

Arta Balode

**Meticilīnrezistentā
Staphylococcus aureus
molekulāri bioloģiskās
īpatnības daudzprofilu stacionārā
ārstētiem pacientiem Latvijā**

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas zinātņu doktora grāda iegūšanai
Specialitāte – Klīniskā mikrobioloģija

Rīga, 2011



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Arta Balode

Meticilīnrezistentā *Staphylococcus aureus*
molekulāri bioloģiskās īpatnības
daudzprofilu stacionārā ārstētiem
pacientiem Latvijā

PROMOCIJAS DARBA KOPSAVILKUMS

Specialitāte - klīniskā mikrobioloģija

Rīga, 2011

Promocijas darbs izstrādāts:
VSIA „Paula Stradiņa klīniskā universitātes slimnīca”

Promocijas darba zinātniskie vadītāji:

Dr. habil. med., LZA kor loc. RSU profesore **Dace Gardovska**,
Rīgas Stradiņa universitāte

Dr. biol., RSU asoc. profesors **Edvīns Miklaševičs**,
Rīgas Stradiņa universitāte

Oficiālie recenzenti:

Dr. med., profesore **Juta Kroiča**, Rīgas Stradiņa universitāte

Dr. habil. biol., profesors **Aleksandrs Rapoport**, Latvijas universitāte

Dr. med. **Jolanta Mickuleviča** (Lietuva)

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2011. gada 14. novembrī plkst.16.00
Rīgas Stradiņa universitātes Teorētiskās medicīnas promocijas padomes atklātā
sēdē Hipokrāta auditorijā, Rīgā, Dzirciema ielā 16.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU mājaslapā:
www.rsu.lv

Promocijas darbs veikts ar Eiropas sociālā fonda projekta “Atbalsts
doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas
Stradiņa universitātē” finansiālu atbalstu.



Promocijas padomes sekretāre:
Dr. habil. med. profesore **Līga Aberberga-Augškalne**

Saturs

| | |
|---|----|
| Darbā lietotie saīsinājumi un definīcijas | 5 |
| Ievads | 8 |
| 1. Problēmas aktualitāte | 9 |
| 2. Darba mērķis | 10 |
| 3. Darba uzdevumi | 10 |
| 4. Pētījuma jautājumi un darba hipotēze | 10 |
| 5. Darba zinātniskā novitāte | 11 |
| 6. Darba struktūra un apjoms | 11 |
| 7. Darba metodoloģija | 12 |
| 7.1. MRSA gadījumu izpēte PSKUS 2004. –2010. gadā | 12 |
| 7.2. MRSA asins paraugu analīze PSKU | 12 |
| 7.3. No asinīm izdalīto MRSA izplatība Latvijā 2004. – 2009. gadā, salīdzinot ar Eiropas Antimikrobiālās rezistences uzraudzības tīkla dalībvalstīs izdalīto MRSA izplatību | 12 |
| 7.4. MRSA izolātu fenotipiskā un genotipiskā analīze | 13 |
| 8. Materiāli un metodes | 14 |
| 8.1. <i>S. aureus</i> izolātu izdalīšana no patoloģiskā materiāla | 14 |
| 8.2. <i>S. aureus</i> antimikrobiālās jutības noteikšana ar disku difūzijas metodi agarā | 14 |
| 8.3. Minimālās inhibējošās koncentrācijas (MIC) noteikšana ar E testu® | 15 |
| 8.4. <i>S.aureus</i> antimikrobiālās jutības noteikšana un rezultātu izvērtēšana SIR sistēmā ar automatizēto VITEK 2, lietojot AST292 komplektu | 15 |
| 8.5. MRSA izolātu kolekcijas un datu bāzes veidošana | 15 |
| 8.6. MRSA izolātu molekulāri ģenētiskās izmeklēšanas metodes | 15 |
| 8.6.1. MRSA molekulārā verifikācija | 15 |
| 8.6.2. <i>S.aureus</i> PVL ģēnu noteikšana | 15 |
| 8.6.3. <i>SCCmec</i> kasešu tipa noteikšana (<i>Oliveira et al, 2002</i>) | 15 |

| | |
|---|----|
| 8.6.4. <i>mecA</i> gēna klases noteikšana (Okuma et al, 2002) | 16 |
| 8.6.5. ccr gēna tipa noteikšana (Okuma et al, 2002) | 16 |
| 8.6.6. <i>Staphylococcus aureus spa</i> tipa noteikšana | 16 |
| 8.6.7. MRSA ST noteikšana | 16 |
| 8.7. Datu statistiskā apstrāde | 16 |
| 9. Rezultāti | 17 |
| 9.1. MRSA gadījumu izpēte PSKUS 2004.–2010. gadā | 17 |
| 9.2. No asinīm izdalīto MRSA izplatība Latvijā 2004.–2009. gadā salīdzinājumā ar Eiropas antimikrobiālās rezistences uzraudzības tīkla dalībvalstīm | 20 |
| 9.3. MRSA izolātu fenotipiskais un genotipiskais raksturojums | 24 |
| 9.3.1. HI-MRSA raksturīgo izolātu fenotipēšana | 24 |
| 9.3.2. HI –MRSA raksturīgo izolātu genotipēšana | 26 |
| 9.3.3. SI-MRSA raksturīgo izolātu fenotipēšana | 27 |
| 9.3.4. SI-MRSA raksturīgo izolātu genotipēšana | 27 |
| 9.4. No asinīm izdalīto <i>S. aureus</i> raksturojums pēc <i>spa</i> tipa Latvijā salīdzinājumā ar Eiropā izplatītajiem celmiem | 29 |
| 10. Diskusija | 30 |
| 11. Secinājumi | 33 |
| 12. Literatūras saraksts | 34 |
| Publicāciju saraksts par darbā izvēlēto tēmu | 36 |
| Publicētās tēzes un ziņojumi konferencēs | 37 |
| Pateicības | 40 |

Darbā lietotie saīsinājumi un definīcijas

| | |
|----------------------|---|
| <i>aArc C</i> | – <i>housekeeping</i> gēns |
| <i>aroE</i> | – <i>housekeeping</i> gēns |
| BD | – <i>Becton Dickinson</i> |
| AST | – antimikrobiālās jutības tests |
| CC | – <i>Clindamycin</i> |
| <i>Ccr</i> | – kasetes hromosomas rekombināzes gēni |
| CDC | – Centers for Disease Control and Prevention |
| CIP | – <i>Ciprofloxacin</i> |
| <i>clfA</i> | – <i>S. aureus</i> marķieris |
| CLSI | – <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> |
| DNS | – dezoksiribonukleīnskābe |
| EARSS | – Eiropas Antimikrobiālās rezistences uzraudzības tīkls |
| ES | – Eirops Savienība |
| em | – praimeru pāris |
| ERY | – <i>Erythromycin</i> |
| GEN | – <i>Gentamicin</i> |
| <i>glpF</i> | – <i>housekeeping</i> gēns |
| <i>gmk</i> | – <i>housekeeping</i> gēns |
| HI - MRSA | – ar ārstniecības iestādi asociētais meticilīnrezistentais <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>luk-PV</i> | – PVL toksīna gēns |
| Mc Farland standarts | – <i>Mac Farland</i> standarts |
| <i>mecA</i> | – meticilīnrezistences gēns |
| MIC | – Minimālā inhibitorā koncentrācija |
| MLST | – multilokusa sekvences tipēšana |
| MRSA | – meticilīnrezistentais <i>Staphylococcus aureus</i> |
| OX | – <i>Oxacillin</i> |
| <i>pta</i> | – <i>housekeeping</i> gēns |
| PBP ₂ | – penicilīnu saistošais proteīns |
| PFGE | – pulsējošā lauka elektroforēze gēlā |
| PQR | – polimerāzes ķēdes reakcija |
| PSKUS | – Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca |
| PVL toksīns | – <i>Panton-Valentine leukocidin</i> toksīns |
| RIF | – <i>Rifampin</i> |
| RNS | – ribonukleīnskābe |
| <i>S. aureus</i> | – <i>Staphylococcus aureus</i> |
| SCC <i>mec</i> | – stafilokoku hromosomāla kasete |
| SI-MRSA | – sadzīvē iegūtais meticilīnrezistentais <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>spa</i> | – stafilokoku A proteīna gēns |
| ST | – sekvences tips |

| | |
|-------------|---|
| STX | – <i>Trimethoprim-sulfamethoxazole</i> |
| TET | – <i>Tetracyclin</i> |
| <i>tpi</i> | – <i>houkeeping</i> gēns |
| <i>tsst</i> | – toksiskā šoka sindroma toksīna I gēns |
| VAN | – <i>Vancomycin</i> |
| VISA | – vankomicīna mēreni jutīgie <i>S. aureus</i> |
| VRSA | – vankomicīna rezistentie <i>S. aureus</i> |
| <i>yqiL</i> | – <i>houkeeping</i> gēns |

Definīcijas

MRSA gadījums: pacients ar MRSA izraisītas infekcijas klīnisko izpausmi, laboratoriski apstiprinātu MRSA un MRSA nēsātāji.

Kolonizācija/MRSA nēsāšana: laboratoriski apstiprināts MRSA pacientam, kuram nav infekcijas simptomu, ko izraisa MRSA.

MRSA bakterēmija: MRSA infekcijas simptomu kopums pacientam ar asinīs laboratoriski apstiprinātu MRSA.

Invazīvs MRSA izolāts: MRSA, izdalīts pacientam ar MRSA simptomu kopumu.

MRSA izolāts: no patoloģiskā materiāla izdalīts mikroorganisms.

MRSA celms: no patoloģiskā materiāla izdalītu mikroorganismu kopums ar vienādām to raksturojošām īpašībām (antibiogramma, molekulāri bioloģiskais raksturojums).

MRSA infekcijas riska grupas

1. No citām ārstniecības iestādēm pārvesti pacienti vai pacienti, kas pēdējo 30 dienu laikā atradušies citas veselības aprūpes iestādes intensīvās terapijas nodaļā.

2. Pacienti, kuriem pēdējo sešu mēnešu laikā veiktas ķirurģiskas manipulācijas.

3. Pacienti, kuriem bijusi saskare ar MRSA inficētu pacientu.

4. Ja uzņemšanas laikā pacientam ir strutojošas brūces, atrofiskas čūlas, ilgstoši katetri.

Inficēšanās riska faktori ar MRSA

1. Vispārēji riska faktori (imūnsupresija, cukura diabēts, hroniski ādas bojājumi).

2. Ar hospitalizāciju saistīti riska faktori (ilgstoša hospitalizācija, katetri, ķirurģiskas manipulācijas un plaušu mākslīgā ventilācija, pacienta veselības stāvokļa smagums).

3. Sadzīviski riska faktori (ciešs kontakts ar lielu cilvēku skaitu, atrašanās ilglaicīgas aprūpes iestādēs, nodarbošanās ar kontakta sporta veidiem u. c.).

Intrahospitāla/nozokomiāla infekcija – infekcija, kas pacientam radusies hospitalizācijas laikā un uzņemšanas brīdī nav bijusi inkubācijas periodā.

MRSA skrīnings – no deguna, padusēm un/vai starpenes ņemta parauga mikrobioloģiskā pārbaude pēc epidemioloģiskām indikācijām, lai savlaicīgi identificētu MRSA nēsātājus.

Adaptēts pēc VA „Sabiedrības veselības aģentūra” epidemioloģiskā biļetena 2007.g.

Ievads

Kā oportūnistiskais patogēns *S. aureus* var ierosināt plaša spektra sadzīvē un ārstniecības iestādēs iegūtas infekcijas, palielinot pacientu ārstēšanas izmaksas un palielinot mirstības risku. MRSA ievērojami atšķiras no citiem multirezistentajiem mikroorganismiem ar to, ka MRSA ne tikai aizvieto MSSA kā infekcijas ierosinātāju, bet infekcija nereti pievienojas pacientiem ar nopietnu pamatslimību vai riska faktoriem, tādējādi paaugstinot *S. aureus* ierosināto infekciju incidenci (*Muder et al, 1991 and Stamm et al, 1993 and, Wyllie et al, 2006 and, Davis et al, 2004 un Dumpis u.c., 2007*).

Sākotnēji izplatījies kā bīstams nozokomiālo infekciju izraisītājs slimnīcās visā pasaulē, MRSA pašlaik ir kļuvis par nozīmīgu sadzīvē iegūtu patogēnu. Atšķirībā no HI-MRSA, SI-MRSA izplatās tiešā kontakta ceļā starp cilvēkiem. Pēdējā laikā sadzīvē iegūtais MRSA ir izraisījis lielu interesi, ņemot vērā tā saistību ar bērnu un jaunu cilvēku saslimšanas gadījumiem bez saskarsmes ar ārstniecības iestādēm. Satraucošs ir fakts, ka pieaug gadījumu skaits, kad SI-MRSA celmi ir saistīti ar sadzīvē iegūtu nekrotisku pneimoniju, kas nereti beidzas ar pacienta nāvi.

Savlaicīga un pareiza MRSA identificēšana ir svarīgs faktors tā ierosināto slimību apturēšanai un uzliesmojumu novēršanai. Galvenās pazīmes, kas atšķir hospitālos MRSA celmus no sadzīvē iegūtajiem, ir hospitālo riska faktoru neesamība, jutība pret lielāko daļu antimikrobiālo vielu, izņemot beta laktāmu antibiotikas, atšķirīgs hromosomālais fons, kas nesakrīt ar biežāk sastopamo intrahospitālo celmu genotipiem, IV vai V tipa SCCmec kasete, kas ir reti sastopama intrahospitālajiem MRSA celmiem un gēni, kas kodē Pantona – Valentina leukocidīnu – PVL toksīnu. Visas šīs pazīmes ir nosakāmas ar molekulārās bioloģijas metodēm.

Pēc pirmajiem HI-MRSA un SI-MRSA laboratoriski apstiprinātajiem gadījumiem 2003. gadā, bija skaidrs, ka šie patogēni ir sastopami arī Latvijā. Tomēr Latvijā cirkulējošo MRSA celmu genotipi, to izplatība, slimības un citi faktori nebija zināmi.

1. Problēmas aktualitāte

Pēc CDC nacionālās nozokomiālo infekciju uzraudzības sistēmas 1986.–2003. gada rezultātu analīzes secināts, ka biežāk sastopamie intrahospitālo infekciju ierosinātāji ar tendenci to skaitam pieaugt ir grampozitīvie mikroorganismi, to skaitā MRSA (*Gaynes et al*, 2005).

Galvenā un būtiskā atšķirība starp meticilīn jutīgiem un meticilīn-rezistentiem *S. aureus* ir tā, ka pēdējie satur hromosomā integrētu gēnu kaseti (*Katayama et al*, 2000) jeb tā saukto *SCCmec* (*staphylococcal chromosomal cassette mec*). *SCCmec* galvenais elements ir *mecA* gēns, kas nodrošina saimnieka rezistenci pret visiem zināmiem beta laktāmiem. Lielākā daļa Eiropas valstīs izdalīto MRSA celmu *SCCmec* *mec A* gēna hromosomālā kasetes tipi sastopami piecos *S. aureus* klonālajos kompleksos: CC5, CC8, CC22, CC30 un CC4 (*Deurenberg et al*, 2007). Līdz šim laikam ir atklātas astoņu tipu *SCCmec* kasetes ar apakštipiem un atkarībā no tipa tās satur virkni ar patogenitāti un rezistenci saistītu gēnu. Pie kam šie rezistences gēni nodrošina *S. aureus* izdzīvošanu ne tikai antibiotiku klātbūtnē (piem., gentamicīns, eritromicīns), bet arī citos nelabvēlīgos ārējās vides apstākļos (piem., smago metālu klātbūtnē).

Papildus *S. aureus* celmi ir spējīgi producēt vismaz daļu toksīnu no visai plaša stafilokoku toksīnu arsenāla, piemēram, PVL un TSST, no kuriem pirmais kopā ar IV tipa *SCCmec* hromosomālās kasetes tipu ir sadzīvē iegūtā MRSA (SI-MRSA) molekulārie marķieri.

Latvijā vankomicīns ir izvēles preparāts MRSA ierosināto infekciju ārstēšanā. Arī citās valstīs glikopeptīdi ir standarta antibiotikas MRSA ierosināto infekciju ārstēšanā (*Gemmel et al*, 2006). Diemžēl šo antibiotiku plaša lietošana, arī Eiropā, ir VISA un VRSA celmu izplatības cēlonis, tāpēc, ordinējot šīs grupas antibiotikas infekciju ārstēšanā, jābūt stingri noteiktām indikācijām (*Finch*, 2006, and *Appelbaum*, 2006). Turklāt pieaug šaubas par vankomicīna efektivitāti saistībā ar stafilokoku MIC paaugstināšanos un novērojumiem, kas apstiprina sliktu šīs antibiotikas penetrāciju audos (*Finch*, 2006). Tāpēc savukārt mazinās arī teikoplanīna efektivitāte, radot problēmas MRSA izraisītu infekciju ārstēšanā (*Tenover et al*, 1998).

Tikai vienā ziņojumā ir pieejama informācija par MRSA izplatību Latvijā 2007. gadā, bet sistemātiska MRSA izplatība un MRSA celmu molekulārā epidemioloģija līdz 2007. gadam un vēlāk nav pētīta (Pujāte E. u. c., 2008).

2. Darba mērķis

Darba mērķis ir noteikt MRSA izplatības tendences daudzprofilu ārstniecības iestādē ārstētiem slimniekiem un raksturot 2004.–2010. gadā Latvijā sastopamos MRSA celmus pēc to molekulārbioloģiskās struktūras salīdzinājumā ar citām Eiropas valstīm.

3. Darba uzdevumi

1. Noteikt MRSA izplatību un MRSA infekcijas riska grupas pacientu skrīninga efektivitāti PSKUS.
2. Pēc pirmreizējo MRSA pozitīvo asins paraugu rezultātiem salīdzināt situāciju Latvijā un citās Eiropas valstīs.
3. Veikt no 2004. līdz 2010. gadam izdalīto izvēlētu HI-MRSA un SI-MRSA celmu fenotipisko un genotipisko izpēti.
4. Analizēt iespējamo MRSA celmu epidemioloģiju Latvijā, salīdzinot to molekulārbioloģisko raksturojumu ar MRSA celmu raksturojumu citās Eiropas valstīs.

4. Pētījuma jautājumi un darba hipotēze

1. Cik bieži MRSA sastop PSKUS un kādas ir šī patogēna izplatības tendences daudzprofilu slimnīcā?
2. Vai pastāv sakarība starp MRSA nēsāšanu un MRSA ierosinātu bakterēmiju PSKUS 2004.–2010. gadā?
3. Vai 2004.–2010. gadā no patoloģiskiem materiāliem izdalītie MRSA ir fenotipiski un genotipiski vienādi vai atšķirīgi un kādas ir šīs atšķirības?
4. Kāda ir MRSA ierosināto bakterēmiju izplatības tendences 2004.–2010. gadā Latvijā salīdzinājumā ar citām Eiropas valstīm?
5. Kādi MRSA celmi ir sastopami Latvijas ārstniecības iestādēs? To fenotipiskais un molekulārģenētiskais raksturojums.

Darba hipotēze

2003. gadā pirmie MRSA laboratoristiski apstiprinātie gadījumi nav epizodiska parādība un tie ir sastopami arī Latvijā. MRSA Latvijā ir radniecīgi kaimiņvalstīs izplatītiem celmiem.

5. Darba zinātniskā novītāte

1. Izveidota Latvijas MRSA izolātu kolekcija un datu bāze Latvijas MRSA celmu molekulārbioloģiskai analīzei.

2. 2004.–2010. gadā noteikta MRSA gadījumu incidence daudzprofilu stacionārā.

3. Pirmoreiz Latvijā, izmantojot uz PCR un sekvenču noteikšanu balstītas tehnoloģijas, noteikti *S. aureus* klīniski svarīgie patogenitātes faktori: *SCCmec* tipi, toksīni, antibiotiku rezistences gēni un izstādātas metodes to noteikšanai.

4. Raksturoti Latvijā dominējošie HI-MRSA un SI-MRSA celmi.

5. Saistībā ar citās Eiropas Savienības valstīs veiktajiem pētījumiem pēfīta Latvijā izdalīto MRSA celmu molekulārā epidemioloģija.

6. Veiktais pētījums ir devis pierādījumus, norādījis virzienus un metodes turpmākai zinātniski pamatotai MRSA infekciju uzraudzības kontrolei Latvijā.

6. Darba struktūra un apjoms

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā. Tajā ir trīspadsmit sadaļas: ievads, problēmas aktualitāte, darba mērķis un uzdevumi, pētījuma jautājumi un darba hipotēze, darba zinātniskās novītātes apraksts, darba metodoloģija, materiāli un metodes, rezultāti, diskusija par darba rezultātiem, secinājumi, izmantotās literatūras saraksts kā arī izmantotie saīsinājumi, definīcijas un pielikumi. Promocijas darba apjoms ir 172 lapaspuses, iekļaujot 31 tabulu, 20 attēlus un 9 pielikumus. Darbā izmantotas atsauces uz 249 literatūras avotiem.

7. Darba metodoloģija

Pētījums ir strukturēts četrās apakšsadaļās.

7.1. MRSA gadījumu izpēte PSKUS 2004. – 2010. gadā

Laika periods: 2004. –2010. gads.

Pētījums objekts: pacienti ar pirmreizēji laboratoriski apstiprinātu MRSA.

Pētījuma populācija: hospitalizētie pacienti.

Analizētie rādītāji

- MRSA intensīvie rādītāji 2004. – 2010. gadā, izmantojot gultdienu skaitu.
- MRSA gadījumu sadalījums slimnīcas nodaļās.
- MRSA nēsātāju īpatsvars.

7.2. MRSA asins paraugu analīze PSKUS

Laika periods: 2004. – 2010. gadā.

Pētījums objekts: pirmreizējs hospitalizēta pacienta pozitīvs asins paraugs.

Pētījuma populācija: hospitalizēti pacienti.

Analizētais rādītājs: MRSA īpatsvars no visiem *S. aureus*, kuri izdalīti no asinīm.

7.3. No asinīm izdalīto MRSA izplatība Latvijā 2004. –2009. gadā, salīdzinot ar Eiropas Antimikrobiālās rezistences uzraudzības tīkla dalībvalstīs izdalīto MRSA izplatību.

Laika periods: 2004.–2009. gads.

Pētījuma izpildes vietas:

- Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Centrālā laboratorija.
- Bērnu klīniskā universitātes slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.
- Rīgas Austrumu klīniskā universitātes slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.
- Valsts aģentūra „Latvijas infektoloģijas centrs” Mikrobioloģijas laboratorija.
- Valsts aģentūras „Latvijas infektoloģijas centrs Tuberkulozes un plaušu klīnikas „Mikrobioloģijas laboratorija.
- Rīgas 1. pilsētas slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.
- Rīgas dzemdību nama Mikrobioloģijas laboratorija.
- SIA „Centrālā laboratorija”.
- Vidzemes slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.

- Daugavpils reģionālās slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.
- Ziemeļkurzemes reģionālās slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.
- Liepājas reģionālās slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.

Pētījums objekts: pirmreizējas *S. aureus* mikroorganismu kultūras no asinīm.

Pētījuma populācija: ar ārstniecības iestādi saistīti pacienti.

Analizētie rādītāji

1. Informācija par uzraudzības tīkla dalīblaboratorijām un slimnīcām atbilstoši EARSS metodoloģijai (1. pielikums).

2. No asinīm izdalīto *S. aureus* izolātu testēšanas rezultāti atbilstoši EARSS izmeklēšanas protokolam.

3. MRSA atlase analīzei Eiropas Antimikrobiālās rezistences uzraudzības tīklā:

Pēc vienota EARSS protokola visi pirmreizējie no asinīm izdalītie *S. aureus* un MRSA no 2004. līdz 2009. gadam. Atlases gaitā netika iekļauti 2010. gadā izdalītie *S. aureus* un MRSA izolāti, jo centralizētā datu apstrāde notiek nākamā gada otrajā pusgadā.

7.4. MRSA izolātu fenotipiskā un genotipiskā analīze

Laika periods: 2004.–2010. gads.

Pētījuma izpildes vieta: PSKUS Centrālā laboratorija.

Pētījums objekts: nejauši izvēlēti MRSA izolāti no PKUS Centrālās laboratorijas izolātu kolekcijas.

Analizētie rādītāji: MRSA un *S. aureus* izolātu fenotipiskās un genotipiskās īpašības.

HI-MRSA izolātu atlase fenotipiskai un genotipiskai analīzei:

- izvēlēti pirmreizēji izdalītie MRSA izolāti no PSKUS Centrālās laboratorijas kolekcijas, proporcionāli pārstāvot 2004.–2010. gada dažādos mēnešos.

SI-MRSA izolātu atlase fenotipiskai un genotipiskai analīzei:

- *izvēlēti izdalīti klīniskajos materiālos no 2004.–2006. gadam., saņemti no Latvijas mikrobioloģijas laboratorijām, fenotipiski jutīgie, (izņemot oksacilīnu), pirmreizējie MRSA izolāti no PSKUS Centrālās laboratorijas kolekcijas, No 2007. gada no Latvijas mikrobioloģijas laboratorijām pirmreizēji izdalīti fenotipiski jutīgi MRSA izolāti, izņemot oksacilīnu, netika iesūtīti.*

S. aureus izolātu atlase spa tipa noteikšanai:

No Eiropas Antimikrobiālās rezistences uzraudzības tīkla dalības laboratorijām saņemtie desmit pirmreizēji izdalītie *S.aureus* izolāti tai skaitā

līdz pieciem MRSA izolātiem laikā periodā no 2006. gada septembra līdz 2007. gada februārim atbilstoši Eiropas *spa* tipēšanas protokolam.

Dalīblaboratorijas:

- Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Centrālā laboratorija.
- Bērnu klīniskā universitātes slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.
- Rīgas Austrumu klīniskā universitātes slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.
- Valsts aģentūra „Latvijas infektoloģijas centrs” Mikrobioloģijas laboratorija.
- Valsts aģentūras „Latvijas infektoloģijas centrs Tuberkulozes un plaušu klīnikas „Mikrobioloģijas laboratorija.
- Rīgas 1. pilsētas slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.
- Rīgas dzemdību nama Mikrobioloģijas laboratorija.
- Vidzemes slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.
- Daugavpils reģionālās slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.
- Ziemeļkurzemes reģionālās slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.
- Liepājas reģionālās slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorija.

Izslēgšanas kritēriji pētījumā:

Atkārtoti MRSA un *S. aureus* izolāti vienam pacientam.

8. Materiāli un metodes

8.1. *S. aureus* izolātu izdalīšana no patoloģiskā materiāla

Izmeklējamo materiālu ar bakterioloģisko cilpu uzsēja uz Kolumbijas asins agara, mannitola sāls agara; 18–24 stundas $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ temperatūrā audzēja termostatā Kolumbijas asins agaru un 24–48 stundas mannitola sāls agaru. Piederību *S. aureus* sugai apstiprināja ar plazmas koagulācijas testu. Ja radās aizdomas par stafilokoku izraisītu sepsi, 5–10 ml slimnieka asinis nodaļā sēja aerobā BACTC (BD) asins uzsējuma pudelē un izmeklēja tālāk kā augstāk aprakstīts.

8.2. *S. aureus* antimikrobiālās jutības noteikšana ar disku difūzijas metodi agarā

No izaugušām svaigām *S. aureus* kolonijām uz Kolumbijas asins agara, pagatavoja 0,5 *McFarland* standarta duļķojuma suspensiju fizioloģiskajā šķīdumā, sēja uz *Mueller – Hinton* agaru un uzlika izvēlētos antibiotiku diskus (BD) un inkubēja termostatā līdz rezultātu nolaišanai pēc augšanas aiztures zonas.

8.3. Minimālās inhibējošās koncentrācijas (MIC) noteikšana ar E testu[®]

MIC oksacilīnam un vankomicīnam tika noteikta, izmantojot komerciālos Etest[®] (Bio Merieux) atbilstoši ražotāja noteikumiem, un novērtēta pēc CLSI standarta.

8.4. *S.aureus* antimikrobiālās jutības noteikšana un rezultātu izvērtēšana SIR sistēmā ar automatizēto VITEK 2, lietojot AST292 komplektu.

S. aureus MIC tika noteikts, lietojot automatizēto VITEK 2 visām AST 292 komplektā iekļautajām antimikrobiālajām vielām. Jutības vērtējums tika veikts automātiski, izmantojot VITEK 2 programmu.

8.5. MRSA izolātu kolekcijas un datu bāzes veidošana

Pirmreizēji izdalīto MRSA izolātu tīrkultūru sagatavošana un ievietošana ilgstošai uzglabāšanai saldētavā –70 °C temperatūrā.

Pacienta identifikācijas un demogrāfisko datu ievade elektroniskā datu bāzes failā.

8.6. MRSA izolātu molekulāri ģenētiskās izmeklēšanas metodes

8.6.1. MRSA molekulārā verifikācija

MRSA molekulārā verifikācija tika veikta ar multiplekso – polimerāzes ķēdes reakciju, kas balstās uz noteiktu gēnu – *mecA* un *clfA* (*S. aureus* marķieris) – specifisku amplifikāciju. Vienlaicīgi tika amplificēts arī tikai stafilokokiem specifisks 16S RNS rajons.

8.6.2. *S.aureus* PVL gēnu noteikšana

S. aureus luk – PV gēns tika noteikts ar PĶR, izvēloties specifiskus praimeru pārius em 117 un em 118.

8.6.3. *SCCmec* kasešu tipa noteikšana (*Oliveira et al, 2002*)

SCCmec kasetes tipa noteikšanai tika izmantota multiplekso PĶR metode ar 17 praimeriem, kas ir specifiski astoņiem dažāda tipa kasešu lokusiem un *mecA* gēnam kā iekšējai pozitīvajai kontrolei.

8.6.4. *mecA* gēna klases noteikšana (Okuma et al, 2002)

mecA gēna klase tika noteikta ar PĶR, izmantojot trīs praimeru pārus.

8.6.5. *ccr* gēna tipa noteikšana (Okuma et al, 2002)

ccr gēna tips tika noteikts ar četrām PĶR reakcijām, izmantojot piecus specifiskus praimerus. Viens no praimeriem bija kopīgs visām reakcijām, kam pārī tika ņemts attiecīgi kāds no četriem atlikušajiem praimeriem.

8.6.6. *Staphylococcus aureus spa* tipa noteikšana

Staphylococcus aureus spa tipa noteikšanai sākotnēji ar PĶR tika amplificēta *spa* gēna specifiskā sekvenca, tālāk iegūtais PĶR produkts tika attīrīts un sekvenēts.

8.6.7. MRSA ST noteikšana

MLST tika veikta ar ar polimerāzes ķēdes reakciju, kas balstās uz septiņu noteiktu *S. aureus* „housekeeping” gēnu – *arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi*, *yqiL* – specifisku amplifikāciju. Iegūtie PĶR produkti tika attīrīti un sekvenēti. Iegūtie sekvenču dati tika salīdzināti ar *SeqNet* datu bāzē esošajiem un noteikts izolāta sekvences tips (ST).

8.7. Datu statistiskā apstrāde

MRSA gadījumu un no asinīm izdalīto MRSA incidences ticamības intervāli tika rēķināti izmantojot SPSS 16 datorprogrammu. MRSA incidence tika rēķināta uz 100 000 gultas dienām izmantojot slimnīcas oficiālos statistikas datus.

9. Rezultāti

9.1. MRSA gadījumu izpēte PSKUS 2004.–2010. gadā

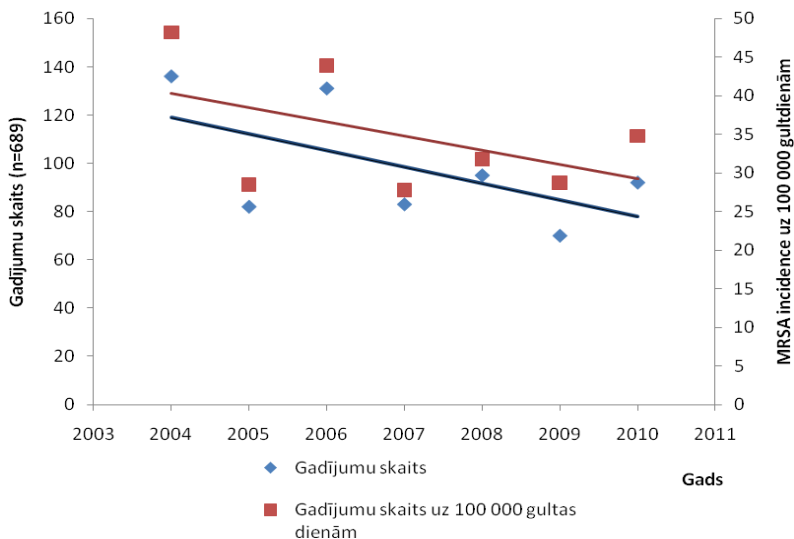
2003. gadā no pacientu patoloģiskajiem materiāliem PSKUS Centrālajā laboratorijā tika izdalīti divi fenotipiski atšķirīgi MRSA. Lai pierādītu šo *S. aureus* tipu piederību MRSA un noskaidrotu dažādo MRSA celmu izplatību daudzprofilu slimnīcās, PSKUS Centrālajā laboratorijā tika izstrādātas molekulārās tipēšanas metodes, izvedota MRSA celmu kolekcija un datu bāze no Latvijas mikrobioloģijas laboratoriju iesūtītajiem MRSA izolātiem, veikta izdalīto celmu molekulārā ģenētiskā izpēte un tipēšana un iegūtie rezultāti salīdzināti ar citās ES valstīs iegūtajiem rezultātiem

Laikā no 2004. līdz 2010. gadam PSKUS 689 ārstētajiem pacientiem pirmreizēji tika izdalīts MRSA un reģistrēts infekciju kontroles nodaļā kā MRSA gadījums. Analizējot katru gadījumu, 41,2% (n=284) tika novērtēti kā MRSA nēsātāji un 58,8% (n=405) bija pacienti ar MRSA infekcijas klīnisko izpausmi. Saslimstība ar MRSA ierosinātām infekcijām PSKUS parādīta 9.1.1. tabulā.

9.1.1. tabula

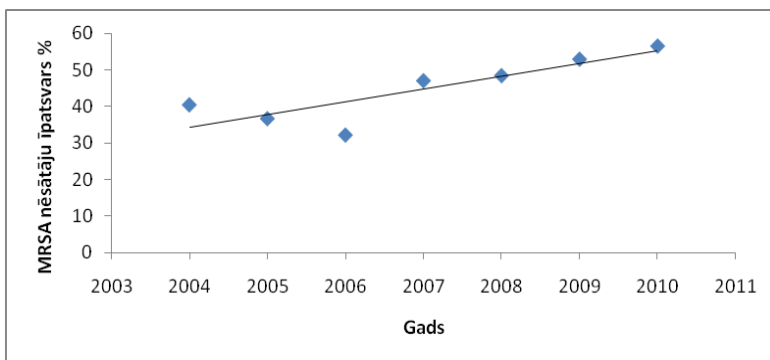
MRSA gadījumu skaits un raksturojums PSKUS 2004.–2010. gadā (n=689)

| | Gads | | | | | | |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 2004. | 2005. | 2006. | 2007. | 2008. | 2009. | 2010. |
| Guldienu skaits | 282198 | 287813 | 298077 | 298973 | 311022 | 243777 | 264126 |
| MRSA gadījumu skaits | 136 | 82 | 131 | 83 | 95 | 70 | 92 |
| MRSA incidence uz 100000 guldienu | 48,2 | 28,5 | 43,9 | 27,8 | 31,8 | 28,7 | 34,8 |
| 95% ticamības intervāls | 40,8–57,0 | 22,6–35,4 | 37,0–52,1 | 22,4–43,4 | 26,0–38,9 | 22,7–36,2 | 28,4–42,7 |
| MRSA nēsātāju īpatsvars % no kopējā MRSA gadījumu skaita | 40,4 | 36,6 | 32,1 | 47 | 48,4 | 52,9 | 56,5 |



9.1.1. att. MRSA gadījumu un MRSA incidences rādītāju korelācijas diagramma 2004. -2010. gadā. MRSA gadījumu skaits; $R = -0,43$, $p > 0,05$ MRSA incidence; $R = -0,21$, $p > 0,05$

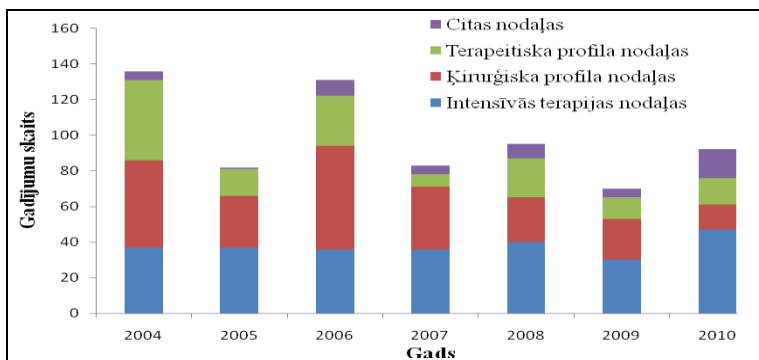
Kā redzams 9.1.1.attēlā, lai arī MRSA gadījumu skaitam un MRSA incidencei uz 100 000 gultdienām ir tendence samazināties bet šī tendence nav statistiski ticama, jo novērojumu periods ir par īsu. MRSA nēsātāju īpatsvara izmaiņas no visiem MRSA gadījumiem PSKUS parādītas 9.1. 2. attēlā.



9.1.2. att. MRSA nēsātāju īpatsvars% no visiem MRSA gadījumiem(*S. aureus* n = 689 MRSA nēsātāji n = 284); $R = 0,86$ $p < 0,05$

Novērojuma periodā vērojama tendence pieaugt MRSA nēsātāju īpat-svaram, kas varētu liecināt par aktīvu MRSA pacientu skrīningu PKUS, un šis pieaugums ir statistiski ticams.

Visi MRSA gadījumi tika analizēti saistībā ar pacienta atrašanos PSKUS nodaļās un gadījumu skaita sadalījums intensīvās terapijas, ķirurģiskajās, terapeitiska profila un pārējās nodaļās parādīts 9.1.3. attēlā.



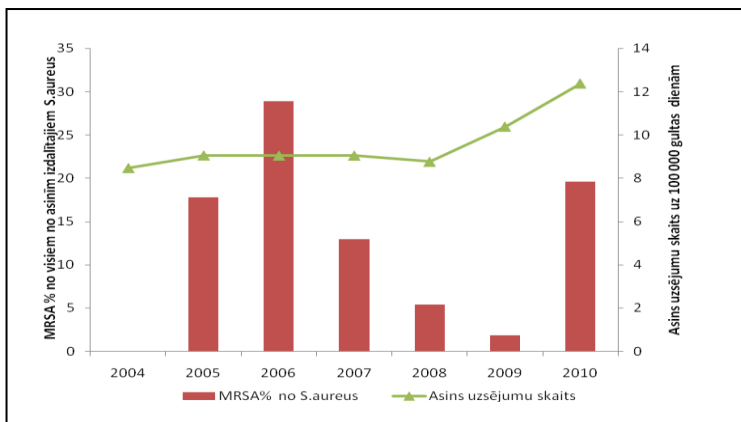
**9.1.3. att. MRSA % sadalījums PSKUS slimnīcas nodaļās.
(MRSA gadījumu skaits n=689)**

Lai salīdzinātu PSKUS rezultātus ar citām Latvijas slimnīcām un Eiropas datu bāzi, atbilstoši atsevišķā 9.1.2. tabulā tika analizēti no asinīm izdalītie MRSA.

9.1.2. tabula

**No asinīm izdalīto MRSA analīze PSKUS 2004.-2010. gadā (asins
uzsējumu skaits n=18914, MRSA n=38)**

| | Gads | | | | | | |
|--|-------|---------|---------|---------|---------|----------|------------|
| | 2004. | 2005. | 2006. | 2007. | 2008. | 2009. | 2010. |
| Asins uzsējumu skaits | 2389 | 2605 | 2695 | 2704 | 2723 | 2530 | 3268 |
| <i>S.aureus</i> | 46 | 45 | 38 | 31 | 56 | 55 | 56 |
| MRSA% no <i>S. aureus</i> | 0 | 17,8 | 28,9 | 12,9 | 5,4 | 1,8 | 19,6 |
| MRSA incidence asinīs uz 100000 gultdienām | 0 | 2,8 | 3,7 | 1,3 | 1 | 0,4 | 6,4 |
| Ticamības intervāls | 0 | 1,2-5,4 | 1,8-6,6 | 0,4-3,4 | 0,2-2,8 | 0,01-2,3 | 4,62-10,31 |



9.1.4. att. No asinīm izdalīto MRSA % attiecība asins uzņēmumos PSKUS (asins uzņēmumu skaits n=18914, MRSA % no visiem izdalītajiem *S. aureus* =11,6%)

9.2. No asinīm izdalīto MRSA izplatība Latvijā 2004. -2009. g. salīdzinājumā ar Eiropas Antimikrobiālās rezistences uzraudzības tīkla dalībvalstīm



9.2.1. att. Antimikrobiālās rezistences uzraudzības tīklā iesaistīto reģionu un laboratoriju ģeogrāfiskais izvietojums

Laikā no 2004. līdz 2010. gadam PSKUS Centrālajā laboratorijā izmeklēti 18 914 asins paraugi. Katram pacientam turpmākā analizē iekļauts pirmais *S.aureus* pozitīvais paraugs. Neskatoties uz MRSA procentuālā īpatsvara samazināšanās tendenci asinīs no visiem izdalītajiem *S. aureus*, izņemot 2006. gadu (n= 28,9%), šī tendence nav statistiski ticami saistāma ar izmeklēto asins paraugu skaita izmaiņām 2004.– 2010. gadā.

2004.–2005. gadā antimikrobiālās rezistences uzraudzības tīklā iesaistījās septiņas laboratorijas un to apkalpotās slimnīcas. No 2006. līdz 2009. gadam antimikrobiālās uzraudzības tīklam pievienojās vēl piecas laboratorijas un to apkalpotās slimnīcas. 2010. gada rezultāti turpmākā analizē nav iekļauti, jo rezultātu apkopošana tiek veikta nākamā gada otrajā pusgadā.

9.2.1.tabula

Eiropas un nacionālajā antibakteriālās rezistences uzraudzības tīklā iekļauto laboratoriju un slimnīcu dati 2005.-2009. gadā

| | Gads | | | | |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 2005. | 2006. | 2007. | 2008. | 2009. |
| Dalīblaboratoriju skaits | 11 | 12 | 12 | 12 | 7 |
| Stacionāru skaits | 11 | 12 | 12 | 12 | 9 |
| Iedzīvotāju skaits* | 2 306 534 | 2 294 590 | 2 281 305 | 2 270 894 | 2 261 294 |
| Asins uzņēmumu skaits | 9 395 | 15 409 | 15 019 | 14 584 | 9717 |
| Gultu skaits stacionāros | 4 603 | 6129 | 5 969 | 6 329 | 5508 |
| Gultdienu skaits | 1 276 513 | 1 651 925 | 1 609 778 | 1 746 084 | 1 304 118 |
| Vidējā gultas slodze procentos | 79 | 77 | 75 | 76 | 82 |
| Vidējais gultdienu skaits uz pacientu | 8 | 7 | 7 | 7 | 7,3 |
| Aptuveni aptvertā iedzīvotāju populācija ** | 1 801 593 | 1 076 400 | 1 580 323 | 1 710 000 | 1 697 000 |
| Aptvertā iedzīvotāju populācija %** | 78 | 47 | 70 | 77 | 75 |

* Centrālā statistikas pārvalde

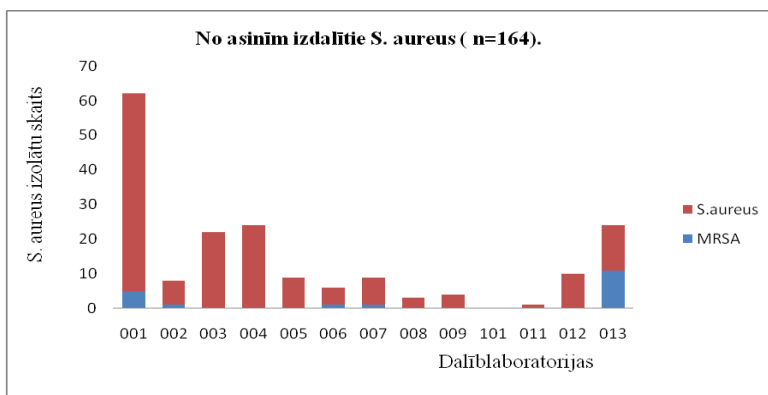
** Aptvertā iedzīvotāju populācija absolūtos skaitļos un procentuāli ir subjektīva dalīblaboratoriju informācija. Lai arī reģionālo slimnīcu aptvertās populācijas rādītāji pamatojas uz iedzīvotāju skaitu atbilstošajā reģionā, neprecīzākā informācija ir saņemta par Rīgu, jo Rīgas pilsētu nosacīti apkalpo divas universitātes un vairākas specializētās slimnīcas, kurās ārstējas ne tikai Rīgas, bet arī citu reģionu iedzīvotāji. Tādēļ dati par aptverto iedzīvotāju populāciju turpmākai analīzei netika izmantoti.

2004.gadā 9.2.1. tabulā apkopotā informācija netika vākta.

**No asinīm izdalīto *S.aureus* un MRSA īpatsvars %
(*S. aureus*: n = 907, MRSA: n=129)**

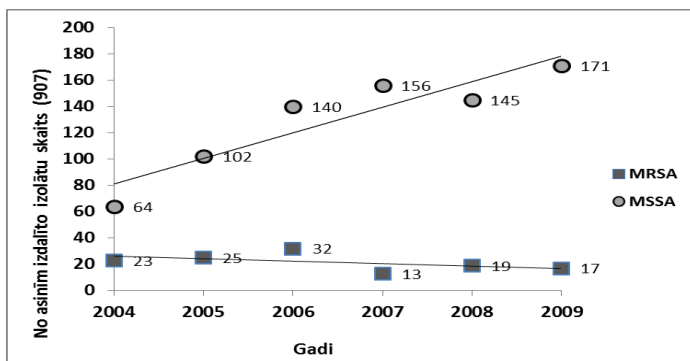
| <i>S.aureus</i> izolāti | Gads | | | | | | Kopā |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| | 2004. | 2005. | 2006. | 2007. | 2008. | 2009. | |
| No asinīm izdalīto <i>S.aureus</i> izolātu skaits | 87 | 127 | 172 | 169 | 164 | 188 | 907 |
| MRSA % | 26,4 | 19,7 | 18,6 | 7,7 | 11,6 | 9 | 14,2 |

Kā redzams 9.2.2. tabulā, no asinīm izdalīto MRSA izolātu īpatsvars no visiem izdalītajiem *S. aureus* 2004.g – 2009.g. atbilstoši samazinājās: 26,4% (n=23) , 19,7% (n= 25) , 18,6% (n=32) , 7,7%(n = 13), 11,6%(n =19) un 9% (n = 17)., bet no asinīm izdalīto MSSA izolātu īpatsvars no visiem izdalītajiem *S. aureus* pieauga no 73,6% (n=64) 2004.gadā līdz 91% (n=171) 2009.gadā.



9.2.2. att. No asinīm izdalīto MRSA sadalījums EARSS dalīblaboratorijās 2008. gadā

Jāatzīmē, ka 2008. gadā no asinīm izdalīto MRSA skaita pieaugumu veido galvenokārt vienas (013) dalīblaboratorijas rezultāti (skat. 9.2.2 attēlu).



9.2.3. att. No asinīm izdalīto *S. aureus* un MRSA korelācijas diagramma 2004.–2009. gadā (*S. aureus* $r=0,94$, $p<0,05$), MRSA $r = -0,6$; $p=0,2$)*

*Izmantojot Spīrmena korelācijas koeficientu, jo nav viennozīmīgs datu sadalījums.

Laikā no 2004. līdz 2009. gadam ir vērojams no asinīm izdalīto *S. aureus* skaita pieaugums ($p<0,05$), kas liecina par šī mikroorganisma ierosināto bakterēmiju izplatības pieaugumu. Lai gan vērojama no asinīm izdalīto MRSA samazinājuma tendence, tomēr novērojuma periods ir par mazu, lai iegūtu statistiski ticamus rezultātus ($p>0,05$). Iegūtos rezultātus apstiprina arī Latvijā no asinīm izdalīto *S.aureus* un MRSA incidence uz 100 000 gulstājiem 9.2.3. tabula).

9.2.3. tabula

No asinīm izdalīto *S. aureus* un MRSA incidence uz 100 000 gulstājiem Latvijā

| | Gads | | | | |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------|
| | 2005. | 2006. | 2007. | 2008. g. | 2009. |
| No asinīm izdalīto <i>S. aureus</i> incidence | 8,0 | 8,5 | 9,7 | 8,3 | 13,1 |
| Ticamības intervāls (TI) | 6,6-9,7 | 7,2–10,0 | 7,1–9,8 | 7,1–9,8 | 13,1–15,2 |
| No asinīm izdalīto MRSA incidence | 1,97 | 1,94 | 0,81 | 1,09 | 0,81 |
| Ticamības intervāls (TI) | 1,33-2,89 | 1,37-2,79 | 0,47-1,38 | 0,70-1,70 | 1,30 – 2,08 |

9.3. MRSA izolātu fenotipiskais un genotipiskais raksturojums

Neatkarīgi no antimikrobiālās jutības noteikšanas metodes (disku difūzijas metode agarā, minimālās inhibējošās koncentrācijas noteikšana ar E testu vai VITEK2 *Bio Merieux* analizatoru) izdalītajiem MRSA pēc fenotipiskajām īpašībām novēroja divējāda tipa MRSA celmus:

a) ar multiplu rezistenci pret makrolīdiem, tetraciklīniem, hinoloniem un dažādiem rezultātiem pret aminoglikozīdiem un folijskābes aktīvās formas sintēzes inhibitoriem, kā arī jutību pret rifampicīnu un vankomicīnu kas, kā jau minēts literatūras aprakstā, ir raksturīgs HI-MRSA;

b) ar rezistenci tikai pret oksacilīnu un jutību pret citām antibiotikām, kas raksturīgs SI-MRSA.

9.3.1. HI-MRSA raksturīgo izolātu fenotipēšana

No PSKUS Centrālās laboratorijas izolātu kolekcijas tika noteikts antimikrobiālās rezistences profils pēc MIC ar VITEK®2 Systems analizatoru 53 izvēlētiem MRSA izolātiem, aizdomīgiem uz HI-MRSA, proporcionāli pārstāvējot 2004.–2010. gadu. Iegūtie rezultāti apkopoti 9.3.1. tabulā.

Visi izmeklētie *S. aureus* izolāti bija rezistenti pret oksacilīnu. Ar E testu tika noteikta oksacilīna MIC, lai fenotipiskā līmenī diferencētu iespējamās intrahospitalos un sadzīvīve iegūtos MRSA izolātus. Visu izmeklēto MRSA celmu oksacilīna rezistence bija >256 mg/l atbilstoši maksimāli iespējamai oksacilīna koncentrācijas noteikšanai ar E testu. Visi MRSA izolāti bija rezistenti pret ciprofloksacīnu, eritromicīnu un tetraciklīnu. 50/53 analizētajiem MRSA celmiem tika konstatēta klindamicīna inducētā rezistence, 12/53 bija jutīgi pret gentamicīnu koncentrācijā $\leq 0,5$ mg/l, 29/53 bija jutīgi pret sulfametoksazolu/trimetoprimu koncentrācijā līdz 2/38 mg/l (40 mg/l). Visi MRSA izolāti bija jutīgi pret vankomicīnu 0,5–1,0 mg/ un rifampicīnu $\leq 0,5$ –1,0 mg/l robežās, izņemot vienu celmu.. Šāds fenotipiskās rezistences profils pēc literatūras atbilst HI- MRSA celmiem.

9.3.1. tabula

MRSA izolātu antimikrobiālā jutība izteikta mg/l (n=53)

| | OXA | | GEN | | GIP | | ERY | | CC | | TET | | VAN | | STX | | RIF | | |
|-------------------------|-----|------|-----|-----|-----|----|------------|-----------------|----|----------|-----|-----|----------|---|--------|------------|------|------|--|
| | S | R | S | R | S | R | S | R | S | R | S | R | S | R | S | R | S | R | |
| 2004.g. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Izolātu skaits (n=9) | 0 | 9 | 0 | 9 | 0 | 9 | 0 | 9 | 2 | 7 | 0 | 9 | 9 | 0 | 2 | 7 | 0 | 9 | |
| Juřības rezultāti mg/l | ≥4 | ≥16 | | | ≥8 | ≥8 | ≥0,25,-0,5 | ind.rez. | | ind.rez. | ≥16 | ≥16 | ≤0,5-1,5 | | ≤10-40 | 80- >20 | - | ≤0,5 | |
| 2005.g. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Izolātu skaits (n=8) | 0 | 8 | 2 | 6 | 0 | 8 | 0 | 8 | 0 | 8 | 0 | 8 | 8 | 0 | 4 | 4 | 8 | 0 | |
| Juřības rezultāti mg/l | ≥4 | ≤0,5 | ≥16 | ≥16 | | ≥8 | | ind.rez. | | ind.rez. | ≥16 | ≥16 | ≤0,5-1 | | ≤10-40 | 80-160 | ≤0,5 | | |
| 2006.g. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Izolātu skaits (n=8) | 0 | 8 | 2 | 6 | 0 | 8 | 0 | 8 | 0 | 8 | 0 | 8 | 8 | 0 | 3 | 5 | 8 | 0 | |
| Juřības rezultāti mg/l | ≥4 | ≤0,5 | ≥16 | ≥16 | | ≥8 | | ind.rez. /≥8 | | ind.rez. | ≥16 | ≥16 | 1 | | 20 | ≥20 | ≤0,5 | | |
| 2007.g. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Izolātu skaits (n=6) | 0 | 6 | 1 | 5 | 0 | 6 | 0 | 6 | 0 | 6 | 0 | 6 | 6 | 0 | 3 | 3 | 6 | 0 | |
| Juřības rezultāti mg/l | ≥4 | ≤0,5 | ≥16 | ≥16 | | ≥8 | | ind.rez/ ≥8 | | ind.rez. | ≥16 | ≥16 | | | ≤10-20 | ≥20 | ≤0,5 | | |
| 2008.g. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Izolātu skaits (n=5) | 0 | 5 | 2 | 3 | 0 | 5 | 0 | 5 | | 5 | 0 | 5 | 5 | | 3 | 2 | 5 | 0 | |
| Juřības rezultāti mg/l | ≥4 | ≤0,5 | ≥16 | ≥16 | | ≥8 | | ind.rez. | | ind.rez. | ≥16 | ≥16 | ≤0,5-1 | | ≤10-20 | ≥20 | ≤0,5 | | |
| 2009.g. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Izolātu skaits (n=5) | 0 | 5 | 1 | 4 | 0 | 5 | 0 | 5 | 0 | 5 | 0 | 5 | 5 | 0 | 2 | 3 | 5 | 0 | |
| Juřības rezultāti mg/l | ≥4 | ≤0,5 | ≥16 | ≥16 | | ≥8 | | 4,0 | | 4,0 | | ≥16 | 1,0 | | ≤10-40 | 80 | 1,0 | | |
| 2010.g. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Izolātu skaits (n=12) | 0 | 12 | 2 | 10 | 0 | 12 | 0 | 12 | 1 | 11 | 0 | 12 | 12 | 0 | 12 | 0 | 11 | 1 | |
| Juřības rezultāti mg/l | ≥4 | ≤0,5 | ≥16 | ≥16 | | ≥8 | | ≤0,25 | | 4-8 | | ≥16 | 1 | | ≤10-40 | | ≤0,5 | ≥32 | |

9.3.2. HI –MRSA raksturīgo izolātu genotipēšana

Pēc pētījumā izvēlēto MRSA (n= 53) izolātu meticilīna rezistences noteicēja *mecA* gēna molekulārās verifikācijas ar PĶR tika veikta to ģenētiskā tipēšana:

- a) *SCCmec* kasetes tipa noteikšana izmantojot multipleksu PĶR
Visiem pētījumā izvēlētajiem MRSA celmiem tika noteikta viena *SCCmec* III tipa kasete.
- b) MLST izvēlētajiem MRSA celmiem,
- c) *spa* tips

9 3.2.1. tabula

HI-MRSA sekvenču tipi (n=53)

| Gads | Izolātu skaits | Gēns | | | | | | | |
|-------|----------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|-----|
| | | <i>arcC</i> | <i>aroE</i> | <i>glpF</i> | <i>Gmk</i> | <i>Pta</i> | <i>tpi</i> | <i>yqiL</i> | ST |
| 2004. | 9 | 2 | 3 | 1 | 1 | 4 | 65 | 3 | 368 |
| 2005. | 8 | 2 | 3 | 1 | 1 | 4 | 65 | 3 | 368 |
| 2006. | 8 | 2 | 3 | 1 | 1 | 4 | 65 | 3 | 368 |
| 2007. | 6 | 2 | 3 | 1 | 1 | 4 | 65 | 3 | 368 |
| 2008. | 5 | 2 | 3 | 1 | 1 | 4 | 65 | 3 | 368 |
| 2009. | 5 | 2 | 3 | 1 | 1 | 4 | 65 | 3 | 368 |
| 2010. | 12 | 2 | 3 | 1 | 1 | 4 | 65 | 3 | 368 |

9.3.2.2. tabula

HI-MRSA noteiktie *spa* tipi (n=53)

| Gads | Izolātu skaits | <i>spa</i> atkārtojumi | <i>spa</i> tips |
|-------|----------------|------------------------|-----------------|
| 2004. | 9 | 15-12-16-02-25-17-25 | t425 |
| 2005. | 8 | 15-12-16-02-25-17-25 | t425 |
| 2006. | 8 | 15-12-16-02-25-17-25 | t425 |
| 2007. | 6 | 15-12-16-02-25-17-25 | t425 |
| 2008. | 5 | 15-12-16-02-25-17-25 | t425 |
| 2009. | 5 | 15-12-16-02-25-17-25 | t425 |
| 2010. | 12 | 15-12-16-02-25-17-25 | t425 |

Iegūtie rezultāti parāda, ka Latvijā ir izplatīts viens endēmisks HI-MRSA celms ST368-MRSA-III-(t425).

9.3.3. SI-MRSA raksturīgo izolātu fenotipēšana

Atsevišķā grupā, no PSKUS Centrālās laboratorijas MRSA izolātu kolekcijas ar disku difūzijas metodi agarā, tika noteikts antimikrobiālās rezistences profils visiem fenotipiski atšķirīgajiem MRSA celmiem aizdomīgiem uz SI-MRSA (n=9). Oksacilīna rezistence tika apstiprināta ar E testu un tika izteikta mg/l, nosakot MIC (skat. 9.3.3. tabulu

9.3.3. tabula

SIR sistēmā (n=9) novērtēta SI-MRSA izolātu antimikrobiālā jutība

| MRSA izolāti | Gads | OXA* | GEN | CIP | ERY | TET | CC | VAN | STX | RIF |
|------------------|------|------|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|
| S-5408 | 2003 | 2,0 | S | S | S | S | S | S | S | S |
| Amb 7 | 2004 | 2,0 | S | S | S | S | S | S | S | S |
| M 228 | 2004 | 2,0 | S | S | S | S | S | S | S | S |
| A-2185 | 2004 | 0,19 | S | S | S | S | S | S | S | S |
| A-0439 | 2005 | 0,38 | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 2005031 7-708 | 2005 | 0,19 | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 3256 | 2005 | 0,09 | S | S | S | R | S | S | S | S |
| 2006011 00524 | 2006 | 0,19 | S | S | S | S | S | S | S | S |

*Oksacilīna MIC mg/l, S – jutīgs, R – rezistents

9.3.4. SI-MRSA raksturīgo izolātu genotipēšana

Visi pēc fenotipiskajām īpašībām atšķirīgie *S. aureus* celmi, pirms tālākas izpētes, tika verificēti kā MRSA ar PĶR. Lai raksturotu un apstiprinātu šo izolātu atšķirību no citiem datu bāzē esošajiem MRSA celmiem un izpētītu to iespējamo piederību SI-MRSA, ar PĶR tika veikts skrīnings, lai noteiktu PVL toksīna gēnu luk – PV, kas ir viena no galvenajām SI-MRSA celmu raksturīgākajām pazīmēm.

Lai gan PVL toksīna producēšana ir svarīga SI-MRSA identificēšanas pazīme, arī intrahospitālie celmi var būt PVL toksīna producētāji (*Naimi et al*, 2003, *Holmes et al*, 2005). tādēļ pirmais Latvijā izdalītais uz SI - MRSA aizdomīgais izolāts tika salīdzināts ar Zviedrijā ģenētiski līdzīgajiem MRSA celmiem.

Tālākā darba gaitā tika veikta izdalīto SI-MRSA PVL pozitīvo MRSA izolātu klasificēšana pēc SCC*mec* kasetes, sekvenču tipa (ST) un *spa* kompleksa. Visiem SI –MRSA tika noteikta viena SCC *mec* IV tipa kasete (skat. 9.3.4.2. tabulu). Pēc sekvenču tipa (ST) izdalītie SI – MRSA ir piederīgi diviem dažādiem sekvenču tipiem: ST30 un ST1 (skat. 9.3.4.1. tabulu).

9.3.4.1. tabula

SI-MRSA sekvenču tipi (n=9)

| Izolāta nr. | Gēns | | | | | | | ST |
|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|----|
| | <i>arcC</i> | <i>aroE</i> | <i>glpF</i> | <i>gmk</i> | <i>pta</i> | <i>tpi</i> | <i>yqiL</i> | |
| S-5408-03 | 2 | 2 | 2 | 2 | 6 | 3 | 2 | 30 |
| Amb-7 | 2 | 2 | 2 | 2 | 6 | 3 | 2 | 30 |
| A-2185-04 | 2 | 2 | 2 | 2 | 6 | 3 | 2 | 30 |
| M228 | 2 | 2 | 2 | 2 | 6 | 3 | 2 | 30 |
| A-0439-05 | 2 | 2 | 2 | 2 | 6 | 3 | 2 | 30 |
| 20050317-708 | 2 | 2 | 2 | 2 | 6 | 3 | 2 | 30 |
| 20050511-676 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 3256 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 200601100524 | 2 | 2 | 2 | 2 | 6 | 3 | 2 | 1 |

9.3.4.2. tabula

SI-MRSA *spa* tipi

| Celms | <i>spa</i> sekvenču | <i>spa</i> tips | ST | SCC <i>mec</i> |
|---------------|-------------------------------|-----------------|----|----------------|
| S-5408-03 | 08-16-02-16-02-25-17-24 | t019 | 30 | IV |
| Amb-7 | 08-16-02-16-02-25-17-24 | t019 | 30 | IV |
| A-2185-04 | 08-12-02-43-34-16-02-16 | t1496 | 30 | IV |
| M228 | 08-16-02-16-02-25-17-24 | t019 | 30 | IV |
| A-0439-05 | 15-12-16-02-16-02-25-17-24 | t021 | 30 | IV |
| 20050317-708 | 15-12-16-02-16-02-25-17-24-24 | t012 | 30 | IV |
| 20050511-676 | 07-23-21-22-16-34-33-13 | t1497 | 1 | IV |
| 3256 | 07-23-21-16-34-34-33-13 | t098 | 1 | IV |
| 200601100-524 | 07-23-21-16-34-33-13 | t127 | 1 | IV |

Pēc *spa* tipa tika atrasti divi jauni SI-MRSA ar t1496 un t1497 *spa* tipiem, kas līdz šim nebija zināmi un aprakstīti pirmoreiz.

9.4. No asinīm izdalīto *S. aureus* raksturojums pēc *spa* tipa Latvijā salīdzinājumā ar Eiropā izplatītajiem *S. aureus* t.sk. MRSA celmiem

Lai noskaidrotu Latvijā dominējošos *S. aureus* un MRSA celmus un tos salīdzinātu ar citās Eiropas valstīs izplatītajiem *S. aureus* un MRSA celmiem, kā arī noteiktu iespējamo MRSA izplatību Latvijā, PSKUS Centrālās laboratorija piedalījās kolaboratīvā pētījumā, kas aptvēra 26 Eiropas valstis, 450 slimnīcas un 357 laboratorijas.

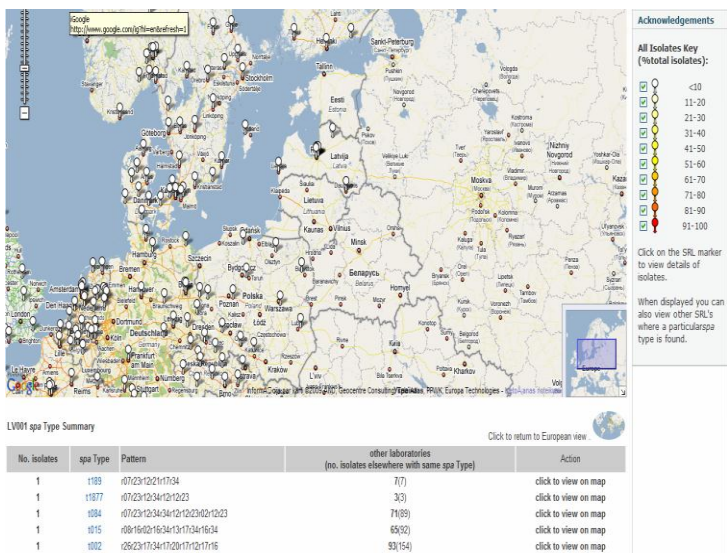
No 11 Latvijas laboratorijām un 12 slimnīcām atsūtītie 38 *S.aureus* un 5 MRSA izolāti veidoja 21 dažādu *S .aureus spa* tipus (skat 10.4. tabulu), no kuriem biežāk sastopamais bija t435 (18,6%) un t015 (11,63%) *spa* tips.

Visiem analizētajiem MRSA izolātiem, kas bija iesūtīti no trim laboratorijām, tika diagnosticēts viens t425 *spa* komplekss ST368, kas apstiprināja jau agrāk izteikto pieņēmumu par šī MRSA celma endēmisko izplatību Latvijā. Rezultāti sakrīt ar pētījuma rezultātiem citās Eiropas valstīs apstiprinot hipotēzi, ka *S. aureus* un MRSA celmi izplatās galvenokārt kā ģeogrāfiski noteikti kompleksi ar dažādu izplatības rādīsu.

9.4.1. tabula

No 01.09.2006. g. – 01.03.2007. g. asinīs izdalīto *S. aureus spa* tipi (n=43).

| | <i>spa</i> tipi | | | | | | | | |
|---------------|--------------------|------|-------|-------|------|------|-------|-------|------|
| | MSSA | MSSA | MRSA | MSSA | MSSA | MSSA | MSSA | MSSA | MSSA |
| | t084 | t435 | t425 | t015 | t331 | t693 | t1255 | t1877 | t164 |
| | t091 | t435 | t425 | t015 | t331 | t693 | t1255 | t1877 | t164 |
| | t189 | t435 | t425 | t015 | t331 | t693 | | | |
| | t002 | t435 | t425 | t015 | | | | | |
| | t160 | t435 | t425 | t015 | | | | | |
| | t2928 | t435 | | | | | | | |
| | t2934 | t435 | | | | | | | |
| | t127 | t435 | | | | | | | |
| | t267 | | | | | | | | |
| | t779 | | | | | | | | |
| | t056 | | | | | | | | |
| | t2497 | | | | | | | | |
| | t700 | | | | | | | | |
| % daudzums | 30,23 | 18,6 | 11,63 | 11,63 | 6,98 | 6,98 | 4,65 | 4,65 | 4,65 |



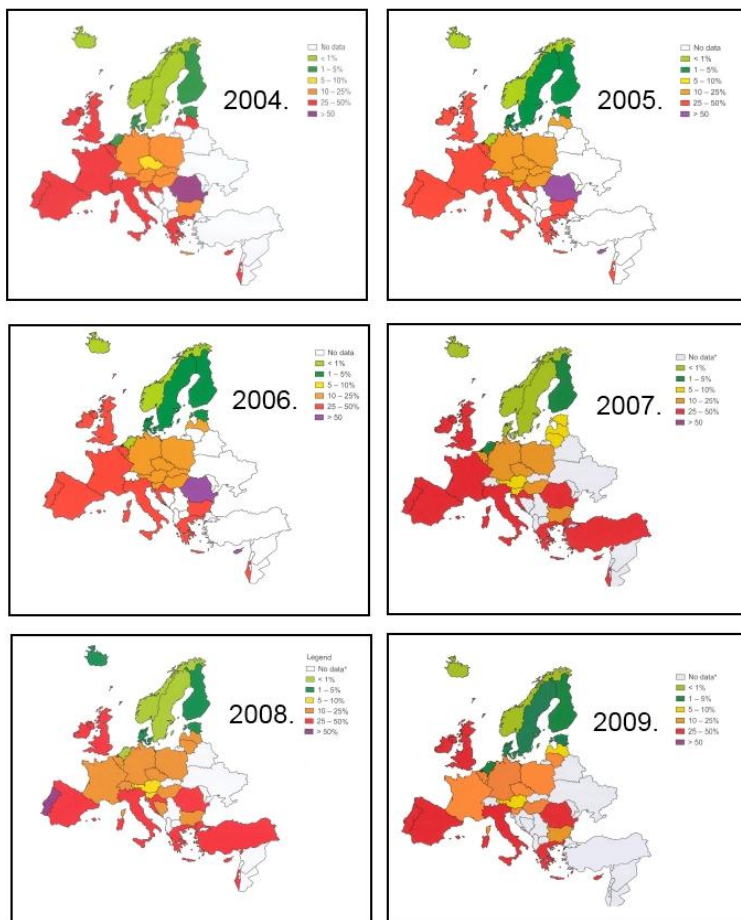
9.4. att.Latvija izdalīto *S. aureus* spa tipu izplatība Eiropā (n=43)

10. Diskusija

MRSA prevalences rādītāji literatūrā aprakstītajos gadījumos ievērojami variē atkarībā no slimnīcas un nodaļu profila, gultu skaita, valsts ar augstu vai zemu MRSA izplatību un citiem faktoriem. Kaut arī nav pierādīts, ka MRSA celmi ir virulentāki par *S. aureus* celmiem, tomēr domājams, ka daži *S. aureus* celmi salīdzinājumā ar citiem *S. aureus* celmiem var ierosināt stafilokoku infekciju epidēmiju (Shanson, 1981 and Cookson, et al, 1988).

PSKUS ir vērojama tendence MRSA gadījumu skaitam samazināties 2004.-2010.g. laika periodā, tomēr šī tendence nav statistiski ticama jo MRSA izplatību slimnīcā ietekmē daudzi faktori, kas nav pētīti un uzraudzības gadu skaits šajā gadījumā ir nepietiekams. Pēc rezultātiem novērojams statistiski ticams MRSA nēsātāju īpatsvara pieaugums PSKUS no visiem reģistrētajiem MRSA gadījumiem, kas, domājams, saistīta ar labāku pacientu skrīningu uz MRSA nēsāšanu, MRSA infekciju atpazīstamību, un agrīnu MRSA laboratorisko diagnostiku, ietekmējot MRSA bakterēmiju skaitu slimnīcā.

Lai noskaidrotu MRSA izplatību Latvijā salīdzinājumā ar citām Eiropas valstīm, visi *S. aureus*, t.sk. MRSA pozitīvie asins uzņēmumi tika izmeklēti, reģistrēti un analizēti atbilstoši EARSS Net protokolam. Kopumā laikā no 2004. līdz 2009. gadam Latvijā saglabājās tendence no asinīm izdalīto MRSA izolātu skaitam samazināties kā parādīts 10.1. attēlā.



10.1.att MRSA procentuālais daudzums Eiropā un samazināšanās tendences Latvijā (EARSS 2004.–2009.g.).

S. aureus smikroorganismiem ir raksturīga iegūto virulences un rezistences gēnu klonāla ģenētiskā izcelsme, jo *S. aureus* šos virulences un rezistences gēnus iegūst horizontālās DNS pārvešanas ceļā (Enright et al, 2002), tādēļ ar ģenētiskās tipēšanas metodēm iespējams atrast dažādu MRSA celmu klonus ar specifiskām virulences un rezistences determinantēm (Feil et al; 2003). Pamatojoties uz identificēto *S. aureus* klonu dažādību vai pretēji viendabīgumu, iespējama samērā precīza sabiedrības veselībai nozīmīgu celmu izplatīšanās kontrole, piemēram, sadzīvē un ārstniecības iestādēs iegūtā MRSA, tā evolūcijas un epidemioloģijas uzraudzība.

Pārbaudīt visus PSKUS kolekcijā esošos izolātus ar ģenētiskās tipēšanas metodēm ierobežoto materiālo resursu dēļ nebija iespējams, tādēļ izpētei tika izvēlēti atsevišķi 2004.–2010. gadā izdalītie MRSA celmi no PSKUS Centrālās laboratorijas izolātu kolekcijas. Pēc SCC *mecA* kasetes tipa, ST un *spa* tipa visi MRSA izolāti laikā no 2003. līdz 2010. gadam bija ģenētiski vienādi – ST368-MRSA-III, izņemot pirmo S-4105 MRSA celmu. MLST analīze liecināja, ka Latvijas slimniekiem izdalītais ST368-MRSA-III pieder klonālajam kompleksam CC8.

Bez tam PSKUS Centālajā laboratorijā no 2003. gada tika veikta slimnīcā izdalīto un no citām slimnīcām apstiprināšanai un padziļinātai izpētei atsūtīto MRSA izolātu izpēte, kā tipēšanas metodi lietojot visu pēfīto izolātu *spa* tipa noteikšanu un iegūto rezultātu ievadi centrālā Rindom SpaServer serverī (<http://www.SpaServer.ridom.de>) centralizētai datu apstrādei. Kā redzams pēc pētījuma rezultātiem Eiropas savienības dalības valstīs, MRSA kloni izplatās galvenokārt kā ģeogrāfiski noteikti kompleksi, kuru izplatības rādiuss ir dažāds. Hipotētiski var pieņemt, ka Latvijā sastopamie *S. aureus* celmi ir izplatījušies no tuvējām Eiropas valstīm: Polijas, Vācijas, Horvātijas, kur sastopami Latvijai raksturīgie *spa* kompleksi, lai gan dominējošie tipi šajās valstīs ir citi. (<http://www.spatialepidemiology.net/SRL-Maps>) Vispirms izplatījies slimnīcās visā pasaulē MRSA pašlaik jau kļuvis arī par nozīmīgu sadzīvē iegūstamu patogēnu.

Latvijā pirmais PVL pozitīvais SI-MRSA celms tika izolēts drīz pēc pirmajiem atklātajiem HI-MRSA celmiem 2003. gada sākumā. PVL pozitīvā ST30-MRSA-IV celma izolēšana Latvijā bija svarīgs atklājums un apstiprināja hipotēzi par SI-MRSA izplatību arī Latvijā. Pēc gēnu sekvencu rezultātiem, izdalītie SI-MRSA bija piederīgi diviem dažādiem sekvenču tipiem: ST30 un ST1 un dažādiem *spa* tipiem.

Lai arī ir nepieciešama turpmāka MRSA infekciju molekulāri epidemioloģiskas informācijas analīze, veiktais pētījums ir devis pierādījumus MRSA izplatībai Latvijā un norādījis virzienus zinātniski pamatotai MRSA infekciju kontroles un epidemioloģijas izpētei MRSA infekciju gadījumos, kā arī ir izstrādātas metodes izdalīto MRSA klonālās piederības noteikšanai.

11. Secinājumi

1. Kopējais MRSA gadījumu skaits PSKUS no 2004.–2010. gadā ir bez būtiskām izmaiņām. Pētījuma periodā statistiski ticami pieauga no jauna identificēto MRSA nēsātāju skaits un samazinājās MRSA bakterēmiju īpatsvars, kas norāda uz MRSA uzraudzības pasākumu efektivitāti.

2. Pētījuma periodā Latvijā, līdzīgi Eiropas valstīm – Austrijai, Bulgārijai, Francijai, Grieķijai, Īrijai, Rumānijai un Lielbritānijai, MRSA bakterēmiju īpatsvars no visām *S.aureus* ierosinātajām bakterēmijām konsekventi samazinājās no 26,6% (2004. g.) līdz 9% (2009. g.).

3. Latvijā ir endēmiski izplatīts viens HI – MRSA celms - ST368-MRSA-III, kas pieder *t425 spa* tipam. Bez tam Latvijā ir konstatēti divi SI-MRSA celmi: ST30-MRSA-IV un ST1-MRSA-IV, bet to izplatība nav zināma.

4. ST368-MRSA-III nav sastopams kā intrahospitālo infekciju izsaucējs citās Eiropas valstīs, kas apstiprina šī celma endēmisko izplatību Latvijā, bet ir zināmi MSSA celmi, kuri pieder šim sekvences tipam. ST30-MRSA-IV un ST1-MRSA-IV ir identiski Eiropā sastopamajiem SI – MRSA celmiem.

12. Literatūras saraksts

1. Appelbaum P. C. The emergence of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* // Clin Microbiol Infect, 2006.
2. Cookson BD, Phillips I. Epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*// J Antimicrob Chemother., 1988;Suppl C:57-65.
3. Davis K. A., Stewart J. J., Crouch H. K., et al.Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection // Clin Infect Dis, 2004(6): 776–782.
4. De Buyser M. L., Morvan A., Auber S. Evaluation of a ribosomal gene probe for the identification of species and subspecies within genus *Staphylococcus* // J Gen Microbiol, 1992; 138(5): 888–899.
5. Deurenberg R. H., Vink C., Kalenic S., et al. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // Clin Microbiol Infect, 2007; 13(3): 222–235
6. Dumpis U., Pujāte E., Perevoščikovs J. Labas sabiedrības veselības prakses vadlīnijas rīcībai ar meticilīnrezistentā *S.aureus* (MRSA) apstiprināšanas gadījumā stacionārās ārstniecības iestādēs. Epidemioloģijas biļetens. Valsts aģentūra.2007;41(999):1 – 11
7. Enright M. C., Robinson D. A., Randle G., et al. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA). //Proc Natl Acad Sci USA, 2002; 99(11): 7687–7692.
8. Feil E. J., Cooper J. E., Grundmann H., et al. How clonal is *Staphylococcus aureus*? // J Bacteriol, 2003; 185: 3307–3316.
9. Finch R. Gram-positive infections: lessons learnt and novel solutions // Clin Microbiol Infect, 2006; 12(18): 3–8.
10. Gaynes R, Edwards J. R; National Nosocomial Infections Surveillance System.Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacili // Clin Infect Dis, 2005; 41(6): 848–854.
11. Gemmell C. G., Edwards D. I., Fraise A. P., et al; Joint Working Party of the British Society for Joint Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy, Hospital Infection Society and Infection Control Nurses Association. Guidelines for the prophylaxis and treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) infections in the UK // J Antimicrob Chemother, 2006; 57(4):589–608.

12. Holmes A., Ganner M., McGuane S., et al. *Staphylococcus aureus* carrying Panton – Valentine leucocidin genes in England and Wales: frequency, characterization, and association with clinical disease // J. Clin. Microbiol, 2005; 5: 2384–2390
13. <http://www.SpaServer.ridom.de>
14. <http://www.spatialEpidemiology.net/SRL-Maps>
15. Katayama Y., Ito T., Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*// Antimicrob Agents Chemother, 2000; 44:1549–1555.
16. Muder R. R., Brennen C., Wagener M. M., et al. Methicillin-resistant staphylococcal colonization and infection in a long-term care facility // Ann Intern Med, 1991; 114(2): 107–112.
17. Naimi T. S., LeDell K. H., Como-Sabetti K., et al. Comparison of community and health care – associated methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* infection // JAMA, 2003; 290(80): 2976–2984.
18. Okuma K., Iwakawa K., Turnidge J. D., et al. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in community // Journal of Clinical Microbiology, 2002; 11: 4289–4294.
19. Oliveira D. C., de Lancastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2002; 7: 2155–2161.
20. Pujāte E., Perevoščikovs J., Ņikiforova R. Pret metilīnu rezistentā *Staphylococcus aureus*(MRSA) izplatība Latvijā(2007. gada septembris – decembris) // VA “Sabiedrības veselības aģentūra” epidemioloģiskais biļetens. 2008; 19(1046): 1.–6.
21. Shanson DC. Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* // J Hosp Infect. 1981;Mar;2(1):11-36.
22. Stamm A. M., Long M. N., Belcher B. Higher overall nosocomial infection rate because of increased attack rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // J Infect Control, 1993; 21(2): 70–74.
23. Tenover F. C., Lancaster M. V., Hill B. C., et al.. Characterization of staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides // J Clin Microbiol, 1998; 36(4): 1020–1027.
24. Wyllie D. H., Crock D. W., Peto T. E. Mortality after *Staphylococcus aureus* bacteremia in two hospitals in Oxfordshire 1997-2003 // BMJ, 2006; 333–381.

Publikācijas par promocijas darbā izvēlēto tematu

1. Dumpis U, Balode A, Vigante D, Narbutė I, Valinteliene R, Pirags V, Martinsons A, Vingre I. Prevalence of nosocomial infections in two Latvian hospitals. *Eurosurveillance Monthly*, 2003, 8, 3.
2. Miklaševičs E., Hæggman S., Balode A., Sanchez B., Martinsons A., Olsson-Liljequist O., Dumpis U. Report on the first PVL-positive community acquired MRSA strain in Latvia. *Eurosurveillance Monthly*, 2004, 9, 5-6.
3. Balode A., Dumpis U., Bagrađe L., Djundika T., Ivuškāne S., Rudzīte D., Martinsons A., Miklaševičs E. Identification of SCCmec type in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Latvian hospitals. RSU Zinātniskie raksti 2004. Internā medicīna. Ķirurģija. Medicīnas bāzes zinātnes. Stomatoloģija. Farmācija. 2005, 58-60.
4. Kise L., Nimroda L., Balode A., Martinsons A. Community acquired bacterial upper respiratory tract infections antibacterial therapy. *Acta Chirurgica Latviensis*, 2006, 6, 78 – 81.
5. Čupāne L., Pugačova Ņ., Selga I., Balode A., Gardovska D., Miklaševičs E. Bērnu klīniskās universitātes slimnīcas MRSA izolātu klīniskais un molekulārais raksturojums. RSU Zinātniskie raksti 2007. Internā medicīna. Ķirurģija. Medicīnas bāzes zinātnes. Stomatoloģija. Farmācija. 2008, 219-223.
6. van de Sande-Bruinsma N, Grundmann H, Verloo D, Tiemersma E, Monen J, Goossens H, Ferech M; European Antimicrobial Resistance Surveillance System Group; European Surveillance of Antimicrobial Consumption Project Group. Antimicrobial drug use and resistance in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2008, 14, 1722-1730.
7. Dumpis U., Aldiņš P., Balode A., Baumanis V., Bērziņa D., Čonka M., Dimiņa E., Gaile I., Grunskis A., Jansone I., Melbārde-Kelme A., Miklaševičs E., Prokopoviča I., Šķenders Ģ., Zole E. Nozīmīgāko multirezistentu baktēriju epidemioloģija un molekulārais raksturojums Latvijā. Latvijas iedzīvotāju dzīvildzi un dzīves kvalitāti apdraudošās slimības. Zinātniskā analīze un galvenās rekomendācijas (red. V. Pīrāgs),

VSIA Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca, Rīga, 2009, 161 – 170.

8. Grundmann H, Aanensen DM, van den Wijngaard CC, Spratt BG, Harmsen D, Friedrich AW; European Staphylococcal Reference Laboratory Working Group. Geographic distribution of *Staphylococcus aureus* causing invasive infections in Europe: a molecular-epidemiological analysis. *PLoS Med.* 2010 Jan 12;7(1):e1000215.
9. Gagliotti C, Balode A, Baquero F, Degener J, Grundmann H, Gur D, Jarlier V, Kahlmeter G, Monen J, Monnet D, Rossolini G, Suetens C, Weist K, Heuer O; the EARS-Net Participants (Disease Specific Contact Points for AMR). *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: bad news and good news from the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net, formerly EARSS), 2002 to 2009. *Euro Surveill.* 2011 Mar 17;16(11).

Publicētās tēzes un ziņojumi konferencēs

1. Miklasevics E., Balode A., Dumpis U., Martinsons A. Initial molecular characterization of the first MRSA outbreak at P. Stradins Clinical University Hospital. 14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Microbiol. Infection* 2004, **10**, Suppl. 3, 130.
2. Kockina E., Miklasevics E., Balode A., Dumpis U. Clinical and epidemiological characteristics of first cases of MRSA infection in a Latvian university hospital. 14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Microbiol. Infection* 2004, **10**, Suppl. 3, 575.
3. Miklaševičs E., Dumpis U., Balode A. MRSA molekulārā epidemioloģija Latvijā. Latvijas Universitātes 62. zinātniskā konference. Dabas zinātnes. Medicīna. Referātu tēzes. 2004, 37.
4. Balode A., Dumpis U., Olsson-Liljequist B., Bagrade L., Djundika T., Ivuskane S., Rudzite D., Miklasevics E. Molecular characterization of methicillin resistant *S. aureus* isolates reveals the first community acquired strain in Latvia. 6th Nordic-Baltic Congress on 5. Infectious diseases “Current Strategies for Prevention and Treatment of Infectious Diseases”, Palanga, Lithuania. Abstract book, 2004, p. 93.

5. Kockina E., Balode A., Miklasevics E., Dumpis U. Clinical and epidemiological features of MRSA outbreaks in Latvian University hospital. 6th Nordic-Baltic Congress on Infectious diseases "Current Strategies for Prevention and Treatment of Infectious Diseases", Palanga, Lithuania. Abstract book, 2004, p. 101.
6. Cupane L., Pugacova N., Bagrade L., Drukalska L., Balode A., Dumpis U., Martinsons A., Miklasevics E. Molecular characterization of MRSA outbreaks in a Children's University Hospital. 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Microbiol. Infection* 2005, 11, Suppl. 2, 679.
7. Balode A., Cupane L., Dumpis U., Kannina I., Rudzite D., Martinsons A., Miklasevics E. Clonal spread of community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latvia. 16th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Microbiol. Infection* 2006.
8. A. Balode, L. Cupane, U. Dumpis, I. Kannina, L. Kluga, D. Rudzite, A. Martinsons, E. Miklasevics. Genetic diversity of community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latvia. 12th International Symposium on Staphylococci & Staphylococcal Infections, Maastricht, 2006.
9. L. Čupāne, M. Piņķe, U. Dumpis, K. Aksenoka, A. Balode, E. Miklasevics. Clonal spread of *Staphylococcus aureus* among personal of Latvian military unit in Iraq. 7th Nordic-Baltic Congress on Infectious diseases "Current Challenges and New Opportunities", Riga, Latvia. Abstract book, 2006, p. 41.
10. Pujate E., Kvista E., Miklaševičs E., Grāve I., Balode A., Dumpis U. Analysis of epidemiological situation of MRSA infections in large multidisciplinary teaching hospital. 7th Nordic-Baltic Congress on Infectious diseases "Current Challenges and New Opportunities", Riga, Latvia. Abstract book, 2006, p. 40.
11. Balode A., Rudzīte D., Ivuškāne S. Resistance of Gram-negative bacteria in ICU of Riga hospitals. 7th Nordic-Baltic Congress on Infectious diseases "Current Challenges and New Opportunities", Riga, Latvia. Abstract book, 2006, p. 41.
12. Balode A. Antibiotic resistance surveillance network in Latvia. 7th Nordic-Baltic Congress on Infectious diseases "Current Challenges and New Opportunities", Riga, Latvia. Abstract book, 2006, p. 42.
13. Berzina D., Frave I., Balode A. Macrolide resistance of *Staphylococcus aureus* at Pauls Stradins Clinical University Hospital. 7th Nordic-Baltic Congress on Infectious diseases "Current Challenges and New Opportunities", Riga, Latvia. Abstract book, 2006, p. 43.

14. Pujate E., Balode A., Oss P., Dumpis U. Association between antibiotic use and incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in general intensive care unit. . 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Microbiol. Infection* 2007.
15. M. Piņķe, L. Čupāne, A. Balode, E. Pujate, U. Dumpis, K. Aksenoka, E. Miklaševičs. Clonal spread of *Staphylococcus aureus* among soldiers in Latvian contingent in Iraq. 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Microbiol. Infection* 2007, S342 – S343.
16. Čupāne L., Pujate E., Balode A., Gardovska D., Miklaševičs E., Dumpis U. Jaundzimušo ādas infekcijas izraisītāja molekulārā analīze. 2007. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2007, 146.
17. Balode A., Grāve I., Piņķe M. Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Centrālās laboratorijas Mikrobioloģijas un seroloģijas nodaļā veikta asins uzņēmumu analīze par 2003. – 2006. gadu. 2007. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2007.
18. Piņķe M., Čupāne L., Pujate E., Balode A., Dumpis U., Aksenoka K., Miklaševičs E. Clonal spread of *Staphylococcus aureus* among soldiers of Latvian contingent in Iraq, Kosovo and Alūksne. 2007. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2007, 153.
19. Čupāne L., Dzirniece A., Drukaļska L., Pugačova Ņ., Balode A., Nora Z., Gardovska D., Miklaševičs E. Pirmais sadzīvē iegūtā MRSA uzliesmojums Latvijā ārpus stacionāra. 2008. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2008, 127.
20. Čupāne L., Pugačova Ņ., Drukaļska L., Selga I., Balode A., Gardovska D., Miklaševičs E. Bērnu klīniskās universitātes slimnīcas *S. aureus* izolātu klīniskais un molekulārais raksturojums. 2008. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2008, 128.
21. Čupāne L., Dzirniece A., Pugačova Ņ., Balode A., Nora Z., Gardovska D., Miklaševičs E. Sadzīvē iegūtā metilcīlnreziģentā *S. aureus* nēsāšana bērniem ārpus stacionāra – bērnu aprūpes centrā. 2009. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2009, 146.
22. Cupane L., Pugacova N., Drukalska L., Selga I., Balode A., Gardovska D., Miklasevics E. Spread of PVL positive *S. aureus* among patients at Children clinical university hospital. 27th Annual meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases (ESPID), 2009.

Pateicības

Autore pateicas promocija darba vadītājiem: profesorei Dacei Gardovskai un asociētajam profesoram Edvīnam Miklaševicam par padomiem, izcilu vadītprasmi un nepārtrauktu atbalstu.

Paldies RSU zinātņu prorektorei profesorei Ivetai Ozolantei un zinātniskajai sekretārei Ingridai Kreilei par konsultācijām un atbalstu doktorantūras laikā.

Paldies asociētajam profesoram Ugam Dumpim par vērtīgiem padomiem un uzmundrinājumu darba veikšanas laikā.

Sirsnīgs paldies Elīnai Dimiņai, Dacei Bērziņai, Karīnai Aksenokai par palīdzību.

Paldies maniem kolēģiem mikrobiologiem: Dacei Rudzītei, Ņinai Pugačovai, Sarmītei Ivuškānei, Tatjanai Djundikai, Rutai Pabērzai, Ģirtam Šķenderam, Ludmilai Goldšteinei, Annai Afaņasjevai, Antoņinai Muižinikai, Lindai Klūgai, kuri bija iesaistīti dažādos mana darba tapšanas posmos.

Nenovērtējams atbalsts un stimul darbā bija un būs mans Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Centrālās laboratorijas Mikrobioloģijas un seroloģijas nodaļas un Molekulārās bioloģijas un ģenētikas nodaļas kolektīvs.

Darbs tapis ar ESF Nacionālās programmas „Atbalsts doktorantūras programmu īstenošanai un pēcdoktorantūras pētījumiem” projekta „Atbalsts doktorantūras un pēcdoktorantūras pētījumiem medicīnas zinātnēs” atbalstu.