

LATVIJAS UNIVERSITĀTE  
MEDICĪNAS FAKULTĀTE

**Meticilīna rezistences noteikšana *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) starp veseliem iedzīvotājiem**

DIPLOMDARBS

Autors: **Edgars Birkenfelds**

Studenta apliecības Nr.: eb14040

Darba vadītājs: LU as. prof., Dr. biol. Tatjana Tračevska

RĪGA 2020

## KOPSAVILKUMS

**Ievads.** Pēdējos gados ir manāmi pieaugusi *Staphylococcus epidermidis* un *S. aureus* izraisītās intrahospitālās infekcijas. Kā parāda ASV statistikas dati, tad laika posmā no 1980. Gadam līdz 1990. Gadam, tad *S. epidermidis* izraisītās nozokomiālās infekcijas ir pieaugušas četras reizes (*Banerjee et al.*). Literatūra vēsta arī to, ka *S. epidermidis* ir atbildīgs par lielu daļu nozokomiālo infekciju, kas izraisa bakterēmijā, kas saistītas ar svešķermeņu un dažādu medicīnas iekārtu ievietošanu cilvēka ķermenī (*Huebner, 1999*). Kā arī koagulāzes negatīvie stafilokoki ir bieži endokardīta izraisītāji. (*Caputo, 1987*).

**Pētījuma mērķis.** Noskaidrot meticilīna rezistentu *S. epidermidis* (MRSE) baktēriju nēsāšanas īpatsvaru populācijā starp veseliem cilvēkiem un noskaidrot dažādu blakus faktoru ietekmi uz iespēju iegūt MRSE celmu.

**Pētījuma uzdevumi.** Pētījuma ietvaros bija nepieciešams ievākt paraugu no dalībnieka deguna dobuma, lai turpmāk no iegūtajām kultūrām varētu veikt tīrkultūras iegūšanu ar *S. epidermidis* un pārbaudīt to ar dažādām analīzes metodēm.

### Rezultāti:

1. Pēc primāra uzsējuma 24 stundu inkubācijas, stafilokoki tika izolēti 100,0% ± 2,9% gadījumu (n=112) dalībniekiem. KONS tika konstatēts 50,9% ± 2,19% (n=57) gadījumu, un *S. aureus* 17,9% ± 1,73% (n=20), bet KONS un *S. aureus* kopā 31,3% ± 1,32% (n=35) gadījumos.
2. Kopā no 92 paraugiem, rezistenti pret oksacilīnu bija 11,96% ± 1,0% (n= 11, SD = 3,31). Bet 88,04% ± 2,61% (n=81, SD=23,53) dalībnieku uzsējumu bija jutīgi pret oksacilīnu.
3. 10,87% (n=10) no visiem dalībniekiem (n=92) un 17,24% (n=10) no visiem klīnikā strādājošajiem dalībniekiem (n=58) ir rezistence pret oksacilīnu.
4. Pastāv statistiski ticama asociācija, ka *S. epidermidis* rezistence pret oksacilīnu novērojama biežāk tiem studentiem, kas strādājuši klīnikā. (p=0,033, OR=6,88).

**Atslēgas vārdi:** *S. epidermidis*, rezistence, disku difūzijas tests, deguna uzsējums, oksacilīns.

## SUMMARY

**Essence of Problem.** In recent years there have been observed increase in *S. epidermidis* and *S. aureus* caused intrahospital infection. As statistic data from USA shows us in timespan from 1980's to 1990's, *S. epidermidis* induced nosocomial infections has increased four times (*Banejee et al.*). Literature foreshows that *S. epidermidis* has been responsible for large part of nosocomial infection which brings bacteraemia, which has been constrained to foreign bodies and other medicine equipment placement in human body. (*Huebner, 1999*). Coagulase-negative staphylococci are also common causes of endocarditis. (*Caputo, 1987*)

**Objective of the study.** To determine the proportion of carriers of resistant *S. epidermidis* bacteria (MRSE) in the population among healthy people and to investigate the effect of various concomitant factors on the possibility of obtaining a methicillin-resistant *S. epidermidis* strain.

**Goals of the study.** Within the framework of the study, it was necessary to collect a sample from the participant's nasal cavity in order to obtain a pure culture with *S. epidermidis* from the obtained cultures and to test it with various analysis methods.

### Results:

1. After 24 hours of primary inoculation incubation, staphylococci were isolated in  $100.0\% \pm 2.9\%$  of cases ( $n = 112$ ). CONS was detected in  $50.9\% \pm 2.19\%$  ( $n = 57$ ) of cases, and *S. aureus* in  $17.9\% \pm 1.73\%$  ( $n = 20$ ), but CONS and *S. aureus* combined in  $31.3\% \pm 1.32\%$  ( $n = 35$ ) cases.
2. Out of a total of 92 samples, oxacillin resistance was  $11.96\% \pm 1.0\%$  ( $n = 11$ ,  $SD = 3.31$ ). But  $88.04\% \pm 2.61\%$  ( $n = 81$ ,  $SD = 23.53$ ) of the participants' inoculation were sensitive to oxacillin.
3.  $10.87\%$  ( $n = 10$ ) of all participants ( $n = 92$ ) and  $17.24\%$  ( $n = 10$ ) of all participants in the clinic ( $n = 58$ ) was resistant to oxacillin.
4. There is a statistically significant association that *S. epidermidis* resistance to oxacillin is more common in students who have worked in a clinic. ( $p = 0.033$ ,  $OR = 6.88$ ).

**Key words:** *S. epidermidis*, resistance, disc diffusion test, nasal inoculation, oxacillin.

## DARBĀ IZMANTOTIE SAĪSINĀJUMI

MRSE	– meticilīna rezistents <i>Staphylococcus epidermidis</i>
NaCl	– nātrija hlorīds
KoNS	– koagulāzes negatīvie stafilokoki
CAP	– katabolismu aktivējošais proteīns
ORF	– atvērtās lasīšanas rāmji (Open Reading Frames)
PIA	– polisaharīdu intracelulārie adhezīni
<i>S. epidermidis</i>	– <i>Staphylococcus epidermidis</i>
LU	– Latvijas Universitāte
CRF	- koagulāzes reaģējošais faktors
mm	- milimetri
MSSA	- meticilīna jutīgs <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSA	- meticilīna rezistents <i>Staphylococcus aureus</i>
OR	- odds ratio – izredžu attiecība
RR	- relatīvais risks
CI	- confidence interval
OX	- oksacilīns
PBP2A	- penicillin-binding protein

## SATURS

KOPSAVILKUMS.....	2
SUMMARY .....	3
DARBĀ IZMANTOTIE SAĪSINĀJUMI.....	4
IEVADS.....	6
1. LITERATŪRAS APSKATS.....	7
1.1. Koagulāzes negatīvo stafilokoku (KONS) mikrobioloģiskais raksturojums .....	7
1.2. <i>Staphylococcus</i> vispārējais raksturojums.....	8
1.2.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i> šūnas struktūra un atklāšanas vēsture.....	8
1.2.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i> genoms.....	10
1.2.3. <i>Staphylococcus epidermidis</i> virulences faktori .....	11
1.2.4. <i>Staphylococcus epidermidis</i> izraisītas slimības .....	13
1.3. <i>Staphylococcus epidermidis</i> meticilīnrezistence.....	15
2. Materiāli un metodes .....	16
2.1. Pētījuma apraksts.....	16
2.2. Materiāli un metodes .....	17
2.2.1. Mikrobioloģiskās barotnes .....	17
2.2.2. Laboratorijas iekārtas un instrumenti.....	17
2.3. Metodes .....	18
2.3.1. Paraugu ievākšana .....	18
2.3.2. Primāra uzsējuma inspekcija un tīrkultūras iegūšana .....	18
2.3.3. Baktēriju identificēšana .....	20
2.3.4. Antibiotiku disku difūzijas tests .....	22
3. Rezultāti .....	23
3.1. Primāra uzsējuma analīze .....	25
3.2. Mikroskopija, morfoloģijas un bioķīmijas testi.....	27
3.3. Antibiotisko vielu jutības noteikšana ar disku difūzijas testu.....	27
3.4. Oksacilīna rezistences saistība ar darbu/praksi klīnikā .....	28
Diskusija.....	32
Secinājumi.....	35
Pateicība .....	36
Izmantotā literatūra .....	37
PIELIKUMS.....	40
PIELIKUMS Nr.1 .....	40
PIELIKUMS Nr.2 .....	41
PIELIKUMS Nr.3 .....	43
DOKUMENTĀRĀ LAPA .....	45

## IEVADS

*Staphylococcus epidermidis* ir gram-pozitīva baktērija, kas ir sastāvdaļa no cilvēka normālas ādas un gļotādas mikrofloras. Tā ir fakultatīvi anaeroba baktērija un neskatoties uz to, ka tā nav patogēna, cilvēkiem ar samazinātu imunitāti ir risks uz infekcijas attīstību. Pēdējos gados ir manāmi pieaugusi *S. epidermidis* un *S. aureus* izraisītās intrahospitālās infekcijas, kas saistītas ar dažādiem svešķermeņiem t.i. katetri, dažādas implantētas ierīces un protēzes. Kā parāda ASV statistikas dati, tad laika posmā no 1980. gadam līdz 1990. gadam, tad *S. epidermidis* izraisītās nozokomiālās infekcijas ir pieaugušas četras reizes (Banerjee et al.). Literatūra vēsta arī to, ka *S. epidermidis* ir atbildīgs par lielu daļu nozokomiālu infekciju, kas izraisa bakterēmiju, kas saistītas ar svešķermeņu un dažādu medicīnas iekārtu ievietošanu cilvēka ķermenī (Huebner, 1999). Kā arī koagulāzes negatīvie stafilokoki ir bieži endokardīta izraisītāji. (Caputo, 1987).

**Darba mērķi un uzdevumi:** mana darba mērķis bija noskaidrot MRSE izplatību starp populācijas veseliem iedzīvotājiem, kas mūsu gadījumā bija studenti no Latvijas Universitātes medicīnas fakultātes dažādās vecuma grupās unursos. Mūsu uzdevums bija ievākt katra dalībnieka deguna dobuma mikrofloru, no kuras iegūt *S. epidermidis* tīrkultūru, ar kuru vēlāk veicām dažādas analīzes, lai noteiktu baktērijas jutību uz oksacilīnu.

**Izmantotās metodes:** Vēl pirms primārā uzsējuma iegūšanas dalībnieki pildīja anketas, kurās noskaidrojām mums interesējošos jautājumus par lietām, kas varētu ietekmēt jutību uz OX. Pēc kā tika veikts primārais uzsējums, no kura tika iegūta tīrkultūra, ar tīrkultūru veicām katalāzes, koagulāzes un disku difūzijas testus. Iegūtos datus apstrādājām ar SPSS programmu veicot statistisko izpēti. Statistikās ticamības asociācijas noskaidrošanai izmantojām Pīrsona Hī kvadrāta

testu.

# 1. LITERATŪRAS APSKATS

## 1.1. Koagulāzes negatīvo stafilokoku (KONS) mikrobioloģiskais raksturojums

Koagulāzes negatīvie stafilokoki ir normālas ādas mikrofloras iemītnieki, kas var izraisīt dažādas oportūnistiskās infekcijas, jo īpaši saistītas ar protēzēm un dažādiem svešķermeņiem (visbiežāk tieši *S. epidermidis*) un urīntrakta infekcijas (*S. saprophyticus*) (Humphreys et al 2012). Normāla ādas mikroflora ir mikroorganismi, kas pastāvīgi dzīvo uz cilvēka ķermeņa virsmas un imūnkompetentai personai nekādu ļaunumu nenodara.

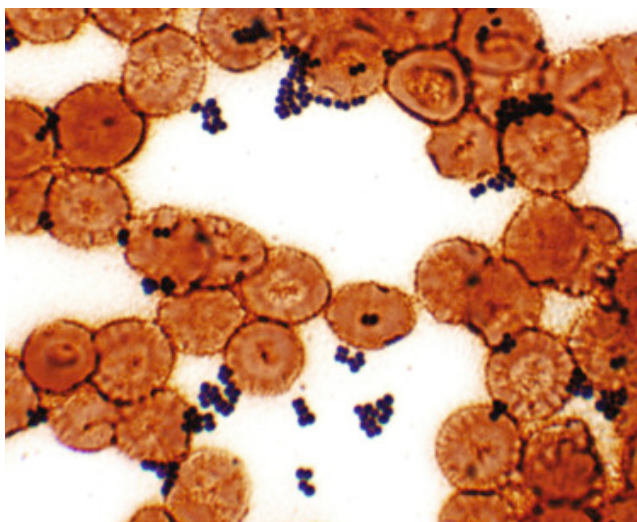
KONS ir heterogēna mikroorganismu grupa, kas neveido koagulāzi, kuru iedala 32 sugās. No tām, 15 KONS sugas ir sastopamas kā normālas cilvēka mikrofloras sastāvdaļa, t.i. – *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. capitis*, *S. warnerii*, *S. hominis*, *S. xylosus*, *S. cohnii*, *S. simulans*, *S. auricularis*, *S. saccharolyticus*, *S. caprae*, *S. pasteurii*, *S. lugdunensis* un *S. scheiferi*. Daži no šiem pārstāvjiem cilvēka ķermenī kolonizē specifiskas vietas, kā piemēram, *S. capitis* ir visbiežāk sastopams uz galvas ādas, kur ir ļoti daudz tauku dziedzeru. *S. auricularis* lielā īpatsvarā atrodams ārējā dzirdes kanālā. *S. hominis* un *S. haemolyticus* visbiežāk atrodams padusēs un kaunuma zonā, kur atrodas daudz apokrīnie dziedzeri. (Bradley & Nizet, 2016). Ap 90% ādas kolonistu ir tieši *S. epidermidis*, kas blīvi apdzīvo ādu.

Līdz šim koagulāzes negatīvie stafilokoki tika iedalīti kā nosacīti patogēni mikroorganismi, taču laiks un dažādi pētījumi ir parādījuši, ka daudzi intrahospitālie celmi ir kļuvuši agresīvāki, ar jaunām invazīvām īpašībām.. Kā liecina literatūra, tad noteikts, ka šie nosacīti patogēnie mikroorganismi atrodami vairs ne tikai slimnīcās, bet arī sabiedrībā. Epidemioloģiskā KONS infekciju analīze ir balstīta uz nozokomiālajām infekcijām, tā kā ir cieša sakarība starp implantētajām ierīcēm cilvēka organismā un to kontamināciju ar KONS. Sabiedrībā iegūtās infekcijas KONS dēļ, visbiežāk ir asociētas ar pacientiem, kuriem ir pastāvīgi implantētie katetri, protezētas locītavas un citas implantētas ierīces. Tāpat KONS ir parādījis spēju piesaistīties saimniekorganisma matricas proteīniem, kā piemēram, kolagēnam, vitronektīnam, fibrinogēnam, fibronektīnam un laminīnam (Li et al. 2000, Baldassarri et al., 1997).

## 1.2. *Staphylococcus* vispārējais raksturojums

### 1.2.1. *Staphylococcus epidermidis* šūnas struktūra un atklāšanas vēsture

Stafilokoki ir Gram pozitīvi koki, kas ir nekustīgi, fakultatīvi anaerobi, sporas neveidojošas, un katalāzes pozitīvas baktērijas (skat. 1.2.1.1. att.). Stafilokoki pieder *Staphylococcaceae* dzimtai, tā pat kā tādas baktērijas, kā *Micrococcus*, *Planococcus* un *Stomatococcus*. Stafilokoki aug veidojot savienojumus, ko visbiežāk dēvē par ķekariem, jo vizuāli tie atgādina vīnogu ķekarus (*Timothy Foster, 1996*).

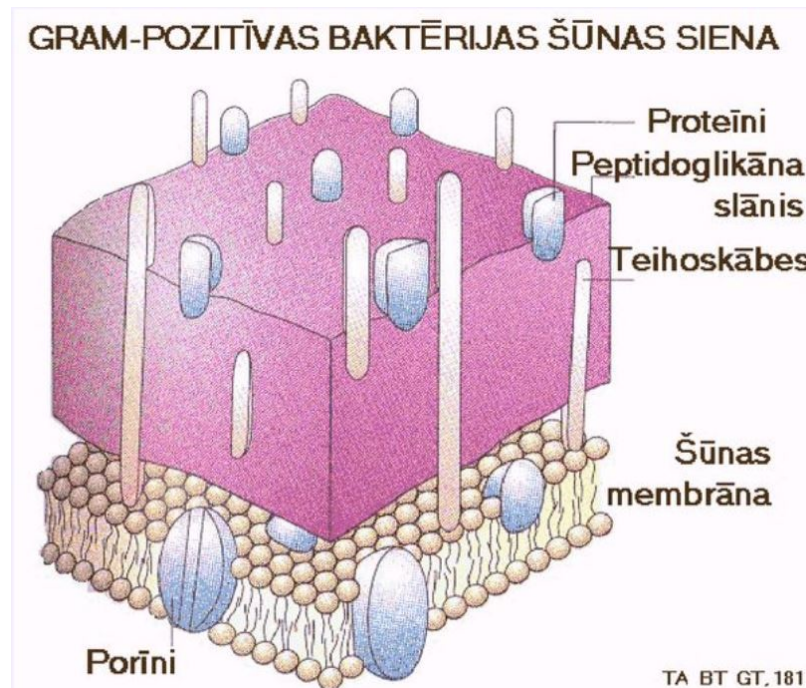


1.2.1.1.att. Stafilokoki asins kultūrā (violētā krāsā), Grama krāsojums (*Ahlstrand, 2012*)

Lielākā daļa stafilokoku ir liela izmēra, 0,5 līdz 1,5  $\mu\text{m}$  diametrā, grupējās vīnogu ķekaru formā, tām ir potenciāls augt un izraisīt saslimšanas dažādās vidēs – aerobā un anaerobā vidē, sāļā vidē (kā piemēram 10% NaCl šķīdumā), un temperatūrā, kas svārstās no 18 līdz 40°C. Dzimta sastāv no 49 sugām un 27 pasugām, lielākā daļa no tām atrodamas uz cilvēku ādas un gļotādām. Stafilokoki ir svarīgi cilvēka organisma patogēni, kas izraisa oportūnistiskās infekcijas un plaša spektra dzīvībai bīstamu sistēmisku saslimšanu, skarot ādu, mīksto audus, kaulus un ūrīnceļus (*Patrick R. Murray, 2016*).

Pirmie dati par stafilokoku dzimti tika uzradīti tālajā 1880 gadā, kad skotu ķirurgs, Aleksandrs Ogstons, pirmais parādīja to, ka piogēnās jeb strutu veidojošās saslimšanas ir saistāmas ar vīnogu ķekaru formu veidojošiem mikroorganismiem. Viņš tos nosauca par “*staphylococcus*” (no grieķu valodas *staphyle* – vīnogu ķekars, *kokkos* – grauds vai oga), tagad šo nosaukumu izmanto veselai dzimtai fakultatīvi anaerobo, katalāzes pozitīvo, gram pozitīvo koku. (*Humphreys. 2012*)

Šūnas sienas uzbūve ir tipiskā Grampozitīvo baktērijām. Tā sevī pamatā ietver peptidoglikānu jeb mureīnu, kā arī dažāda veida olbaltumvielas, no kurām lielākā daļa atrodas uz šūnu sienas virsmas un ar to palīdzību baktērija veido kontaktu ar saimnieka šūnām (skat. 1.2.1.2. att.). Peptidoglikāns ir heteropolimērs, kas iedalās daivās daļāš – cukura (glikānu) un peptīdu daļā. Glikāni ir polisaharīdu ķēdes, kas veidotas no disaharīdiem, kuri atkārtojas. To sastāvā ir heksozes - N-acetilmuramskābe un N-acetilglikozamīns, ko savā starpā saista glikozīdu saites. Glikozīdu saite ir jutīga pret fermentu lizocīmu, kas ir sastopams dažādos organisma šķidrums, kā piemēram, asinīs, siekalās, asarās. Tas tiek uzskatīts par vienu no svarīgākajiem organisma nespecifiskās aizsardzības faktoriem. Stafilokoki tiek iedalīti pēc to spējas producēt koagulāzi, enzīmu, kas piedalās plazmas koagulācijā, pārveidojot protrombīnu trombīnā. Tad trombīns katalizē fibrinogēna aktivāciju, lai veidotu fibrīna recekli. Tādējādi *S. aureus* un *S. hyicus-intermedius* pieder koagulāzes pozitīvajiem stafilokokiem, bet *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* u.c pie koagulāzes negatīviem stafilokokiem (Žileviča, 2014a).

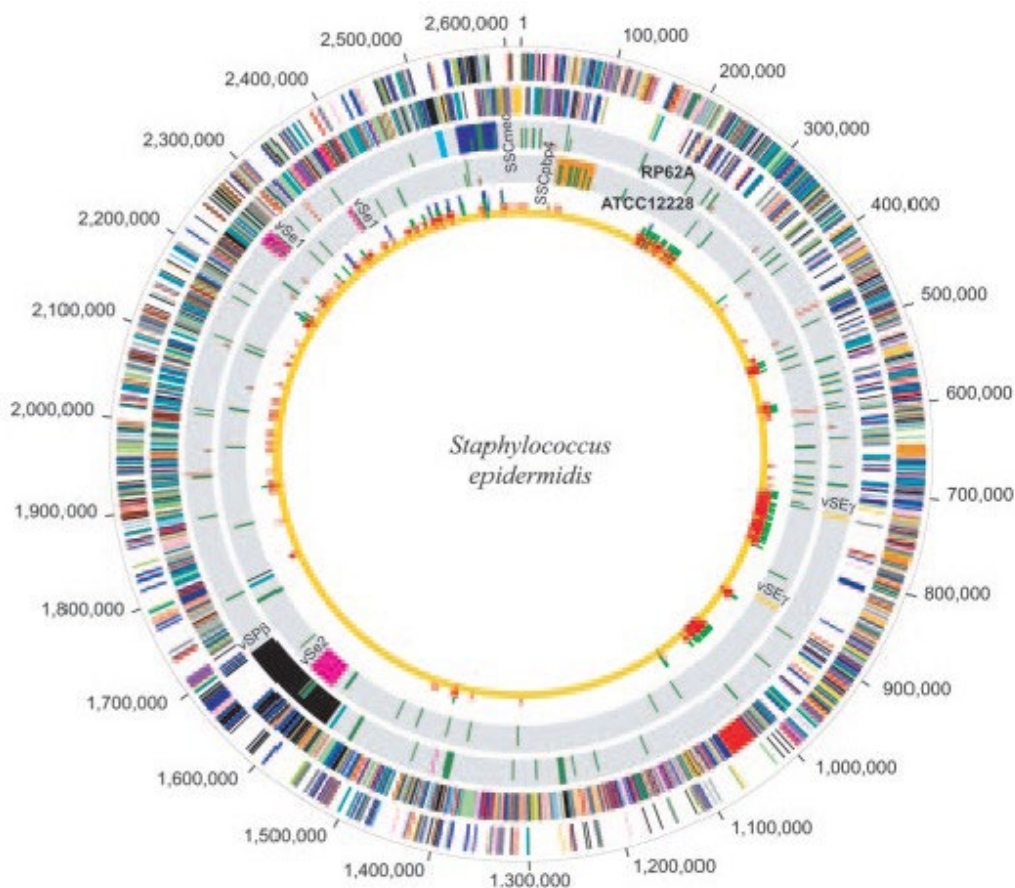


1.2.1.2.att. Gram-pozitīvas baktērijas šūnas siena

([https://player.slideplayer.com/90/14666995/slides/slide\\_35.jpg](https://player.slideplayer.com/90/14666995/slides/slide_35.jpg))

### 1.2.2. *Staphylococcus epidermidis* genoms

Pēdējos gados tika noteikts pilns *S. epidermidis* genoms (skat. 1.1.2.1. att.), izmantojot nukleīnskābju sekvenčēšanas metodi. Tika noteikti genomi diviem celmiem: ATCC12228, kas ir biofilmu neveidojošs celms un RP62A, kas tika noteikts kā biofilmu veidojošs celms.



1.1.2.1 att. Sekvenčētā *S. epidermidis* genoma cirkulāra reprezentācija (Steven R. Gill, 2005)

*S. epidermidis* genoma noteikšanas procesā tika atklāts, ka genoms ir aptuveni 2.5 Mb liels, ar 2419 ORF, tas ir mazāks vairāk par 10% nekā publicētais *S. aureus* genoms (Zhang & Ren, 2003). Starp dažādām iegūtajām plazmīdām, kas kodē dažādus rezistences gēnus, *vSe1* un *vSe2* tika atrasti abos, gan RP62A, gan ATCC12228. Kā parāda apskatītais pētījums, tad tika atklāts, ka viens no virulences faktoriem ir CAP operons, kas atrodas *Bacillus anthracis* ir atrodams arī *S. epidermidis* baktērijas genomā (Steven R. Gill, 2005).

### 1.2.3. *Staphylococcus epidermidis* virulences faktori

Salīdzinājumā ar *S. aureus*, kas producē lielu spektru toksīnu un adhēzijas faktoru, ir tikai daži definētie *S. epidermidis* virulences faktori. (Otto, 2009). Svarīgākais *S. epidermidis* virulences faktors ir spēja veidot ir biofilmas. Tās ir mikroorganismu kopuma adhezijas spēja pie virsmām, kas ļauj baktērijām stiprināties vienam pie otra ekstracelulārajā matricā, tādējādi veidojot aizsargmehānismu no saimniekorganisma imunitātes un antibakteriālajiem aģentiem. Biofilmu ievērojamā īpatnība ir caurlaidības samazināšana, olbaltumvielu sintēzes un šūnu dalīšanās aizkavēšana, antifagocitāra un antibakteriālā barjeras funkcija. Pētījumi parāda, ka *S. epidermidis* biofilmas satur lielu noturīgu šūnu daudzumu, kas darbojas pret neitrofīlo leukocītu iedarbību un inaktivē komplekta sistēmu, izgulsnējot C3b un imūnglobulīnu G. (Costerton & Lewandowski, 1995). PIA – polisaharīdu intracelulārais adhezīns ir viens no galvenajiem elementiem, ko izdala *S. epidermidis*, kas palīdz veidot biofilmu. Tas ir *ica* gēna operonu produkts. (Lou & Zhu, 2011). Biofilmu asociētais proteīns (Bap) ir sastopams *S. epidermidis* celmos un tas zināms, kā virsmas adhēzijas proteīns. (Tormo & Knecht, 2005). Poli- $\gamma$ -DL-glutamīnskābe (PGA) – balstoties uz pētījumiem šis virulences faktors ir saistīts ar fagocitozes inhibēšanu un izvairīšanos no saimniekorganisma imūnās sistēmas. Šāds faktors bija atklāts *Bacillus anthracis*, taču šobrīd tas novērojams arī *S. epidermidis*. PGA ir glutamīnskābes produkts, kas ir kā lineārs homopolimērs, kas savā starpā tiek savienots ar glutamīnskābes  $\gamma$ -karboskigrupu un sastāv no vienāda daudzuma D- un L-glutamīnskābes. (Kocianova et al., 2005).

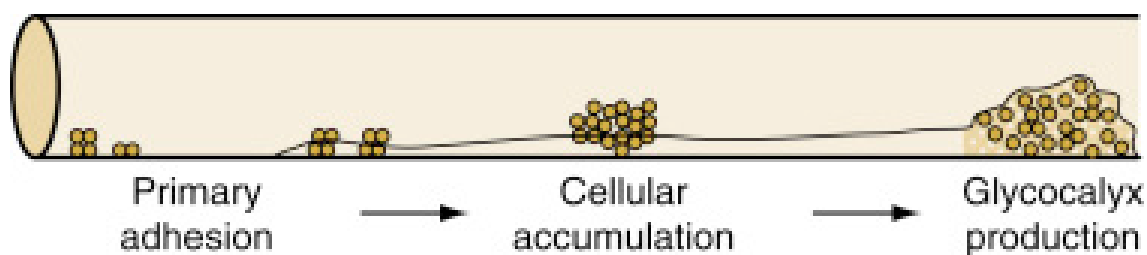
#### 1.2.3.1. *Staphylococcus epidermidis* un biofilmu veidošana

*S. epidermidis* spēja veidot biofilmu tiek uzskatīta par tā galveno virulences faktoru. Biofilmu veidošana norisinās vairākos etapos, kas sevī ietver mikroorganisma piestiprināšanos, baktēriju akumulāciju, nobriešanu un mikroorganismu izkļiedēšanos (Moormeier D.E. et al, 2014).

*S. epidermidis* infekcijas visbiežāk sākas ar intravaskulāro katetru un dažādu protezētu ierīču kolonizāciju. Tas ir pirmais kritiskais solis, ko šī baktērija spēj izdarīt, piestiprināties pie dažādu svešķermeņu hidrofobām virsmām (skat. 1.2.3.1.1. att). Tā kā cilvēka ķermenī ievietotie svešķermeņi drīzumā sāk pārklāties ar saimniekorganisma ekstracelulārā matricas proteīniem, tad KONS ir iespēja piesaistīties pie svešķermeņiem, vai nu tiešā ceļā pie paša objekta, vai saistoties pie ekstracelulārā matricas (Kristinsson, 1989).

Biofilmas attīstību iedala piecās stadijās. Kā pirmo stadiju izšķirt sākotnējo piestiprināšanos, brīvi peldošais mikroorganisms vāji piestiprinās pie noteiktas virsmas, ar

nespecifiskiem spēkiem jeb elektrostatisko mijiedarbību. Tam seko neatgriezeniska piestiprināšanās, ko sekmē specifiskie mikroorganisma bioķīmiskie adhēzijas elementi. Tiek aprakstīti divi lielākie polisaharīdi, ko ražo *S. epidermidis*, tie ir PSA un PIA, tādējādi sekmējot baktēriju adhēziju. Kad mikroorganismi ir kārtīgi piestiprinājušies, sākas pirmā gļotu sekrēcija, un matricas veidošana, kas nodrošina biofilmas stabilizāciju un palīdz citiem mikroorganismiem tai piesaistīties. Pēc otrās fāzes seko trešā un ceturkā, kas sevī iekļauj sākotnējo un pilnīgu nobriešanu, kuras laikā notiek vertikāla biofilmas augšana, veidojas daudzi savstarpēji novietoti torņi ar kanāliem starp tiem. Un visbeidzot notiek pilnīga biofilmas nobriešana un iesākas mikroorganismu izsēšanas fāze apkārtējā vidē, lai varētu nodrošināt tās tālāku izplatību apkārtējā vidē. Biofilmu kopā satur matrice, kas ir veidota no mikroorganismu izdalītajām gļotām. Tā ir heterogēna masa, kas sastāv no polisaharīdiem, bet tajā var iekļauties arī dažādas citas daļiņas – minerāli, fibrīns, eritrocīti, plātnītes. Matricē ir ūdens kanāli, kas palīdz mikroorganismiem uzturēt barošanu, kontrolēt savstarpējo signālu pārraidi un izvadīt sev nevajadzīgās vielas. (Žileviča, 2014b).



1.2.3.1.1. att. *S. epidermidis* biofilmas veidošanās shematiskais zīmējums (Bradley & Nizet, 2016)

#### 1.2.4. *Staphylococcus epidermidis* izraisītās slimības

*S. epidermidis* izraisītās saslimšanas bieži vien ir persistējošas un bieži atkārtojas. Kā parāda statistika *S. epidermidis* ir galvenais ar iekārtu asociēto infekciju izraisītājs (Huebner, 1999). Pēc CNS šuntēšanas operācijām, KONS ir infekcijas komplikāciju izraisītāji 48-67% gadījumos (Ross et al., 1997). 50-70% gadījumu šie mikroorganismi ir atbildīgi par katetru asociētām infekcijām, 40-50% gadījumu protezētu vārstuļu infekcijās, 20-50% gadījumu protezētu locītavu infekcijas. Šie rādītāji parāda cik lielu ietekmi ir *S. epidermidis* hospitāli iegūtu infekciju gadījumā.

Pētījumu dokumentācija parāda, ka dažādās pacientu grupās īsi pēc hospitalizācijas, pacienta iepriekš esošais *S. epidermidis*, kas ir jutīgs uz antibiotikām, nomainās uz nozokomiālo, antibiotiku rezistento *S. epidermidis* celmu (Ahlstrand et al, 2012). Prevalējošie *S. epidermidis* kloni var parādīties un uzturēties slimnīcās dekādēm ilgi. Veselības aprūpes speciālisti var būt kā šo rezistento *S. epidermidis* celmu nēsātāji un izplatīt tos starp slimniekiem (Hira et al., 2010). Lai gan nozokomiālā KONS primāra nodošana notiek saskarē ar medpersonāla rokām, veļu vai kontaminētām virsmām, nozokomiālie *S. epidermidis* celmi ir tikuši atrasti arī slimnīcas gaisā (Botelho et al., 2012).

##### 1.1.4.1. *Bakterēmija*

Koagulāzes negatīvie stafilokoki, jo īpaši tieši *S. epidermidis* ir visbiežākais nozokomiālais patogēns, kas izraisa asinsrites infekcijas un ir kļuvis par vienu no lielākajiem nozokomiālajiem patogēniem. Lielā ASV centrētā pētījumā tika analizētas 4405 sepses gadījumi bērniem, laika posmā no 2002 līdz 2012 gadam, kā rezultātā tika noskaidrots, ka KONS ir izraisījuši šo patoloģiju 49% gadījumu (Larru et al., 2016). Tikmēr starp onkoloģiskajiem imūnkompromitētajiem bērniem, KONS sepsi izraisīja 35% gadījumu (Langley & Gold, 1988). Vislielākā daļa koagulāzes negatīvo stafilokoku izraisītās sepses saistītas tieši ar intravaskulārajiem katetriem.

KONS izraisītās bakterēmijas klīnika raksturojas kā pārsvarā mēreni izteikta, kas sevī ietver bradikardiju, apnoju un temperatūras svārstības. Mirstības risks pie *S. epidermidis* izraisītās sepses ir samērā zems, salīdzinot ar citiem patogēniem. Ņemot vērā to, ka asins kultūrā KONS izraisītās infekcijas ir sarežģīti un ir jāveic dažādi klīniskie un laboratoriskie testi, lai noteiktu precīzu diagnozi. Šī nav maznozīmīga problēma, tā kā ārstējot šos mikroorganismus kā īstos patogēnus mēs nonākam pie nevajadzīgas antibiotiku lietošanas, antibakteriālās rezistences paasināšanas, pārmērīgas laboratorijas resursu izmantošanas un arī antibakteriālās terapijas blakus efektiem un toksicitātes. (van der Heijden et al., 2011)

### **1.1.4.2. Intravenozo katetru asociētās infekcijas**

KONS ir visbiežākie patogēni, kas izraisa ar venozajiem katetriem asociētās infekcijas. Dažādi pētījumi ir parādījuši, ka mikrobioloģiskā kolonizācija ap katetra ievadīšanas vietu, acīmredzami palielina risku uz katetru asociētu infekciju. (Safdar & Maki, 2004). *S. epidermidis* ir galvenais šo infekciju izraisītājs, kas tiek uzskaitīts apmēram 70% gadījumu. Taču retāk kā izraisītāji var būt arī citi KONS, kā piemēram, *S. haemolyticus*, *S. warneri* un *S. Hominis*(Haslettetal.,1988).

Pacientiem ar šo infekciju bieži vien novēro tādu klīnisko situāciju kā drudzis, drebuļi, neizskaidrojama hipotensija un citi lokālie iekaisuma simptomi. (skat. 1.1.4.2.1. att) Var būt arī tādi simptomi kā slikta dūša, vemšana un izmaiņas mentālajā stāvoklī. Lokāli novēro apsārtumu, pietūkumu, palpatoru jutīgumu kā arī iespējami strutaini izdalījumi ap katetra izeju.



**1.1.4.2.1. att. Inficēts centrālais venozais katetrs. Apkārt esoša eritēma un purulence ievadīšanas vietā** (Fotogrāfijas autors Dr. Larry-Stuart Deutsch, Nebraskas Medicīnas Centra Universitāte)

Antibiotiku terapijas ilgums nekomplicētas katetra infekcijas gadījumā ir balstīta uz to, vai katetrs ir izņemts vai atstāts. Kad katetrs vairs nav vajadzīgs, tas jāizņem, un pacientam jāsniedz 5-7 dienu antibiotiku kurss. Ja katetrs atstāts, antibiotiku kursam būtu jābūt no 10 līdz 14 dienām. (Raad et al., 2009)

### **1.1.4.3. Endokardīts**

Protezētās vārstules endokardīts, lai gan nav pārāk bieža parādība, taču tiek izraisīta 15 līdz 40% gadījumu, tieši *S. epidermidis* dēļ. Var tikt inficētas gan bioloģiskās, gan mehāniskās vārstules, tā kā tās var tikt nomainītas ar transkatetru pieeju. Infekcija ir pārsvarā ar veselības aprūpi saistīta un izpaužas 12 mēnešu laikā pēc vārstules ievietošanas. KONS izraisītās komplikācijas vienas trešdaļās gadījumos izpaužas agri, 2 mēnešu laikā un 40% vidējā laika posmā no 2 līdz 12 mēnešiem pēc vārstules ievietošanas (*Lee et al., 2011*). Neskatoties uz protezēto vārstuļu endokardītu, dabīgas vārstules tiek inficētas ļoti reti, KONS ir pie vainas vien 5 līdz 12% infekciju gadījumos. Laika gaitā endokardīta incidence, kas saistīta ar KONS pakāpeniski palielinās, kas iespējams saistīta ar veselības aprūpes pielietotajām metodēm, biežāka intravenozo manipulāciju izmantošana, kā arī izraisītie mikroorganismi visbiežāk ir meticilīna rezistenti. (*Olmos et al. 2017*).

### **1.3. *Staphylococcus epidermidis* meticilīnrezistence**

Meticilīna rezistence veidojas pateicoties izmainītam penicilīnsaistošam proteīnam (PBP2A), kuru kodē stafilokoku kasetes hromosomas *mecA* gēns, kas iegūts hromosomālās *mecA* gēnu saturošas horizontālas apmaiņas rezultātā. PBP2A ir zema afinitāte pret beta laktāma antibiotikām, peptidoglikāna slāņa biosintēze netiek pārtraukta un baktērija izdzīvo, kā rezultātā rodas meticilīnrezistence. *MecA* gēns atrodas uz tās sauktās mobilās ģenētiskās saliņas, ko sauc par stafilokoku kasetes hromosomu *mec* (SCCmec) (*Pinho et al., 2001*).

## 2. Materiāli un metodes

### 2.1. Pētījuma apraksts

Diplomdarba praktiskā daļa tika izstrādāta Latvijas Universitātes Dabaszinātņu centrā, mikrobioloģijas laboratorijā. Pirms pētījuma uzsākšanas tika saņemta atļauja uz paraugu ievākšanu no veseliem cilvēkiem no Latvijas Universitātes Kardioloģijas un reģeneratīvās medicīnas Institūta zinātniskās izpētes ētikas komisijas, 2019. gada 18. septembrī.

Pētījumā tika iesaistīti 112 dalībnieki, no kuriem 67 bija sievietes, bet 45 vīrieši. Pētījumā tika iesaistīti gan latviešu, gan ārzemju studenti dažādās vecuma grupās, kā arī dažādu kursu pārstāvji, tādējādi šajā studentu kopā bija tādi, kas strādā Latvijas slimnīcās un, kas medicīnas nozarē vēl nav strādājuši. No katra studenta tika ņemts viens deguna mikrofloras paraugs, kas tika uzsēts uz cietajām barotnēm, pēc kā analīzes paraugs tika ievietots 24 stundu inkubācijai. Pēc tam tika veikta paraugu izolācija un mikrobioloģiskā un bioķīmiskā analīze. Beigu etapā tika noteikta parauga antibakteriālā rezistence uz oksacilīnu.

Pirms paraugu ņemšanas katram studentam tika izdalīta informatīvā lapa par pētījuma mērķiem, uzdevumiem, ievēroto konfidencialitāti un apstiprināts, ka students ir gatavs labprātīgi piedalīties pētījumā. Kopā ar informācijas lapu tika izsniegtas arī aptaujas anketas, kurās noskaidrojām studentu dzimumu, vecumu, vai un cik ilgi dalībnieks ir strādājis klīnikā, vai pēdējo 2 mēnešu laikā ir bijis stacionēts un/vai lietojis antibakteriālo terapiju, kā arī vai dalībniekam ir kādas hroniskas saslimšanas, lai detalizēta izpētītu dažādu blakus faktoru esamību uz iespējamo MRSE nēsāšanu.

## **2.2. Materiāli un metodes**

### **2.2.1. Mikrobioloģiskās barotnes**

Pētījumā tika izmantotas divu veidu mikrobioloģiskās barotnes. Pirmajā etapā, dalībnieku iegūti paraugi tika uzsēdi uz olu – sāls (*Baird-Parker*) barotnes. Un pēc kultūras inkubācijas un *S. aureus* noteikšanas, tika veikta *S. epidermidis* izolācija uz Muellera-Hintona barotnes.

Olu – sāls (*Baird-Parker*) barotne ir salikta cietā selektīvā barotne, kas ir laba vide tieši *S. epidermidis* un *S. aureus* augšanai. Pateicoties šai barotnei var viegli noteikt *S. aureus* klātbūtni dalībnieka iztriepē, tā kā *S. aureus* izdalītais ferments lecitināze šķeļ barotni, tādējādi veidojot gaišu zonu ap koloniju. Sāls klātbūtne nomāc citu baktēriju augšanu, ļaujot augt tikai konkrētajām sugām. Barotnes sastāvā ir litija hlorīds un telurīts, lai inhibētu alternatīvas mikrofloras augšanu, kā arī piruvāts un glicīns, lai veicinātu tieši stafilokoku augšanu.

Muellera-Hintona barotnes parasti tiek izmantotas antibiotiku rezistences noteikšanā, kā arī dažādu mikroorganismu izolācijas procesā, ko darījām arī mūsu pētījuma ietvaros. Šīs barotnes sastāvā ir 2 gramu liellopa ekstrakta, 17,5 gramu kazeīna hidrolizāta, 1,5 gramu cietes un 17 gramu agāra, kas izšķīdināts 1 litrā destilēta ūdens.

### **2.2.2. Laboratorijas iekārtas un instrumenti**

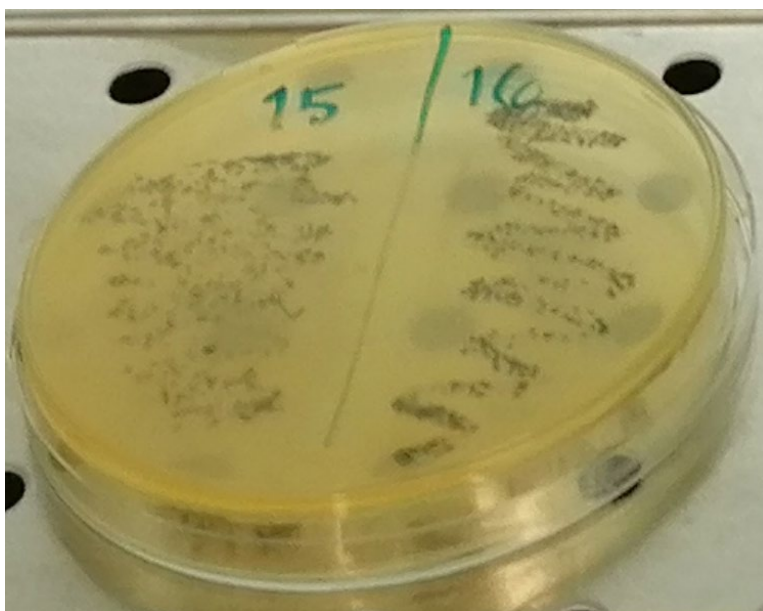
Praktiskā darba ietvaros laboratorijā tika izmantoti tādi instrumenti un iekārtas, kā mikrobioloģiskās cilpas 10ml. Ražotājs: Plastiques Gosselin, Francija. Mikroskopēšanai tika izmantots Olympus CHBS mikroskops. Ražotājs: Olympus Corp, Japāna. Uzsētie materiāli tika ievietoti termostātā inkubācijas veikšanai.

## 2.3. Metodes

### 2.3.1. Paraugu ievākšana

Paraugu ievākšana norisinājās Latvijas Universitātes Dabaszinātņu centra, mikrobioloģijas laboratorijā. Pirms paraugu ņemšanas katram dalībniekam tika izdalīta piekrišanas apliecinājums dalībai pētījumā, kā arī aptauja, kas sastāvēja no sešiem jautājumiem. Pēc dokumentācijas izpildes, ar sterilu vates kociņu dalībnieki veica deguna dobuma parauga ņemšanu, kārtīgi berzējot to gar deguna dobuma sienām, pēc kā tika veikts uzsējums uz olu – sāls agāra, kā arī katra barotne tika marķēta ar dalībniekam piešķirto kodu, kas tika norādīts uz izsniegtajāmanketām.

Pēc veiktajām procedūrām iegūtie materiāli un aptaujas tika nogādāti blakus laboratorijā, kur iegūtās barotnes tika novietotas inkubatorā 37°C uz 24 stundām.



2.3.1.1. att. Iegūtās kolonijas pēc 24 stundu inkubācijas (Autora foto)

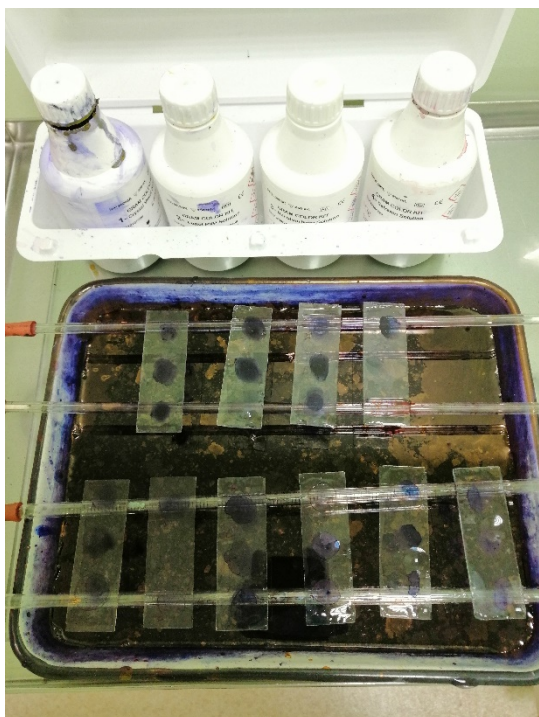
### 2.3.2. Primāra uzsējuma inspekcija un tīrkultūras iegūšana

Apskatot primāra uzsējuma rezultātus pēc 24 stundu inkubācijas, novērtējām jauktas mikrobu kultūras, ko bijām ieguvuši. Mūsu uzdevums bija atdiferencēt *S. aureus* no *S. epidermidis* kolonijām. Novērtējām kolonijas izmērus, krāsu, formu, virsmu, konsistenci un malu krokojumu. Tā kā bija nepieciešams iegūt *S. epidermidis* tīrkultūru, tad noteicām *S. aureus* kolonijas, ko varēja viegli atšķirt nosakot gaišo zonu ap šo kultūru, ko rada *S. aureus* izdalītais ferments lecitināze šķeļot barotni. Bija arī tādi paraugi, kuros *S. aureus* bija lielā pārsvarā un *S. epidermidis* identificēt neizdevās, šie paraugi mūsu pētījumam nebija derīgi. Tīrkultūras izdalīšanai izmantojām materiāla uzsēšanu uz cietas barotnes, izvelkot to no mūsu iegūtajām

kultūrām ar cilpas palīdzību. Pēc uzņēmuma 24 stundu inkubēšanas 37°C termostatā, ieguvām atsevišķas pilnīgi izolētas *S. epidermidis* kolonijas. No iegūtajām kolonijām pagatavojām uztriepi, nokrāsojām pēc Grama krāsojuma un mikroskopiski novērtējam mikroba šūnas morfoloģiju.

Grams krāsošanas metodes ietvaros izmantojam šādus šķīdumus: karbolgencianvioleto (pamata krāsa), Lugola šķīdumu (kodne), 96° spirtu preparā atkrāsošanai un safranīnu. (skat. 2.3.2.1. att.) Grama krāsojumam iedalās šādi etapi:

1. Uz fiksēta preparāta uzlejam karbolgencianvioleto uz apmēram 1-2 minūtēm;
2. Krāsu noskalojam ar ūdeni;
3. Uzlejam Lugola šķīdumu uz 1 minūti un noskalojam ar ūdeni.
4. Atkrāsojam ar 96° spirtu apmēram 1 minūti. Noskalo ar ūdeni.
5. Uzlej safranīnu uz 2-3 minūtēm, noskalo ar ūdeni, nožāvē un visbeidzot varam apskatīt iegūto rezultātu eļļas imersijas mikroskopijā pie palielinājuma 1000x (skat. 2.3.2.2. att.).



2.3.2.1. att. Grama krāsojuma process (Autora foto)



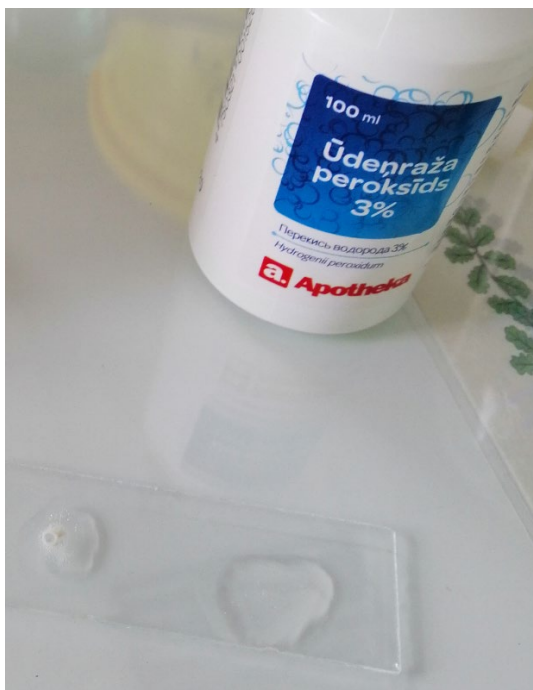
2.3.2.2. att. Mikroskopēšanas process (faculty.weber.edu)  
– grampozitīvi stafilokoki vīnogu ķekaru formā un eritrocīti.

### 2.3.3. Baktēriju identificēšana

Baktēriju identificēšanai lieto kultūras un morfoloģisko īpašību izpēti, kā arī dažādus bioķīmiskus, seroloģiskus u.c. testus (Žileviča, 2014).

#### 2.3.3.1. Katalāzes tests

Katalāzes tests ir svarīgs, lai diferencētu streptokokus un enterokokus, kas ir katalāzes negatīvi, no stafilokokiem, kas ir katalāzes pozitīvi. Testu veicām uz priekšmetstikliņa uzpilnot dažus pilienus 3% ūdeņraža peroksīda un ar sterilu cilpu no barotnes pievienojot mūsu iegūto tīrkultūru. (skat. 2.3.3.1.1. att.)



2.3.3.1.1. att. Katalāzes testa veikšana (Autora foto). Uz priekšmetstikliņa kreisās pusēs, varam novērot pozitīvu katalāzes reakciju, taču labajā pusē negatīvu.

### 2.3.3.2. Koagulāzes tests

Koagulāzes tests tiek izmantots, lai diferencētu *S. aureus*, kas dod pozitīvu reakciju, un KONS grupu, kas dod negatīvu reakciju, mūsu gadījumā *S. epidermidis*. Koagulāze ir enzīms, ko producē *S. aureus*, kas pārvērš plazmas fibrinogēnu par fibrīnu, jo izdala CRF jeb koagulāzes reaģējošo faktoru. Testa gaita:

1. Sagatavojām plazmas šķīdumu attiecībā 1/15. Konteinerī ar plazmu pievienojām 15 ml destilēta ūdens, izšķīdinājām konteineri sakratot.
2. 1 ml šķīduma pievieno mēģenei un tad ar sterilu cilpu pievieno tūrkultūras paraugu, tā, lai iegūstam duļķainu saturu.
3. Iegūtās mēģenes ievietojam termostatā 35°C uz 24 stundām.

Pēc 24 stundām ieguvām rezultātu. Reakcija ir pozitīva, ja mēģenē no šķidrums izveidojies gēlveidīgs veidojums, kas paliek nekustīgs, mēģeni svārstot. Ja reakcija bijusi negatīva, nozīmē, ka esam ieguvuši *S. epidermidis* (skat. 2.3.3.2.1. un 2.3.3.2.2. att).



2.3.3.2.1. att. Koagulāzes testa process (Autora foto) 2.3.3.2.2.att. Pozitīvs un negatīvs koagulāzes tests (Levinson, 2014)

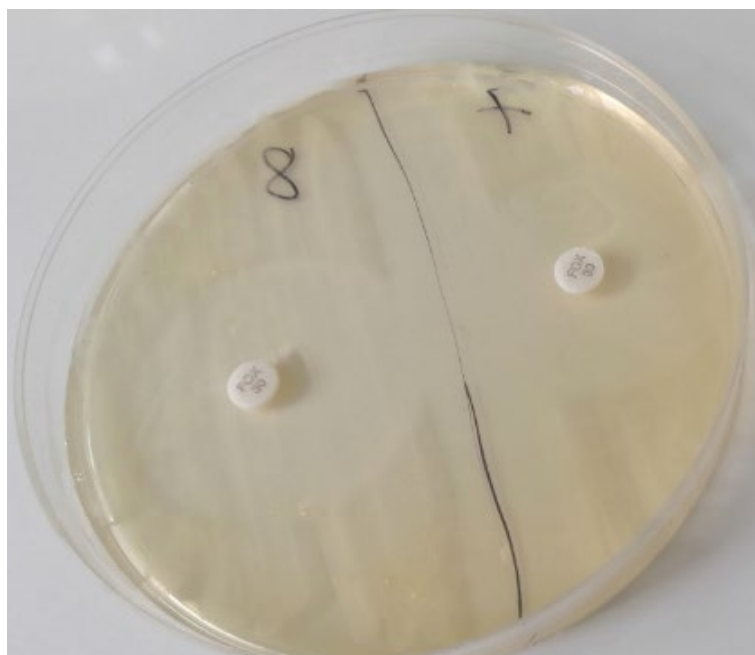
### 2.3.4. Antibiotiku disku difūzijas tests

Šai metodei izmantojamie diski īpaši tiek pagatavoti rūpnieciskos apstākļos no īpaša kartona 6 mm diametrā un tiek piesūcināti ar noteikto antibiotisko vielu, mūsu gadījumā tie bija oksacilīna diski. Metodes ietvaros pēc iegūto 0,5 tīrkultūru pēc McFarland standartiem uzklājam uz Mueller-Hinton barotnes vienmērīgi pa pusi no barotnes virsmu gan vertikāli, gan horizontāli. Atstājam barotnes nožūt istabas temperatūrā apmēram 15 minūtes. Tad novietojām uz uzsējuma oksacilīna disku ar sterilu pinceti, tā lai tas atrastos kultūras vidū. Pēcāk ievietojām barotni termostatā 37°C uz 24 stundām. Rezultātā ieguvām rezultātus, kuros bija redzams, ka notiek mikroorganismu augšanas aizture noteiktā rādiusā ap disku. Rezultātu novērtējam, izmērot aiztures zonas diametru. (skat. 2.3.4.1. tabula)

#### 2.3.4.1. Tabula

Oksacilīna diska koncentrācija un jutība (Žileviča A., 2014)

<i>Antibiotika</i>	<i>Diska saturs (μg)</i>	<i>Zonas diametrs, mm</i>		
		<i>Rezistents (&lt;)</i>	<i>Vidēji jutīgs</i>	<i>Jutīgs (&gt;)</i>
<i>Oksacilīns</i>	<i>1</i>	<i>10</i>	<i>11-12</i>	<i>13</i>



2.3.4.2. att. Oksacilīna jutības noteikšana *S. epidermidis* kultūrā (Autora foto)

### 3. Rezultāti

Diplomdarba praktiskā daļa tika veikta Latvijas Universitātes Dabaszinātņu centra mikrobioloģijas laboratorijā. Kā pētījuma dalībnieki tika izvēlēti studenti dažādās vecuma grupās un dažādu kursu pārstāvēniecībā no 2 līdz 6. kursam, starp kuriem bija gan latviešu, gan ārzemju plūsmas studenti. Pētījums norisinājās laika posmā no 18.09.2019 līdz 01.05.2020.

Pētījuma ietvaros tika ievākti 112 paraugi, kas tika turpmāk mikrobioloģiski analizēti ar tādām metodēm kā primāra uzsējuma inspekcija un tīrkultūras iegūšana, un ar kuriem tika veiktas dažādas analīzes, kā piemēram katalāzes, koagulāzes un antibiotiku disku difūzijas tests. No katra dalībnieka tika ņemts viens deguna mikrofloras paraugs, no abām nāsīm, kas tika pa ņemts un uzsēts uz cietajām barotnēm atbilstoši mikrobioloģijas laboratorijas standartiem.

Darba gaitā visiem dalībniekiem tika izdalītas anketas, kuros uzdevām dažādus mums interesējošos jautājumus, kuri varētu ietekmēt mūsu hipotēzes apstiprināšanos. Anketās iekļāvām tāds jautājumus kā pacienta dzimums, vecums, vai dalībnieks ir strādājis klīnikā pēdējo 2 mēnešu laikā, vai pēdējo 2 mēnešu laikā ir bijis stacionēts, vai dalībniekam ir hroniskas saslimšanas un vai pēdējo 2 mēnešu laikā ir saņemta antibakteriālā terapija. (skat. 3.1. tabula., skat. anketas paraugu pielikumā Nr.1)

3.1.tabula

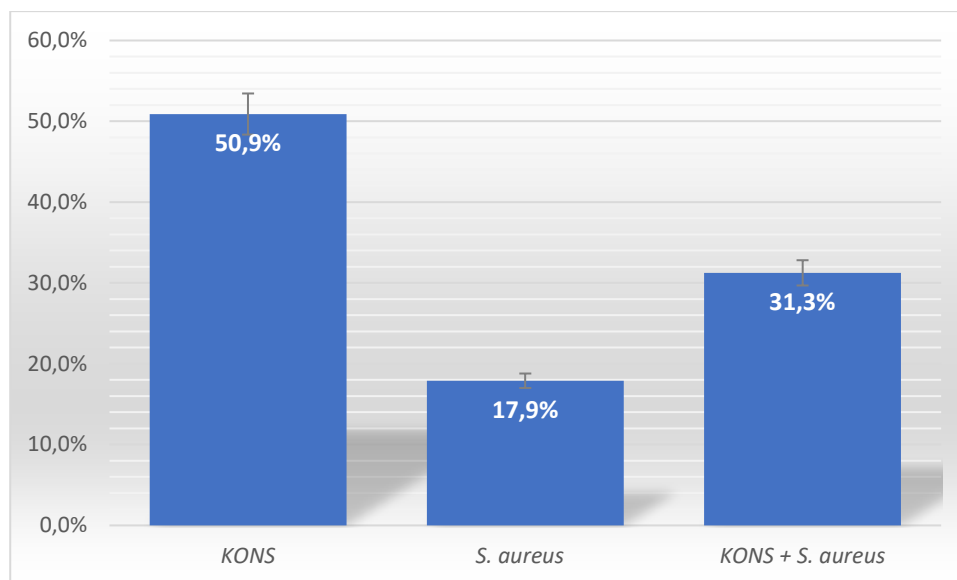
#### Studentu anketēšanas apkopoti rezultāti

<i>Anketas jautājums</i>	<i>Dalībnieku skaits</i>
<i>Ir strādājis stacionārā, pēdējo 2 mēnešu laikā:</i>	
- <i>Nē</i>	<i>40</i>
- <i>Jā</i>	<i>18</i>
- <i>Jā, &gt; 2 mēneši</i>	<i>54</i>
<i>Ir bijis stacionēts pēdējo 2 mēnešu laikā</i>	<i>6</i>
<i>Ir hroniskas saslimšanas</i>	<i>8</i>
<i>Pēdējo 2 mēnešu laikā ir lietojis antibakteriālu terapiju</i>	<i>7</i>

Apkopojot anketās iegūto informāciju nonācām pie šādiem rezultātiem, pētījumā kopā no 112 dalībniekiem, 59,8% (n=67) bija sievietes un 40,2% (n=45) vīrieši, vecuma grupā no 19 līdz 36 gadiem. Vidējais dalībnieku vecums bija 23,18 gadi. Pēc atbildēm noteicām to, ka 35,7% (n=40) dalībnieki nekad nav strādājuši klīnikā, bet 64,3% (n=72) ir strādājuši klīnikā, turklāt 75% (n=54) no tiem, kuri ir strādājuši klīnikā to dara jau vairāk par 2 mēnešiem, un daudzi jau pat gadiem ilgi. 7,1% (n=8) dalībniekiem ir zināmas hroniskas saslimšanas, tika uzskaitītas tādas saslimšanas kā astma un Ūla slimība, bet citi dalībnieki savas hroniskās saslimšanas atklāt nevēlējās. Stacionēti pēdējo 2 mēnešu laikā bija 5,4% (n=6) dalībnieki, bet antibakteriālo terapiju pēdējo 2 mēnešu laikā bija saņēmuši 6,3% (n=7) dalībnieki. Starp lietotajiem antibakteriālajiem preparātiem tika uzskaitīti – nitrofurantoīns, ciprofloksacīns, amoksiclāvs, doksiciklīns.

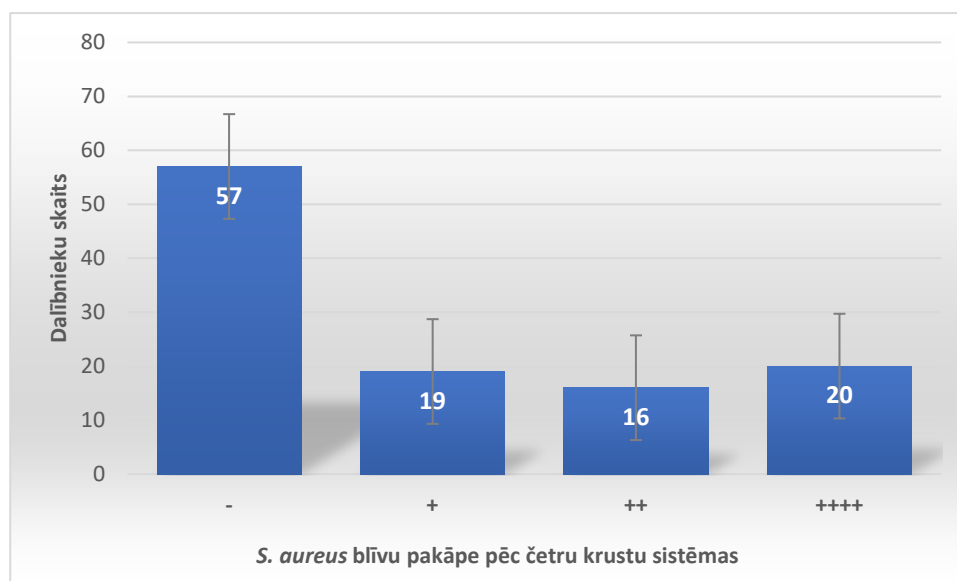
### 3.1. Primāra uzsējuma analīze

Pēc primāru uzsējuma 24 stundu inkubācijas, novērtējām iegūtās mikrobu kultūras. 3.1.1. attēlā redzams iegūtās mikrofloras dalībnieku vidū. Stafilokoki tika izolēti 100,0% ± 2,9% gadījumu (n=112) dalībniekiem. KONS tika konstatēts 50,9% ± 2,19% (n=57) gadījumu, un *S. aureus* 17,9% ± 1,73% (n=20), bet KONS un *S. aureus* kopā 31,3% ± 1,32% (n=35) gadījumos.



3.1.1.att. Iegūtā deguna mikroflora

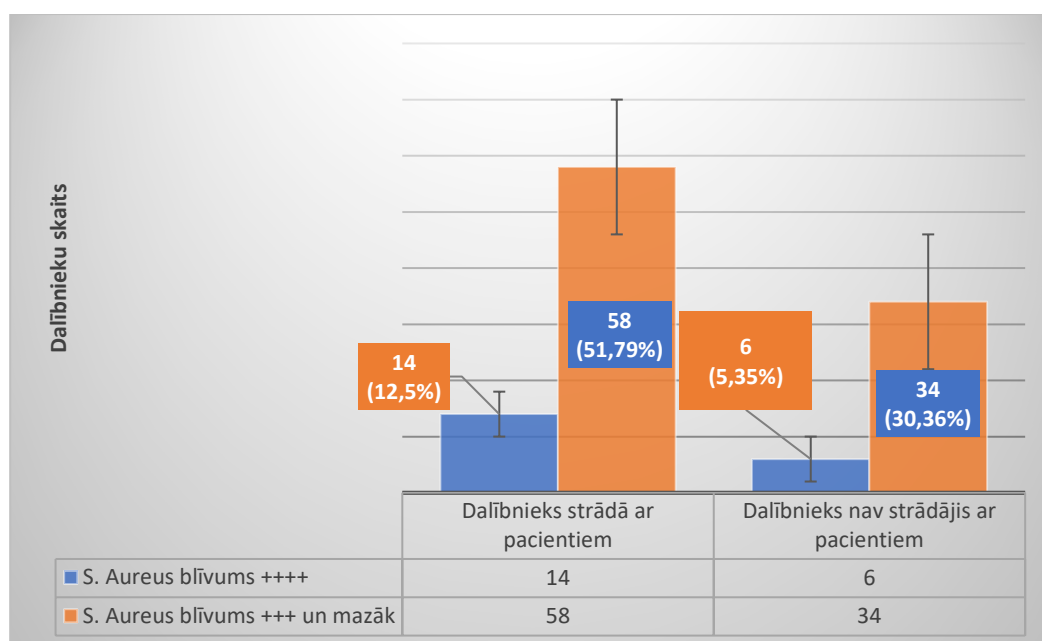
Apskatot rezultātus 17,9% (n=20) gadījumos dalībniekiem izauga *S. aureus* ar blīvu augumu, kas pēc četru krustu sistēmas atbilst augstākajai (++++) pakāpei, un šie paraugi mūsu tālākajam pētījumam nebija derīgi, jo nebija iespējams iegūt KONS. (skat. 3.1.2. att.)



3.1.2.att. *S. aureus* blīvuma īpatsvars starp dalībniekiem

Taču  $82,1\% \pm 2,78\%$  ( $n=92$ ) gadījumos bija iespējams iegūt KONS no esošajiem deguna uzsējuma paraugiem, neskatoties uz to, ka no šī skaita  $38,0\%$  ( $n=35$ ) dalībniekiem arī bija *S. aureus* klātbūtne, taču mazākā blīvumā. Tikai  $50,9\%$  ( $n=57$ ) dalībniekiem *S. aureus* klātbūtne netika atzīmēta. Apskatot *S. aureus* īpatsvaru starp studentiem, noteicām to, ka  $12,5\% \pm 1,04\%$  ( $n=14$ ) cilvēkiem no kopējā skaita, ir dalībnieki, kuri ikdienā strādā ar pacientiem, un tiek uzskatīti par nēsātājiem, bet vēl  $5,35\%$  ( $n=6$ ) dalībniekiem ar augsti blīvu *S. aureus* blīvumu klīniskā prakse līdz šim nav bijusi. (skat. 3.1.3. att.). Lai izvērtētu statistisko ticamību, tika izmantots Pīrsona Hī kvadrāta tests, kas parādīja statistiski nenozīmīgu asociāciju ( $p=0,17$ ). Tā kā MSSA un jo īpaši MRSA ir viens no lielākajiem hospitālo (slimnīcā iegūto) infekciju ierosinātājiem daudzās pasaules valstīs, šie studenti pakļauj riskam saslimt gados vecākus pacientus, ķirurģijas un intensīvās terapijas nodaļas pacientus. Balstoties uz MK 20.07.2010. gada 20. jūlija noteikuma Nr.642 3. pielikumu, kur aprakstīts, ka ārstniecības iestādei ir aizliegts nodarbināt (arī mācību prakses laikā) inficētas personas, kas inficējušas ar noteiktām infekcijas slimībām, t.s. patogēnā stafilokoka epidēmiskā celma nēsāšana, darba devējam jāierobežo šo darbinieku darba pienākumus, t.s. ķirurģiskas procedūras, darbs ķirurģijas nodaļās, intensīvās terapijas nodaļās, dzemdību namos un jaundzimušo nodaļās.

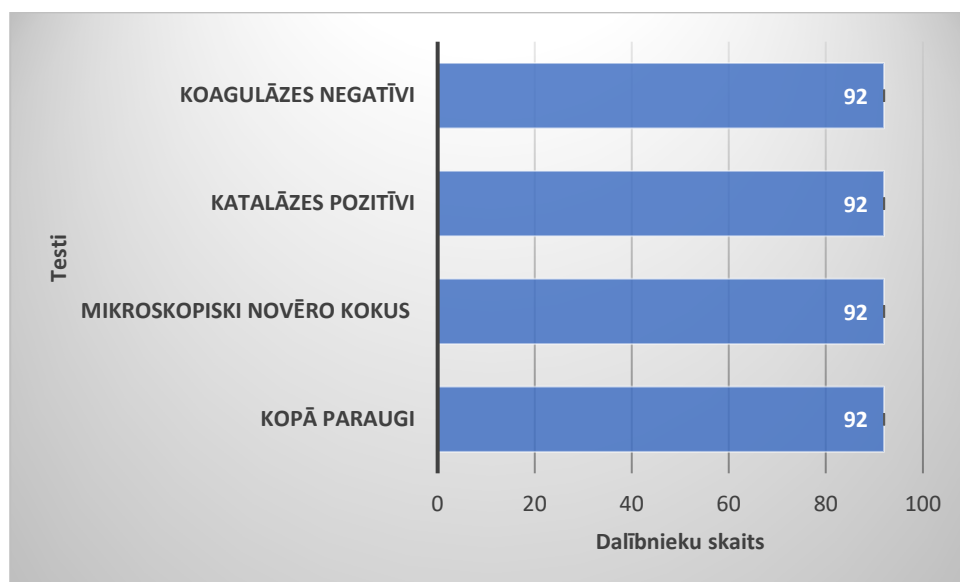
Pētījumā iekļautiem dalībniekiem nepieciešams noteikt patoloģiskā stafilokoka celmu un veikt vajadzīgo ārstēšanu. Taču  $51,79\%$  ( $n=58$ ) dalībniekiem, kas ikdienā strādā slimnīcā, *S. aureus* blīvums ir zem četriem plusiem, četru plusu sistēmā. Kā arī *S. aureus* izplatība zem četriem plusiem ir  $30,36\%$  ( $n=34$ ) dalībniekiem, kas ar klīniku ikdienā nav saistīti.



3.1.3.att. *S. aureus* izplatība saistībā ar darbu klīnikā

### 3.2. Mikroskopija, morfoloģijas un bioķīmijas testi

No primāri Baird-Parker agārā identificētām baktērijām tika izveidota tīrkultūra, kura tika mikroskopēta un veikti katalāzes un koagulāzes testi. No iegūtajām 82,1% (n=92) tīrkultūrām, 100% gadījumu mikroskopiski tika noteiktas koku kolonijas. Tā pat veicot arī katalāzes un koagulāzes testus, visos gadījumos katalāzes reakcija bija pozitīva, un koagulāzes tests negatīvs, kas norādīja uz to, ka esam ieguvuši katalāzes pozitīvos, gram pozitīvos kokus.

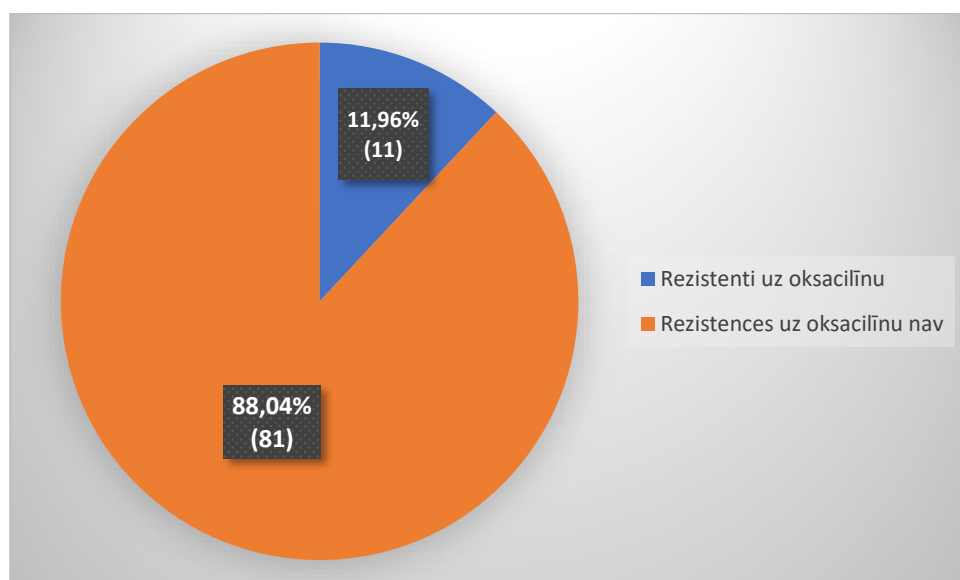


3.2.1. att. Veikto testu rezultāti attiecībā pret tīrkultūru skaitu

### 3.3. Antibiotisko vielu jutības noteikšana ar disku difūzijas testu

Praktiskās daļas ietvaros tika veikts disku difūzijas tests, kura rezultāti tika interpretēti pēc 2019. gada kritērijiem. Darba gaitā noteicām *S. epidermidis* jutību pret oksacilīnu (1 µg). Kopā uz jutību tika pārbaudīti 92 tīrkultūras paraugi, kad uz barotnes virsmas ar sterilu pinceti novietojām 6 mm kartona diskus, kas piesūcināti ar oksacilīnu. Antibiotiskajai vielai difundējot no diska agarā, rodas baktēriju augšanas kavēšanas. Rezultātā mēs novērtējām augšanas aiztures zonas diametru, ko noteicām milimetros.

Pēc 92 paraugu jutības noteikšanas, saņēmām šādus rezultātus. Kopā no 92 paraugiem, rezistenti pret oksacilīnu bija 11,96% ± 1,0% (n= 11, SD = 3,31). Pārējiem 88,04% ± 2,61% (n=81, SD=23,53) dalībniekiem, jutība pret oksacilīnu bija ļoti izteikta un nebija zemāka par 20 mm, ņemot vērā to, ka rezistence ir <10 mm un vidēja jutība starp 11-12 mm (skat. 3.3.1. att).



3.3.1. att. *S. epidermidis* jutīgo un rezistentu pret oksacilīnu dalībnieku īpatsvars

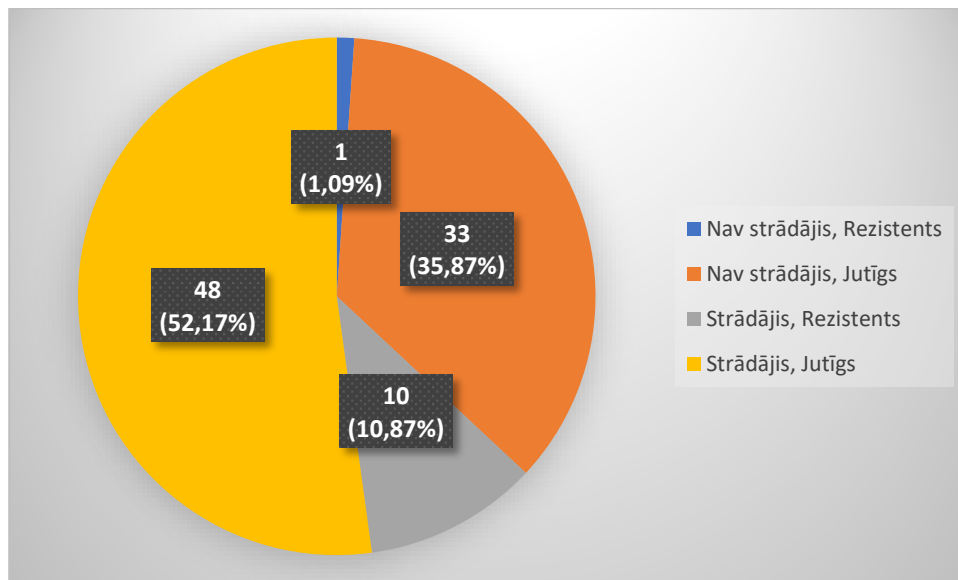
### 3.4. Oksacilīna rezistences saistība ar darbu/praksi klīnikā

Izvērtējot mūsu iegūtos datus no disku difūzijas testiem un savienojot tos ar iegūtajiem anketēšanas rezultātiem, ieguvām sekojošus rezultātus. No kopējā 92 dalībnieku skaita, klīnikā strādā 63,04% ± 2,21% (n = 58, SD = 16,88), bet klīnikā nestrādā 36,96% ± 1,70% (n = 34, SD = 9,95). Tādējādi esam ieguvuši, to, ka 10,87% (n=10) no visiem dalībniekiem (n=92) un 17,24% (n=10) no visiem klīnikā strādājošajiem dalībniekiem (n = 58) ir rezistence pret oksacilīnu, bet pret oksacilīna jutīgi ir 82,76% ± 2,02% (n = 48, SD = 14,0) no dalībniekiem, kas strādā klīnikā un 97,06% (n = 33) no dalībniekiem, kas klīnikā nestrādā. No klīnikā nestrādājošajiem dalībniekiem, tikai 2,94% (n = 1) ir rezistence pret oksacilīnu (skat. 3.4.1. tabula, skat. 3.4.2. att.).

3.4.1. Tabula

#### Asociācija starp darbu/praksi klīnikā un *S. epidermidis* rezistenci pret oksacilīnu

	<i>Strādā klīnikā</i>	<i>Klīnikā nestrādā</i>	<i>Kopā</i>
<i>Dalībnieki ar rezistenci uz oksacilīnu</i>	10 (10,87%)	1 (1,09%)	11
<i>Dalībnieki jutīgi uz oksacilīnu</i>	48 (52,17%)	33 (35,87%)	81
<i>Kopā</i>	<b>58</b>	<b>34</b>	<b>92</b>



### 3.4.2. att. Asociācija ar darbu/praksi klīnikā un tās ietekme uz *S. epidermidis* rezistenci pret oksacilīnu

Lai izvērtētu statistisko ticamību šai datu kopai, tika izmantots Pīrsona Hī kvadrāta tests, pēc kura tika konstatēts, ka ir iegūta statistiski ticama asociācija ( $p = 0,033$ ). Aprēķinot OR (95% CI) attiecību, tika konstatēts, ka studentiem, kuri strādā vai iziet praksi medicīnas iestādēs rezistence pret oksacilīnu bija 6,88 reizes lielāka. (OR = 6,88; RR = 1,53; 95% CI = 1,183 – 1,989;  $p = 0,033$ ).

Apskatot citus blakus ietekmējošos faktorus, kā stacionēšanas laiks līdz 2 mēnešiem, hroniskas saslimšanas un antibakteriālā terapija, ieguvām sekojošus rezultātus, kas attēloti tabulā (skat. 3.4.3. tab). Tabulā varam apskatīt trīs blakus faktoru ietekmi uz OX rezistences esamību starp dalībniekiem. Kā parāda dati par stacionēšanas ietekmi, tad varam novērot to, ka tikai 2,17% ± 0,5% (n=2) dalībnieku, kas bijuši stacionēti ir konstatēta rezistence, bet 4,35% ± 6,5% (n=4), kas arī bijuši stacionēti, rezistence netika konstatēta. Lai izvērtēju statistisko ticamību, Pīrsona Hī tests uzrādīja  $p$ -vērtību ( $p=0,10$ ), kas neatbilst statistiski ticamai asociācijai. Ja salīdzina datus ņemot vērā hroniskas saslimšanas esamību, tad dati liecina par to, ka tikai 1,08% (n=1) no dalībniekiem ar rezistenci pret oksacilīnu ir hroniskas saslimšanas. Bet 7,60% ± 0,82% (n=7) dalībniekiem ar hroniskām saslimšanām rezistence nav konstatēta ( $p = 0,41$ ).

Citu rādītāju ietekme uz *S. epidermidis* rezistenci pret OX

	<i>Bijis stacionēts pēdējo 2 mēnešu laikā</i>	<i>Nav bijis stacionēts pēdējo 2 mēnešu laikā</i>	<i>p-vērtība</i>	<i>RR</i>	<i>95% CI</i>	<i>OR</i>
<i>Ir OX rezistence</i>	2 (2,17%)	9 (9,78%)	0,10	3,68	0,76 – 17,80	4,28
<i>Nav OX rezistence</i>	4 (4,35%)	77 (83,70%)				
	<i>Ir hroniskas saslimšanas</i>	<i>Nav hronisku saslimšanu</i>	<i>p-vērtība</i>	<i>RR</i>	<i>95% CI</i>	<i>OR</i>
<i>Ir OX rezistence</i>	1 (1,08%)	10 (10,87%)	0,41	1,05	0,14 – 7,7	1,05
<i>Nav OX rezistence</i>	7 (7,60%)	74 (80,43%)				
	<i>Lietota a/b terapija pēdējos 2 mēnešos</i>	<i>Nav lietojis a/b terapiju 2 mēnešus pirms tam</i>	<i>p-vērtība</i>	<i>RR</i>	<i>95% CI</i>	<i>OR</i>
<i>Ir OX rezistence</i>	2 (2,17%)	9 (9,78%)	0,16	2,95	0,65 – 13,39	3,38
<i>Nav OX rezistence</i>	5 (5,43%)	76 (82,61%)				

Un apskatot pēdējo aptaujās iekļauto riska faktoru, t.i. antibakteriālo preparātu lietošanu, tad redzams, ka kopējais antibakteriālo terapiju saņēmušo skaits ir 7 no 92. No tiem, tikai  $2,17\% \pm 0,5\%$  ( $n=2$ ) ir rezistence pret OX, kas ir  $28,57\%$  no kopējā OX rezistentu dalībnieku skaita. Dalībnieki, kam konstatēta rezistence, ir arī norādījuši, ka 2 mēnešu laikā pirms pētījuma veikšanas dienas lietojuši amoksiklāvu un ciprofloksacīnu, kas gan nebija statistiski ticamā asociācijā ( $p=0,16$ ). Apskatot sakarību starp rezistenci pret OX un dzimumu novērojam šādus statistiskos datus. OX rezistence novērota  $5,43\% \pm 1,74\%$  ( $n=5$ ) dalībniekiem un  $6,52\% \pm 1,43\%$  ( $n=6$ ) dalībniecēm. Apskatot statistiskās ticamības asociāciju iegūstam  $p=0,19$ , kas nenorāda uz ticamu asociāciju.

## Diskusija

Apskatot diplomdarba praktiskās daļas iegūtos rezultātus varam novērot dažādas tendences. Apvienojot mūsu interesējošos rādītājus, kas tika iegūti anketējot dalībniekus ar otru praktiski iegūto rādītāju jeb jutība uz OX, tad ieguvām šādas likumsakarības.

No kopējā dalībnieku skaita (n=92), klīnikā strādā 63,04% (n=58), bet klīnikā nestrādā 36,96% (n=34), tādējādi apskatot statistiku, nonācām pie tā, ka 10,87% no visiem dalībniekiem un 17,24% no visiem klīnikā strādājošajiem dalībniekiem bija rezistence pret oksacilīnu. Turpretī pret oksacilīnu jutīgi bija 82,76% no dalībniekiem, kas strādā klīnikā un 97,06% no dalībniekiem, kas klīnikā nestrādā. Tādējādi izmantojot Pīrsona Hī kvadrāta testu, ieguvām statistiski ticamu asociāciju šim salīdzinājumam ( $p=0,033$ ) un pēc aprēķinātā OR (95% CI) attiecības, konstatējām, ka studentiem, kas strādā vai iet praksi medicīnas iestādēs iespējamība iegūt rezistenci pret oksacilīnu bija 6,88 reizes lielāka.

Salīdzinot datus ar līdzīgu pētījumu, kas tika publicēts 2019. gadā un norisinājās Uttara Pradešas štata, Luknovā, Indijā, trešās kārtas slimnīcā, kur darba uzdevums bija noteikts stafilokoku dzimtas, jo īpaši MRSA, KONS un MR-KONS izplatību starp medicīnas personālu. Darbā tika ievāktas deguna dobuma uztriepes kopā 214 darbiniekiem, t.s. ārstiem, medmāsām, sanitāriem. Rezultāti parādīja augstu rezistences esamību starp medicīnas personālu, starp ārstiem 41,6% meticilīnrezistentu KONS, medmāsām 32,4% un sanitāriem 32,1%. Tādējādi šis pētījums parādīja augstu mikroorganismu nēsāšanu starp medicīnas centra darbiniekiem, kas lika aizdomāties par iespējamajiem riskiem ikdienas darbā.

*S. epidermidis* un citi KONS ir galvenie cilvēki normālas mikrofloras dalībnieki. MR-KONS deguna dobuma kolonizācijas ir aprakstīta apmēram no 11 līdz 31% dažādās pasaules valstīs (Barbier et al., Ruppe et al.). Dati par līdzīgiem pētījumiem ir daudz, un visi liecina par to, ka bieža ekspozīcija medicīnas iestādēs ļoti strauji paaugstina risku piegūt MRSE, kas mūsu pētījumā arī pierādījās mūsu nelielās kopas apmēros.

Ja apskatīt citus blakus riska faktorus, kas varētu ietekmēt risku ikdienā iegūt MSRE, tad varam redzēt, ka, ja apskatām situāciju, kad dalībnieki bijuši stacionēti pēdējo 2 mēnešu laikā, tad rezultāti parāda, ka kopā no 92 dalībniekiem bijuši stacionēti 6 cilvēki, no kuriem rezistence bijusi 2,17% (n=2). Cilvēkiem ar hroniskām saslimšanām rezistence izpaudusies 1,08% gadījumu (n=1). Antibakteriālās terapijas lietošanas gadījumā pēdējo 2 mēnešu laikā, rezistence bijusi konstatēta 2,17% gadījumu. Bet ja salīdzina rezistences izplatību starp dzimumiem, tad tā ir līdzīga – vīriešiem 5,43% gadījumu un sievietēm 6,52% gadījumu.

Apskatīsim līdzīgu pētījumu, kas tika veikts Kašānas Universitātē, Indijā. Šajā pētījumā piedalījās 600 universitātes studenti. Rezultāti parādīja to, ka MR-KONS izplatība starp

dalībniekiem bija 16,7% un tieši MRSE izplatība bija konstatēta 12,5% universitātes studentiem. Pētījuma autori secinājuši, ka asociācija starp dalībnieku dzimumu, vecumu un iepriekšēju antibiotiku terapiju netika atrasta (Abadi et al, 2015). No šī pētījumā datiem secināms, ka minētie faktori ietekmi uz rezistences iegūšanu neatstāj, kas sakrīt ar mūsu pētījuma datiem.

Apskatot līdzīgus pētījumus Latvijā, interesanti dati atrodami Ivetas Līdumas promocijas darbā “*Staphylococcus epidermidis* virulences faktori un epidemioloģiskā nozīme”, kurā tika ievākti 305 *S. epidermidis* paraugi, no kuriem 185 bija klīniskie materiāli no asinīm, operācijas brūcēm un asinsvadu katetriem, bet 120 bija kontroles paraugi. Rezultāti parādīja, ka klīniskajos izolātos 95,3% (n=143) bija rezistenti pret meticilīnu, bet kontroles grupā MRSE bija 8,33% (n=10). Šajā un arī citos pētījumos ir pierādīts, ka klīniskās grupas celmiem, kas rada infekcijas, rezistence pret meticilīnu ir biežāka un tā ir augstāka nekā *S.aureus* rezistence pret meticilīnu. Interesanti un saistoši ar mūsu pētījumu ir tas, ka šajā darbā tika noskaidrots, kā izplatība sabiedrībā, veselo cilvēku grupās, sastādīja 12,5%. Šis darbs raksturo situāciju Latvijā, kas sakrīt arī ar mūsu iegūtajiem datiem, parādot to, ka klīnikā esošie celmi ar lielāku varbūtību būs ar meticilīna rezistenci, kas nākotnē radītu lielākus draudus nozokomiālo infekciju attīstībai (Līduma, 2016).

Lai novērtētu situāciju Eiropā, ir salīdzināts ar 2017. gadā Spānijā veiktu pētījumu, kur tika analizēti 239 ārstu podologu deguna dobuma uztriepes un viņu anketu atbildes saistībā ar viņu dzimumu, vecumu, darba stāžu, hroniskas saslimšanas, antibiotiku lietošanas vēsturi, to vai bijuši hospitalizēti pēdējā gada laikā un vai ikdienā tiek izmantoti tādi aizsarglīdzekļi, kā maskas, cimdi u.c. Pētījuma uzdevums bija noskaidrot un apzināt MSSA, MRSA un MRSE nēsātāju īpatsvaru starp slimnīcas podologiem un izvērtē potenciālos riskus. Rezultāti parādīja, ka MRSE prevalence starp ārstiem bija 23,8%. Augstāka prevalence bija starp vīriešiem 33,7%, kamēr sievietēm 8,6% (p=0,0089). MRSE bija vairāk izplatīts starp ārstiem, kas ir vecāki par 50 gadiem - 38,5% salīdzinot ar ārstiem, kas jaunāki par 35 gadiem - 17,8% (p=0,0101). Un MRSE prevalence bija lielāka ārstiem, kas strādājuši slimnīcā ilgāk par 15 gadiem - 39,3%, nekā tiem, kas strādājuši mazāk par 5 gadiem - 12,5% (p=0,0015). Šajā pētījumā zinātnieki nonāca pie secinājumiem, ka podologiem ir relatīvi zems MRSE nēsāšanas īpatsvars salīdzinot ar medmāsām un citu specialitāšu ārstiem. Tika arī noteikta likumsakarība, ka augstāks risks uz MRSE iegūšanu bija vīriešiem, kas ir vecāki par 50 gadiem un darba stāžs ir virs 15 gadiem. Lai gan mūsu pētījumā netika noteikta likumsakarība, ka kādam no dzimumiem ir lielāks risks uz MRSE iegūšanu, taču ir arī kopīgas iezīmes par to, jo ilgāk cilvēks atrodas klīniskā vidē, jo lielāks risks uz MRSE iegūšanu (de Benito et al., 2018).

Apskatot brīvi pieejamos pētījumu resursus, tad tika novērota situācija, ka pētījumu par *S. epidermidis* un MRSE nav pārāk daudz. Tie ir arvien populārāki pēdējos 20 gados, jo parādījušies ar vien vairāk pierādījumi par to, ka *S. epidermidis* ir svarīgs oportūnistisks patogēns, kas izraisa lielu spektru dažādāko infekciju un spēlē lielu lomu medicīnas ierīču infekciju izraisīšanā. Tas ir saistīts ar pacientu vecāko gadagājumu un lielāku medicīnas ierīču lietošanu. Salīdzinot mūsu pētījumu ar citiem apskatītajiem pētījumiem, varam saprast to, ka šie blakus faktori vismaz mūsu pētījumā ietekmi uz rezistenci nerada, un, lai konkrētāk tos izvērtētu, būtu nepieciešams lielāks dalībnieku skaits, tādējādi analīze būtu objektīvāka. Pētījumi šajā laukā būtu jāturpina, jo *S. epidermidis* izraisītās infekcijas kļūst arvien aktuālāks jautājums mūsu ikdienas dzīvē, jo *S. epidermidis* asociētās katetru, protēžu un citu implantēto ierīču infekcijas pieaug.

## Secinājumi

1. Pētījuma ietvaros ir atrasta saistība starp darbu klīnikā un iespēju iegūt meticilīnrezistentu *S. epidermidis* celmu. Tā kā no 92 derīgiem dalībnieku uzsējumiem klīnikā strādājošajiem MSSE bija 52,17% un MRSE 10,87%, bet tiem, kas klīnikā nav strādājuši MSSE 35,87% un MRSE 1,09%.
2. Statistiskie dati nepierādīja saikni starp dzimumu, stacionēšanu nodaļā, antibiotiku lietošanu, hronisku slimību esamību un paaugstinātu MRSE nēsāšanas risku.
3. Starp studējošajiem ir liels *S. aureus* nēsātāju īpatsvars, kas bija 49,10% (n=55) no visiem dalībniekiem (n=112), no kuriem 17,9% (n=20) bija ar augstu augšanas blīvumu, (++++) četru krustu sistēmā.
4. 10,87% (n=10) studentu ar MRSE ikdienu saskarās ar pacientiem un ir aktīvi veselības aprūpes darbinieki.
5. OR (95% CI) attiecība parāda, ka studentiem, kas ikdienā strādā medicīnas sfērā, ir 6,88 reizes lielāka iespēja iegūt MRSE, nekā tiem, kas medicīnas aprūpē nestrādā.

## **Pateicība**

Vēlos izteikt vislielāko pateicību savai darba vadītājai, As. prof. Tatjanai Tračevskai, par noderīgu padomu un konsultāciju sniegšanu visa darba tapšanas stadijā.

Īpašs paldies VSIA “Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcas” vecākajai biomedicīnas laborantei Ludmilai Bogdžai par atbalstu un palīdzību diplomdarba praktiskās daļas tapšanā.

## Izmantotā literatūra

1. **Abadi M.I., Moniri R., Khorshidi A et al. (2015)** Molecular Characteristics of Nasal Carriage Methicillin-Resistant Coagulase Negative Staphylococci in School Students. *Jundishapur J Microbiol.* Doi: <https://dx.doi.org/10.5812%2Fjjm.18591v2>
2. **Ahlstrand E., Persson L., Tidefelt U. (2012)** Alteration of the colonization pattern of coagulase-negative staphylococci in patients undergoing treatment for hematological malignancy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* (pp. 1679-1687).
3. **Baldassarri L., Donelli G., Gelosia A., Simpson A.W., Christensen G.D. (1997)** Expression of slime interferes with in vitro detection of host protein receptors of *Staphylococcus epidermidis*. *Infect Immun.* (pp. 1522-1524).
4. **Banerjee S.N., Emori T.G., Culver D.H. (1991)** Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States. *National Nosocomial Infections Surveillance System. Am J Med.* (pp. 86-89).
5. **Botelho A.M., Nunes Z., Anensi M.D. (2012)** Characterization of coagulase-negative staphylococci isolated from hospital indoor air and a comparative analysis between airborne and inpatient isolates *Staphylococcus epidermidis*. *J Med Microbiol.* (pp. 1136-1145).
6. **Caputo G.M., Archer G.L., Calderwood S.B. et al. (1978)** Native valve endocarditis due to coagulase-negative staphylococci. Clinical and microbiologic features. *Am J Med.* (pp. 619-625).
7. **Costerton JW, Lewandowski Z., Caldwell D.E., (1995).** Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol.* (pp. 711-754). doi: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.mi.49.100195.003431>
8. **De Benito S., Alou L., Becerro de Bengoa Vallejo R. Et al. (2018)** Prevalence of *Staphylococcus spp.* Nasal colonization among doctors of podiatric medicine and associated risk factors in Spain. *Antimicrob Resist Infect Control.*  
<https://doi.org/10.1186/s13756-018-0318-0>
9. **Haslett T.M., Isanberg H.D., Hilton E. (1988)** Microbiology of indwelling central intravascular catheters. *J Clin Microbiol.* (pp. 696-701).
10. **Hira V., Sluijter M., Goessens W.H. (2010)** Coagulase-negative staphylococcal skin carriage among neonatal intensive care unit personnel: from population to infection. *J Clin Microbiol.* (pp. 3876-3881).
11. **Huebner J., Goldmann D.A. (1999)** Coagulase- negative staphylococci: role as pathogens. *Annu Rev Med.* (pp. 223-236)

12. **Humphreys H. (2012).** Staphylococcus by H. Humphreys. In Elsevier. *Medical Microbiology (Eighteenth Edition)* (pp. 176).
13. **John S. Bradley, Victor Nizet (2016).** Staphylococcal infections. Elsevier. *Remington and Klein's Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant.* (pp. 475-503).
14. **Jonatham H. Lee, Kimberly D., Burner., Michael E. Fealey et al. (2011)** Prosthetic valve endocarditis: clinicopathological correlates in 122 surgical specimens from 116 patients (1985-2004). In Elsevier. doi: <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2009.09.006>
15. **Kocianova S., Vuong C., Yao Y., Voyich J.M., Fischer E.R. (2005)** Key role of poly-gamma-DL-glutamic acid in immune evasion and virulence of Staphylococcus epidermidis. *J Clin Invest.* (pp. 688-694). doi: <http://dx.doi.org/10.1172/JCI23523>
16. **Kristinsson K.G. (1989)** Adherence of staphylococci to intravascular catheters. *J Med Microbiol.* (pp. 249-257). doi: <https://doi.org/10.1099/00222615-28-4-249>
17. **Kulshrestha N., Ghatak T., Gupta P., Singh M., Agarwal J. (2019)** Surveillance of health-care workers for nasal carriage to detect multidrug-resistant Staphylococcus spp. In a tertiary care center: An observational study. *Medical Journal of Dr. D.Y. Patil Vidyapeeth.* (pp. 39-43). Doi: [http://doi.org/10.4103/mjdrdypu.mjdrdypu\\_74\\_18](http://doi.org/10.4103/mjdrdypu.mjdrdypu_74_18)
18. **Larru B., Gong W., Vendetti N. (2016)** Bloodstream infections in hospitalized children: epidemiology and antimicrobial susceptibilities. *Pediatr Infect Dis J.* (pp. 507-510).
19. **Levinson W. (2014)** Review of Medical Microbiology and Immunology, 14th edition. By McGraw-Hill Education. (pp. 109-116)
20. **Li D.Q., Lundberg F., Ljungh A. (2000)** Binding of von Willebrand factor by coagulase-negative staphylococci. *J Med Microbiol.* (pp. 217-224).
21. **Līduma I, Tračevska T., Žileviča A., (2010)** Nozokomiālo koagulāzes negatīvo stafilokoku meticilīnrezistences un virulences faktoru pētījums. Latvijas Universitātes Raksti, 755. sējums. (pp. 13-20).
22. **Līduma I. (2016)** *Staphylococcus epidermidis* virulences faktori un epidemioloģiskā nozīme. Promocijas darbs.
23. **Lou Q., Zhu T., Hu J., Ben H., Yang J. (2011)** Role of the SaeRS two-component regulatory system in Staphylococcus epidermidis autolysis and biofilm formation. *BMC Microbiol.* Doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-11-146>
24. **Moormeier D.E., Bose J.L., Horswill A.R. (2014)** Temporal and stochastic control of Staphylococcus aureus biofilm development. *MBio.* doi: 10.1128/mBio.01341-14
25. **Olmos C., Vilacosta I., Fernandez-Perez C. (2017)** The evolving nature of infective endocarditis in Spain: a population-based study (2003 to 2014). *J Am Coll Cardiol.* (pp. 2795-2804).

26. **Otto M. (2009)** Staphylococcus epidermidis – the “accidental” pathogen. *Nature Reviews Microbiology*. (pp. 555-567).
27. **Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller. (2016)**. Staphylococcus and related gram-positive cocci. In Elsevier (ed.), *Medical Microbiology* (pp. 170-182).
28. **Pinho M.G., de Lencastre H., Tomasz A. (2001)** An acquired and a native penicillin-binding protein cooperate in building the cell wall of drug resistant staphylococci. *Proc Natl Acad Sci*. (pp. 10886-10891)
29. **Raad I., Kassar R., Ghannam D. (2009)** Management of the catheter in documented catheter-related coagulase-negative staphylococcal bacteremia: remove or retain? *Clin Infect Dis*. (pp. 1187-1194).
30. **Roos K.L., Scheld W.M. (1997)** Central nervous system infections, In Crossley KB, Archer. *The staphylococci in human disease*. (pp. 413-433)
31. **Safdar N., Maki D.G. (2004)** The pathogenesis of catheter-related bloodstream infection with noncuffed short-term central venous catheters. *Intensive Care Med*. (pp. 62-67).
32. **Steven R. Gill, Derrick E. Fouts, Gordon L. Archer., (2005)**. Insights on Evolution of Virulence and Resistance from the Complete Genome Analysis of an Early Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Strain and a Biofilm-Producing Methicillin-Resistant Staphylococcus epidermidis Strain. *American Society of Microbiology Journals*. (pp. 2426-2438) doi: <https://doi.org/10.1128/JB.187.7.2426-2438.2005>
33. **Timothy Foster (1996)**. Staphylococcus. In *Medical Microbiology*. 4th edition.
34. **Tormo M.A., Knecht E., Gotz F., Lasa I., (2005)**. Bap-dependent biofilm formation by pathogenic species of Staphylococcus: evidence of horizontal gene transfer? *Microbiology* (pp. 2465-2475). doi: <http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.27865-0>
35. **Van der Heijden Y.F., Miller G., Wright P.W. (2011)** Clinical impact of blood cultures contaminated with coagulase-negative staphylococci at an academic medical center. *Infect Control Hosp Epidemiol*. (pp. 623-625).
36. **Zhang Y.Q., Ren S.X., Li H. L., et al. (2003)**. Genome-based analysis of virulence genes in a non-biofilm forming. *Mol Microbiol*. (pp. 1577-1593).
37. **Žileviča A. (2014a)**. Tipisko baktēriju šūnas struktūras elementi. *Medicīnas mikrobioloģija*. LU Medicīnas fakultāte. (pp. 43-47).
38. **Žileviča A. (2014b)** Biomembrānas. *Medicīnas mikrobioloģija*. LU Medicīnas fakultāte. (pp. 81-85).

Dalībnieka nr.

Labdien!

Es, LU MF 6. kursa 7. grupas students Edgars Birkenfelds, vēlos veikt pētījumu un noteikt meticilīna rezistentu *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) prevalenci starp veseliem iedzīvotājiem.

Lūdzu Jūs palīdzēt man šajā darbā un rūpīgi izlasīt katru jautājumu. Katram jautājumam ir doti atbilžu varianti. Jums jāizvēlas sev piemērotais atbilžu variants. Atbildot uz jautājumiem, apvelciet ar apli vai ierakstiet savu atbildi brīvajā vietā.

Piedalīšanās aptaujā ir Jūsu brīva griba un tā ir anonīma. Iegūtie dati tiks izmantoti tikai manā pētījumā.

**1. Jūsu dzimums:**

- a) sieviete
- b) vīrietis

**2. Jūsu vecums gados**

**3. Vai Jūs strādājat klīnikā vai arī esat bijuši klīniskā praksē pēdējo 2 mēnešu laikā?**

- a) jā, (cik ilgi?) \_\_\_\_\_
- b) nē

**4. Vai pēdējo 2 mēnešu laikā esat bijis stacionēts?**

- a) jā
- b) nē

**5. Vai Jums ir hroniskas saslimšanas?**

- a) jā, (kādas?) \_\_\_\_\_ (nav obligāti jāatbild)
- b) nē

**6. Vai pēdējo 2 mēnešu laikā esat lietojis antibakteriālu terapiju?**

- a) Jā, (kādu un cik ilgi?) \_\_\_\_\_
- b) nē

Lūdzu norādiet savu e-pastu rezultātu saņemšanai, ja vēlaties \_\_\_\_\_

## **INFORMĀCIJA PACIENTIEM**

**par pētījumu "Meticilīna rezistences noteikšana *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) starp veselēm ledzīvotājiem"**

### **Informācija par pētījumu**

Mēs uzaicinām Jūs piedalīties pētījumā "*Meticilīna rezistences noteikšana Staphylococcus epidermidis (MRSE) starp veselēm ledzīvotājiem*", ko veic Latvijas Universitātes Medicīnas fakultātes 6. kursa 7. grupas students, Edgars Birkenfelds. Vēlamies Jūs iepazīstināt ar pētījuma mērķi, norisi un saturu. Pirms šī dokumenta parakstīšanas rūpīgi izlasiet visu informāciju! Pirms dokumenta parakstīšanas Jums ir tiesības uzdot jautājumus par pētījumu un saņemt uz tiem atbildes.

### **Pētījuma mērķi un uzdevumi**

Pētījuma mērķis ir noskaidrot rezistentu baktēriju (MRSE) nēsāšanas īpatsvaru populācijā starp veselēm cilvēkiem. Šī pētījuma ietvaros būs nepieciešams ievākt paraugu no Jūsu deguna dobuma, lai turpmāk veiktu bakteriālo uzsējumu un veiktu citas analīzes. Pētījuma ietvaros pārbaudīsim likumsakarību par MRSE īpatsvaru starp cilvēkiem, kuri jau strādājuši klīnikā un starp tiem, kas klīnikā vēl nav strādājuši. Kā arī noskaidrosim antibiotiku lietošanas un hospitalizācijas vēsturi.

### **Konfidencialitāte**

Šis pētījums tiks vadīts un realizēts atbilstoši visiem Latvijas Republikā pastāvošajiem datu aizsardzību regulējošiem normatīvajiem aktiem. Visi Jūsu un pārējo dalībnieku anketēšanas, medicīniskie dati, izmeklējumu, kas tiks iegūti pētījuma laikā, tiks apkopoti un apstrādāti anonīmā veidā. Jūsu personiskā informācija tiks glabāta stingri konfidenciali, un tā nebūs publiski pieejama.

### **Brīvprātīguma princips dalībai vai atteikumam**

Svarīgi, lai Jūs apzinātos, ka dalība šajā pētījumā ir brīvprātīga. Ja Jūs nevēlaties piedalīties, Jums tas nav jādara. Jūs varat izstāties no pētījuma jebkurā laikā, un tas neatstās nevēlamas sekas uz Jūsu tālāko aprūpi, Jūsu attiecībām ar ārstu un medicīnas iestādi. Ja Jūs esat izlēmis atteikties no dalības pētījumā, informējiet par to atbildīgo ārstu vai pētnieku savlaicīgi. Pirms parakstīt piekrišanas lapu Jums ir tiesības uzdot jebkādus jautājumus un pieprasīt nepieciešamo informāciju, kas attiecas uz pētījumu.

### **Paldies Jums par sadarbību!**

## PACIENTA PIEKRIŠANAS APLIECINĀJUMS

### Brīvprātīga piedalīšanās:

Piedalīšanās šajā pētījumā ir brīvprātīga. Jums ir tiesības atteikties piedalīties pētījumā vai pārtraukt dalību pētījumā jebkurā laikā. Jūsu atteikšanās piedalīties pētījumā vai dalības pārtraukšana neradīs nekādu nevēlamu ietekmi uz Jums sniegtās veselības aprūpes kvalitāti. Mēs informēsim Jūs par visiem būtiskajiem jautājumiem par šo pētījumu, kas var ietekmēt Jūsu vēlmi turpināt dalību šajā pētījumā.

Ja jums ir jebkādi jautājumi par šo pētījumu, lūdzu, sazinieties ar diplomdarba vadītāju as. profesori Tatjanu Tračevsku, Latvijas Universitāte, epasts: [tracevsk@lu.lv](mailto:tracevsk@lu.lv). Pētījums ir apstiprināts 18.09.2019 ētikas komitejā: LU kardioloģijas un reģeneratīvās medicīnas zinātniskās izpētes ētikas komisija.

Šis dokuments ir sastādīts divos eksemplāros, no kuriem viens atrodas pie pētījuma veicēja, bet otrs – pie pētāmās personas.

Es ar savu parakstu apliecinu, ka

- 1) esmu iepazinies/-usies ar šī dokumenta saturu;
- 2) uz maniem jautājumiem ir sniegtas atbildes,
- 3) es piekrītu piedalīties šajā pētījumā,
- 4) es saprotu, ka mana dalība šajā pētījumā ir brīvprātīga, un atteikšanās piedalīties pētījumā vai dalības pārtraukšana neizraisīs nekādas nelabvēlīgas sekas;
- 5) piekrītu, ka šī pētījuma laikā, atbilstoši tiesiskā regulējuma prasībām, tiek savākti, uzglabāti un apstrādāti mani personas dati, tai skaitā medicīnisko izmeklējumu rezultāti,

\_\_\_\_\_  
Vārds, uzvārds

\_\_\_\_\_  
Datums

\_\_\_\_\_  
Paraksts

Pētnieks:

\_\_\_\_\_  
Edgars Birkenfelds

Vārds, uzvārds

\_\_\_\_\_  
Datums

\_\_\_\_\_  
Paraksts

1.pielikums LU KRMI Zinātniskās izpētes  
Ētikas komisijas nolikumam.  
Apstiprināts: LU KRMI ZP sēdē  
31.08.2016.

LATVIJAS UNIVERSITĀTES KARDIOLOĢIJAS UN REĢENERATĪVĀS  
MEDICĪNAS INSTITŪTA ZINĀTNISKĀS IZPĒTES ĒTIKAS KOMISIJA

PIETEIKUMS

I. DIPLOMDARBA VADĪTĀJS

Vārds, uzvārds: **Tatjana Tračevska**  
Zinātniskais grāds: **Dr.biol.**  
Amats: **LU as. profesore, vadošā pētniece**  
Zinātniskās iestādes nosaukums: **Latvijas Universitātes, Medicīnas fakultāte**  
Adrese: **Jelgavas iela 1, Rīga**  
Tālr. **29191137**  
E-pasts **tatjana.tracevska@lu.lv**

II. PROJEKTA NOSAUKUMS

**"Meticilīna rezistences noteikšana *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) starp veselīem iedzīvotājiem"**

III. PROJEKTA IZPILDĪTĀJI

Vārds, uzvārds: **Edgars Birkenfelds**  
Zinātniskais grāds: **nav**  
Amats: **students**  
Zinātniskās iestādes nosaukums: **Latvijas Universitāte**  
Nodaļa: **Medicīnas fakultāte** Adrese: **Raiņa bulvāris 19**  
Tālr. **+371 20212206**  
E-pasts: **edgars.birkenfelds@inbox.lv**

IV. PROJEKTA KOPSAVILKUMS

A. PĒTĪJUMA OBJEKTI

Iezīmēt: **Cilvēki**   
**Dzīvnieki**

NB! Ja pētījuma objekti ir cilvēki vai to audi un pētījums ir prospektīvs, tad obligāti jāpievieno Pacienta informācijas lapa(s), kā arī Pacienta piekrišanas forma(s).



## DOKUMENTĀRĀ LAPA

Diplomdarbs „Meticilīna rezistences noteikšana *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) starp veseliem iedzīvotājiem” izstrādāts LU Medicīnas fakultātē.

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

Autors: Edgars Birkenfelds \_\_\_\_\_ 30.04.2020 \_\_\_\_\_  
(vārds, uzvārds) (paraksts) (datums)

Rekomendēju/nerekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs: \_\_\_\_\_  
(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts) (datums)

Recenzents: \_\_\_\_\_  
(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts) (datums)

Darbs iesniegts LU Medicīnas fakultātē 30.04.2020  
(datums)

Vecākā lietvede Juta Bārtule \_\_\_\_\_  
(paraksts)

Diplomdarbs aizstāvēts II līmeņa profesionālās augstākās izglītības studiju programmas „Ārstniecība” Valsts pārbaudījumu komisijas sēdē \_\_\_\_\_ 2020., prot. Nr.

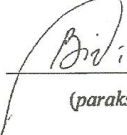
\_\_\_\_\_  
Komisijas sekretāre: \_\_\_\_\_  
(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts)

## DOKUMENTĀRĀ LAPA

Diplomdarbs „Meticilīna rezistences noteikšana *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) starp veseliem iedzīvotājiem” izstrādāts LU Medicīnas fakultātē.

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

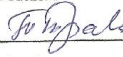
Autors: Edgars Birkenfelds  
(vārds, uzvārds)

  
(paraksts)

04.05.2020  
(datums)

Rekomendēju/nerekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs: as. prof. Tatjana Tračevska  
(amats, vārds, uzvārds, grāds)

  
(paraksts)

05.05.2020  
(datums)

Recenzents: \_\_\_\_\_

(amats, vārds, uzvārds, grāds)

(paraksts)

(datums)

Darbs iesniegts LU Medicīnas fakultātē 04.05.2020  
(datums)

Vecākā lietvede Juta Bārtale \_\_\_\_\_

(paraksts)

Diplomdarbs aizstāvēts II līmeņa profesionālās augstākās izglītības studiju programmas „Ārstniecība” Valsts pārbaudījumu komisijas sēdē \_\_\_\_\_ 2020., prot. Nr. \_\_\_\_\_.

Komisijas sekretāre: \_\_\_\_\_

(amats, vārds, uzvārds, grāds)

(paraksts)