



EUCAST

ЄВРОПЕЙСЬКИЙ КОМІТЕТ
З ТЕСТУВАННЯ АНТИМІКРОБНОЇ
ЧУТЛИВОСТІ

Європейське товариство з клінічної мікробіології та інфекційних хвороб

Рекомендації EUCAST щодо визначення механізмів резистентності та специфічної резистентності, що має клінічне та/або епідеміологічне значення

**Версія 1.0
Грудень 2013**

Підкомітет EUCAST з визначення механізмів резистентності та специфічної резистентності, що має клінічне та/або епідеміологічне значення:

Крістіан Г. Гіске (Швеція, Керівний комітет EUCAST та координаційна група мережі EARS-Net; голова), Луїс Мартінес-Мартінес (Іспанія, Керівний комітет EUCAST), Рафаель Кантон (Іспанія, голова EUCAST), Стефанія Стефані (Італія), Роберт Сков (Данія, Керівний комітет EUCAST), Йоурі Глупкзинські (Бельгія), Партіс 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. Enterobacteriaceae, що продукують карбапенемази	4
3. Enterobacteriaceae, що продукують β -лактамазу поширеного спектру	11
4. Enterobacteriaceae, що продукують набуту AmpC β -лактамазу	20
5. Метицилін резистентний <i>Staphylococcus aureus</i>	24
6. <i>Staphylococcus aureus</i> , не чутливий до глікопептидів	27
7. <i>Enterococcus faecium</i> та <i>Enterococcus faecalis</i> , резистентні до ванкоміцину	31
8. <i>Streptococcus pneumoniae</i> , не чутливий до пеніциліну	36
9. Декларація про прозорість	39

1. Вступ

Ці рекомендації були підготовлені частково у відповідь на часті запитання з боку користувачів рекомендації EUCAST та частково за вимогою Європейського центру профілактики та контролю хвороб (ECDC), оскільки набір експертних правил потребував оновлення мікробіологічного керівництва від мережі EARS-Net.

Коло обов'язків підкомітету EUCAST включало розробку практичних рекомендацій для визначення специфічних механізмів антимікробної резистентності, що мають клінічне та/або епідеміологічне значення. Цей документ розроблений головним чином для щоденного використання в клінічних лабораторіях та не включає технічні процедури по ідентифікації механізмів резистентності на молекулярному рівні для референтних або спеціалізованих лабораторій. Однак значна частина вмісту також застосовна для національних референтних лабораторій. Більш того, важливо відзначити, що цей документ не включає скринінг асимптоматичного транспортування (колонізації) мікроорганізмів, резистентних до численних препаратів, або пряме визначення в клінічних препаратах.

Всі глави цього документу містять визначення механізму або специфічної резистентності, пояснення клінічної та/або санітарно-гігієнічної потреби у визначенні механізму або специфічної резистентності, стислий опис рекомендованих методів визначення та посилання на детальні описи методів. Потреба в ідентифікації механізму резистентності та її рівень, необхідний для охорони громадського здоров'я або інфекційного контролю, може відрізнятись географічно та у часі в залежності від переважання та різноманітності різних механізмів резистентності. Рекомендації були розроблені шляхом проведення пошуку літератури в мережі PubMed та засновані на клінічних багатоцентрових дослідженнях або численних одноцентрових дослідженнях. Деякі методи, що зараз знаходяться на стадії розробки, не були включені до рекомендацій, оскільки багатоцентрові оцінки або численні одноцентрові оцінки ще не завершені. Проекти версій цих рекомендацій були підготовлені з широкими консультаціями через консультаційні контактні реєстри EUCAST, вебсайт EUCAST та координаторів Європейського центру з профілактики та контролю хвороб.

По мірі можливості ми використовували узагальнені терміни для продукції, представленої у документі, але виключення всіх специфічних назв препаратів впливатиме на ясність деяких рекомендацій. Необхідно відзначити, що деякі механізми резистентності не завжди забезпечують клінічну резистентність. Отже, доки визначення цих механізмів може стосуватися інфекційного контролю та охорони громадського здоров'я, воно може бути не потрібним у клінічних цілях. Тому для деяких механізмів, зокрема для β -лактамаз поширеного спектру та карбапенемаз в грам-негативних бактеріях, визначення механізму само по собі не призведе до присвоєння категорії «резистентний». Зрештою, доречність пошуку деяких β -лактамаз, які передаються, коли інші ферменти з більш широким спектром вже виявлені, стає сумнівною.

Крістіан Г. Гіске
Голова підкомітету

Рафаель Кантон
Голова EUCAST

2. Enterobacteriaceae, що продукують карбапенемази

Важливість виявлення механізму резистентності	
Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості	Ні
Інфекційний контроль	Так
Охорона громадського здоров'я	Так

2.1. Визначення

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

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 *P. aeruginosa* (1). На початку 2000-х Греція пережила епідемію метало- β -лактомази, що кодується інтегроном Верона (VIM), серед *K. pneumoniae* (2), за якою настала епідемія стосовно карбапенемази *K. pneumoniae* (KPC), що зараз є найбільш поширеною карбапенемазою в Європі серед Enterobacteriaceae (1). В Греції та Італії приблизно 60% та 15%, відповідно, агресивних *K. pneumoniae* зараз є нечутливими до карбапенемів (3). В інших європейських країнах відзначалися декілька спалахів, але проблема широко не спостерігалася в агресивних ізолятах (1). Інші зокрема проблематичні карбапенемази – це Нью-Делі метало- β -лактомази (NDM), які дуже поширені на індійському субконтиненті та на Близькому Сході і що були ввезені до Європи. Ферменти, схожі з ОХА-48, спричинили спалахи в декількох європейських країнах та зараз швидко поширюються (1).

Карбапенемази є джерелом хвилювання, тому що вони можуть передавати резистентність практично до всіх β -лактам, штами, що продукують карбапенемази, часто володіють механізмами резистентності до широкого діапазону антимікробних препаратів, та інфекції з Enterobacteriaceae, що продукують карбапенемазу, пов'язані з високою смертністю (4-6).

2.3. Механізми резистентності

Переважна більшість карбапенемаз – це набуті ферменти, що кодуються генами на рухливих елементах, які розміщуються на плазмидах. Карбапенемази виражаються на різних рівнях та суттєво відрізняються, як за біохімічними характеристиками, та і за активністю проти специфічних β -лактамів. Рівень експресії та властивості β -лактамази і часта пов'язаність з іншими механізмами резистентності (інші β -лактамази, ефлюкс та/або змінена проникність) призводять до широкого діапазону фенотипів резистентності, що спостерігаються серед ізолятів, які продукують карбапенемазу (7, 8).

Зменшена чутливість до карбапенемів в Enterobacteriaceae може, однак, також бути спричинена або β -лактамазами поширеного спектру (БЛПС) або AmpC ферментами в комбінації зі зменшеною проникністю завдяки зміні або пригніченню поринів (9).

Більшість продуцентів карбапенемази резистентна до (оксиіміно) цефалоспоринів широкого спектру (10). Ізоляти, що продукують такі ферменти, можуть мати зменшену чутливість до карбапенемів, але з деякими такими ферментами (ферментами типу OXA-48) мікроорганізми можуть виявлятися цілком чутливими до цефалоспоринів. Однак, багато цих ізолятів зараз також виражають ферменти, що піддають гідролізу цефалоспорин, наприклад, CTX-M, та надалі також стають резистентними до цефалоспоринів. Вважається, що карбапенемази мають велике епідеміологічне значення, зокрема коли вони забезпечують зменшену чутливість до будь-яких карбапенемів (іміпенем, меропенем, ертапенем та доріпенем), тобто коли величини МІК вище епідеміологічної граничної величини (ЕСОФФ), як визначено EUCAST (11).

2.4. Рекомендовані методи для виявлення карбапенемаз в Enterobacteriaceae

2.4.1. Скринінг продукування карбапенемази

МІК карбапенему для Enterobacteriaceae, що продукують карбапенемази, можуть бути нижче клінічних граничних значень (10, 11, 13). Однак, величини ЕСОФФ, як визначено EUCAST, можна використовувати для виявлення продуцентів карбапенемази. Меропенем пропонує найкращий компроміс між чутливістю та специфічністю стосовно виявлення продуцентів карбапенемази (10, 14). Ертапенем має відмінну чутливість, але погану специфічність, зокрема в таких видах, як *Enterobacter* spp., по причині своєї відносної нестійкості до β -лактамаз поширеного спектру (БЛПС) та AmpC β -лактамаз в комбінації з втратою порину (10). Відповідні граничні значення для виявлення припустимих продуцентів карбапенемази наведені у Таблиці 1. Необхідно відзначити, що для збільшення специфічності граничні величини скринінгу для іміпенему та ертапенему знаходяться на один крок розчинення більше, ніж поточні визначені величини ЕСОФФ.

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

Карбапенем	МІК (мг/л)		Діаметр диско-дифузійної зони (мм) із 10 мкг дисками	
	Клінічне граничне значення	Граничне значення скринінгу	Клінічне граничне значення	Граничне значення скринінгу
Меропенем ¹	≤ 2	> 0.12	≥ 22	$< 25^2$
Іміпенем ³	≤ 2	> 1	≥ 22	< 23
Ертапенем ⁴	≤ 0.5	> 0.12	≥ 25	< 25

¹ Найкращий баланс чутливості та специфічності

² У деяких випадках діаметри зон для продуцентів OXA-48 досягають 26 мм, отже, діаметр менше 27 мм може використовуватися у якості граничного значення скринінгу в країнах, де OXA-48 властива даній місцевості, але за рахунок зменшеної специфічності.

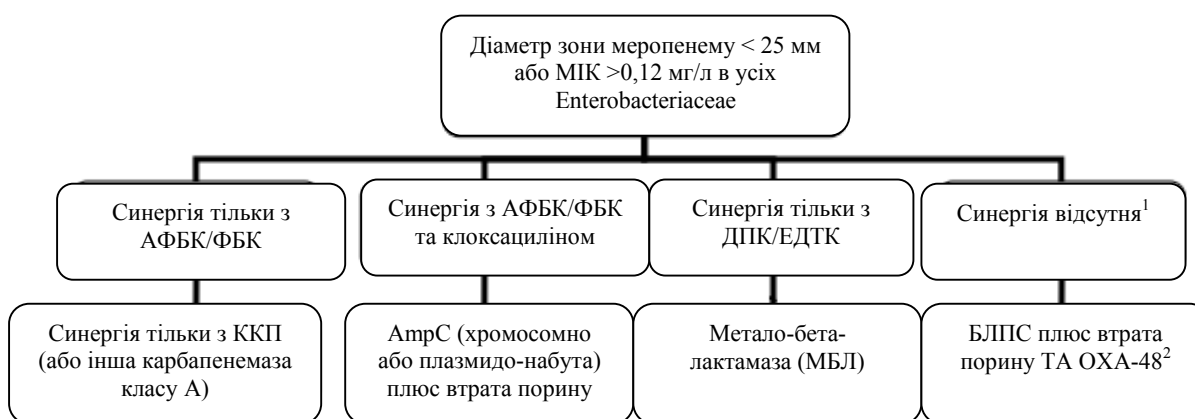
³ В імпенемі відокремлення між диким типом та продуцентами карбапенемази є відносно поганим. Таким чином, не рекомендується застосовувати імпенем як відокремлений компонент для проведення скринінгу.

⁴ Висока чутливість, але низька специфічність, та, таким чином, не рекомендується для щоденного вживання.

2.4.2. Методи щодо підтвердження продукування карбапенемази

Після виявлення зменшеної чутливості до карбапенемів в поточних випробуваннях чутливості необхідно застосувати фенотипові методи для виявлення карбапенемаз. Комбіноване дискове випробування має перевагу того, що воно було добре перевірене в дослідженнях, а також є у продажу (MAST, Великобританія; Rosco, Данія) (15-17). Диски або таблетки містять меропенем ± різні інгібітори, що детально викладені у розділі 2.4.3. Коротко кажучи, борова кислота інгібує карбапенемази класу А та діпіколінова кислота інгібує карбапенемази класу В. На даний момент не існує інгібітору для карбапенемаз класу D. Клоксацилін, який інгібує AmpC β-лактамази, був доданий до випробувань, щоб розрізнити між гіперпродукцією AmpC плюс втрата порину та продукуванням карбапенемази. Алгоритм для тлумачення результатів тестів цих інгібіторів наведений на Малюнку 1. Основна завада цих методів полягає в тому, що вони займають 18 годин (насправді інкубація протягом ночі), з цієї причини зараз досліджують нові швидкі методи.

Малюнок 1. Алгоритм для виявлення карбапенемази



Скорочення: АФБК = амінофеніл борова кислота, ФБК = феніл борова кислота, ДПК – діпіколінова кислота, ЕДТК = етилендіамінтетраоцтова кислота (всіх x є інгібіторами β-лактамази, що додані до дисків або таблеток, які містять меропенем у комбінованих пробах для дискового випробування).

¹ Комбінація ККП та МБЛ може не демонструвати синергії, але ізоляти зазвичай дуже резистентні до карбапенем. Найлегший шлях їх виявлення – це молекулярні методи.

² Резистентність до темоциліну високого рівня [МІК > 32 мг/л (12, 18), діаметр експериментальної зони <11 мм із 30 мкг диском темоциліну (17)] є фенотиповими індикаторами продукування ОХА-48, які необхідно брати до уваги при відсутності синергії з інгібіторами карбапенемаз класу А та В.

На цей час існують декілька швидкіших альтернатив для комбінованого дискового методу. Аналіз гідролізу карбапенемі методом MALDI-TOF MS (19) підтверджував продукування карбапенемази через декілька годин, а тест Carba NP (20, 21) може підтвердити продукування карбапенемази навіть швидкіше. Однак серед цих випробувань був надрукований тільки доказ щодо тесту Carba NP поза межами центру, де він був розроблений.

В одній публікації вказується на високу чутливість та специфічність (22), тоді як інша публікація повідомляла про проблеми з чутливістю для ізолятів із мукоїдним фенотипом та для деяких ОХА-48, що продукують Enterobacteriaceae (23).

Також згадувалися деякі фенотипові підходи на основі технік ПЛР (24). Однак ці методи мають заваду, яка виражається у відсутності можливості ототожнювати нові варіанти β-лактамази, та які можуть вважатися дорогими в деяких лабораторіях (10). Методи мікроматричного аналізу наявної у продажу ДНК широко розповсюджені та можуть покращити доступність цих випробувань для користувачів (25), хоча вони не можуть впоратися із загальними обмеженнями генотипових технік. Рекомендовано, щоб щонайменш референтні лабораторії мали доступ до технологій генотипового підтвердження, хоча це суворо не вимагається у межах контролю.

2.4.3. Інтерпретація методів фенотипового виявлення

Алгоритм у Таблиці 2 розрізняє між метало-β-лактамазами, карбапенемазами класу А, карбапенемазами класу D та не карбапенемазами (БЛПС та/або AmpC плюс втрата порину). Випробування можуть здійснюватися диско-дифузійним методом EUCAST для мікроорганізмів із нескладними споживчими потребами. Промислові випробування повинні проводитися у відповідності до інструкцій виробника для кожного тесту.

На даний момент немає інгібіторів для ферментів типу ОХА-48. Резистентність до темоциліну високого рівню (МІК > 32 мг/л) пропонується у якості фенотипового маркеру для продуцентів карбапенемаз за типом ОХА-48 (12, 17, 18). Однак цей маркер не є специфічним для карбапенемаз за типом ОХА-48, оскільки інші механізми резистентності можуть забезпечувати цей фенотип. Таким чином, присутність ферментів за типом ОХА-48 має бути підтверджена генотиповим методом.

Не рекомендується використовувати модифікований тест конюшинного листа (тест Ходжа), оскільки важко тлумачити його результати, специфічність на неналежному рівні, а також у деяких випадках чутливість не оптимальна (10). В літературі були описані нові модифікації цієї технології, але вони громіздкі для використання у звичайних клінічних лабораторіях і не вирішують всіх проблем із чутливістю та специфічністю.

Таблиця 2. Інтерпретація фенотипових випробувань (карбапенемази виділені **напівтовстим шрифтом**) дифузійними методами з дисками або таблетками. Точні визначення синергії наведені на вкладишах до упаковки для різних серійних продуктів.

β-лактамаза	Синергія, що спостерігається, як збільшення діаметру зони (мм) із 10 мкг диском/таблеткою меропенему.				МІК темоциліну >32 мг/л або діаметр зони <11 мм
	ДПК/ЕДТК	АФБК/ФБК	ДПК/АФБК	КЛЦ	
МБЛ	+	-	-	-	Непостійне ¹
ККП	-	+	-	-	Непостійне ¹
МБЛ + ККП²	Непостійне	Непостійне	+	-	Непостійне ¹

За типом ОХА-48	-	-	-	-	Так
AmpC + втрата порину	-	+	-	+	Непостійне ¹
БЛПС + втрата порину	-	-	-	-	Ні

Скорочення: МБЛ = метало-бета-лактамаза, ККП = карбапенемаза *Klebsiella pneumoniae*, ДПК – діпіколінова кислота, ЕДТК = етилендіамінтетраоцтова кислота, АФБК = амінофеніл борова кислота, ФБК = феніл борова кислота, КЛЦ = клоксацилін.

¹ Випробування на чутливість до темоциліну рекомендується тільки у випадках, коли виявляється відсутність синергії, щоб розрізнити між БЛПС + втрата порину та ферментами за типом ОХА-48 (12, 17, 18). Коли присутні інші ферменти, чутливість непостійна та не забезпечує подальшим показанням присутності β-лактамази, що додані до дисків або таблеток, які містять меропенем у комбінованих пробах для дискового випробування).

² Існує тільки одне згадування, що підтримує використання наявних у продажу таблеток, які містять подвійні інгібітори (ДПК або ЕДТК плюс АФБК чи ФБК) (26), але бракує багатоцентрових чи численних одноцентрових досліджень. Ця комбінація забезпечує резистентність до карбапенем високого рівня та рідко зустрічається поза межами Греції.

2.4.4. Тест Carba NP

Цей тест заснований на принципі, що гідроліз карбапенему спричиняє зміну рівнів рН, який призводить до зміни кольору з червоного на жовтий з червоним розчином фенолу (20, 21). Тест Carba NP був перевірений з бактеріальними колоніями, які виростили на агарових пластинах Мюлер-Хінтону, пластинах з кров'яним агаром, пластинах із триптикавно-соевим агаром та найбільш селективних середовищах, що використовуються в скринінгу продуцентів карбапенемази. Тест Carba NP не можна проводити з колоніями бактерій, які виростили на агарових пластинах Дрігалські або МакКонкі. Для отримання результатів, що можуть бути відтвореними, необхідно суворо дотримуватися різних дій в цьому методі.

2.4.5. Контрольні штами

Відповідні контрольні штами для випробування карбапенемази наведені у Таблиці 3.

Таблиця 3. Відповідні контрольні штами для випробування карбапенемази.

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

3. Enterobacteriaceae, що продукують β-лактамазу поширеного спектру (БЛПС)

Важливість виявлення механізму резистентності	
Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості	Ні
Інфекційний контроль	Так
Охорона громадського здоров'я	Так

3.1. Визначення

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

3.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення

Перші штами, які продукують БЛПС, були виявлені у 1983, та з того часу їх спостерігали в усьому світі. Це розповсюдження є результатом експансії клонів мікроорганізмів-продуцентів, горизонтального трансферу генів БЛПС на плазмидах, та, рідше, їх появи з самого початку. Поза всяким сумнівом найбільш клінічно важливі групи БЛПС представляють собою ферменти СТХ-М, за якими слідує БЛПС за типом SHV та TEM (2-5). Певні ферменти за типом ОХА класу D також включені до БЛПС, хоча інгібування інгібіторами β-лактамази класу А слабкіше у порівнянні з іншими БЛПС.

Продукування БЛПС спостерігалось головним чином в Enterobacteriaceae, спочатку в лікарнях, потім будинках інвалідів, і приблизно з 2000 року серед громади (амбулаторні хворі, здорові носії, хворі та здорові тварини, продукти харчування). Види, які продукують БЛПС, які найчастіше зустрічаються, - це *Escherichia coli* та *K. pneumoniae*. Однак всі інші клінічно важливі види Enterobacteriaceae також є поширеними продуцентами БЛПС. Переважання позитивних ізолятів БЛПС 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 2011 рік продемонстрували, що величина агресивних ізолятів *K. pneumoniae*, не чутливих до цефалоспоринів третього покоління, перевищувала 10% у більшості європейських країнах із деякими вказуваннями величин резистентності, що вище 50%. Припускалося, що більшість цих ізолятів були продуцентами БЛПС на основі місцевих результатів випробування БЛПС (8).

3.3. Механізми резистентності

Переважає більшість БЛПС є набутими ферментами, що кодуються генами на плазмидах. Набуті БЛПС виражаються 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 -лактами, ефлюкс, змінена проникність) спричиняють велику різноманітність фенотипів резистентності, що спостерігається серед БЛПС-позитивних ізолятів (1-4, 9, 10).

3.4. Методи, рекомендовані для виявлення БЛПС в Enterobacteriaceae

В багатьох установах виявлення БЛПС та їх характеристика рекомендується або є обов'язковим для цілей інфекційного контролю. Рекомендована стратегія для виявлення БЛПС в Enterobacteriaceae засновується на нечутливості до індикаторних оксिमіноцефалоспоринов, за чим слідують фенотипові (та у деяких випадках генотипові) випробування щодо підтвердження (Таблиця 1, Малюнок 1).

Граничне значення скринінгу більше 1 мг/л рекомендується для цефотаксиму, цефтриаксону, цефтазидиму та цефподоксиму у відповідності до рекомендацій, виданих EUCAST та CLSI (Таблиця 1) (11, 12). Клінічне граничне значення EUCAST для Enterobacteriaceae також дорівнює $S \leq 1$ мг/л (11). Цефподоксим є найбільш чутливим індивідуальним індикаторним цефалоспорином для виявлення продукування БЛПС та може використовуватися для скринінгу. Однак він менш специфічний, ніж комбінація цефотаксиму (або цефтриаксону) та цефтазидиму (13, 14) та тільки останні сполуки використовуються у випробуваннях щодо підтвердження. Відповідні діаметри зони для індикаторних цефалоспоринов наведені у Таблиці 1.

Таблиця 1. Методи скринінгу БЛПС для Enterobacteriaceae (12-18).

Метод	Антибіотик	Проводити випробування БЛПС, якщо
Розчинення бульйону або агару ¹	Цефотаксим / цефтриаксон ТА Цефтазидим	МІК >1 мг/л для кожного препарату
	Цефтазидим	МІК >1 мг/л
Дискова дифузія ¹	Цефотаксим (5 мкг) або цефтриаксон (30 мкг) ТА цефтазидим (10 мкг)	Зона інгібування < 21 мм Зона інгібування < 23 мм Зона інгібування < 23 мм
	Цефподоксим (10 мкг)	Зона інгібування < 21 мм

¹ В усіх методах можна випробувати окремо або тестовий цефотаксим або цефтриаксон ТА цефтазидим АБО цефподоксим.

Малюнок 1. Алгоритм для фенотипового виявлення БЛПС



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

² Не можна визначити, чи позитивне або негативне (наприклад, якщо смужку не можна інтерпретувати по причині росту поза межами діапазону МІК або при відсутності чіткої синергії у комбінованих дискових та подвійних дискових синергічних випробуваннях). У разі якщо підтвердження із цефепімом ± клавулановою кислотою все ще не визначальне, потрібне генотипове випробування.

3.4.1. Скринінг БЛПС в Enterobacteriaceae

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

Методи, рекомендовані для скринінгу БЛПС в Enterobacteriaceae групи 1, - це розчинення бульйону, розчинення агару, дискова дифузія або автоматизована система (12, 19, 20). Вимагається, щоб цефотаксим (або цефтриаксон) та цефтазидим обидва використовувалися у якості індикаторних цефалоспоринів, оскільки можуть виникнути значні різниці в МІК цефотаксиму (або цефтриаксону) та цефтазидиму для різних ізолятів, що продукують БЛПС (13, 21, 22).

Алгоритм для скринінгу та фенотипових методів підтвердження БЛПС для Enterobacteriaceae групи 1, що є позитивними у випробуваннях зі скринінгу, описані на Малюнку 1 та Таблиці 2.

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

Для Enterobacteriaceae групи 2 рекомендується проводити скринінг БЛПС у відповідності до методів, описаних для Enterobacteriaceae групи 1 (Малюнок 1 та Таблиця 3) (18). Однак дуже поширений механізм резистентності до цефалоспорину знов активується хромосомною AmpC β-лактамазою в цих видах. 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* інгібуванні діяльності БЛПС клавулановою кислотою, рекомендуються для підтвердження БЛПС, комбінованих дискових випробувань (КДВ), подвійних дискових синергічних випробувань (ПДСВ), градієнтних випробувань БЛПС та випробувань із мікророзчинення бульйонів (Таблиці 2 та 3) (19, 20, 23). Комбіноване дискове випробування продемонструвало кращу специфічність, ніж градієнтне випробування БЛПС із сумісною чутливістю в одному багатоцентровому дослідженні (24). Виробники автоматичних систем випробування чутливості запровадили випробування з виявлення на основі інгібування ферментів БЛПС клавулановою кислотою. Реалізація методів підтвердження відрізняється в різних дослідженнях в залежності від колекції штамів, які випробуються, та пристрою, що використовується (16-18).

А. Комбіноване дискове випробування (КДВ)

Для кожного випробування застосовуються диски або таблетки, що містять один цефалоспорин (цефотаксим, цефтазидим, цефепім) та у комбінації з клавулановою кислотою. Зону інгібування навколо диску або таблетки цефалоспорину у поєднанні з клавулановою кислотою порівнюють із зоною навколо диску або таблетки з одним цефалоспорином. Випробування позитивне, якщо діаметр зони інгібування ≥ 5 мм із клавулановою кислотою, ніж без неї (Таблиця 3) (25, 26).

Б. Подвійне дискове синергічне випробування (ПДСВ)

Диски, що містять цефалоспорини (цефотаксим, цефтазидим, цефепім) застосовуються до пластин поблизу з диском із клавулановою кислотою (амоксицилін – клавулановою кислотою). Позитивний результат показаний, 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 виявлено, 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. (19) Рекомендації потрібно переоцінити для дисків із меншим вмістом цефалоспоринів, як використовується в диско-дифузійному методі EUCAST.

В. Метод градієнтного випробування

Градієнтні випробування проводяться, тлумачаться та інтерпретуються у відповідності до інструкцій виробника. Випробування позитивне, якщо спостерігається зменшення у ≥ 8 разів в 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 випробування залишається невизначеним, якщо смужку неможливо тлумачити по причині росту поза межами діапазону МІК смужки. В усіх інших випадках результат випробування негативний. Градієнтне випробування БЛПС необхідно використовувати тільки для підтвердження продукування БЛПС, та воно є ненадійним для визначення МІК.

Г. Мікророзчинення бульйону

Мікророзчинення бульйону проводять з бульйоном Мюлер-Хінтону, що містить промислові двохразові розчинення 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.

Випробування позитивне, 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 випробування негативний (23).

Г. Особливі міркування у тлумаченні

Випробування щодо підтвердження БЛПС, які використовують цефотаксим у якості індикаторного цефалоспорину, можуть бути помилково позитивними для штамів *Klebsiella oxytoca* з гіперпродукцією хромосомних K1 (за типом ОХУ) β -лактамаз (27). 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 (28, 29). Інша причина помилково позитивних результатів полягає в гіперпродукції β -лактамаз поширеного спектру за типом SHV-1-, TEM-1- або ОХА у поєднанні зі зміненою проникністю (17). Схожі проблеми з помилково позитивними результатами випробування для *K. oxytoca*, що продукують K1, також можуть виникати, коли використовуються випробування із підтвердження на основі тільки цефепіму (30).

Таблиця 2. Методи підтвердження БЛПС для Enterobacteriaceae, що є позитивними у випробуванні із скринінгу БЛПС (дивись Таблицю 1). Enterobacteriaceae групи 1 (дивись Малюнок 1).

Метод	Антимікробний препарат (вміст диску)	Підтвердження БЛПС позитивне, якщо
Градiєнтне випробування БЛПС	Цефотаксим \pm клавуланова кислота	Вiдношення МІК ≥ 8 або присутній деформований овал
	Цефтазидим \pm клавуланова кислота	Вiдношення МІК ≥ 8 або присутній деформований овал
Комбiноване диско-дифузiйне випробування (КДВ)	Цефотаксим (30 мкг) \pm клавуланова кислота (10 мкг)	Збiльшення в зонi iнгiбування ≥ 5 мм
	Цефтазидим (30 мкг) \pm клавуланова кислота (10 мкг)	Збiльшення в зонi iнгiбування ≥ 5 мм
Мiкророзчинення бульйону	Цефотаксим \pm клавуланова кислота (4 мкг)	Вiдношення МІК ≥ 8
	Цефтазидим \pm клавуланова кислота (4 мкг)	Вiдношення МІК ≥ 8
	Цефепiм \pm клавуланова кислота (4 мкг)	Вiдношення МІК ≥ 8
Подвiйне дискове синергiчне випробування (ПДСВ)	Цефотаксим, цефтазидим та цефепiм	Розширення зони iнгiбування iндикаторного цефалоспорину у напрямку диску з амоксицилiном та клавулановою кислотою.

Таблиця 3. Методи підтвердження БЛПС для Enterobacteriaceae, що є позитивними у випробуванні зі скринінгу БЛПС (дивись Таблицю 1). Enterobacteriaceae групи 2 (дивись Малюнок 1).

Метод	Антимікробний препарат (вміст диску)	Підтвердження БЛПС позитивне, якщо
Градiєнтне випробування БЛПС Випробування БЛПС із невизначеними результатами	Цефепiм ± клавуланова кислота	Вiдношення МiК ≥ 8 або присутнiй деформований овал
Комбiноване диско-дифузiйне випробування	Цефепiм (30 мкг) ± клавуланова кислота (10 мкг)	Збiльшення в зонi iнгiбування ≥ 5 мм
Мiкророзчинення бульйону	Цефепiм ± клавуланова кислота (фiксована концентрацiя 4 мг/л)	Вiдношення МiК ≥ 8
Подвiйне дискове синергiчне випробування (ПДСВ)	Цефотаксим, цефтазидим та цефепiм	Розширення зони iнгiбування iндикаторного цефалоспорину у напрямку диску з амоксицилiном та клавулановою кислотою.

3.4.3. Фенотипове виявлення БЛПС у присутності інших β -лактамаз, що маскують синергію

Невизначені результати випробування та помилково негативні результати випробування (КДВ, ПДСВ, випробування з невизначеними результатами та мікророзчинення бульйону) можуть виникнути з експресії AmpC β -лактамаз високого рівня, які маскують присутність БЛПС (19, 31, 32). Ізоляти з експресією AmpC β -лактамаз високого рівня зазвичай демонструють чітку резистентність до цефалоспоринів третього покоління. Крім того, резистентність до цефаміцинів, наприклад, МiК 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 (33).

Для підтвердження присутності БЛПС в ізолятах з експресією AmpC β -лактамаз високого рівня рекомендується проводити додаткове випробування із підтвердження БЛПС із цефепімом у якості індикаторного цефалоспорину, оскільки цефепім зазвичай не піддає AmpC β -лактамази гідролізу. Цефепім може використовуватися в усіх КДВ, ПДСВ, градієнтному випробуванні або випробуванні розчинення бульйону (27, 34-36). Альтернативні підходи включають використання клоксациліну, який є гарним інгібітором AmpC ферментів. Формати випробування – це КДВ із дисками, що містять два індикатори цефалоспорину (цефотаксим та цефтазидим) із клавулановою кислотою та клоксациліном разом; та стандартні випробування КДВ або ПДСВ на агарових пластинах 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 БЛПС також може бути прихована карбапенемазами, наприклад МБЛ або ККП (але не ферментами типу ОХА-48) та/або серйозними завадами проникності (37, 38). Епідеміологічна важливість БЛПС в цьому контексті може бути поставлена під сумнів, але якщо виявлення все ще вважається доречним, рекомендується використовувати молекулярні методи для виявлення БЛПС.

Необхідно пам'ятати, що БЛПС класу D (типу ОХА) погано інгібуються клавулановою кислотою, та, отже, не можуть бути виявлені методами, описаними вище (4, 19). Ці ферменти зараз рідкі в Enterobacteriaceae.

3.4.4. Генотипове підтвердження

Для генотипового підтвердження присутності генів БЛПС рекомендується використовувати ПЛР та послідовність генів БЛПС (3) чи метод на основі ДНК-мікрочипу. Останні оцінки мікрочипу БЛПС Check-КРС (Check-Points, Вагенінген, Нідерланди) для різних колекцій мікроорганізмів, які покривають більшість відомих генів БЛПС, продемонстрували гарні характеристики (39-43). Результати випробування зазвичай отримують протягом 24 годин. Необхідно відзначити, що гени БЛПС, які виникають нерегулярно, та нові гени БЛПС не виявляються цим мікрочипом.

3.4.5. Контроль якості

Відповідні штами для контролю якості випробувань з виявлення БЛПС наведені у Таблиці 4.

Таблиця 4. Відповідні штами для контролю якості випробувань з виявлення БЛПС.

Штам	Механізм
<i>K. pneumoniae</i> з колекції ATCC 700603	БЛПС типу SHV-18
<i>E. coli</i> із колекції CCUG62975	БЛПС групи СТХ-М-1 та набуті СМУ AmpC
<i>E. coli</i> із колекції ATCC 25922	БЛПС-негативні

4. Enterobacteriaceae, що продукують набуту AmpC β-лактамазу

Важливість виявлення механізму резистентності	
Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості	Ні
Інфекційний контроль	Так
Охорона громадського здоров'я	Так

4.1. Визначення

Цефалоспорини типу AmpC – це β-лактамази класу C 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 неналежно інгібуються класичними інгібіторами БЛПС, 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 трансферу AmpC генів (на які часто посилаються як плазмидо-опосередковані AmpC). Існує декілька родових видів мобільних AmpC генів, які походять від природних продуцентів, а саме групи *Enterobacter* (*MIR*, *ACT*), групи *C. freundii* (типу *SMY-2*, *LAT*, *CFE*), групи *M. morgani* (*ДГК*), групи *Hafnia alvei* (*ACC*), групи *Aeromonas* (*muny SMY-1*, *FOX*, *MOX*) та групи *Acinetobacter baumannii* (*ABA*). Ферменти, що найбільш поширені та широко розповсюджені – це ферменти типу SMY-2, хоча індуковані β-лактамази за типом ДНК та деякі інші також екстенсивно поширюються (1).

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

4.3. Механізми резистентності

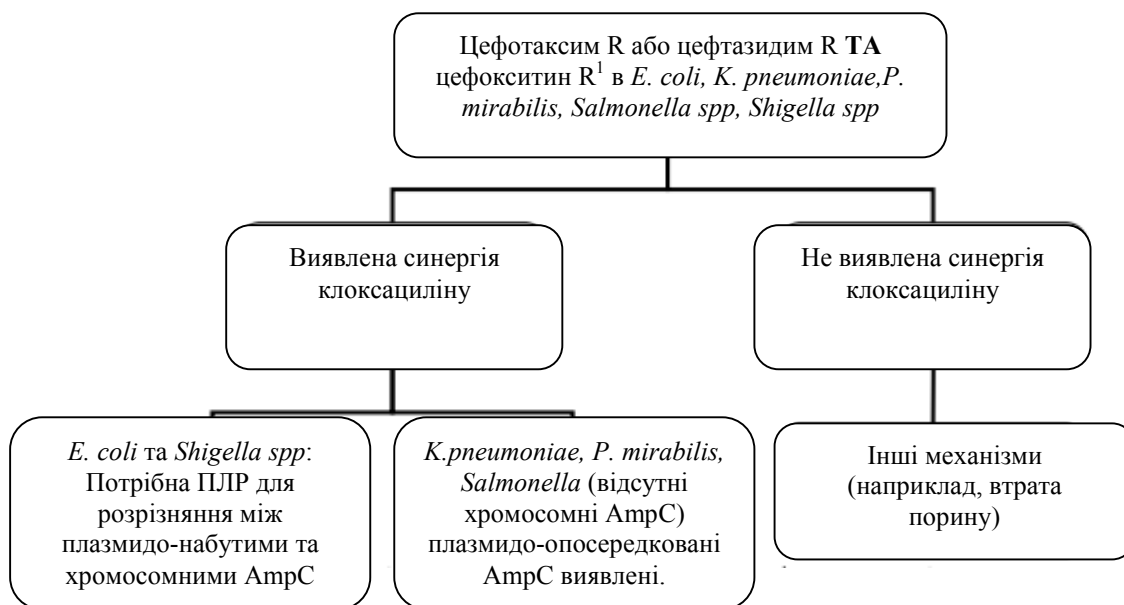
Численні Enterobacteriaceae та деякі інші грам-негативні бактерії продукують природні AmpC, або постійно на слідовому рівні (наприклад, *E. coli*, *Acinetobacter baumannii*), або індуктивне (наприклад, *Enterobacter spp.*, *C. freundii*, *M. morgani*, *P. aeruginosa*). Дерепресія або гіперпродукція природних AmpC пояснюються генетичними змінами та забезпечують резистентність до цефалоспоринів високого рівня та комбінацій інгібітору пеніцилін-β-лактамази.

Цефалоспорины класу С також можуть виникати у якості набутих ферментів, головним чином в Enterobacteriaceae. За винятком деяких індукованих типів (наприклад, ДГК), набути AmpC виражаються постійно, забезпечуючи резистентність, схожу з тією, що спостерігається в знову активованих або гіперпродукуючих мутантах природних продуцентів AmpC. Рівні резистентності залежать від кількості ферментів, що виражаються, а також присутності інших механізмів резистентності. Як і БЛПС, набути AmpC зазвичай кодуються плазмидо-опосередкованими генами (1-3).

4.4. Методи, рекомендовані для виявлення набутих AmpC в Enterobacteriaceae

МІК цефокситину більше 8 мг/л в комбінації з МІК цефтазидиму та/або цефотаксиму більше 1 мг/л може використовуватися у якості фенотипового критерію для дослідження продукції AmpC в Enterobacteriaceae групи 1, хоча ця стратегія не виявлятиме АСС-1, плазмидо-опосередковані AmpC не піддають гідролізу цефокситин (6). Необхідно відзначити, що резистентність до цефокситину також може пояснюватися дефіцитом поринів (1).

Малюнок 1. Алгоритм для виявлення AmpC.



¹ Цефотаксим R тут визначається, як не дикого типу (МІК більше 8 мг/л або діаметр зони менше 19 мм).

Дослідження ізолятів із нечутливістю до цефотаксиму та цефтазидиму представляє собою підхід з вищою чутливістю, але нижчою специфічністю у порівнянні з фокусуванням на ізоляти, резистентні до цефокситину (7). AmpC також можуть бути присутні в ізолятах в позитивному випробуванні БЛПС (синергія клавуланової кислоти). Таким чином, доречно проводити випробування незважаючи на результат тесту БЛПС. Для лабораторій, які не проводять випробування, цефокситин, чутливий до цефепіму і резистентний до цефотаксиму та/або цефтазидиму, є іншим фенотиповим індикатором AmpC, хоча менш специфічним.

Фенотипові випробування з підтвердження AmpC взагалі засновані на інгібуванні AmpC або клоксациліном або похідними борової кислоти. Однак похідні борової кислоти також інгібують карбапенемази класу А. Хоча існує небагато даних, що оцінюють ці методи, було описане розумне точне виявлення 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), градієнтне випробування 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, випробування з підтвердження AmpC не можуть розрізнити 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 із ДНК-мікрочипом (Check-Points) (17).

Відповідні штами для контролю якості випробувань з виявлення AmpC наведені в Таблиці 1.

Таблиця 1. Відповідні штами для контролю якості випробувань із виявлення AmpC

Штам	Механізм
<i>E. coli</i> із колекції CCUG 58543	Набуті AmpC типу CMY-2
<i>E. coli</i> із колекції CCUG62975	Набуті AmpC типу CMY та CTX-M-1 групи БЛПС
<i>E. coli</i> із колекції ATCC 25922	AmpC негативні

5. Метицилін резистентний *Staphylococcus aureus* (МРЗС)

Важливість виявлення резистентності	
Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості	Так
Інфекційний контроль	Так
Охорона громадського здоров'я	Так

5.1. Визначення

Ізоляти *S. aureus* з допоміжним пеніцилін-єднальним білком (ПЄБ2а або недавно винайденим альтернативним ПЄБ2, що кодується геном *mecC*), для яких β-лактамі препарати, за винятком нового класу цефалоспоринів із активністю щодо МРЗС, мають слабку спорідненість

5.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення

Метицилін - резистентний *S. aureus* є основною причиною хворобливості та смертності в усьому світі (1, 2). Смертність від інфекцій кровотоку, викликаних МРЗС, трапляється у два рази частіше в порівнянні зі схожими інфекціями, які спричиняються метицилін чутливими штамми у зв'язку із затриманими режимами адекватного лікування та неефективного альтернативного лікування (3). Інфекції, викликані МРЗС, 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-єднального білка, ПЄБ2а або недавно винайденого альтернативного ПЄБ2, що кодується геном *mecC*, який забезпечує ізолятом, що резистентний до всіх β-лактамів, за винятком нового класу цефалоспоринів, які мають достатньо високу спорідненість із ПЄБ2а та, можливо, також ПЄБ, що кодується геном *mecC*, з активністю щодо МРЗС (4). Допоміжні ПЄБ кодується геном *mecA* або нещодавно описаним *mecC* (який в минулому був відомий як *mecA_{LGA251}*) (5), відповідно. Елемент *mec* чужорідний до *S. aureus* та відсутній в метицилін чутливих *S. aureus*. Штами з виразною гетерогенною експресією гену *mecA* та часто низькі МІК оксациліну перешкоджають точності випробування чутливості (5). Більш того, деякі ізоляти виражають резистентність низького рівню до оксациліну, але є *mecA* та *mecC* негативними і не продукують альтернативні ПЄБ [гранично чутливі *S. aureus* (BORSA)]. Ці штамми відносно рідкі та механізм резистентності охарактеризований неналежно, але вони можуть включати гіперпродукцію β-лактамаз або зміну попередньо існуючих ПЄБ (6).

5.4. Методи, рекомендовані для виявлення метицилін резистентних *S. aureus*

Резистентність до метициліну / оксациліну може бути виявлена як фенотипово шляхом визначення МІК, диско-дифузійними випробуваннями або латексним склеюванням для виявлення ПЄБ2а, так і генотипово за допомогою ПЛР.

5.4.1. Виявлення шляхом визначення МІК або дискової дифузії

Гетерогенна експресія резистентності зокрема впливає на МІК оксациліну. Цефокситин дуже чутливий та є специфічним маркером *mecA/mecC* опосередкованої резистентності до метициліну та препаратом на вибір для дискової дифузії.

Дискова дифузія з оксациліном не рекомендується та інтерпретаційні діаметри зон більше не включаються до таблиці граничних значень EUCAST по причині неналежної кореляції в присутності *tesA*. Штами зі збільшеними МІК оксациліну (МІК більше 2 мг/л), але які залишаються чутливими до цефокситину (діаметр зони ≥ 22 мм, МІК ≤ 4 мг/л), зустрічаються рідко. Якщо випробують оксацилін та отримують тлумачення, що відрізняється від цефокситину, інтерпретація повинна мати вид, згаданий нижче. Рекомендується піддавати такі штами фенотиповому або генотиповому дослідженню для *tesA* або *tesC*.

Таблиця 1. Інтерпретація, коли відрізняються результати із оксациліном та цефокситином.

		Результат із цефокситином шляхом визначення МІК або дискової дифузії	
		Чутливий	Резистентний
Результат із оксациліном шляхом визначення МІК	Чутливий	Вважати, як чутливий до оксациліну	Вважати, як резистентний до оксациліну
	Резистентний	Вважати, як резистентний до оксациліну	Вважати, як резистентний до оксациліну

А. Мікророзчинення бульйону

Використовується стандартна методологія (ISO 20776-1) та про штами з МІК цефокситину більше 4 мг/л необхідно звітувати, як про резистентні до метициліну.

Б. Дискова дифузія: Використовується диско-дифузійний метод EUCAST. Штами з цефокситином (30 мкг диск) із діаметром зони менше 22 мм необхідно вважати резистентними до метициліну.

5.4.2. Виявлення генотиповим методом та латексним склеюванням

Генотипове виявлення гену *tesA* методом ПЛР та виявлення білку ПЄБ2а із застосуванням наборів латексного склеювання можливе в промислових або місцевих лабораторіях. Однак *tesC* та ПЄБ, що кодується цим геном, можуть на даний момент не виявлятися при використанні промислових генотипових або фенотипових методів. Посібники та методи для виявлення *tesC* були надруковані нещодавно (7, 8).

5.4.3. Контрольні штами

Відповідні штами для контролю якості випробувань з чутливості до метициліну наведені в Таблиці 2.

Таблиця 2. Відповідні штами для контролю якості випробувань з чутливості до метициліну

Штам	Механізм
<i>S. aureus</i> із колекції ATCC 29213	Чутливий до метициліну
<i>S. aureus</i> із колекції NCTC 12493	Резистентний до метициліну (<i>tesA</i>)
<i>S. aureus</i> із колекції NCTC 13552	Резистентний до метициліну (<i>tesC</i>)

6. *Staphylococcus aureus*, не чутливий до глікопептидів

Важливість виявлення резистентності	
Вимагається для присвоєння категорії антимікробної чутливості	Так
Інфекційний контроль	Так
Охорона громадського здоров'я	Так

6.1. Визначення

Клінічні граничні значення МІК від EUCAST щодо резистентності до ванкоміцину в *S. aureus* більше 2 мг/л. За останні роки граничні значення для ванкоміцину були знижені, таким чином перемістивши його до групи помірно резистентних. Однак існують важливі різниці в механізмі резистентності для резистентного до глікопептидів на високому рівні *S. aureus*, опосередкованого геном VanA (РГЗС) та резистентних на низькому рівні ізолятів, опосередкованих не геном VanA. Отже, терміни «помірно резистентний до глікопептидів *S. aureus*» (ПРГЗС) та «гетерогенний помірно резистентний до глікопептидів *S. aureus*» (ГПРГЗС) використовувалися для ізолятів, опосередкованих не геном VanA із резистентністю низького рівня до ванкоміцину. 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 випробування для ГПРГЗС. Із причини складності підтвердження ГПРГЗС антимікробний нагляд фокусується на виявленні ПРГЗС та РГЗС.

РГЗС: Резистентні до глікопептидів *S. aureus*:

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

ПРГЗС: Помірно резистентні до глікопептидів *S. aureus*

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

ГПРГЗС: Гетерогенні помірно резистентні до глікопептидів *S. aureus*.

Ізоляти *S. aureus*, чутливі до ванкоміцину (МІК \leq 2 мг/л), але із меншими популяціями (1 в 10^6 клітин) із МІК ванкоміцину більше 2 мг/л, виходячи з профільного дослідження аналізу популяцій.

6.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення

В Європі відсутні сучасні дослідження щодо переважання ізолятів зі зменшеною чутливістю до глікопептидів. Згідно повідомленням з поодиноких інституцій було виявлено, що переважання ГПРГЗС в Європі складало \leq 2% у порівнянні з МРЗС, а ПРГЗС – нижче 0,1% (1). В Європі ще не повідомляли про РГЗС та зараз вони дуже рідко зустрічаються в усьому світі. Переважання ГПРГЗС 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 (ПРГЗС) або ті, що містять резистентні субпопуляції (ГПРГЗС), є МРЗС.

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

Таким чином, розумно досліджувати ГПРГЗС в інфекціях кровотоку, що не піддаються лікуванню. Останнім часом з'явився переконливий доказ щодо того, що ізоляти із МІК у верхній частині чутливого діапазону (МІК більше 1 мг/л) пов'язані з більш несприятливими наслідками хвороби та можуть бути пов'язані зі збільшеною смертністю, щонайменш при інфекціях кровотоку (2-7). Все ще неясно, чи відповідає присутність резистентних субпопуляцій за більш несприятливі наслідки хвороби, оскільки це також може бути наслідком незначно підвищених МІК ванкоміцину, що спостерігається для цих штамів.

Механізм ГПРГЗС є складним та виявлення покладається на аналіз популяції (8), що є громіздким, вимагає спеціального обладнання та потребує високого рівня технічного досвіду. Методологія виявлення ГПРГЗС буде стисло окреслена, але з метою нагляду звітність обмежується ПРГЗС та РГЗС, які разом визначаються, як ізоляти із МІК більше 2 мг/л.

6.3. Механізм резистентності

Для РГЗА резистентність опосередковується геном *vanA*, який набувають екзогенним чином з ентерококів. Для обох ізолятів ПРГЗС та ГПРГЗС резистентність є ендогенною (наприклад, хромосомні мутації) та механізм є надто складним, оскільки відсутній один окремий ген, який за це відповідає. Фенотип ПРГЗС/ГПРГЗС пов'язаний зі стовщенням стінки бактеріальної клітини, гіперпродукцією глікопептид-єднальних мішеней. Фенотип ГПРГЗС часто нестабільний в лабораторії, але ГПРГЗС має здатність розвиватися до ПРГЗС *in vivo* (1).

6.4. Методи, рекомендовані для виявлення *S. aureus*, не чутливих до глікопептидів

Дискова дифузія НЕ МОЖЕ використовуватися для випробування ГПРГЗС або ПРГЗС, Але може застосовуватися для випробування РГЗС.

6.4.1. Визначення МІК

Методологія мікророзчинення бульйону, як рекомендовано EUCAST (ISO 20776-1), є золотим стандартом, але МІК також можна визначати градієнтними смуговими методами, розчиненням агару або автоматичними системами. Необхідно відзначити, що результати за градієнтними смуговими рівнями можуть різнитися на 0,5-1 чи два кроки розчинення більше у порівнянні мікророзчиненням бульйону (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 мікророзчиненню бульйону) необхідно надсилати до референтної лабораторії. При визначенні МІК ГПРГЗС не виявляються.

6.4.2. Випробування із виявлення РГЗС, ПРГЗС та ГПРГЗС

Виявлення ГПРГЗС 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 агарових пластинах, що містять широкий діапазон концентрацій ванкоміцину (PAP-AUC) (8).

Цей метод є технічно складним без достатнього досвіду та, як наслідок, найчастіше застосовується в референтних 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 всі методи виявлятимуть РГЗС та ПРГЗС, і вони були розглянуті в багатоцентровому дослідженні (10).

А. Макроградієнтне випробування:

Це випробування забезпечує уявленням про зменшену чутливість до ванкоміцину, але зверніть увагу, що показання не належать до МІК. Крім того, випробування не розрізняє ГПРГЗС, ПРГЗС та РГЗС. Випробування проводять згідно інструкціям виробника. Також зверніть увагу, що інокулянт вище за каламутністю (2,0 МакФарланд) у порівнянні зі стандартними градієнтними випробуваннями. Позитивний результат досягають при показаннях ≥ 8 мг/л для ванкоміцину та тейкопланіну АБО ≥ 12 мг/л тільки для тейкопланіну.

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

- Показання тейкопланіну ≥ 12 мг/л: РГЗС, ПРГЗС або ГПРГЗС
- Показання тейкопланіну 8 мг/л: випробування ванкоміцину. Якщо показання ванкоміцину ≥ 8 мг/л, тоді РГЗС, ПРГЗС або ГПРГЗС
- Показання тейкопланіну < 8 мг/л: це не РГЗС, ПРГЗС або ГПРГЗС

Б. Градієнтне випробування із виявлення резистентності до глікопептидів (GRD)

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

В. Скринінг із тейкопланіновим агаром

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

Г. Випробування із підтвердження ГПРГЗС/ПРГЗС:

Будь-який ізолят, що є позитивним для зменшеної чутливості та не ототожнений як РГЗС або ПРГЗС при визначенні МІК, може бути ГПРГЗС, і його можна дослідити за площею профілю аналізу популяції під кривою (PAP-AUC) (8), як правило, шляхом надіслання до референтної лабораторії.

6.4.3. Контрольні штами

Відповідні штами для контролю якості випробувань з чутливості до глікопептидів наведені у Таблиці 1.

Таблиця 1. Відповідні штами для контролю якості випробувань з чутливості до глікопептидів

Штам	Механізм
<i>S. aureus</i> із колекції ATCC 29213	Чутливий до глікопептидів
<i>S. aureus</i> із колекції ATCC 700698	ГПРГЗС (Mu3)
<i>S. aureus</i> із колекції ATCC 700699	ПРГЗС (Mu50)

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

Важливість виявлення 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) (МІК ванкоміцину більше 4 мг/л).

7.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення

Enterococci, зокрема *E. faecium*, взагалі резистентні до більшості клінічних антимікробних препаратів. Лікування інфекцій, викликаних ентерококами, резистентними до ванкоміцину (VRE), таким чином, ускладнюється із небагатими варіантами терапії. Відомо, що VRE поширюються ефективно та залишаються в лікарняному середовищі і можуть колонізувати багато осіб, серед яких тільки деякі можуть мати ентерококові інфекції (6, 7). Ізоляти, що приховують ген VanB, зазвичай фенотипово чутливі до тейкопланіну. Згадується про два клінічні випадки вибору резистентності до тейкопланіну протягом лікування ентерококів, що приховують ген VanB (8, 9), але бракує випадків клінічних невдач, та поточна рекомендація EUCAST полягає в тому, що потрібно звітувати про результат випробування для тейкопланіну за мірою знаходження. Типові величини МІК для клінічно наважливих ферментів Van наведені у Таблиці 1.

Таблиця 1. Типові МІК глікопептидів для ентерококів, що приховують ген VanA або VanB.

Глікопептид	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 кодується плазмидами генів VanA та VanB, що замінюють заключні D-Ala в пептидоглікані на D-Lac. Ця заміна зменшує приєднання глікопептидів до мішені. Штами VanA демонструють резистентність, як до ванкоміцину, так і до тейкопланіну, тоді як штамми 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. casseliflavus*. 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 виявлення резистентності до глікопептидів в *E. faecium* та *E. faecalis*

Резистентність до ванкоміцину можна виявити шляхом визначення МІК, дисковою дифузією та методом визначення граничних значень агару. В усіх трьох методах важливо, щоб пластини 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 розчинення агару або бульйону 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*. Дискова дифузія із 5 мкг диском з ванкоміцином здійснюється важко, але випробування має гарні результати на умовах суворого дотримання рекомендацій із тлумачення, як вказано EUCAST (неопубліковані дані референтної лабораторії EUCAST).

При тлумаченні результатів визначення МІК або диско-дифузійного випробування важливо забезпечити тим, щоб ізолят не належав до *E. gallinarum* або *E. casseliflavus*, який можна помилково сприйняти як *E. Faecium* завдяки позитивному випробуванню арабінози. Випробування МГП (метил-альфа-D-глюкопіранозиду) або тест на рухомість 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 розчинення агару, мікророзчинення бульйону або градієнтними методами визначення МІК.

Мікророзчинення бульйону проводять у відповідності зі стандартом ISO 20776-1, як рекомендовано EUCAST. Визначення МІК за допомогою градієнтних випробувань проводиться відповідно до інструкцій виробника. Будь-ласка, зверніть увагу, що градієнтні смужки для визначення МІК іноді використовуються з вищим 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.

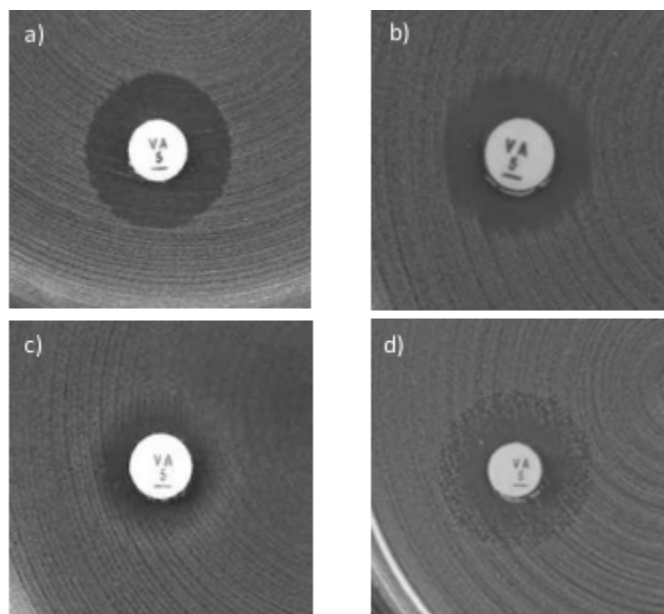
7.4.2. Диско-дифузійне випробування

При дисковій дифузії 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.

- Діскову дифузію проводять згідно диско-дифузійної методології EUCAST для мікроорганізмів із нескладними споживчими потребами. Потрібна інкубація протягом 24 годин для виявлення резистентності в деяких ізолятах з індукованою резистентністю.

Малюнок 1. Інтерпретація диско-дифузійних випробувань з ванкоміцином на *Enterococcus* spp.



a) 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 шляхом розчинення в агарах

Випробування з визначення граничних значень шляхом розчинення в серцево-мозковому агарі із застосуванням 6 мг/л ванкоміцину є надійним засобом щодо виявлення *vanA*- та *vanB* позитивних ізолятів. Пластини для визначення граничних значень можна придбати у серійних виробників або зробити в лабораторії. Випробування із визначення граничних значень проводиться шляхом розчинення 1×10^5 - 1×10^6 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 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ для виявлення резистентності в деяких ізолятах із індукованою резистентністю. Ріст більше однієї колонії вважається позитивним випробуванням.

7.4.4. Генотипове випробування

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

7.4.5. Контроль якості

Відповідні штами для контролю якості випробувань з чутливості до глікопептидів наведені у Таблиці 2.

Таблиця 2. Відповідні штами для контролю якості випробувань з чутливості до глікопептидів

Штам	Механізм
<i>E. faecalis</i> із колекції ATCC 29212	Чутливий до ванкоміцину
<i>E. faecalis</i> із колекції ATCC 51299	Резистентний до ванкоміцину (<i>vanB</i>)
<i>E. faecium</i> із колекції NCTC 12202	Резистентний до ванкоміцину (<i>vanA</i>)

8. *Streptococcus pneumoniae*, не чутливий до пеніциліну

Важливість виявлення 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-еднальних білків (ПЄБ) із меншою спорідненістю із β -лактамами.

8.2. Клінічне та/або епідеміологічне значення

S. pneumoniae – це найбільш поширена причина пневмонії в усьому світі. Хворобливість 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 в агресивних 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 ПЄБ, із яких ПЄБ 2х є первинною мішенню пеніциліну (2). Присутність «мозаїчних генів», що кодують ПЄБ із низькою спорідненістю, є результатом горизонтального трансферу генів з умовно-патогенних стрептококів групи віриданс (2). Рівень резистентності до β -лактамів залежить не тільки від мозаїчних ПЄБ з низькою спорідненістю, що присутні в ізоляті, але і також від модифікації специфічних ПЄБ, які є важливими для *S. pneumoniae* (3). Штами з МІК бензилпеніциліну у діапазоні 0,12-2 мг/л вважаються чутливими в не менінгітових інфекціях, коли застосовують більш високу дозу пеніциліну, тоді як для менінгіту такі штами завжди вважаються резистентними (4).

8.4. Методи, рекомендовані для виявлення *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 виявлення 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 -лактаміні 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.
	Інші β -лактаміні препарати (у тому числі бензилпеніцилін для інфекцій, інших, ніж менінгіт)	Діаметр зони оксациліну < 8 мм: визначити МІК β -лактаміного 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 -лактаміні 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, викликані штамами з помірно резистентною чутливістю 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
	S ≤	R >	
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 (мільйонам одиниць) бензилпеніциліну.

8.4.3. Контроль якості

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

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

Штам	Механізм
<i>S. pneumoniae</i> із колекції ATCC 49619	Мозаїчний ПЄБ, 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».