आई एस एस एन : 0971-9873

आई सी एम आर पत्रिका

वर्ष-23, अंक-1-3

जनवरी-मार्च, 2009

संक्रामक रोगों में उपस्थित सामान्य जीवाणुओं में औषध प्रतिरोध की पहचान विधियां

सूक्ष्मजीवीरोधी कारकों के प्रति प्रतिरोध शक्ति विकसित होने से चिकित्सा असफल होने के परिणामस्वरूप अस्वस्थता और मौतें तो होती हैं, साथ में स्वास्थ्य पर व्यय भी बढ़ जाता है। यद्यपि, जनस्वास्थ्य के खतरों की व्याख्या करना और स्वास्थ्य व्यय में वृद्धि का आकलन करना कोई सरल कार्य नहीं है, परन्तु एंटीबायोटिक दवाइयों के प्रति प्रतिरोध शक्ति का उभरना विश्व की एक गंभीर समस्या है।

एंटीबायोटिक दवाइयों का उपयुक्त प्रयोग निःसंदेह लाभदायक होता है परन्तु प्रायः चिकित्सकों और लोगों द्वारा इनका उपयुक्त प्रयोग नहीं किया जाता। प्रायः चिकित्सक विषाणुज संक्रमणों के इलाज के लिए एंटीबायोटिक दवाइयों की सिफारिश करते हैं, संभावित जीवाणुज संक्रमणों की पहचान हेतु पर्याप्त मापदण्डों का प्रयोग नहीं करते जिसके परिणामस्वरूप अनावश्यक महंगी ब्रॉडस्पेक्ट्रम दवाइयों को प्रयोग करने का निर्देश देते हैं जिससे रासायनिक रोगनिरोध हेतु निर्धारित सिफारिशों का अनुपालन नहीं हो पाता।

एंटीबायोटिक दवाइयों के व्यापक प्रयोग के परिणामस्वरूप उनके प्रति प्रतिरोध विकसित हो जाता है। अस्पताल से उत्पन्न होने वाले संक्रमणों और प्रतिरोधी समुदाय से पीड़ित होने वाले संक्रमणों को ज्ञात करने के लिए एंटीबायोटिक प्रयोग की बढ़ती दरों और प्रतिरोध के बीच संबंध को ज्ञात किया गया है "प्रथम लाइन" की एंटीबायोटिक दवाइयों के प्रति प्रतिरोध शक्ति विकसित होने के साथ नवीन ब्रॉड स्पेक्ट्रम और अधिक महंगी एंटीबायोटिक दवाइयों का प्रयोग बढ़ जाता है, परन्तु इन नवीन औषधियों के प्रति भी प्रतिरोध शक्ति विकसित हो जाती है। उदाहरण के तौर पर विगत 20 वर्षों के दौरान β-लैक्टम एंटीबायोटिक्स (पेनिसिलिंस, सिफैलोस्पोरिंस, कार्बोपीनीम्स, आदि) का समान्य रूप से व्यापक प्रयोग किया जा रहा है।

प्रयोगशाला की भूमिका

जीवाणुविज्ञान प्रयोगशाला में प्रासंगिक रोगजनों की पहचान करने और उनका संवर्धन (कल्चर) करने के साथ-साथ व्यापक श्रेणी की एंटीबायोटिक दवाइयों के प्रति इन रोगजनों की एंटीबायोटिक सुग्राह्यता ज्ञात करने की सुविधाएं अवश्य होनी चाहिए। इसके अलावा, चिकित्सीय सूक्ष्मजीवविज्ञानी को स्थानीय उपभेदों और उनकी सुग्राह्यता के स्वरूप के विषय में जानकारी अवश्य होनी चाहिए जिससे वे चिकित्सकों की मदद कर सकें।

कैसे विकसित होता है प्रतिरोध

प्रतिरोध का विकास मुख्यतया निम्न प्रक्रियाओं द्वारा होता है:

1. उत्परिवर्तन

उत्परिवर्तन प्रक्रिया स्वतः दरों में होती रहती है जो सामान्यतया 10^2-10^{10} कोशिका विभाजन की श्रेणी में होती है (जैसे *एम.ट्युबरकुलोसिस, स्ट्रेप्टोकॉक्कस न्युमोनियाई,* आदि में)।

2. प्लाज्मिड की मध्यस्थता में औ-ाध प्रतिरोध

किसी जीवाणु में प्रतिरोध विकसित होने के पीछे कमेंसल-कमेंसल (कमेंसल अर्थात पोषद को किसी प्रकार की हानि अथवा लाभ पहुंचाए बिना उससे लाभ उठाने वाला यानि सहभोगी) कमेंसल रोगजन और रोगजनक-रोगजनक के बीच संयोजन का हाथ पाया गया है। स्टेफाइलोकॉक्कस (पेनिसिलिनेज़ प्लाज्मिड) जैसे ग्राम वर्ण ग्राही (ग्राम पॉज़िटिव बैक्टीरिया) जीवाणुओं में पारगमन(जीवाणुभक्षी द्वारा किसी जीनी खण्ड का एक जीवाणु से दूसरे जीवाणु पर स्थानांतरित होना) द्वारा प्रतिरोध उत्पन्न होता है, जबकि ग्राम वर्ण अग्राही (ग्राम निगेटिव बैक्टीरिया) में संयुग्मन औषध प्रतिरोध के स्थानांतरण की एक प्रमुख प्रक्रिया है। अंत में उपस्थित जीवाणुओं में स्थानांतरणशील औषध प्रतिरोध सामान्य रूप से प्रयुक्त सभी एंटीबायोटिक दवाइयों से संबद्ध है। आर-प्लाज्मिड युक्त जीवाणु जंतुओं में मानवों से फैल सकता है। इसलिए मानव और जंतुओं अथवा जंतु आहार में इसके अंधाधुंध प्रयोग से प्लाज्मिड की मध्यस्थता में होने वाला औषध प्रतिरोध का तीव्र विस्तार हो सकता है।

3. आजकल नवीन प्रतिरोध प्रक्रियाएं भी सामान्य रूप से देखी जाती हैं जिनमें सम्मिलित हैं- क्लास ए ESBL(एक्स्टेण्डेड स्पेक्ट्रम β–लेक्टामेज़ेज), क्लास बी MBLs (मेटैलो लैक्टामेज़ेज) कार्बापीनमेज़ेज और क्लास सी AmpC β-- लैक्टामेज़ेज (सिफैलोस्पोरीनेज़ेज़)।

4. चयन दबाव

यह एक मुक्त प्रक्रिया है। एंटीबायोटिक दबाव एक सहज गुण है। चयन दबाव से प्रतिरोधी जीवाणु की वृद्धि बढ़ जाती है।

चिकित्सकों के समक्ष बहुऔषध प्रतिरोध एक अन्य चुनौती है जो एंटीबायोटिक दवाइयों के अनुपयुक्त प्रयोग के कारण होता है। बहुऔषध-प्रतिरोधी रोगजनकों का विस्तार केवल स्थानिक नहीं बल्कि विश्व स्तर पर होता है, जहां नवीन रोगजनक सुग्राही परपोषियों (होस्ट्स) में तेजी से फैलते हैं। एंटीबायोटिक दवाइयों के प्रति प्रतिरोध का स्वरूप स्थानीय और क्षेत्रीय स्तर पर भिन्न हो सकता है इसलिए चयनित सेंटिनल स्रोतों से आंकड़ों को एकत्र करने की आवश्यकता है। इनके स्वरूपों में तेजी से बदलाव आ सकता है और उनपर नज़दीकी से निगरानी रखने की आवश्यकता होती है क्योंकि उस क्षेत्र में चिकित्सकों द्वारा उपयुक्त अथवा अनुपयुक्त मात्रा में एंटीबायोटिक दवाइयों के प्रयोग की सिफारिश करने को एक संकेतक के रूप में माना जा सकता है तथा जनस्वास्थ्य पर उनके भावी प्रभावों को ज्ञात किया जा सकता है।

सूक्ष्मजीवीरोधी सुग्राह्यता के लिए नवीन एंटीबायोटिक दवाइयों का सामान्य रूप से पाए जाने वाले ग्राम वर्ण अग्राही जीवाणुओं हेतु परीक्षण

- **बीटा-लैक्टम्सः**

  सिफैलोस्पोरिंसः सीफाज़ोलिन, सेफोटैक्सिम, सेफ्टाज़िडीम, सेफ्ट्रियाक्ज़ोन एवं सेफुरोक्ज़ीम, सेफैपाइम (1998)।

  नवीन पेनिसिलिंसः नैफ़सिलिन(1996) स्टेफाइलोकॉक्कल रोधी

  कार्बापीनीम्स एर्टापीनीम (2002), आइमीपीनीम एवं मीरोपीनीम (1998), फेरोपीनीम।

  मोनोबैक्टम्सः एज़ट्रिओनम
- **फ्लोरोक्विनोलोंसः** न्युमोकॉक्कसी हेतु सिप्रोफ्लॉक्सेसिन, लेवोफ्लॉक्सेसिन,मॉक्सीफ्लॉक्सेसिन, जेमीफ्लॉक्सेसिन (2000), ट्रोवाफ्लॉक्सेसिन (1999), नॉरफ्लॉक्सेसिन एवं ऑफ्लॉक्सेसिन
- **अमीनोग्लाइकोसाइड्सः** एम आर एस ए हेतु एमीकेसिन, जेंटामाइसिन, नेटिलमाइसिन एवं टोब्रामाइसिन, अर्बेकेसिन (2000), वी आर ई (*ई.फीसियम*) हेतु स्ट्रेप्टोग्रैमिन, क्विनाप्रिस्टीन/इलफोप्रिस (1999)।
- **ग्लाइकोपेप्टाइड्स** टीकोप्लैनिन एवं वैंकोमाइसिन
- **मैक्रोलाइड्सः** टेलिथ्रोमाइसिन (2000), एज़िथ्रोमाइसिन, एरिथ्रोमाइसिन, टाइगेसाइक्लिन

अन्य कारकः वी आर ई के विरुद्ध लाइनेज़ोलिड (2000), डैप्टोमाइसिन (1999), डॉक्सीसाइक्लिन, मीनोसाइक्लिन, टेट्रासाइक्लिन, TMP-SMX, मेट्रोनीडाज़ोल, क्लिंडामाइसिन, नाइट्रोफ्युरांस, क्लोरएंफीनिकॉल, रिफैम्पिसिन, आदि पुरानी एंटीबायोटिक दवाइयां जो प्रयोग में हैं।

एम आर एस ए = मेथीसिलिन प्रतिरोधी *स्टेफाइलोकॉक्कस ऑरियस*
वी आर ई = वैंकोमाइसिन प्रतिरोधी एंटेरोकॉक्कसी

एंटीबायोटिक दवाइयों की सुग्राह्यता को ज्ञात करने हेतु अंतःपात्र विधि से संपन्न परीक्षण से प्राप्त परिणामों द्वारा उपयुक्त प्रारम्भिक चिकित्सा विधान का उपयुक्त चयन करने तथा विशिष्ट स्थितियों में अलग-अलग रोगियों के लिए प्रयुक्त दवाइयों के लिए चिकित्सकों का मार्गदर्शन होगा। सुग्राह्यता परीक्षण हेतु किसी एंटीबायोटिक पैनेल का चयन सामान्य रूप से प्रदर्शित सुग्राह्यता स्वरूपों पर आधारित होता है, और समय-समय पर उसमें संशोधन किया जाता है।

सुग्राह्यता परीक्षण की विभिन्न विधियां उपलब्ध हैं। जो जीव (ऑर्गेनिज़्म्स) $35\text{-}37^0$ सेल्सियस तापमान पर तेजी से

वृद्धि करते हैं उनके लिए डिस्क डिफ्यूज़न विधियां उपयुक्त हैं। विभिन्न तकनीकें सरल, सस्ती एवं विश्वसनीय तो हैं परन्तु एक भी डिस्क डिफ्यूज़न परीक्षण विधि नहीं है जो अन्तर्राष्ट्रीय स्तर पर स्वीकार्य हो। ब्रिटेन की अधिकांश प्रयोगशालाओं द्वारा रूपांतरित डिस्क डिफ्यूजन स्टोक्स विधि और बी एस ए सी (ब्रिटिश सोसाइटी ऑफ एंटीमाइक्रोबियल कीमोथिरैपी) विधियां प्रयोग की जाती हैं। हालांकि, अगर डिस्क डिफ्यूज़न विधि एक मानक परिचालन विधि (स्टैण्डर्ड ऑपरेटिंग प्रोसीज़र, अर्थात एस ओ पी) के रूप में स्वीकार्य है। फ्रांस, जर्मनी, स्वीडन और संयुक्त राज्य अमरीका सहित अधिकांश देशों ने सी एल एस आई (क्लीनिकल लैब स्टैण्डर्ड इंस्टीट्यूट) की डिस्क डिफ्यूज़न विधि को अपना लिया है और प्रत्येक दूसरे-तीसरे वर्ष उसे नवीनीकृत किया जाता है जो विश्व स्तर पर स्वीकार्य होता है। हालांकि, संयुक्त राज्य अमरीका और ब्रिटेन में प्रयुक्त विधियों में अन्तर है। ब्रिटेन में प्रयुक्त बी एस ए सी और संयुक्त राज्य अमरीका में प्रयुक्त सी एल एस आई दिशानिर्देशों में आइसोलेट्स की संख्या (250-V-S500) के आधार पर अन्तर है। जिनके द्वारा क्रमशः 250 और 500 आइसोलेट्स की जांच की जाती है। इसके अलावा बी एस ए सी के दिशानिर्देश में मेथीसिलिन प्रतिरोधी *स्टेफाइलोकॉक्कस ऑरियस* (एम आर एस ए) की पहचान में मेथीसिलिन जबकि सी एल एस आई में ओक्सासिलिन का प्रयोग किया जाता है।

*स्ट्रेप्टोकॉक्कस न्युमोनियाई*और *नेसेरिया गोनोरी* जैसे नाज़ुक जीवों के लिए रिग्रेशन लाइन विश्लेषण द्वारा न्यूनतम संदमक मात्रा (एम आई सी) संबद्ध आंकड़े उपलब्ध हैं। एंटीबायोटिक सुग्राह्यता रिपोर्ट चिकित्सीय सफलताओं के अनुसार सुग्राही, मध्यम अथवा प्रतिरोधी के रूप में दर्ज की जाती है। बी एस ए सी और सी एल एस आई विधियों के बीच एम आई सी के ब्रेकप्वाइंट में अंतर पाया जाता है जैसा कि एंटिरोबैक्टीरिएसी में जेंटामाइसिन जैसी कुछ एंटीबायोटिक दवाइयों के साथ देखा जाता है, हालांकि, *हीमोफिलस* और *स्यूडोमोनास* के लिए सी एल एस आई विधि को अधिक स्वीकार्यता मिली है। भारत में ये दोनों विधियां प्रयोग में हैं परन्तु भारत की अधिकांश प्रयोगशालाओं द्वारा सामान्य रूप से सी एल एस आई विधियां प्रयोग की जाती हैं। इसके अलावा, चिकित्सीय रूप से प्रतिरोधी, चिकित्सीय रूप से सुग्राही और चिकित्सीय रूप से माध्यमिक स्थितियों के लिए केवल एम आई सी के ब्रेकप्वाइंटस में संशोधन किया जाता है।

एंटीबायोटिक दवाइयों की सफलता विभिन्न पैरामीटरों पर निर्भर करती है। दवाइयों की सिफारिश करने वाले चिकित्सक और अस्पताल दोनों को उसके सूत्रण संबंधी जानकारी उपलब्ध होनी चाहिए, अस्पतालों में संक्रमण के तीव्र नियंत्रण से प्रतिरोध का विकास कम होगा। इसके लिए, इस मानक परिचालन विधि में प्रयोगशाला में प्रयुक्त एक सरल संक्षिप्त परिचालन विधि का वर्णन किया गया है।

ब्रिटेन में अज्ञात सुग्राह्यता के कंट्रोल वर्ग के सूक्ष्मजीवों का परीक्षण एक ही समय पर उसी प्लेट पर रूपांतरित स्टोक विधि द्वारा किया जाता है। परीक्षण की व्याख्या संदमन क्षेत्र के आकार की तुलना पर निर्भर करती है। ब्रिटेन से प्राप्त आंकड़ों का विश्लेषण करने पर पता चला कि प्रमुख त्रुटियां सामान्य रूप से पाई जाती हैं उनमें विशेषतया भ्रामक सुग्राह्यता को दर्ज करना और कंट्रोल वर्ग के सूक्ष्मजीवों का प्रयोग नहीं करना सम्मिलित हैं। संयुक्त राज्य अमरीका में रूपांतरित किरबी-बाएर विधि प्रयोग की जाती है जिसमें कंट्रोल वर्ग का प्रयोग एक अलग प्लेट में किया जाता है। सी एल एस आई और विश्व स्वास्थ्य संगठन द्वारा इस विधि की सिफारिश की गई है।

भारत में अलग-अलग प्रयोगशालाओं में भिन्न विधियां प्रयोग की जाती हैं। अधिकांश प्रयोगशालाओं में किरबी-बाएर विधि प्रयोग की जाती है परन्तु अधिकांशतः जिले की छोटी प्रयोगशालाओं और मेडिकल कालेजों मे अभी भी इसके गुणवत्ता नियंत्रण और कार्यान्वयन की आवश्यकता है।

सूक्ष्मजीवीरोधी सुग्राह्यता परीक्षण का सिद्धान्त

किसी जीवाणु के प्रति किसी हानिकर कारक की प्रभावकारिता के निर्धारण के सिद्धान्तों की गणना रीडियल, वाकर और अन्य शोधकर्ताओं द्वारा की गई थी। एंटीबायोटिक दवाइयों की खोज से ये परीक्षण विधियां (अथवा उनकी रूपांतरित विधियां) काफी बोझिल हो गईं। विभिन्न प्रकार की सूक्ष्मजीवीरोधी दवाइयों की उपलब्धता के साथ नियमित रूप से सुग्राह्यता परीक्षण करना आवश्यक हो गया है। इसके लिए किसी रिज़र्व्यायर में मौजूद सक्ष्मजीवी रोधी को मीडियम में विसरित किया गया और एक प्लेट में मौज़ूद परीक्षण किए जाने वाले सूक्ष्मजीवीरोधी से पारस्परिक क्रिया कराई गई। आज भी, विभिन्न प्रकार के सूक्ष्मजीवीरोधी दवाइयों युक्त रिजर्व्यायर का प्रयोग किया जाता है, परन्तु प्रयुक्त सूक्ष्मजीवीरोधी युक्त एब्जार्वेंट पेपर डिस्क अधिकांशतः सामान्य प्रकार की होती है। सूक्ष्मजीवीरोधी सुग्राह्यता परीक्षण की डिस्क डिफ्यूज़न विधि सर्वाधिक व्यावहारिक विधि है और अभी भी अधिकांश प्रयोगशालाओं द्वारा यही विधि प्रयोग में लाई जा रही है। ऑटोमेटेड विधियां डिस्क डिफ्यूजन विधि को नैदानिक

प्रयोगशालाओं से निष्कासित कर सकती हैं परन्तु यह स्थिति इस देश में और यहां तक की उन्नत श्रेणी के देशों की छोटी प्रयोगशालाओं में संभव है फिर भी यह निश्चित तौर पर आगामी अनेक वर्षो तक सामान्य रूप से प्रयुक्त सूक्ष्मजीवविज्ञानी परीक्षण विधि होगी। अतः सूक्ष्मजीव विज्ञानियों के लिए इस परीक्षण के सिद्धान्तों को भली-भांति समझना और समय-समय पर नवीन जानकारी ग्रहण करना जरूरी है। सभी तकनीकों में अगर में सूक्ष्मजीवीरोधी कारक के विसरण अथवा अगर या ब्रोथ में एंटीबायोटिक के तनूकरण की प्रक्रिया अपनाई जाती है। यहां तक कि ऑटोमेटेड विधियां उपर्युक्त विधियों का रूपांतरित रूप हैं। प्रमुख सूक्ष्मजीवीरोधियों के लिए नियमित सुग्राह्यता परीक्षणों और दिशानिर्देशों का विवरण सारणी I एवं II में प्रदर्शित है।

सारणी I. सामान्य रूप से पाए जाने वाले रोगजनकों हेतु सूक्ष्मजीवीरोधी सुग्राह्यता परीक्षण अर्थात *एंटीमाइक्रोबियल ससेप्टिबिलिटी टेस्टिंग* हेतु दिशानिर्देश (सी एल एस आई, 2006)

सुग्राह्यता परीक्षण हेतु सूचित एंटीटिबायोटिक दवाइयां

स्टेफाइलोकॉक्कस जाति	ग्राम वर्ग अग्राही दण्डाणु	*स्ट्रेप्टोकॉक्कस (एंटिरोकॉक्कस, न्युमोकॉक्कस)*	*हीमोफिलस जाति*	*एन. गोनोरी*	*स्युडोमोनॉस*
पेनीसिलिन	एंपीसिलिन*	पेनीसिलिन	एंपीसिलिन	पेनीसिलिन	पाइपेरासिलिन*
ओक्सासिलिन*	पाइपेरासिलिन **	ओक्सासिलिन	एमॉक्सीसिलिन क्लैवुलैनिक एसिड	सेफाज़ोलिन	जेंटामाइसिन*
सिफैलोथिन	सिफैलोथिन*	एम्पीसिलिन/ एमॉक्सीसिलिन	सेफुरोक्ज़ाइम	सेफट्रिआक्ज़ोन	टोबरामाइसिन*
जेंटामाइसिन**	सेफोटैक्ज़ाइम**	सेफोटैक्ज़ाइम**	सेफोटैक्ज़ाइम**	क्लोरएम्फीनिकॉल	एमीकेसिन**
नेटिलमाइसिन	सेफ्टाज़िडीम	एरिथ्रोमाइसिन	टेट्रासाइक्लिन	सिप्रोफ्लॉक्सेसिन	सिप्रोफ्लॉक्सेसिन**
एमीकेसिन**	जेंटामाइसिन*	क्लोरएम्फीनिकॉल	एरिथ्रोमाइसिन		सेफ्टाज़िडीम**
क्लोरएम्फेनिकॉल*	नेटिलमाइसिन	टेट्रासाइक्लिन	क्लोरएम्फेनिकॉल		आइमीपीनीम***
टेट्रासाइक्लिन*	ऐमीकेसिन	वैंकोमाइसिन	सिप्रोफ्लॉक्सेसिन**		मीरोपीनीम***
एरिथ्रोमाइसिन*	क्लोरएम्फीनिकॉल*	टीकोप्लैनिन**			एर्टापीनीम ***
को-ट्राइमॉक्साज़ोल**	टेट्रासाइक्लिन*	लेवोफ्लॉक्सेसिन**			
क्लिंडामाइसिन**	को-ट्राइमॉक्साज़ोल*	आइमीपीनीम ***			
ओफ्लॉक्सेसिन	नैलीडिक्सिक एसिड*	मीरोपीनीम ***			
रिफैम्पिसिन	सिप्रोफ्लॉक्सेसिन **				
वैंकोमाइसिन	ओफ्लॉक्सेसिन***				
टीकोप्लैनिन	नाइट्रोफ्युरैंटोइन				
नाइट्रोफ्युरैंटोइन**	आइमीपीनीम***				
	मीरोपीनीम***				
	सल्फोनामाइड*				
	ट्राइमेथोप्रिम *				

*प्रथम पसन्द की औषधियां,** द्वितीय पसन्द की औषधियां,*** तृतीय पसन्द की औषधियां, उन अस्पतालों में प्रयुक्त जहां *स्यूडोमोनॉस* अथवा *एसिनेटोबैक्टर* की उपस्थिति की आशंका है। एट्रापीनीम का प्रयोग ESBLs के संक्रमण में प्रयोग किया जाता है।

फुटनोटः

- प्रथम पंक्ति की एंटीबायोटिक दवाइयां वे एंटीबायोटिक्स होती हैं जिन्हें चिकित्सक इलाज की शुरुआत करने के लिए पहले चयन करते हैं। जब रोगी प्रथम पंक्ति के प्रति अनुक्रिया नहीं प्रदर्शित करते तब द्वितीय पंक्ति अथवा तृतीय पंक्ति की एंटीबायोटिक दवाइयों का प्रयोग किया जाना चाहिए और किसी संक्रामक रोग की चिकित्सा के लिए सिफारिश की जानी चाहिए।

- केवल प्रथम पंक्ति की दवाई रिपोर्ट की जानी चाहिए। द्वितीय और तृतीय पंक्ति की औषधि के चयन की रिपोर्टिंग केवल पूछने पर अथवा प्रथम पंक्ति की औषधि के प्रतिरोधी होने की स्थिति में की जानी चाहिए।
- क्लोरएम्फेनिकॉल की रिपोर्टिंग केवल टाइफॉयड ज्वर *(साल्मोनेला टाइफी/पैराटाइफी)* और मति-कावरणशोथ जैसी केन्द्रीय तंत्रिका प्रणाली की संबद्धता की स्थिति में की जानी चाहिए।
- यदि पुराने वर्गों (जैसे एरिथ्रोमाइसिन) की औषधियां सुग्राही नहीं हैं तो सामान्यतया नवीन एंटीमाइक्रोबियल औषधियां (जैसे-एज़िथ्रोमाइसिन, स्पेक्टिनोमाइसिन) सुग्राही हैं।

1. कोगुलेज़ निगेटिव स्टेफाइलोकॉक्कस (CONS)
2. वैंकोमाइसिन प्रतिरोधी एंटेरोकॉक्सी (VRE)

सारणी II. जीवाणु के लिए सामान्य रूप से प्रयुक्त वर्गों के सूक्ष्मजीवीरोधियों के प्रति सुग्राह्यता की रिपोर्टिंग

परीक्षण/रिपोर्ट वर्ग	सूक्ष्मजीवीरोधी कारक	डिस्क में मात्रा (cone/ml)	जोन व्यास			एम आई सी ब्रेकप्वाइंट्स के समान μg/ml	
			R	I	S	R	S
पेनीसिलिंस							
A	एम्पीसिलिन	10μg	≤13	14-16	≥17	≥32	≤8
B	पाइपेरासिलिन	100μg	≤17	18-20	≥21	≥128	≤16
B	टाइकैरसिलिन	75μg	≤14	15-19	≥20	≥128	≤16
U	कार्बेनीसिलिन	100μg	≤19	20-22	≥23	≥64	≤16
βलैक्टम/βलैक्टामेज़ संदमक संयोजन							
B	एमॉक्सीसिलिन/ क्लैवुलेनिक एसिड	20/10μg	≤13	14-17	≥18	≥16/8	≤8/4
B	एम्पीसिलिन/ सलबैक्टम	10/10μg	≤11	12-14	≥15	≥32/16	≤8/4
B	पाइपेरासिलिन/ टाज़ोबैक्टम	100/10μg	≤17	18-20	≥21	≥128/4	≤16/4
B	टाइकैर्सीलिन/ क्लैवुलैनिक एसिड	75/10μg	≤14	15-19	≥20	≥128/2	≤16/2
सीफेम्स							
A	सीफ़ाजोलिन	30μg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
A	सिफैलोथिन	30μg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
B	सीफामैंडोल अथवा	30μg	≤14	15/17	≥18	≥32	≤8
B	सीफोनाइसिड अथवा	30μg	≤14	15/17	≥18	≥32	≤8
B	सेफुरोक्ज़ीम(मुखीय)अथवा	30μg	≤14	15/22	≥23	≥ 32	≤4
B	सेफुरोक्ज़ीम (आंत्रेतर)	30μg	≤14	15/17	≥18	≥32	≤8
B	सेफीपीन	30μg	≤14	15/17	≥18	≥32	≤16
B	सेफमेटाज़ोल	30μg	≤12	13-15	≥16	≥64	≤16
B	सेफोपेराज़ोन	75μg	≤15	16-20	≥21	≥64	≤16
B	सेफोटेटन	30μg	≤12	13-15	≥16	≥64	≤16
B	सेफॉक्सीसाइटिन	30μg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
B	सेफोटाक्ज़ीम or	30μg	≤14	15-22	≥23	≥64	≤8
B	सेफ्ट्रिओक्ज़ीम or	30μg	≤14	15-19	≥20	≥32	≤8
B	सेफ्ट्रियाक्ज़ोन	30μg	≤13	14-20	≥21	≥64	≤8
C	सेफ्टाज़िडीम	30μg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8

O	सेफाक्लोर	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
O	सेफपोडॉक्ज़ीम	10µg	≤17	18-20	≥21	≥32	≤
O	मोक्सालैक्टम	30µg	≤14	15-22	≥23	≥64	
कार्बापीनीम्स							
B	आइमीपीनीम or	10µg	≤13	14-15	≥16	≥16	≤4
B	मीरोपैनम	10µg	≤13	14-15	≥16	≥16	≤4
मोनोबैक्टम्स							
C	एज़ट्रिओनम	30µg	≤15	16-21	≥22	≥32	≤8
एमोनोग्लाइकोसाइड्स							
A	जेंटामाइसिन	10µg	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4
B	एमीकेसिन	30µg	≤14	15-16	≥17	≥32	≤16
C	केनामाइसिन	30µg	≤13	14-17	≥18	≥25	≤6
C	नेटिलमाइसिन	30µg	≤12	13-14	≥15	≥32	≤12
C	टोब्रामाइसिन	10µg	≤12	13-14	≥15	≥8	≤4
टेट्रासाइक्लिंस							
C	टेट्रासाइक्लिन	30µg	≤14	15-18	≥19	≥16	≤4
C	डॉक्सीसाइक्लिन	30µg	≤12	13-15	≥16	≥16	≤4
O	मीनोसाइक्लिन	30µg	≤14	15-18	≥19	≥16	≤4
क्विनोलोंस							
B	सिप्रोफ्लॉक्सेसिन	5µg	≤15	16-20	≥21	≥4	≤1
B	लेवोफ्लॉक्सेसिन	5µg	≤13	14-16	≥17	≥8	≤2
U	लोमफ्लॉक्सेसिन or	10µg	≤18	19-21	≥22	≥8	≤2
U	नॉरफ्लॉक्सेसिन or	10µg	≤12	13-16	≥17	≥16	≤4
U	ओफ्लॉक्सेसिन	5µg	≤12	13-15	≥16	≥8	≤2
O	नैलीडिक्सिक एसिड	30µg	≤13	14-18	≥19	≥32	≤8
अन्य							
B	ट्राईमेथोप्रिम/ सल्फामेथाक्ज़ोल	1.25/ 23.75µg	≤10	11-15	≥16	≥8/152	≤2/38
C	क्लोरएम्फीनिकॉल	30µg	≤12	13-17	≥18	≥32	≤8
U	नाइट्रोफ्यूराटोइन	300µg	≤14	15-16	≥17	≥128	≤32
U	ट्राईमेथोप्रिम	5µg	≤12	11/15	≥16	≥16	≤4

वर्ग A= प्राथमिक परीक्षण और रिपोर्ट; वर्ग B= चयनित रूप से प्राथमिक परीक्षण रिपोर्ट; वर्ग C= चयनित रूप से सम्पूरक रिपोर्ट; वर्ग U= केवल मूत्र हेतु सम्पूरण; वर्ग O= मांग करने पर

फुटनोट्स:

1. सुग्राही (S) का तात्पर्य है कि चिकित्सीय रूप से रोगी सामान्य मात्राओं में एंटीबायोटिक कारक के प्रति अनुक्रिया करेंगे, माध्यमिक (I) का तात्पर्य है कि रोगी अधिकतम मात्रा में अनुक्रिया कर सकते हैं और प्रतिरोधी (R) की स्थिति में रोगी परीक्षण में प्रयुक्त एंटीबायोटिक के प्रति अनुक्रिया नहीं करेगा, इसलिए परीक्षण की आवश्यकता है।
2. *साल्मोनेला* और *शिगेला* जातियों के आइसोलेट्स के लिए केवल एम्पीसिनल, क्विनोलोन और ट्राईमेथोप्रिम/सल्फामेथाक्साज़ोल का परीक्षण किया जाना चाहिए। इसके अतिरिक्त, *साल्मोनेला* जाति के आंत्रेतर आइसोलेट्स हेतु क्लोरएम्फेनिकॉल और तृतीय पीढ़ी के सिफैंलोस्पोरिन का परीक्षण किया जाना चाहिए।
3. ई एस बी एल उत्पन्न करने वाले उपभेद चिकित्सीय रूप से सभी सेफीम्स और एज़ट्रिओनैम के प्रति प्रतिरोधी हो सकते हैं।
4. *सालमोनेला* जाति और *शिगेला* जाति के लिए अमीनोग्लाइकोसाइड्स

अंतःपात्र स्थिति में सक्रिय हो सकते हैं परन्तु चिकित्सीय रूप से अप्रभावी होते हैं और उन्हें सुग्राही रूप में दर्ज नहीं किया जाना चाहिए।

5. टेट्रासाइक्लिन सभी प्रकार के टेट्रासाइक्लिस का प्रतिनिधित्व करता है और प्राप्त परिणाम डॉक्सीसिलिन और मीनोसाइक्लिन के लिए प्रयोग किए जा सकते हैं। हालांकि, कुछ जीव टेट्रासाइक्लिन की तुलना में मीनोसाइक्लिन और डॉक्सीसाइक्लिन के प्रति अधिक सुग्राही हो सकते हैं।
6. एंटेरोकॉक्कस फीकैलिस (ATCC29212 or 33186) का परीक्षण ट्राईमेथोप्रिम/सल्फामेथोक्साज़ोल डिस्क के साथ किया जा सकता है।

   संदमन जोन 20 mm होने अर्थात फाइन कॉलोनी रहित स्थिति से मूलन हिंटन अगर में थाइमीन और थाईमिडीन के प्रर्याप्त निम्न स्तरों का संकेत मिलता है।
7. समीपस्थ अथवा अन्य स्थानों की संदर्भ प्रयोगशाला से कंट्रोल उपभेदों को प्राप्त करने के लिए (सी आर आई, कसौली, भारत), एन सी टी सी (नेशनल कलेक्शन ऑफ टाइप कल्चर्स) कोलीनडेल, यू के अथवा ए टी सी सी (अमेरिकल टाइप कल्चर कलेक्शन) सी डी सी, अटलांटा, संयुक्त राज्य अमरीका से मांग की जा सकती है।

एंटेरोबैक्टीरिएसी और *स्यूडोमोनास*

इस कुल में ग्राम वर्ण अग्राही वे दण्डाणु आते हैं जो मानव और जन्तुओं के आंत्र पथों में सामान्य रूप से पाए जाते हैं। पर्यावरण में इनकी उपस्थिति सामान्यतया मलीय फ्लोरा के रूप में पाई जाती है। इस कुल के कुछ सदस्य मानवों और जंतुओं को रोगग्रस्त करते हैं और आम तौर पर *शिगेला, सालमोनेला, ई. कोलाई, एंटेरोबैक्टर, क्लेबसिएला,* आदि रोगजनकों के अन्तर्ग्रहण के माध्यम से संक्रमित करते हैं।

बीटा-लैक्टामेज़ेज़ का उत्पादन एंटरोबैक्टीरिएसी में सूक्ष्मजीवी रोधी प्रतिरोधी की अत्यन्त महत्वपूर्ण प्रक्रिया है। प्रतिरोध की अन्य प्रक्रियाओं में बाहरी कला प्रोटीनों में रूपान्तरण, जीवाणुरोधी क्रिया के लक्ष्य स्थलों मे परिवर्तन, और सक्रिय बहिर्वाह (जिसके परिणामस्वरूप एंटीबायोटिक दवाइयां जीवाणु कोशिका से बाहर आ जाती है) जैसी स्थितियां सम्मिलित हैं।

सूक्ष्मजीवीरोधी सुग्राह्यता परीक्षण की नियमित विधियां

सूक्ष्मजीवीरोधी सुग्राह्यता परीक्षण विधियां सिद्धान्तों के आधार पर निम्न वर्गों में विभाजित हैं

1. डिस्क डिफ्यूज़न

(i) किर्बी-बाएर विधि; (ii) स्टोक्स विधि

2. डाइल्यूशन (तनूकरण)

न्यूनतम संदमक मात्रा

(i) ब्रोथ डाइल्यूशन; (ii) अगर डाइल्यूशन

3. डिफ्यूज़न (विस्फारण) एवं डाइल्यूशन (तनूकरण)

ई परीक्षण विधि

डिस्क डिफ्यूज़न

इस विधि में विभिन्न मात्राओं में एंटीबायोटिक दवाइयों में भीगी डिस्क को परीक्षण किए जाने वाले जीवाणुओं युक्त प्लेट्स पर विसारित किया जाता है।

डिस्क डिफ्यूज़न परीक्षण हेतु अभिकर्मक

मुएलर-हिंटन अगर मीडियम

नॉन-फास्टीडियस जीवाणुओं की सुग्राह्यता की नियमित जांच हेतु उपलब्ध मीडिया में मुएलर हिंटन अगर को सर्वोत्तम माना जाता है। क्योंकिः-

- यह सुग्राह्यता परीक्षण हेतु स्वीकार्य रीमा तक बैच-टू बैच रिप्रोड्यूसिबिलिटी प्रदर्शित करता है।
- इसमें सल्फोनामाइड, ट्राइमेथोप्रिम, और टेट्रासाइक्लिन संदमकों की उपस्थिति कम होती है।
- इसमें अधिकांश नॉन-फास्टीडियस रोगजनों की संतोषजनक वृद्धि होती है।
- इस मीडियम के साथ संपन्न सुग्राह्यता परीक्षणों पर आधारित भारी संख्या में आंकड़े एकत्र किए गए हैं।

हालांकि, मुएलर-हिंटन मीडियम सुग्राह्यता परीक्षण हेतु सामान्यतया विश्वसनीय होता है परन्तु कुछ बैचों से मिले परिणाम कभी-कभी काफी भिन्न होते हैं। यदि किसी बैंच के मीडियम में परीक्षण किए जाने वाले जीव पर्याप्त वृद्धि नहीं करते तो डिस्क डिफ्यूज़न परीक्षण से प्राप्त ज़ोन सामान्यतया संभावना से बड़े होते हैं और वे स्वीकार्य क्वालिटी कंट्रोल सीमा से बड़े होते हो सकते हैं। केवल उन्हीं मुएलर-हिंटन मीडियम उत्पादों का प्रयोग किया जाना चाहिए जिनका परीक्षण सी एल एस आई (पूर्व एन सी सी एल एस) डॉक्यूमेंट एम-62-ए-7 प्रोटोकॉल्स के अनुसार किया गया हो। भारत के बाज़ारों में मुएलर-हिंटन अगर उपलब्ध है और परीक्षण के लिए उत्तम हैं।

एंटीबायोटिक स्टॉक घोल

एंटीबायोटिक दवाइयां टैबलेट (गोलियों) अथवा पाउडर के रूप में उपलब्ध हो सकती हैं इसका प्रयोग इंजेक्शन द्वारा प्रयुक्त घोलों के रूप में नहीं किया जाना चाहिए और व्यापारिक स्रोतों से प्राप्त शुद्ध एंटीबायोटिक दवाइयों को प्रयोग में लाना चाहिए।

पाउडर रूप में होने की स्थिति में उसकी सही-सही माप की जानी चाहिए और उपयुक्त तनूकारक घोल में मिलाया जाना चाहिए जिससे आवश्यक मात्रा में उसकी उपलब्धता हो सके। प्रयुक्त कांच के बर्तन विसंक्रमित होने चाहिए। एंटीबायोटिक स्टॉक घोल का मूल्यांकन करने के लिए मानक उपभेदों के स्टॉक संवर्धों का प्रयोग किया जाना चाहिए।

शुष्कीकृत फिल्टर पेपर डिस्क तैयार करना

लगभग 6 मि.मी. व्यास की डिस्क को तैयार करने के लिए ह्वाटमैन फिल्टर पेपर नं.1 का प्रयोग किया जाता है, जिसे पेट्री डिश में रखकर एक हॉट एयर ओवेन में विसंक्रमित किया जाता है। भारत में बाज़ार में रेडीमेड डिस्क की उपलब्धता है।

संरोप (इनॉकुलम) की तैयारी हेतु आविलता (टर्बीडिटी) मानक

किसी सुग्राह्यता परीक्षण के लिए संरोप की सघनता को मानकीकृत करने के लिए एक $BaSO_4$ टर्बीडिटी मानक अथवा इसके ऑप्टिकल समतुल्य (उदाहरण के तौर पर लैटेक्स पार्टिकिल सस्पेंशन) का प्रयोग किया जाना चाहिए।

विधि

आमतौर पर सूक्ष्मजीवीरोधी (एंटीमाइक्रोबियल) सुग्राह्यता परीक्षण के लिए किर्बी-बॉएर और स्टोक्स विधियां प्रयोग की जाती हैं। इन परीक्षणों की शुद्धता और रिप्रोड्यूसिबिलिटी मानक विधियों की उपस्थिति पर निर्भर करती है जिसका विवरण यहां है। सी एल एस आई के व्याख्यात्मक मानक एम आई सी अध्ययनों के साथ संबद्ध अंतर्राष्ट्रीय सहयोगी अध्ययनों के आधार पर विकसित किए जाते हैं और प्राप्त परिणाम चिकित्सीय आंकड़ों का समर्थन करते हैं। अध्ययन से मिले परिणामों के आधार पर सी एल एस आई के व्याख्यात्मक मानकों को समय-समय (वर्ष 2000,2004 और 2006 में) पर संशोधित किया जाता रहा है।

संरोप की तैयारी

वृद्धि विधि का नियमित प्रयोग नहीं किया जाता है।

डाइरेक्ट कॉलोनी सस्पेंशन विधि

वृद्धि विधि के एक सुगम विकल्प के रूप में, 18 से 24 घंटे की अवधि की एक अगर प्लेट से चयनित पृथक्कृत कॉलोनी का एक डाइरेक्ट ब्रोथ अथवा सेलाइन सस्पेंशन तैयार करके इनॉकुलम को तैयार किया जाता है। सेलाइन और एक वोर्टेक्स मिक्सर की सहायता से इस सस्पेंशन को 0.5 मैक्फारलैण्ड टर्बीडिटी मानकों के अनुरूप व्यवस्थित किया जाता है। फास्टीडियस जीवों, *हीमोफिलस* स्पीसीज़, *नीसेरिया गोनोरी* और स्ट्रेप्टोकॉक्सी के परीक्षण तथा संभावित मेथीसिलिन अथवा ओक्सासिलिन के प्रति प्रतिरोध को ज्ञात करने के लिए स्टेफाइलोकॉक्सी के परीक्षण के लिए भी इस विधि की सिफारिश की जाती है।

परीक्षण प्लेटों का संरोपण

एक विसंक्रमित कॉटन स्वैब को समायोजित सस्पेंशन में डुबोया जाता है, कई बार घुमाया जाता है और तरल के स्तर के ऊपर ट्यूब की भीतरी दीवार पर मजबूती से दबाया जाता है। इससे स्वैब में आवश्यकता से अधिक इनॉकुलम बाहर निकल जाता है। मुएलर -हिंटन अगर प्लेट की एक सूखी सतह पर स्वैब को निचोड़ कर संरोपण किया जाता है।

संरोपित अगर प्लेट्स पर डिस्क का प्रयोग

पूर्वनिर्धारित सूक्ष्मजीवीरोधी डिस्क को संरोपित (इनॉकुलेटेड)अगर प्लेट्स पर रखा जाता है। प्लेट्स को पलट कर 15 मिनट के भीतर 35^0 सेल्सियस तापमान पर इंक्यूबेटर में रख दिया जाता है। *हीमोफिलस* जाति, *स्ट्रेप्टोकॉक्सी* और *नीसेरिया गोनेरी* के आलावा प्लेट्स को CO_2 के बढ़े हुए स्तर पर इंक्यूबेट नहीं किया जाना चाहिए, क्योंकि व्याख्यात्मक मानक आस-पास की वायु के इंक्यूबेशन का प्रयोग करके विकसित किए गए थे, और CO_2 के कारण कुछ कारकों के संदमक जोन्स के आकार काफी परिवर्तित हो जाते हैं।

गुणवत्ता नियंत्रण उपभेद

ई.कोलाई ATCC25922, *ई. कोलाई* ATCC 35218 (लैक्टम/लैक्टोमेज़ संदमक संयोजनों के लिए), *स्टेफाइलोकॉक्कस आरियस* ATCC 27853.

रीडिंग और परिणामों की व्याख्या

- डिस्क के व्यास सहित संपूर्ण संदमन के जोंस की माप की जाती है। यदि जीव *स्टेफाइलोकॉक्कस* अथवा *एंटेरोकॉक्कस* जाति है तो वैंकोमाइसिन और ओक्सासिलिन के लिए 24 घंटे की इंक्यूबेशन अवधि की आवश्यकता होती है।, परन्तु अन्य कारकों की उपस्थिति 16 से 18 घंटे के बीच ज्ञात की जा सकती है। संदमन जोन के भीतर किसी भी प्रकार की वृद्धि होने से मेथीसिलिन अथवा वैंकोमाइसिन के प्रति प्रतिरोध शक्ति के विकसित होने का संकेत मिलता है।

- स्ट्रेप्टोकॉक्कसी की जांच हेतु रक्त युक्त मीडियम का प्रयोग करने की स्थिति में वृद्धि संदमन ज़ोन की माप की जानी चाहिए, हीमोलाइसिस के संदमन के जोन की नहीं। ट्राइमेथोप्रिम और सल्फोनामाइड्स के प्रयोग के साथ मीडियम में उपस्थित एंटागोनिस्ट कुछ थोड़ी वृद्धि करने देते हैं।
- संदमन जोंस (क्षेत्र) के आकार की व्याख्या सारणी IV के अनुरूप एस (S), आई (I) आर (R) के रूप में की जाती है।

डाइल्यूशन विधियां

न्यूनतम संदमक मात्रा (एम आई सी)

इस विधि में एंटीबायोटिक्स को तरल मीडिया में 1:1, 1:10, 1:100 के विभिन्न अनुपातों में तनूकृत किया जाता है,और यह ज्ञात करने के लिए जीवाणुओं को मिलाया जाता है कि कितनी मात्रा में वे मृत होते हैं अथवा उनकी वृद्धि संदमित होती है। वह मात्रा न्यूनतक संदमक मात्रा अर्थात एम आई सी के नाम जानी जाती है। इसके लिए सूक्ष्मजीवीरोधी (एंटीमाइक्रोबियल्स) को अगर अथवा ब्रोथ मीडिया में तनूकृत किया जाता है। एंटीमाइक्रोबियल्स का $\log_2$ क्रमिक डाइल्यूशन (दो बार) में परीक्षण किया जाता है। आशंका होने की स्थिति में संबद्ध जीव (जैसे कि जीवाणुज एण्डोकार्डाइटिस) के प्रति एंटीबायोटिक की एम आई सी को ज्ञात करना सही-सही मूल्यांकन होगा। हालांकि, ब्रोथ डाइल्यूशन विधि बहुत कम संख्या में आइसोलेट्, यहां तक कि केवल एक आइसोलेटस, में एम आई सी के परीक्षण करने की एक सरल विधि है। यह विधि एक और तरह से उपयोगी है कि उन्हीं ट्यूब्स का प्रयोग न्यूनतम् जीवाणुनाशी मात्रा (एम बी सी) ज्ञात करने में किया जा सकता है।

रीडिंग और परिणामों की व्याख्या

एम आई सी की प्रस्तुति निम्नतम् डाइल्यूशन के रूप में होती है जिससे वृद्धि संदमित होती है, इसे ट्यूब में टर्बीडिटी नहीं होने से देखा गया। इस परीक्षण के साथ प्रयुक्त ज्ञात एम आई सी मान के मानक उपभेद को कंट्रोल के रूप में प्रयोग किया गया।

न्यूनतम जीवाणुनाशक मात्रा (एम बी सी)

उपर्युक्त वर्णन के अनुसार एम आई सी ट्यूब्स को ठोस मीडिया में उपसंवर्धन किया जाता है। जिससे जीवाणुज प्रभाव की पुष्टि की जा सके। एम आई सी के निर्धारण में प्रयुक्त ब्रोथ डाइल्यूशन विधि का मुख्य लाभ यह है क इसे न्यूनतम जीवाणुनाशक मात्रा को ज्ञात करने हेतु तुरंत परिवर्तित किया जा सकता है। एम बी सी का निर्धारण करने में जिन ट्यूब्स में वृद्धि दिखाई नहीं देती उनका उपसंवर्धन किया जाना चाहिए और इंक्यूबेशन से पहले वृद्धि की मात्रा कंट्रोल वर्ग से की जानी चाहिए।

रीडिंग और परिणामों की व्याख्या

इन उपसंवर्धों में अधिकतम् डाइल्यूशन दिखाई दे सकता है जिससे कम से कम 99 प्रतिशत संदमन एम बी सी के रूप में प्रदर्शित होता है।

डिफ्यूज़न और डाइल्यूशन पट्टियां

ई-परीक्षण विधिः इस परीक्षण में डिरक डिफ्यूजन और डाइल्यूशन दोनों विधियों के सिद्धान्त का प्रयोग किया जाता है जिसके अन्तर्गत सीरियल/डबलिंग (एम आई सी) में एक विशिष्ट मात्रा में एंटीबायोटिक ब्लॉटिंग पेपर की पट्टियों पर भिगोया जाता है। इन पट्टियों को ई-परीक्षण पट्टियों (ई-टेस्ट स्ट्रिप्स) के नाम से जाना जाता है। ई एस बी एल की पहचान करने के लिए इस समय ई-परीक्षण पट्टियां (ए बी बायोडिस्क, स्वीडेन) बाज़ार में उपलब्ध हैं। मूलर-हिंटन अगर प्लेट पर जीवाणुओं के मानक इनॉकुलम्स के साथ संरोपण के पश्चात् उस पर ई-परीक्षण की पट्टियां रखी जाती हैं। रात भर इंक्यूबेशन के पश्चात एम आई सी की एकदम सही रीडिंग ली जा सकती है।

एक्सटेंडेड स्पेक्ट्रम β-लैक्टामेज़ेज (ESBLs), AmpC-β-लैक्टामेज़ेज (सिफैलोस्पोरीनेज़ज), कार्बापीनिम हाइड्रोलाइज़िंग β-लैक्टामेज़ेज (MBL) की व्यापकता

ग्राम निगेटिव बैक्टीरिया (ग्राम वर्ण अग्राही जीवाणु) में प्रतिरोध के लिए प्रत्येक दिन नवीन बीटा-लैक्टामेज़ेज़ की पहचान की जाती है। सूक्ष्मजीवीरोधियों के व्यापक प्रयोग के परिणामस्वरूप ई एस बी एल, क्लास सी सिफैलोस्पोरीनेज़ेज (AmpC-β-लैक्टामेज़ेज), सेफामाइसिन और कार्बापीनीम हाइड्रोलाइजिंग, β-लेक्टामेज़ेज, क्लास बी कार्बापीनीमेज़ेज (कार्बापीनीम्स हाइड्रोलाइज़िंग β-लैक्टामेज़ेज(एम बी एल, मिटैलो -β- लैक्टामेज़ेज) उत्पादकों के कारण प्रतिरोध शक्ति का विकास हुआ है।

ई एस बी एल उत्पन्न करने वाले उपभेद सभी सेफीम्स और एज़ट्रिओनेम के प्रति प्रतिरोधी हैं। यदि कोई उपभेद सेफोटैक्सीम अथवा सेफ्टाज़िडीम के प्रति प्रतिरोधी है और क्लेवुलैनिक एसिड की उपस्थिति मे सुग्राही हो जाता है तो उसमें ई एस बी एल की संभावित उपस्थिति होती है।

जिन जीवों (मुख्यतया ग्राम वर्ण अग्राही जीवाणु) में सिफैलोस्पीरीनेज़ेज (AmpC -β- लैक्टामेज़ेज) की अत्यधिक अभिव्यक्ति होती है वे सामान्यतया सेफपीम, सेफपाइरोम और कार्बापेनीम्स औ-ाधियों को छोड़कर सभी बीटा-लैक्टम औषधियों के प्रति प्रतिरोधी होते हैं। उनका क्लैवुलानेट द्वारा संदमन नहीं होता।

एम बी एल को गुणसूत्र की मध्यस्थता (*बैसिलस सेरियस*) में अथवा स्थनांतरणशील जीनों (*स्यूडोमोनास एरूजिनोसा*) द्वारा कूटबद्ध स्थिति में विभाजित किया जा सकता है। वे मोनोबैक्टम्स के अलावा सभी-लैक्टम्स के प्रति प्रतिरोधी होते हैं और क्लैवुलेनिक एसिड द्वारा संदमित नहीं होते। एम बी एल जींस का विस्तार *स्यूडोमोनास एरूजिनोसा* से लेकर एंटिरोबैक्टीरिएसी तक होता है और समस्यात्मक होते हैं, इसलिए उनकी पहचान किसी चिकित्सीय प्रयोगशाला में की जानी चाहिए।

एक्सटेंडेड स्पेक्ट्रम β-लैक्टामेज़ेज (ई एस बी एल) की पहचान विधियां

ई एस बी एल की पहचान करने के लिए मुख्यतया सिफैलोस्पोरिन का प्रयोग एक संकेतक के रूप में किया जाता है जिससे संभावित उत्पादकों की जांच की जा सके, उसके पश्चात् उनकी पुष्टि के लिए परीक्षण किए जाने चाहिए।

फीनोटिपिक परीक्षणः किसी नैदानिक प्रयोगशाला में प्रयुक्त परीक्षणों में फीनोटिपिक विधियां सर्वाधिक प्रयोग की जाती हैं। फीनोटिपिक विधियों में जांच विधियां और पुष्टिकारक विधियां सम्मिलित हैं। **जांच विधियों** में पांच संकेतकों में सिफैलोस्पोरिंस के लिए एक से अधिक संकेतक का प्रयोग किया जा सकता है। इससे पहचान की सुग्राह्यता बेहतर हो जाएगी। एक परीक्षण करने की स्थिति में सेफ्टाज़िडीम अथवा सेफपोडोक्ज़ीम के प्रयोग सर्वोत्तम होंगे। इन विधियों में दोनों विधियां यथा-डिस्क डिफ्यूज़न (डबल डिस्क सिनर्जी परीक्षण, अर्थात डी डी एस टी और डबल डिस्क डिफ्यूज़न परीक्षण अर्थात डी डी एस टी) और ब्रोथ डाइल्यूशन विधियां सम्मिलित हैं। संभावित ई एस बी एल उत्पादकों की जांच करने के लिए संदमन के निम्नलिखित क्षेत्रों का प्रयोग करते हुए डी डी एस टी के परिणामों की व्याख्या की जाती है-

सेफ्टाज़िडीम (30μg) ≤ 22mm

सेफोटैक्ज़ीम (30μg) ≤ 22mm

सेफ्ट्रियाक्ज़ोन (30μg) ≤ 22mm

सेफपोडाक्ज़ीम (10μg) ≤ 17mm

डबल डिस्क प्रबलीकरण/एप्रॉक्सिमेशन डिफ्यूजन विधि में क्लैवुलैनिक एसिड (10 μg) की उपस्थिति अथवा अनुपस्थिति में सिफैलोस्पोरिंस डिस्क (जैसे सेफ्टाज़िडीम 30 μg) और सेफोटैक्ज़ीम (30 μg) एंटीबायोटिक डिस्क का प्रयोग करते हुए एक ई एस बी एल उत्पादक के रूप में उपभेदों की पुष्टि की गई। इन परिणामों को डिस्क डिफ्यूज़न द्वारा डिस्क के चारों ओर ज़ोन व्यास में 5 मि.मी. से अधिक वृद्धि द्वारा प्रदर्शित किया गया है। *के. न्युमोनियाई* ए टी सी सी 700603 और *ई. कोलाई* ए टी सी सी 25922 का प्रयोग क्रमशः एक धनात्मक कंट्रोल (ई एस बी एल उत्पादक) और ऋणात्मक कंट्रोल (ई एस बी एल गैर-उत्पादक) के रूप में किया जाता है।

ब्रोथ माइक्रो डाइल्यूशन परीक्षणः यह ई एस बी एल के लिए एक पुष्टिकारक परीक्षण है। इसे ब्रोथ माइक्रो डाइल्यूशन आमापनों की सहायता से किया जाता है जिसमें सेफ्टाज़िडीम (0.25 से 128 μg / मि.ली.) और सेफ्टोटैक्ज़िम + लैवुलैनिक एसिड (0.25/4 से 64/4 μg/मि.ली.) जैसे एंटीबायोटिक्स के दोहरे तनूकरण का प्रयोग किया जाता है। ब्रोथ माइक्रो डाइल्यूशन परीक्षण मानक विधियों की सहायता से किए जाते हैं। इन परीक्षणों से Amp C (β-**लैक्टामेज़ेज (β-लैक्टामेज़ेज संदमकों** द्वारा संदमन रहित) और ई एस बी एल के बीच अन्तर भी स्थापित किया जाता है।

ई एस बी एल की पहचान हेतु अन्य विधियां: इनमें से अधिकांश विधियां निजी क्षेत्रों में उपलब्ध हैं जो महंगी हैं और नियमित अस्पताल की प्रयोगशालाओं में उपलब्ध नहीं होतीं।

ई परीक्षणः क्लैवुलैनिक एसिड की उपस्थिति में सेफ्टाज़िडीम के एम आई सी में किसी ई एस बी एल हेतु 3 डाइल्यूशन रिडक्शन एक धनात्मक परीक्षण होता है।

वीटेक ई एस बी एल कार्ड्सः इस परीक्षण में क्लैवुलैनिक एसिड की उपस्थिति अथवा अनुपस्थिति में सेफोटैक्ज़िम और सेफ्टाज़िडीम के कार्ड्स का उपयोग किया जाता है। कार्डों का संरोपण (इनॉकुलेशन) उसके समान ही होता है जैसा कि नियमित वीटेक कार्ड्स के लिए किया जाता है। एक बार वृद्धि नियंत्रक वेल की स्थिति (ग्रोथ कंट्रोल वेल) अपनी अधिकतम सीमा तक पहुंच जाए तो सभी वेल्स का विश्लेषण स्वतः हो जाता है (सामान्यतया संरोपण के 4 से 15 घंटों के पश्चात)। केवल सिफैलोस्पोरिन युक्त वेल में वृद्धि की तुलना में क्लैवुलैनिक एसिड युक्त सेफ्टाक्ज़ीम अथवा सेफ्टाज़िडीम की वृद्धि में पूर्वनिर्धारित गिरावट आने से एक धनात्मक परिणाम का संकेत मिलता है।

ऑटोमेटेड सूक्ष्मजीवविज्ञान प्रणाली: फीनिक्स ई एस बी एल परीक्षण में क्लैवुलैनिक एसिड की उपस्थिति अथवा अनुपस्थिति में सेफोपोडोक्ज़ीम, सेफ्टाज़िडीम, सेफ्ट्रियाक्ज़ीम और सेफोटैक्ज़ीम के प्रति वृद्धि की होने वाली अनुक्रिया को ज्ञात किया जाता है जिससे ई एस बी एल्स के उत्पादन का पता लगाया जा सके।

ई एस बी एल की पहचान की आण्विक विधियां

इन विधियों की न तो सदैव ज़रूरत होती है और न ही आम तौर पर नियमित चिकित्सीय प्रयोगशाला ये संभाव्य हैं। ई एस बी एल उपभेद की विशेषता व्यक्तप्ररूपी (जीनोटिपिक) तरीके से की जानी चाहिए जिससे किसी प्रकोप की स्थिति में टी ई एम, एस एच वी, ओ एक्स ए, सी टी एक्स -एम, आदि जैसे विभिन्न प्रकार के ई एल बी एस की उपस्थिति को ज्ञात किया जा सके। इससे संक्रमण के स्रोत अथवा किसी भी जानपदिक रोगविज्ञानी स्वरूप को ज्ञात किया जा सकता है। ये किसी प्रकोप की स्थिति में इंडेक्स रोगियों की पहचान करने और समुदाय में उनके प्रसार को ज्ञात करने में सहायक होते हैं।

आण्विक विधियों में जीवाणुज आइसोलेट्स के जीनोम्स में विभिन्नता का आकलन किया जाता है, जैसे कि प्लाज्मिड्स की उपस्थिति अथवा अनुपस्थिति, रिस्ट्रिक्शन एण्डोन्युक्लिएज़, आवर्ती तत्वों की संख्या और उनकी स्थितियां, एक अथवा अधिक जीनों की स्थिति अथवा जीन के पारस्परिक क्षेत्र । उपभेदों की पारस्परिक संबद्धता की माप करने के लिए विभिन्नता के स्वरूप के साथ आण्विक घटनाओं (उनका अर्जन, गुणन, उत्परिवर्तन, डिलीशनल, प्रवेशन) के मूल आण्विक विश्लेषण को वरीयता दी जाती है।

डी एन ए प्रोब्स: टी ई एम और एस एच वी एंज़ाइमों के लिए विशिष्ट डी एन ए प्रोब्स का प्रयोग करते हुए β-लैक्टामेज़ेज जीनों की प्रारंभिक अवस्था में पहचान की गई।

पॉलीमिरेज़ चेन रिएक्शन (पी सी आर): ऑलिगोन्युक्लियोटाइड प्राइमर्स सहित पी सी आर विधि किसी β-लैक्टामेज़ेज जीन के लिए विशिष्ट होती है। यह एक समुदाय के एंज़ाइमों के अन्तर्गत किसी β-लैक्टामेज़ेज की उपस्थिति को ज्ञात करने में प्रयुक्त सबसे सरल और सामान्य आण्विक विधि है। हालांकि, पी सी आर विधि द्वारा टी ई एम अथवा एस एच वी के विभिन्न परिवर्तों में अन्तर स्पष्ट नहीं किया जा सकता।

ऑलिगोटाइपिंग: ऑलिगोटाइपिंग विधि का प्रयोग टी ई एम 1 और टी ई एम 2 के बीच अंतर स्पष्ट करने तथा ई एम बी एल्स से प्राप्त विशिष्ट टी ई एम अथवा एस एच वी की उपस्थिति अथवा अनुपस्थिति को ज्ञात करने के लिए किया गया।

पी सी आर-एस एस सी पी और पी सी आर-आर एफ एल पी: पी सी आर-आर एफ एल पी (पी सी आर-रिस्ट्रिक्शन फ्रैगमेंट लेथ पॉलीमॉर्फिज्म) विधि और पी सी आर-एस एस सी पी (पी सी आर- सिंगल स्ट्रैण्ड कनफॉर्मेशन पॉलीमॉर्फिज्म) विधि को एक साथ प्रयोग करने के परिणामस्वरूप एस एच वी के नवीन परिवर्तों की पहचान होती है।

लाइगेज़ चेन रिएक्शन (एल सी आर): एल सी आर विधि द्वारा ऐसे डी एन ए अनुक्रमों में अंतर स्पष्ट किया जा सकता है जो सिंगल बेस पेयर द्वारा भिन्न पाए जाते हैं।

न्युक्लियोटाइड अनुक्रम निर्धारण: न्युक्लियोटाइड अनुक्रमनिर्धारण विधि किसी उपभेद में उपस्थित विशिट β-लैक्टामेज़ेज जीन के निर्धारण के लिए अभी तक मानक विधि बनी हुई है। हालांकि, प्रयुक्त विधि के आधार पर इससे भी परिवर्त परिणाम प्राप्त हो सकते हैं।

AmpC β-लैक्टामेज़ेज की पहचान विधि: इसे रूपांतरित डबल डिस्क एप्रॉक्सिमेशन विधि और स्पॉट इनॉकुलेशन विधि द्वारा किसी चिकित्सीय प्रयोगशाला में किया जा सकता है। सेफॉक्ज़ीटिन (FOX) के प्रति सुग्राह्यता का प्रयोग सामान्यतया AmpC बीटा-लैक्टामेज़ के उत्पादन के किए किया जाता है। सेफोटॉक्ज़ीम अथवा सेफ्टाज़िडीम और सेफोक्ज़ीटिन के बीच संदमन के अस्पष्ट क्षेत्र होने अथवा सेफ्टाज़िडीम अथवा से फोटॉक्ज़ीम और सेफॉक्सीटिन के प्रति सुग्राह्यता में गिरावट आने से AmpC β-लैक्टामेज़ेज के उत्पादन का संकेत मिलता है।

कार्बापेनीम के प्रति प्रतिरोध की पहचान विधि

कार्बापेनीम के प्रति प्रतिरोध की पहचान आइमीपेनीम/मेरोपेनीम का प्रयोग करते हुए डिस्क डिफ्यूज़न विधि द्वारा की जा सकती है और R (प्रतिरोध) के लिए संदमन क्षेत्र <13 मि.मी.,I (आई) के लिए 14-15 मि.मी. तथा S≥ सुग्राह्यता) के लिए ≥16 मि.मी. है (सारणी II)।

मेटैलो- β-लैक्टामेज़ेज की पहचान विधियां

मेटैलो-β-लैक्टामेज़ेज की पहचान के लिए आइमीपेनीम (*स्यूडोमोनास एरुजिनोसा* में ज्ञात एम आई सी >16 μg/मि.मी. तथा *एसिनेटोबैक्टर* जाति के लिए एम आई सी >1 μg/मि.ली. उपयुक्त है), सेफ्टाज़िडीम और मेरोपेनीम जैसे अनेक कार्यद्रव्यों का प्रयोग किया जाना चाहिए, इसके साथ एक से अधिक

संदमक (ई डी टी ए और मर्कैप्टोप्रोपिओनिक एसिड) का प्रयोग किया जा सकता है। बाज़ार में ई-टेस्ट एम बी एल स्ट्रिप्स (ई डी टी ए (320μg/मि.ली.) की निश्चित मात्रा के संयोजन में आइमीपेनीम (1-256μg/मि.ली.) उपलब्ध है जो किसी नियमित प्रयोगशाला द्वारा प्रयोग करने में आसान है।

स्टेफाइलोकॉक्सी

स्टैफाइलोकॉक्कस ऑरियस और कॉगुलेज़ ऋणात्मक *स्टेफाइलोकॉक्कस (सी ओ एन एस) अस्पताल* और समुदाय परिवेश में उत्पन्न होने वाले संक्रमण के लिए महत्वपूर्ण कारण हैं। वर्तमान में, *एस. ऑरियस* के अधिकांश उपभेद β-लैक्टामेज़ेज के उत्पादक और पेनिसिलिन एवं एंपीसिलिन के प्रति प्रतिरोधी हैं। हालांकि, ये उपभेद मेथीसिलिन अथवा ऑक्ज़ासिलिन और नैफसिलिन जैसी बीटा-लैक्टम एंटीबायोटिक दवाइयों के प्रति प्रतिरोधी हैं। अस्पताल में उत्पन्न संक्रमण में मेथीसिलिन के प्रति प्रतिरोध उत्पन्न होने के पीछे सभी बीटा-लैक्टम एंटीबायोटिक दवाइयों के प्रति प्रतिरोध का हाथ होता है, और समुदाय द्वारा अर्जित *स्टेफाइलोकॉक्कस ऑरियस* में सिफैलोरस्पोरिंस के प्रति प्रतिरोध के पीछे *β*-लैक्टामेज़ेज के प्रति प्रतिरोध को छोड़कर उसे बहु औषध प्रतिरोधी पाया जाता है। मैक्रोलाइड्स और वैंकोमाइसिन जैसी अन्य एंटीबायोटिक दवाइयों के प्रति भी प्रतिरोध शक्ति की जानकारी प्राप्त है। परीक्षण विधि वही है जैसा कि पहले एंटिरोबैक्टीरिएसी की स्थिति में वर्णन किया गया था। प्रयोग में कंट्रोल के लिए *स्टेफाइलोकॉक्कस ऑरियस* ATCC 259 22 का प्रयोग किया जाता है।

मेथीसिलिन-प्रतिरोधी *स्टेफाइलोकॉक्कस ऑरियस (एम आर एस ए)*

मेथीसिलिन-प्रतिरोधी *स्टेफाइलोकॉक्कस ऑरियस* (एम आर एस ए) को सभी प्रकार के पेनीसिलीनेज़-स्थाई पेनिसिलिंस के प्रति प्रतिरोधी होने का दर्जा दिया गया है। यही कारण है कि इलाज में मेथीसिलिन के प्रयोग को वरीयता नहीं प्राप्त होने के बावज़ूद, एम आर एस ए, शब्द का सामान्य रूप से प्रयोग जारी है। हालांकि, मेथीसिलिन के स्थान पर ओक्ज़ासिलिन का प्रयोग किया जा रहा है।

एम आर एस ए उपभेदों की पहचान करने के लिए नियमित रूप से प्रयुक्त सुग्राह्यता परीक्षण विधियों के अलावा, निम्नलिखित परिवर्तनों की आवश्यकता है- जैसे कि अतःपात्र विधि से संपन्न परीक्षण स्थिति में रूपांतरण जिससे ओक्ज़ासिलिन प्रतिरोध की अभिव्यक्ति में वृद्धि हो सके, इसे 35^0 सेल्सियस से कम तापमान पर परीक्षणों के ऊष्मायन पर डाइरेक्ट इनॉकुलम सस्पेंशन विधि का प्रयोग करके इनॉकुला को तैयार करके, 24 घंटे का ऊमायन पूर्ण होने के पश्चात अंतिम परीक्षण रीडिंग को ज्ञात करके, संचारित प्रकाश का प्रयोग करते हुए परीक्षण प्लेटों की जांच करके (किसी अन्य प्रकार की वृद्धि को महत्वपूर्ण मानना चाहिए) और मीडियम में 5 प्रतिशत सोडियम क्लोराइड को सम्मिलित करके प्राप्त किया जा सकता है।

प्रयोगशाला में मेथीसिलिन प्रतिरोधी *स्टेफाइलोकॉक्कस ऑरियस* (एम आर एस ए) और ऑक्ज़ैलिन प्रतिरोधी कोगुलेज़ ऋणात्मक *स्टेफाइलोकॉक्कस* की पहचान

मीडियमः 2 प्रतिशत NaCl के साथ मुलर हिंटर अगर

इनॉकुलमः एंटिरोबैक्टीरिएसी के समान

कंट्रोल उपभेदः सुग्राही उपभेद *एस.ऑरियस* ATCC 25923 अथवा NCTC 6571 है जबकि प्रतिरोधी कंट्रोल *एस. ऑरियस* ATCC 43300 अथवा *एस. ऑरियस* NCTC 12493 हैं।

एंटीमाइक्रोबियल डिस्कः मेथीसिलिन 5μg अथवा ओक्सासिलिन 1μg और सेफॉक्सीटिन 30μg प्रति डिस्क।

उद्भवन (इनक्यूबेशन): वायु में $30\text{-}35^0$ सेल्सियस पर 24 घंटे की अवधि तक

रीडिंगः अच्छे प्रकाश में क्षेत्रों (ज़ोंस) की सावधानीपूर्वक जांच करें जिससे ज़ोन के भीतर कॉलोनियों की पहचान की जा सके, इनमें से कुछ बहुत छोटी हो सकती है। जोंस के भीतर किसी कॉलोनी की उपस्थिति विषम-प्रतिरोधी होने का संकेत हो सकती है, परन्तु किसी मिश्रित कल्चर की संभावना से बचने की पहचान की जानी चाहिए और उसका पुनः परीक्षण किया जाना चाहिए।

व्याख्याः *एस. ऑरियस* और सी ओ एन एस के लिए: ओक्सासिलिन/मेथीसिलिन- R $\leq$10 मि.मी.,I 11-12, S $\geq$ 13 मि.मी.।

सेफोक्सीटिन- R$\leq$ 19 मि.मी. S$\geq$ 20 मि.मी.

ए टी सी सी 25923 (सुग्राही कंट्रोल) 17-22 मि.मी.; *एस. ऑरियस* ए टी सी सी 43300 अथवा *एस. ऑरियस* एन सी टी सी 12493 (ओक्ज़ासिलिन/मेथीसिलिन प्रतिरोधी) $\leq$10 मि.मी./नो ज़ोन।

यदि MecA अथवा PBP2a की पहचान जैसी अन्य पुष्टिकारक विधियों के लिए सुविधाएं उपलब्ध नहीं हैं तो सेफोक्सीटिन के परिणामों के आधार पर ऑक्ज़ैक्सीसिलिन/मेथीसिलिन

इंटरमीडिएट के सभी उपभेदों को सुग्राही अथवा प्रतिरोधी के रूप में प्रस्तुत किया जाना चाहिए।

हालांकि, एम आर एस ए की जांच हेतु सेफॉक्सीटिन डिस्क डिफ्यूज़न और ओक्सासिलिन डिस्क डिफ्यूजन विधि (एम एच ओ एक्स) विधियां प्रयोग की जाती हैं।

ओक्सासिलिन प्रतिरोधी सी ओ एन एसः सी ओ एन एस जातियों में ओक्सासिलिन के प्रति प्रतिरोध के लिए 6 ग्राम/ मि.ली. ओक्सासिलिन और 4%NaCl के साथ एम एच ओ एक्स एक सर्वोत्तम एकल विधि है।

फास्टीडिअस जीवाणुओं हेतु सुग्राह्यता परीक्षण

फास्टीडिअस जीवों हेतु डिस्क डिफ्यूज़न विधियां

स्ट्रेप्टोकॉक्कस न्युमोनियाई

मीडियाः 5% शीप ब्लड अगर सहित मुएलर हिंटन

इनॉकुलम्स का मानकीकरणः रात भर चॉकलेट अगर पर वृद्धि कराए गए ताजा शुद्ध संवर्धो से *स्ट्रेप्टोकॉक्कस न्युमोनियाई* सहित सुग्राह्यता मीडिया की सीडिंग (संवर्ध माध्यम में सूक्ष्मजीवों को प्रवृष्ट करना) हेतु इनॉकुला (संरोप) तैयार किए जाते हैं। स्टेराइल सेलाइन अथवा मुएलर हिंटन ब्रोथ में परीक्षण किए जाने वाले जीवाणुओं का कोशिका ससपेंशन तैयार किया जाता है। ताजा वृद्धि किए एक भग को किसी स्वैब अथवा इनॉकुलेटिंग लूप के साथ सस्पेंडिंग (निलम्बन) मीडियम में स्थानांतरित करके सेल सस्पेंशन (कोशिका निलम्बन) तैयार किया जाता है। कोशिकाओं को निलम्बन मीडियम में सावधानी के साथ मिलाया जाना चाहिए जिससे कि बुलबुले न बनें। उसके बाद सस्पेंशन की 0.5 मैकफारलैण्ड मानक के साथ तुलना की जाती है। सस्पेंशन की टर्बीडिटी (अविलता) स्थिर होने के बाद 15 मिनट के भीतर प्लेट को संरोपित किया जा सकता है।

इनॉकुलेशन (संरोपण)

उपयुक्त टर्बीडिटी की स्थिति होने के पश्चात एक नया स्टेराइल स्वैब (कॉटन अथवा डैक्रॉन) को सस्पेंशन में डुबाया जाता है। उसके बाद इस स्वैब का प्रयोग संपूरित मुएलर हिंटन अगर प्लेट की पूरी सतह पर संरोपण करने में किया जाता है। डिस्क को एक 5%CO_2 इन्क्यूबेटर में 16 से 18 घंटे के लिए 35^0 सेल्सियस पर उष्मायित (इन्क्यूबेट) किया जाता है। यदि CO_2 इनक्यूबेटर उपलब्ध नहीं हो तो एक कैंडिल एक्सटिंशन जार का प्रयोग किया जा सकता है।

इनॉकुलेशन (संरोपण)

उपयुक्त टर्बीडिटी की स्थिति होने के पश्चात एक नया स्टेराइल स्वैब (कॉटन अथवा डैक्रॉन) को सस्पेंशन में डुबाया जाता है। उसके बाद इस स्वैब का प्रयोग संपूरित मुएलर हिंटन अगर प्लेट की पूरी सतह पर संरोपण करने में किया जाता है। डिस्क को एक 5%CO_2 इन्क्यूबेटर में 16 से 18 घंटे के लिए 35^0 सेल्सियस पर उष्मायित (इन्क्यूबेट) किया जाता है। यदि CO_2 इनक्यूबेटर उपलब्ध नहीं हो तो एक कैंडिल एक्सटिंशन जार का प्रयोग किया जा सकता है।

रात भर इनक्यूबेशन के पश्चात प्रत्येक संदमन क्षेत्र के व्यास की माप की गई। रक्त युक्त मीडिया पर संदमन क्षेत्रों की माप प्लेट की ऊपरी सतह से की जाती है, प्लेट का ऊपरी भाग अलग किया जाता है। माप के दौरान अधिक स्पष्ट क्षेत्र से लुप्त होती छोटी कॉलोनियों की मन्द वृद्धि पर ध्यान नहीं दिया जाना चाहिए।

व्याख्याः प्रत्येक क्षेत्र के आकार की व्याख्या सारणी II के अनुसार S, I और R के रूप में की जाती है।

एंटेरोकॉक्कसी

एंटेरोकॉक्कसी में दो प्रकार के माइक्रोबियल रोधी प्रतिरोध की स्थितियां पाई जाती हैं। यह मूलभूत /सहज प्रतिरोध गुणसूत्र की मध्यस्थता में होता है। एंटेरोकॉक्कसी मूलभूत रूप से सिफैलोस्पोरिन, अर्ध-संश्लिष्ट पेनीसिलिन (ओक्ज़ासिलिन, नैफ़सिलिन), क्लिंडामाइसिन, ट्राईमेथोप्रिम, सल्फामेथॉक्साज़ोल के प्रति प्रतिरोधी होते हैं और अमीनोग्लाइकोसाइड्स के प्रति निम्न स्तर का प्रतिरोध होता है। अर्जित प्रतिरोध की स्थिति मौज़ूदा डी एन ए में किसी उत्परिवर्तन की स्थिति उत्पन्न होने अथवा नवीन की डी एन ए के उपलब्ध होने के बाद उत्पन्न होती है। एंटेरोकॉक्कसी में वैंकोमाइसिन के प्रति प्रतिरोध सबसे अधिक कष्टप्रद होता है, जिसका वर्णन यहां किया जा रहा है।

वैंकोमाइसिन प्रतिरोधी एंटेरोकॉक्कसी (वी आर ई)

जो एंटेरोकॉक्कसी 32 मि.ग्रा./ली. या इससे अधिक मात्रा में वैंकोमाइसिन के प्रति प्रतिरोधी होते हैं उन्हें वैंकोमाइसिन प्रतिरोधी एंटेरोकॉक्कसी की श्रेणी में रखा गया है (CLSI,2006)। वैंकोमाइसिन प्रतिरोधी के निम्नलिखित फीनोटाइप्स का वर्णन किया गया है- **VanA, VanB, VanC,** जो प्रायः मिलते हैं, और **Van D, VanE** और **VanG** जो यदा-कदा ही मिलते हैं।

परीक्षण विधियां

डिस्क डिफ्यूज़न परीक्षण

मीडियमः मुएलर हिंटन अगर

इनॉकुलमः वृद्धि विधि/डाइरेक्ट कॉलोनी सस्पेंशन, वैसा ही जैसे एंटेरोबैक्टीरिएसी के साथ।

इंक्युबेशन: प्लेट्स को पूरे 24 घंटे की अवधि तक आस-पास के परिवेश में 35 ± 2° सेल्सियस तापमान पर इंक्यूबेट (उष्मायित) किया जाना चाहिए।

गुणवत्ता नियंत्रण: गुणवत्ता नियंत्रण उपभेद (*स्टेफाइलोकॉक्कस ऑरियस* ATCC 25923) के लिए स्वीकार्य सीमाओं का प्रयोग डिस्क डिफ्यूज़न परीक्षण की शुद्धता पर निगरानी रखने के लिए किया जाना चाहिए (सारणी III)।

सारणी III. *स्टेफाइलोकॉक्कस आरियस* हेतु विभिन्न सीमाएं

एंटीमाइक्रोबियल कारक	डिस्क की मात्रा (प्रति मि.ली.)	क्षेत्र का व्यास			*स्टेफाइलोकॉक्कस आरियस* ATCC 25923 क्षेत्र का व्यास (मि.मि.)
		प्रतिरोधी (R) (मि.मी.)	माध्यमिक (I) (मि.मी.)	सुग्राही (S) (मि.मी.)	
वैंकोमाइसिन	30µg	≤14	15-16	≥17	17-21
टीकोप्लैनिन	30µg	≤10	11-13	≥14	15-21

निर्देशः माध्यमिक क्षेत्रों के जीवों का परीक्षण एम आई सी विधि द्वारा किया जाना चाहिए।

यदि एंटेरोकॉक्कसी में VanA, Van-B, VanC1, VanC2 की मध्यस्थता में होने वाले प्रतिरोध की पहचान करने की आवश्यकता हो तो नियमित जांच के लिए VRE- अगर परीक्षण अत्यंत विश्वसनीय विधि है। एंटेरोकॉक्कसी में वैंकोमाइसिन के प्रति प्रतिरोध की जांच पी सी आर आमापन विधियों द्वारा भी की जा सकती है।

हीमोफिलस जाति

*हीमोफिलस*जाति के लिए प्रयुक्त डिस्क डिफ्यूज़न परीक्षण के लिए हीमोफिलस टेस्ट मीडियम (एच टी एम) के प्रयोग को वरीयता दी जाती है। हीमोफिलस की नियमित जांच हेतु मुएलर हिंटन चॉकलेट अगर के प्रयोग की सिफारिश नहीं की जाती है। इसके अगर रूप में *हीमोफिलस* टेस्ट मीडियम में मुएलर-हिंटन अगर, 15µg/मि.ली. B-NAD,15µg/ मि.ली. बोवाइन हीमैटिन, और 5 mg/मि.ली. ईस्ट एक्स्ट्रेक्ट की उपस्थिति पाई जाती है।

परीक्षण विधि

इसका सस्पेंशन वैसे ही तैयार किया जाता है जैसे कि *स्ट्रेप्टोकॉक्कस न्युमोनियाई* के लिए तैयार किया जाता है। और वह लगभग 1 से 4 X 10^8 सी एफ यू /मि.ली. होना चाहिए। इस सस्पेंशन को तैयार करने में सावधानी बरती जानी चाहिए क्योंकि इनॉकुलम की मात्रा अधिक होने की स्थिति में कुछ β-लैक्टामेज़ेज एंटीबायोटिक्स सहित प्रतिरोधी संबंधी भ्रांतिजनक परिणाम मिल सकते हैं, विशेषतया जब β-लैक्टामेज उत्पन्न करने वाले *एच. इंफ्लुएंजी* के उपभेदों का परीक्षण किया जाता है।

डिस्क परीक्षण की विधि में नॉन-फास्टीडियस जीवाणु के लिए वर्णन की गई विधि का अनुसरण किया जाना चाहिए।

ज़ोन डायमीटर इंटरप्रेटिव क्राइटेरिया (क्षेत्र व्यास व्याख्यात्मक मापदण्ड)

हीमोफिलस जाति के नियमित परीक्षण हेतु निर्दिष्ट सूक्ष्मजीवीरोधी कारकों को सारणी I में प्रदर्शित किया गया है। प्रत्येक क्षेत्र के आकार को सारणी II ई के अनुरूप S, I और R के रूप में व्यक्त किया जाता है।

नीसेरिया गोनोरी

नीसेरिया गोनोरी के परीक्षण हेतु संस्तुत मीडियम में जी सी अगर सम्मिलित है जिसमें आटोक्लैव करने के पश्चात 1 प्रतिशत वृद्धि सम्पूरक को मिलाया जाता है। डिस्क परीक्षण हेतु सिस्टीन-फ्री वृद्धि सम्पूरक की आवश्यकता नहीं होती है।

परीक्षण विधिः सस्पेंशन को चॉक्लेट अगर से तैयार किया जाता है, उसी तरह जैसे *स्ट्रेप्टोकॉक्कस न्युमोनियाई* की स्थिति में तैयार किया जाता है। डिस्क डिफ्यूज़न परीक्षण में वही प्रक्रिया अपनाई जाती है जैसा कि नॉन फास्टीडियस जीवाणु की स्थिति में अपनाई जाती है।

ज़ोन डायमीटर इंटरप्रेटिव क्राइटेरियाः *नीसेरिया गोनोरी* के नियमित परीक्षण हेतु बताए गए सूक्ष्मजीवी रोधी कारकों को सारणी I में प्रस्तुत किया गया है। प्रत्येक ज़ोन को सारणी II के अनुसार S, I और R के रूप में व्यक्त किया जाता है।

नोटः उन्नीस मि.मी. से कम व्यास वाले 10µg पेनीसिलिन डिस्क ज़ोन के जीव सामान्यतया बीटा-लैक्टामेज़ को उत्पन्न

करते हैं। हालांकि, बीटा-लैक्टामेज़ेज के परीक्षण तीव्र होते हैं और इसलिए प्लाज्मिड की मध्यस्थता में होने वाले इस प्रतिरोध की पहचान करने में इसे वरीयता दी जाती है। टेट्रासाइक्लिन के प्रति प्लाज्मिड मध्यस्थ प्रतिरोध में भी 19 मि.मी. से कम के संदमन क्षेत्र (30µg टेट्रासाइक्लिन डिस्क) पाए जाते हैं। पेनीसिलिन और टेट्रासाइक्लिन के प्रतिरोध की गुणसूत्री प्रक्रियाएं बड़े व्यास वाले क्षेत्रों को प्रदर्शित करती हैं जिसकी ठीक-ठीक पहचान सारणी II में प्रस्तुत व्याख्यात्मक मापदण्ड का प्रयोग करके की जा सकती है।

नीसेरिया मेनिंजाइटाइडिस

वर्ष 2006 में *नीसेरिया मेनिंजाइटाइडिस* सूक्ष्मजीवीरोधी सुग्राह्यता का परीक्षण करने के लिए सी एल एस आई ने दिशानिर्देश जारी किए हैं जिसमें पेनीसिलिन, स्ट्रेप्टोमाइसिन, क्लोरएम्फेनिकॉल, सेफट्रियाक्ज़ोन, रिफैम्पिसिन, टेट्रासाइक्लिन, आदि जैसी एंटीबायोटिक दवाइयों का प्रयोग किया जाता है। इसकी विधि *स्ट्रेप्टोकॉक्कस न्युमोनियाई* के लिए प्रयुक्त विधि के अनुरूप है।

फास्टीडियस जीवों हेतु न्यूनतम संदमक मात्रा (एम आई सी) का निर्धारण

डाइल्यूशन विधिः इनॉकुलम्स का मानकीकरण

इनॉकुलम एक सक्रिय रूप से वृद्धि कर रहे संवर्धन होना चाहिए जो 10^4 से 10^5 सूक्ष्मजीव प्रति मि.ली. की दर से सेलाइन में तनूकृत हो। *स्ट्रेप्टोकॉक्कस न्युमोनियाई, नीसेरिया गोनोरी* और *हीमोफिलस इंफ्लुएंजी* के लिए टी एस बी ए मीडियम से एक 12-15 घंटे के संवर्धन से डाइरेक्ट कॉलोनी सस्पेंशन का प्रयोग किया जाता है। कॉलोनियों को 0.5 मि.ली. सेलाइन में निलंबित किया जाता है और उसकी ओपेसिटी (अपारदर्शिता) मैक्फारलैण्ड 0.5 तक समायोजित किया जाता है। इस सस्पेंशन का एक 1/10 डाइल्यूशन तैयार किया जाता है और तनूकृत सस्पेंशन तैयार करने के 15 मिनट के भीतर परीक्षण प्लेट्स को 0.001 मि.ली. की क्षमता वाले एक प्लैटिनम लूप अथवा मल्टीप्वाइंट इनॉकुलेटर के साथ इनॉकुलेट किया जाता है।

परीक्षण प्लेट का संरोपण (इनॉकुलेशन): सामान्यतया इनॉकुलम को एक स्पॉट के रूप में प्रयोग किया जाना चाहिए जो लगभग 5-8 मि.मी. व्यास के एक घेरे (चक्र) को ढकता हो। 0.001 मि.मी. इनॉकुलम को उपलब्ध करने के लिए निर्मित एक प्लैटिनम लूप को संवर्धों को संरोपित करने हेतु प्रयोग किया जाता है। प्रत्येक परीक्षण के साथ उपयुक्त ए टी सी सी गुणवत्ता नियंत्रण युक्त जीवों को सम्मिलित किया जाना चाहिए। इनॉकुलम के स्पॉट्स के सूखने तक संरोपित प्लेटों को अस्त व्यस्त नहीं किया जाना चाहिए।

इनक्यूबेशनः इनॉकुलम स्पॉट्स के सूखने के पश्चात इन प्लेटों को एक 5%CO_2 इनक्यूबेटर में उलटी हुई अवस्था में 16 से 18 घंटे तक 35^0 सेल्सियस तक उष्मायित (इनक्यूबेट) किया जाता है।

रीडिंगः कंट्रोल प्लेट में QC परीक्षण जीव की वृद्धि प्रदर्शित होनी चाहिए। गुणवत्ता नियंत्रण उपभेद की न्यूनतम संदमक मात्रा (एम आई सी) संभावित गुणवत्ता नियंत्रण सीमा में होनी चाहिए। इसका एण्ड प्वाइंट एंटीबायोटिक की उस न्यूनतम मात्रा को प्रदर्शित करता है। जिससे वृद्धि पूरी तरह संदमित हो जाती है। अस्पष्ट दिखाई देने वाले अथवा नवीन कॉलोनी को अलग कर देना चाहिए। इसके परिणामों को प्रति मि.ली. सूक्ष्मजीव अथवा यूनिट्स में न्यूनतम संदमक मात्रा के रूप में प्रस्तुत किया जाना चाहिए। इसकी व्याख्या सी एल एस आई M100-S12 में प्रस्तुत दिशानिर्देशों के अनुरूप 'S','I' और 'R' के रूप में की जानी चाहिए।

वैंकोमाइसिन प्रतिरोधी एंटेरोकॉक्कसी (VRE) हेतु

न्यूनतम संदमक मात्रा और गतिशीलता हेतु परीक्षण किया जाना चाहिए जिससे वैंकोमाइसिन (Van-C जैसे कि *ई. गैलीनैरम* और *ई. कैसेलीफ्लैवस)* जो बहुधा वैंकोमाइसिन स्क्रीन प्लेट पर वृद्धि करते हैं परन्तु डिस्क डिफ्यूज़न परीक्षण में सुग्राही प्रतीत होते हैं, के प्रति मूलभूत माध्यमिक स्तर के प्रतिरोध के साथ अर्जित प्रतिरोध (Van-A और VanB) सहित जातियों में अंतर ज्ञात किया जा सके। न्यूनतम संदमक मात्रा का निर्धारण अगर डाइल्यूशन अगर ग्रेडिएंट डाइल्यूशन, ब्रोथ माइक्रोडाइल्यूशन अथवा मैनुअल ब्रोथ माइक्रोडाइल्यूशन द्वारा तथा असम्पूरित एम एच ए प्लेट्स पर ई-टेस्ट स्ट्रिप्स द्वारा किया जा सकता (सारणी IV) है।

सारणी IV. *एंटेरोकॉक्कस* जाति हेतु न्यूनतम संदमक मात्रा (एम आई सी) के व्याख्यात्मक मानक (µg/मि.ली.)

सूक्ष्मजीवीरोधी कारक	एम आई सी (µg/ मि.ली.)		
	सुग्राही	*माध्यमिक*	*प्रतिरोधी*
वैंकोमाइसिन	*≤4*	*8-16*	*≥ 32*

निष्कर्ष

इस मानक परिचालन विधि (स्टैण्डर्ड ऑपरेटिंग प्रोसीज़र, एस ओ पी) का संकलन विशेष रूप से ऐसे सेवा प्रदाताओं के लिए किया गया है जो सूक्ष्मजीवीरोधी सुग्राह्यता परीक्षण की रिपोर्ट देने से संबद्ध हैं। आशा है यह मानक परिचालन विधि सरकारी और गैर सरकारी नैदानिक प्रयोगशालाओं, वैज्ञानिक समुदाय, चिकित्सीय और गैर चिकित्सीय पेशेवरों, प्रयोगशाला तकनीशियनों के साथ-साथ शिक्षण एवं संदर्भ सामग्री हेतु सूक्ष्मजीव वैज्ञानिकों (माइक्रोबायोलॉजिस्ट्स) के लिए उपयोगी होगी। विश्व भर में औषध प्रतिरोध की घटनाएं बढ़ती जा रही हैं और प्रतिरोध की नवीन प्रक्रिया का परीक्षण नैदानिक प्रयोगशालाओं में किया जा सकता है। अस्पताल अथवा समुदाय से संबद्ध सभी व्यक्तियों के बीच इस पर चर्चा की जानी चाहिए जिससे इन जीवों (आर्गेनिज़्म्स) की पहचान की जा सके और कुछ एंटीबायोटिक दवाइयों (जैसे सिफैलोस्पोरिंस, फ्लोरोक्विनोलोंस) के भारी प्रयोग करने से उत्पन्न चयनित दबाव पर नियंत्रण रखने हेतु सावधानी बरती जा सके, साथ ही नियंत्रण के प्रभावी उपाय अपनाए जा सकें।

यह लेख लखनऊस्थित संजय गांधी स्नातकोत्तर आयुर्विज्ञान संस्थान की पूर्व डीन एवं सूक्ष्मजीवविज्ञान विभाग की विभागाध्यक्ष तथा आई सी एम आर इमेरिटस वैज्ञानिक प्रो.ए. अय्यागिरी तथा भारतीय आयुर्विज्ञान अनुसंधान परिषद, नई दिल्ली की पूर्व इमेरिटस वैज्ञानिक डॉ सुषमा गुप्ता द्वारा संकलित *"स्टैण्डर्ड ऑपरेटिंग प्रोसीज़र मैनुअल फॉर मेथड्स फॉर डिटेक्शन ऑफ एंटीमाइक्रोबियल रेसिस्टैंस इन कॉमन ग्राम निगेटिव ऐण्ड ग्राम पॉज़िटिव बैक्टीरिया एनकाउंटर्ड इन इनफेक्शियस डिसीज़ेज"* शीर्षक के लेख पर आधारित है।

समाचार पत्रों के पंजीकरण नियम 1956 के नियम 8 के अन्तर्गत अपेक्षित आई सी एम आर पत्रिका के स्वामित्व तथा अन्य मुद्दों से संबंधित विवरण

प्रकाशन	:	भारतीय आयुर्विज्ञान अनुसंधान परिषद, अंसारी नगर, नई दिल्ली- 110 029
प्रकाशन की अवधि	:	मासिक
मुद्रक का नाम	:	श्री जगदीश नारायण माथुर
राष्ट्रीयता	:	भारतीय
पता	:	भारतीय आयुर्विज्ञान अनुसंधान परिषद, अंसारी नगर, नई दिल्ली - 110 029
प्रकाशक का नाम	:	उपर्युक्त
राष्ट्रीयता		
पता		
सम्पादक का नाम	:	डॉ. कृष्णानंद पाण्डेय
राष्ट्रीयता	:	भारतीय
पता	:	भारतीय आयुर्विज्ञान अनुसंधान परिषद, अंसारी नगर, नई दिल्ली-- 110 029

मैं, जगदीश नारायण माथुर यह घोषणा करता हूं कि ऊपर दिए गए तथ्य मेरी जानकारी एवं विश्वास के अनुसार सत्य है।

ह. जे.एन. माथुर
प्रकाशक

संपादक मण्डल

अध्यक्ष
डॉ विश्व मोहन कटोच
महानिदेशक,
भारतीय आयुर्विज्ञान अनुसंधान परिषद
एवं
सचिव, भारत सरकार,
स्वास्थ्य अनुसंधान विभाग

सदस्य
डॉ एस.के. भट्टाचार्य
डॉ ललित कान्त
डॉ बेला शाह

प्रमुख, प्रकाशन एवं सूचना
डॉ के. सत्यनारायण

संपादन
डॉ कृष्णानंद पाण्डेय
डॉ रजनी कान्त

भारतीय आयुर्विज्ञान अनुसंधान परिषद, नई दिल्ली के लिए श्री जगदीश माथुर द्वारा आई सी एम आर ऑफसेट प्रेस, नई दिल्ली से मुद्रित एवं प्रकाशित पं. सं. 47196/87