (СПД) | Цефотаксим, цефтазидим та цефепім | Розширення зони інгібування індикаторного цефалоспорину у напрямку диску з амоксициліном та клавулановою кислотою. |

*3.4.2. Фенотипове виявляння БЛРС у присутності інших β-лактамаз, що маскують синергію*

Невизначені результати досліджень (Е-тест) та хибно негативні результати досліджень (МКД, СПД, Е-тест та мікророзведення у бульйоні) можуть виникнути із-за високого рівня експресії AmpC β-лактамаз, які маскують присутність БЛРС (20, 34, 35). Ізоляти з експресією AmpC β-лактамаз високого рівня зазвичай демонструють чітку резистентність до цефалоспоринів третього покоління. Крім того, резистентність до цефаміцинів, наприклад, МІК цефокситину більше 8 мг/л, може вказувати на експресію AmpC β-лактамаз високого рівня (31), із рідким винятком АСС β-лактамаз, які не забезпечують резистентність до цефокситину (36).

Для підтвердження присутності БЛРС в ізолятах з експресію AmpC β-лактамаз високого рівня рекомендується проводити додаткове дослідження із підтвердження продукції БЛРС із цефепімом у якості індикаторного цефалоспорину, оскільки цефепім зазвичай не піддає AmpC β-лактамази гідролізу. Цефепім може використовуватися в усіх МКД, СПД, градієнтному дослідженні або мікророзведення у бульйоні (27, 37-39). Альтернативні підходи включають використання клоксациліну, який є гарним інгібітором AmpC ферментів. Формати дослідження – це МКД із дисками, що містять два індикаторні цефалоспорини (цефотаксим та цефтазидим) із клавулановою кислотою та клоксациліном разом; та стандартні випробування МКД або СПД на пластинах щільних середовищах із додаванням 200-250 мг/л клоксациліну (19). Також у продажу є диски або таблетки, що містять як клавуланову кислоту, так і клоксацилін, але бракує багатоцентрових оцінок цієї продукції.

Присутність БЛРС також може бути прихована карбапенемазами, наприклад MBL або KPC (але не ферментами типу ОХА-48) та/або серйозними завадами проникності (40, 41). Епідеміологічна важливість БЛРС в цьому контексті може бути поставлена під сумнів, але якщо виявляння все ще вважається доречним, рекомендується використовувати молекулярні методи для виявляння БЛРС.

*3.4.3. Генотипове підтвердження*

Для генотипового підтвердження присутності генів БЛРС існує ряд можливостей, починаючи від ПЛР і секвенування до секвенування цілого геному, після чого відображаються гени резистентності in silico. Існують також різні мікрочіпи. Існують як комерційні, так і внутрішні методи, але вони не були систематично вивчені і тому не будуть детально розглянуті в цьому документі. Підходи секвенування цілого геному були описані в іншій публікації EUCAST (42)

*3.4.4. Контроль якості*

Нижче наведені деякі можливі контрольні штами для фенотипових і генотипових експериментів для зручності. Діапазони контролю якості для цих штамів недоступні. Користувачі комерційних методів повинні вивчити інформаційне вкладення до набору про те, які контрольні штами використовувати.

Таблиця 4. Можливі штами для контролю якості досліджень з виявляння БЛРС.

|  |  |
| --- | --- |
| **Штам** | **Механізм** |
| *K. pneumoniae* з колекції ATCC 700603 | БЛРС типу SHV-18 |
| *E. coli* із колекції CCUG62975 | БЛРС групи CTX-M-1 та набуті CMY AmpC |
| *E. coli* із колекції ATCC 25922 | БЛРС-негативні |

* 1. Посилання

1. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for P -lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39:211-1233
2. Livermore DM. P-Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev. 1995;8:557-584
3. Bradford PA. Extended-spectrum P-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev. 2001;14:933-951
4. Naas T, Poirel L, Nordmann P. 2008. Minor extended-spectrum P-lactamases. Clin Microbiol Infect.

2008;14 ( Suppl1):42-52

1. Canton R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM. Prevalence and spread of extended- spectrum P-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect. 2008;14 ( Suppl1):144-153
2. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern-Zdanowicz

I, Luzzaro F, Poirel L, Woodford N. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. J Antimicrob Chemother.

2007;59:165-174

1. Carattoli A. Animal reservoirs for extended-spectrum P-lactamase producers. Clin Microbiol Infect.

2008;14 ( Suppl1):117-123

1. European Centres for Disease Prevention and Control ECDC). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network EARS-Net)
2. Gniadkowski M. 2008. Evolution of extended-spectrum P-lactamases by mutation. Clin Microbiol Infect. 2008;14 ( Suppl1):11-32
3. Livermore DM. Defining an extended-spectrum P-lactamase. Clin Microbiol Infect. 2008;14 ( Suppl1):3-10
4. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. EUCAST; 2013. Version 3.0 <http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/> (last accessed 23 December 2012).
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-first Informational Supplement M 100-S21. Wayne, PA, USA: CLSI; 2011.
6. Hope R, Potz NA, Warner M, Fagan EJ, Arnold E, Livermore DM. Efficacy of practised screening methods for detection of cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother. 2007;59 (1):110-3.
7. Oliver A, Weigel LM, Rasheed JK, McGowan Jr JE Jr, Raney P, Tenover FC. Mechanisms of decreased susceptibility to cefpodoxime in Escherichia coli. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46:3829-36.
8. Garrec H, Drieux-Rouzet L, Golmard JL, Jarlier V, Robert J. Comparison of nine phenotypic methods for detection of extended-spectrum P-lactamase production by Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. 2011;49:1048-57.
9. Leverstein-van Hall MA, Fluit AC, Paauw A, Box AT, Brisse S, Verhoef J. Evaluation of the Etest® ESBL and the BD Phoenix, VITEK 1, and VITEK 2 automated instruments for detection of extended-spectrum P-lactamases in multiresistant Escherichia coli and Klebsiella spp. J Clin Microbiol. 2002;40:3703-11.
10. Spanu T, Sanguinetti M, Tumbarello M, D'Inzeo T, Fiori B, Posteraro B, Santangelo R, Cauda R, Fadda G. Evaluation of the new VITEK 2 extended-spectrum P-lactamase (ESBL) test for rapid detection of ESBL production in Enterobacteriaceae isolates. J Clin Microbiol. 2006;44:3257-62.
11. Thomson KS, Cornish NE, Hong SG, Hemrick K, Herdt C, Moland ES. Comparison of Phoenix and VITEK 2 extended- spectrum-ß-lactamase detection tests for analysis of Escherichia coli and Klebsiella isolates with well- characterized ß-lactamases. J Clin Microbiol. 2007;45:2380-4.
12. Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. Phenotypic detection of extended-spectrum ß-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. Clin Microbiol Infect. 2008; 14 (Suppl 1):90-103.
13. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum ß-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005;18:657-86
14. Biedenbach DJ, Toleman M, Walsh TR, Jones RN. Analysis of Salmonella spp. with resistance to extended- spectrum cephalosporins and fluoroquinolones isolated in North America and Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2004). Diagn Microbiol Infect Dis. 2006;54:13-21.
15. Hirakata Y, Matsuda J, Miyazaki Y, Kamihira S, Kawakami S et al. Regional variation in the prevalence of extended- spectrum ß-lactamase-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region (SENTRY 1998-2002). Diagn Microbiol Infect Dis. 2005;52:323-9.
16. Jeong SH, Song W, Kim JS, Kim HS, Lee KM. Broth microdilution method to detect extended-spectrum ß- lactamases and AmpC ß-lactamases in Enterobacteriaceae isolates by use of clavulanic acid and boronic acid as inhibitors. J Clin Microbiol. 2009;47:3409-12.
17. Platteel TN, Cohen Stuart JW, de Neeling AJ, Voets GM, Scharringa J et al. Multi-centre evaluation of a phenotypic extended spectrum ß-lactamase detection guideline in the routine setting. Clin Microbiol Infect. 2013;19:70-6.
18. M'Zali FH, Chanawong A, Kerr KG, Birkenhead D, Hawkey PM. Detection of extended-spectrum ß-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the MAST DD test, the double disc and the Etest® ESBL. J Antimicrob Chemother. 2000;45:881-5.
19. Towne TG, Lewis JS 2nd, Herrera M, Wickes B, Jorgensen JH. Detection of SHV-type extended-spectrum ß- lactamase in Enterobacter isolates. J Clin Microbiol. 2010;48:298-9.
20. Stürenburg E, Sobottka I, Noor D, Laufs R, Mack D. Evaluation of a new cefepime-clavulanate ESBL Etest® to detect extended-spectrum ß-lactamases in an Enterobacteriaceae strain collection. J Antimicrob Chemother. 2004;54:134-8. !
21. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Rapid detection of extended-spectrum-ß-lactamase-producing Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. 2012;50(9):3016-22.
22. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Rapid detection of ESBL-producing Enterobacteriaceae in blood cultures. Emerg Infect Dis. 2015;21 (3):504-7
23. Renvoisé A, Decré D, Amarsy-Guerle R, Huang TD, Jost C, et al. Evaluation of the ß-Lacta test, a rapid test detecting resistance to third-generation cephalosporins in clinical strains of Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. 2013;51 12):4012-7
24. Nukaga M, Mayama K, Crichlow GV, Knox JR. Structure of an extended-spectrum class A ß-lactamase from Proteus vulgaris K1. J Mol Biol. 2002;317:109-17.
25. Petrella S, Renard M, Ziental-Gelus N, Clermont D, Jarlier V, Sougakoff W. Characterization of the chromosomal class A ß-lactamase CKO from Citrobacter koseri. FEMS Microbiol Lett. 2006;254:285-92.
26. Stürenburg E, Sobottka I, Noor D, Laufs R, Mack D. Evaluation of a new cefepime-clavulanate ESBL Etest® to detect extended-spectrum ß-lactamases in an Enterobacteriaceae strain collection. J Antimicrob Chemother. 2004; 54:134-8.
27. Jacoby GA. AmpC ß-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2009;22:161-82
28. Munier GK, Johnson CL, Snyder JW, Moland ES, et al. Positive extended-spectrum-ß-lactamase ( ESBL) screening results may be due to AmpC ß-lactamases more often than to ESBLs. J Clin Microbiol. 2010;48:673-4.
29. Bauernfeind A, Schneider I, Jungwirth R, Sahly H, Ullmann U. A novel type of AmpC ß-lactamase, ACC-1, produced by a Klebsiella pneumoniae strain causing nosocomial pneumonia. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43:1924- 31.
30. Polsfuss S, Bloemberg GV, Giger J, Meyer V, Böttger EC, Hombach M. Evaluation of a diagnostic flow chart for detection and confirmation of extended spectrum ß-lactamases (ESBL) in Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect. 2012;18:1194-204.
31. Yang JL, Wang JT, Lauderdale TL, Chang SC. Prevalence of extended-spectrum ß-lactamases in Enterobacter cloacae in Taiwan and comparison of 3 phenotypic confirmatory methods for detecting extended-spectrum ß- lactamase production. J Microbiol Immunol Infect. 2009;42:310-6.
32. Jeong SH, Song W, Kim JS, Kim HS, Lee KM. Broth microdilution method to detect extended-spectrum ß- lactamases and AmpC ß-lactamases in enterobacteriaceae isolates by use of clavulanic acid and boronic acid as inhibitors. J Clin Microbiol. 2009;47:3409-12.
33. Tsakris A, Poulou A, Themeli-Digalaki K, Voulgari E, Pittaras T, Sofianou D, Pournaras S, Petropoulou D. Use of boronic acid disk tests to detect extended- spectrum ß-lactamases in clinical isolates of KPC carbapenemase- possessing Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. 2009;47:3420-6.
34. March A, Aschbacher R, Dhanji H, Livermore DM, Böttcher A et al. Colonization of residents and staff of a long­term-care facility and adjacent acute-care hospital geriatric unit by multiresistant bacteria. Clin Microbiol Infect. 2010;16:934-44.
35. Ellington MJ, Ekelund O, Aarestrup FM, et al. The role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility testing of bacteria: report from the EUCAST Subcommittee. Clin Microbiol Infect. 2017;23(1):2-22.

**4. Enterobacteriaceae, що продукують набуту AmpC β-лактамазу**

|  |  |
| --- | --- |
| **Важливість виявляння механізму резистентності** | |
| Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості | Ні |
| Для цілей інфекційного контролю | Так |
| Для цілей громадського здоров’я | Так |

**4.1. Визначення**

Цефалоспоринази типу AmpC – це β-лактамази класу С за класифікацією Амблеру. Вони піддають гідролізу пеніциліни, цефалоспорини (у тому числі третього покоління, але зазвичай не сполуки четвертого покоління) та монобактами. Взагалі, ферменти типу AmpC погано інгібуються класичними інгібіторами БЛРС, зокрема клавулановою кислотою (1).

**4.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення**

Перші ізоляти, які продукують набуті AmpC, були виявлені в кінці 1980-х, та з того часу вони спостерігалися в усьому світі в результаті клонального розповсюдження та горизонтального переносу AmpC генів (часто згадуються як плазмід-опосередковані AmpC). Існує декілька ліній мобільних AmpC генів, які походять від природних продуцентів, а саме групи *Enterobacter* (MIR, ACT),групи *C. freundii* (CMY-2 подібні, LAT, CFE),групи *M. morganii* (DHA),групи *Hafnia alvei* (ACC),групи *Aeromonas* (CMY-1 подібні, FOX, MOX)та групи *Acinetobacter baumannii* (ADC).Ферменти, що найбільш поширені та широко розповсюджені – це ферменти CMY-2 подібні, а токож, хоча і в меншішій кількості індуковані DHA подібні β-лактамази та деякі інші (1).

Основні види продуцентів набутих AmpC – це *E. coli, K. pneumoniae, K. oxytoca, Salmonella enterica* та *P. mirabilis.* Ізоляти з цими ферментами були отримані у стаціонарних та амбулаторних хворих, та їх визнали раніше, ніж класичні БЛРС ферменти у тварин на фермах та в продуктах харчування (в *E. coli* та *S. enterica*). Хоча набуті AmpC були дуже поширені та спостерігалися в багатоцентрових дослідженнях ентеробактеріальної резистентності до цефалоспоринів третього покоління, їх загальна частота залишалася набагато нижчою у порівнянні з БЛРС. Однак в деяких місцевих та специфічних епідеміологічних середовищах значення мікроорганізмів, які продукують ці ферменти, може суттєво зростати (1-5).

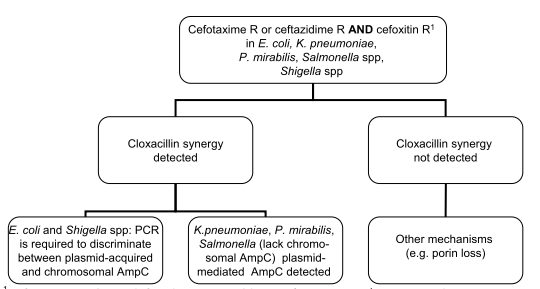
**4.3. Механізми резистентності**

Численні Enterobacteriaceae та деякі інші грам-негативні бактерії продукують природні AmpC, або постійно на слідовому рівні (наприклад, *E. coli, Acinetobacter baumannii*), або індуковано (наприклад, *Enterobacter spp., C. freundii, M. morganii, P. aeruginosa*). Дерепресія або гіперпродукція природних AmpC пояснюється генетичними змінами та забезпечує резистентність до цефалоспоринів високого рівня та комбінацій пеніциліну із інгібіторами β-лактамаз. Цефалоспоринази класу С також можуть виникати у якості набутих ферментів, головним чином в Enterobacteriaceae. За винятком деяких індукованих типів (наприклад, DHA), набуті AmpC проявляються постійно, забезпечуючи резистентність, схожу з тією, що спостерігається в знову активованих або гіперпродукуючих мутантах природних продуцентів AmpC. Рівні резистентності залежать від кількості ферментів, що продукуються, а також присутності інших механізмів резистентності. Як і БЛРС, набуті AmpC зазвичай кодуються плазмідо-опосередкованими генами (1-3).

**4.4. Методи, рекомендовані для виявляння набутих AmpC у Enterobacteriaceae**

МІК цефокситину більше 8 мг/л (розмір зони затримки росту <19 мм) в комбінації з фенотиповою стійкістю до цефтазидиму та/або цефотаксиму (як визначено граничними значенннями) можуть бути використані у якості фенотипового критерію для дослідження продукції AmpC в Enterobacteriaceae групи 1, хоча ця стратегія не виявлятиме АСС-1, плазмідо-опосередковані AmpC які не піддають гідролізу цефокситин (6). Необхідно відзначити, що резистентність до цефокситину також може пояснюватися дефіцитом поринів (1).

Малюнок 1. Алгоритм для виявляння AmpC.



Інші механізми (наприклад, втрата порину)

Цефотаксим С або цефтазидим С **ТА** цефокситин С1 у *E. coli, K. pneumoniae,P. mirabilis, Salmonella spp, Shigella spp*

*K.pneumoniae, P. mirabilis, Salmonella* (відсутні хромосомні AmpC) плазмідо-опосередковані AmpC виявлені.

*E. coli* та *Shigella spp*: Потрібна ПЛР для розрізнення між плазмідо-набутими та хромосомними AmpC

Не виявлена синергія клоксациліну

Виявлена синергія клоксациліну

1 Цефоксити «С» тут визначається, не як дикого типу (МІК більше 8 мг/л або діаметр зони менше 19 мм). Для цефотаксиму і цефтазидиму 'С' - результат, отриманий з використанням поточних граничних значень EUCAST. Дослідження ізолятів з нечутливістю до цефотаксиму та цефтазидиму є підходом з більш високою чутливістю, але меншою специфічністю в порівнянні з фокусуванням на резистентних до цефокситину ізолятів (7). AmpC також може бути присутнім в ізолятах з позитивним ESBL-тестом (синергія клавуланової кислоти). Для лабораторій, які не випробовують цефокситин, схильність до цефепіму разом з резистентністю до цефотаксиму та / або цефтазидиму є іншим фенотиповим показником AmpC, хоча і менш специфічним.

Фенотипові дослідження з підтвердження AmpC взагалі засновані на інгібуванні AmpC або клоксациліном або похідними борної кислоти. Однак похідні борної кислоти також інгібують карбапенемази класу А такі як К1 у K. oxytoca. Хоча існує небагато даних, що оцінюють ці методи, було описане розумне точне виявляння власними методами (8-10), а також тести, що є у продажу, наприклад, “AmpC Detection Disc Set” від Mast (чутливість 96-100%, специфічність 98-100%) (11, 12), Градієнтний тест AmpC, що зараз є у наявності тільки в «bioMérieux» (чутливість 84-93%, специфічність 70-100%) (12, 13) та таблетки із цефотаксимом - клоксациліном та цефтазидимом – клоксациліном від Rosco (чутливість 96%, специфічність 92%) (7, 14). Для *E. coli*, однак, дослідження з підтвердження AmpC не можуть розрізняти між набутими AmpC та постійною гіперпродукцією хромосомних AmpC.

Присутність набутих AmpC також може бути підтверджена за допомогою методів на основі ПЛР (15, 16) або методу ДНК-мікрочипів (Check-Points) (17).

Нижче наведені деякі можливі контрольні штами для фенотипових і генотипових експериментів для зручності. Діапазони контролю якості для цих штамів недоступні. Користувачі комерційних методів повинні звертатися до інструкції виробника про те, які штами контролю використовувати.

Таблиця 1. Приклад штамів для контролю якості досліджень із виявляння AmpC

|  |  |
| --- | --- |
| **Штам** | **Механізм** |
| *E. coli* CCUG 58543 | Набуті AmpC типу CMY-2 |
| *E. coli* CCUG 62975 | Набуті AmpC типу CMY та CTX-M-1 групи БЛРС |
| K. pneumoniae CCUG 58545 | Набуті DHA |
| *E. coli* ATCC 25922 | AmpC та БЛРС негативні |

* 1. Посилання

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

**5. Стійкі до колістину у грам-негативних паличок**

|  |  |
| --- | --- |
| **Важливість виявляння механізму резистентності** | |
| Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості | Так |
| Для цілей інфекційного контролю | Так |
| Для цілей громадського здоров’я | Так |

Набута резистентність до поліміксинів у Enterobacteriaceae з'явилася в останні роки в усьому світі. Особливо тривожною є поява плазмідо опосередкованої стійкості як у тварин, у харчових продуктах, так і у людей, оскільки вона має велику схильність до горизонтального поширення.

Раніше резистентність до поліміксину завжди була опосередкована хромосомами і зазвичай пов'язана з мутаціями в декількох генах, включених в двокомпонентну регуляторну систему біосинтезу ліпіду А, і тим самим регулювання заряду в ліпополісахариді (LPS) (1,2). У 2015 році з'явилися перші доповіді про опосередковану плазмідами стійкість до колістину, і вони були пов'язані з трансмісією фосфоетаноламіну, кодованої плазмідою, яка додає фосфоетаноламіновую групу до ліпіду А. Результат - зменшення чистого негативного заряду в LPS менше взаємодії з позитивно зарядженими поліміксинами. Нова детермінанта резистентності була названа MCR-1 (3). Відтоді цей механізм стійкості був задокументований для присутності на всіх континентах. Один ізолят відомий з 1980-х років, але, як видається, всесвітнє поширання відбулося за останні 5 років (4). Протягом 2016 року було описано два нових варіанти MCR-1 - MCR-1.2 та MCR-2 (5, 6).

У європейських інвазивних штамів *K. pneumoniae* загальний рівень резистентності до колістину становить 8,6% і може становити 29% у карбапенем-резистентних ізолятів (7). Слід зазначити, що коливання рівня стійкості між країнами дуже високі, і що методологічні питання можуть сприяти завищенню чисельності. Вважається, що більша частина резистентності обумовлена хромосомними механізмами, але було зареєстровано кілька повідомлень про ентеробактерії, що продукують карбапенемази з MCR-1 (4).

В даний час не проводяться широко оцінені методи фенотипової характеристики різних механізмів стійкості до поліміксинів, крім власне МІК, визначеної методом мікророзведення у бульйоні (градієнтний і диско дифузійний методи є ненадійними для цього препарату). Нещодавно було виявлено, що MCR-ферменти залежать від цинку для їх гідролізу, і що, таким чином, хелатування цинку може пригнічувати їх активність (8). Тому очікують інгібіторні тести на основі EDTA або дипіколінової кислоти. Проте нинішня увага приділяється виявленню стійкості до поліміксину незалежно від механізму. Лабораторіям рекомендується завжди використовувати метод мікророзведеня у бульйоні для визначення чутливості до колистину і завжди використовувати колістину сульфат (9). Зокрема, диско дифузійні та градієнтні тести не повинні використовуватися, оскільки вони пов'язані з високим ризиком як дуже великих, так і великих помилок при визначенні чутливості (10). Нещодавно також був введений колориметричний метод, але він ще не був перевірений на надійність у більш ніж одному центрі (11). Якщо подальші механістичні дослідження виправдані, це має бути здійснено молекулярними методами. Нинішня рекомендація полягає у проведенні таких подальших випробувань лише на ізолятах стійких до калістину.

Контроль якості визначення чутливості до колістину повинен бути виконаний як з чутливим контрольним штамом (*E. coli* ATCC 25922 або *P. aeruginosa* ATCC 27853), так і з стійким *E. coli* NCTC 13846 (mcr-1 позитивний). Для *E. coli* NCTC 13846 цільове значення MIК для колістину становить 4 мг/л і повинно бути лише 2 або 8 мг/л

* 1. Посилання

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

**6**. ***P. aeruginosa* та *Acinetobacter,* які продукуть карбапенемази**

|  |  |
| --- | --- |
| **Важливість виявляння резистентності** | |
| Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості | Ні |
| Інфекційний контроль | Так |
| Охорона громадського здоров’я | Так |

Карбапенемази, що продукують *P. aeruginosa* і бактерії групи *Acinetobacter baumannii*, є поширеними в багатьох частинах Європи (1). У *P. aeruginosa* VIM, переважно VIM-2, є домінуючим ферментом в Європі, але виробники КРС також були відзначені в країнах Латинської Америки (2). У *Acinetobacter* найчастіше зустрічаються карбапенемази OXA, переважно OXA-23-, OXA 24 / 40-, OXA-58-, OXA-143-, OXA-235-подібні ферменти.

В даний час немає специфічних інгібіторів OXA-карбапенемаз класу D і жоден з існуючих фенотипічних методів не дає задовільних результатів для виявлення / ідентифікації цих карбапенемаз у *Acinetobacter*. Колориметричні аналізи пробувалися, але в цілому не підтвердилися в цьому роді (4). *Acinetobacter* може також мати карбапенемази типу MBL, і можливо, що дослідження можуть краще працювати з цими ферментами.

Для *P. aeruginosa* MBL Etest®, а також дослідження на основі диско-дифузійного методу використовувалися протягом декількох десятиліть, але ускладнювалися поганою специфічністю (5-7). Нещодавно декілька авторів також запропонували різні модифікації комбінованих дискових тестів (або іміпенему, або меропенему в комбінації з різними інгібуючими сполуками класу В (EDTA або DPA), але вони були перевірені в дослідженнях в одному центрі, і їхня стійкість в їхніх параметрах важко з'ясувати в інших (8, 9). Колориметричні тести краще працювали у *P. aeruginosa*, ніж у *Acinetobacter* (10), і, ймовірно, є тестами з найкращою доказовою специфічністю на даний момент. Проте, жоден тест не є достатньо специфічним для використання самостійно без молекулярного підтвердження.

В цілому, повинні бути застосовані генотипічні підходи для характеристики передбачуваних карбапенемаз-продукуючих *P. aeruginosa* і *Acinetobacter*, але особливо для P*. aeruginosa* деякі з вищезгаданих фенотипічних підходів, ймовірно, можуть бути корисними для початкового дослідження.

Слід зазначити, що визначення карбапенемази було б найбільш клінічно релевантним у *P. aeruginosa*, оскільки цей вид може бути резистентним до карбапенему через множинні хромосомні механізми (активний витік, зміна порну або дефіцит). Навпаки, резистентність до карбапенемів в *Acinetobacter* майже постійно обумовлена ​​виробництвом карбапенемаз OXA.

Деякі запропоновані контрольні штами - *P. aeruginosa* NCTC 13437 (VIM-10-продуцент) і *A. baumannii* NCTC 13301 (OXA-23-виробництво). Для цих штамів контрольні діапазони не існують.

1. Посилання
2. Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. Int J Antimicrob Agents. 2010;36 Suppl 3:S8-14.
3. Labarca JA, Salles MJ, Seas C, Guzman-Blanco M. Carbapenem resistance in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii in the nosocomial setting in Latin America. Crit Rev Microbiol. 2016; 42:276-92.
4. Higgins PG, Pérez-Llarena FJ, Zander E, Fernandez A, Bou G, Seifert H. OXA-235, a novel class D ß-lactamase involved in resistance to carbapenems in Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57 ( 5):2121-6
5. Noël A, Huang TD, Berhin C, Hoebeke M, Bouchahrouf W, Yunus S, Bogaerts P, Glupczynski Y. Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria. J Clin Microbiol. 2017;55 ( 2):510-518.
6. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-ß-lactamase-producing isolates of Pseudomonas spp. and Acinetobacter spp. J Clin Microbiol 2003; 41, 4623-4629
7. Hansen F, Hammerum AM, Skov R, Haldorsen B, Sundsfjord A, Samuelsen O. Evaluation of the total MBL confirm kit ROSCO) for detection of metallo-ß-lactamases in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014;79(4):486-8
8. Samuelsen O, Buar0 L, Giske CG, Simonsen GS, Aasnaes B, Sundsfjord A. Evaluation of phenotypic tests for the detection of metallo-ß-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in a low prevalence country. J Antimicrob Chemother. 2008;61 4):827-30
9. Fournier D, Garnier P, Jeannot K, Mille A, Gomez AS, Plésiat P. A convenient method to screen for carbapenemase-producing Pseudomonas aeruginosa. J Clin Microbiol. 2013;51 (11):3846-8.
10. Heinrichs A, Huang TD, Berhin C, Bogaerts P, Glupczynski Y. Evaluation of several phenotypic methods for the detection of carbapenemase-producing Pseudomonas aeruginosa. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2015;34(7):1467-74.
11. Kabir MH, Meunier D, Hopkins KL, Giske CG, Woodford N. A two-centre evaluation of RAPIDEC® CARBA NP for carbapenemase detection in Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter spp. J Antimicrob Chemother. 2016;71 5):1213-6.

**7. Метицилін резистентний *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

|  |  |
| --- | --- |
| **Важливість виявляння резистентності** | |
| Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості | Так |
| Для цілей інфекційного контролю | Так |
| Для цілей громадського здоров’я | Так |

**7.1. Визначення**

Ізоляти *S. aureus* з допоміжним пеніцилін-зв’язуючим білком (ПЗБ2а/ПБЗ2с що кодується генами *mecА* або *mecC*), для яких β-лактамні препарати, за винятком нового класу цефалоспоринів із активністю щодо MRSA, мають слабку спорідненість (цефтаролін та цефтобіпрол)

**5.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення**

Метицилін - резистентний *S. aureus* є основною причиною захворюваності та смертності в усьому світі (1, 2). Смертність від інфекцій кровотоку, викликаних MRSA, трапляється у два рази частіше в порівнянні зі схожими інфекціями, які спричиняються метицилін чутливими штамами у зв’язку із затримкою адекватного лікування та неефективного альтернативного лікування (3). Інфекції, викликані MRSA, характерні певній місцевості та виникають як в лікарнях, так і серед здорового населення в усіх частинах світу.

**5.3. Механізми резистентності**

Основний механізм резистентності – це продукування допоміжного пеніцилін-зв’язуючого білка, ПЗБ2а/ПБЗ2с, який робить ізолят резистентним до всіх β-лактамів, за винятком нового класу специфічних «анти-MRSA» цефалоспоринів. Ці препарати мають достатньо високу спорідненість із ПЗБ2а та, можливо, також ПЗБ, що кодуються геном *mecC*, з активністю щодо MRSA (4). Допоміжні ПЗБ кодуються геном *mecA* або нещодавно описаним *mecC* (5). Елемент *mec* чужорідний до *S. aureus* та відсутній в метицилін чутливих *S. аureus.* Штами з вираженою гетерогенною експресією гену *mecA* та часто низькими МІК оксациліну перешкоджають точності визначенню чутливості (5). Більш того, деякі ізоляти мають резистентність низького рівню до оксациліну, але є *mecA* та *mecC* негативні і не продукують альтернативні ПЗБ [гранично чутливі *S. aureus* (BORSA)]. Ці штами відносно рідкі та механізм резистентності охарактеризований неналежно, але вони можуть включати гіперпродукцію β-лактамаз або зміну попередньо існуючих ПЗБ (6).

У різних частинах світубули описані *mecA*-позитивні ізоляти *S. aureus*, сприйнятливі як до цефокситину, так і до оксациліну (OS-MRSA) внаслідок інактивації *mecA*. Ці штами відрізняються від гетерогенно резистентних MRSA, які є також чутливими до оксациліну, але які є резистентними до цефокситину (7, 8). Частота таких ізолятів оцінюється приблизно в 3% відповідно до загальноприйнятих фенотипових результатів і результатів ПЛР, позитивних для *mecA*. Повернення від метицилін чутливості до метицилін резистентності при тривалій антибіотикотерапії було повністю задокументовано в одному випадку (9), але, як очікується, відбувалося і в інших випадках, але швидкість такої оборотної резистентності в даний час невідома. Такі ізоляти за визначенням можуть бути виявлені тільки за допомогою молекулярного аналізу. Слід зазначити, що це не стосується того, що молекулярний аналіз слід проводити з усіма штамами, але це явище може бути важливим у випадку терапевтичної недостатності. Якщо ген *mecA* виявляється випадковим чином або через скринінг через терапевтичну недостатність, ізоляти завжди слід реєструвати як стійкі.

**7.4. Методи, рекомендовані для виявляння метицилін резистентних *S. aureus***

Резистентність до метициліну/оксациліну може бути виявлена як фенотипово шляхом визначення МІК, диско-дифузійним методом. Латекс-аглютинація може бути використана для виявляння ПЗБ2а, але не для визначення ПБЗ2с. Генотипове визначення можна виконати за допомогою ПЛР.

*5.4.1. Виявляння шляхом визначення МІК або диско-дифузійним методом*

Гетерогенна експресія резистентності зокрема впливає на МІК оксациліну, який може бути чутливим. Цефокситин дуже чутливий та специфічний маркер *mecA/mecC* опосередкованої резистентності до метициліну включаючи штами з гетерогенною експресією та препаратом вибіру. Диско дифузійний метод з використанням оксациліну не рекомендується, а діаметри зон інтерпретації більше не включаються в таблицю граничних значень EUCAST через погану кореляцію з наявністю mecA.

А. Мікророзведення у бульйон:

Використовується стандартна методика (ISO 20776-1) і штами з МІК >4 мг/л повинні повідомлятись як метицилін-резистентні.

В. Диско дифузійний метод:

Використовується диско дифузійний метод EUCAST. Штами із зоною затримки росту навколо диску із цефокситином (30 мг) <22 мм повинні повідомлятись як метицилін-резистентні.

*7.4.2 Виявлення генотиповими методами та методом латек-аглютинації*

Генотипове виявлення генів *mecA* і *mecC* за допомогою ПЛР (10, 11) і детекції білка ПБЗ2a з наборами для латекс-аглютинації можливо за допомогою комерційних або власних наборів. ПБЗ2c не виявляється більшістю комерційних тестів.

*7.4.3 Контрольні штами*

Нижче наведені деякі можливі контрольні штами для фенотипових і генотипових досліджень для зручності. Діапазони контролю якості для цих штамів недоступні. Користувачі комерційних методів повинні вивчити інструкцію до реактивів, які контрольні штами використовувати.

Таблиця 1. Інтерпретація, коли дослідженьіз оксациліном та цефокситином відрізняються.

|  |  |
| --- | --- |
| **Штам** | **Механізм** |
| *S. aureus* із колекції ATCC 29213 | Чутливий до метициліну |
| *S. aureus* із колекції NCTC 12493 | Резистентний до метициліну (*mecA*) |
| *S. aureus* із колекції NCTC 13552 | Резистентний до метициліну (*mecС*) |

* 1. References

1. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible Staphylococcus aureus bacteremia: a meta­analysis. Clin Infect Dis. 2003; 36:53-9.
2. de Kraker ME, Wolkewitz M, Davey PG, Koller W, Berger J, et al. Clinical impact of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay related to methicillin-resistant Staphylococcus aureus bloodstream infections. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55:1598-605.
3. de Kraker ME, Davey PG, Grundmann H; BURDEN study group. Mortality and hospital stay associated with resistant Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. PLoS Med. 2011;8 (10):e1001104.
4. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era. Nat Rev Microbiol. 2009;7:629-41.
5. Garda-Älvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, et al. Meticillin-resistant Staphylococcus aureus with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. Lancet Infect Dis. 2011;11:595-603
6. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev. 1997;10:781-91.
7. Hososaka Y, Hanaki H, Endo H, et al. Characterization of oxacillin-susceptible mecA-positive Staphylococcus aureus: a new type of MRSA. J Infect Chemother 2007; 13:79-86.
8. Andrade-Figueiredo M, Leal-Balbino TC. Clonal diversity and epidemiological characteristics of Staphylococcus aureus: high prevalence of oxacillin-susceptible mecA-positive Staphylococcus aureus ( OS-MRSA) associated with clinical isolates in Brazil. BMC Microbiol. 2016; 16:115
9. Proulx MK, Palace SG, Gandra S, Torres B, Weir S, Stiles T, Ellison RT 3rd, Goguen JD. Reversion From Methicillin Susceptibility to Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus During Treatment of Bacteremia. J Infect Dis. 2016; 213:1041-8.
10. Stegger M, Andersen PS, Kearns A, Pichon B, Holmes MA, Edwards G, Laurent F, Teale C, Skov R, Larsen AR. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus harbouring either mecA or the new mecA homologue mecALGA251. Clin Microbiol Infect. 2012; 4:395-400.
11. Pichon B, Hill R, Laurent F, Larsen AR, Skov RL, Holmes M, Edwards GF, Teale C, Kearns AM. Development of a real-time quadruplex PCR assay for simultaneous detection of nuc, Panton-Valentine leucocidin (PVL), mecA and homologue mecALGA251. J Antimicrob Chemother. 2012; 67:2338-41.

**8. Ванкоміцин резистентний *Staphylococcus aureus***

|  |  |
| --- | --- |
| **Важливість виявляння резистентності** | |
| Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості | Так |
| Для цілей інфекційного контролю | Так |
| Для цілей громадського здоров’я | Так |

**8.1. Визначення**

Клінічні граничні значення МІК від EUCAST щодо резистентності до ванкоміцину у *S. aureus* більше 2 мг/л. За останні роки граничні значення для ванкоміцину були знижені, таким чином перемістивши його до групи помірно резистентних. Однак існує важлива різниця між механізмами резистентності VanA-опосередкованим високим рівнем резистентності (VRSA) та неVanA-опосередкованим низьким рівнем резистентності. Отже, терміни «помірно резистентний до ванкоміцину *S. аureus»* (VISA) та «гетерогенний помірно резистентний до ванкоміцину *S. аureus»* (hVISA) використовувалися для ізолятів з неVanA-опосередкованим низьким рівнем резистентності до вакоміцину. Завжди необхідно визначати МІК, коли ванкоміцин застосовують для лікування хворих із серйозною інфекцією, викликаною *S. aureus.* В обраних випадках, наприклад, коли підозрюється терапевтична невдача, також можна гарантувати проведення дослідження для hVISA. Із причини складності підтвердження hVISA антимікробний нагляд фокусується на виявлянні VISA та VRSA.

VRSA: Ванкоміцин резистентні *S. aureus*:

Ізоляти *S. aureus* із резистентністю високого рівня до ванкоміцину (МІК > 8 мг/л).

VISA: Помірно резистентні до ванкоміцину *S. aureus*

Ізоляти *S. aureus* із резистентністю низького рівня до ванкоміцину (МІК 4-8 мг/л).

hVISA: Гетерогенні помірно резистентні до ванкоміцину *S. aureus.*

Ізоляти *S. aureus*, чутливі до ванкоміцину (МІК < 2 мг/л), але із меншими популяціями (1 в 106 клітин) із МІК ванкоміцину >2 мг/л, виходячи з профільного дослідження аналізу популяцій.

Слід зазначити, що хоча ці терміни все ще залишаються, всі вищезгадані категорії слід вважати клінічно стійкими.

**8.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення**

В Європі відсутні сучасні дослідження щодо переважання ізолятів зі зменшеною чутливістю до гликопептидів. Згідно повідомленням з поодиноких інституцій було виявлено, що переважання hVISA в Європі складало < 2% у порівнянні з MRSA, а VISA – нижче 0,1% (1). В Європі ще не повідомляли про VRSA та зараз вони дуже рідко зустрічаються в усьому світі (2). Переважання hVISA може бути значно вище на місцевому рівні (1), що часто пов’язують з поширенням специфічних клональних родових видів (2). Майже всі ізоляти з підвищеним МІК (VISA) або ті, що містять резистентні субпопуляції (hVISA), є MRSA.

Було важко визначити клінічне значення hVISA, оскільки не проводилося жодних добре контрольованих перспективних досліджень. Однак вважається, що присутність фенотипу hVISA пов’язана з більш несприятливими наслідками хвороби, щонайменш при серйозних інфекціях (1, 2).

Таким чином присутність фенотипу hVISA пов'язане з гіршим результатом, принаймні при серйозних інфекціях (2, 3). Тому доцільно досліджувати наявність hVISA в інфекціях кровотоку, які не відповідають на терапію. Останнім часом з'явилося все більше доказів того, що ізоляти з MIК у верхній частині діапазону дикого типу (MIC> 1 мг / л) пов'язані з більш низьким результатом і можуть бути пов'язані з підвищеною смертністю, принаймні в інфекціях кровотоку (3-8 ). Можлива причина цих спостережень незрозуміла, але може бути обумовлена недостатньою експозицією ванкоміцину (9, 10). Крім того, інтерпретація результатів цих досліджень змішана відмінностями в МІК, сформованих різними методами тестування (8, 9).

Механізм hVISA є складним та виявляння покладається на аналіз популяції (11), що є громіздким, вимагає спеціального обладнання та потребує високого рівня технічного досвіду. Методологія виявляння hVISA буде стисло окреслена, але з метою нагляду звітність обмежується VISA та VRSA, які разом визначаються, як ізоляти із МІК >2 мг/л.

**8.3. Механізм резистентності**

Для VRSA резистентність опосередкується геном *vanA,* який набувають екзогенним чином від ентерококів. Для обох типів ізолятів VISA та VRSA резистентність є ендогенною (наприклад, хромосомні мутації) та механізм є надто складним, оскільки відсутній один окремий ген, який за це відповідає. Фенотип VISA/hVISA пов’язаний зі потовщенням стінки бактеріальної клітини, гіперпродукцією гликопептид-з’язуючих мішеней. Фенотип hVISA часто нестабільний в лабораторії, але hVISA має здатність розвиватися до VISA *in vivo* (2).

**8.4. Методи, рекомендовані для виявляння *S. аureus,* не чутливих до ванкоміцину**

Диско-дифузійний метод НЕ МОЖЕ використовуватися для дослідження hVISA або VISA, Але може застосовуватися для дослідження VRSA, хоча є обмежена кількість підтверджень цього (12).

*8.4.1. Визначення МІК*

Метод мікророзведення у бульйоні, як рекомендовано EUCAST (ISO 20776-1), є золотим стандартом. , але МІК також можна визначати градієнтними методами за допомогою смужок, розчиненням веденням у агарі або автоматичними системами. Необхідно відзначити, що результати отримані за допомогою градієнтних смужок можуть відрізнятися на 0,5-1 чи два кроки розведення більше у порівнянні із мікророзведенням у бульйоні (7). Граничне значення EUCAST для резистентності до ванкоміцину в *S. Aureus* дорівнює МІК, що більше 2 мг/л. Ізоляти із підтвердженими МІК більше 2 мг/л (згідно мікророзведенню у бульйоні) необхідно надсилати до референс-лабораторії. Штами hGISA не виявляються методои визначення МІК.

*8.4.2. Дослідження із виявляння GRSA, GISA та hGISA*

Виявлення hGISA мало свої труднощі та, таким чином, його поділили на скринінг та підтвердження. Багато спеціальних методів було розроблено для скринінгу. Підтвердження здійснюється шляхом аналізу профілю популяції ізоляту на пластинах щільних середовищах, що містять широкий діапазон концентрацій ванкоміцину (ПФК/МІК – відношення площі під фармакокінетичною кривою та МІК).

Цей метод є технічно складним без достатнього досвіду та, як наслідок, найчастіше застосовується в референсних-лабораторіях. Метод, заснований на застосуванні ванкоміцину та казеїнового агару для скринінгу (9), продемонстрував високу чутливість та специфічність, але був розглянутий тільки в одному дослідженні, і з цієї причини не був включений до цього документу. Наступні методи виявлення GRSA та GISA були розглянуті в багатоцентровому дослідженні (10).

А. Макроградієнтне дослідження:

Це дослідження забезпечує уявлення про зменшену чутливість до ванкоміцину, але зверніть увагу, що показання не належать до МІК. Крім того, дослідження не розрізняє hGISA, GISA та GRSA. Дослідження проводять згідно інструкцій виробника. Також зверніть увагу, що інокулят вище за каламутністю (2,0 МакФарланд) у порівнянні зі стандартними градієнтними дослідженням. Позитивний результат досягають при показаннях ≥ 8 мг/л для ванкоміцину та тейкопланіну АБО ≥ 12 мг/л тільки для тейкопланіну.

Оскільки обидва критерії включають тейкопланін, дослідження ванкоміцину може залежати від результату дослідження тейкопланіну. Застосовуватиметься наступний алгоритм:

* Значення тейкопланіну ≥12 мг/л: GRSA, GISA або hGISA
* Значення тейкопланіну 8 мг/л: дослідження ванкоміцину. Якщо показання ванкоміцину ≥ 8 мг/л, тоді GRSA, GISA або hGISA
* Значення тейкопланіну < 8 мг/л: це не GRSA, GISA або hGISA

Б. Градієнтне дослідження для виявляння резистентності до гликопептидів (GRD)

Дослідження проводять згідно інструкцій виробника. Дослідження вважається позитивним, якщо результат смужки тесту GRD ≥ 8 мг/л або для ванкоміцину, або для тейкопланіну.

В. Скринінг на агарі із тейкопланіном

Використовується агар Мюлер-Хінтону, що містить 5 мг/л тейкопланіну (10). Декілька колоній розводять у 0,9% фізіологічному розчині для отримання інокуляту з каламутністю, що дорівнює 2,0 одиниці МакФарланду. Наносять десять мікролитрів інокуляту, як пляму на поверхню агару, та інкубують при температурі 35°С в повітрі протягом 24-48 годин. Ріст більше двох колоній при 48 годинах вказує на підозрювану зменшену чутливість до гликопептидів.

Г. Дослідження із підтвердження hGISA/GISA:

Будь-який ізолят, що є позитивним для зменшеної чутливості та не ототожнений як GRSA або GISA при визначенні МІК, може бути hGISA, і його можна дослідити за аналізом співвідношення площі під фармакокінетичною кривою та МІК (ПФК/МІК) як правило, шляхом надсилання до референс-лабораторії.

*6.4.3. Контрольні штами*

Відповідні штами для контролю якості досліджень з чутливості до гликопептидів наведені у Таблиці 1.

Таблиця 1. Відповідні штами для контролю якості досліджень з чутливості до гликопептидів

|  |  |
| --- | --- |
| **Штам** | **Механізм** |
| *S. aureus* із колекції ATCC 29213 | Чутливий до гликопептидів |
| *S. aureus* із колекції ATCC 700698 | hGISA (Mu3) |
| *S. aureus* із колекції ATCC 700699 | GISA (Mu50) |

**7. *Enterococcus faecium* та *Enterococcus faecalis*, резистентні до ванкоміцину**

|  |  |
| --- | --- |
| **Важливість виявляння резистентності** | |
| Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості | Так |
| Інфекційний контроль | Так |
| Охорона громадського здоров’я | Так |

**7.1. Визначення**

*Enterococcus faecium* або *Enterococcus faecalis* із резистентністю до ванкоміцину (VRE) при МІК ванкоміцину більше 4 мг/л.

**7.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення**

Ентерококи, зокрема *E. faecium,* в основному, резистентні до більшості клінічних антимікробних препаратів. Лікування інфекцій, викликаних ентерококами, резистентними до ванкоміцину (VRE), таким чином, ускладнюється і має небагато варіантів терапії. Відомо, що VRE поширюються ефективно та залишаються в лікарняному середовищі і можуть колонізувати багато осіб, серед яких тільки деякі можуть у майбутньому мати ентерококові інфекції (6, 7). Ізоляти, із прихованим геном VanB, зазвичай фенотипово чутливі до тейкопланіну. Згадується про два клінічні випадки селекції резистентності до тейкопланіну протягом лікування у ентерококів із прихованим геном VanB (8, 9), але не вистачає інформації про клінічні невдачі, і поточні рекомендації EUCAST полягають в тому, що потрібно звітувати про всі результати досліджень для тейкопланіну. Типові величини МІК для клінічно найбільш важливих ферментів Van наведені у Таблиці 1.

Таблиця 1. Типові МІК гликопептидів для ентерококів ізприхованими генами VanA або VanB.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Гликопептид** | **МІК (мг/л)** | |
|  | **VanA** | **VanB** |
| Ванкоміцин | 64-1024 | 4-1024 |
| Тейкопланін | 8-512 | 0.06-1 |

**7.3. Механізм резистентності**

Клінічно важлива резистентність найчастіше опосередковується лігазами, що кодуються плазмидами генів VanA та VanB, що замінюють заключні D-Ala в пептидоглікані на D-Lac. Ця заміна зменшує приєднання гликопептидів до мішені. Штами VanA демонструють резистентність, як до ванкоміцину, так і до тейкопланіну, тоді як штами VanB зазвичай залишаються чутливими до тейкопланіну завдяки нестачі індукції оперону резистентності. Інші ферменти Van із слабкішим переважанням – це VanD, VanE, VanG, VanL, VanM та VanN (1-4).

Додаткові види ентерококів (наприклад, *E. raffinosus, E. gallinarum* та *E. casseliflavus*) можуть містити *vanA, vanB* або інші гени *van*, що кодують вищезазначені ферменти, але ці штами зустрічаються відносно рідко. Ферменти VanC, що кодуються хромосомами, були знайдені в усіх ізолятах *E. gallinarum* та *E. сasseliflavus.* VanC опосередковує резистентність низького рівня до ванкоміцину (МІК 4-16 мг/л), але взагалі не має вважатися важливим з точки зору інфекційного контролю (5)

**7.4. Методи, рекомендовані для виявляння резистентності до гликопептидів в *E. faecium* та *E. faecalis***

Резистентність до ванкоміцину можна виявити шляхом визначення МІК, диско-дифузійним методом та методом серійних розведень в агарі. В усіх трьох методах важливо, щоб середовище інкубували протягом повних 24 годин для виявлення ізолятів з індукованою резистентністю.

Всі три методи легко виявляють резистентність, опосередковану геном *vanA.* Виявлення резистентності, опосередкованої геном *vanB*, є більш складним процесом. Визначення МІК шляхом розведення у агарі або у бульйоні є точним методом, але рідко застосовується у звичайних лабораторіях (10, 11). Застарілі звіти демонструють, що виявлення резистентності, опосередкованої геном *vanB*, є проблематичним для автоматичних методів (12). За цей час автоматичні методи були оновлені, але бракує більш сучасних досліджень того, чи покращилися характеристики цих методів для виявлення резистентності, опосередкованої геном *vanB.* Диско-дифузійний метод із 5 мкг диском з ванкоміцином здійснюється важко, але дослідження має гарні результати на умовах суворого дотримання рекомендацій із інтерпретації, як вказано EUCAST (неопубліковані дані референс-лабораторії EUCAST).

При інтерпретації результатів визначення МІК або диско-дифузійного методу важливо впевнитись, що ізолят не належить до *E. gallinarum* або *E. casseliflavus,* який можна помилково сприйняти як *E. faecium* завдяки позитивному результату у тесті із арабінозою. Дослідження МГП (метил-альфа-D-глюкопіранозиду) або тест на рухливість можуть застосовуватися для розрізнення *E. gallinarum / E. casseliflavus* від *E. faecium* (МГП негативний, не рухливий). Мас-спектрометрія MALDI-TOF також корисна для ідентифікації видів ентерококів (13).

*7.4.1. Визначення МІК*

Визначення МІК можна здійснювати методом розведення в агарі, мікророзведення у бульйоні або градієнтними методами визначення МІК.

Мікророзведення у бульйоні проводять у відповідності зі стандартом ISO 20776-1, як рекомендовано EUCAST. Визначення МІК за допомогою градієнтних досліджень проводиться відповідно до інструкцій виробника. Будь-ласка, зверніть увагу, що градієнтні смужки для визначення МІК іноді використовуються з щільнішим інокулятом за каламутністю (2,0 одиниці МакФарланду) на багатому середовищі (агар із серцево-мозковою витяжкою) для спостереження за резистентністю до ванкоміцину, але цей аналіз не надає величини МІК.

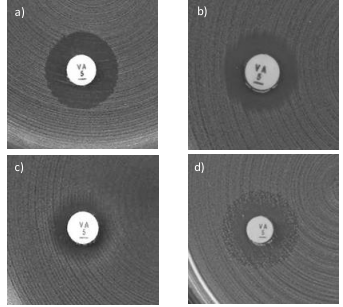
*7.4.2. Диско-дифузійний метод.*

При диско-дифузійному методі слід ретельно дотримуватися методу, вказаного EUCAST. Вивчайте зони щодо неясних країв та/або мікроколоній за допомогою заломленого світла. Гострі краї зони вказують, що ізолят чутливий, та ізоляти із гострими зонами та діаметрами зон, що вище граничного значення, можуть вважатися чутливими до ванкоміцину.

Ізоляти з неясними краями зон або колоніями у межах зони (Малюнок 1) можуть бути резистентними, незважаючи на розмір зони, та їх не слід вважати чутливими без підтвердження шляхом визначення МІК.

* Дослідження диско-дифузійним методом проводять згідно методології EUCAST для невибагливих мікроорганізмів Потрібна інкубація протягом 24 годин для виявляння резистентності в деяких ізолятах з індукованою резистентністю.

Малюнок 1. Інтерпретація результатів дослідження чутливості *Enterococcus* spp. До ванкоміцину диско-дифузійним методом



а) Гострі краї зони та діаметр зони ≥ 12 мм. Вважається чутливим.

b-d) Неясні краї зони та/або колонії у межах зони. Вважається резистентним, незважаючи на діаметр зони.

*7.4.3. Визначення граничних значень методом розведення в агарі*

Дослідження з визначення граничних значень шляхом розведення у серцево-мозковому агарі із застосуванням 6 мг/л ванкоміцину є надійним способом виявлення *vanA-* та *vanB* позитивних ізолятів. Середовище для визначення граничних значень можна виробників використовувати як комерційного виробництва так і власного. Дослідження із визначення граничних значень проводиться шляхом розведення 1 x 105 - 1 x 106 КУО (10 мкл суспензії з каламутністю в 0,5 Макфарланду) в серцево-мозковому агарі із застосуванням 6 мг/л ванкоміцину. Потрібна інкубація протягом 24 годин при температурі навколишнього повітря в 35±1°C для виявляння резистентності в деяких ізолятах із індукованою резистентністю. Ріст більше однієї колонії вважається позитивним результатом.

*7.4.4. Генотипове дослідження*

Виявлення резистентності до ванкоміцину шляхом застосування ПЛР, що робить мішенями гени *vanA* та *vanB,* також може здійснюватися з використанням комерційних або власних методологій (14-16).

*7.4.5. Контроль якості*

Відповідні штами для контролю якості досліджень з чутливості до гликопептидів наведені у Таблиці 2.

Таблиця 2. Відповідні штами для контролю якості досліджень з чутливості до гликопептидів

|  |  |
| --- | --- |
| **Штам** | **Механізм** |
| *E. faecalis* із колекції ATCC 29212 | Чутливий до ванкоміцину |
| *E. faecalis* із колекції ATCC 51299 | Резистентний до ванкоміцину (*vanB*) |
| *E. faecium* із колекції NCTC 12202 | Резистентний до ванкоміцину (*vanА*) |

**8. *Streptococcus pneumoniae*, не чутливий до пеніциліну**

|  |  |
| --- | --- |
| **Важливість виявляння резистентності** | |
| Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості | Так |
| Інфекційний контроль | Ні |
| Охорона громадського здоров’я | Так |

**8.1. Визначення**

Ізоляти *S. pneumoniae* зі зменшеною чутливістю до пеніциліну (МІК вище у порівнянні з диким типом, тобто більше 0,06 мг/л) завдяки присутності модифікованих пеніцилін-зв’язючих білків (ПЗБ) із меншою спорідненістю із β-лактамами.

**8.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення**

*S. pneumoniae –* це найбільш поширена причина пневмонії в усьому світі. Захворюваність та смертність високі та приблизно три мільйони людей вмирають щорічно від пневмококових інфекцій. Слабка виражена нечутливість до пеніциліну пов’язана зі збільшеною смертністю, коли менінгіт лікують бензилпеніциліном. В інших типах інфекцій не спостерігається збільшеної смертності з резистентністю низького рівня, якщо застосовують більш високі дози. Багато країн здійснюють програми з вакцинації щодо деяких пневмококових серотипів, та це також може впливати на рівні резистентності, які спостерігаються у інвазивних ізолятах(1). Однак *S. pneumoniae,* не чутливі до пеніциліну, залишаються основною клінічною проблемою з точки зору охорони громадського здоров’я, хоча ці мікроорганізми не пов’язані із розповсюдженням в інституціях охорони здоров’я, на відміну від інших патогенів, згаданих в цьому документі.

**8.3. Механізм резистентності**

*S. pneumoniae* містить шість ПЗБ, із яких ПЗБ 2а є первинною мішенню пеніциліну (2). Присутність «мозаїчних генів», що кодують ПЗБ із низькою спорідненістю, є результатом горизонтального трансферу генів з умовно-патогенних стрептококів групи віріданс (2). Рівень резистентності до β-лактамів залежить не тільки від мозаїчних ПЗБ з низькою спорідненістю, що присутні в ізоляті, але і також від модифікації специфічних ПЗБ, які є важливими для *S. pneumoniae* (3). Штами з МІК бензилпеніциліну у діапазоні 0,12-2 мг/л вважаються чутливими при не менінгітних інфекціях, коли застосовують більш високу дозу пеніциліну, тоді як для менінгіту такі штами завжди вважаються резистентними (4).

**8.4. Методи, рекомендовані для виявляння *S. pneumoniae*, що нечутливі до пеніциліну**

Нечутливість до пеніциліну можна визначити фенотипово шляхом визначення МІК або диско-дифузійними методами.

*8.4.1. Диско-дифузійний метод*

Диско-дифузійний метод з диском з 1 мкг оксациліну є ефективним методом скринінгу для виявляння пневмококів, не чутливих до пеніциліну (5,6, 7). Метод дуже чутливий, але не надто специфічний, оскільки штами з діаметрами зон ≤ 19 мм можуть мати змінну чутливість до бензилпеніциліну, та необхідно визначити МІК бензилпеніциліну для всіх ізолятів, що є не чутливими в методі скринінгу.

Для β-лактамів, інших, ніж бензилпеніцилін, можна використовувати діаметр зони оксациліну для передбачення чутливості, як наведено у Таблиці 1.

Таблиця 1. Скринінг резистентності до β-лактамів в *S. pneumoniae.*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Діаметр зони (мм) із оксациліном (1 мкг)** | **Антимікробні препарати** | **Подальше випробування та/або інтерпретація** |
| ≥ 20 мм | Всі β–лактамні препарати, для яких наведені клінічні граничні значення (у тому числі ті, що з позначкою «Примітка») | Вважати чутливими, незалежно від клінічного показання, за винятком цефаклору, який, якщо про нього звітують, має вважатися помірно резистентним. |
| < 20 мм\* | Бензилпеніцилін (менінгіт) та феноксиметилпеніцилін (всі показання) | Вважати резистентним. |
| Ампіцилін, амоксицилін та піперацилін (із та без інгібітору β-лактамази), цефотаксим, цефтриаксон, цефтаролін та цефепім. | Діаметр зони оксациліну ≥ 8 мм. Вважати чутливим. При менінгіті: підтвердити шляхом визначення МІК препарату, який обирають для клінічного використання. |
| Діаметр зони оксациліну < 8 мм: визначити МІК β-лактамного препарату, призначеного для клінічного використання, але для ампіциліну, амоксициліну та піперациліну (із та без інгібітору β-лактамази), мати на увазі чутливість на основі МІК ампіциліну. |
| Інші β–лактамні препарати (у тому числі бензилпеніцилін для інфекцій, інших, ніж менінгіт) | Провести випробування методом визначення МІК для препарату, призначеного для клінічного використання та тлумачити результати згідно клінічним граничним значенням. |

\* 1 мкг оксациліну < 20 мм: завжди визначати МІК бензилпеніциліну, але не запізнюватися зі звітністю щодо інших β-лактамів, як рекомендоване вище.

*8.4.2. Клінічні граничні значення*

Граничні значення пеніциліну спочатку були призначені для забезпечення успіху терапії для пневмококового менінгіту. Однак клінічні дослідження продемонстрували, що наслідки пневмококової пневмонії, викликаної штамами з помірно резистентністю до пеніциліну та що лікується пеніциліном парентерально, не відрізнялися від тих, що спостерігалися для хворих, яких лікували іншими препаратами.

Приймаючи до уваги мікробіологічні, фармакокінетичні та фармакодинамічні дані, клінічні граничні значення для бензилпеніциліну, про ізоляти знову згадали (3), та поточні граничні значення EUCAST наведені у Таблиці 2.

Таблиця 2. Звітування про чутливість до бензилпеніциліну при менінгіті та не при менінгіті.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Показання** | **Граничне значення МІК (мг/л)** | | **Примітки** |
|  | **Ч ≤** | **С >** |  |
| Бензилпеніцилін (не менінгіт) | 0.06 | 2 | **При пневмонії,** коли використовують дозу в 1,2 г х 4, ізоляти з **МІК ≤ 0,5 мг/л** необхідно вважати чутливими до бензилпеніциліну.  **При пневмонії,** коли використовують дозу в 2,4 г х 4 або 1,2 г х 6, ізоляти з **МІК ≤ 1 мг/л** необхідно вважати чутливими до бензилпеніциліну.  **При пневмонії,** коли використовують дозу в 2,4 г х 6, ізоляти з **МІК ≤ 2 мг/л** необхідно вважати чутливими. |
| Бензилпеніцилін (менінгіт) | 0.06 | 0.06 |  |

Примітка: 1,2 г бензилпеніциліну дорівнює 2 МО (міжнародних одиниць) бензилпеніциліну.

*8.4.3. Контроль якості*

Відповідні штами для контролю якості досліджень з чутливості до бензилпеніциліну наведені у Таблиці 3.

Таблиця 3. Відповідні штами для контролю якості досліджень з чутливості до бензилпеніциліну

|  |  |
| --- | --- |
| **Штам** | **Механізм** |
| *S. pneumoniae* із колекції ATCC 49619 | Мозаїчний ПЗБ, МІК бензилпеніциліну 0,5 мг/л. |

**9. Декларація про прозорість**

CGG: підтримка конференціям та наукове співробітництво з «AB Biodisk» (пізніше була придбана «bioMérieux»), отримала гонорар оратору від «BioRad» та «Liofilchem», член Керівного комітету EUCAST та координаційної групи мережі EARS-Net

LMM: була консультантом для «Wyeth» та «Pfizer», читала лекції для «Wyeth», «Merck», «Pfizer», «Janssen-Cilag» та «Astra-Zeneca», отримувала гранти на дослідження від «Merck», «Wyeth», «Janssen-Cilag» та «Astra-Zeneca», член Керівного комітету EUCAST

RC: приймала участь в навчальних програмах, які фінансувалися «Siemens», «BioRad» та «Liofilchem» та в дослідницьких проектах, заснованих «BD», «BioRad» та «Liofilchem», голова комітету EUCAST

RS: науковий консультант «Novartis» (до 2012 року), консультант «bioMérieux» та «Pfizer», отримала гонорар оратора від «Cepheid and Becton Dickinson», член Керівного комітету EUCAST

SS: жодних конфліктів інтересів, про які необхідно заявити

YG: жодних конфліктів інтересів, про які необхідно заявити

PN: отримала патент на користь «Carba NP» та у випробуваннях NDP ESBL від імені «INSERM» (Париж, Франція)

MW: жодних конфліктів інтересів, про які необхідно заявити

VM: жодних конфліктів інтересів, про які необхідно заявити

GSS: член координаційної групи мережі EARS-Net

HS: член координаційної групи мережі EARS-Net

JCS: жодних конфліктів інтересів, про які необхідно заявити

MG: приймала участь в навчальній програмі, які фінансувалася «Liofilchem».