

LATVIJAS UNIVERSITĀTE  
BIOLOĢIJAS FAKULTĀTE  
MIKROBIOLOĢIJAS UN BIOTEHNOLOĢIJAS KATEDRA

**EUCAST UN CLSI METOŽU SALĪDZINĀJUMS  
PAPLAŠINĀTA SPEKTRA BETA-LAKTAMĀŽU  
NOTEIKŠANAI *ENTEROBACTERIACEAE* DZIMTAS  
BAKTĒRIJU KLĪNISKAJOS IZOLĀTOS**

Maģistra darbs

Autore: Rūta Melbārde

Stud. apl. Nr. rm11035

Darba vadītāja: Dr.biol., vad. pētn., doc. Vizma Nikolajeva

Darba konsultante: Klīniskā mikrobioloģe M. biol. Elvīra  
Lavrinoviča

RĪGA 2015

## KOPSAVILKUMS

Darba mērķis bija salīdzināt EUCAST un CLSI antimikrobās jutības noteikšanas metodes paplašināta spektra  $\beta$ -laktamāžu noteikšanai *Enterobacteriaceae* dzimtas klīniskajos izolātos.

Darba teorētiskajā daļā tika apskatīti biežākie ESBL producējošie *Enterobacteriaceae* dzimtas pārstāvji, antibakteriālo līdzekļu un rezistences mehānismu raksturojums.

Dati iegūti 2014.-2015. g., strādājot klīniskajā mikrobioloģijas laboratorijā. Identificēti un pētīti 269 baktēriju izolāti. Pēc EUCAST standarta 55 izolātiem mainījās antibiogrammas rezultāti.

Ceftazidīmam un cefotaksīmam samazinot antibakteriālā līdzekļa koncentrāciju pēc EUCAST standarta, tie tiek padarīti jutīgāki pret ESBL noteikšanu. Pateicoties šīm izmaiņām, tika noteikti par 5% vairāk ESBL producējošo baktēriju nekā ar CLSI standartu.

**Atslēgvārdi:** ESBL, EUCAST, CLSI, *Enterobacteriaceae*.

## SUMMARY

The paper's name is 'Comparison of EUCAST and CLSI screening parameters for detecting extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in clinical *Enterobacteriaceae* isolates'.

The aim of the paper was to compare antimicrobial sensitivity determination parameters of EUCAST and CLSI in the extended-spectrum  $\beta$ -lactamase determination of *Enterobacteriaceae* clinical isolates.

In the theory part of the paper such matters were examined as, the most frequent ESBL-producing *Enterobacteriaceae* strain agents, antibacterial cleansers and the description of the resistant mechanisms.

The data was collected from year 2014 until 2015 while working in the clinical microbiology laboratory. 269 bacteria isolates were collected. After EUCAST standard 55 isolates the results of the antibiogram are changing.

By lowering the concentration of the antibacterial cleanser in Ceftazidim and Cefotaxim by the EUCAST standard they are becoming more sensitive for ESBL presence due to these changes ESBL-producing bacteria was determined 5% more than with CLSI standard.

Keywords: ESBL, EUCAST, CLSI, *Enterobacteriaceae* spp

# SATURS

<b>APZĪMĒJUMU SARAKSTS.....</b>	<b>5</b>
<b>IEVADS .....</b>	<b>6</b>
<b>1. LITERATŪRAS APSKATS .....</b>	<b>7</b>
1.1. <i>ENTEROBACTERIACEAE</i> DZIMTAS BIEŽĀK IZDALĪTO PĀRSTĀVJU RAKSTUROJUMS .....	7
1.2. ANTIBIOTIKU DARBĪBAS MEHĀNISMI .....	10
1.3. ANTIBAKTERIĀLĀS REZISTENCES PAMATI .....	11
1.4. EUCAST UN CLSI VADLĪNIJU ATŠĶIRĪBAS <i>ENTEROBACTERIACEAE</i> DZIMTAS BAKTĒRIJĀM .....	14
1.5. EUCAST UN CSLI SALĪDZINĀJUMS LITERATŪRĀ .....	16
<b>2. MATERIĀLI UN METODIKA .....</b>	<b>18</b>
2.1. IZMANTOTIE MATERIĀLI, APARATŪRA UN REAĢENTI .....	18
2.2. IDENTIFIKĀCIJA UN ANTIBAKTERIĀLĀS JUTĪBAS NOTEIKŠANA .....	20
<b>3. REZULTĀTI .....</b>	<b>24</b>
3.1. <i>ENTEROBACTERIACEAE</i> DZIMTAS PĀRSTĀVJU IDENTIFIKĀCIJA .....	24
3.2. ANTIBAKTERIĀLĀS JUTĪBAS NOTEIKŠANA PĒC EUCAST UN CLSI STANDARTIEM .....	27
<b>DISKUSIJA.....</b>	<b>37</b>
<b>SECINĀJUMI.....</b>	<b>41</b>
<b>PATEICĪBAS .....</b>	<b>42</b>
<b>LITERATŪRAS SARAKSTS .....</b>	<b>43</b>
<b>PIELIKUMI .....</b>	<b>47</b>

## APZĪMĒJUMU SARAKSTS

IgM – imūnglobulīns M

O antigēns – lipopolisaharīdu antigēns

K antigēns – kapsulārais antigēns

H antigēns – flagellu antigēns

ESBL – paplašināta spektra  $\beta$ -laktamāzes

GN – gram negatīvās

R – rezistents

I – mazjutīgs

S – jutīgs

g. – gads

CSLI – Klīnisku un laboratoriju standartu institūts

EUCAST – Eiropas komiteja antimikrobās jutības noteikšanā

AMP - ampicilīns

AMC - amoksicilīns/klavulānskābe

CIP - ciprofloksacīns

IPM - imipenēms

MEM - meropenēms

FEP - cefepīms

CRO - ceftriaksons

GN - gentamicīns

SXT - trimetoprimis/ sulfametoksazols

AN - amikacīns

CAZ - ceftazidīms

CTX - cefotaksīms

TOB - tobramicīns

## IEVADS

$\beta$ -laktamāzes ir enzīmu grupa, ko producē lielākā daļa gramnegatīvo baktēriju. Šie enzīmi hidrolizē  $\beta$ -laktāma gredzenu penicilīnos un cefalosporīnos, tādā veidā inaktivējot šo antimikrobo līdzekļu aktivitāti.

Paplašināta spektra  $\beta$  - laktamāzes (ESBL) ir  $\beta$ -laktamāžu grupa, kam raksturīga strauja izplatība. 10 - 40% *Escherichia coli* un *Klebsiella pneumoniae* celmi producē ESBL (Rupp et. al. 2003). Viens no soļiem, lai samazinātu ESBL izplatību, ir attīstīt ESBL noteikšanas metodes un veicināt jauno metožu integrēšanu ikdienas klīniskajā praksē.

Valsts ietvaros tiek izmantotas vienas vadlīnijas antimikrobās jutības interpretēšanā. Latvijā tiek izmantotas Klīnisku un laboratoriju standartu institūta (CLSI) vadlīnijas. Tomēr ņemot vērā to, ka baktēriju celmi variē starp kontinentiem, kā arī sakarā ar jaunu standartu ienākšanu klīniskajā praksē Latvijas Medicīnas mikrobiologu asociācija ir aktualizējusi jautājumu par standartu maiņu antimikrobās jutības interpretēšanā. Pēc EUCAST mājas lapas datiem, lielākā daļa Eiropas, tai skaitā arī Igaunija ir pārgājusi no CLSI vadlīnijām uz EUCAST vadlīnijām, arī Latvija vēlās ieviest šo standartu. EUCAST ir Eiropas komiteja antimikrobās jutības noteikšanā, kas ir dibināta 1997. gadā. EUCAST vadlīnijās salīdzinot ar CLSI vadlīnijām tiek izmainītas gan antimikrobo līdzekļu koncentrācijas, gan iegūto datu interpretācija. Veicot šīs izmaiņas, uzlabojas iespēja noteikt rezistentos celmus, tai skaitā ESBL producentus.

Sakarā ar to, ka standartu maiņa nav Eiropas Savienības prasība, bet valsts iekšēja lieta, ir nepieciešams veikt pētījumus, kuros iepriekš minētās metodes ir salīdzinātas ar valstī prevalējošiem baktēriju celmiem. Tādā veidā pārliecinot arī nelielās valstī esošās laboratorijas par standartu maiņu.

**Problēmas aktualitāte:** Vai pārejot no CLSI uz EUCAST vadlīnijām būs iespēja precīzāk identificēt ESBL producējošos klīniskos izolātus?

**Darba mērķis:** Salīdzināt EUCAST un CLSI antimikrobās jutības noteikšanas metodes paplašināta spektra  $\beta$ -laktamāžu noteikšanai *Enterobacteriaceae* dzimtas klīniskajos izolātos.

### **Darba uzdevumi:**

1. Aprakstīt un identificēt biežāk izdalītos *Enterobacteriaceae* dzimtas pārstāvjus.
2. Aprakstīt EUCAST un CLSI antimikrobās jutības noteikšanas metodes.
3. Noteikt 269 izolātu antimikrobo jutību un ESBL, izmantojot EUCAST un CLSI metodes.
4. Salīdzināt EUCAST un CLSI metodes.

# 1. LITERATŪRAS APSKATS

## 1.1. *Enterobacteriaceae* dzimtas biežāk izdalīto pārstāvju raksturojums

*Enterobacteriaceae* dzimtā ir apmēram 40 baktēriju ģintis un 120 baktēriju sugas.

Klīniskajās laboratorijās *Enterobacteriaceae* dzimtas baktērijas tiek izdalītas visbiežāk. Var tikt izdalītas no ūdens, augsnes, dzīvnieku un cilvēku zarnu trakta. Oportūnistiskās saslimšanas visbiežāk izraisa *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, kā arī *Enterobacter* pārstāvji. Biežāk izsauktās ir urīnceļu infekcijas, elpceļu infekcijas, brūču infekcijas, sepse un centrālās nervu sistēmas infekcijas (Volk et al. 1996).

*Enterobacteriaceae* dzimtas baktērijas ir aerobas vai fakultatīvi anaerobas gramnegatīvas nūjiņas. Vairākums enterobaktēriju spēj reducēt nitrātus par nitrītiem, fermentēt glikozi, ir oksidāzes negatīvas un kustīgas, izņemot *Klebsiella*. Labi aug uz vispārēja tipa barotnēm. Ir izteikta bioķīmiskā aktivitāte salīdzinot ar citu grupu mikroorganismiem (Mims et al. 2004).

Šīs dzimtas baktēriju svarīgākie antigēni ir:

- Vairāk kā 150 termostabilu O (lipopolisaharīdu) antigēnu
  - Ar aglutinācijas testu ir iespējams noteikt antigēnus
  - IgM klasei pieder antivielas pret šiem antigēniem
  - Dažādas sugas reizēm aglutinē nespecifiski (Murray et al. 2009).
- Vairāk kā 100 termolabilu K (kapsulāro) antigēnu
  - Gan polisaharīdi, gan proteīni var veidot šos antigēnus
  - Kapsulu antigēniem ir liela nozīme baktēriju virulencē
  - *Escherichia coli* adhēziju pie epitēlijšūnām nodrošina K antigēns (Murray et al. 2009).
- Vairāk kā 50 H (flagellu) antigēnu

Enterobaktēriju dzimtai piemīt daudzi virulences faktori, tādi kā:

- Adhēzijas faktori;
- Invazīvie faktori;
- Endotoksīns – šūnas sienā esošie lipopolisaharīdi atbrīvojas, kad tiek bojāts mikroorganisms vai tas iet bojā.
- Eksotoksīni – tiek producēti šūnā. Eksotoksīni iedalās pēc tā iedarbības orgāna. Enterotoksīni izsauks vemšanu un caureju. Citotoksīnam toksiska iedarbība uz šūnām. (Brooks et al. 2010)

## *Escherichia coli*

*Escherichia coli* ir gram negatīva nūjiņa, kas atrodas normālās mikrofloras sastāvā zarnu traktā. Laboratorijā tā tiek izdalīta intrahospitāli iegūtajos septiskā šoka gadījumos, pielonefrīta, cistīta vai brūču infekciju gadījumos (Levinson et al. 1998).

*Escherichia coli* celmu dažādībā variē gan normālās mikrofloras pārstāvji, gan arī celmi, kas var izraisīt smagas infekcijas. Celmi, kas ir spējīgi izraisīt infekciju slimības, satur vairākus virulences faktoros. Šādu virulences faktoros kopumu nesatur zarnu mikroflorā atrodamie *Escherichia coli* celmi.

Kā virulences faktoros var minēt:

- lipopolisaharīdu saturošajā šūnas ārējā membrānā esošais endotoksīns izraisa sepsi.
- citotoksīnu sintēze, kas aizkavē proteīnu sintēzi, izraisot hemorāģisko kolītu.
- enterotoksīnu produkcija
  - Termostabils un termolabils toksīns
  - Hemolizīns
  - Šiga toksīns (Todar 2008)
- adhezīni
  - Kolonizācijas faktori
  - Agregatīvās adherences fimbrijas
  - Intimīns – enteropatogēnām baktērijām
  - P pilijas - urīntrakta infekcijas izraisošām baktērijām
  - Ipa proteīns – enteroinvazīvām baktērijām
  - Dr fimbrijas - uropatogēnām un diareju izraisošām (Maczulak 2011)

Transdukcijas ceļā no viena celma uz otru var tikt izplatīti tie virulences faktori, kas ir atbildīgi par caurejas izraisīšanu un ir kodēti plazmīdās (Volk et al. 1996).

Optimālā temperatūra augšanai ir 37°C. Labi aug uz vispārēja tipa agarēm. Fakultatīvi anaeroba. Pēc 24 stundām uz asins agara veido 1-3 mm lielas, pelēcīgas kolonijas ar spīdīgu virsmu. Fermentējot laktozi uz MacConkey agara aug veidojot rozā kolonijas. Uz Klīglera dzelzs agara šķeļ laktozi un glikozi, neveido sērūdeņradi. Kustīga, indola pozitīva un oksidāzes negatīva (Kayser et al. 2005).

Transdukcijas, konjugācijas vai transformācijas ceļā *Escherichia coli* spēj pārnest DNS, tādējādi ļaujot ģenētiskajam materiālam izplatīties tuvāko sugu robežās. Kā viens no piemēriem ir šiga toksīna ģēnu pārņemšana no *Shigella* celmiem uz *Escherichia coli* O157:H7 celmu, izmantojot bakteriofāgus (Gillrdpie et al. 2003).

### ***Klebsiella* spp.**

*Klebsiella* spp. ir gramnegatīvas nūjiņas. *Klebsiella* spp. ir nākamie biežāk izdalītie enterobaktēriju dzimtas pārstāvji pēc *Escherichia coli*. Nekustīgas un veido polisaharīda kapsulu. Ir normālās mikrofloras sastāvā uz ādas, mutē un zarnu traktā. *Klebsiella* spp. celmus var izolēt no ūdens, augsnes un augiem (Black 2012).

*Klebsiella* spp. baktērijām ir divu veidu antigēni: kapsulas polisaharīdu (K antigēns) un lipopolisaharīdu (O antigēns). Pastāv aptuveni 77 K un 9 O antigēni. Pēc antigēna struktūras kapsulā *Klebsiella* spp. tiek klasificēta serotipos.

*Klebsiella* spp. ir oportūniski patogēni, kas biežāk izraisa infekcijas imūnsupresētiem cilvēkiem. Intrahospitāli iegūtu pneimoniju var izraisīt *Klebsiella* spp. ieelpošana, tomēr *Klebsiella* spp. var izdalīt arī sadzīvē iegūtās pneimonijas gadījumos (Levinson et al. 1998). Var izraisīt arī sepsi, brūču infekcijas, urīntrakta infekcijas, osteomielītu un endokardītu (Volk et al. 1996).

*Klebsiella* spp. celmos variē dažādi virulences faktori, kuri var būt dažādās kombinācijās. Pie virulences faktoriem var minēt:

- No fagocitozes un seruma proteīniem pasargā kapsulas veidošana.
- Pie saimniekorganisma epitēlija šūnām palīdz piestiprināties pili, radot infekcijas slimības urīntraktā un elpceļos.
- Septicēmijas izraisīšanā kā viens no virulences faktoriem dominē lipopolisaharīds ārējā šūnas membrānā (Black 2012).

Medicīniski svarīgākie pārstāvji ir *Klebsiella pneumoniae* un *Klebsiella oxytoca*, šie patogēni, izraisa dažādas intrahospitālās infekcijas (Murray et al. 2009).

Augot uz vispārēja tipa barotnēm, veido gļotainas kolonijas. *Klebsiella* spp. baktērijas veido kapsulas, ir nekustīgas. Lēni šķeļ laktozi. Neveido sērūdeņradi un ir indola negatīvas. *Klebsiella oxytoca* ir indola pozitīva. Oksidāzes negatīvas (Wilson 2008).

### ***Proteus* spp.**

Normālās mikrofloras pārstāvis zarnu traktā, sastopams arī ūdenī un augsnē. Oportūnistiskais patogēns, jo izraisa infekcijas nonākot audos, kur *Proteus* spp. nav normālās mikrofloras sastāvā (Levinson 2008).

Biežāk tiek izdalīts pie urīnceļu infekcijām, pneimonijas, brūču infekcijām, septicēmijas, retāk pie meningīta (Mims et al. 2004).

Medicīniski svarīgākās sugas ir *Proteus mirabilis* un *Proteus vulgaris*

Virulences faktori:

- Endotoksīnam lipopolisaharīdā saistība ar sepsi.
- *Proteus mirabilis* lielā daudzumā sintezē ureāzi, kas šķeļ urīnvielu par oglekļa dioksīdu un amoniju, šis process paaugstina urīna pH, kas ietekmē magnija un kalcija izgulsnēšanos radot nierakmeņus. Uroģenitālā trakta epitēlijam paaugstinātais urīna pH ir toksisks.
- Piestiprināties pie epitēlija palīdz fimbrijas un pili (Murray et al. 2009).

Kustīgs, lēni aug uz vispārēja tipa barotnēm. Uz asins agara aug, veidojot viļņveidīgu pārklājumu. Nešķeļ laktozi, glikozi šķeļ līdz skābei un gāzei. Indola reakcija *Proteus vulgaris* ir pozitīva, *Proteus mirabilis* ir negatīva. Oksidāze negatīva, reducē nitrātus un ureāzi (Kayser et al. 2005).

### ***Enterobacter spp.***

Izplatīts dabā, augsnē, notekūdeņos, gaļā, zivīs, piena produktos. Atrodas cilvēku un dzīvnieku kuņģa un zarnu traktā.

Var izraisīt intrahospitālās infekcijas – urīnceļu, apakšējo elpceļu, kardiovaskulārās, centrālās nervu sistēmas, brūču, deguna un kakla infekcijas (Black 2012).

Aug veidojot gludas kolonijas, dažreiz gļotainas. Uz MacConkey agara aug veidojot krāsainas kolonijas, bez žults precipitācijas zonas. Lēni šķeļ līdz skābei laktozi un līdz skābei un gāzei glikozi. Indols un oksidāze negatīvi (Maczulak 2011).

## **1.2 Antibiotiku darbības mehānismi**

Ir vairākas antibiotiku grupas un tām ir dažāda iedarbība uz šūnas struktūrām.

- Šūnas sienas sintēzes inhibitori – kavē dažādus etapus peptidoglikāna sintēzē un attīstībā.

*Penicillium* un *Cephalosporium* sēņu producētas vielas pieder penicilīniem un cefalosporīniem. Tām centrā atrodas četrlocekļu  $\beta$ -laktāma gredzens (Holten et al. 2000).

$\beta$ -laktāma antimikrobie līdzekļi ir baktericīdi. Piesaistoties tie inhibē enzīmus transpeptidāzi karboksipeptidāzi un tādējādi nomāc šūnas sienas sintēzi un izraisa šūnas bojāeju. Preparāta piederību penicilīniem, cefēmjiem, karbapenēmiem vai monobaktāmiem nosaka  $\beta$ -laktāma gredzenam pievienotās sānu ķēdes (Calderwood 2012).

- Šūnas membrānas darbības inhibitori – darbojas kā katjonu deterģenti, bojājot membrānas fosfolipīdu struktūras, izjaucot vai inhibējot baktēriju šūnas membrānu funkcijas (Denyer 2004).

Klīniski nozīmīgs ir kolistīns, ko producē *Bacillus polymyxa*. Gram negatīvo baktēriju izraisīto infekciju ārstēšanā lieto lokāli. Traucē membrānas funkcijām piesaistoties pie membrānas fosfolipīdiem. Ļoti ātri iznīcina šūnas sagraujot citoplazmatisko un ārējo membrānu. Tas pierāda arī šīs vielas nozīmīgumu praksē (Denyer 2004).

- Iedarbība uz nukleīnskābēm – DNS un RNS sintēzi (Denyer 2004).

Dažādos etapos ietekmē DNS un RNS sintēzi vai, sasaistoties ar DNS vai RNS, traucē informācijas nolasīšanu. Hinolonam un rifamicīnam ir selektīva darbība pret prokariotiem. Hinoloni ir baktericīdi un inhibē fermentus – DNS girāzi un topoizomerāzi IV, kas nepieciešami cirkulārās DNS atritināšanai (Moore 2013).

- Metabolītu konkurence – konkurence ar augšanas faktoriem (Denyer 2004).

Kā konkurējoši inhibitori darbojas pret mikroorganismu vielmaiņai nepieciešamajiem augšanas faktoriem. Šie līdzekļi ir strukturāli līdzīgi baktēriju augšanas faktoriem vai metabolītiem, bet nokļūstot baktēriju šūnā nepilda vielmaiņas funkcijas šūnā. Nav toksiski mikroorganisma šūnām, jo prokariotiem ir cits vielmaiņas ceļš. Pieder sulfonamīda/trimetoprima antibakteriālās vielas (Denyer 2004).

- Proteīnu sintēzes inhibitori – iedarbojas uz ribosomu 30S un 50S subvienībām, traucējot dažādus proteīnu sintēzes etapus (Denyer 2004).

Iedarbība vērsta pret procesiem ribosomu līmenī (iniciāciju vai elongāciju), bet neiedarbojas aminoskābju aktivācijas līmenī vai tRNS piesaistīšanās brīdī. Savienojas vai iedarbojas uz baktēriju 70S ribosomām, kuras sastāv no 50S un 30S subvienībām, tādējādi sasniedzot savu selektīvo toksicitāti. Tetraciklīni, hloramfenikols, makrolīdi, aminoglikozīdi un linkozamīdi ir svarīgākās šādas iedarbības antimikrobās vielas (Denyer 2004).

### **1.3. Antibakteriālās rezistences pamati**

Rezistence pret antibakteriālajiem līdzekļiem ir saistīta ar dažādiem ģenētiskiem faktoriem. Rezistence var būt gan iegūta, gan arī iedzimta. Ietekme arī ir bioķīmiskām izmaiņām, kuras notikušas baktēriju genomā (Tenover 2006).

#### **Ģenētiskie faktori.**

**Iedzimtā rezistence.** Tā ir dabīga īpašība, kas ir saistīta ar pašu mikroorganismu struktūru, jo nevar iedarboties uz visiem mikroorganismiem vienādi strukturālo īpašību dēļ (Todar 2008).

**Iegūtā rezistence** izveidojusies divu procesu rezultātā:

- Vertikālā attīstība – dabīgās selekcijas ceļā.

Mikroorganisma hromosomā notikusi spontāna mutācija, kas rada rezistenci kādam no populācijas pārstāvjiem. Šo rezistences veidu sauc arī par hromosomālo (Denyer 2004).

- Horizontālā attīstība – rezistences gēna iegūšana no cita mikroorganisma.

Pret dabīgi producētiem antibakteriālajiem līdzekļiem rezistence piemīt šīs vielas izstrādātājam. Un šos gēnus var nodot citām sugām. Rezistences gēni un virulences faktori var tikt nodoti kādā no ģenētiskās rekombinācijas veidiem. (Denyer 2004).

**Konjugācija** – divu šūnu tieša kontakta rezultātā tiek pārņemts DNS fragments no donora uz recipientu. Raksturīgs gram negatīviem mikroorganismiem. Konjugācijas spēju mikroorganismiem pastiprina mobilie ģenētiskie elementi – plazmīdas un transpozoni (Llosa et al. 2002).

**Transdukcija** – DNS pārņemšana no vienas baktērijas uz otru ar bakteriofāga palīdzību. Bakteriofāgam iekļūstot un vairojoties rezistentā baktērijā, bakteriofāgs nejauši iekļauj savā struktūrā rezistences gēnu un tālāk inficējot citu baktēriju, pārņem arī rezistenci (Freeman 2000).

**Transformācija** – DNS iegūšana tieši no apkārtējās vides. No bojāgājušām baktērijām apkārtējā vidē var būt palikuši DNS fragmenti, ko pēc tam savā genomā var iekļaut cita baktērija (Roe 2008).

### **Bioķīmiskais pamats**

Pastāv vairāki baktēriju rezistences mehānismi, kuri ir saistīti ar bioķīmiskajām īpašībām un to izmaiņām.

- Mērķa molekulas izmaiņas

Tiek izmainīta receptora struktūra, ar kuru saistās antibakteriālais līdzeklis (Džidic 2007). Aminoglikozīdu, tetraciklīnu un makrolīdu gadījumā rezistentiem mikroorganismiem ir izmainīti ribosomu 30S un 50S subvienību virsmas receptori (Denyer 2004).

- Izmaiņas citoplazmatiskās membrānas poru caurlaidībā.

Šis mehānisms ir īslaicīgs, jo mikroorganisms uz laiku aiztaisa poras citoplazmatiskajā membrānā un šūnā vairs neiekļūst vielas, kuras varētu to bojāt. Veiksmīgai terapijai jāievēro antibakteriālā kursa ilgums (Denyer 2004).

- Citoplazmatiskās membrānas selektīvā caurlaidība

Ja antibakteriālo līdzekļu molekulas jau iekļuvušas šūnā, poras selektīvi spēj tās izvadīt (Džidic 2007).

- Metaboliskā šunta izveide

Mainot vai izslēdzot no aprites etapu, uz kuru iedarbojas antibakteriālais līdzeklis, izmainās bioķīmiskā reakcija (Denyer 2004).

- Antibakteriālā līdzekļa inaktivācija

Producējot antibakteriālo līdzekļu graužošus vai modificējošus fermentus (Džidic 2007).

#### 1.4. EUCAST un CLSI vadlīniju atšķirības *Enterobacteriaceae* dzimtas baktērijām

Galvenās atšķirības, kuras ir EUCAST un CLSI vadlīnijās, tieši *Enterobacteriaceae* dzimtas baktērijām ir saistītas ar antibiotiku koncentrācijas samazināšanu noteiktām antibiotiku grupām, kā arī ir izmainītas interpretācijas zonas. 1 tabulā ir parādītas antibiotiku koncentrācijas un disku difūzijas metodes zonu diametri pēc EUCAST un CLSI vadlīnijām (CLSI standarts 2014 un EUCAST standarts 2014).

1. tabula

CLSI un EUCAST standarti disku difūzijas metodei

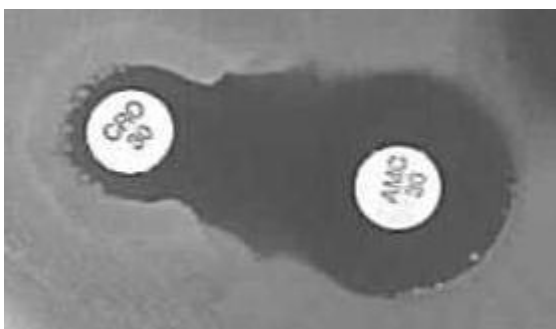
Table 1

CLSI and EUCAST standardised disk diffusion method

Apzīmējums	Antibiotika	CLSI			EUCAST		
		Koncentrācija diskā (µg)	Zonas diametrs (mm)		Koncentrācija diskā (µg)	Zonas diametrs (mm)	
			R ≤	S ≥		R <	S ≥
AMC	Amoksicilīns/ klavulānskābe	20/10	13	18	20/10	19	19
CIP	Ciprofloksacīns	5	15	21	5	19	22
IPM	Imipenēms	10	13	16	10	16	22
MEM	Meropenēms	10	13	16	10	16	22
FEP	Cefepīms	30	14	18	30	21	24
CRO	Ceftriaksons	30	13	21	30	19	23
GN	Gentamicīns	10	12	15	10	14	17
SXT	Trimetoprimis/ sulfametoksazols	1.25/23.75	10	16	1.25/23.75	13	16
AN	Amikacīns	30	14	17	30	13	16
CAZ	Ceftazidīms	30	14	18	10	17	22
CTX	Cefotaksīms	30	14	23	5	17	20
TOB	Tobramicīns	10	12	15	10	14	17

R – rezistents, S – jutīgs.

Pēc EUCAST vadlīnijām lielai daļai antimikrobo līdzekļu ir palielināts rezistentās zonas diametrs. Šādā veidā izvairās no nepamatota antimikrobo līdzekļu lietojuma situācijās, kad ir šaubas par līdzekļa reālo ārstniecisko efektu. Lai noteiktu ESBL ar disku difūzijas metodi, tiek izmantota dubulto disku metode ar ceftriaksonu un amoksicilīnu/klavulānskābi (1. attēls) (CLSI standarts 2014 un EUCAST standarts 2014).



1 attēls. Dubultdisku metode ESBL noteikšanai

Figure 1. Double disk method for ESBL detection

Novērojot palielināto zonu starp ceftriaksonu un amoksicilīnu/klavulānskābi, tiek veikti tālāki apstiprinoši testi ESBL noteikšanai. Lai apstiprinātu ESBL, izmanto ceftazidīmu, ceftazidīmu/klavulānskābi un cefotaksīmu, cefotaksīmu/klavulānskābi. Apstiprinošs ESBL tests ir tādā gadījumā, ja ceftazidīma/klavulānskābes diska zona ir par 5 mm lielāka nekā ceftazidīma zona, ja zonu atšķirības ir līdz 4 mm, tad ESBL tests ir negatīvs. Šāda zonu interpretācija ir arī cefotaksīma un cefotaksīma/klavulānskābes gadījumā. Tieši ESBL apstiprināšanai starp EUCAST un CLSI ir svarīga atšķirība, jo ir izmainītas antibiotiku koncentrācijas, ko izmanto, lai apstiprinātu ESBL. Cefoksiīnam ir mainīta koncentrācija no 30 µg uz 5 µg un ceftazidīmam 30 µg uz 10 µg (CLSI standarts 2014 un EUCAST standarts 2014).

Salīdzinot *Enterobacteriaceae* dzimtas baktēriju iegūtos antibiogrammu datus pēc abiem standartiem, būs iespējams secināt par standartu maiņas nozīmīgumu un to, vai izmainās identificēto rezistentu celmu skaits un vai standartu maiņa palīdz identificēt vairāk ESBL producējošos izolātus.

## 1.5. EUCAST un CSLI salīdzinājums literatūrā

2012. gadā Cīrihē, Šveicē tika veikts pētījums, kurā tika salīdzinātas EUCAST un CSLI vadlīnijas, lai noteiktu ESBL *Enterobacteriaceae* dzimtas baktēriju klīniskajos izolātos. Šajā pētījumā tika izmeklēti 236 iepriekš identificēti un aprakstīti klīniskie izolāti, no kuriem 118 producēja ESBL (Polsfusst et al. 2012).

Salīdzinot EUCAST un CSLI, cefotaksīma gadījumā rezistentajiem celmiem 99,2 % sakrita iegūtie rezultāti. Cefazidīma gadījumā 27 no 118 ESBL producējošiem celmiem kā rezistenti netika atklāti, kamēr CSLI palaida garām 41 no 118 celmiem (Polsfusst et al. 2012). Cefpodoksīmu ESBL producējošiem celmiem kā rezistentu noteica 100% izmantojot EUCAST vadlīnijas un 98,3 % gadījumu izmantojot CSLI. Cefazidīma un cefoksīma gadījumā CSLI noteica 84,7 % rezistentos celmus, kamēr EUCAST 89,8 % celmus. Celmiem, kuri producēja AmpC, amoksicilīna/ klavulānskābes sinerģija ar cefepīmu, salīdzinot testu jutību CSLI un EUCAST, uzlabojās no 97,4 % uz 100 % (Polsfusst et al. 2012).

Pētījumā tika secināts, ka izmantojot antimikrobo disku koncentrācijas, kuras ir jāizmanto EUCAST gadījumā, ir iespēja noteikt vairāk ESBL producējošus celmus nekā izmantojot CSLI vadlīnijas. Arī celmu gadījumā, kuriem bija AmpC  $\beta$ -laktamāzes, ar EUCAST testi uzrādīja augstāku jutību un specifiskāciju. Galvenais iemesls kādēļ izmantojot EUCAST vadlīnijas tiek noteikti vairāk ESBL producējošie celmi, tiek minēts tas, ka samazinot cefazidīma un cefotaksīma disku koncentrācijas, tie tiek padarīti jutīgāki pret ESBL noteikšanu (Polsfusst et al. 2012).

2013. gadā tika publicēts raksts, kurā tika aplūkotas antibiogrammu izmaiņas pārejot no CSLI uz EUCAST vadlīnijām (Wolfensberger et al. 2013). Viena gada periodā (periodā A) tika vākti izolāti, kas tālāk tika apstrādāti izmantojot CLSI 2009 un EUCAST 2011 vadlīnijas. Nākamā gada ietvaros (periods B) izolāti tika salīdzināti ar CLSI 2009 un EUCAST 2013 vadlīnijām. (Wolfensberger et al. 2013). Lielākā daļa sugu un līdzekļu kombinācijas neparādīja izmaiņas jutības līmenī salīdzinot A un B periodus. Tomēr periodā B *Escherichia coli* celmiem cefepīma jutība atšķīrās no 95,8 % CLSI 2009 uz 93,1 % EUCAST 2011. *Enterobacter cloacae* cefepīma jutība mainījās no 97,0 % CLSI uz 90,5 % EUCAST (Wolfensberger et al. 2013).

Secinājumā šis pētījums parāda, ka nomainot CLSI vadlīnijas uz EUCAST vadlīnijām, tika iegūta nozīmīga antimikrobās jutības samazināšanās. Tiek minēts arī tas, ka vadlīniju maiņa var dažādi ietekmēt antibiogrammas, un šie rezultāti var variēt slimnīcas robežās. Tādēļ

arī pētījuma autori iesaka veikt pētījumus periodā, kurā notiek vadlīniju maiņa, lai pārliecinātos par rezultātu ticamību (Wolfensberger et al. 2013).

## 2. MATERIĀLI UN METODIKA

Visas manipulācijas ar izmeklējamu materiālu tika veiktas klīniskās mikrobioloģijas laboratorijā, daudzprofilu klīnikā. Izdalīto celmu identifikācija un antibakteriālās jutības noteikšana notika no 2014. gada 1. janvāra līdz 2015. gada 31. martam. Darbs veikts, saskaņojot to ar „Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas atbalsta fonda medicīnisko un biomedicīnisko pētījumu ētikas komiteju”.

Izmeklējamais materiāls tiek uzsēts uz Uriselect 4, Columbija, MacConkey agariem. Pēc 18-24 h inkubācijas pie 37 °C tiek veikta izaugušās kultūras izpēte. Pēc augšanas stila un koloniju krāsas novērtēšanas tiek veikta mikroskopēšana, preparātus krāsojot pēc Grama. Iegūstot mikroskopijas datus, tiek izvēlēts tālākais identifikācijas ceļš. Gram negatīvajām nūjiņām veic identifikāciju izmantojot MALDI TOF masas spektrometru, Klīglera dzelzs un 0,6 % agaru vai Vitek 2 compact analizatoru. Pēc identifikācijas *Enterobacteriaceae* dzimtas baktērijām tiek noteikta antimikrobā jutība izmantojot EUCAST un CLSI vadlīnijas. Novērojot palielināto zonu starp ceftriaksonu un amoksicilīnu/klavulānskābi, tiek veikta ESBL apstiprināšana izmantojot EUCAST un CLSI vadlīnijas.

### 2.1. Izmantotie materiāli, aparatūra un reaģenti

Informācija par izmantotajiem materiāliem, aparatūru un reaģentiem apkopota 2.-5. tabulā.

2. tabula

Mikrobioloģiskās barotnes

Table 2

Microbiological media

Nosaukums	Ražotājvalsts	Ražotājs
Uriselect 4 Agar	Anglija	Bio-Rad
Kligler Iron Agar	Itālija	Liofilchem
Mueller Hinton Agar	Itālija	Liofilchem
Columbija Agar	Anglija	Bio-Rad
Nutrien Broth	Anglija	Oxoid
Nutrien Agar	Anglija	Oxoid
MacConkey Agar	Itālija	Biolife
Sheep blood defibrinated	Anglija	Oxoid

3. tabula

## Ķīmiskie testi

Table 3

## Chemical tests

Nosaukums	Ražotājvalsts	Ražotājs
Antibiotiku diski	Anglija	Oxoid
Skudrskābe	ASV	BD
Vitec 2 test kartes	Francija	Biomerieux
Gram krāsu komplekts	ASV	BD
Kovača reaģents	ASV	BD

4. tabula

## Aprīkojums

Table 4

## Equipment

Nosaukums	Ražotājvalsts	Ražotājs
Vitec 2 Compact analizators	Francija	Biomerieux
MALDI-TOF masas spektrometrs	Vācija	BRUKER
Sanyo incubator	Japāna	Sanyo electica
Ledusskapji Indesit	Itālija	Indesit
Vilkmes skapis	Vācija	ESCO
Spirta lampa	Latvija	Enola
Mikroskops LEICA DM750 P	Austrija	LEICA Microsisytems
Autoklāvs – MLS-302011	Japāna	Sanyo
Automātiskā pipete	Francija	Gilson
Svari Kern 440-53N	Vācija	KERN

## Materiāli

Table 5

## Materials

Nosaukums	Ražotājvalsts	Ražotājs
Cilpas 1µl un 10µl	Francija	Gosselin
Priekšmetstikliņi	Francija	Gosselin
Pipešu uzgaļi	Vācija	Sarstedt
NaCl 0,85% medium 2 ml	Itālija	Biolife
Tamponi	Spānija	Deltalab
Plastmasas Petri plates	Francija	Gosselin

## 2.2 Identifikācija un antibakteriālās jutības noteikšana

### Krāsošana pēc Grama

No izmeklējamās kolonijas pagatavo iztriepi. Uz priekšmetstikliņa uzpilina pilienus sterila 0,85% NaCl šķīduma, izmeklējamo koloniju paņem ar vienreizlietojamo cilpu un iemaisa pilienā.

1. Iztriepi žāvē gaisā un fiksē liesmā.
2. Iztriepei uzklāj kristālvioleto krāsu uz 1 minūti, pēc tam noskalo ar ūdeni.
3. Uz 1 minūti uzklāj lugola šķīdumu, noskalo ūdenī.
4. Atkrāso ar 95 līdz 100% metanolu vai acetonu 15 – 30 sekundes, skalo ūdenī.
5. Krāso ar safranīnu 1 minūti, skalo ūdenī.
6. Iztriepi nožāvē un mikroskopē izmantojot gaismas mikroskopu ar imersijas eļļas objektīvu, iegūstot 10x100 palielinājumu. (Anonymous (a) 2009)

### Klīglera dzelzs agars un pusšķidrās agara tests

Klīglera dzelzs agara sastāvā ir 3 cukuri (glikoze, laktoze un saharoze). Nosaka glikozes, laktozes šķelšanu un sērūdeņraža veidošanos. Laktoze tiek šķelta stobriņa barotnes slīpajā daļā, pozitīvā gadījumā notiek krāsu maiņa no sarkanas uz dzeltenu. Glikozes šķelšanu nosaka vai nu līdz skābei, kad notiek krāsu maiņa no sarkana uz dzeltenu, vai arī līdz skābei un gāzei, kad agars ne tikai maina savu krāsu, bet arī izveidojušies gāzes burbuļi saplēš barotni. Sērūdeņraža rašanos parāda melna krāsa barotnē. (Anonymous (c) 2009)

0,6% pusšķidrajā agarā nosaka mikroorganismu kustīgumu un indola veidošanos. Šajā agarā iesēj dūrienveidā, kustīgs mikroorganisms būs, ja tas būs audzis pa visu agaru, ne tikai dūriena vietā. (Anonymous (b) 2009)

### **Indola reakcija**

Indola veidošanos nosaka piepilinot vienu pilienu Kovača reaģenta un vēro krāsu maiņu uz sarkanu. (Anonymous (b) 2009)

### **Vitek 2 compact analizators**

Vitek 2 compact analizatoru (2. attēls) izmanto baktēriju identificēšanai un jutības noteikšanai pret antibiotikām (VITEK 2 compact – technology Product Information). Analizators izmanto kolorimetrijas principu nolasot testa platēs esošo bioķīmisko reakciju rezultātu. Izmantojot dažādus bioķīmiskos testus analizators ir spējīgs identificēt 98% mikroorganismus, kas ir VITEK datubāzē. (VITEK 2 compact – technology Product Information)



2. attēls. Vitek 2 compact analizators ar datoru.

Figure 2. Vitek 2 compact analyzer with a computer.

Gram negatīvo mikroorganismu identifikācijai izmanto GN testa plates (3. attēls). Tajās ir 64 bioķīmisko testu iedobumi un viens negatīvas kontroles iedobums (1. pielikums). Identifikācijas rezultātus ir iespējams iegūt laikā līdz 10 stundām (VITEK 2 compact – technology Product Information).



3. attēls. Vitek 2 compact analizatora testa plate ar tajā esošajiem reaģentiem.

Figure 3. Vitek 2 compact analyzer test plate with reagents.

Identifikācijai ar Vitek2 analizatoru izmanto kultūras, kuras ir 18 – 24h vecas. Aseptiski pārnes 3 ml sterila 0,45% līdz 0,50% NaCl šķīduma, kura pH ir robežās 4,5 – 7,0, caurspīdīgā plastmasas mēģenē. Ar tamponu paņem izmeklējamo kultūru un ieskalo šķīdumā. Sagatavotajai suspensijai ir jābūt ar blīvumu no 0,50 līdz 0,63 pēc McFarland. Ievieto mēģeni kasetē, tad ievieto Gram negatīvo plati. Kaseti ar platēm ievieto analizatorā, pirms tam ievadot materiāla identifikācijas numuru analizatorā. Gram negatīvā plate satur 64 bioķīmisko testu iedobumus un vienu kontroles iedobumu (1. pielikums) (VITEK 2 compact – technology Product Information).

### **MALDI-TOF masas spektrometrija**

Masas spektrometrs tiek izmantots baktēriju identifikācijā. Ar lāzeru iedarbojoties uz paraugu, tas izgaro, jonus paātrina spektrometrā esošais elektriskais lauks. Atkarībā no daļiņu lieluma un kinētiskās enerģijas daļiņas iegūst dažādus ātrumus. Detektors mēra daļiņu ātrumu, molekulas masu un lādiņu. Rezultātā tiek iegūts proteīnu profils. Iegūtas masas tiek salīdzinātas ar datubāzi, kur glabājas zināmo proteīnu molekulmasas vērtības (Wink 2011).

18h vecas baktēriju kolonijas tiek uzklātas uz parauga 96 lauciņu plates. Uz parauga lauciņa tiek uzpilināta skudrskābe, kas kalpo kā protonu donors jonizēšanas brīdī. Materiāla plate tiek nožāvēta un ievietota masas spektrometrā. Pāris minūšu laikā tiek iegūti rezultāti (Wink 2011).

### **Antibakteriālās jutības noteikšana ar disku difūzijas metodi**

Ņem 2-3 izolētas kolonijas, daudzumu izvērtē pēc koloniju struktūras, suspendē sterīlā 0,9% NaCl šķīdumā. Suspensiju salīdzina ar Mc Farland optisko standartu, kam ir jābūt 0,5 vienības, kas atbilst  $10^7$  baktēriju šūnu daudzumam 1 ml 0,9% NaCl šķīduma. Ar tamponu zālieneidā uzsēj sagatavoto suspensiju uz Miller Hinton agara. Ar pinceti uz agara 2 cm attālumā novieto antimikrobo indikatordiskus. Plates kultivē 35 °C 18-24 stundas. Pēc kultivācijas laika antimikrobo iedarbību vērtē pēc mikroorganismu augšanas aiztures zonas apkārt indikatordiskam. Zonas diametru mēra ar lineālu milimetros, ieskaitot diska diametru. Zonas lieluma interpretācijas skatās tabulās atkarībā no CLSI un EUCAST vadlīnijām. (Andrews 2003).

### 3. REZULTĀTI

Pētījums tika veikts un dati iegūti daudzprofilu slimnīcas mikrobioloģijas laboratorijā. Dati iegūti periodā no 2014. gada 1. janvāra līdz 2015. gada 31. martam, iekļaujot visbiežāk identificētos *Enterobacteriaceae* dzimtas pārstāvjus un nosakot tiem antimikrobo jutību, izmantojot CLSI un EUCAST standartus.

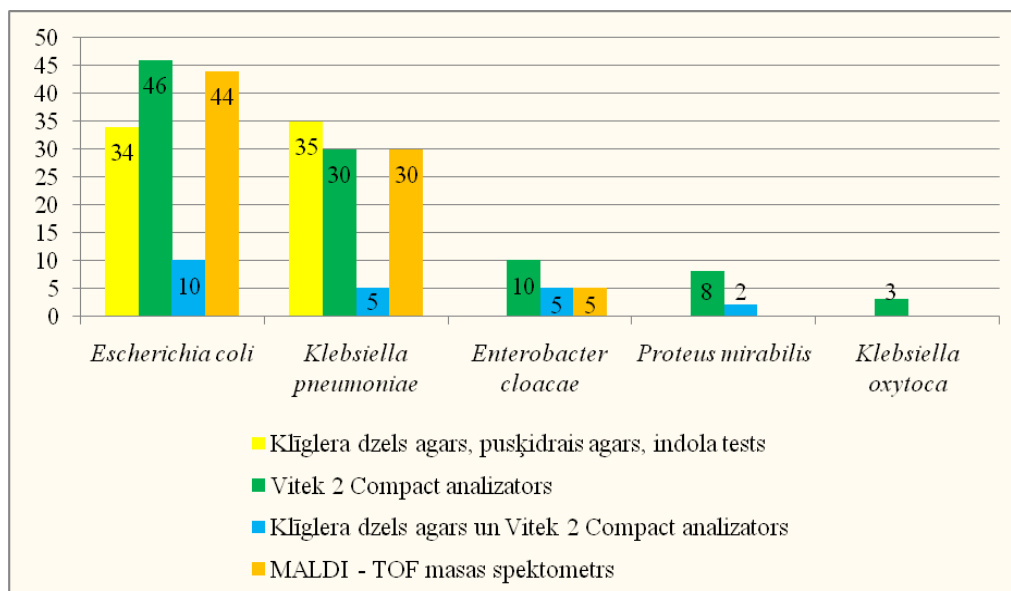
#### 3.1. *Enterobacteriaceae* dzimtas pārstāvju identifikācija

Pēc 18 stundu inkubācijas identifikācija tika uzsākta ar izaugušo koloniju izpēti, kam sekoja aizdomīgo koloniju preparātu gatavošana un preparātu krāsošana pēc Grama. Mikroskopijā preparātos tika konstatētas sarkanīgas nūjiņas, tātad Gramnegatīvas nūjiņas. Pēc mikroskopijā iegūtās informācijas sekoja tālāka identifikācija Gramnegatīvām baktērijām.

Laboratorijā sešus mēnešus bija pieejams MALDI-TOF masas spektrometrs. Šajā periodā vairāk identifikācijā tika izmantots masas spektrometrs. Kopumā pētījuma periodā ar MALDI-TOF masas spektrometru identificēja 79 izolātus. Pārējā periodā izmantotās metodes bija Klīglera dzelzs agars, pusšķidrāis agars, indola tests, kā arī Vitek 2 compact analizators.

Atkarībā no koloniju krāsas un formas uz asins agara un Uriselect 4 Agar, tika izvēlēta tālāka identifikācija. Piemēram *Klebsiella pneumoniae* uz Uriselect 4 Agar, veido tumši zilās, glotainas kolonijas, kamēr *Escherichia coli* veido rozās kolonijas. Baktēriju kolonijas, kuras veidoja pārliecinošas krāsu un formu īpašības, kas atbilst sugai, tika primāri identificētas ar Klīglera dzelzs agaru, pusšķidro agaru, indola testu. Ja identifikācijas rezultāti bija pārliecinoši, tālāka identifikācija, izmantojot citas metodes, netika pielietota. Rezultātu nesakrītības gadījumā identifikācijai izmantoja arī Vitek 2 compact analizatoru. Kopumā nebija noteikts, ar kurām metodēm ir jāveic identifikācija. Dažkārt bija situācijas, kad bija grūtības iegūt izolētas baktēriju kolonijas, tad arī izmantoja metodes, kuras prasīja mazāku koloniju daudzumu. Klīglera dzelzs agaram un pusšķidrajam agaram ir nepieciešams mazāks koloniju daudzums nekā gatavojot suspensiju priekš Vitek 2 compact analizatora.

4. attēlā atspoguļoti dati par izolātu skaitu, kurš tika identificēts ar noteiktajām metodēm.



4. attēls. Identificēto izolātu skaits atkarībā no identifikācijā pielietojamajām metodēm.

Figurē 4. Identified isolates, according to the method of identification.

*Escherichia coli* 44 izolāti tika identificēti izmantojot MALDI-TOF masas spektrometru. Tā kā visos gadījumos identifikācija bija augsta, tādēļ, lai apstiprinātu identifikāciju netika pielietotas citas metodes. Lielām rozā kolonijām, kuras auga Uriselect 4 agar izmantojot Klīglers dzelzs agaru un 34 izolātu gadījumā bija atbilstoša identifikācija. Kad Klīglers dzelzs agaram tika šķelta laktoze un glikoze, veidojās gāze. Neveidojas sērūdeņradis. Izmantojot pusšķidro agaru, tika novērots baktēriju kustīgums un indola tests bija pozitīvs. 46 izolātiem izvēlē bija Vitek 2 compact analizators, kur tiek izmantoti 64 biokīmiskie testi, lai identificētu baktērijas. 10 izolātu gadījumā, tika novērota neatbilstošas īpašības uz pusšķidrā agara tika novērots kustīgums, bet indola reakcija bija negatīva. Tādēļ, lai apstiprinātu identifikāciju tika izmantots Vitek 2 compact analizators.

*Klebsiella pneumoniae* 100 izolātu gadījumā, 30 izolātiem tika izmantots MALDI-TOF masas spektrometrs. Arī šo izolātu gadījumā papildus identifikācija nebija nepieciešama. 35 izolāti tika identificēti izmantojot manuālās metodes. 5 izolātu apstiprināšanai tika izmantots ne tikai Klīglers dzelzs agars, bet arī Vitek 2 compact analizators.

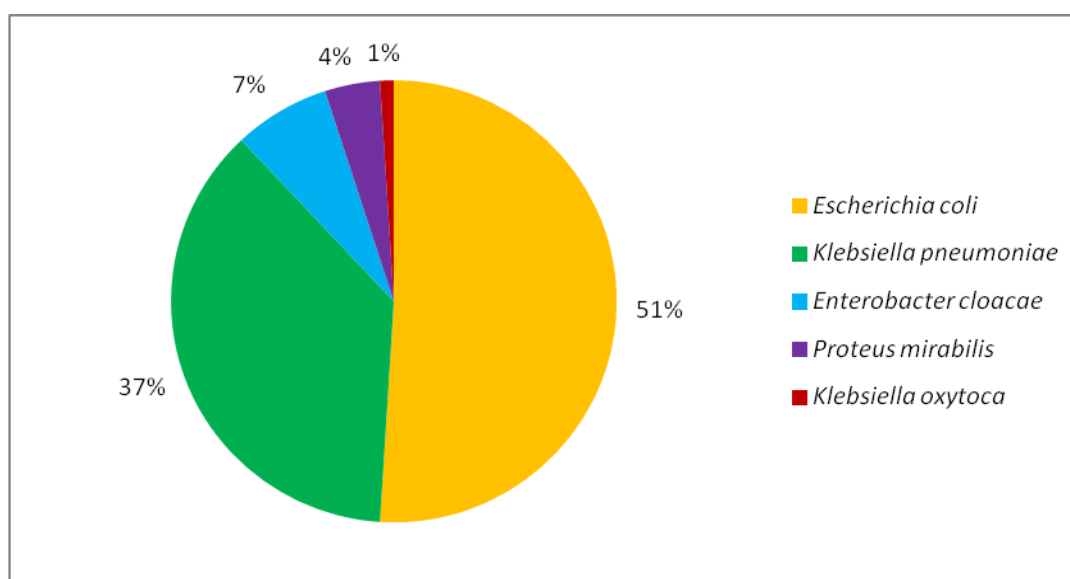
Kopumā no 20 izolētajiem *Enterobacter cloacae* izolātiem 5 izolāti tika identificēti izmantojot MALDI-TOF masa spektrometru. 10 izolātiem identifikācijā tika izmantots pusautomātiskais analizators Vitek 2 compact. Izmantojot Klīglers dzelzs agaru, pusšķidro agaru un indola testu, netika novēroti pārliecinoši identifikācijas dati, tādēļ identifikācijas apstiprināšanai tika izmantots Vitek 2 compact analizators.

Desmit *Proteus mirabilis* izolātu identifikācijā tika izmantota gan tipiskā lienošā koloniju struktūra uz asins agara, gan arī uz Uriselect 4 agaru augošās brūnganās kolonijas. Pēc tam identifikācijas apstiprināšanai izmantoja Vitek 2 compact analizatoru 8 izolātu gadījumā, gan arī Klīglera dzels agara un Vitek 2 compact agara kombināciju.

*Klebsiella oxytoca* izolāti tika identificēti izmantojot pusautomātisko sistēmu Vitek 2 compact analizatoru.

Pēc baktēriju identifikācijas, tām tika noteikta antibakteriālā jutība izmantojot CLSI un EUCAST standartus. Augšanas aiztures zonu diametri pievienoti pielikumos 2. Līdz 5.

Pētījumā identificēto un izmantoto *Enterobacteriaceae* dzimtas pārstāvju sadalījums pa sugām atspoguļots 5. attēlā.



5. attēls. Pētīto *Enterobacteriaceae* dzimtas pārstāvju sadalījums pa sugām (%)

Figure 5. Representatives of the *Enterobacteriaceae* family by species (%)

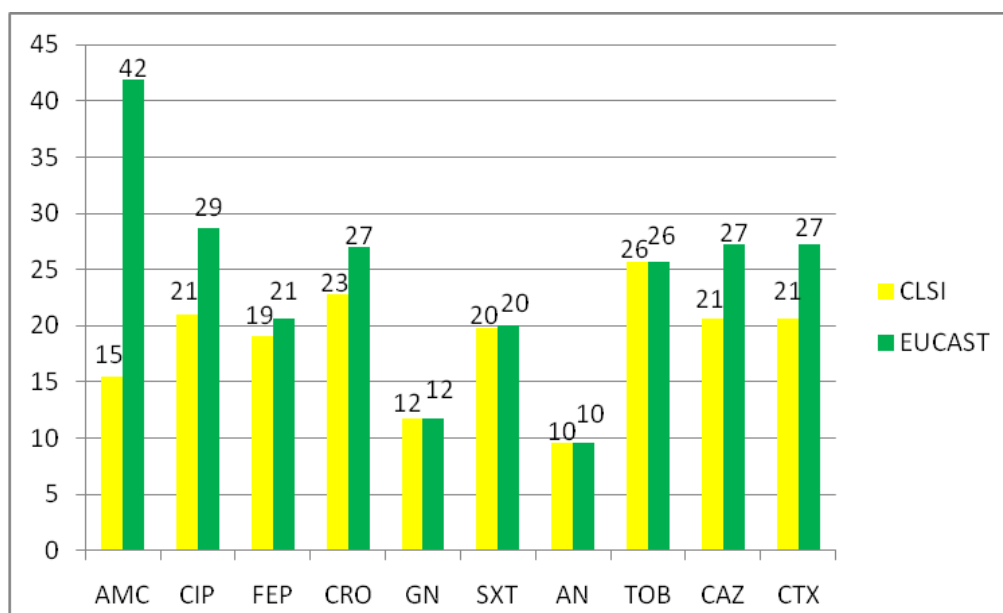
Pētījumā tika iekļauti mikroorganismi, kuri tika izolēti no asinīm. Kopumā pētījuma periodā no asinīm tika izolēti 269 *Enterobacteriaceae* dzimtas pārstāvji. 51% jeb 136 izolāti bija *Escherichia coli*. Seko *Klebsiella pneumoniae* ar 37% un 100 izolātiem. 7% jeb 20 izolāti ir *Enterobacter cloacae*. Vismazāk izolētas ir *Proteus mirabilis* ar 4% jeb 10 izolātiem un *Klebsiella oxytoca* ar trim izolātiem, kas sastāda 1%.

### 3.2 Antibakteriālās jutības noteikšana pēc EUCAST un CLSI standartiem

Visiem izolātiem tika noteikta antibakteriālā jutība, lietojot CLSI un EUCAST standartos aprakstītos antibakteriālos diskus. Pēc 18h antibakteriālo disku zonu diametri tika interpretēti pēc CLSI un EUCAST standartiem. Izolātiem, kuriem bija samazinātas cefalosporīnu antibakteriālo līdzekļu zonas un bija pozitīvs dubultdisku tests ar amoksicilīnu/klavulānskābi un ceftriaksonu, tika tālāk noteikts, vai izolāts neproducē ESBL.

Izolātu antibakteriālo līdzekļu zonu diametri ir parādīti otrajā pielikumā.

*Escherichia coli* izolātiem 6. attēlā tiek parādītas izmaiņas, kas notiek interpretējot baktēriju augšanas aiztures zonas ap antibakteriālajiem līdzekļiem, pēc CLSI un EUCAST standartiem.



6. attēls. Rezistentu *Escherichia coli* izolātu skaita izmaiņas %, interpretējot rezistences robežas pēc CLSI un EUCAST standartiem.

Figure 6. CLSI and EUCAST standard interpretation for antimicrobial resistant strains of *Escherichia coli*.

Amoksicilīna/klavulānskābes (AMC) antibakteriālajam diskam pēc EUCAST standartiem palielinās augšanas aiztures zonas diametrs, interpretējot rezistences robežu. Tādēļ par 27% jeb 36 izolātiem pieaug pret amoksicilīnu/klavulānskābi rezistentu izolātu skaits.

EUCAST standartos palielinot rezistentās zonas diametru ciprofloksacīnam (CIP), pieaug izolātu skaits, kuri ir rezistenti pret ciprofloksacīnu par 8%. Tātad salīdzinot CLSI un EUCAST standartus, 3 izolāti, kuri ar CLSI ir bijuši mazjūtīgi, pēc EUCAST ir rezistenti.

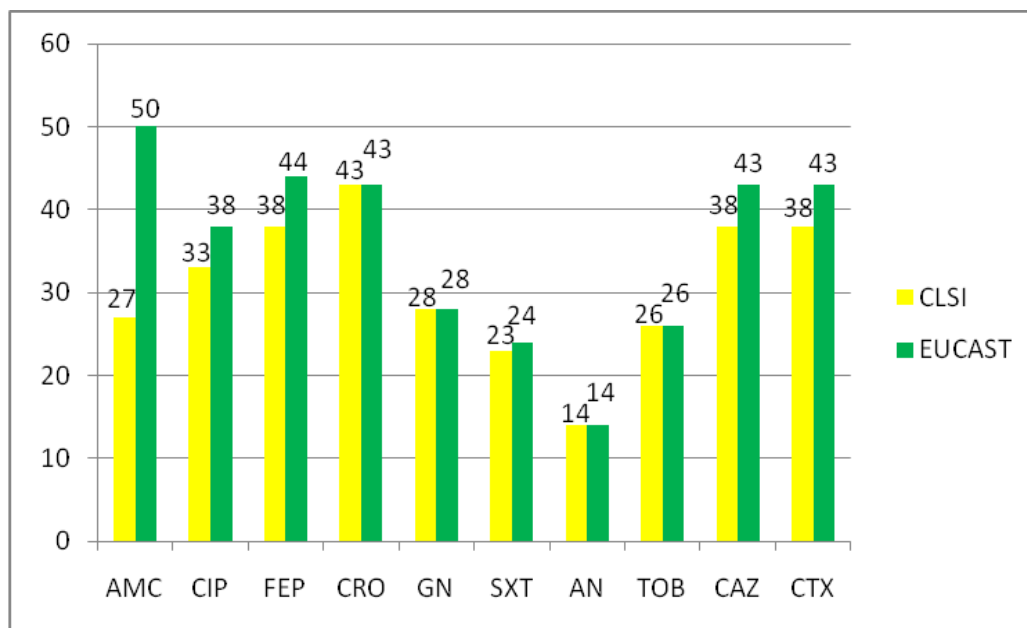
Pret cefepīmu (FEP) rezistentu izolātu daudzums pieauga tikai par 2%, kaut arī cefepīmam pēc EUCAST standarta ir lielāka augšanas aiztures zona, salīdzinot ar CLSI standartu.

Ceftriaksona (CRO) un amoksicilīna/klavulānskābes diskus izmanto dubultdisku metodei kā pirmo posmu, lai noteiktu ESBL. Tādēļ arī šiem diskkiem ir palielinātas augšanas aiztures zonu diametri, kas liecina par izolāta rezistenci pret antibakteriālo līdzekli. Ceftriaksonam pēc EUCAST standartiem ir palielinājies rezistentu izolātu skaits par 4% (n=6) salīdzinot ar CLSI standartiem.

Gentamicīnam (GN), trimetoprimam/ sulfametoksazolam (SXT), amikacīnam (AN) un tobramicīnam (TOB), kaut arī ir palielināta augšanas aiztures zona EUCAST standartos salīdzinot ar CLSI standartiem, netiek novērots pret šiem līdzekļiem rezistentu izolātu skaita pieaugums.

Ceftazidīms (CAZ) un cefotaksīms (CTX) tiek izmantoti ESBL noteikšanai. EUCAST standartos ir samazināta antibakteriālā līdzekļa koncentrācija diskā. Tādējādi šo disku izmantošana ir jutīgāka pret ESBL noteikšanu *Enterobacteriaceae* dzimtas baktēriju celmos. To var novērot *Escherichia coli* gadījumā, kad izmantojot EUCAST standartus tiek noteikti par 6% (n=9) vairāk ESBL producējošie celmi nekā izmantojot CLSI standartus.

7. attēlā ir parādītas ar EUCAST un CLSI standartu iegūto rezultātu atšķirības *Klebsiella pneumoniae* izolātiem.



7. attēls. Rezistentu *Klebsiella pneumoniae* izolātu skaita izmaiņas %, interpretējot rezistences robežas pēc CLSI un EUCAST standartiem.

Figure 7. CLSI and EUCAST standard interpretation for antimicrobial resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*.

Pētījuma periodā no asinīm ir izdalīti 100 *Klebsiella pneumoniae* izolātu.

Amoksicilīna/klavulānskābes antibakteriālā diska gadījumā izmantojot EUCAST standartos minētos augšanas aiztures zonu diametru pret amoksicilīnu/klavulānskābi rezistentu izolātu daudzums pieaug par 13% salīdzinot ar augšanas aiztures zonu interpretāciju CLSI standartos.

Ciprofloksacīnam izmantojot CLSI standartus tiek noteikti par 5 izolātiem mazāk pret ciprofloksacīnu rezistentie celmi, nekā ar EUCAST standartiem.

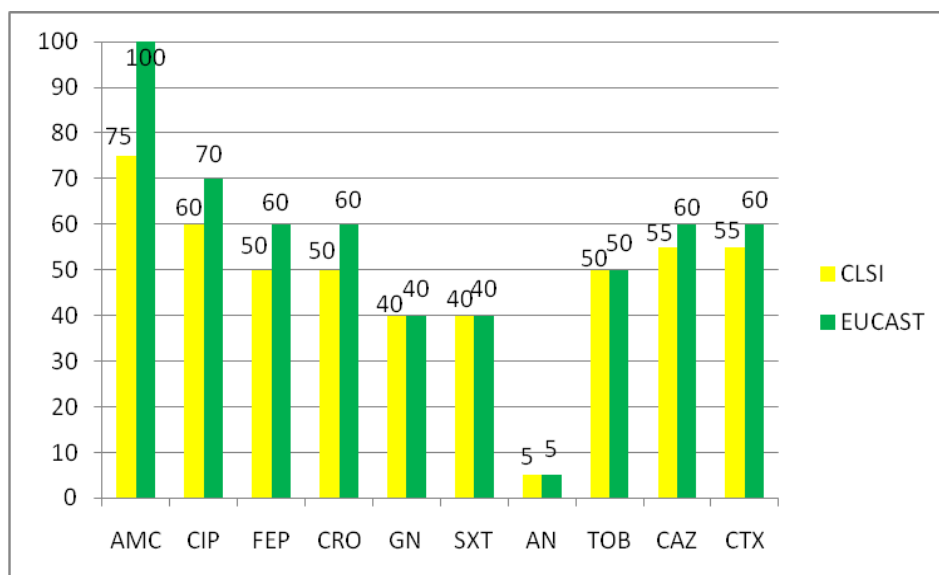
Cefepīmam ar EUCAST standartiem ir iespēja noteikt par 6% vairāk pret cefepīmu rezistentos celmus, nekā izmantojot CLSI standartus.

Ceftriaksonam *Klebsiella pneumoniae* gadījumā nosakot antibakteriālo jutību pēc CLSI un EUCAST standartiem nenovēro pret ceftriaksonu rezisteno celmu pieaugumu. Rezistence pret ceftriaksonu, izmantojot abus standartus, tiek noteikta visiem 43 ESBL producējošiem *Klebsiella pneumoniae* izolātiem.

Arī *Klebsiella pneumoniae* izolātiem, tāpat kā *Escherichia coli* izolātiem antibakteriālās jutības noteikšanā gentamicīnam, amikacīnam un tobramicīnam nenovēro pret šiem līdzekļiem rezistentu celmu pieaugumu.

Nosakot ESBL izmantojot ceftazidīmu un cefotaksīmu, šo antibakteriālo līdzekļu samazinātā koncentrācija EUCAST standartos ļauj noteikt par 5% vairāk ESBL producējošos celmus nekā izmantojot CLSI standartus.

8. attēlā ir parādīts *Enterobacter cloacae* pret antibakteriālajiem līdzekļiem rezistento celmu daudzums izmantojot CLSI un EUCAST standartu interpretāciju.



8. attēls. *Enterobacter cloacae* pret antibakteriālajiem līdzekļiem rezistento celmu īpatsvars procentos izmantojot CLSI un EUCAST standartu interpretāciju.

Figure 8. CLSI and EUCAST standard interpretation for antimicrobial resistant strains of *Enterobacter cloacae*.

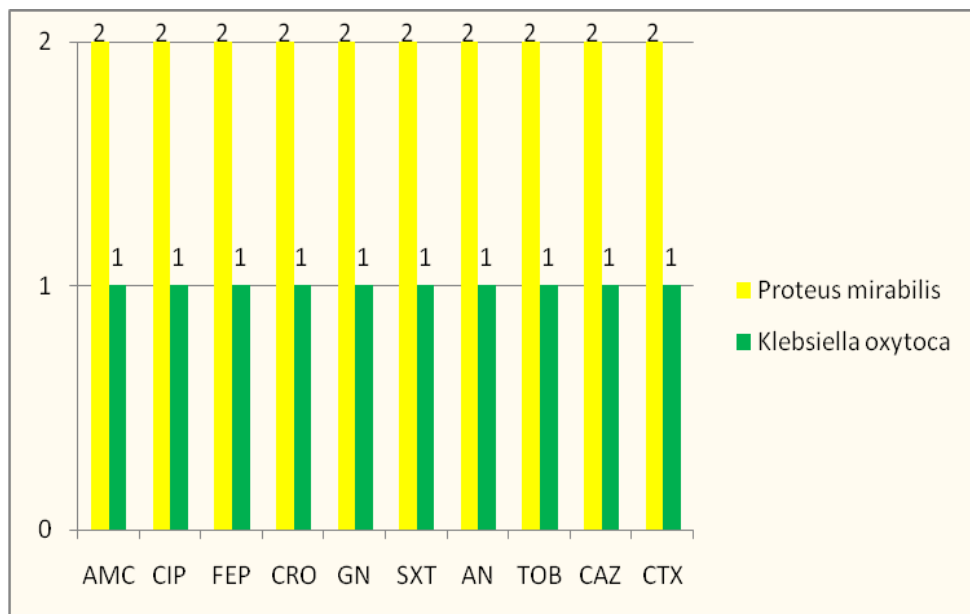
Pēc CLSI standartiem 75% *Enterobacter cloacae* izolāti ir rezistenti pret amoksicilīnu/klavulānskābi, bet pēc EUCAST visi izolāti ir rezistenti pret amoksicilīnu/klavulānskābi.

Ciprofloksacīna, cefepīma un ceftriaksona gadījumā rezistento celmu skaits izmantojot abus standartus atšķiras par 10 %.

Gentamicīnam, trimetoprimam/sulfametoksazolam, amikacīnam un tobramicīnam tāpat kā iepriekš aprakstītajiem *Enterobacteriaceae* dzimtas pārstāvjiem pēc abu standartu interpretācijas netiek novērots pret šiem līdzekļiem rezistento celmu pieaugums.

Pēc EUCAST standartiem izmantojot ceftazidīma un cefotaksīma antibakteriālo disku koncentrācijas tiek noteikts par 5% vairāk *Enterobacter cloacae* izolāti, kuri producē ESBL.

9. attēlā tiek atspoguļoti dati par *Proteus mirabilis* un *Klebsiella oxytoca* izolātiem, kuri ir rezistenti pret antibakteriālajiem līdzekļiem.



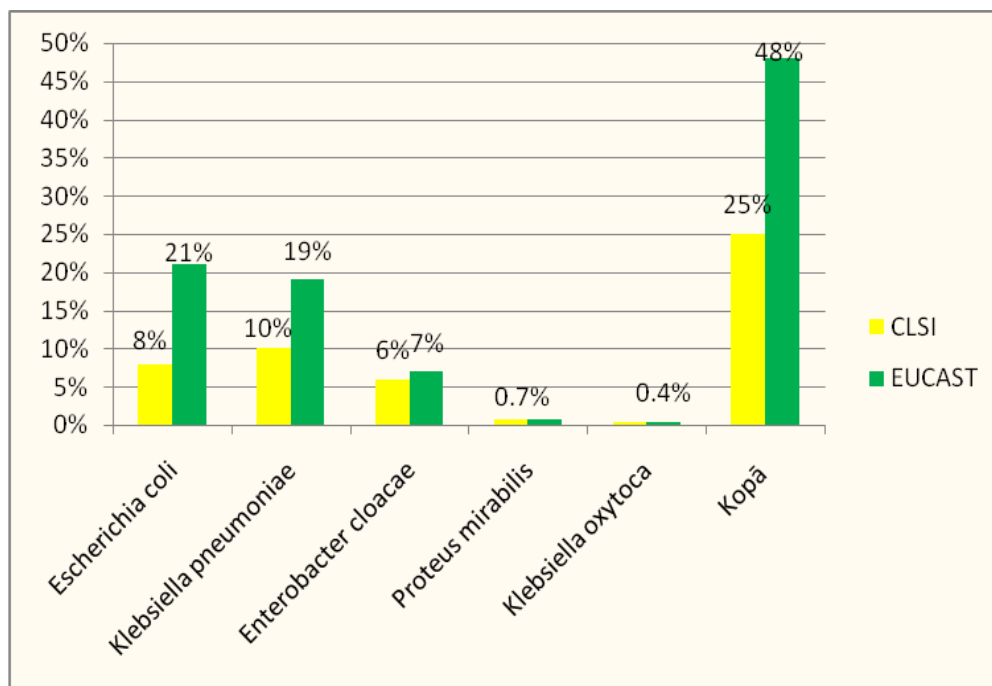
9. attēls. *Proteus mirabilis* un *Klebsiella oxytoca* izolātu skaits, kuri ir rezistenti pret antibakteriālajiem līdzekļiem.

Figure 9. *Proteus mirabilis* and *Klebsiella oxytoca* isolates that are resistant to antibiotics.

*Proteus mirabilis* un *Klebsiella oxytoca* gadījumā interpretējot augšanas aiztures zonu diametrus pēc CLSI un EUCAST standartiem nevienam no antibakteriālajiem līdzekļiem netiek novērtas rezistentu izolātu izmaiņas. Gan *Proteus mirabilis* gan *Klebsiella oxytoca* gadījumā izmantojot abus standartus tiek iegūti vienādi rezultāti.

Visi *Enterobacteriaceae* dzimtas pārstāvji, kuri ir izolēti no asinīm pētījuma periodā, ir jutīgi pret karbapenēmiem (imipenēmu un meropenēmu), tādēļ dati par šiem antibakteriālajiem līdzekļiem nav parādīti diagrammās.

10. attēlā parādīta pret amoksicilīnu/klavulānskābi rezistentu celmu daudzums procentos, *Enterobacteriaceae* dzimtas izolātiem.

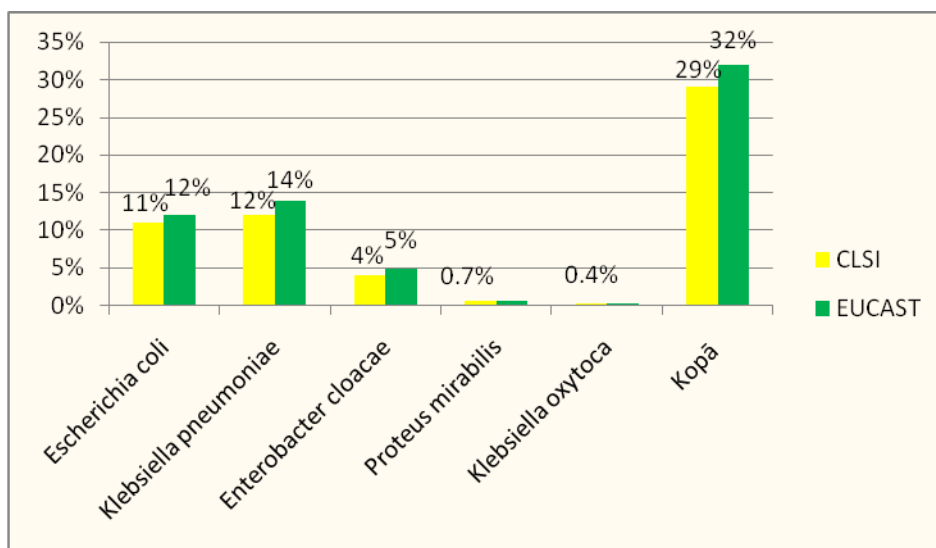


10. attēls. Pret amoksicilīnu/klavulānskābi rezistentu izolātu skaits procentos (%).  
Figure 10. To amoxicillin / clavulanic acid resistant isolates in percentages (%).

Pret amoksicilīnu/klavulānskābi rezistentu izolātu skaits kopumā pieauga par 23%, ja rezultāti tiku interpretēti pēc EUCAST standarta.

Pēc EUCAST standarta salīdzinot ar CLSI standartu vislielākais pret amoksicilīnu/klavulānskābi rezistentu izolātu daudzums ir *Escherichia coli*, kam novēro 13% pieaugumu, tam seko *Klebsiella pneumoniae* ar 9% pieaugumu un *Enterobacter cloacae* ar 1% pieaugumu. *Proteus mirabilis* un *Klebsiella oxytoca* nenovēro pret amoksicilīnu/klavulānskābi rezistentu izolātu skaita pieaugumu interpretējot augšanas aiztures zonu diametru rezultātus pēc CLSI un EUCAST.

11. attēlā apkopoti dati par *Enterobacteriaceae* dzimtas izolātiem, interpretējot augšanas aiztures zonu diametru rezultātus pēc CLSI un EUCAST izolātiem, kuri ir rezistenti pret ciprofloksacīnu.

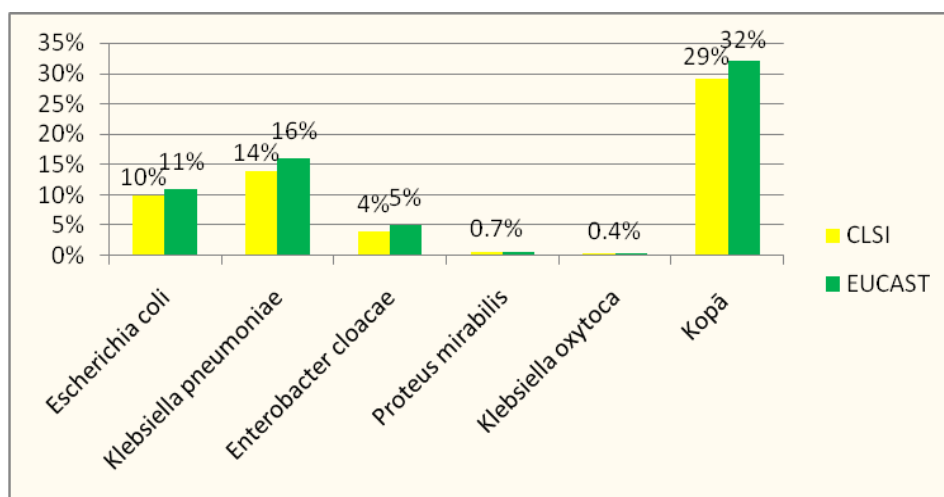


11. attēls. Pret ciprofloksacīnu rezistentu izolātu skaits procentos (%).

Figure 11. To ciprofloxacin resistant isolates in percentages (%).

Ciprofloksacīna gadījumā netiek novērots liels pret ciprofloksacīnu rezistentu izolātu pieaugums. Kopējais rezistentu izolātu skaita pieaugums interpretējot datus pēc EUCAST bija 3% jeb 10 izolāti. *Klebsiella pneumoniae* izolātiem pēc EUCAST ir 2 % pieaugums un *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* sekoja ar 1% pieaugumu. Pret ciprofloksacīnu rezistentu *Proteus mirabilis* un *Klebsiella oxytoca* izolātu skaits nepieauga.

12. attēlā atspoguļoti rezultāti *Enterobacteriaceae* dzimtas izolātiem, kuri ir rezistenti pret cefepīmu.

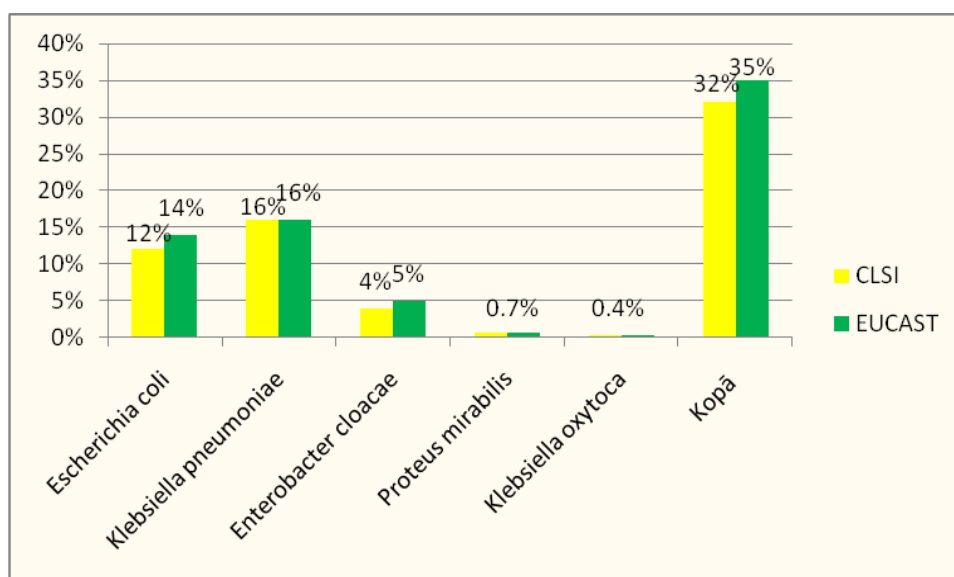


12. attēls. Pret cefepīmu rezistentu izolātu skaits procentos (%).

Figure 12. To cefepime resistant isolates in percentages (%).

Līdzīgi kā ciprofloksacīna gadījumā pret cefepīmu rezistentu izolātu skaits interpretējot rezultātus pēc EUCAST pieauga par 3%, kas sastāda 10 izolātus no kopējā pētījumā iekļauto izolātu skaita. Pret cefepīmu rezistentu izolātu skaits nepieauga *Proteus mirabilis* un *Klebsiella oxytoca* gadījumā. *Klebsiella pneumoniae* bija lielākais pret cefepīmu rezistentu izolātu pieaugums pēc EUCAST rezultātu interpretācijas. Augšanas aiztures zonu diametrus interpretējot pēc CLSI standartiem *Escherichia coli* un *Enterobacter cloacae* izolātiem 1% gadījumu tiku iegūta interpretācija mazjutīgs. Bet pēc EUCAST šīs zonas tika interpretētas kā rezistentas.

13.attēlā apkopoti dati par izolātiem, kuri ir rezistenti pret ceftriaksonu.

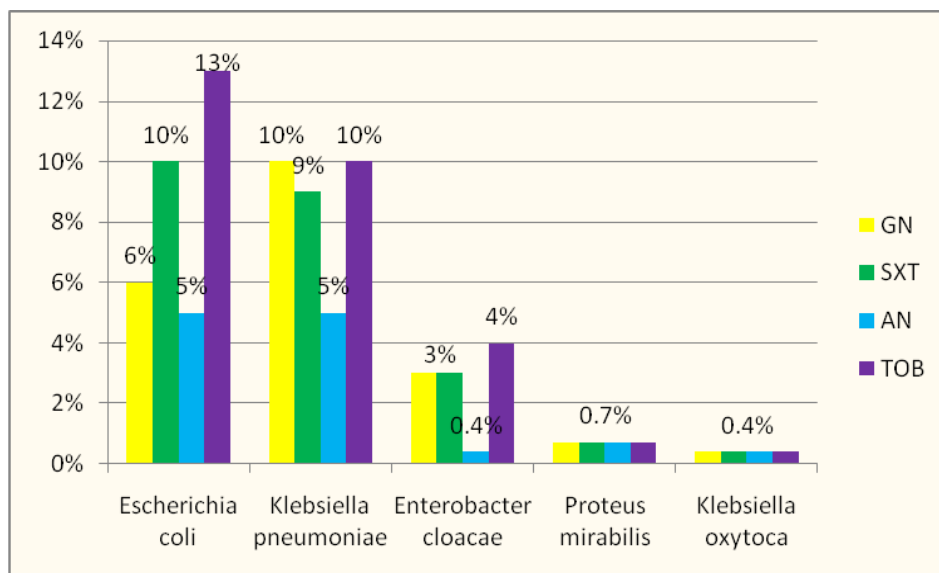


13. attēls. Pret ceftriaksonu rezistentu izolātu skaits procentos (%).

Figure 13. To ceftriaxone resistant isolates in percentages (%).

Ceftriaksona gadījumā *Proteus mirabilis*, *Klebsiella oxytoca* un *Klebsiella pneumoniae* izolātiem interpretējot augšanas aiztures zonu diametru pēc abiem standartiem netiek novērotas izmaiņas. *Escherichia coli* izolātiem izmaiņas tika novērotas 6 izolātiem, kur ap ceftriaksonu augšanas aiztures zonas diametrs pēc EUCAST standarta tika interpretēts kā rezistents, salīdzinot ar CLSI standartu. *Enterobacter cloacae* izolātiem izmaiņas tika novērotas 2 izolātiem, kas sastāda 2% no kopējā pret ceftriaksonu rezistentu celmu skaita interpretējot zonas diametru pēc EUCAST.

14. attēlā apkopoti dati par pret gentamicīnu (GN), trimetoprimu/sulfametoksazolu (SXT), amikacīnu (AN) un tobramicīnu (TOB) rezistentu izolātu daudzumu atkarībā no kopējā izolātu skaita.

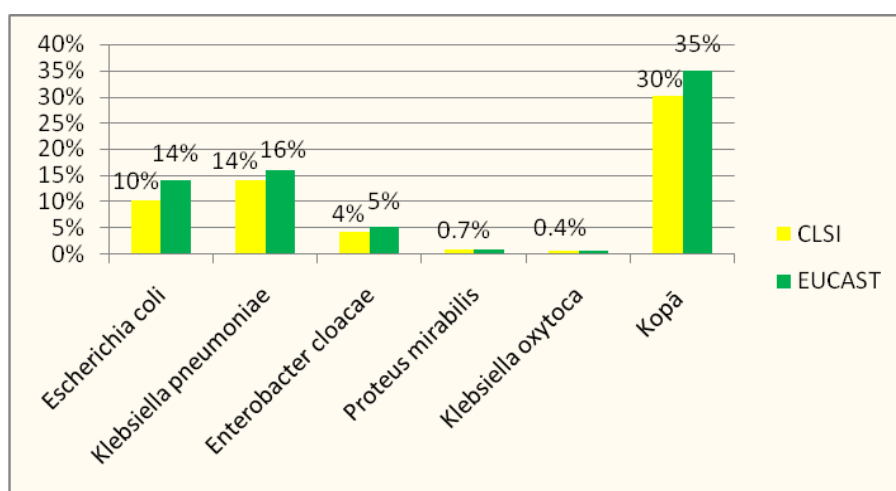


14. attēls. Pret gentamicīnu (GN), trimetoprimu/sulfametoksazolu (SXT), amikacīnu (AN) un tobramicīnu (TOB) rezistentu izolātu daudzums procentos (%).

Figure 14. To gentamicin (GN), trimethoprim / sulfamethoxazole (SXT), amikacin (AN) and tobramycin (TOB) resistant isolates in percentages (%).

Gentamicīnam, trimetoprimam/sulfametoksazolam, amikacīnam un tobramicīnam netiek novērotas augšanas aiztures zonu diametru interpretācijas atšķirības starp CLSI un EUCAST standartiem.

ESBL producējošo celmu skaits % atkarībā no standartu interpretācijas parādīts 15. attēlā.



15. attēls. ESBL producējošo celmu skaits procentos (%)

Figure 15. ESBL producing isolates in percentages (%)

Pētījuma rezultātos parādās jau iepriekš literatūrā aprakstītais. Interpretējot augšanas aiztures zonu pēc EUCAST standartiem, ir iegūta jutīgāka metode, lai noteiktu ESBL. *Escherichia coli* un *Klebsiella pneumoniae* izolātiem šajā pētījumā ir vislielākais skaits. Tādēļ arī iegūtie rezultāti par ESBL noteikšanu un EUCAST standartu efektivitāti ESBL noteikšanā ir visticamākie. Kopumā izmantojot EUCAST standartus tiek noteikti par 5% jeb 15 izolātiem vairāk ESBL producējošie celmi nekā izmantojot CLSI standartu.

6. tabulā apkopoti dati par rezistentu izolātu skaita pieaugumu procentos, interpretējot augšanas aiztures zonas ar EUCAST un CLSI standartiem.

6. tabula

Rezistentu izolātu pieaugums procentos saskaņā ar EUCAST standartu salīdzinājumā ar CLSI standartu

Table 6.

Resistente isolates increase in percent compared to EUCAST standards to CLSI standard

Antibiotika		Baktērija				
		<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>K. oxytoca</i>
AMC	Amoksicilīns/ Klavulānskābe	13%	9%	1%	0%	0%
CIP	Ciprofloksacīns	1%	2%	1%	0%	0%
FEP	Cefepīms	1%	2%	1%	0%	0%
CRO	Ceftriaksons	2%	0%	1%	0%	0%
GN	Gentamicīns	0%	0%	0%	0%	0%
SXT	Trimetoprimis/ sulfametoksazols	0%	1%	0%	0%	0%
AN	Amikacīns	0%	0%	0%	0%	0%
CAZ	Ceftazidīms	4%	2%	1%	0%	0%
CTX	Cefotaksīms	4%	2%	1%	0%	0%
TOB	Tobramicīns	0%	0%	0%	0%	0%
ESBL		4%	2%	1%	0%	0%

## DISKUSIJA

Pasaules veselības organizācijas (WHO) 2014.gada ziņojumā tie uzsvērta problēma, kas ir saistīta ar baktēriju rezistenci pret antibakteriālajiem līdzekļiem, un saistību ar to, ka rezistentu baktēriju daudzums strauji pieaug. Ja situācija nemainīsies, tad jau tuvāko 50 gadu laikā būs problēmas pat ar visvienkāršāko infekcijas slimību ārstēšanu (Anonymous.(a) 2015).

Upsalas Universitātes 2012. gada datu apkopojums par antibakteriālo rezistenci parāda baktēriju rezistenci saistībā ar ekonomisko un sociālo ietekmi. Pēc ASV datiem pacientiem, kuriem infekcijas izraisa rezistentas gramnegatīvas baktērijas, palielinās izmaksas ārstēšanai par 29%, un par 24% palielinās slimnīcā pavadīto dienu skaits. ESBL producējošo baktēriju gadījumā ārstēšanās izmaksas palielinās par 57%, un par 56% palielinās slimnīcā pavadīto dienu skaits (Anonymous.(a) 2012).

Precīzi nosakot ESBL, izvairās no nepareizu antibakteriālo līdzekļu lietošanas ārstēšanā. Nepareiza antibakteriālo līdzekļu lietošana ir arī viens no faktoriem, kas veicina antibakteriālās rezistences veidošanos. Karbapenēmu rezistence pētījuma periodā izdalītajiem celmiem netika novērota. Bet pie nepareizas antibakteriālo līdzekļu lietošanas ESBL producējošu baktēriju ārstēšanā pastāv risks attīstīties arī rezistencei pret karbapenēmiem.

ESBL producējošu mikroorganismu izraisītu septicēmiju gadījumā, kā viens no riska faktoriem ir jāmin iepriekš lietoti  $\beta$ -laktāma grupas antibakteriālie līdzekļi. Tas ir, ārstējot infekcijas slimības ar  $\beta$ -laktāma grupas antibakteriāliem līdzekļiem, var paaugstināt risku ESBL producējošu mikroorganismu attīstībai. Pie šāda secinājuma, pēc piecu gadu pētījuma ir nonākuši Detroitas Medicīnas Centrā veiktā pētījumā. Šajā pētījumā arī pierādās nozīme, lai precīzi noteiktu baktēriju jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem un tālāku līdzekļu izvēli ārstēšanā. Šādā veidā pastāv iespēja nākotnē samazināt septicēmiju daudzumu, ko izraisa ESBL producējošie mikroorganismi (Chopra et al. 2015).

2013. gadā ASV vairāk kā divus miljonus infekcijas slimību izraisīja pret antibakteriālajiem līdzekļiem rezistenti mikroorganismi. 23 tūkstoši no šīm infekcijām pacientiem beidzās ar nāvi. 26 tūkstošu infekciju izraisīja ESBL producējošās *Klebsiella pneumoniae* un *Escherichia coli*. ESBL producējošo mikroorganismu gadījumā letāls iznākums ir 5% gadījumu (Anonymous 2013).

Slimību kontroles un prevensijas centrs ir klasificējis ESBL producējošās baktērijas pie nopietniem draudiem, kuriem ir nepieciešams pastiprināts monitorings un prevensijas pasākumi. Vislielākā uzmanība ir jāpievērš *Clostridium difficile* un pret karbapenēmiem rezistentām *Enterobacteriaceae* dzimtas baktērijām (Anonymous 2013).

Pētījumā tika apskatīti antibiogrammu rezultāti interpretējot augšanas aiztures zonas ap antibakteriālo līdzekļu diskus, pēc EUCAST un CLSI standartiem. Tomēr netika aplūkots gala rezultāts, tas ir, kādus antibakteriālos līdzekļus lietoja septicēmijas ārstēšanā un ārstēšanas iznākums. Jo infekcijas slimību ārstēšanā, ko izraisa jutīgi mikroorganismi, letalitāte ir 15%, bet rezistentu mikroorganismu ārstēšanā letalitāte sasniedz 35%, to atspoguļo 2008. gada dati par Eiropu (Da Volterra 2015).

Pētījuma rezultātus, salīdzinot ar citu Eiropā veiktajiem pētījumiem, amoksicilīna/klavulānskābes gadījumā tiek novērots palielināts rezistentu izolātu skaits, interpretējot augšanas aiztures zonas pēc EUCAST standarta. Autores veiktajā pētījumā pret šo līdzekli rezistentu izolātu skaits pieaug. Rezistentu izolātu pieaugums sakrīt ar Katānijas Universitātes pētījumu, kur tika salīdzināti EUCAST un CLSI 2013. gada standarti, šajā pētījumā rezistentu izolātu skaits palielinājās par 6% (Blandino et al 2014). Amoksicilīna/klavulānskābes gadījumā starp 2014. gada standartiem un 2013. gada standartiem izmaiņas rezultātu interpretācijā nav.

*Enterobacter cloacae* izolātiem, pēc EUCAST standarta pētījumā parādās 100% rezistence pret amoksicilīnu/klavulānskābi. Ko var skaidrot ar šo baktēriju iedzimto rezistenci pret šo līdzekli. (EUCAST standarts 2014)

Izolātu daudzums, kuri ir rezistenti pret ciprofloksacīnu, kopumā interpretējot datus par visiem *Enterobacteriaceae* dzimtas izolātiem pēc EUCAST standarta ir palielinājies par 3%. Salīdzinot šos rezultātus ar Katānijas Universitātes pētījumu, rezultāti ir ļoti tuvi. Itālijā veiktajā pētījumā pret ciprofloksacīnu rezistentu izolātu skaits interpretējot augšanas aiztures zonas pēc EUCAST standarta palielinās par 2%.

Pētījuma periodā netika izolēti *Enterobacteriaceae* dzimtas izolāti, kuri bija rezistenti pret imipenēmu un meropenēmu. Salīdzinot arī abus standartus jutīgo izolātu daudzums nesamazinājās. Pēc Eiropas slimību kontroles un prevencijas centra datiem (pielikumi 6. un 7.) Var novērot līdzīgu situāciju par pret karbapenēmiem rezistentu izolātu daudzumā, kā tas ir veiktajā pētījumā. Jo Latvijā kopumā ir neliels pret karbapenēmiem rezistentu izolātu daudzums, tas sastāda mazāk kā 1%, no valstī izolētajiem *Escherichia coli* un *Klebsiella pneumoniae* izolātiem, kas ir izdalīti no asinīm vai likvora. Tādēļ arī nav rezultātu nesakritība starp veikto pētījumu un kopējiem datiem valstī.

Pret cefepīmu un ceftriaksonu rezistentu izolātu skaits veiktajā pētījumā pēc EUCAST standartiem palielinās par 3%. Šveicē veiktajā pētījumā, kur tika salīdzināti abi standarti cefepīma gadījumā EUCAST standarta vadlīnijas noteica lielāku skaitu pret cefepīmu rezistentos izolātus, nekā izmantojot CLSI standartu. Arī ceftriaksona gadījumā šajā pētījumā ir novēroti līdzīgi rezultāti (Polsfusst et al. 2012).

Gentamicīnam, amikacīnam un tobramicīnam nenovēro rezistentu izolātu skaita izmaiņas interpretējot augšanas aiztures zonas starp EUCAST un CLSI standartiem. Trimetoprimam/ sulfametoksazolam bija izmaiņas 1 izolātam, kur *Klebsiella pneumoniae* izolāts pēc CLSI ir mazjūtīgs, bet pēc EUCAST rezistents.

ESBL noteikšanai izmanto ceftazidīma un cefotaksīma antibakteriālo līdzekļu diskus. Pēc EUCAST standarta šiem diskiem ir samazināta līdzekļa koncentrācija diskā. Veiktajā pētījumā starp abu standartu izmantotajām antibakteriālo disku koncentrācijām, ar EUCAST standartos lietojamajiem diskiem tiek noteikts par 5% vairāk izolāti, kuriem tiek veikta tālākā ESBL apstiprināšana nekā ar CLSI standartos izmantojamajām disku koncentrācijām.

Arī pēc 2012. gada Šveices pētījuma ir novērojami līdzīgi rezultāti, kā autores veiktajā pētījumā. Veiktajā pētījumā testa jutība cefotaksīma un ceftazidīma gadījumā atšķīrās par 5%. (Polsfusst et al. 2012).

Arī Katānijas Universitātes veiktajā pētījumā nebija novērojamas izmaiņas ESBL noteikšanā pēc CLSI un EUCAST standartiem. (Blandino et. al 2014).

2013. gada Šveices pētījuma netika novērotas būtiskas izmaiņas, starp antibakteriālo līdzekļu koncentrāciju izmaiņām diskos, un rezistentu izolātu skaita pieaugumu. Šī pētījuma autori iesaka pirms mainīt pielietotos standartus laboratorijā, ir jāveic pētījumi par standartu rosinātajām izmaināma slimnīcas robežā, un pat nodaļas robežās, jo ir nodaļas ir īpaši intensīvas terapijas vai ķirurģijas nodaļas, kur prevalē noteiktu baktēriju celmu kopums. (Wolfensberger et al. 2013).

Kopumā pēc EUCAST standartiem salīdzinot ar CLSI standartiem ir iespējams noteikt vairāk ESBL producējošās baktērijas. Tomēr, lai veiktu standartu maiņu ir nepieciešami padziļināti pētījumi par šo tēmu arī citās slimnīcās un nodaļās.

Rezumējot visus iegūtos datus var teikt, ka pēc EUCAST standartiem, samazinot ceftazidīma un cefotaksīma antibakteriālā līdzekļa koncentrāciju diskos, metode paliek jutīgāka, lai noteiktu ESBL producējošos mikroorganismus. EUCAST standartos ar palielināto augšanas aiztures zonas diametru 23% izolātu izmaiņas rezultāts no mazjutīgs, pēc CLSI standarta, uz rezistents, šādā veidā pilnībā liedzot to izmantošanu ārstēšanā.

Pētījumā iegūtie rezultāti ir tikai pirmais solis, lai varētu noteikt, kurš no izmantojamajiem standartiem ir labāks. Loģisks šī pētījuma turpinājums ir šo abu standartu salīdzinājums uz celmiem, kuriem ir noteiktas genotipiskās īpašības, lai varētu precīzāk noteikt standartu jutību un specifitāti. Pētījumu būtu ieteicams arī turpināt izmeklējot izolātus, kuri ir izdalīti ne tikai septicēmijas gadījumā, bet arī izolātiem, kuri ir izdalīti arī no citām infekcijas vietām un izmeklējamajiem materiāliem.

Tā kā ESBL producējošās *Enterobacteriaceae* dzimtas baktērijās ir gan sadzīves infekciju slimību, gan arī intrahospitāļu infekciju izraisītājas, tad tālāki pētījuma virzieni var būt saistīti ar rezistences gēnu izcelsmes noteikšanu un tālāku salīdzinājumu, pret kuras grupas izolātiem abi no standartiem ir jutīgāki.

Kā jau tas tika minēts Šveicē veiktajos pētījumos, ir jāņem vērā fakts, ka ne tikai slimnīcā, bet pat nodaļā dominē noteikti celmi, tādēļ, lai konkrēti varētu noteikt standartu maiņas efektivitāti, ir nepieciešams veikt pētījumus plašākā apmērā, ne tikai vienas slimnīcas ietvaros.

## SECINĀJUMI

1. Praksē salīdzinot CLSI un EUCAST standartus, neizmainījās pret gentamicīnu, amikacīnu un tobramicīnu rezistento *Enterobacteriaceae* izolātu skaits, kaut arī pēc EUCAST standartiem ir palielināta baktēriju augšanas aiztures zona disku difūzijas metodē.

2. *Klebsiella oxytoca* un *Proteus mirabilis* izolātiem nemainījās pret antibakteriālajiem līdzekļiem rezistento un ESBL producējošo izolātu skaits, salīdzinot CLSI un EUCAST standartus, tomēr šo sugu izolātu skaits nepārsniedza 10.

3. Palielinot augšanas aiztures zonu EUCAST standartā, par 23% palielinājās pret amoksicilīnu/ klavulānskābi rezistento izolātu skaits.

4. Izmantojot EUCAST standarta augšanas aiztures zonu interpretāciju, pret cefalosporīnu grupas antibakteriālajiem līdzekļiem rezistento izolātu skaits pieauga par 5%.

5. 55 *Enterobacteriaceae* dzimtas klīniskie izolāti (20 % no visiem pētītajiem izolātiem), kas pēc EUCAST standarta tika interpretēti kā mazjutīgi, pēc CLSI standarta atbilda rezistentiem izolātiem.

6. EUCAST standartā, salīdzinājumā ar CLSI standartu samazinot antibakteriālo līdzekļu koncentrāciju diskos un palielinot augšanas aiztures zonas antibakteriālajiem līdzekļiem, tika identificēts par 5% vairāk ESBL producējošu *Enterobacteriaceae* dzimtas klīnisko izolātu.

## PATEICĪBAS

Pateicība tiek izteiktas darba vadītājai Vizmai Nikolajevai un darba konsultantei Elvīrai Lavrinovičai. Kā arī laboratorijas personālam Ievai Lakševicai, Sanitai Romulei un Ilzei Stārķei.

## LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Andrews J. 2003. BSAC Disc Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing <http://bsac.org.uk/wp-content/uploads/2012/02/version215-nov-2003-.pdf>
2. Anonymous (a). 2009 Staining Procedures UK Standards for Microbiology Investigations [http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb\\_C/1309970661136](http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1309970661136)
3. Anonymous (b). 2009 Motility Test UK Standards for Microbiology Investigations [http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb\\_C/1309970598398](http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1309970598398)
4. Anonymous. (c) 2009. Kligler iron agar. Biocard diagnostics. [http://www.biokar-diagnostics.com/solabia/produitsDiagnostic.nsf/0/397C6C2EDA342538C12574B100496CA0/\\$file/TDS\\_BK034\\_v6.pdf](http://www.biokar-diagnostics.com/solabia/produitsDiagnostic.nsf/0/397C6C2EDA342538C12574B100496CA0/$file/TDS_BK034_v6.pdf)
5. Anonymous.(a) 2011. Klebsiella spp. Canada: Public Health Agency of Canada. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/klebsiella-eng.php>
6. Anonymous.(a) 2012. Burden of Antibiotic Resistance. Uppsala University.
7. Anonymous 2013. Antibiotic resistance threats in The United States, 2013. <http://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>
8. Anonymous.(a) 2015. Antimicrobial resistance. World Health Organization. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>
9. Barnhart C., Campbell R., LaRosa L.A., Marr A.M., Morgan A., VanBerkom D. 2002. Mechanisms of Aminoglycoside Resistance [http://www.ups.edu/bugdrug/antibiotic\\_manual/aminoglycosideresistance.htm](http://www.ups.edu/bugdrug/antibiotic_manual/aminoglycosideresistance.htm)
10. Bauman R.W. 2012. Microbiology with diseases by body system third edition. San Francisco: Benjamin Cummings, 928 pp.
11. Black J.G. 2012. Microbiology principles and explorations 8th edition. ASV: John wiley & Sons, 975 pp.
12. Blandino G., Mastrojeni S., Inturri R., Sciacca A., Nicoletti G.2014. Antimicrobial susceptibility of strains of Enterobacteriaceae isolated from bloodstream infections using current CLSI and EUCAST breakpoints. Health. 14, 153-157
13. Brooks G.F., Carroll K.C., Butel J.S., Morse S.A., Mietzner T.A. 2010. Medical Microbiology 25th edition. ASV: McGraw Hill Medical, 814 pp.
14. Calderwood S.B. 2012. Beta-lactam antibiotics: Mechanisms of action and resistance and adverse effects. <http://www.uptodate.com/contents/beta-lactam-antibiotics-mechanisms-of-action-and-resistance-and-adverse-effects>

15. Cauz J. 2013. Antibiotic resistance: mechanisms of antibiotic resistance  
<http://www.britannica.com/EBchecked/media/129670/There-are-multiple-mechanisms-by-which-bacteria-can-develop-resistance>
16. CLSI Standarts 2014. M100-S24 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. 230 pp.
17. Chopra T., Marchaim D., Johnson P. C., Chalana I. K., Tamam Z., Mohammed M., Alkatib S., Tansek R. , Chaudhry K., Zhao J. J., Pogue J.M., Kaye K..S. 2015. Risk factors for bloodstream infection caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: A focus on antimicrobials including cefepime. *Am J Infect Control*. 15, 00144-3.
18. Da Volterra, 2015. The Heavy Burden of Resistance.  
<http://www.davolterra.com/content/heavy-burden-resistance>
19. Denyer S.P, Hodges N.A., Gorman S.P. 2004. Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology seventh . Oxford: Blacwell Publishing company, 481 pp.
20. Džidic S., Šuškovc J., Kos B. 2007. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. *Food Technol. Biotechnol*. 08. 46 (1) 11–21
21. Roberts M.C. 1996. Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. *FEMS Microbiol. Rev.*, 19, 1-24.
22. Engelkirk P.G., Duben-Engelkirk J. 2008. Laboratory diagnosos of Infectious diseases Essentials of Diagnostic Microbiology. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 736 pp.
23. EUCAST Standarts 2014. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters  
[http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/Breakpoint\\_table\\_v\\_4.0.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Breakpoint_table_v_4.0.pdf)
24. Freeman W.H. 2000. Transduction  
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21760/?redirect-on-error=\\_HOME](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21760/?redirect-on-error=_HOME)
25. Gillrdpie S.H., Bamford K.B. 2003. Medical Microbiology & Infection at a Glance second edition. Oxford: Blackwell Publishing, 128 pp.
26. Holten K.B., Onusko E.M. 2000. Appropriate Prescribing of oral Beta-lactam antibiotics. *Am. Fam. Physician*, 62, 611-620.
27. Hombach M., Wolfensberger A., Kuster S.P., Böttgera E. C. 2013. Influence of Clinical Breakpoint Changes from CLSI 2009 to EUCAST 2011 Antimicrobial

- Susceptibility Testing Guidelines on Multidrug Resistance Rates of Gram-Negative Rods. *J Clin Microbiol.* 51, 2385–2387.
28. Kayser F.H., Bienz K.A., Eckert J., Zinkernagel R.M. 2005. *Medical Microbiology*. New York: Thieme, 724 pp.
  29. Levinson W. 2008. *Review of Medical Microbiology & Immunology*, Tenth Edition. ASV: The McGraw-Hill Companies, 684 pp.
  30. Levinson W., Jawetz E. 1998. *Medical Microbiology & Immunology Examination & Board Review* sixth edition. New York: Lange Medical Books/McGraw – Hill Medical Publishing Division, 582 pp.
  31. Llosa M., Gomis-Rüth F.X., Coll M., De la Cruz F. 2002. Bacterial conjugation: a two-step mechanism for DNA transport. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2002.03014.x
  32. Maczulak A. 2011. *Encyclopedia of Microbiology*. New York: Facts On File, 881 pp.
  33. Mims C., Dockrell H.M., Goering R.V., Roitt I., Workelin D., Mark Zuckerman M. 2004. *Medical microbiology* third edition. Elsevier Mosby, 660 pp.
  34. Moore D. 2013 Antibiotic classification & mechanism <http://www.orthobullets.com/basic-science/9059/antibiotic-classification-and-mechanism>
  35. Mulvey M. 2006 Extended-spectrum beta-lactamase resistance. <http://www.can-r.com/mediaResources/ESBL%20Resistance.pdf>
  36. Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. 2009. *Medical Microbiology* sixth edition. Elsevier Mosby, 947 pp.
  37. Polsfuss S., Bloemberg G.V., Giger J., Meyer V., Hombach M. 2012. Comparison of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and CLSI screening parameters for the detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in clinical Enterobacteriaceae isolates. *J Antimicrob Chemother.* 67,159-66
  38. Roe. B.A. 2008 Bacterial Transformation and Transfection [http://www.genome.ou.edu/protocol\\_book/protocol\\_adxF.html](http://www.genome.ou.edu/protocol_book/protocol_adxF.html)
  39. Rupp M., Fey P. 2003. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae: considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. *Drugs*, 63, 353-65.
  40. Tenover F.C. 2006 Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria [http://biomed.emory.edu/PROGRAM\\_SITES/PBEE/pdf/tenover1.pdf](http://biomed.emory.edu/PROGRAM_SITES/PBEE/pdf/tenover1.pdf)
  41. Todar K. 2008. Todar's Online Textbook of Bacteriology [http://textbookofbacteriology.net/kt\\_toc.html](http://textbookofbacteriology.net/kt_toc.html)

42. Volk W. A., Gebhardt B.M., Hammarskjöld M. L., Kadner R.J. 1996. Essentials of Medical Microbiology Fifth Edition. New York: Lippincott – Raven Publishers, 725 pp.
43. Wilson M. 2008. Bacteriology of Humans An Ecological Perspective. Oxford: Blackwell publishing, 364 pp.

# PIELIKUMI

## Vitek 2 compact analizatora testa kartes saturs

ledobums	Tests	Apzīmējums	Daudzums/ iedobums
2	Ala-Phe-Pro-ARILAMIDĀZE	APPA	0,0384 mg
3	ADONITOLS	ADO	0,1875 mg
4	L-Pirolidonil-ARILAMIDĀZE	PyrA	0,018 mg
5	L-ARABITOLS	IARL	0,3 mg
7	D-CELOBIOZE	dCEL	0,3 mg
9	BETA-GALAKTOZIDĀZE	BGAL	0,036 mg
10	H2S PRODUCĒŠANA	H2S	0,0024 mg
11	BETA-N-ACETIL-GLIKOZAMINIDĀZE	BNAG	0,0408 mg
12	Glutamilarilamidāze pNA	AGLTp	0,0324 mg
13	D-GLIKOZE	dGLU	0,3 mg
14	GAMMA-GLUTAMILTRANSFERĀZE	GGT	0,0228 mg
15	FERMENTĒŠANA/GLIKOZE	OFF	0,45 mg
17	BETA-GLIKOZIDĀZE	BGLU	0,036 mg
18	D-MALTOZE	dMAL	0,3 mg
19	D-MANNĪTS	dMAN	0,1875 mg
20	D-MANNOZE	dMNE	0,3 mg
21	BETA-KSILOZIDĀZE	BXYL	0,0324 mg
22	BETA-alanīnarilamidāze pNA	BAlap	0,0174 mg
23	L-Prolīna ARILAMIDĀZE	ProA	0,0234 mg
26	LIPĀZE	LIP	0,0192 mg
27	PALATINOZE	PLE	0,3 mg
29	Tirozīna ARILAMIDĀZE	TyrA	0,0276 mg
31	UREĀZE	URE	0,15 mg
32	D-SORBĪTS	dSOR	0,1875 mg
33	SAHAROZE/SUKROZE	SAC	0,3 mg
34	D-TAGATOZE	dTAG	0,3 mg
35	D-TREHALOZE	dTRE	0,3 mg
36	CITRĀTS (NĀTRIJA)	CIT	0,054 mg
37	MALONĀTS	MNT	0,15 mg

ledobums	Tests	Apzīmējums	Daudzums/ iedobums
39	5-KETO-D-GLIKONĀTS	5KG	0,3 mg
40	L-LAKTĀTA alkalizācija	ILATk	0,15 mg
41	ALFA-GLIKOZIDĀZE	AGLU	0,036 mg
42	SUKCINĀTA pasārmošana	SUCT	0,15 mg
43	Beta-N-ACETIL-GALAKTOZAMINIDĀZE	NAGA	0,0306 mg
44	ALFA-GALAKTOZIDĀZE	AGAL	0,036 mg
45	FOSFATĀZE	PHOS	0,0504 mg
46	Glicīna ARILAMIDĀZE	GlyA	0,012 mg
47	ORNITĪNA DEKARBOKSILĀZE	ODC	0,3 mg
48	LIZĪNA DEKARBOKSILĀZE	LDC	0,15 mg
52	DEKARBOKSILĀZES BĀZE	ODEC	NA
53	L-HISTIDĪNA asimilācija	IHSa	0,087 mg
56	KURMARĀTS	CMT	0,126 mg
57	BETA-GLIKORONIDĀZE	BGUR	0,0378 mg
58	O/129 REZISTENCE (comp.vibrio.)	O129R	0,0105 mg
59	Glu-Gly-Arg-ARILAMIDĀZE	GGAA	0,0576 mg
61	L-MALĀTA asimilācija	IMLTa	0,042 mg
62	ELLMAN	ELLM	0,03 mg
64	L-LAKTĀTA asimilācija	ILATa	0,186 mg

## 2. pielikums

*Escherichia coli* augšanas aiztures zonu diametri, mm

Npk	AMP	AMC	CIP	IMP	MEM	FEP	CRO	GN	SXT	AN	CAZ30	CTX30	TOB	CAZ10	CTX5	CAZ/CLAV	CTX/CLAV
1	6	18	6	28	32	14	8	16	27	12	16	16	10	8	6	28	28
2	6	6	30	26	30	12	14	18	19	10	18	16	10	6	6	24	28
3	8	6	26	28	26	20	14	16	18	12	18	18	12	6	6	25	29
4	10	8	28	24	30	28	16	16	18	6	16	16	6	6	6	24	28
5	6	6	28	26	28	26	12	16	18	8	16	18	10	8	10	26	28
6	6	6	32	28	31	24	14	18	19	12	17	16	12	6	6	25	29
7	8	6	28	26	30	28	8	16	20	18	16	16	6	6	6	24	28
8	6	8	28	24	30	24	14	12	18	16	18	17	12	8	10	24	28
9	6	12	6	29	30	13	8	20	29	18	14	6	8	8	6	27	24
10	6	17	24	27	28	8	6	6	6	12	12	6	12	6	10	24	26
11	6	20	17	22	26	12	10	20	14	20	12	8	6	10	16	28	28
12	6	16	21	29	30	21	11	19	27	8	10	8	12	16	12	29	27
13	6	20	18	28	32	13	10	18	28	10	12	6	6	6	8	28	30
14	8	6	6	27	30	12	6	8	10	20	12	12	10	8	6	22	20
15	6	24	6	24	26	13	8	10	13	12	6	6	18	10	6	30	24
16	8	16	21	29	30	21	10	19	27	20	12	10	18	16	12	29	27
17	6	24	35	29	30	16	12	18	30	18	12	6	18	13	6	30	26
18	10	18	20	26	26	12	10	22	14	20	12	10	18	12	16	26	28
19	6	14	6	31	35	17	12	6	6	21	14	6	16	13	6	28	28
20	8	20	18	24	26	8	8	20	10	22	10	6	16	10	16	30	30
21	10	12	6	26	28	10	6	8	28	12	12	6	6	8	8	20	22
22	6	16	6	26	27	22	24	18	6	17	24	16	6	13	6	30	28

## 2.1 pielikums

Npk	AMP	AMC	CIP	IMP	MEM	FEP	CRO	GN	SXT	AN	CAZ30	CTX30	TOB	CAZ10	CTX5	CAZ/CLAV	CTX/CLAV
23	8	14	6	26	28	8	6	19	22	16	10	8	18	16	12	26	27
24	6	12	6	30	30	14	10	6	27	18	6	6	6	14	10	18	20
25	6	17	6	28	30	13	6	18	22	20	8	10	8	10	12	20	17
26	6	6	6	24	29	12	8	10	6	22	12	10	10	6	6	22	20
27	6	18	6	30	30	14	8	17	27	18	12	6	17	8	6	28	28
28	8	17	28	27	28	10	8	6	6	19	12	6	12	10	12	26	26
29	6	12	8	26	28	8	6	6	16	10	6	8	6	16	14	26	24
30	10	12	10	26	28	14	12	6	24	18	6	6	8	14	12	20	20
31	6	16	6	28	28	6	6	17	20	18	6	6	17	14	14	25	27
32	12	18	24	28	32	14	12	22	28	16	10	8	14	10	8	28	30
33	6	12	6	28	28	8	6	6	28	16	10	6	6	8	8	18	18
34	8	6	10	28	32	12	12	14	18	16	14	8	14	8	8	26	26
35	6	6	6	27	30	12	6	6	6	20	12	10	10	6	6	20	18
36	10	8	8	27	30	10	6	10	8	20	12	12	10	6	6	20	20
37	8	6	8	26	30	12	10	16	18	18	14	8	12	6	8	26	24
38	18	20	25	30	32	34	30	18	28	19	29	32	17	24	27		
39	6	14	30	26	30	26	30	32	17	17	25	28	16	26	26		
40	20	21	30	29	30	32	30	17	30	18	30	30	16	26	25		
41	18	18	30	29	30	33	30	17	28	21	27	30	18	23	26		
42	10	22	12	28	27	33	30	18	6	19	27	30	16	26	18		
43	22	20	30	28	30	29	30	17	29	18	28	27	18	23	26		
44	19	22	30	27	30	32	29	16	27	19	30	30	17	25	27		
45	18	22	32	30	28	26	30	16	24	29	28	22	18	24	26		
46	19	20	30	29	30	30	30	17	24	17	28	27	16	25	26		

## 2.2 pielikums

<b>Npk</b>	<b>AMP</b>	<b>AMC</b>	<b>CIP</b>	<b>IMP</b>	<b>MEM</b>	<b>FEP</b>	<b>CRO</b>	<b>GN</b>	<b>SXT</b>	<b>AN</b>	<b>CAZ30</b>	<b>CTX30</b>	<b>TOB</b>	<b>CAZ10</b>	<b>CTX5</b>	<b>CAZ/CLAV</b>	<b>CTX/CLAV</b>
<b>47</b>	8	20	38	29	30	36	36	14	6	18	34	30	17	29	30		
<b>48</b>	19	20	30	28	30	32	30	17	29	18	28	27	16	23	26		
<b>49</b>	18	20	8	30	30	30	28	20	29	21	30	28	18	24	23		
<b>50</b>	18	22	30	30	33	35	30	16	24	19	28	27	17	26	24		
<b>51</b>	20	20	30	26	30	30	30	22	24	20	28	26	20	25	26		
<b>52</b>	19	22	29	30	31	32	30	18	27	18	30	29	17	26	25		
<b>53</b>	24	20	30	29	32	30	30	17	24	18	28	22	24	22	26		
<b>54</b>	20	30	8	29	32	33	32	18	20	19	30	28	19	23	25		
<b>55</b>	22	20	30	28	30	29	30	26	29	24	28	22	26	28	26		
<b>56</b>	6	18	30	27	30	31	28	18	27	19	27	25	17	22	25		
<b>57</b>	8	24	34	31	32	26	32	20	29	20	26	30	19	28	29		
<b>58</b>	6	18	40	30	32	32	30	20	30	21	30	28	18	23	26		
<b>59</b>	6	22	32	28	28	26	30	16	24	28	28	22	18	22	22		
<b>60</b>	18	20	8	30	30	35	32	20	29	21	30	28	18	24	23		
<b>61</b>	6	19	28	26	30	30	28	20	20	18	26	28	21	22	24		
<b>62</b>	6	20	38	29	30	36	36	16	6	18	34	30	17	29	30		
<b>63</b>	8	13	30	30	30	26	30	18	10	18	28	28	20	22	24		
<b>64</b>	10	18	26	22	28	30	28	18	27	20	28	22	20	24	26		
<b>65</b>	18	20	28	30	26	32	30	18	28	19	28	32	18	24	18		
<b>66</b>	22	24	34	31	32	34	32	20	29	20	31	30	19	28	29		
<b>67</b>	14	20	31	30	31	33	30	19	25	20	27	32	18	24	25		
<b>68</b>	18	22	32	30	28	30	32	20	30	21	30	29	20	24	22		
<b>69</b>	6	16	30	30	34	33	30	18	20	20	27	28	20	28	26		
<b>70</b>	6	19	28	27	30	30	28	17	6	18	26	28	17	20	19		
<b>71</b>	12	18	26	22	28	30	28	18	27	19	27	22	19	24	25		

## 2.3 pielikums

<b>Npk</b>	<b>AMP</b>	<b>AMC</b>	<b>CIP</b>	<b>IMP</b>	<b>MEM</b>	<b>FEP</b>	<b>CRO</b>	<b>GN</b>	<b>SXT</b>	<b>AN</b>	<b>CAZ30</b>	<b>CTX30</b>	<b>TOB</b>	<b>CAZ10</b>	<b>CTX5</b>	<b>CAZ/CLAV</b>	<b>CTX/CLAV</b>
72	19	20	30	30	30	32	30	18	28	19	28	32	18	22	16		
73	10	20	38	29	30	28	30	18	8	18	34	30	16	29	30		
74	17	21	30	28	30	30	30	17	28	19	26	30	18	20	22		
75	10	20	14	28	26	30	22	18	6	19	27	30	16	26	18		
76	20	22	26	30	33	34	32	6	30	20	30	32	6	22	24		
77	6	22	12	28	27	33	30	18	6	19	27	30	16	26	10		
78	6	13	30	30	30	26	30	17	6	20	28	28	20	22	24		
79	10	14	24	26	28	18	20	18	10	22	24	22	16	24	22		
80	17	20	30	30	30	30	28	17	25	18	27	26	17	22	24		
81	18	20	32	30	28	26	22	24	22	20	18	14	10	24	22		
82	17	20	23	30	31	30	28	17	29	18	26	30	20	22	25		
83	14	20	31	30	31	33	30	19	25	20	27	32	18	24	25		
84	17	21	30	30	32	32	30	17	30	19	29	32	18	20	20		
85	19	20	30	29	30	30	30	17	24	17	28	27	16	25	26		
86	6	18	30	29	32	32	28	18	6	21	28	30	6	20	20		
87	18	22	24	26	30	28	24	28	22	24	20	20	18	22	24		
88	6	20	35	28	31	32	30	17	24	18	29	30	17	19	18		
89	12	20	26	30	28	24	26	18	22	20	24	30	18	22	22		
90	6	18	30	27	29	29	29	17	27	19	29	32	20	24	20		
91	14	18	26	26	22	28	30	18	24	22	21	18	20	24	28		
92	6	16	6	30	30	29	30	18	28	18	28	30	10	26	24		
93	14	20	31	30	31	33	30	19	25	12	27	32	18	24	25		
94	18	18	30	29	32	33	30	17	28	19	27	30	18	22	26		
95	12	24	30	32	25	24	22	28	30	20	22	24	26	24	24		
96	18	22	36	29	29	29	32	18	30	19	27	32	17	25	24		

## 2.4 pielikums

<b>Npk</b>	<b>AMP</b>	<b>AMC</b>	<b>CIP</b>	<b>IMP</b>	<b>MEM</b>	<b>FEP</b>	<b>CRO</b>	<b>GN</b>	<b>SXT</b>	<b>AN</b>	<b>CAZ30</b>	<b>CTX30</b>	<b>TOB</b>	<b>CAZ10</b>	<b>CTX5</b>	<b>CAZ/CLAV</b>	<b>CTX/CLAV</b>
<b>97</b>	12	18	26	28	24	26	22	24	19	21	22	26	18	28	30		
<b>98</b>	6	18	33	28	32	30	32	17	27	19	28	30	17	22	26		
<b>99</b>	10	20	28	28	31	32	30	24	24	18	29	30	10	19	18		
<b>100</b>	6	14	30	26	30	26	30	32	17	17	25	28	16	26	24		
<b>101</b>	17	21	26	28	32	32	30	17	30	21	29	32	18	20	20		
<b>102</b>	6	14	30	26	30	25	28	17	22	17	25	28	18	26	24		
<b>103</b>	18	16	10	28	26	29	30	18	28	20	28	30	6	24	26		
<b>104</b>	6	18	40	30	32	32	30	20	30	21	30	28	18	23	26		
<b>105</b>	18	20	24	28	24	31	30	19	28	17	28	32	18	26	24		
<b>106</b>	19	22	27	26	30	31	30	18	25	19	28	29	17	30	28		
<b>107</b>	10	20	30	30	30	32	32	20	28	20	27	32	19	24	24		
<b>108</b>	17	20	32	33	31	33	31	19	25	21	30	30	18	22	28		
<b>109</b>	19	20	28	25	29	26	32	18	6	20	28	29	20	22	20		
<b>110</b>	18	21	30	30	31	32	30	17	30	20	28	32	18	24	26		
<b>111</b>	22	24	34	31	32	34	32	20	29	20	31	30	19	28	29		
<b>112</b>	6	16	30	30	34	33	30	18	20	20	27	28	20	28	26		
<b>113</b>	14	20	31	30	31	33	30	19	25	20	27	32	10	24	25		
<b>114</b>	20	20	23	28	24	31	30	17	28	17	28	30	18	26	24		
<b>115</b>	17	20	30	30	30	30	28	17	25	18	27	26	17	22	24		
<b>116</b>	6	20	30	30	30	32	32	18	28	20	27	32	17	24	24		
<b>117</b>	10	22	26	26	30	34	30	22	10	20	28	26	20	26	26		
<b>118</b>	19	20	28	25	29	35	32	18	6	19	27	29	12	22	20		
<b>119</b>	17	20	32	30	30	32	30	19	28	18	26	30	17	24	25		
<b>120</b>	6	24	31	27	28	26	28	20	27	22	26	27	22	22	26		
<b>121</b>	18	26	24	30	34	30	18	20	18	12	24	26	20	20	24		

## 2.5 pielikums

<b>Npk</b>	<b>AMP</b>	<b>AMC</b>	<b>CIP</b>	<b>IMP</b>	<b>MEM</b>	<b>FEP</b>	<b>CRO</b>	<b>GN</b>	<b>SXT</b>	<b>AN</b>	<b>CAZ30</b>	<b>CTX30</b>	<b>TOB</b>	<b>CAZ10</b>	<b>CTX5</b>	<b>CAZ/CLAV</b>	<b>CTX/CLAV</b>
<b>122</b>	6	20	13	28	29	34	30	6	28	19	29	32	12	24	22		
<b>123</b>	6	14	30	26	30	26	30	32	17	17	25	28	16	26	26		
<b>124</b>	6	20	28	28	30	25	28	17	24	18	26	29	8	26	26		
<b>125</b>	12	20	26	30	28	24	26	18	22	20	24	30	18	22	22		
<b>126</b>	18	21	30	28	30	30	19	21	28	23	30	25	19	20	24		
<b>127</b>	10	18	26	26	28	24	22	28	30	24	22	26	20	22	20		
<b>128</b>	6	23	24	22	28	26	20	22	6	24	24	20	20	26	24		
<b>129</b>	18	22	24	26	30	28	24	28	22	24	20	20	18	22	24		
<b>130</b>	6	21	34	30	31	36	32	20	32	20	30	30	19	28	29		
<b>131</b>	6	13	30	30	30	26	30	17	6	20	28	28	20	22	24		
<b>132</b>	17	20	32	30	30	32	30	19	28	18	26	30	16	24	25		
<b>133</b>	21	30	29	30	32	30	17	30	18	30	30	16	28	25	26		
<b>134</b>	6	17	23	28	30	30	30	19	6	20	28	29	18	25	25		
<b>135</b>	6	23	24	22	28	26	20	22	6	24	24	20	20	24	26		
<b>136</b>	14	20	31	30	31	33	30	19	25	20	27	32	18	24	25		

## 3. pielikums

*Klebsiella pneumoniae* augšanas aiztures zonas diametri, mm

<b>Npk</b>	<b>AMP</b>	<b>AMC</b>	<b>CIP</b>	<b>IMP</b>	<b>MEM</b>	<b>FEP</b>	<b>CRO</b>	<b>GN</b>	<b>SXT</b>	<b>AN</b>	<b>CAZ30</b>	<b>CTX30</b>	<b>TOB</b>	<b>CAZ10</b>	<b>CTX5</b>	<b>CAZ/CLAV</b>	<b>CTX/CLAV</b>
<b>1</b>	12	14	6	27	27	14	12	15	25	12	16	16	10	10	14	25	24
<b>2</b>	10	14	10	25	25	12	10	12	18	16	14	16	16	10	12	25	24
<b>3</b>	6	6	32	28	31	30	14	18	19	17	12	14	17	6	6	25	29
<b>4</b>	10	10	10	26	26	12	6	12	18	16	16	17	6	10	10	26	26
<b>5</b>	12	18	22	28	30	20	14	10	6	18	16	16	12	14	14	24	26
<b>6</b>	6	14	6	25	25	10	10	10	14	16	15	16	10	8	10	24	24
<b>7</b>	6	14	8	28	29	8	6	6	26	18	6	10	8	8	8	30	30
<b>8</b>	6	10	25	27	28	6	6	6	6	18	6	6	10	13	9	26	26
<b>9</b>	6	12	13	27	26	8	10	6	10	18	8	6	8	10	14	26	22
<b>10</b>	6	13	16	27	28	16	10	6	6	19	13	6	8	14	9	25	25
<b>11</b>	6	6	8	28	28	8	10	6	18	6	6	8	8	12	14	22	20
<b>12</b>	6	16	12	26	27	7	6	19	12	22	6	6	18	10	16	24	24
<b>13</b>	8	12	10	30	30	8	6	20	20	18	6	8	10	8	8	26	20
<b>14</b>	6	12	6	22	29	6	6	18	6	16	10	10	20	6	10	26	26
<b>15</b>	12	8	6	24	24	14	6	6	6	18	6	6	12	8	10	20	18
<b>16</b>	6	16	30	28	29	13	10	6	10	15	10	10	10	6	6	22	24
<b>17</b>	6	8	6	27	26	12	8	6	6	20	6	6	12	8	8	21	17
<b>18</b>	6	12	6	26	25	6	6	17	25	17	6	6	8	10	6	20	22
<b>19</b>	6	12	10	28	28	8	6	18	6	12	6	8	8	12	15	30	30
<b>20</b>	6	13	6	23	25	7	6	6	24	6	10	6	6	6	6	27	24
<b>21</b>	6	15	12	28	27	8	6	6	6	6	6	6	6	6	6	28	24
<b>22</b>	6	16	16	28	30	12	12	24	23	27	12	12	8	6	6	26	26
<b>23</b>	6	17	20	26	29	18	11	8	6	20	17	12	10	16	6	24	26

## 3.1 pielikums

Npk	AMP	AMC	CIP	IMP	MEM	FEP	CRO	GN	SXT	AN	CAZ30	CTX30	TOB	CAZ10	CTX5	CAZ/CLAV	CTX/CLAV
24	6	13	6	27	28	11	6	6	6	19	6	10	14	6	6	30	25
25	6	14	6	25	25	8	6	6	15	13	6	6	6	10	15	23	24
26	10	14	6	27	27	6	6	15	25	12	6	6	10	10	14	25	24
27	8	16	16	28	30	12	12	24	23	27	12	12	8	6	6	24	24
28	6	12	10	28	27	8	6	18	6	17	6	6	8	10	15	30	28
29	8	14	12	28	25	10	6	8	10	6	6	8	6	8	6	28	24
30	6	8	6	25	26	12	6	6	6	20	6	6	12	8	8	20	17
31	6	12	6	25	25	10	6	6	25	6	10	6	6	6	6	24	24
32	6	8	6	25	26	12	6	6	6	20	6	6	12	10	10	20	17
33	8	10	10	26	28	8	6	18	24	18	8	6	10	12	12	24	22
34	6	11	10	28	27	8	6	18	22	18	6	6	12	8	8	26	20
35	6	14	30	28	26	12	10	8	10	12	8	10	8	6	6	22	24
36	8	14	8	29	28	8	6	6	20	6	6	6	6	14	14	24	24
37	6	10	6	26	30	8	6	18	6	12	10	12	18	8	10	24	22
38	6	13	13	27	26	6	6	6	10	18	6	6	6	10	14	26	22
39	6	14	12	28	26	8	6	18	14	20	6	6	18	12	14	26	22
40	6	16	6	28	26	8	6	6	26	16	6	6	6	6	6	30	30
41	6	13	16	27	28	16	10	6	6	19	13	6	8	14	9	25	25
42	6	6	6	23	25	12	6	6	6	13	10	6	6	10	10	22	15
43	6	14	6	26	26	6	6	6	15	12	6	6	6	14	15	22	23
44	6	18	33	30	32	30	30	22	20	24	30	32	22	27	28		
45	6	27	21	21	29	30	31	19	6	21	29	30	19	24	25		
46	6	24	21	29	30	28	26	20	24	21	27	30	20	25	25		
47	8	24	30	27	28	28	32	20	26	22	30	32	20	26	27		
48	6	24	30	27	30	24	30	19	26	20	30	30	18	27	27		

## 3.2 pielikums

<b>Npk</b>	<b>AMP</b>	<b>AMC</b>	<b>CIP</b>	<b>IMP</b>	<b>MEM</b>	<b>FEP</b>	<b>CRO</b>	<b>GN</b>	<b>SXT</b>	<b>AN</b>	<b>CAZ30</b>	<b>CTX30</b>	<b>TOB</b>	<b>CAZ10</b>	<b>CTX5</b>	<b>CAZ/CLAV</b>	<b>CTX/CLAV</b>
49	14	24	32	30	28	30	34	20	28	20	32	32	20	24	30		
50	6	22	25	25	26	28	27	17	24	19	26	29	17	24	24		
51	6	23	26	30	28	26	30	20	24	20	28	29	18	24	27		
52	10	20	27	28	30	33	30	17	27	20	28	30	18	25	28		
53	13	24	28	27	28	24	24	18	22	22	24	28	24	20	22		
54	6	20	27	28	30	30	28	19	25	20	25	30	19	25	28		
55	14	24	26	22	20	28	26	24	22	28	34	30	20	22	26		
56	6	22	28	26	28	30	30	18	26	20	27	30	18	24	27		
57	6	22	18	28	24	30	25	18	20	20	25	30	20	22	24		
58	18	23	28	26	28	30	30	28	24	6	26	30	17	24	27		
59	10	20	26	22	30	32	32	17	20	20	26	30	16	24	26		
60	6	20	30	26	26	30	27	18	24	18	25	26	17	21	24		
61	8	18	32	28	26	24	28	20	22	20	24	30	18	24	22		
62	6	22	21	30	30	32	28	20	30	22	26	25	19	22	23		
63	12	10	30	28	30	24	20	20	22	20	26	28	20	24	24		
64	22	30	30	27	30	30	31	17	22	20	27	27	18	23	25		
65	8	22	26	24	26	24	34	18	25	26	26	30	24	22	20		
66	6	20	19	27	29	26	30	19	29	22	24	30	20	23	25		
67	8	30	26	28	30	20	21	29	25	18	25	18	16	24	26		
68	6	23	30	29	30	32	30	20	27	22	28	30	20	26	28		
69	18	18	28	26	30	19	22	24	25	18	25	30	20	24	26		
70	10	24	30	27	30	30	34	30	20	26	22	31	20	25	27		
71	6	6	19	27	29	26	30	20	26	22	22	30	20	24	25		
72	6	21	21	26	28	29	29	19	13	20	22	28	18	25	24		
73	12	30	30	24	30	28	26	18	22	20	27	27	18	26	20		

## 3.3 pielikums

Npk	AMP	AMC	CIP	IMP	MEM	FEP	CRO	GN	SXT	AN	CAZ30	CTX30	TOB	CAZ10	CTX5	CAZ/CLAV	CTX/CLAV
74	24	31	30	31	32	19	22	29	25	18	25	30	20	22	26		
75	10	24	30	22	28	24	34	30	20	28	22	26	22	24	22		
76	6	20	27	25	28	25	30	18	25	21	26	30	18	26	20		
77	12	23	28	34	30	32	34	22	26	22	26	26	16	22	20		
78	6	10	30	27	30	25	33	20	22	20	29	30	20	26	24		
79	10	20	22	27	29	22	30	18	29	22	24	28	16	24	25		
80	8	20	35	27	27	25	30	18	22	19	24	30	18	22	20		
81	14	30	30	24	30	28	29	18	22	20	27	27	18	24	24		
82	6	22	27	22	30	32	32	17	20	20	26	30	20	20	26		
83	22	22	21	30	30	32	28	18	30	22	26	25	20	26	26		
84	6	22	16	28	29	30	25	18	20	20	25	30	18	24	24		
85	8	20	28	26	26	29	27	18	24	18	24	26	17	22	24		
86	8	24	26	24	20	28	26	24	22	30	34	30	22	24	26		
87	6	23	28	26	28	30	30	28	24	6	26	24	17	24	27		
88	13	24	28	27	28	22	24	18	22	20	24	28	20	20	22		
89	8	22	28	26	26	30	30	20	26	20	27	30	18	24	28		
90	6	22	27	27	28	33	30	20	26	21	30	27	19	24	25		
91	14	20	27	26	30	30	28	19	25	20	22	30	21	26	26		
92	6	23	29	28	28	32	30	19	24	20	28	29	18	26	27		
93	10	18	26	28	30	32	30	17	27	20	26	26	18	25	24		
94	6	26	33	29	27	30	34	20	28	20	32	32	19	26	31		
95	14	24	25	25	26	28	27	19	24	20	26	29	17	26	24		
96	6	24	30	27	28	28	32	20	26	22	30	32	19	26	27		
97	6	24	21	29	30	28	26	20	24	21	27	30	20	25	25		
99	6	18	33	30	32	30	30	22	20	24	30	32	22	27	28		
100	6	27	21	21	29	30	31	19	6	21	29	30	19	24	25		

## 4. pielikums

*Proteus mirabilis* un *Klebsiella oxytoca* augšanas aiztures zonas diametri, mm

Npk	AMP	AMC	CIP	IMP	MEM	FEP	CRO	GN	SXT	AN	CAZ30	CTX30	TOB	CAZ10	CTX5	CAZ/CLAV	CTX/CLAV
<i>Proteus mirabilis</i>																	
<b>1</b>	8	8	14	24	26	24	12	12	8	21	12	8	8	6	6	26	30
<b>2</b>	6	6	14	21	27	22	12	12	8	21	12	8	8	6	6	26	30
<b>3</b>	6	20	34	26	30	28	36	22	26	20	28	30	20	24	24		
<b>4</b>	6	26	24	26	34	30	40	16	16	20	22	26	20	20	22		
<b>5</b>	10	22	36	26	28	34	34	22	18	18	30	28	24	20	20		
<b>6</b>	6	20	40	26	30	30	36	20	28	20	32	36	18	22	23		
<b>7</b>	16	24	24	26	26	28	32	26	24	28	24	28	22	26	26		
<b>8</b>	18	26	22	26	26	26	30	28	26	22	24	28	20	24	22		
<b>9</b>	22	22	26	30	30	32	28	22	30	22	26	25	20	26	26		
<b>10</b>	6	22	42	26	28	34	40	20	26	20	34	34	22	20	20		
<i>Klebsiella oxytoca</i>																	
<b>1</b>	10	24	30	26	30	30	34	30	20	26	22	22	20	25	27		
<b>2</b>	6	10	8	30	30	6	6	6	6	24	8	8	6	10	12	24	26
<b>3</b>	22	22	24	30	30	32	28	18	30	22	26	25	24	26	26		

## 5. pielikums

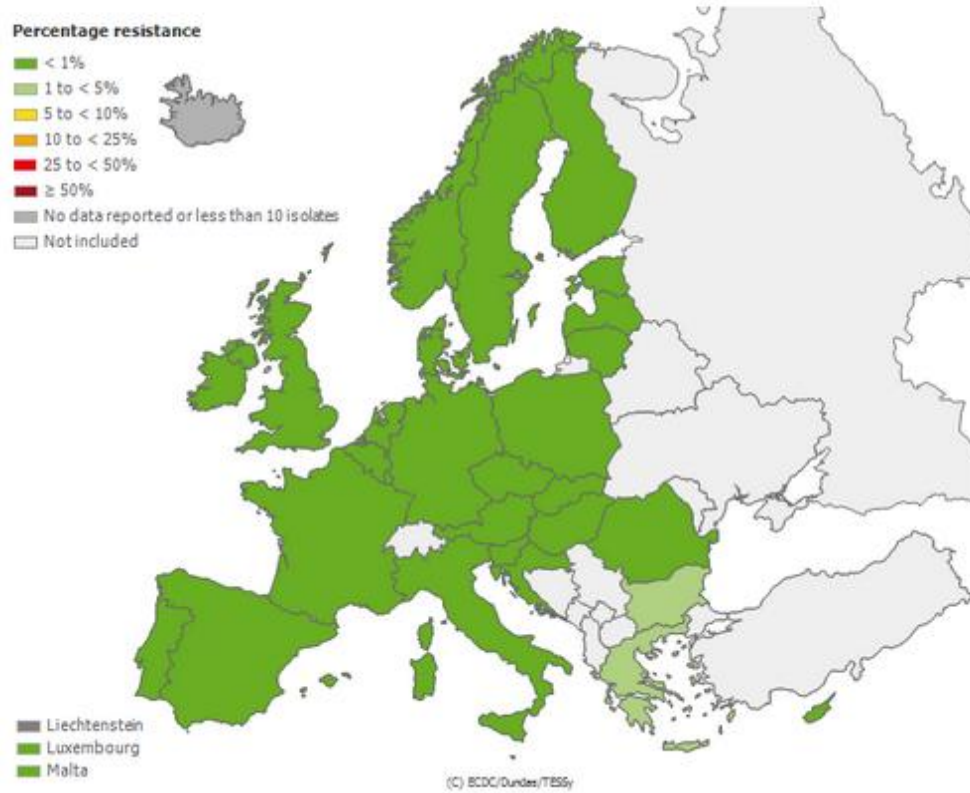
*Enterobacter colacea* augšanas aiztures zonas diametri, mm

<b>Npk</b>	<b>AMP</b>	<b>AMC</b>	<b>CIP</b>	<b>IMP</b>	<b>MEM</b>	<b>FEP</b>	<b>CRO</b>	<b>GN</b>	<b>SXT</b>	<b>AN</b>	<b>CAZ30</b>	<b>CTX30</b>	<b>TOB</b>	<b>CAZ10</b>	<b>CTX5</b>	<b>CAZ/CLAV</b>	<b>CTX/CLAV</b>
<b>1</b>	12	18	18	28	30	20	14	10	6	18	16	16	12	14	14	24	26
<b>2</b>	6	6	18	28	31	18	14	18	19	17	12	10	16	6	6	25	29
<b>3</b>	6	6	6	27	30	12	6	6	6	20	12	10	10	6	6	20	18
<b>4</b>	10	8	8	27	30	10	6	10	8	20	12	12	10	6	6	20	20
<b>5</b>	6	6	6	28	28	8	6	8	8	18	11	9	6	10	10	16	19
<b>6</b>	10	14	6	27	27	6	6	15	25	12	6	6	10	10	14	25	24
<b>7</b>	6	14	8	28	29	8	6	6	26	18	6	10	8	8	8	30	30
<b>8</b>	6	6	6	24	26	13	6	6	6	20	12	6	8	12	14	17	20
<b>9</b>	12	18	24	28	32	14	12	22	28	16	14	8	14	10	8	28	30
<b>10</b>	6	6	8	28	26	6	8	8	6	16	6	6	6	12	10	16	20
<b>11</b>	6	8	6	25	26	12	6	6	6	20	6	6	12	10	10	20	17
<b>12</b>	6	10	12	28	28	12	8	18	6	20	14	6	12	14	6	27	27
<b>13</b>	20	14	22	28	26	22	24	26	20	24	16	22	20	24	24		
<b>14</b>	10	12	10	30	30	30	26	18	27	28	26	28	26	20	18		
<b>15</b>	10	10	24	26	28	24	26	24	20	22	22	24	20	24	24		
<b>16</b>	8	6	26	28	30	26	24	20	28	20	22	26	20	20	18		
<b>17</b>	14	12	12	28	28	32	24	20	26	24	24	26	24	26	26		
<b>18</b>	6	6	24	26	26	22	26	22	20	22	22	22	20	22	20		
<b>19</b>	12	12	10	28	26	32	24	20	27	24	24	26	24	24	26		
<b>20</b>	24	8	22	28	26	22	24	26	20	24	8	22	20	24	22		

Pret karbapenēm rezistentu *Escherichia coli* izolātu karte 2013. gadā



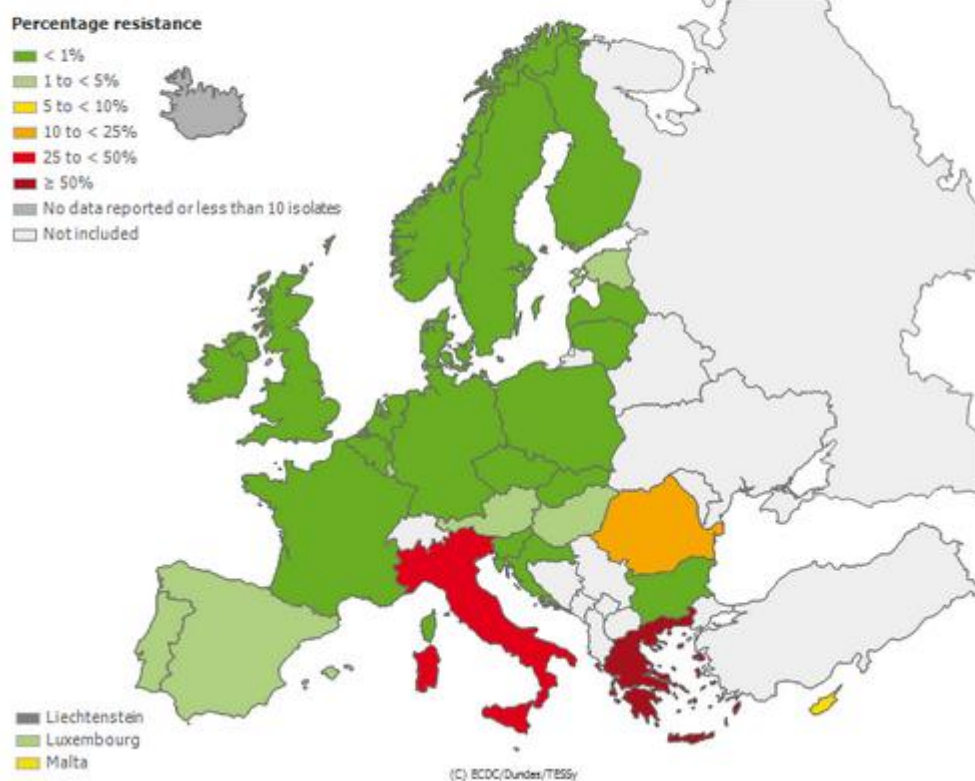
### Proportion of Carbapenems Resistant (R) *Escherichia coli* Isolates in Participating Countries in 2013



Pret karbapenēmiem rezistentu *Klebsiella oneumoniae* izolātu karte 2013. Gadā



### Proportion of Carbapenems Resistant (R) *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Participating Countries in 201



Maģistra darbs „EUCAST un CLSI metožu salīdzinājums paplašināta spektra beta-laktamāžu noteikšanai *Enterobacteriaceae* dzimtas baktēriju klīniskajos izolātos” izstrādāts LU Bioloģijas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: Rūta Melbārde .05.2015

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs: Dr.biol., vad. pētn., doc. Vizma Nikolajeva .05.2015

Recenzents: Dr. med. Vaira Saulīte

Darbs iesniegts Bioloģijas fakultātē ...05.2015

Metodiķe:

Darbs aizstāvēts maģistra gala pārbaudījuma komisijas sēdē

05.06.2015. prot. Nr., vērtējums

Komisijas sekretāre: