

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
MEDICĪNAS FAKULTĀTE
FARMĀCIJAS BAKALĀURA STUDIJU PROGRAMMA

**NO KLĪNISKĀ MATERIĀLA IZDALĪTO
STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE JUTĪBA PRET
ANTIBAKTERIĀLAJIEM LĪDZEKĻIEM**

BAKALĀURA DARBS

Autors: **Olga Dolotova**

Studenta apliecības Nr.: od13016

Darba vadītājs: Mg. scn. biol. Iveta Līduma

RĪGA 2016

ANOTĀCIJA

Nozīmīga sabiedrības veselības problēma ir baktēriju rezistence pret antibakteriālajiem līdzekļiem. Pasaulē parādās arvien jauni pret antibakteriālajiem līdzekļiem rezistenti *S. pneumoniae* celmi. Tas galvenokārt, saistīts ar antibakteriālo līdzekļu nepareizu pielietošanu un plaša spektra preparātu lietošanu, kad ir iespējams izmantot šaura spektra antibakteriālus līdzekļus.

Darba mērķis: Noteikt *S. pneumoniae* jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem, celmiem, kas izdalīti no klīniskā materiāla.

Darba uzdevumi: Veikt laboratorijā identificēto *S. pneumoniae* jutības testus pret antibakteriālajiem līdzekļiem, pielietojot *BBLTM* DDT un *BBLTM* E – testu, analizēt statistiskos datus, izmantojot *Microsoft Excel* programmu.

Rezultāti: *S. pneumoniae*, izolēti 2014. gadā (n-75) un 2015. gadā (n-117), visi celmi bija 100 % jutīgi pret vankomicīnu. 2014. g. pret klindamicīnu rezistenti – 2,7 % (n-2), 2015. g. – visi jutīgi. Eritromicīns ir vienīgais antibakteriālais līdzeklis, pret kuru konstatēti vidēji jutīgi celmi: 2015. g. par 0,7 % vairāk nekā 2014. g. Bet rezistence pret to 2015. g. samazinājusies par 2,3 %, salīdzinot ar 2014. g. Rezistence pret penicilīnu 2015. g. samazinājusies par 1,6 % salīdzinot ar 2014. g.

Atslēgvārdi: *Streptococcus pneumoniae*, antibakteriālā rezistence, jutības testi

ANNOTATION

The bacterial resistance to antibacterial agents is the important society health problem. A new antimicrobial – resistant *S. pneumoniae* strains appears in the world. This is associated with incorrect using of antibacterial agents.

Aim: To determine the sensitivity to antimicrobial agents of *S. pneumoniae* strains isolated from clinical material.

Methods: Perform in laboratory identified *S. pneumoniae* susceptibility tests to antibacterial agents, applying of *BBLTM* DDT un *BBLTM* E – test, analyze statistical data in *Microsoft Excel* program.

Results: *S. pneumoniae* isolated in 2014 (n-75) and in 2015 (n-117), all strains were 100 % sensitive to vancomycin. In 2014 resistance to clindamycin – 2,7 % (n-2), in 2015 all strains were sensitive. The only erythromycin showed an average sensitivity: in 2015 more than 0,7 % over the 2014. But resistance 2015 decreased by 2,3 % compared to the 2014. Resistance to penicillin in 2015 decreased by 1,6 % compared to the 2014.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, antibacterial resistance, susceptibility tests

SATURS

APZĪMĒJUMU SARAKSTS	5
IEVADS	7
1. LITERATŪRAS APSKATS.....	8
1.1. <i>Streptococcus pneumoniae</i> raksturojums un morfolģija.....	8
1.2. <i>Streptococcus pneumoniae</i> virulences faktori	9
1.2.1. Polisaharīdu kapsula	9
1.2.2. Cítotoksīni	10
1.2.3. Virsmas proteīni	11
1.2.4. Biofilmu veidošanās pamatprincipi	11
1.3. <i>Streptococcus pneumoniae</i> patogenitāte	12
1.4. <i>Streptococcus pneumoniae</i> izraisītas slimības.....	14
1.5. Infekciju ārstēšanas principi	15
1.6. <i>Streptococcus pneumoniae</i> noteikšanas metodes.....	16
1.6.1. Grama krāsošanas metode	16
1.6.2. Katalāzes tests.....	17
1.6.3. Optohīna tests	17
1.6.4. Žults šķīdināšanas tests.....	18
1.6.5. Aglutinācijas tests.....	18
1.7. Antibakteriālie līdzekļi	19
1.7.1. Penicilīni.....	19
1.7.2. Cefalosporīni	19
1.7.3. Glikopeptīdi	20
1.7.4. Makrolīdi	20
1.7.5. Linkozamīdi.....	21
1.7.6. Sulfonamīdi un trimetoprimis.....	21
1.7.7. Hinoloni	22

1.8.	Rezistence pret antibakteriālajiem līdzekļiem	22
2.	METODES UN MATERIĀLI	24
2.1.	<i>Oxoid DrySpotTM Pneumo</i> testa izpildes procedūra.....	24
2.1.1.	Suspensijas iegūšana	25
2.1.2.	Rezultātu nolasīšana un skaidrojums.....	25
2.2.	<i>BBLTM TaxoTM P</i> diska testa izpildes procedūra	26
2.2.1.	P diska uzlikšanas kārtība.....	26
2.2.2.	Rezultātu nolasīšana un skaidrojums.....	27
2.3.	<i>BBLTM</i> disku difūzijas testa izpildes procedūra	27
2.3.1.	Inokulāta pagatavošana – kultivēšanas metode	28
2.3.2.	Uzsēšana uz testa platēm	28
2.3.3.	Disku uzlikšana	29
2.3.4.	Rezultātu nolasīšana un skaidrojums.....	29
2.4.	<i>BBLTM E</i> – testa izpildes procedūra.....	30
2.5.	Izmantotie materiāli un aparātūra	31
2.5.1.	Mikrobioloģiskās barotnes	32
3.	REZULTĀTI UN DISKUSIJA.....	33
4.	SECINĀJUMI.....	43
	LITERATŪRAS SARAKSTS	44

APZĪMĒJUMU SARAKSTS

Ag	antigēns
ASV	Amerikas Savienotās Valstis
Av	antiviela
CbpA	holīnsaistošais proteīns A
ChoP	fosfoholīns
DDT	disku difūzijas tests
DNS	dezoksiribonukleīnskābe
EARS – Net	Eiropas Antibakteriālās Rezistences Uzraudzības Datubāze
ECDC	Eiropas Slimību Profilakses un Kontroles Centrs
EET	Eiropas Ekonomiskā telpa
ES	Eiropas Savienība
g.	gads
GlcNAc	N-acetil-glikozamīna receptors
Hyl	hialuronātiāze
I	vidēji jutīgs
IgA	imunoglobulīns A
IgA1 prot	imunoglobulīna A1 proteāze
MIC	minimālā inhibējošā koncentrācija
n	skaits
P	optohīns
PAFr	trombocītu aktivējoša faktora receptors
PBP	penicilīnu saistošais proteīns
PBS	nātrija-fosfāta buferis
PCR	polimerāzes ķēdes reakcija
plgR	polimērais imunoglobulīna receptors
PsaA	virsmas adhezīns A
PspA	pneimokoku virsmas proteīns A
RNS	ribonukleīnskābe
rRNS	ribosomālā ribonukleīnskābe
R	rezistents
S	jūtīgs
<i>S. faecalis</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>
<i>S. mitis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>

<i>S. pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>S. pyogenes</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>S. viridans</i>	<i>Streptococcus viridans</i>
TNF	audzēja nekrozes faktors
TPSC	Tuberkulozes un plaušu slimību klīnika

IEVADS

S. pneumoniae infekcijas ir arvien grūtāk ārstēt, tāpēc, ka rodas pret antibakteriālajiem līdzekļiem rezistentie celmi. Jauni celmi ir rezistenti ne tikai pret vecākajiem preparātiem, bet arī pret jaunākajiem antibakteriālajiem līdzekļiem. Tā ir nozīmīga sabiedrības veselības problēma, tādēļ, ka kolonizācija uz aizdegunes gļotādas virsmas notiek jau pirmajos dzīves mēnešos un viegli izplatās aerosola veidā no cilvēka – cilvēkam. Riska grupa ietver mazus bērnus, vecākus cilvēkus un pacientus, kam ir imūndeficīts. Pneimokoki spēj izraisīt vidusauss iekaisumu, sinusītu un pneimoniju, kas, pie neefektīvas terapijas var radīt smagas komplikācijas. Kā arī tas var būt par cēloni bīstamāko formu slimībām, piemēram, meningīts, endokardīts, septiskais artrīts, osteomielīts, peritonīts vai konjunktivīts – pielietojot terapijā preparātus, pret kuriem baktērijas ir rezistentas, prognoze ir negatīva.

Rezistence ir saistīta ar nepareizu antibakteriālo līdzekļu pielietošanu un plaša spektra preparātu lietošanu, kad ir iespējams izmantot šaura spektra antibakteriālus līdzekļus.

Rezistenci pret penicilīniem un cefalosporīniem nosaka mutācijas gēnos, kas kodē 1a, 2x un 2b proteīnus; pret makrolīdiem un linkozamīdiem – *ermB* gēna modifikācija un *mefE* vai *mefA* gēnu iegūšana; pret fluorhinoloniem – mutācijas *parC*, *parE*, *gyrA* un *gyrB* gēnos. Pēdējos gados ir identificētas arī pret vankomicīnu rezistentas baktērijas.

Darba mērķis: Noteikt *S. pneumoniae* jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem, celmiem, kas izdalīti no klīniskā materiāla.

Darba uzdevumi:

1. Identificēt *S. pneumoniae* klīniskajos materiālos, pielietojot *BBLTM TaxoTM P* testa metodi.
2. Noteikt laboratorijā no klīnisko materiālu identificēto pneimokoku jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem, pielietojot *BBLTM* disku difūzijas testa un *BBLTM E* – testa metodes.
3. Apkopot un analizēt *Microsoft Excel* programmā statistiskus datus par *S. pneumoniae* laika posmā no 01.01.2014. gada līdz 31.12.2015.

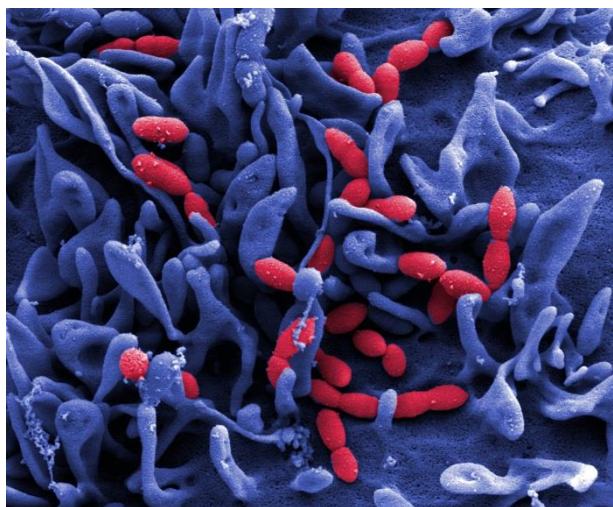
Darbs izstrādāts Latvijas Universitātē, Medicīnas fakultātes Mikrobioloģiskajā laboratorijā, un materiāli praktiskajai daļai iegūti Tuberkulozes un plaušu slimību klīnikas Mikrobioloģiskajā laboratorijā.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. *Streptococcus pneumoniae* raksturojums un morfolģija

Streptococcus pneumoniae (turpmāk – *S. pneumoniae*) ir grampozitīvas, aerobas baktērijas (1), kas kolonizējas cilvēku augšējos elpošanas ceļos, kā arī tiek definēti kā oportūniskie patogēni (2). Uz asins agara *S. pneumoniae* izskatās kā apaļas, spīdošas 0,5 – 2,0 mm lielas kolonijas, kas sev apkārt veido alfa hemolīzes zonu (3).

S. pneumoniae atklāja 1881. gadā ASV armijas ārsts Džordžs Šternbergs (*George Sternberg*) un franču ķīmiķis Luijs Pastērs (*Louis Pasteur*). Tā ir vienīgā streptokoku suga, kas pieder pneimokoku grupai, tāpēc šīs baktērijas mēdz saukt par pneimokokiem (3; 4). Atsevišķas šūnas ir diametrā no 0,5 – 1,25 μm, lancetes jeb liesmas formā, un tās parasti ir izvietotas pa pāriem un pieder diplokokiem (1; 3; 4), bet var veidot arī īsas ķēdes (1.1. att.) (2).



1.1. att. *S. pneumoniae* (sarkanas) kolonizējas epitēlija šūnās (zilās) (5)

S. pneumoniae sugā ir atzīti vairāk nekā 93 specifiski celmi, ko nosaka polisaharīdu kapsulas, kas apņem pneimokoku šūnapvalku, struktūra un antigenitāte (1; 4). No tiem lielāko daļu slimību izraisa 23 celmi (6).

1.2. *Streptococcus pneumoniae* virulences faktori

Pneimokokiem ir zināmi vairāki virulences faktori, kas ļauj tiem izdzīvot, saskaroties ar saimniekorganisma imūnas atbildes reakciju. Tie ietver polisaharīdu kapsulu, citotoksīnus, virsmas proteīnus (7) un baktēriju spēju veidot bioplēvi (8).

1.2.1. Polisaharīdu kapsula

Polisaharīdu kapsula ir galvenais pneimokoku virulences faktors, ar ko ir apņēmti visi virulentī celmi. Tā sastāv no augsta molekulārā svara polisaharīdu polimēriem, kas ir kompleksi maisījumi – monosaharīdi, oligosaharīdi, polisaharīdi un dažkārt arī citas sastāvdaļas. Kapsulas sastāvs ir unikāls katram celmam (3).

Slānis zem kapsulas ir šūnas siena. Tā ir intensīvas iekaisuma reakcijas cēlonis, kas pievienojas pneimokoku infekcijai. Tiek stimulēts iekaisuma šūnu pieplūdums un aktivēti komplementa kaskāde un citokīnu ražošana, tomēr šūnas siena ir aizsargāta no saimniekorganisma imūnās atbildes ar apkārstsēdzošo polisaharīdu kapsulu (9). Šūnu sienas struktūra ir līdzīga citām streptokoku sugām – teihoskābe, lipoteihoskābe un fosfoholīns iesakņojas peptidoglikāna slānī, paplašinoties uz āru kapsulā, kur tie nodrošina jeb sagādā saistošus domēnus priekš virspusējo proteīnu dažādības. Vismaz viens no šiem holīna saistošiem proteīniem ir spējīgs saistīties ar pneimokoku šūnu sieniņu holīniem un ogļhidrātiem uz epitēlija šūnu virsmas (3).

Kaut gan peptidoglikānam ir klasiska grampozitīva N – acetilglukozamina, N – acetilmurāmskābes un lizīnu saturoša peptīda struktūra, teihoskābe ir citādāka – satur ribitola fosfāta pamatu un kovalenti pievienojas fosforilholīnam, kurš kalpo kā samazināšanas punkts nekovalenti savienotiem vairākiem pneimokoku proteīniem uz baktērijas virsmas (10).

Pneimokoku polisaharīdi traucē efektīvo komplementa nogulsnešanos uz organisma virsmas un tādā veidā arī fagocītu identifikāciju un opsonizāciju. Kapsula traucē baktēriju opsonizāciju ar C3b/iC3b gan alternatīvā, gan klasiskā komplementa ceļos, un tā arī inhibē konversiju no C3b, kas ir saistīts ar baktērijas virsmu, uz iC3b. Šī īpašība ir ļoti svarīga, ja iztrūkst specifiskās antivielas (3; 11), kas vērstas pret polisaharīdu kapsulu, un parasti dabiskā ceļā rodas pirmajos divos dzīves gados (12), kad alternatīvais ceļš ir galvenais veids opsonizācijai ar C3b. Precīzs C3b nogulsnešanos novēršanas mehānisms detalizēti var

atšķirties starp kapsulas polisaharīdu polimēriem individuāliem celmiem. Efekts ir tāds, ka ar fagocītu receptoriem atpazītie komplementa fragmenti nav pieejami uz organisma virsmas. Kad antiViela saistās ar kapsulas polisaharīdiem, C3b rada klasisko saistīšanās ceļu un opsonizācijas process un fagocitoze darbojas efektīvi (3).

1.2.2. Citotoksīni

Visi pneimokoki producē proteīnu pneimolizīnu, kas ir holesterīna atkarīgs, transmembrānu poru veidojošais toksīns, kas ietver stafilokoku alfa toksīnu, *S. pyogenes* streptolizīnu O u.c. Pneimokoki nesekretē pneimolizīnu, bet tas atbrīvojas no organisma sabrukšanas procesā, pieaugot autolizīna koncentrācijai, ko kodē *lytA* gēns. Pneimolizīnam piemīt vairāki efekti, piemēram, tas spēj stimulēt citokīnus un sagraut cilvēka elpošanas sistēmas epiteliālo šūnu skropstiņas. Iedarbība uz epitēlija šūnu skropstiņām veicina traucējumus barjera funkcijā un atvieglo pneimokoku piekļuvi alveolām un izplatīšanos asinsritē. Pneimolizīnam ir arī tieša ietekme uz fagocītiem, un tas nomāc organisma iekaisuma un imūnās funkcijas komponentus (3; 13; 14), kā arī mijiedarbojas ar holesterīnu saimniekorganisma šūnu membrānās un veido oligomēriskās poras, kas noved pie šūnu sabrukšanas (7).

Pneimokoki spēj producēt enzīmu neiraminidāzi, kas uzlabo mikroorganismu kolonizāciju, sašķeļot neiramīnskābi saimniekorganisma mucīnā un samazinot gļotu viskozitāti. Neiraminidāze sašķeļ arī glikolipīdu un glikoproteīnu komponentus (3; 9). Šī darbība maina glikozilēšanas modeļus saimniekorganismā un, iespējams, ietekmē vairākas šūnu virsmas, kas var atklāt virsmas receptorus pneimokoku adhēzijas palielināšanai, tādā veidā veicinot mikroorganismu invāziju (15). Glikokonjugātu modifikācijas var skart arī imūnās aizsardzības proteīnus un potenciālus saistošos proteīnus (16). Bez tam, neiraminidāze nodrošina baktērijas ar ogļhidrātiem, atšķeļot cukuru no saimniekorganisma gļotādas virsmas, bet cik būtiski tas veicina baktēriju augšanu nav skaidrs (17).

1.2.3. Virsmas proteīni

Pneimokoku virsmas proteīns A (PspA) ir atrodams praktiski visu pneimokoku šūnapvalkā (15), un ir pierādīts, ka tas traucē komplementa nogulsnešanas funkciju (3), saistot laktoferīnu (7).

Holīnsaistošais proteīns A (CbpA) arī ir viens no baktēriju virulences faktoriem, kas veicina to adhēziju (15) un migrāciju cauri gļotādas barjerai (9), kā arī inhibē komplementa nogulsnešanas (2).

Pneimokokos atrasts proteīns, kas pirmo reizi tika aprakstīts kā pneimokoku adhezīns (PsaA), bet turpmākie pētījumi pierādīja, ka tas ir ABC – tipa permeāze, kas transportē divvērtīgus katjonus pāri pneimokoku citoplazmas membrānai. Šie metāli – cinks un mangāns – ir svarīgi baktēriju fizioloģijā. Tie pasargā pneimokoku no oksidatīvā stresa (7).

Hialuronātlīāze (Hyl) ir vēl viens nozīmīgs *S. pneumoniae* virsmas proteīns, kam varētu būt būtiska loma pilnīgai pneimokoku virulencei. Hyl ir daļa no fermentu grupas, ko sauc par hialuronidāzēm. Baktērijas spēj izdalīt šo fermentu, un tas, savukārt, sagrauj hialuronānu, kas ir svarīga saistaudu sastāvdaļa. Mehānisms veicina baktēriju iekļūšanu saimniekorganismā un turpmāko izplatīšanos (15).

Baktēriju koloniju virsmas raksturs norāda uz pneimokoku struktūras komponentu daudzumu. Kolonijas var būt divējādas: caurspīdīgas vai necaurspīdīgas. Precīzs šo pārmaiņu mehānisms nav skaidrs, taču tas var palīdzēt izvairīties no organisma aizsargreakcijām. Caurspīdīgais fenotips dominē aizdegunē, un baktērijām ir mazāk ekspresēta kapsula un PspA, bet vairāk CbpA, *lytA* (10) un augsts šūnu sieniņu teihoskābju daudzums (2). Savukārt, necaurspīdīga fāze dominē asinīs un raksturojas ar palielinātu kapsulas polisaharīdu un PspA daudzumu, samazinātu CbpA (10) un šūnapvalka teihoskābes daudzumu. Pārejas laikā no necaurspīdīga uz caurspīdīgo fenotipu, mikroorganismi zaudē virulences spējas un uzlabo adhēziju pie gļotādas epitēlija šūnām (2).

1.2.4. Biofilmu veidošanās pamatprincipi

Spēja veidot bioplēvi un tās mijiedarbība ar saimniekorganismu kolonizācijas laikā vēl nav līdz galam skaidra. Tomēr ir pierādīts, ka bioplēvi ražo necaurspīdīga fenotipa baktērijas,

un tās ir vairāk invazīvas plaušās un smadzenēs (18). Šāda veida baktērijas ir daudz izturīgākas pret antibakteriālajiem līdzekļiem (8).

Mikroorganismu bioplēvi var konstatēt uz gļotādas, piemēram, pneimonijas un vidusausu infekciju gadījumos, kaut gan tās loma infekciju procesos atrodas pētīšanas stadijā (8).

Antibakteriālā rezistence un bioplēves matricas aizsardzības mehānismi ļauj mikroorganismiem izvairīties no saimniekorganisma imūnās atbildes reakcijas, veicinot neatlaidību un baktēriju izplatīšanos. Šī antibakteriālā rezistence nav saistīta ar mikroorganismu samazināto jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem, kas rodas genoma mutāciju vai rezistentā gēna iegūšanas rezultātā, tā pastāv, pateicoties paaugstinātai tolerancei. Bioplēves matrica ir ļoti izturīga un neļauj antibakteriālajiem līdzekļiem iekļūt tās struktūrā, kā arī tā tuvāk saista baktērijas citu pie citas, kas dod tiem spēju apmainīties ar ģenētisko materiālu, lai veicinātu izdzīvošanu un pielāgošanos videi (8; 19). Bioplēve ir kā aizsargmehānisms aizdegunē, kas ļauj mikroorganismiem ilgstoši asimptomātiski tur kolonizēt, un tajā laikā tiem ir lēnāka vielmaiņa, mazāk tiek ekspresēti kapsulas polisaharīdi, samazināta pneimolizīna ražošana un lielāka izturība pret izžūšanu (2). Tomēr pētījumi liecina, ka izmaiņas nazofaringeālā vidē, ko izraisa vienlaicīgas vīrusa infekcijas, izmaiņas mikroflorā, iekaisums, vai citas pārmaiņas, aktivē pneimokoku atbrīvošanos no bioplēves (8). Savukārt, baktērijas, kas ir nesen izklīdētas no bioplēves, ir hipervirulentas un ir ar lielāku spēju izraisīt invazīvas slimības – tam ir uzlabotas lipīguma spējas, un, iespējams, paaugstinās virulenta gēna ekspresija (20).

1.3. *Streptococcus pneumoniae* patogenitāte

S. pneumoniae kolonizācija uz aizdegunes gļotādas virsmas notiek bērnībā pirmajos dzīves mēnešos un turpinās veselīgiem indivīdiem pieauguša cilvēka vecumā (8; 9).

Infekcija izplatās no cilvēka – cilvēkam aerosola veidā. Nazofaringeāla kolonizācija ir priekšnoteikums pneimokoku slimībai.

S. pneumoniae iekļūst deguna dobumā un piestiprinās pie gļotādas epitēlija šūnām un tad vai nu paliek tur kā kolonizatori vai izplatās tālāk citos orgānos, piemēram, ausu un deguna blakusdobumos, vai caur bronhiem uz leju – plaušās, un pēc tām cauri gļotādas

barjerai var iekļūt asinsritē un, šķērsojot hematoencefālisko barjeru, var izraisīt meningītu (10).

Pneimokoku pieķeršanās pie nazofaringiālām šūnām ir saistīta ar vairākiem faktoriem. Piemēram, holīnsaistošo proteīnu piestiprināšanās pie saimniekorganisma epiteliālo šūnu šūnapvalka holīniem un ogļhidrātu apseguma. Šī saistīšanās var sekmēt dažādus procesus: var aktivizēties receptori neiraminidāzes izdalīšanai vai var sekot pneimolizīnu stimulēta citokīnu aktivizēšanās saimniekorganisma šūnās (3). Neiraminidāzes samazina gļotu viskozitāti un eksponē epitēlija šūnu N – acetil – glikozamīna receptorus (GlcNAc), kas var mijiedarboties ar pneimokoku PsaA (9). Papildus tam virsmas proteīni veicina hidrofobas un elektrostatisks pneimokoku virsmas īpašības, caur nespecifisko, fizikāli ķīmisko savstarpējo mijiedarbību, kas var veicināt mikroorganismu piesaistīšanos saimniekorganisma šūnām (21).

Parasti kolonizācijai neseko simptomātiskas saslimšanas. Pāriešana no asimptomātiskās kolonizācijas invazīvajā slimībā prasa lokālo iekaisuma faktoru pieplūdi, tādu kā interleikīns – 1 un audzēja nekrozes faktors (TNF) (22). Šī iekaisuma kaskāde maina receptoru tipu un skaitu uz mērķa epitēlija un endotēlija šūnām. Pneimokoku šūnas sienas holīni uzrāda afinitātes pieaugumu kādam no šiem receptoriem, to skaitā trombocītu aktivējošo faktoru receptoram. Saistīšanās ar šo receptoru stimulē pneimokoku internalizāciju un sekmē transcellulāro migrāciju caur respiratoro epitēliju un vaskulāro endotēliju, kas rezultējas ar baktērijas invāziju. Turklāt viens no šūnas virsmas proteīniem, CbpA, uzrāda palielinātu afinitāti pret imobilizēto siālskābi un lakto – N – neotetraozi citokīnu aktivētajās cilvēka šūnās. CbpA tieši mijiedarbojas ar polimēro imunoglobulīna receptoru (plgR), kas paaugstina migrāciju cauri gļotādas barjerai – šo procesu sauc par transcitozi. Pneimokoku imunoglobulīna A1 proteāze (IgA1 prot) sašķeļ opsonizēto cilvēka imunoglobulīnu A (IgA), rezultātā virsmas lādiņš neitralizējas un palielinās pneimokoka šūnas sienas fosfolīna (ChoP) afinitāte pret saimniekorganisma plaušu epitēliju šūnu trombocītu aktivējošo faktoru receptoru (PAFr). CbpA saistās ar IgA sekretorisko sastāvdaļu un mijiedarbojas ar komplementa ceļu, tādējādi traucējot saimniekorganisma imūno atbildi (9; 23).

Aspirācijas elpceļu izdalījumi, kas satur šādus pneimokokus, sākotnēji izraisa pneimoniju. Parasti aspirētais organisms tiek strauji attīrīts ar apakšējo elpošanas ceļu aizsardzības mehānismiem, kas ietver klepu un uzbalseņa refleksus, alveolāro makrofāgu fagocitozi. Saimniekorganisma faktori, kas pavājina šo aizsargspēju kombinēto efektivitāti, var ļaut pneimokokiem sasniegt alveolas un vairoties tur. Šādi faktori ir hroniskās plaušu slimības, bojājumi bronhu epitēlijā no smēķēšanas vai gaisa piesārņojuma, kā arī elpošanas traucējumi no alkohola intoksikācijas, narkotiskiem līdzekļiem, anestēzijas un traumas.

Kad mikroorganisms sasniedz alveolas, tad tā virulences faktori sāk darboties divos posmos. Pirmais posms ir agrais, kad nebojāto mikroorganismu virsmas kapsula iedarbojas, bloķējot fagocitozi un nomācot komplementu. Tas ļauj pneimokokam vairoties un izplatīties, neskatoties uz akūta iekaisuma reakciju. Otrais posms notiek, kad baktērija sāk sadalīties un atbrīvot vairākus faktorus, arī sintezētus, vai daļas no tā struktūrām, tādā veidā izraisot bojājumus. Tie ietver pneimolizīnu, autolizīnu un šūnu sienas komponentus (3).

1.4. *Streptococcus pneumoniae* izraisītas slimības

Pneimokoks ir galvenais cēlonis pie vidusauss iekaisuma, sinusīta, un pneimonijas bērniem un pieaugušajiem. Tas var izplatīties arī ar asinīm uz smadzenēm, izraisot meningītu, vai sirds iekšējā somiņā, izraisot endokardītu. Retākos gadījumos tas izraisa citas lokalizācijas infekcijas – septisko artrītu vai osteomielītu un primāro peritonītu, bet neizraisa faringītu vai tonzilītu. Riska grupa ietver mazus bērnus, vecākus cilvēkus un pacientus, kam ir imūndeficīts (3; 6; 9).

Gadsimta pētījumi ir noveduši pie secinājuma, ka kapsula ir nepieciešama pneimokoku kolonizācijai un virulencei, tomēr arvien vairāk pierādījumu rāda, ka tas ne vienmēr tā ir. Biežākas neiekapsulēto pneimokoku infekcijas ir neinvazīvas slimības – vidusauss iekaisums un konjunktivīts (19).

Vidusauss iekaisums biežāk rodas bērniem kopā ar vīrusu infekcijām. Hroniskā mastoīda piedēkļa vai elpošanas sinusu infekcija dažreiz paplašinās līdz subarahnoidālai telpai un izraisa meningītu (3; 24).

Bakteriālais meningīts saistīts ar augstu mirstību, bet pusei no tiem, kas izdzīvojuši, rodas neiroloģiskās komplikācijas – biežāk dzirdes zudums un kognitīvo spēju deficīts (25). Pneimokoks ir viens no trim bakteriālā meningīta vadošajiem iemesliem. Akūts strutains meningīts var sekot pneimokoku pneimonijai, citas lokalizācijas infekcijai vai var parādīties bez agrāk pamanāmas infekcijas. Tās var attīstīties arī pēc galvaskausa traumas.

Endokardīts, artrīts un peritonīts parasti notiek kopā ar bakterēmiju (3).

Pneimokoku endokardīts ir reti sastopama slimība no visām endokardīta formām, kam parasti ir negatīva prognoze, ar augstu mirstību (26), kas ir saistīta ar novēlētu diagnostiku un komplikāciju biežumu (27). Baktērijas visbiežāk ietekmē aortas vārstuli, tādējādi radot akūto kreisās sirds daļas mazspēju (26). Visbiežākās klīniskās izpausmes ir drudzis un akūta

pneimonija ar progresējošo sirds mazspēju, kas var būt nāvējoša, ja netiek veikta atbilstoša terapija (28).

Pneimokoku septisks artrīts ir reta slimība, kas skar, galvenokārt, vecāka gadagājuma cilvēkus vai cilvēkus ar novājinātu imūno sistēmu. Lielākajai daļai no šiem pacientiem papildus ir vismaz viena locītavu slimība (29). Bērniem visbiežāk mikroorganismi skar gūžas locītavu, bet pieaugušajiem biežāk bojāta ir ceļa locītava un otrā biežākā ir gūžas locītava (30). Acīmredzamas klīniskās pazīmes ir lokāls pietūkums un sāpes, bet var arī paaugstināties temperatūra. Tā komplikācija var būt osteomielīts jeb kaulu smadzeņu iekaisums (31).

Peritonīts ir salīdzinoši reta *S. pneumoniae* infekcijas izpausme, tomēr potenciāli dzīvībai bīstama (32). Parasti tas ir novērots pacientiem ar aknu cirozi un ascītu vai veidojas *de novo* veseliem cilvēkiem. Mazāk izplatīts ir peritonīts, kas rodas, piemēram, kuņģa čūlas vai apendicīta abscesa pacientiem (33).

Strutainais perikardīts var rasties kā komplikācija pneimokoku izraisītai pneimonijai, tomēr tas notiek reti. Ir ļoti svarīgi laicīgi identificēt slimību, jo pat tad, ja tā ir diagnosticēta un nekavējoties ārstēta, mirstības līmenis ir gandrīz 40 %. Nāve visbiežāk ir sirds tamponādes dēļ (34).

S. pneumoniae konjunktivīts ir oftalmoloģiskā infekcija, kas parasti ir labdabīga un reti rada sarežģījumus. Pneimokoki var izraisīt arī endoftalmītu un daudzas citas oftalmoloģiskas infekcijas (35; 36).

1.5. Infekciju ārstēšanas principi

Lielāko daļu *S. pneumoniae* izraisīto infekciju var ārstēt ambulatori ar piemērotiem antibakteriālajiem līdzekļiem, bet pacienti, kam ir pneimokoku meningīts vai bakterēmija, jānovēro slimnīcā, arī zīdaiņi, gados vecākie pacienti, pacienti ar imundeficītu vai ar smagu slimību pazīmēm jānovēro slimnīcā (37).

Penicilīns ir pirmās izvēles medikaments pneimokoku slimību ārstēšanā, tomēr rezistences biežums pret to ir krasi pieaudzis, un šī parādība kļūst par galveno veselības problēmu visā pasaulē (38). Augsta penicilīnu rezistences līmeņa dēļ bieži izmanto trešās paaudzes cefalosporīnus vai fluorohinolonus, piemēram, levofloksacīnu vai gatifloksacīnu (39). Turklāt vankomicīns ir pēdējais izvēles antibakteriālais preparāts meningīta un citu smagu invazīvu infekciju slimību pacientiem, ko izraisa pret penicilīniem nejutīgie celmi. Tas

nozīmē, ka vankomicīns spēj galveno lomu multirezistento pneimokoku infekciju gadījumos (38).

Papildus var tikt izmantoti medikamenti plaušu simptomiem, pretsāpju līdzekļi, intravenozais šķidrums un parenterālais vai enterālais uzturs, skābeklis, un papildus medikamenti, ko nosaka individuāli.

Pacientiem ar sarežģītu pneimoniju var būt nepieciešama krūškurvja caurule, lai veiktu pleirālā šķidruma drenāžu. Dažos infekciju gadījumos var būt nepieciešamā ķirurģiskā iejaukšanās (37).

1.6. *Streptococcus pneumoniae* noteikšanas metodes

Uz asins agara plates *S. pneumoniae* kolonijas ir mazas, pelēkas, mitras, bet dažreiz gļotainas, ar raksturīgu zaļo alfa hemolīzes zonu. Tā atšķir pneimokokus no daudzām sugām, bet ne no *S. viridans*, kas arī veido alfa hemolīzes zonu uz asins agara plates. Jaunas abu sugu kolonijas izskatās līdzīgi, taču tiklīdz pāiet 24 – 48 stundas, pneimokoku kolonijas kļūst plakanākas, un to centrālā daļa kļūst nomākta, kas nenotiek ar *S. viridans*.

Turpmākas specializētās pārbaudes metodes izmanto, lai identificētu pneimokoku kolonijas uz asins agara plates. *S. pneumoniae* var identificēt ar Grama krāsošanas metodi, katalāzes testu un optohīna testu vienlaicīgi, un ar žults šķīdināšanas testu. Ja šie testi liecina, ka izdalītais ir *S. pneumoniae*, tad var veikt seroloģiskus testus, lai noteiktu celmu. Šī testēšanas secība ir efektīvs veids, lai ietaupītu dārgus celmu reaģentus un laiku. Var izmantot arī polimerāzes ķēdes reakcijas (PCR) un citas molekulāras metodes (40).

1.6.1. Grama krāsošanas metode

Grams krāsošanas metodi lieto baktēriju šūnas sienas krāsošanai, kas ļauj atšķirt grampozitīvas baktērijas no gramnegatīvām. Grampozitīvās krāsojas tumši violetā krāsā, gramnegatīvās – sārtā.

Sākumā ir jāpagatavo iztriepe no baktēriju tīrkultūras, jauktas kultūras vai slimnieka materiāla, tad to krāso, nožāvē un apskata mikroskopa palielinājumā (41).

1.6.2. Katalāzes tests

Katalāze ir enzīms, kas noārda ūdeņraža peroksīdu par ūdeni un skābekli. Skābeklis izdalās ārā kā burbuļi šķidrumā. Katalāzes testu galvenokārt izmanto, lai atšķirtu grampozitīvus kokus. Stafilokoki ir katalāzes pozitīvie, streptokoki un enterokoki ir katalāzes negatīvie.

Ar vienreizējo cilpu rūpīgi paņem dažas mikroorganismu kolonijas no asins agara plates un novieto tos uz stikla plāksnītes. Nedrīkst paņemt kādu no asins agara eritrocītiem, jo tests radīs viltus pozitīvu reakciju. Tad pievieno 1 mL 3 % ūdeņraža peroksīdu un sajauc ar baktērijām. Jebkura burbuļošana norāda uz pozitīvu reakciju (40).

1.6.3. Optohīna tests

S. pneumoniae celmi ir jutīgi pret ķīmisko vielu optohīnu jeb etilhidrokupreīna hidrohlorīdu. Šī īpašība ļauj identificēt alfa hemolītisko pneimokoku.

Optohīna diski (P) ir 6 mm lieli diski, kas izgatavoti no augstas kvalitātes absorbējoša papīra. Tie ir piesūcināti ar aptuveni 5,0 µg etilhidrokupreīna hidrohlorīda. Tas ir medikaments, ko izmantoja pneimonijas terapijā pirms bija pieejami sulfonamīdi. Tas inhibē tikai *S. pneumoniae* augšanu, bet neskar citus streptokokus. Tādēļ pneimokokus var atšķirt no citiem alfa hemolītiskiem streptokokiem pēc augšanas inhibīcijas zonas veidošanās ap P disku, kas novietots uz asins agara virsmas, kura masīvi inokulēta ar testējamo *S. pneumoniae* tīrkultūru.

Disku novieto uz triptiāzes sojas agara plates ar 5 % aitas asins piedevu, savukārt agara plates virsma blīvi inokulēta ar baktēriju tīrkultūru. Tad inkubē termostatā aerobos apstākļos 35 ± 1 °C temperatūrā 24 stundas, vai arī cik nepieciešams, lai sasniegtu labu augšanu. Inkubācija ar CO₂ bagātinātu atmosfēru uzlabo augšanas procesu, bet samazina inkubācijas zonas izmēru. Zonas diametru nosaka ar milimetru lineālu vai bīdmēru. *S. pneumoniae* tīrkultūrai augšanas inhibīcijas zonas izmērs ir 14 mm un vairāk. Citām baktērijām diametrs var būt mazāks par 14 mm. Ja zonas diametrs ir starp 6 mm un 14 mm, tad kultūras identifikācija par pneimokoku ir šaubīga, tādēļ to var identificēt kā pneimokoku tikai tad, ja kultūra lizējas žults klātbūtnē. Tomēr, ja zonas nav pavisam – *S. pyogenes* vai *S. faecalis* kultūras (42).

1.6.4. Žults šķīdināšanas tests

Žults jeb nātrija deoksiholāta šķīdināšanas tests atšķir *S. pneumoniae* no visiem citiem alfa hemolītiskiem streptokoku celmiem. *S. pneumoniae* ir žultī šķīstošs, bet visi pārējie alfa hemolītiskie streptokoki ir žults rezistenti.

Nātrija deoksiholāts ir 2 % šķīdums ūdenī jeb žults sāls, kas lizē pneimokoku šūnu sienu.

No asins agara paņem dažas baktēriju kolonijas un ievieto tās 1 mL 0,85 % nātrija hlorīda šķīdumā, lai sasniegtu duļķainības diapazonu no 0,5 – 1,0 pēc *McFarland* standartiem. Sadala šūnu suspensiju vienādās daļās divās mēģenēs – pa 0,5 mL katrā. Pievieno 0,5 mL 2 % nātrija deoksiholāta vienā no mēģenēm, bet otrajā – 0,5 mL 0,85 % nātrija hlorīda šķīdumu, un labi sajauc. Mēģenes inkubē 35 – 37 °C, ogļskābās gāzes klātbūtnē. Ja pēc 10 minūtēm nenovēro duļķainības, turpina inkubēt līdz 2 stundām.

Ja novēro duļķainības mēģenē ar žulti, bet ne ar sāli, tad tests ir pozitīvs – *S. pneumoniae* kolonijas. Ja abas mēģenes paliek duļķainas, tests ir negatīvs, ko rada, piemēram, *S. mitis* (40).

1.6.5. Aglutinācijas tests

Lateksa aglutinācijas testu veic *S. pneumoniae* kapsulārā antigēna noteikšanai. Tas nodrošina ātru *S. pneumoniae* identificēšanu kultūrbarotņū un asins paraugu izolātos.

Testa pamatā ir ar truša antivielām piesūcinātas zilās lateksa daļiņas, kas izžāvētas uz testa kartiņām. Ar šo testu iespējams noteikt lielāko daļu no aprakstītajām pneimokoku seroloģiskajām grupām. Ja paraugā antigēns būs pietiekošā daudzumā, aglutinācijas pārslas veidos Av – Ag kompleksus (42).

1.7. Antibakteriālie līdzekļi

1.7.1. Penicilīni

Penicilīni pieder beta laktāma antibakteriālo līdzekļu grupai, kuru struktūrā ietilpst beta laktāma gredzens (43). To producē dažādas zaļā pelējuma sēņu sugas (*Penicillium notatum*, *Penicillium chrysogenum* u.c.).

Lai gan tagad ir iegūtas daudzas antibiotikas, penicilīni pēc to kopējām īpašībām – augsta aktivitāte, zema toksicitāte un izraisa maz blakusefektu – ir uzskatāmi par vieniem no labākajiem antibakteriālajiem līdzekļiem.

Aktīvākais no penicilīniem ir benzilpenicilīns (G penicilīns), citi penicilīni no tā atšķiras ar to, ka tiem benzilradikāļa vietā ir citi radikāļi (44).

Penicilīnu pretmikrobu darbību izskaidro ar to spēju kavēt baktēriju šūnas sienas veidošanos. Tie nomāc transpeptidāžu, karboksipeptidāžu un citu līdzīgu enzīmu darbību, kas katalizē noslēdzošo peptidoglikāna veidošanās fāzi. Iekļūstot baktērijas šūnā, penicilīni saistās pie proteīnu saistošajiem receptoriem (PBP), kas novietoti citoplazmatiskajā membrānā vai šūnas sienā. Tie arī aktivē autolītiskos enzīmus, kas degradē peptidoglikāna slāni. Rezultātā šūnas siena kļūst vāja, un iekšējā spiediena rezultātā šūna it kā „uzsprāgst” (43; 44).

Mainot oriģinālo molekulu struktūru, ir izveidoti jauni savienojumi ar plašāku antibakteriālo spektru un aktivitāti (43).

Kā visas beta laktāma antibiotikas, penicilīni neiedarbojas uz baktērijām, kam nav šūnapvalka, obligāti intracelulārajām baktērijām, kā arī uz pārsvarā intracelulārām parazitējošām baktērijām un lēni augošajām baktērijām (44).

1.7.2. Cefalosporīni

Cefalosporīni ir plaša antibakteriālo līdzekļu grupa, ko producē sēnes *Cephalosporium*. Atsevišķus savienojumus, kā cefoksilīnu, var producēt arī *Streptomyces* ģints aktinomīces (43).

Cefalosporīni ir beta laktāmi, kuru sastāvs atšķiras no penicilīniem ar to, ka β – laktāma gredzens ir saistīts ar 6 locekļu un nevis 5 locekļu gredzenu kā penicilīniem. Salīdzinot ar

penicilīniem, cefalosporīniem ir divas priekšrocības: tie ir rezistentāki pret beta laktamāzēm un ir vieglāk mainīt savienojumu ķīmisko struktūru, tādējādi iegūstot jaunus preparātus (43).

1.7.3. Glikopeptīdi

Glikopeptīdu antibakteriālie līdzekļi ir aktinomīču produkti. Tiem pieder vankomicīns un teikoplanīns, tomēr praktiski klīnikās lieto vankomicīnu (43).

Vankomicīns pirmo reizi tika iegūts 1955. gadā no sēnes *Streptomyces orientalis*. Sākumā to lietoja reti, tikai smagu stafilokoku infekciju gadījumos, kad slimnieks nepanesa penicilīnu, jo ārsti uzskatīja to par toksisku preparātu. Pēdējos gados interese par vankomicīnu un nepieciešamība pēc tā ir pieaugusi. Šīs intereses un nepieciešamības cēlonis ir pret antibakteriālajiem līdzekļiem rezistentu jaunu grampozitīvu mikroorganismu atklāšana.

Vankomicīnam ir šaurs darbības spektrs, kas traucē baktērijas šūnas sienas sintēzi, iedarbojoties uz šī procesa otro stadiju – inhibē lipīdu – fosfodisaharīda – pentapeptīdu kompleksa izmantošanu glikopeptīdu sintēzē –, izmaina citoplazmatiskās membrānas caurlaidību un spēj selektīvi inhibēt RNS sintēzi (44).

1.7.4. Makrolīdi

Makrolīdi ir aktinomīču producēti bakteriostatiskie līdzekļi, kas iedarbojas uz 50 S ribosomām, kavējot enzīmu translokāzi, un līdz ar to bloķējot peptīdu ķēdes sintēzes iniciāciju. Pie šīs grupas pieder eritromicīns, azitromicīns un klaritromicīns (43; 44).

Makrolīdu molekulārās struktūras pamatā ir raksturīgais makrocikliskais laktona gredzens, kas saistīts ar dažādiem ogļhidrātiem (44). Tie ir vieni no drošākajiem antibakteriālajiem līdzekļiem, jo tiem ir maz blakus efektu. Tos lieto kā penicilīna alternatīvu (43).

Ārstējot infekcijas slimības ar makrolīdiem, mikroorganismi samērā ātri kļūst pret tiem rezistenti, tāpēc tos izmanto kā rezerves antibakteriālus līdzekļus – lieto gadījumos, kad penicilīni un citi līdzekļi ir neefektīvi vai ir to nepanesamība (44).

1.7.5. Linkozamīdi

Linkozamīdi ir aktinomīču producēti bakteriostatiskie līdzekļi – linkomicīns un tā atvasinājums klindamicīns, tie iedarbojas uz 50 S ribosomām (43).

Linkomicīna ķīmisko kodolu veido sēru saturošs oktopiranozīds. Savukārt klindamicīns ir 7-hlor-7-dezoksilinkomicīns, viens no spēcīgākajiem līdzekļiem pret anaerobo mikrofloru (44).

Šie preparāti saistās ar baktēriju ribosomām un nomāc to olbaltumvielu sintēzi. Lai gan linkozamīdu, eritromicīna un hloramfenikola uzbūve ir dažāda, tiem ir viena un tā pati piesaistes vieta, tāpēc tie var savstarpēji traucēt cits cita darbību. Šā iemesla dēļ tos nav ieteicams lietot vienlaicīgi.

Linkomicīns un klindamicīns labi uzsūcas no gremošanas trakta un nokļūst visos audos (izņemot smadzeņu audus), turklāt lielā koncentrācijā nonāk kaulos un locītavās. To darbība atkarībā no koncentrācijas un mikroorganisma jutības var būt gan bakteriostatiska, gan baktericīda. Linkomicīna lietošanu ierobežo antibiotiku izraisītā pseidomembranozā kolīta jeb resnas zarnas iekaisuma attīstības iespēja. Klindamicīns tiek lietots daudz plašāk, galvenokārt penicilīnu alerģijas gadījumā, piemēram, pneimonijas, plaušu abscesa, osteomielīta, peritonīta, iegurņa abscesa un ģenitālā trakta infekciju ārstēšanā. Arī klindamicīns var izraisīt kolītu, toties tas novērojams retāk nekā pie linkomicīna lietošanas – apmēram 4 % gadījumu. Šai komplikācijai raksturīga *Clostridium difficile* savairošanās zarnās, kas izraisa caureju, sāpes vēderā, paaugstinātu temperatūru, kā arī asiņu un gļotu piejaukumu izkārnījumos. Caureju parādīšanās gadījumā jāpārtrauc linkomicīna un klindamicīna lietošana un jānozīmē iekšķīgi vankomicīns vai metronidazols, kas darbojas pret klostrīdijām. Svarīgi zināt, ka klindamicīns nebūt nav vienīgais kolīta izraisītājs, piemēram, arī plaša spektra cefalosporīnu, tetraciklīnu un ampilicīna lietošanas gadījumos pastāv pseidomembranozā kolīta attīstīšanās iespēja (44).

1.7.6. Sulfonamīdi un trimetoprims

Sulfonamīdi ir ķīmiskās sintēzes ceļā iegūti bakteriostatiski preparāti, kas zināmi kopš 1935. gada. Pirmais iegūtais šīs grupas preparāts – sulfanilamīds arī uzlūkojams par pirmo klīniski efektīvo antimikrobo medikamentu.

Sulfonamīdi, inhibējot dihidroprteroātsintetāzi, bloķē tetrahidrofolskābes sintēzi, kas tālāk nepieciešama adenīna, guanīna un timīna sintēzei.

Trimetoprimis ir bakteriostatiskais ķīmiskais preparāts, kurš kā visi sulfonamīdi nomāc folskābes veidošanos, tikai mehānisms ir atšķirīgs – tas nomāc dihidrofolātreduktāzes darbību. Visbiežāk lieto kombinētu terapiju – trimetoprimu kopā ar sulfometoksazolu, jo tiem ir sinerģiska darbība (43).

1.7.7. Hinoloni

Hinoloni ir baktericīdie līdzekļi, kas bioķīmiski ir radniecīgi nalidīnskābei, ko iesāka lietot kā antiseptisku vielu, bet pret to ātri izveidojas baktēriju rezistence. Hinoloni ir pussintētiski preparāti, kas radīti ķīmiskās struktūras pārveides ceļā. Preparātu nosaukumus veido ar vārda nobeiguma esošu – floksacīns, piemēram, ciprofloksacīns, norfloksacīns, levofloksacīns un trovafloksacīns (43).

Hinolonu darbības mehānisma pamatā ir DNS girāzes jeb topoizomerāzes II un DNS topoizomerāzes IV darbību inhibēšana. Tas traucē baktērijas DNS replikāciju un transkripciju, kas noved pie palielināta oksidatīva stresa un baktērijas šūnas nāves (43; 45).

1.8. Rezistence pret antibakteriālajiem līdzekļiem

Mikroorganismu rezistence pret antibakteriālajiem preparātiem ir konkrētas mikroorganismu sugas nejutīgums pret medikamentu (43). Klīniski tas var izpausties kā neefektīva antibakteriāla terapija. Rezistentas baktērijas izdzīvo antibakteriālo līdzekļu klātbūtnē un turpina vairoties, tādējādi paildzinot slimību vai pat izraisot nāvi (46).

Pasaulē pneimokoku celmu variācija un zāļu rezistence ir saistīti ar dažādu antibakteriālo līdzekļu nepareizu pielietošanu (47; 48).

Nopietna situācija ir ar cefalosporīnu un fluorhinolonu grupas antibakteriālo līdzekļu lietošana, jo tās pieder pie plaša spektra antibakteriālajiem līdzekļiem un sasniedz augstas koncentrācijas ādā un samērā ilgstoši izvadās no organisma. Gan tie, gan makrolīdi veicina antibakteriālo līdzekļu rezistences attīstību. Par piemērotākajiem uzskata šaura spektra penicilīnu grupas antibakteriālus līdzekļus, jo to lietošana rezistenci izraisa vismazāk. Līdz ar

to izvairīšanās no plaša spektra antibakteriāliem līdzekļiem ir būtisks rezistences attīstības novēršanas pasākums (46).

S. pneumoniae spēj iekļaut svešus DNS fragmentus savā struktūrā – šo mehānismu sauc par transformāciju – un ar to aizstāj esošo homologisko gēnu. Apmaiņas ceļā pneimokoki iegūst gēnus, kas kodē izmainītus penicilīnus saistošos proteīnus – neuzņēmīgus pret penicilīniem. Līdzīgs mehānisms ir pret cefalosporīniem iegūtai rezistencei (43). Šobrīd ir zināmi seši dažādi penicilīnus saistošie proteīni: 1a, 1b, 2x, 2a, 2b un 3. Rezistentie celmi liecina par mutācijām gēnos, kas kodē 1a, 2x un 2b proteīnus, un šo rezistenci uzskata par iekšsugu un starpsugu gēnu pārneši (47).

Pēdējos gados ir novērota satraucoša tendence – *S. pneumoniae* multirezistence pret makrolīdu un linkozamīdu antibakteriālajiem līdzekļiem (38; 56). Par multirezistentām baktērijām sauc tādus jaunus baktēriju celmus, kas ir rezistenti vienlaikus pret vairākiem antibakteriālajiem līdzekļiem (46).

Rezistence pret makrolīdiem un linkozamīdiem tiek panākta, pateicoties diviem galvenajiem mehānismiem. Viens no mehānismiem ir *ermB* gēna modifikācija. Šis gēns regulē metilāzes producēšanu un maina zāļu vielu saistīšanās vietas konformāciju – notiek ribosomu izmaiņas – 23S rRNS adenīna atlikuma metilēšana ar enzīmu metilāzi, šī metilēšana bloķē makrolīdu – linkozamīdu – streptogramīna B antibakteriālo līdzekļu saistīšanos. Citu vietu izmaiņas *S. pneumoniae* izolātiem notiek reti. Tas ietver 23S rRNS domēnu V un gēnus, kas kodē riboproteīnus L4 un L22. Otrais makrolīdu rezistences mehānisms ir zāļu izvadīšana no šūnas, kas notiek caur šūnu membrānas transportieriem un ir enerģijas atkarīgs process. Šo procesu kodē gēni *mefE* vai *mefA*, un tiem ir 90 % identiskas nukleotīdu secības (47; 48; 49; 50; 51; 52; 53; 54; 55).

Pētījumu dati liecina, ka vankomicīns ir visaktīvākais pret *S. pneumoniae* penicilīnu rezistentiem celmiem, tomēr ir ziņots, ka ir identificētas un aprakstītas arī pret šo antibakteriālo preparātu tolerantas baktērijas (38; 56).

Pašreizējās pamatnostādnes empīriskajā pneimonijas ārstēšanā pacientiem ar blakusslimībām un neseno antibakteriālo terapiju iesaka izmantot respiratorus fluorhinolonus. *S. pneumoniae* rezistence pret šo medikamentu biežāk ir saistīta ar mutācijām hinolonu rezistences noteiktos gēnu *parC* un *parE* reģionos, kas kodē topoizomerāzi IV un *gyrA* un *gyrB*, kas kodē DNS girāzi. Viena *parC* gēna mutācija ir pirmais mutāciju solis, kas piešķir zema līmeņa rezistenci, bet otrs solis ir mutācija *gyrA* gēnā, kas piešķir augsta līmeņa rezistenci (57; 58).

2. METODEDES UN MATERIĀLI

Darba praktiskajai daļai materiāli tika iegūti no Latvijas Infektoloģijas Centra Tuberkulozes un plaušu slimību klīnikas Mikrobioloģiskās laboratorijas. Tika apkopoti dati par identificētajiem 75 *S. pneumoniae* celmiem laika posmā no 2014. gada 1. janvāra līdz 2014. gada 31. decembrim un 117 *S. pneumoniae* celmiem laika posmā no 2015. gada 1. janvāra līdz 2015. gada 31. decembrim, kā arī dati par to jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem. Dati iegūti no laboratorijas informācijas sistēmas par pacientu analīžu rezultātiem. Mikroorganismu identifikācijai patstāvīgi pielietoju *BBLTM TaxoTM P* disku testu un *Oxoid DrySpotTM Pneumo* testu. Lai noteiktu identificēto *S. pneumoniae* jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem, veicu arī *BBLTM* disku difūzijas testu, izmantojot ar dažādām antibakteriālajām vielām piesūcinātus diskus, un *BBLTM E* – testu ar antibakteriālās vielas koncentrācijas skalu teststrēmelmēm. Visi dati tika apstrādāti tabulu procesorā – *Microsoft Excel*.

Bakalaura darba ietvaros ar *BBLTM TaxoTM P* disku testu patstāvīgi tika identificēti 30 *S. pneumoniae* celmi, ar *Oxoid DrySpotTM Pneumo* testu identificēti 26 *S. pneumoniae* celmi. Ar *BBLTM* disku difūzijas testu patstāvīgi tika noteikta 36 *S. pneumoniae* paraugu rezistence pret trim dažādiem antibakteriālajiem līdzekļiem: eritromicīnu, klindamicīnu un vankomicīnu. Ar *BBLTM E* – testu tika noteikta 32 izolēto pneimokoku penicilīna MIC (minimālā inhibējošā koncentrācija).

Darbs tika izstrādāts Latvijas Universitātē, Medicīnas fakultātes Mikrobioloģiskajā laboratorijā laika periodā no 2015. gada septembra līdz 2016. gada februārim.

2.1. *Oxoid DrySpotTM Pneumo* testa izpildes procedūra

Bakalaura darba izstrādāšanas laikā tika apgūta *Oxoid DrySpotTM Pneumo* testa metode, kas ir lateksa aglutinācijas tests, ko veic *S. pneumoniae* kapsulārā antigēna noteikšanai. Tas nodrošina ātru un vienkāršu *S. pneumoniae* identificēšanu kultūrbarotņū un asins paraugu izolātos.

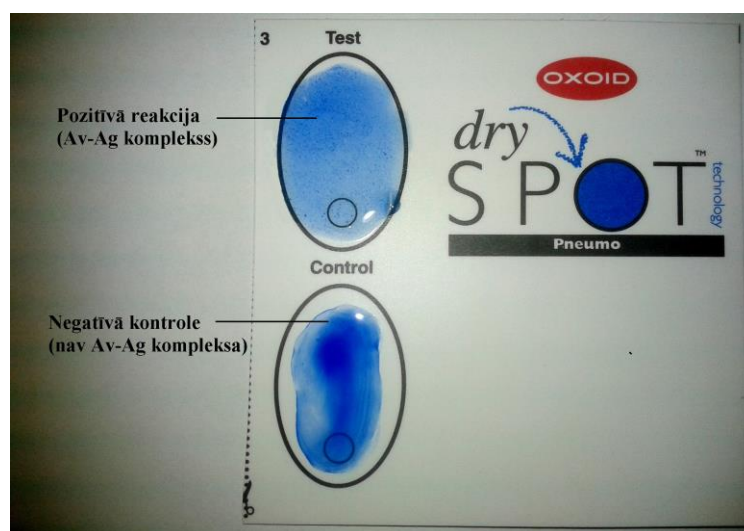
Testa pamatā ir ar truša antivielām piesūcinātas zilās lateksa daļiņas, kas izžāvētas uz testa kartiņām. Ar šo testu iespējams noteikt lielāko daļu no aprakstītajām pneimokoku seroloģiskajām grupām.

2.1.1. Suspensijas iegūšana

Kultūru testēšanai paņem reakcijas kārtiņu, iepilina 1 pilienu PBS reaģenta mazajā aplītī, kas atrodas lielajā aplī, gan testam, gan kontrolei. Ar sterilu mikrobioloģisko cilpu paņem dažas aizdomīgas kolonijas no plates. Emulģē kolonijas PBS buferī tā, lai iegūta suspensija ir viendabīga. Sajauc kultūras suspensiju ar sausā kontroles lateksa punktiem tā, lai viss reakcijas laukums būtu pārklāts. Viegli rotē kārtiņu aptuveni 60 sekundes normālā gaismā.

2.1.2. Rezultātu nolasišana un skaidrojums

Ja reakcijas laukumā 1 vai 2 minūšu laikā būs novērojama aglutinācija, paraugs satur nosakāma līmeni *S. pneumoniae* kapsulārā antigēna (2.1. att.). Rezultāts uzskatams par negatīvi, ja 1 vai 2 minūšu laikā nav novērojama aglutinācija. Kad kontroles nedarbojas, rezultāts nav interpretējams.



2.1. att. *DrySpotTM Pneumo* tests. Pozitīvā reakcija (augšā) un negatīvā kontrole (apakšā)

2.2. *BBL™ Taxo™ P* diska testa izpildes procedūra

Bakalaura darba izstrādāšanas laikā tika apgūta *BBL™ Taxo™ P* diska metode, ar ko identificē alfa hemolītisko pneimokoku, tādējādi, ka optohīns inhibē tikai *S. pneumoniae* augšanu, bet neskar citus streptokokus. Diski ir piesūcināti ar ķīmisko vielu – etihipokupreīna hidrohlorīdu jeb optohīnu.

2.2.1. P diska uzlikšanas kārtība

Testējamo kultūru ar alfa hemolīzi biezi uzsēj uz 5 % aitas asins agara. Ar sterilu pinceti vai ar vienas patronas disku dispenseru novieto P disku uz blīvi inokulētās ar baktēriju tīrkultūru triptiāzes sojas agara plates virsmas. Disku novieto inokulēto baktēriju tīrkultūras centrā (2.2. att.). Inkubē termostatā aerobos apstākļos 35 ± 1 °C temperatūrā 24 stundas, vai arī cik nepieciešams, lai sasniegtu koloniju labu augšanu. Inkubācija ar ogļskābo gāzi bagātinātu atmosfēru uzlabo augšanas procesus, bet samazina inkubācijas zonas izmēru.



2.2. att. *BBL™ Taxo™ P* diska uzlikšana

2.3.1. Inokulāta pagatavošana – kultivēšanas metode

Suspensijas pagatavošana tieši no kolonijas. Uz agara plates izvēlas vismaz 3 līdz 5 pēc izskata vienādas atsevišķi izolētas mikroorganismu kolonijas (2.4. att.). Kultivēšanas metodei piemērota alternatīva ir tieša koloniju suspensiju pagatavošana buljonā vai fizioloģiskajā šķīdumā. Tam nepieciešamas baktēriju kolonijas, kas augušas 18 – 20 stundas uz neselektīva agara plates (piem., 5 % asins agara). Suspensijas blīvums tiek mērīts vai salīdzināts ar 0,5 *McFarland* standartu.



2.4. att. *S. pneumoniae* kolonijas uz asins agara plates

2.3.2. Uzsēšana uz testa platēm

15 minūšu laikā no uzsēšanai paredzētās suspensijas koriģēšanas tajā tiek ievietots sterils vates tampons, ko dažas reizes parotē suspensijā. Lai likvidētu lieko inokulāta daudzumu tamponā, to stingri nospiež pret stobriņa iekšējo sienu virs šķidrums līmeņa.

Blīvi velkot svītras ar tamponu pa visu sterilās agara plates virsmu, suspensija tiek uzsēta uz *Mueller – Hinton* agara barotnes, uz kuras nav lieka kondensāta. Šāda darbība kopā tiek atkārtota trīs reizes, katru reizi plati pagriežot par 60°, tādējādi nodrošinot inokulāta vienmērīgu uzsēšanu.

Vāku var atstāt pusvirs uz 3 līdz 5, bet ne vairāk par 15 minūtēm, tādējādi likvidējot lieko virsmas mitrumu pirms ar antibakteriālo vielu piesātināto disku uzlikšanas.

2.3.3. Disku uzlikšana

Jau iepriekš izvēlētu antibakteriālo preparātu diski tiek uzlikti uz uzsētās agara plates. Lai nodrošinātu pilnīgu kontaktu, katru disku viegli piespiež agara virsmai. Gan diskus uzliekot atsevišķi pa vienam, gan izmantojot disku dispenseru, tos jāizkārto tā, lai tie neatrastos tuvāk kā 24 mm attālumā no viena diska centra līdz otra diska centram. Parasti uz 150 mm plates var uzlikt ne vairāk kā 12 diskus, uz 100 mm plates – ne vairāk kā 6. Disku nevajadzētu pārvietot, ja tas jau saskāries ar agara virsmu, tā kā daži preparāti difundē gandrīz momentāni. Nejauši izkritušā diska vietā ņem jaunu un liek uz agara plates citā vietā.

2.3.4. Rezultātu nolasišana un skaidrojums

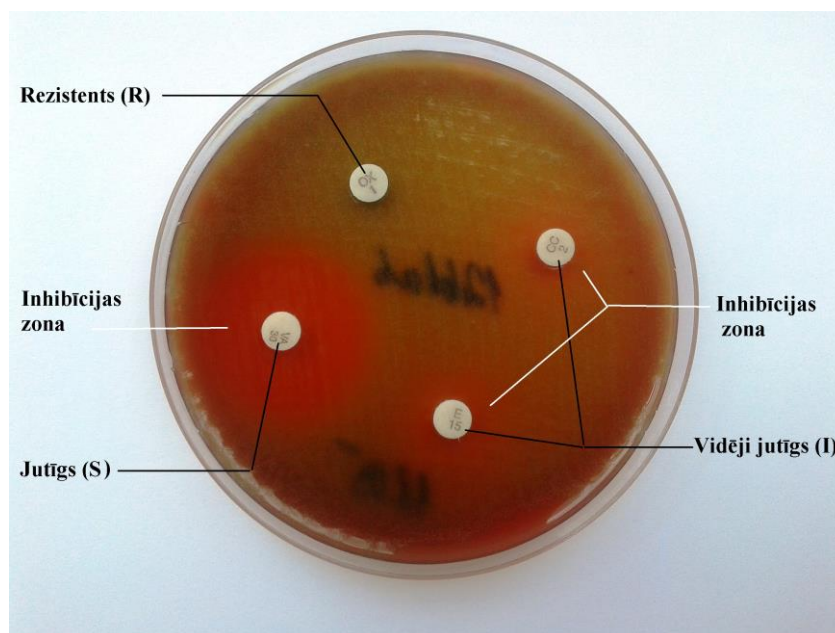
Agara plati apskata pēc 18 līdz 24 stundu kultivēšanas. Ja plate ir apmierinoši uzsēta un inokulāts ir atbilstoša blīvuma, tad iegūtās augšanas aiztures zonas būs vienmērīgi apaļas un būs saplūstoša kultūras augšana. Ja inokulāts bijis ar nepietiekamu optisko blīvumu, būs novērojama augšana atsevišķu koloniju veidā, un tests ir jāatkārto. Pilnas inhibīcijas zonas diametru mēra rezultātā ietverot arī paša diska diametru. Par zonas robežu pieņem skaidri redzamu izaugušas kultūras vietu, ko var noteikt ar neapbruņotu aci.

Ņemot par pamatu inhibīcijas zonu izmēru skaidrojošās tabulas, organismus pret pārbaudāmiem preparātiem novērtē kā jutīgus (S), vidēji jutīgus (I) un rezistentus (R) (2.5. att.):

1. Jutīgs: Nozīmē, ka mikroorganisma celma ierosināto infekciju var ārstēt, ar šai infekcijai un infekciju ierosinātājam sugām ieteikto antibakteriālo preparātu parastās devās, ja nav kontraindikāciju.

2. Vidēji jutīgs: Pie vidēji jutīgām kultūrām pret antibakteriālo preparātu pieskaita tās, kurām preparāta MIC parasti var sasniegt asinīs vai audos un šīs kultūras jutība pret šo preparātu ir mazāka nekā jutīgām kultūrām. Klīnikā preparātu, pret kuru kultūra ir vidēji jutīga, lieto, ja preparāts fizioloģiski koncentrējas noteiktās organisma vietās (piem., beta laktāmi un hinoloni). Pie „vidējas jutības” pieder arī robežzona, kurai jānovērš nelielas tehniskas neatbilstības, lai novērstu lielākas interpretēšanas kļūdas, īpaši preparātiem ar šauru farmakotoksicitātes diapazonu.

3. **Rezistents:** Rezistentos celmus nevar nomākt un klīnisko efektu nevar sasniegt ar ieteikto antibakteriālo preparātu parastām devām vai arī, ja mikroorganismam piemīt specifisks rezistences mehānisms (piem., beta laktamāzes).



2.5. att. *S. pneumoniae* BBLTM disku difūzijas tests

Pētījumā izmantoto antibakteriālo līdzekļu koncentrācijas diskos:

Klindamicīns – 30 µg

Eritromicīns – 30 µg

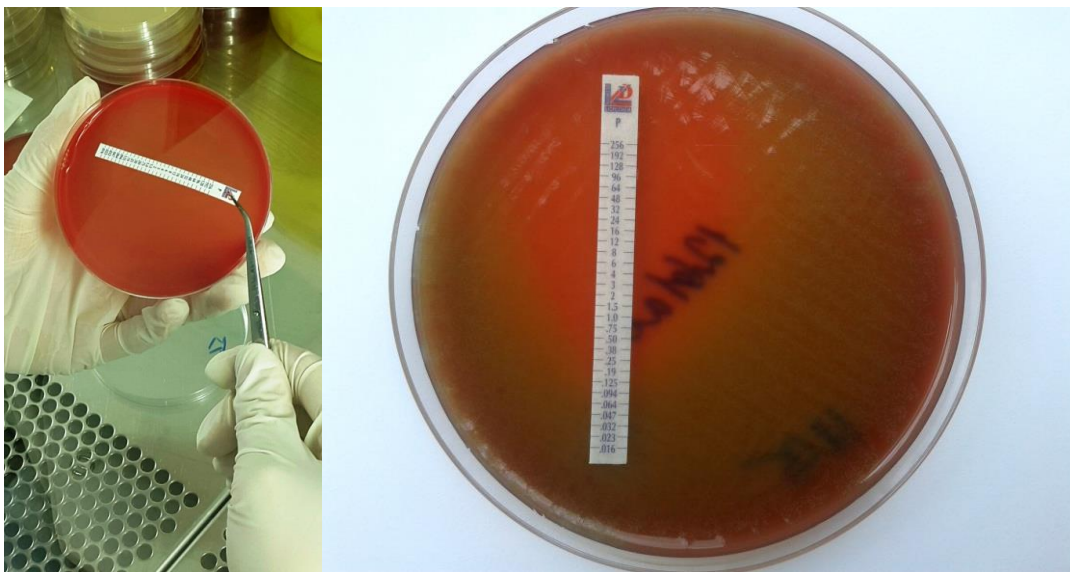
Vankomicīns – 1 µg.

2.4. BBLTM E – testa izpildes procedūra

BBLTM E – tests tika apgūts bakalaura darba izstrādāšanas laikā. Testa pamatā ir baktēriju minimālās inhibējošās koncentrācijas (MIC) noteikšana mikroorganismu tīrkultūrā. BBLTM E – testa veikšanai izmantotas teststrēmeles ar antibakteriālās vielas koncentrācijas skalu (*Beckton, Dickinson and Company, ASV*).

Inokulēšanai izmanto mikroorganismu suspensiju, duļķainība atbilstoši 0,5 *McFarland* standarta vienībām. Testa veikšanai lieto *Mueller – Hinton* agaru, uz ko uzsēj pagatavoto mikroorganismu suspensiju. Uzliek teststrēmeli ar antibakteriālās vielas koncentrācijas skalu. Agara plati inkubē 35 ± 1 °C temperatūrā 24 stundas. Ap teststrēmeli veidojas elipsveida

augšanas inhibīcijas zona (2.6. att.). To novērtē atbilstoši interpretācijas kritērijiem (CLSI M100 – S24, 2014).



2.6. att. *BBL™ E* – testa izpilde (pa kreisi) un pret penicilīnu jutīgs *S. pneumoniae* (pa labi)

Laboratorijā *BBL™ E* – tests tika pielietots 32 *S. pneumoniae* izolātiem, jutības noteikšanai pret benzilpenicilīnu. Tā MIC koncentrācijas skala ir no 0,032 – 256 μmL .

2.5. Izmantotie materiāli un aparātūra

- Cilpas 10 μl , kas tika pielietotas uzsējumu veikšanai;
- Ledusskapis, kurā plates tika turētas noteiktu laiku – *Electrolux*, Zviedrija;
- Laminārais plūsmas skapis – *Kosair*, KR 130BIOWIZARD, Somija;
- Termostats – *Heraeus* + 37 °C, Function Line;
- *BBL™ Taxo™* diski – *BioMérieux*, Francija
- *BBL™ E* – testa stripi – *Liofilchem*, Itālija;
- *DrySpot™ Pneumo Test* reakcijas kartiņas – *Oxoid*, Anglija;
- Densitometrs – *Biomerieux*, Francija;
- Autoklāvs – *Novara*, Itālija;
- Disku dispensers – *Conda*, Spānija.

2.5.1. Mikrobioloģiskās barotnes

- *Tryptone soya agar* (Oxoid, CM0131) ar 5 % asins piedevu

Sastāvs g/L:

Triptons – 15,0

Sojas peptons – 5,0

Nātrija hlorīds – 5,0

Agars – 15,0

Aitas asinis – 50 mL

Barotnes pH 7,1 – 7,5

38 g sausās barotnes izšķīdina 1000 mL destilēta ūdens, autoklāvē 121 °C temperatūrā 15 minūtes. Atdzesētai līdz 47 – 49 °C barotnei pievieno aitas asinis.

- *Mueller – Hinton agar* (Scharlau, 01 – 136) ar 5 % asins piedevu

Sastāvs g/L:

Peptons – 17,5

Liellopa gaļas ekstrakts – 2,0

Ciete – 1,5

Agars – 17,0

Barotnes pH 7,1 – 7,5

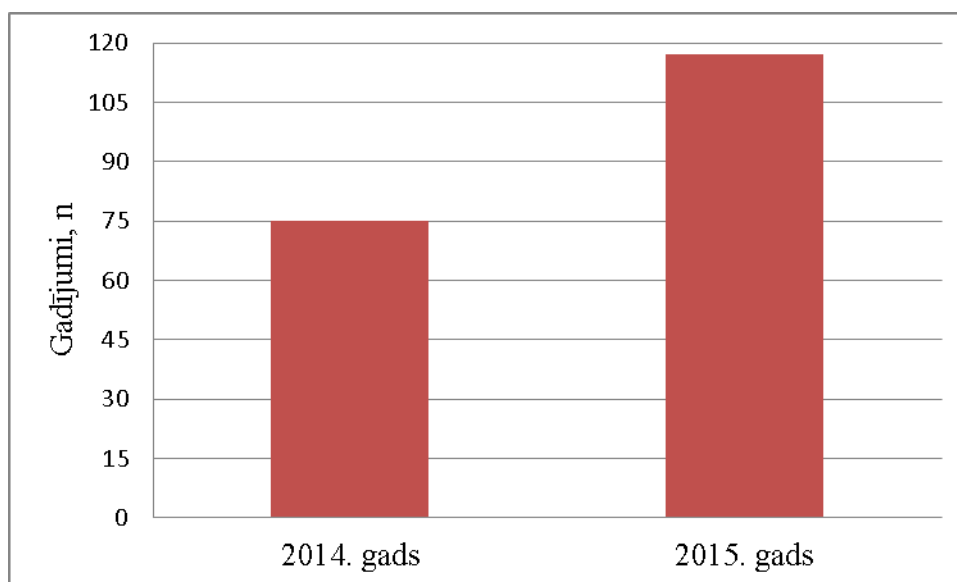
58 g sausās barotnes izšķīdina 1000 mL destilēta ūdens, autoklāvē 121 °C temperatūrā 20 minūtes.

Sagatavotām barotnēm veic mikrobioloģisko kontroli, lietojot pozitīvās un negatīvās kontroles mikroorganismus (LVS EN ISO 17025:2005). Uzglabā sagatavotas barotnes ledusskapī pie 2 – 8 °C temperatūras ne ilgāk kā 7 dienas.

3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Pētījumā tika apkopoti dati par *S. pneumoniae* izolēšanu Tuberkulozes un plaušu slimību klīnikas Mikrobioloģiskajā laboratorijā. Laikā posmā no 01.01.2014. līdz 31.12.2014. no klīniskā materiāla (krēpas, bronhu skalojumi) tika izolēti 75 *S. pneumoniae* celmi, no kuriem 32 izolāti bija identificēti no pacientu krēpām, un 43 izolāti bija no bronhu skalojumiem; laika posmā no 01.01.2015. līdz 31.12.2015. tika izolēti 117 *S. pneumoniae* celmi, no kuriem 41 izolāts bija no pacientu krēpām, un 76 – no bronhu skalojumiem.

Vieglākai uztverei izolēto *S. pneumoniae* celmu skaita salīdzinājums 2014. un 2015. gados tika attēlots 3.1. attēlā. Redzams, ka 2015. gadā (n-117) identificēto pneimokoku daudzums palielinājās par 42 gadījumiem, salīdzinot ar 2014. gadu (n-75).

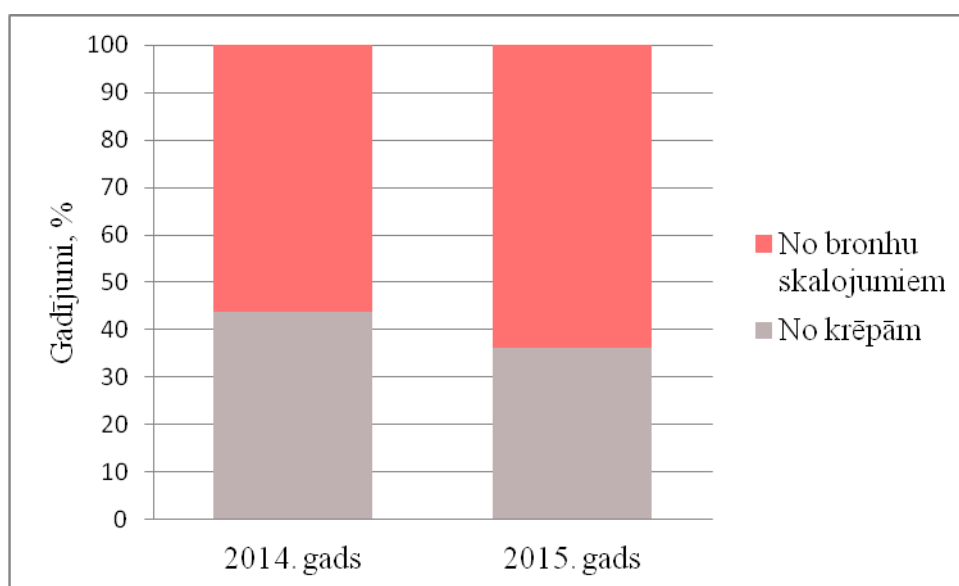


3.1. att. *S. pneumoniae* identificēšana laboratorijā, 2014. – 2015. g.

ECDC mājaslapā iegūti dati liecina par to, ka Latvijā 2014. gadā bija identificēti 2,55 *S. pneumoniae* hemokultūras gadījumi uz 100 000 iedzīvotāju; 2013. g. – 2,77; 2012. g. – 2,74; 2011. g. – 2,46; 2010. g. – 0,75; 2009. g. – 0,32. Redzams, ka Latvijā no 2009. g. līdz 2013. g. identificēto *S. pneumoniae* gadījumu skaits bija palielinājies katru gadu, bet 2014. g. skaitlis ir samazinājies par 0,22 gadījumiem uz 100 000 iedzīvotāju, salīdzinot ar 2013. gadu. Savukārt ES/EET valstīs 2014. gadā uz 100 000 iedzīvotājiem ir identificēti 4,40 *S. pneumoniae* hemokultūras gadījumi; 2013. g. – 5,01; 2012. g. – 5,22; 2011. g. – 5,23; 2010. g. – 5,59. ES/EET valstu kopīgais no pacientu asins izdalīto pneimokoku skaits katru gadu ir samazinājies. Salīdzinot ES/EET datus ar datiem par Latvijā, kas aprakstīti augstāk, ES/EET

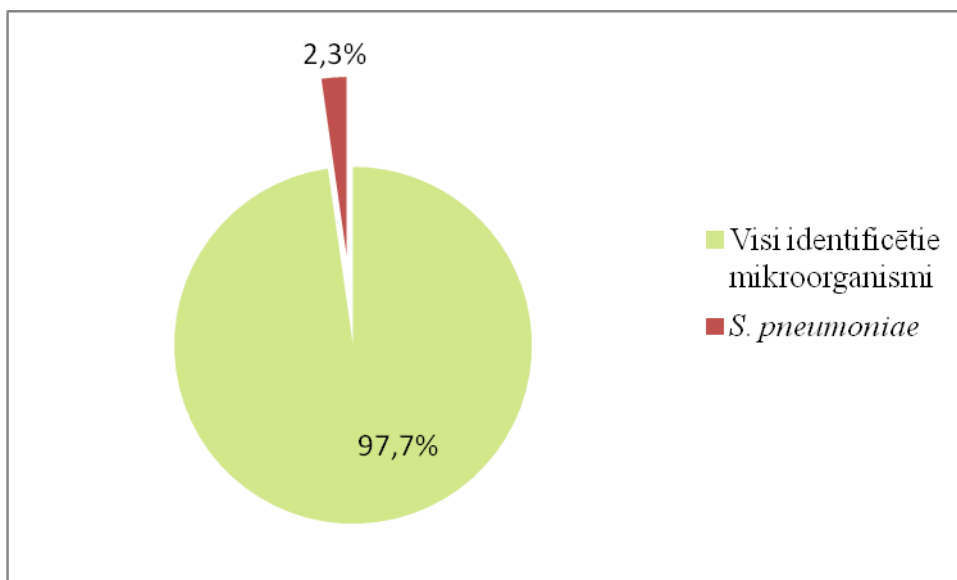
valstīs katru gadu izolēto pneimokoku skaits samazinājies, bet Latvijā otrādi, līdz 2013. g., to ieskaitot, identificēto pneimokoku skaits ir palielinājies, un tikai 2014. g. tas ir samazinājies līdz skaitlim, kas ir mazāks par 0,22 nekā 2013. gadā, bet lielāks par 0,19, nekā 2012. gadā.

TPSC laboratorijā *S. pneumoniae* tika izdalīti no pacientu krēpām un bronhu skalojumiem. 2014. g. no 75 izolētiem *S. pneumoniae* celmiem, 43,8 % (n-32) bija no pacientu krēpām, un 56,2 % (n-43) bija no bronhu skalojumiem; 2015. g. no izolētiem 117 *S. pneumoniae* celmiem, 36,1 % (n-41) bija no pacientu krēpām, un 63,9 % (n-76) – no bronhu skalojumiem (3.2. att.). 2015. g. no pacientu krēpām identificēto baktēriju daudzums samazinājās par 7,7 %, salīdzinot ar 2014. g., bet no bronhu skalojumiem – palielinājās par 7,7 %.



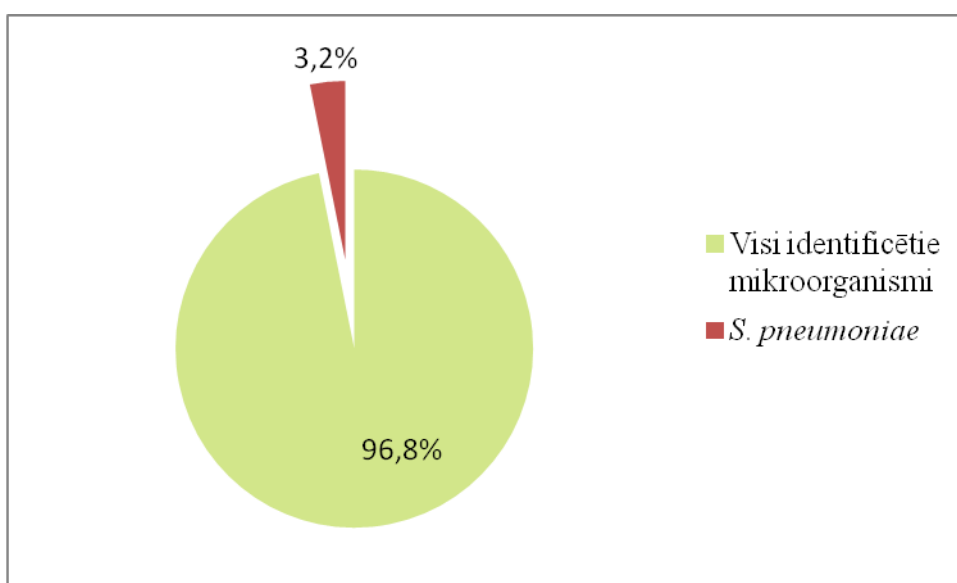
3.2. att. *S. pneumoniae* izolētas no krēpām un bronhu skalojumiem, 2014. – 2015. g.

Pētījumā tika noteikts identificēto *S. pneumoniae* daudzums arī starp citu mikroorganismu sugām. No kopējo laboratorijā no pacientu materiāliem izolēto mikroorganismu skaita (n-3238), laika posmā no 01.01.2014. līdz 31.12.2014. *S. pneumoniae* tika celmi identificēti 2,3 % jeb 75 gadījumos (3.3. att.).



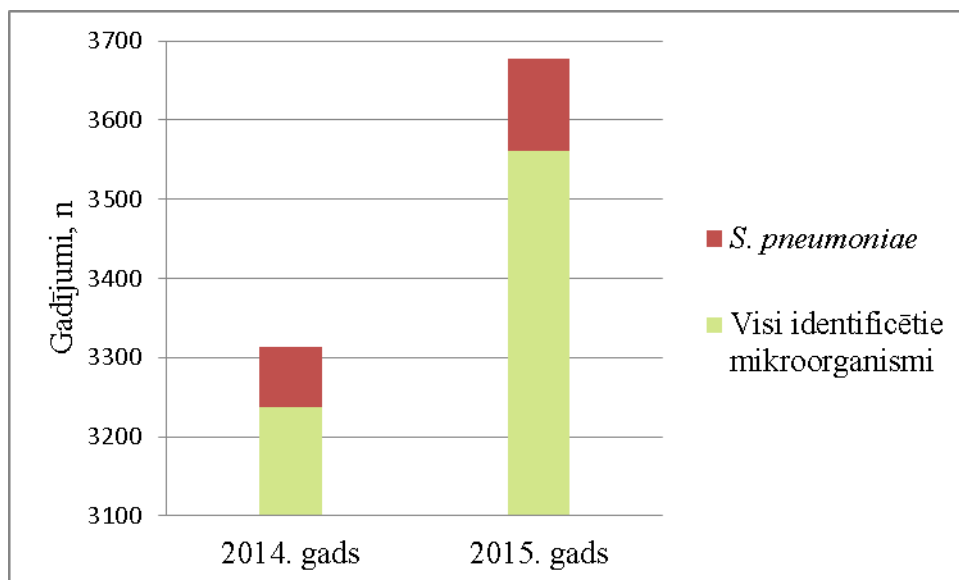
3.3. att. Identificētie *S. pneumoniae*, 2014. gads

Laika posmā no 01.01.2015. līdz 31.12.2015. no kopējo izolēto mikroorganismu skaita (n-3561), *S. pneumoniae* celmi bija identificēti 3,2 % jeb 117 gadījumos (3.4. att.).



3.4. att. Identificētie *S. pneumoniae*, 2015. gads

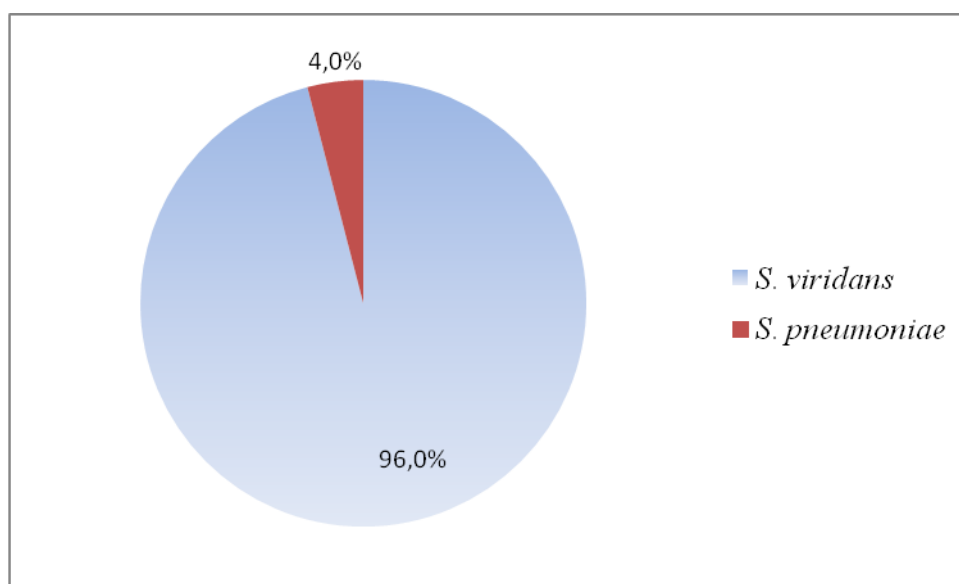
2015. g. no klīniskā materiāla izolēto 3,2 % (n-117) *S. pneumoniae* daudzums starp citiem mikroorganismiem (n-3238) ir palielinājies par 0,9 %, salīdzinot ar 2014. g. identificētiem 2,3 % (n-75) *S. pneumoniae* celmiem starp visiem citiem izolētiem mikroorganismiem (n-3561). 3.5. attēlā tiek apkopoti dati par izolētiem *S. pneumoniae* celmiem, salīdzinot ar citiem mikroorganismiem 2014. un 2015. gados.



3.5. att. Izolēto *S. pneumoniae* salīdzinājums ar citu mikroorganismu sugām, 2014. – 2015. g.

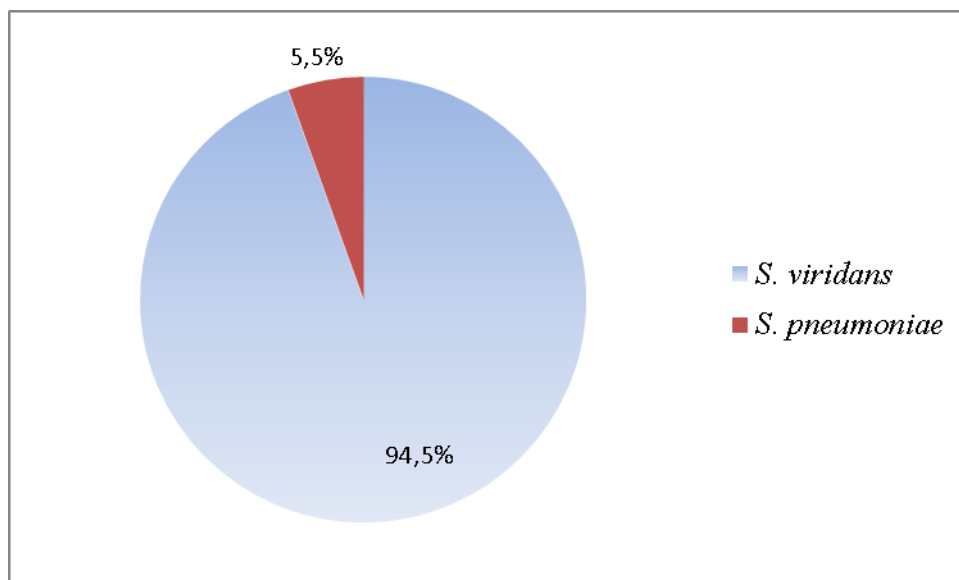
Pētījumā tika analizēti arī dati par *S. viridans*, jo tas biežāk tiek izdalīts no pacientu klīniskā materiāla nekā citi streptokoki. No *S. pneumoniae* to var atšķirt ar optohīna testu, jo optohīns neinhibē *S. viridans* augšanu, atšķirībā no pneimokokiem.

Laika posmā no 01.01.2014. līdz 31.12.2014. no izdalītajiem streptokokiem tika identificēti 75 *S. pneumoniae* celmi jeb 4,0 % un 1780 *S. viridans* celmi jeb 96,0 % (3.6. att.).



3.6. att. *S. pneumoniae* un *S. viridans* salīdzinājums, 2014. gads

Laika posmā no 01.01.2015. līdz 31.12.2015. no izdalītajiem streptokokiem tika identificēti 117 *S. pneumoniae* celmi jeb 5,5 % un 2012 *S. viridans* celmi jeb 94,5 % (3.7. att.).



3.7. att. *S. pneumoniae* un *S. viridans* salīdzinājums, 2015. gads

Salīdzinājumā ar *S. viridans* celmiem, *S. pneumoniae* celmi, kas izolēti 2015. gadā, bija identificēti par 1,5 % gadījumu vairāk nekā 2014. gadā. Savukārt izolēto *S. viridans* celmu daudzums 2015. g. sastāda 53,1 % (n-2012), bet 2014. g. tas ir 46,9 % (n-1780). Kā redzams, izolēto *S. viridans* celmu daudzums palielinājās par 232 gadījumiem jeb 6,2 %.

Visiem identificētajiem *S. pneumoniae* celmiem tika noteikta antibakteriālā jutība pret laboratorijā biežāk pielietotajiem antibakteriālajiem līdzekļiem: klindamicīnu, eritromicīnu, penicilīnu un vankomicīnu. Jutība pret klindamicīnu, eritromicīnu un vankomicīnu tika noteikta ar *BBLTM* disku difūzijas testu, bet pret penicilīnu ar *BBLTM* E – testu.

3.1. tabula

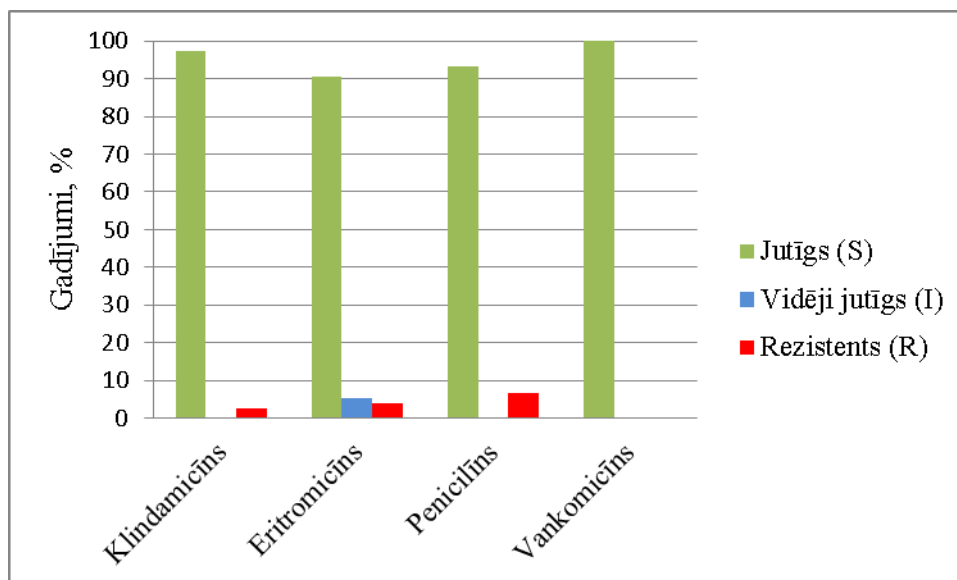
S. pneumoniae jutība pret antibakteriālajiem preparātiem 75 izolātos (skaits/%), 2014. gads

	Jutīgs (S)	Vidēji jutīgs (I)	Rezistents (R)
Klindamicīns	73 (97,3 %)	—	2 (2,7 %)
Eritromicīns	68 (90,7 %)	4 (5,3 %)	3 (4,0 %)
Penicilīns	70 (93,3 %)	—	5 (6,7 %)
Vankomicīns	75 (100 %)	—	—

Rezultāti norāda, ka 2014. gadā izolēti *S. pneumoniae* bija jutīgi pret klindamicīnu 97,3 % (73 celmi), rezistenti – 2,7 % (2 celmi). Novērojot rezistenci pret eritromicīnu, jutīgi bija

90,7 % (68 celmi), vidēji jutīgi – 5,3 % (4 celmi), rezistenti – 4,0 % (3 celmi). Pret penicilīnu identificēti jutīgi – 93,3 % (70 celmi), rezistenti – 6,7 % (3 celmi). Pret vankomicīnu no izolētajiem 75 *S. pneumoniae* visi tika identificēti kā jutīgi celmi (3.1. tabula).

Labākai rezultātu uzskatāmībai, visi dati ir sakārtoti arī diagrammā (3.8. att.).

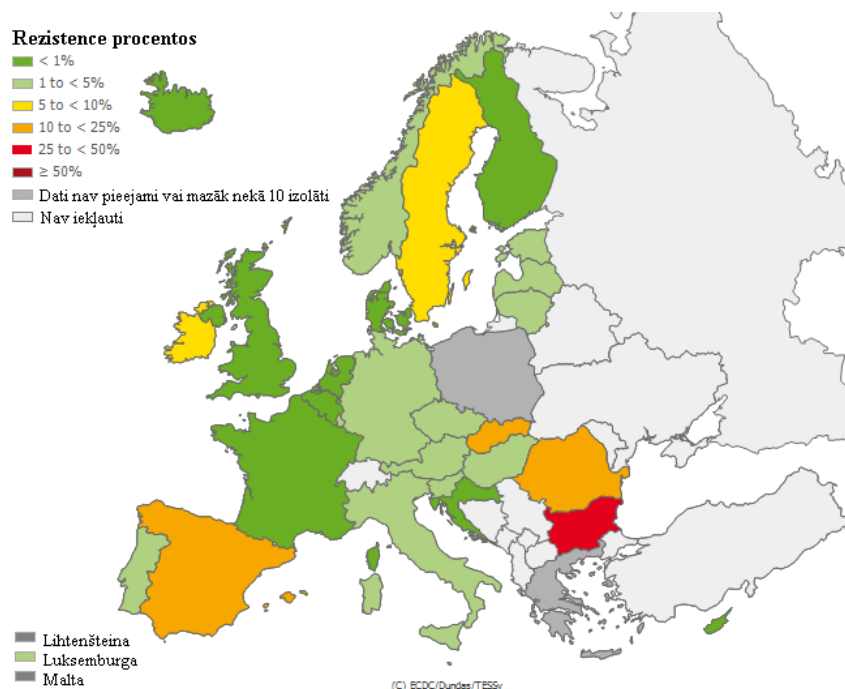


3.8. att. *S. pneumoniae* jutība pret antibakteriālajiem līdzekļiem, 2014. gads

Aplūkojot datus, kas paņemti no ECDC mājaslapas – Latvijā 2014. gadā no asins bija identificēti 4,1 % (n-2) pret makrolīdiem rezistenti *S. pneumoniae* celmi. Manā pētījumā tika noteikta rezistence pret makrolīdiem pneimokokiem, kas identificēti no krēpām un bronhu skalojumiem, bet to kopējais rezistentu celmu daudzums – 4 % (n-3) ir tuvu – par 0,1 % mazāk – Latvijā no asins izdalīto pneimokoku rezistentu celmu daudzumam. Savukārt TPSC ir identificēti arī celmi ar vidējo jutību – 5,3 % (n-4). Pret penicilīniem rezistenti, pēc ECDC datiem, Latvijā bija 4,2 % (n-2) *S. pneumoniae* celmi, kas ir par 2,5 % mazāk, salīdzinot ar mana pētījuma rezultātiem – 6,7 % (n-5).

Makrolīdu rezistence Latvijā, pēc ECDC datiem, no 2010. g. līdz 2014. g. stipri mainījās: 2010. g. – 5,3 % (n-2); 2011. g. – 0,0 %; 2012. g. – 4,7 % (n-3); 2013. g. – 1,5 % (n-1); 2014. g. – 4,1 % (n-2). Arī penicilīna rezistence Latvijā tajā pašā laika posmā mainījās: 2010. g. – 5,7 % (n-2); 2011. g. – 10,0 % (n-4); 2012. g. – 6,3 % (n-4); 2013. g. – 11,9 % (n-8); 2014. g. – 4,2 % (n-2). Rezistence pret makrolīdiem svārstījās no 0,0 % - 5,3 %, bet pret penicilīnu no 4,2 % - 10,0 %.

Labākai uzskatīšanai ielikti divi attēli – 3.9. un 3.10. – no EARS – Net datubāzes, kurās labi redzama *S. pneumoniae* antibakteriālā rezistence pret penicilīnu un makrolīdiem gan Latvijā, gan vairākās citās valstīs 2014. gadā.

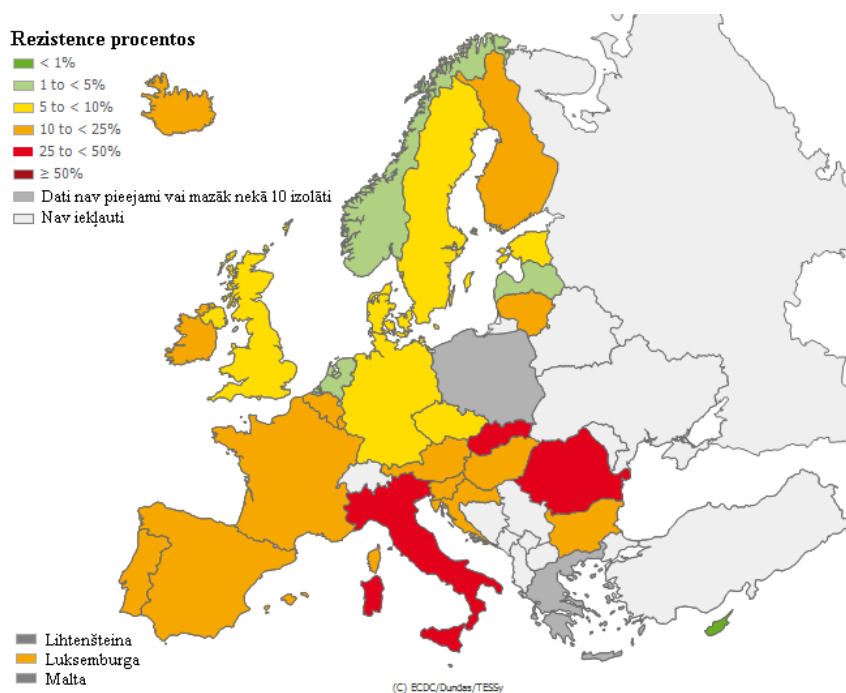


3.9. att. EARS – Net dati par *S. pneumoniae* rezistenci pret penicilīniem, 2014. gads (59)

Attēlā 3.9. ir aplūkota *S. pneumoniae* rezistence pret penicilīniem 2014. gadā. Visvairāk rezistento celmu daudzums ir novērots Bulgārijā, kur to daudzums ir no 25,0 % līdz 50,0 %. Tādās valstīs, kā Spānija, Rumānija un Slovākija rezistenti celmi pret penicilīniem ir no 10,0 % līdz 25,0 %. Zviedrijā un Īrijā – no 5,0 % līdz 10,0 %. Savukārt Latvijā *S. pneumoniae* ir rezistenti no 1,0 % līdz 5,0 %, kā arī Igaunijā, Lietuvā, Vācijā, Norvēģijā, Čehijā, Austrijā, Slovēnijā, Ungārijā, Itālijā, Portugālē un Luksemburgā. Mazāk nekā 1,0 % ir Somijā, Islandē, Anglijā, Francijā, Nīderlandē, Beļģijā, Dānijā, Horvātijā un Kiprā.

Salīdzinot datus no EARS – Net par hemokultūru rezistento celmu rezultātiem, kas bija līdz 5,0 %, ar mana pētījuma rezultātiem, var redzēt, ka TPSC Mikrobioloģiskajā laboratorijā identificēti 6,7 % (n=5) rezistenti pret penicilīniem *S. pneumoniae* celmi, kas ir vairāk par 1,7 %.

Attiecīgi 3.10. attēlā ir aplūkota *S. pneumoniae* rezistence pret makrolīdiem 2014. gadā. Visvairāk rezistento celmu daudzums ir novērots Rumānijā, Slovākijā un Itālijā, kur to daudzums ir no 25,0 % līdz 50,0 %. Islandē, Somijā, Lietuvā, Īrijā, Portugālē, Spānijā, Francijā, Beļģijā, Austrijā, Slovēnijā, Horvātijā un Ungārijā rezistenti celmi pret makrolīdiem ir no 10,0 % līdz 25,0 %. Zviedrijā, Anglijā, Vācijā, Dānijā, Igaunijā, Čehijā un Luksebrurgā – no 5,0 % līdz 10,0 %. Savukārt Latvijā *S. pneumoniae* ir rezistenti no 1,0 % līdz 5,0 %, kā arī Norvēģijā, Nīderlandē un Kiprā.



3.10. att. EARS – Net dati par *S. pneumoniae* rezistenci pret makrolīdiem, 2014. gads (59)

Salīdzinot abus antibakteriālus līdzekļus, pēc EARS – Net datiem, baktēriju rezistence pret tiem Latvijā 2014. gadā ir līdzīga – no 1,0 % līdz 5,0 %. Salīdzinot šos datus ar mana pētījuma rezultātiem, TPSC laboratorijā identificēti 4,0 % (n-3) rezistenti pret makrolīdiem *S. pneumoniae* celmi, kas ir līdzīgi Latvijā novērotām rezultātam – no 1,0 % līdz 5,0 %.

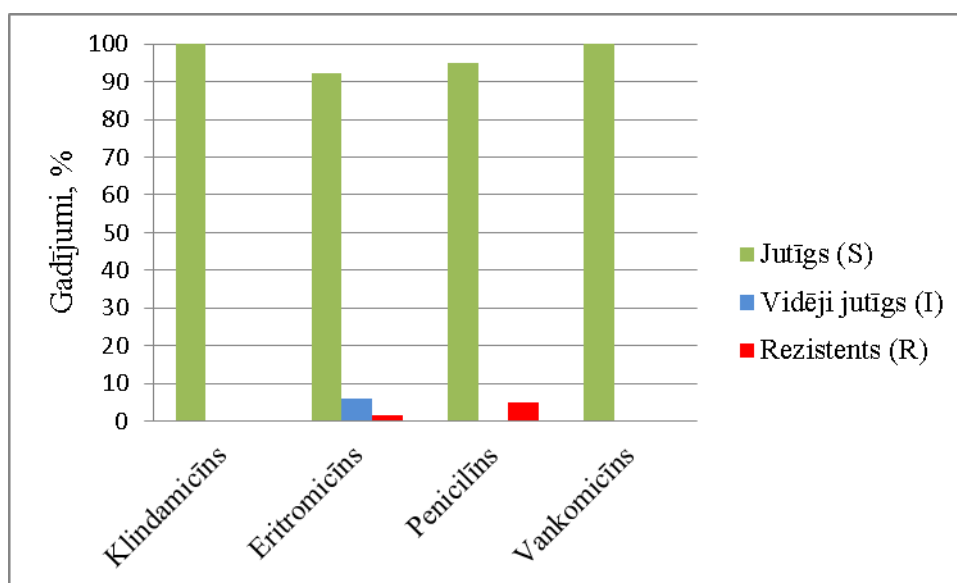
Izolēti 2015. gadā visi 117 *S. pneumoniae* bija jutīgi pret klindamicīnu un vankomicīnu. Pret eritromicīnu 92,3 % (108 celmi) identificēti kā jutīgi, 6,0 % (7 celmi) – vidēji jutīgi, 1,7 % (2 celmi) – rezistenti. 94,9 % (111 celmi) jutīgi pret penicilīnu un pārējie 5,1 % (6 celmi) rezistenti pret to (3.2. tabula).

3.2. tabula

S. pneumoniae jutība pret antibakteriālajiem preparātiem 117 izolātos (skaits/%), 2015. gads

	Jutīgs (S)	Vidēji jutīgs (I)	Rezistents (R)
Klindamicīns	117 (100 %)	—	—
Eritromicīns	108 (92,3 %)	7 (6,0 %)	2 (1,7 %)
Penicilīns	111 (94,9 %)	—	6 (5,1 %)
Vankomicīns	117 (100 %)	—	—

Arī šo rezultātu labākai uzskatāmībai, visi dati ir sakārtoti diagrammā (3.11. att.).



3.11. att. *S. pneumoniae* jutība pret antibakteriālajiem līdzekļiem, 2015. gads

Mana pētījumu dati liecina, ka 2014. un 2015. gados TPSC Mikrobioloģiskajā laboratorijā visi izolēti *S. pneumoniae* celmi bija 100 % (n-192) jutīgi pret vankomicīnu. Citu pētījumu dati arī rada, ka visefektīvākais pret *S. pneumoniae* penicilīnu rezistentiem celmiem ir vankomicīns (60; 61; 62; 63), tomēr ir ziņots, ka ir identificētas un aprakstītas arī pret šo antibakteriālo preparātu rezistentas baktērijas (38; 55).

Salīdzinot ar Dianas Butakovas 2011. gadā Latvijas Infektoloģijas Centra TPSC Mikrobioloģiskajā laboratorijā veikto pētījumu par mikroorganismu rezistenci pret antibakteriālajiem līdzekļiem, rezultāti, kas attiecas uz vankomicīna jutību, sakrīt ar šī pētījuma rezultātiem – visi 2011. g. (n-118), 2014. g. (n-75) un 2015. g. (n-117) *S. pneumoniae* celmi bija pret vankomicīnu jutīgi. Pret klindamicīnu D. Butakovas, 2011, pētījumā bija 100 % (n-118) rezistence, taču šī pētījuma rezultāti uzrādīja, ka 2014. gadā 2,7 % (n-2) *S. pneumoniae* celmi bija rezistenti, bet 2015. gada (n-117) tapāt kā 2011. gadā – visi jutīgi. Rezistenti pret penicilīnu 6,7 % (n-5) 2014. gadā ir par 0,3 % mazāk nekā D. Butakovas, 2011, pētījumā – 7,0 % (n-9), bet 2015. gadā rezistence 5,1 % (n-6) samazinājusies par 1,9 %. Savukārt, pret eritromicīnu D. Butakovas, 2011, iegūtos rezultātos bija tikai 1,7 % (n-2) vidēji jutīgi celmi un pārēji visi jutīgi, bet šī pētījumā 2014. gadā vidēji rezistentu mikroorganismu daudzums palielinājās līdz 5,3 % (n-4), kas ir par 3,6 % vairāk, un 2015. gadā palielinājās līdz 6,0 % (n-7), kas ir par 4,3 % vairāk. Kā arī 2014. gadā parādās jau 4,0 % (n-3) rezistenti pret eritromicīnu *S. pneumoniae* celmi, bet 2015. gadā tas samazinās līdz 1,7 % (n-2).

Antibakteriālo līdzekļu neatbilstoša lietošana ir galvenais riska faktors, kāpēc veidojas mikroorganismu rezistence. Aptuveni 75 % no antibiotikām lieto ambulatori un pētījumi rāda – tieši šajā sektorā tās visbiežāk arī tiek lietotas nelietderīgi (65).

Pneimokoki ir baktērijas, ar ko cilvēki sastopas jau pašā bērnībā, un tās ir plaši izplatīti oportūniskie patogēni. Rezistence padara tos par bīstamiem infekcijas izraisītājiem. Pasaulē *S. pneumoniae* infekciju raksturo ievērojams skaits saslimušo un mirušo. Mikroorganismiem arvien vairāk attīstās rezistence pret antibakteriālajiem līdzekļiem, pasaulē pēdējos gados ir novērota *S. pneumoniae* multirezistence pret makrolīdu un linkozamīdu antibakteriālajiem līdzekļiem (52; 54), bet arī novēroti rezistentie celmi pret vankomicīnu (60; 61; 62; 63), tas rada grūtības šo infekciju ārstēšanai. Tāpēc šobrīd ir ļoti nozīmīgi laicīgi identificēt mikroorganismu un noteikt tā antibakteriālo jutību, lai nozīmētu pareizo terapiju tuvākajā laikā.

4. SECINĀJUMI

1. Identificētie *S. pneumoniae* 2015. gadā (n-117) ir par 42 gadījumiem vairāk nekā 2014. gadā (n-75), un salīdzinot ar visiem izolētiem mikroorganismiem 2015. gadā *S. pneumoniae* ir identificēti par 0,9 % vairāk nekā 2014. gadā.
2. Salīdzinot ar *S. viridans*, 2014. gadā *S. pneumoniae* identificēti 4,0 % (n-75), bet 2015. gadā – 5,5 % (n-117), kas ir par 1,5 % vairāk.
3. Jūtība pret vankomicīnu bija 100 % visos gadījumos, to var uzskatīt par efektīvāko antibakteriālo līdzekli *S. pneumoniae* terapijā.
4. Pret klindamicīnu 2014. gadā tika izolēti 2,7 % (n-2) rezistenti *S. pneumoniae* celmi, 2015. gadā visi celmi (n-117) bija jutīgi pret to.
5. Eritromicīns ir vienīgais antibakteriālais līdzeklis, pret kuru konstatēti vidēji jutīgi celmi, kas 2015. g. identificēti, salīdzinot ar 2014. g., vairāk par 0,7 %, bet rezistence samazinājās par 2,3 %.
6. Rezistence pret penicilīnu 2015. gadā, salīdzinot ar 2014. gadu, samazinājās par 1,6 %.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. **Chaguza, C., Cornick, J. E., Everett, D. B.** Mechanisms and impact of genetic recombination in the evolution of *Streptococcus pneumoniae*. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2015. 13: 241 – 247.
2. **Gilley, R. P., Orihuela, C. J.** Pneumococci in biofilms are non-invasive: implications on nasopharyngeal colonization. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2014. 4: 163 – 169.
3. **Ryan, K. J., Ray, C. G.** Sherris medical microbiology. An introduction to infectious diseases. 4th ed. McGraw – Hill, 2004. p. 997.
4. **Žileviča, A., Mazjānis, I.** Medicīnas mikrobioloģija. 1. daļa. Vispārīgā mikrobioloģija un infekcijas imunoloģija. Rīga: Latvijas Universitātes Akadēmiskais apgāds, 2014. 365. lpp.
5. **Rohde, M.** Pneumococcus. Technische Universitat Braunschweig, 2012. [tiešsaiste] – [atsauce 2016. gada 13. martā] Pieejams: <https://www.tu-braunschweig.de/ifm/abt/msteinert/groups/pneumococcus/index.html>
6. **Кречикова, О. И., Козлов, Р. С., Богданович, Т. М. и др.** Выделение, идентификация и определение чувствительности к антибиотикам *Streptococcus pneumoniae*. *Клиническая Микробиология и Антимикробная химиотерапия*, 2000. 2(1): 88 – 89.
7. **McDaniel, L. S., Swiatlo, E.** Pneumococcal disease: pathogenesis, treatment, and prevention. *Infectious Diseases in Clinic Practise*, 2004. 12: 93 – 98.
8. **Chao, Y., Marks, L. R., Pettigrew, M. M., et al.** *Streptococcus pneumoniae* biofilm formation and dispersion during colonization and disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2014. 4: 194 – 210.
9. **Bogaert, D., De Groot, R., Hermans, P. W.** *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. *The Lancet Infectious Diseases*, 2004. 4(3): 144 – 154.
10. **Henriques – Normark, B., Tuomanen, T. I.** The pneumococcus: epidemiology, microbiology, and pathogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2013. 3(7): 100 – 115.
11. **Hyams, C., Camberlein, E., Cohen, J. M., et al.** The *Streptococcus pneumoniae* capsule inhibits complement activity and neutrophil phagocytosis by multiple mechanism. *Infection and Immunity*, 2010. 78(2): 704 – 715.

12. **Lynch, J. P., Zanel, G. G.** *Streptococcus pneumoniae*: epidemiology, risk factors, and strategies for prevention. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2009. 30(2): 189 – 209.
13. **Lawrence, S. L., Feil, S. C., Morton, C. J., et al.** Crystal structure of *Streptococcus pneumoniae* pneumolysin provides key insights into early steps of pore formation. *Scientific Reports*, 2015. 5: 352 – 365.
14. **Marriott, H. M., Mitchell, T. J., Dockrell, D. H.** Pneumolysin: a double – edged sword during the host – pathogen interaction. *Current Molecular Medicine*, 2008. 8(6): 497 – 509.
15. **Jedrzejak, M. J.** Pneumococcal virulence factors: structure and function. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2001. 65(2): 187 – 207.
16. **Parker, D., Soong, G., Planet, P., et al.** The NanA neuraminidase of *Streptococcus pneumoniae* is involved in biofilm formation. *Infection and Immunity*, 2009. 11(9): 3722 – 3730.
17. **Burnaugh, A. M., Frantz, L. J., King, S. J.** Growth of *Streptococcus pneumoniae* on human glycoconjugates is dependent upon the sequential activity of bacterial exoglycosidases. *Journal of Bacteriology*, 2008. 190(1): 221 – 230.
18. **Trappetti, C., Ogunniyi, A., Oggioni, M., et al.** Extracellular matrix formation enhances the ability of *Streptococcus pneumoniae* to cause invasive disease. *Plos One*, 2011. 6(5): 844 – 861.
19. **Keller, L. E., Robinson, D. A., McDaniel, L. S.** Nonencapsulated *Streptococcus pneumoniae*: emergence and pathogenesis. *American Society for Microbiology*, 2016. 7(2): 1792 – 1807.
20. **Marks, L. R., Davidson, B. A., Knight, P. R., et al.** Interkingdom signaling induces *Streptococcus pneumoniae* biofilm dispersion and transition from asymptomatic colonization to disease. *American Society for Microbiology*, 2013. 4(4): 413 – 438.
21. **Swiatlo, E., Camplin, F. R., Holman, S. C., et al.** Contribution of choline – binding proteins to cell surface properties of *Streptococcus pneumoniae*. *Infection and Immunity*, 2002. 70(1): 412 – 415.
22. **Tuomanen, E. I.** The biology of pneumococcal infection. *Pediatric Research*, 1997. 42: 253 – 258.
23. **Delisle, G., Tomalty, L.** Encapsulated *Streptococcus pneumoniae*. *American Society for Microbiology*, 2002. [tiešsaiste] – [atsauce 2016. gada 20. februārī] Pieejams: <http://www.microbelibrary.org/library/bacteria/2654-encapsulated-streptococcus-pneumoniae>

24. **Ngo, C. C., Massa, H. M., Thornton, R. B., et al.** Predominant bacteria detected from the middle ear fluid children experiencing otitis media: a systemic review. *Plos One*, 2016. 11(3): 949 – 975.
25. **Engelen – Lee, JY., Brouwer, M. C., Aronica, E., et al.** Pneumococcal meningitis: clinical – pathological correlations (meningine – path). *Acta Neuropathologica Communications*, 2016. 4: 26 – 38.
26. **Domingues, K., Marta, L., Monteiro, I., et al.** Native aortic valve pneumococcal endocarditis – fulminant presentation. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, 2016. 28(1): 83 – 86.
27. **Lacalzada, J., Padilla, M., Rosa, A., et al.** Infectious endocarditis due to *Streptococcus pneumoniae* in a cardiac surgery patient: a new form of clinical presentation. *Clinical Case Reports*, 2016. 4(2): 129 – 132.
28. **Egea, V., Munoz, P., Valerio, M., et al.** Characteristics and outcome of *Streptococcus pneumoniae* endocarditis in the XXI century. *Medicine*, 2015. 94(39): 1562 – 1573.
29. **Walla, A., Abalo, A., Kolou, M.** Wrist septic arthritis due to *Streptococcus pneumoniae* revealing a selective immunoglobulin G5 subclass deficiency: a case report. *Open Journal of Orthopedics*, 2015. 5: 350 – 354.
30. **Miyahara, H. S., Helito, C. P., Oliva, G. B., et al.** Clinic and epidemiological characteristics of septic arthritis on the hip, 2006 to 2012, a seven – year review. *Clinics*, 2014. 69(7): 464 – 468.
31. **Murthy, R., Petrescu, D., Salit, I. E.** Osteomyelitis with a twist *Streptococcus pneumoniae* causing sternoclavicular septic arthritis. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2015. 26(5): 251 – 252.
32. **Waisman, D. C., Tyrrell, G. J., Kellner, J. D., et al.** Pneumococcal peritonitis: still with us and likely to increase in importance. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2010. 21(2): 23 – 27.
33. **Dugi, D. D., Musher, D. M., Clarridge, J. E., et al.** Intraabdominal infection due to *Streptococcus pneumoniae*. *Medicine*, 2001. 80(4): 236 – 244.
34. **Cilloniz, C., Rangel, E., Barlascini, C., et al.** *Streptococcus pneumoniae* – associated pneumonia complicated by purulent pericarditis: case series. *Journal Brasileiro de Pneumologia*, 2015. 41(4): 389 – 394.
35. **Marimon, J. M., Ercibengoa, M., Garcia – Arenzana, J. M., et al.** *Streptococcus pneumoniae* ocular infections, prominent role of unencapsulated isolates in conjunctivitis. *Clinical Microbiology and Infection*, 2013. 19(7): 298 – 305.

36. **Norcross, E. W., Rullos, N. A., Taylor, S. D., et al.** Assessment of *Streptococcus pneumoniae* capsule in conjunctivitis and keratitis *in vivo* neuraminidase activity increases in nonencapsulated pneumococci following conjunctival infection. *Current Eye Research*, 2010. 35(9): 787 – 798.
37. **Prado, C. A., Perloff, S., Talavera, F., et al.** Pneumococcal infections treatment & management. *Medscape*, 2016. [tiešsaiste] – [atsauce 2016. gada 20. februārī] Pieejams: <http://emedicine.medscape.com/article/225811-treatment>
38. **Ataee, R. A., Habibian, S., Mehrabi – Tavana, A., et al.** Determination of vancomycin minimum inhibitory concentration for ceftazidime resistant *Streptococcus pneumoniae* in Iran. *Annals of Clinical Microbiology and antimicrobials*, 2014. 13: 53 – 61.
39. **Black, J. G.** *Microbiology: principles and explorations*. 8th ed. John Wiley & Sons Singapore Pte. Ltd., 2013. p. 747.
40. **Centers for Disease Control and Prevention.** Identification and characterization of *Streptococcus pneumoniae*. 2012. [tiešsaiste] – [atsauce 2016. gada 25. februārī] Pieejams: <http://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt08-id-characterization-streppneumo.html>
41. **Kroiča, J., Kuzņecova, V., Slrepmane, I., u.c.** Metodiskās rekomendācijas praktiskajām nodarbībām vispārējā mikrobioloģijā. Rīgas Stradiņa universitāte, Bioloģijas un mikrobioloģijas katedra, 2010. 75. lpp.
42. **Murray, P., Baron, E., Pfaller, M., et al.** *Manual of clinical microbiology*. 7th ed. American Society for Microbiology, 1999. p. 1773.
43. **Žileviča, A.** Infekcija: nozokomiālā infekcija. Mikroorganismu kontrole: antibakteriālie preparāti, rezistences veidošanās pret antimikrobiskajiem preparātiem: materiāls optometrijas studentiem. Latvijas Universitāte, Medicīnas fakultāte, 2004. 115. lpp.
44. **Purviņš, I., Purviņa, S.** *Praktiskā farmakoloģija*. 4. izdevums. Rīga, Zāļu infocentrs, 2011. 880. lpp.
45. **Masadeh, M. M., Alzoubi, K. H., Al – Azzam, A. I., et al.** Ciprofloxacin – induced antibacterial activity is attenuated by pretreatment with antioxidant agents. *Pathogens*, 2016. 5(1): 28 – 36.
46. **Biksone, G., Behmanis, A.** Solis pa solim pacientu konsultēšanā. Rekomendācijas pareizai zāļu lietošanai un pacientu izglītošanai. 3. izd. Rīga: SIA Aptieku apvienība, 2016. 561. lpp.
47. **Reinert, R. R.** The antimicrobial resistance profile of *Streptococcus pneumoniae*. *Clinical Microbiology and Infection*, 2009. 15(3): 7 – 11.

48. **Sweden, S. F., Hayajneh, W. A., Bshara, G. N.** Genotyping and serotyping of macrolide and multidrug resistant *Streptococcus pneumoniae* isolated from carrier children. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 2016. 34(2): 159 – 165.
49. **Klugman, K. P., Lonks, J. R.** Hidden epidemic of macrolide – resistant pneumococci. *Emerging Infectious Diseases*, 2015. 11(6): 802 – 807.
50. **Montagnani, F., Zanchi, A., Stolzuoli, L., et al.** Clindamycin – resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Emerging Infectious Diseases*, 2007. 13(5): 801 – 802.
51. **Xu, X., Cai, L., Xiao, M., et al.** Distribution of serotypes, genotypes, and resistance determinants among macrolide – resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010. 54(3): 1152 – 1159.
52. **Yayan, J.** The comparative development of elevated resistance to macrolides in community – acquired pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae*. *Drug Design, Development and Therapy*, 2014. 8: 1733 – 1743.
53. **Azadegan, A., Ahmadi, A., Lari, A. R., et al.** Detection of the efflux – mediated erythromycin resistance transposon in *Streptococcus pneumoniae*. *Annals of Laboratory Medicine*, 2015. 35(1): 57 – 61.
54. **Leclercq, R., Courvalin, P.** Resistance to macrolides and related antibiotics in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002. 4(9): 2727 – 2734.
55. **Megged, O., Assous, M., Weinberg, G., et al.** Inducible clindamycin resistance in beta – hemolytic streptococci and *Streptococcus pneumoniae*. *Israel Medical Association Journal*, 2013. 15(1): 27 – 30.
56. **Hidalgo, M., Castaneda, E., Arias, C. A.** Tolerance to vancomycin in a multiresistant, Colombian isolate of *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003. 52(2): 300 – 302.
57. **Karcic, E., Aljicevic, M., Bektas, S., et al.** Antimicrobial susceptibility/resistance of *Streptococcus pneumoniae*. *Materia Sociomedica*, 2015. 27(3): 180 – 184.
58. **Keness, Y., Bisharat, N.** Draft genome sequences of *Streptococcus pneumoniae* with high – level resistance to respiratory fluoroquinolones. *Genome Announcements*, 2016. 4(2): 181 – 182.
59. **European Centre for Disease Prevention and Control.** [tiešsaiste] – [atsauce 2016. gada 25. februārī] Pieejams: <http://www.ecdc.europa.eu/>
60. **Sweden, S., Hayajneh, W., Bshara, G.** Genotyping and serotyping of macrolides and multidrug resistant *Streptococcus pneumoniae* isolated from carrier children. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 2016. 34(2): 159 – 165.

61. **Chamoun, K., Farah, M., Araj, G., et al.** Surveillance of antimicrobial resistance in Lebanese hospitals: retrospective nationwide compiled data. *International Journal of Infectious Diseases*, 2016. 46: 67 – 70.
62. **Perim, M., Borges, C., Celeste, S., et al.** Aerobic bacterial profile and antibiotic resistance in patient with diabetic foot infections. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2015. 48(5): 546 – 554.
63. **Var, S., Hadi, R., Khardori, N.** Evaluation of regional antibiograms to monitor antimicrobial resistance in Hampton Roads, Virginia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2015. 14: 22 – 31.
64. **Butakova, D.** Grampozitīvie elpcelu infekciju ierosinātāji un to jutība pret antibakteriāliem līdzekļiem. Latvijas Universitāte, Medicīnas fakultāte, 2011. 1 – 44.
65. **Dumpis, U.** Klīniskās prakses pieredze. Latvijas antibiotiku patēriņš un rezistence. *Doctus*, 2009. 23 – 24.