

LATVIJAS UNIVERSITĀTE  
MEDICĪNAS FAKULTĀTE  
FARMĀCIJAS BAKALaura STUDIJU PROGRAMMA

**Ādas mikrobiotas sastāvā esošo baktēriju identifikācija  
un jutības pret antibakteriālajiem līdzekļiem noteikšana**

BAKALaura DARBS

**Autors:** Laine Freimane

Studenta apliecības Nr. lf18014

Darba vadītājs: Dr.med. Iveta Līduma

RĪGA 2021

## ANOTĀCIJA

**Darba aktualitāte:** Antimikrobiālā rezistence ir viens no 10 globālajiem veselības draudiem cilvēcei. Ir jānosaka mikroorganismu jutība pret antibakteriālajiem līdzekļiem, lai mazinātu rezistences izplatību.

**Darba mērķis:** Noskaidrot pētījuma dalībnieku ādas mikrobiotas sastāvu un noteikt mikroorganismu jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem.

**Izmantotās metodes un materiāli:** No ādas tika paņemti uzņēmumi, laboratorijā baktērijas identificēja ar BBL™ Crystal™ sistēmu, ar DDT testu un E-testu noteica to antibakteriālo jutību.

**Rezultāti:** Izdalītie mikroorganismi - *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus epidermidis*. *S. maltophilia* izolāti rezistenti pret ceftriaksonu, jutīgi pret ciprofloksacīnu. *S. epidermidis* rezistenti pret eritromicīnu, jutīgi pret vankomicīnu.

**Atslēgvārdi:** antibakteriālie līdzekļi, jutība, rezistence, baktērijas

## ABSTRACT

**Topicality of the work:** Bacterial resistance is one of the top 10 global health threats facing humanity. The susceptibility of microorganisms to antimicrobials should be determined in order to reduce resistance.

**Purpose of the work:** Identify the composition of skin microbiota and clarify the susceptibility of microorganisms to antimicrobials.

**Methods and materials used in the work:** Skin assays were collected, DDT test and an E-assay was performed, bacteria were identified with BBL™ Crystal™ system, the antibacterial susceptibility was determined.

**Results:** *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus epidermidis* were identified. *S. maltophilia* is resistant to ceftriaxone, susceptible to ciprofloxacin. *S. epidermidis* is resistant to eritromicine, susceptible to vancomycin.

**Keywords:** antibacterial agents, susceptibility, resistance, bacteria

# SATURA RĀDĪTĀJS

<b>APZĪMĒJUMU SARAKSTS .....</b>	<b>5</b>
<b>IEVADS.....</b>	<b>8</b>
<b>1. LITERATŪRAS APSKATS.....</b>	<b>9</b>
1.1. Ādas uzbūve .....	9
1.2. Ādas funkcijas .....	13
1.2.1. Aizsargfunkcija.....	13
1.2.2. Vielmaiņas funkcija.....	15
1.2.3. Maņu funkcija.....	17
1.2.4. Termoregulācijas funkcija .....	17
1.2.5. Gāzu apmaiņas funkcija.....	18
1.2.6. Sekrēcijas un ekskēcijas funkcija.....	18
1.2.7. Resorbcijas funkcija .....	19
1.2.8. Imūnfunkcija.....	20
1.3. Ādas mikrobiotas daudzveidība.....	27
1.4. Antibakteriālo līdzekļu rezistence un tās mehānismi .....	29
<b>2. MATERIĀLI UN METODES.....</b>	<b>32</b>
2.1. Pētījuma apraksts.....	32
2.2. Materiāli .....	32
2.2.1. Transporta barotnes .....	32
2.2.2. Laboratorijā pieejamās iekārtas un piederumi.....	33
2.2.3. Cietās barotnes mikroorganismu kultivēšanai.....	34
2.3. Metodes .....	35
2.3.1. Ādas uzņēmumu ievākšana.....	35
2.3.2. Krāsošana pēc Grama metodes.....	35
2.3.3. Disku difūzijas un E – tests .....	37
<b>3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA .....</b>	<b>39</b>
3.1. Rezultāti.....	39
3.1.1. Mikroorganismu identifikācija .....	39
3.2.2. Antibakteriālās jutības testi .....	41
3.2. Diskusija.....	45
<b>4. SECINĀJUMI.....</b>	<b>50</b>

<b>PATEICĪBAS .....</b>	<b>51</b>
<b>IZMANTOTĀ LITERATŪRA .....</b>	<b>52</b>
<b>PIELIKUMI .....</b>	<b>57</b>
1.pielikums. Ētikas komisijas atļauja pētījuma veikšanai .....	58

## APZĪMĒJUMU SARAKSTS

μL, mkl - mikrolitri

Ala - alanīns

ALP - antileikoproteāze

AMP – ampicilīns

AMS – ampicilīns/sulbaktāms

AUG – amoksicilīns/klavulānskābe

B reg – B regulējošās šūnas

CAZ – ceftazidīms

CD – klindamicīns

CIP – ciprofloksacīns

CRO – ceftriaksons

CSLI – Klīnisko un laboratorijas standartu institūts (Clinical and Laboratory Standards Institute)

CXM – cefuroksīms

DCD-1 - dermicidīns

DDT – disku difūzijas tests

DNS – dezoksiribonukleīnskābe

DXT – doksiciklīns

ECP - eozinofīlais katjoniskais proteīns

EFSA – Eiropas pārtikas nekaitīguma iestāde (European Food Safety Authority)

ER – eritromicīns

EUCAST – Eiropas antimikrobiālo līdzekļu jutības noteikšanas komiteja (European Committee on Antimicrobial Susceptibility)

FOX – cefoksitīns

g/L – gramu uz litru

G-CSF – granulocītu koloniju stimulējošais faktors

GM-CSF – granulocītu – makrofāgu koloniju stimulējošais faktors

GN – gentamicīns

hCAP18 - cilvēka katjoniskais antimikrobiālais peptīds-18

HLA – cilvēka leikocīta antigēns

HOPS – hroniska obstruktīva plaušu slimība

IFN- $\gamma$  – gamma interferons  
IgA – imunoglobulīns A  
IgE – imunoglobulīns E  
IgM – imunoglobulīns M  
IL – interleikīni  
KIR - galētājšūnu imunoglobulīnam līdzīgie receptori (killer immunoglobulin-like receptors)  
LZN – linezolid  
MAC – membrānārdes komplekss  
MASP-1, MASP-2 - mannānu saistošās ar lektīnu saistītās serīna proteāzes 1 un 2 (mannan-binding lectin-associated serine proteases 1 and 2)  
MBP - galvenais bāziskais proteīns  
MHC - galvenais audu saderības komplekss  
mm - milimetri  
MMP – matricas metaloproteināze -2 (matrix metalloproteinase-2)  
mRNS – matricas ribonukleīnskābe  
MRP – meropenēms  
MRSA – meticilīna rezistentais *Staphylococcus aureus*  
NaCl – nātrija hlorīds  
NK - dabiskās galētājšūnas  
PAMPs - ar patogēniem saistītās molekulārās struktūras (pathogen – associated molecular pattern)  
PBP – proteīnu saistošais proteīns  
PBP2a – proteīnu saistošā proteīna izmainītā forma  
PRR – patogēna paveida pazīšanas receptori (pattern recognition receptors)  
PVO – Pasaules Veselības organizācija  
RNase – ribonukleāze – 7  
RNS – ribonukleīnskābe  
ROS – reaktīvās skābekļa formas  
SCAMP – sekretorie membrānas nesējproteīni  
SPKC – Slimību profilakses un kontroles centrs  
SXT – trimetoprimis/sulfametoksazols  
TCR – T šūnu receptori

TE – tetraciklīns

TGF- $\beta$  – beta augšanas faktors

Th – T helperšūnas

TLR – toll – līdzīgie receptori

TNF- $\alpha$  – alfa tumornekrozes faktors

Treg – T regulējošās šūnas

TSA – triptikāzes sojas agars

UV stari – ultravioletie stari

VAMP – ar vezikulām saistītie membrānas proteīni (vesicle associated membrane proteins)

VAN – vankomicīns

## IEVADS

Āda ir mūsu organisma lielākais orgāns. Tā darbojas kā fiziskā un imunoloģiskā barjera, veicot plaša spektra iedzimtas un adaptīvas imūnās reakcijas. Uz ādas dzīvojošie mikroorganismi stabilizē saimniekorganisma barjeru, cīnoties ar patogēniem, mijiedarbojoties ar ādas imūnajām šūnām, kā arī modificējot saimniekimunitāti. Ādas mikrobiota ir nozīmīga cilvēka veselības sastāvdaļa un tiek uzskatīts, ka disbioze var izraisīt vai pasliktināt ādas slimības. Baktērijas ir vislabāk izpētītā ādas mikrobiotas daļa. Komensiālās ādas baktērijas ir iedalītas četrās kategorijās: aktinobaktērijas (korinebaktērijas, propionibaktērijas), proteobaktērijas, firmikuti (stafilokoki) un bakteroidētes (bacteroidetes). Baktēriju daudzums no personas uz personu atšķiras un variē atkarībā no ķermeņa daļas. Apkārtējās vides faktori, tādi kā ziepju, kosmētiku, antibakteriālo līdzekļu lietošana, mitruma daudzums, temperatūra, UV staru iedarbība ietekmē mikroorganismu kolonizāciju (1).

Ir svarīgi pētīt mikroorganismu antimikrobiālo rezistenci, jo tā ir kļuvusi par svarīgu problēmu medicīnā. Pasaules Veselības Organizācija (PVO) ir noteikusi, ka antimikrobiālā rezistence ir viens no desmit globālās veselības draudiem cilvēcei. Antimikrobiālā rezistence ne tikai izraisa mirstības un invaliditātes pieaugumu, bet arī pagarina uzturēšanās laiku slimnīcā un palielina prasību pēc dārgākiem medikamentiem. Bez efektīviem, iedarbīgiem pretmikrobu līdzekļiem modernās medicīnas panākumi infekciju slimību, tostarp pie operācijām un ķīmijterapijas pielietošanas vēža ārstēšanā, būtu pakļauti riskam (2).

**Darba mērķis:** Noskaidrot pētījuma dalībnieku ādas mikrobiotas sastāvu, kā arī noskaidrot mikroorganismu jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem.

### **Darba uzdevumi:**

1. No pētījuma dalībnieku ādas mikrofloras iegūt mikrobioloģiskos uzņēmumus un veikt uzņēmumos atrasto mikroorganismu – tūrkultūras identifikāciju.
2. Noteikt atrasto mikroorganismu jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem.
3. Veikt iegūto datu izpēti un apstrādi.

# 1. LITERATŪRAS APSKATS

## 1.1. Ādas uzbūve

Āda ir lielākais orgāns cilvēka organismā. Tā uztur barjeru starp iekšējo un ārējo vidi. Anatomiski āda sastāv no epidermas un dermas. Epiderma ir ādas virsējais slānis, savukārt derma atrodas zem epidermas. Zem dermas atrodas subkutānie (zemādas) audi, kurus dažkārt sauc arī par hipodermu, taču tas netiek uzskatīts par ādas slāni (3).

Epiderma ir daudzkārtainā plakanā epitēlija struktūra, kurai ir pieci vai vairāki labi atdalīti un definēti slāņi. Šie slāņi, sākot no pamata līdz ādas virsmai, ir sekojoši: *stratum basale* (zināms arī kā *stratum germinativum*), *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lucidum* (atrodas tikai vietās, kur āda ir bieza, piemēram, plaukstās un uz pēdām), kā arī *stratum corneum*. Epidermas slāņi satur migrējošas epiteliālās šūnas – keratinocītus, kas sastāda 95% no epidermā sastopamajām šūnām. Šīs šūnas diferencējas, lai kalpotu kā efektīvs barjeras slānis brīdī, kad tās sasniegs ādas virsmu (*stratum corneum*). Bez tam, epiderma satur arī citus šūnu tipus, kas ir svarīgi ādas funkciju un strukturālās integritātes nodrošināšanā: melanocītus, Langerhansa šūnas, Merkela šūnas. Epidermas galvenā funkcija ir pasargāt ādu no apkārtējās vides kaitīgajiem faktoriem, veidojot fizisku, ķīmisku, bioķīmisku un imunoloģisku barjeru (3,4,5).

Epidermas dziļāko slāni sauc par *stratum basale* (zināms arī kā *stratum germinativum*). Bazālais slānis ir ādas reprodiktīvais slānis, un to raksturo keratinocītu proliferācija (vairošanās). Šis slānis nodrošina epidermas atjaunošanos un interesanti, ka tikai 15% bazālā slāņa šūnu ir nepārtraukti iesaistītas šajā procesā – pārējās šūnas ir klusajā, t.s. miega stāvoklī. Kad bazālā šūna dalās, viena šūna sāk migrāciju, otra paliek reprodiktīvajā slānī, lai turpinātu reprodiktīvo ciklu. Ādas šūnas – keratinocīti migrē *stratum corneum* virzienā, zaudē kodolu un tiek pakļautas morfoloģiskām un bioķīmiskām izmaiņām – to sauc par terminālo diferenciaciju (keratinizāciju). Kad tā ir pabeigta, paliek cieši sapakotu mirušu šūnu slānis. Bazālais slānis satur arī melanocītus, kas ir atbildīgi par ādas pigmenta melanīna producēšanu. Morfoloģiski melanocītiem ir dendrīti, kas satur melanosomas, kurās tiek uzglabāts melanīns. Melanosomas ir organellas, kas satur melanīnu, kurš tiek ražots no aminoskābes tirozīna. Melanīns atbild ne tikai par katra indivīda ādas krāsu, bet tam ir arī fotoprotektīva iedarbība – tas absorbē kaitīgos UV starus un aizsargā šūnas no DNS bojājumiem. Migrējošie keratinocīti *stratum spinosum* slānī ir aizsargāti no kaitīgās UV gaismas, pateicoties melanosomām, kas kustas līdz ar melanocītu dendrītiem uz perifēriju, nodrošinot palielinātu pigmentu izkliedi un fotoprotektivitāti (novērots pie hiperpigmentācijas un sauļošanās) (3,4)(6).

Virš bazālā slāņa ir *stratum spinosum* jeb dzeloņainais slānis, kas ir visplānākais epidermas slānis – trīs līdz četrus šūnu slāņus (rindas) biezs. Dzeloņainajā slānī bez keratinocītiem atrodas arī Langerhansa šūnas. Tām ir dendrītisks raksturs un tās tiek klasificētas kā fagocītiskas un antigēnus prezentējošas šūnas (3)(5,6).

Nākamais slānis ir *stratum granulosum*. Graudainais slānis sastāv no plakaniem keratinocītiem ar izteikti tumšām keratohialīna granulām. Graudainā slāņa šūnas satur organellas – Odlanda ķermenīšus, kas nopietni iesaistās epidermas barjerfunkciju nodrošināšanā. Odlanda ķermenīši satur enzīmus un lipīdus, piemēram, keramīdus, kas tiek izdalīti starpšūnas telpā. Tie veido lipofilu slāni starp graudaino slāni un *stratum corneum*, kas kalpo kā barjera ūdens zudumam. Pastāv hipotēze, ka defekti šajā lipofilajā slānī ir viens no galvenajiem defektiem pie atopiskā dermatīta (3).

*Stratum lucidum* ir spīdīgais slānis, kas atrodas starp graudaino slāni un *stratum corneum* jeb raga slāni. Tas sastāv no caurspīdīgām šūnām un atrodas tikai vietās, kur ir bieza āda – uz plaukstām un pēdām. Citās vietās šis slānis nav atrodams (3).

Epidermas virsmai tuvākais slānis ir *stratum corneum* jeb raga slānis, kurš piedalās ādas barjeras funkcijas veidošanā. Šajā slānī esošās šūnas ir termināli diferencējušies keratinocīti, kurus sauc arī par korneocītiem – tās ir plakanas, keratinizētas, blīvi sakārtotas un mirušas šūnas bez kodola vai organellām. Šis slānis variē 18 – 20 slāņu biezumā atkarībā no ādas reģiona – visbiežākais tas ir uz plaukstām un pēdām. Šī slāņa šūnās ir saglabājies kodols tikai gadījumos, kad šūnas no bazālā ādas slāņa ātrāk migrē uz ādas virsmu, piemēram, pie psoriāzes migrācijas laiks ir uz pusi īsāks (no 28 dienām uz 14), kas rezultējas ar samazinātu keratinocītu diferenciāciju, saglabātu kodolu un psoriāzei raksturīgo sudrabbalto plankumu parādīšanos. Korneocītus satur kopā korneodesmosomas (3)(7).

Virš epidermas ir saistaudu slānis, ko sauc par dermu – svarīgu ādas anatomisko sastāvdaļu. Derma veido ādas lielāko daļu un nodrošina tās elastību, caurlaidību, izturību pret stiepšanu. Derma pasargā ādu no mehāniskiem ievainojumiem, saista ūdeni, piedalās termoregulācijā un ietver sensoro stimulu receptorus. Derma ir slānis, kas atbalsta, baro un saista epidermu ar hipodermu. Derma mijiedarbojas ar epidermu, saglabājot abu slāņu īpašības. Abi divi slāņi mijiedarbojas dermālo – epidermālo krustojumu un epidermālo piedēkļu morfoģenēzē un sadarbojas, labojot un remodelējot ādu brūču dzīšanas procesā. Derma netiek pakļauta acīmredzamam diferenciācijas procesam. Matricas komponenti, tādi kā kolagēns un elastīgie saistaudi variē no dziļuma atkarīgā veidā (*depth dependent manner*) un tie piedzīvo

izmaiņas normālas ādas remodelēšanā, patoloģiskos procesos un atbildot uz eksternāliem stimuliem (6)(11).

Derma sastāv no diviem slāņiem – papilārā un retikulārā. Papilārais slānis ir augšējais dermas slānis, kas atrodas tieši zem epidermas. Šis slānis sastāv galvenokārt no irdeniem areolāriem saistaudiem, kapilārām cilpām un nervu termināliem, ieskaitot mehanoreceptorus – Meisnera korpuskulus, kas ir jutīgi pret taktiliem stimuliem. Viena no galvenajām papilārā slāņa funkcijām ir piegādāt barības vielas *stratum basale* slānim epidermā. Kapilārās cilpas nodrošina perfūziju, kas nepieciešama, lai atbalstītu epidermālo šūnu mitozu un keratinocītu diferenciāciju, kas nepieciešama normālu barjeras funkciju veikšanai. Papilārais slānis ir atbildīgs par cilvēka pirkstu nospiedumu veidošanos (6)(8)(11).

Retikulārais slānis ir dermas dziļākais, zemākais slānis. Tas satur lielāko saistaudu proteīnu daļu, kura nodrošina ādas spēku un elastību. Šajā slānī esošie proteīni, piemēram, kolagēns un elastīns, ir iestrādāti mukopolisaharīda – glikozaminoglikāna – tīklā. Derma satur dažādus šūnu veidus, it īpaši retikulārajā slānī. Retikulārajā slānī ir atrodami arī mehanoreceptori – Pačīni korpuskuli, kuri ir jutīgi uz spiedienu, un Rufīni korpuskuli, kuri ir jutīgi uz stiepšanu. Galvenie retikulāro slāni apdzīvojošie šūnu veidi ir fibroblasti, tuklās šūnas un makrofāgi (6)(11).

Fibroblasti atbild par saistaudu un ekstracelulārās matricas sintēzi un atjaunošanu, it īpaši par kolagēna (dermālie “būvbloki”) un elastīna (nodrošina ādas stiprumu, to iestiepjot) sintēzi, tāpat fibroblasti ražo laminīnu – vienu no bazālās membrānas galvenajām sastāvdaļām, kā arī fibronektīnu, kas saista ārpusšūnu matricas proteīnus. Tuklās šūnas ir granulētas imūnās šūnas, kas ir viscaur dermas slānī un ir atbildīgas par histamīna, leikotriēnu, prostaglandīnu un vairāku hemotaktisko līdzekļu izdalīšanos. Pārmērīga histamīna un citu iekaisuma mediatoru izdalīšanās var izraisīt nātreni, alerģisko rinītu, astmu (3,4).

Derma satur arī makrofāgus – svarīgākos iedzimtās imūnsistēmas komponentus. Makrofāgi savāc un atbrīvojas no ekstracelulārās vides nevajadzīgajām atliekām, aprij patogēnus, kā arī tiem ir būtiska nozīme brūču dzīšanā. Bez bagātīga artēriju, arteriolu, kapilāru, vēnu un vēnulu tīkla, dermai ir arī plaša limfātiskā sistēma un vairāki jušanas nervi. Matu folikuli, tauku un sviedru dziedzeri anatomiski atrodas dziļi dermas slānī un ir izklāti ar epidermas bazālo slāni. Epidermālās un dermālās struktūras ir spējīgas reproducēties, savukārt epidermālie piedēkļi nespēj reproducēties (3).

Hipoderma ir zemādas tauku slānis, kas atrodas zem dermas. Tas nodrošina siltumizolāciju un atdala ādu no muskuļiem, kauliem, cīpslām un locītavām. Zemādas audiem

ir būtiska nozīme spiediena pārdalē, piemēram, cilvēkiem, kam ir mazs zemādas tauku slānis, ir lielāks risks saslimt ar spiediena čūlu, it īpaši, ja šie cilvēki ir guļoši vai sēdoši. Cilvēkiem ar lieko svaru ir palielināts risks saslimt arī ar spiediena čūlu, kā arī šādiem cilvēkiem sliktāk dzīst brūces – liekie taukaudi palielina spiedienu starp ādu un gultu / krēslu, subkutānie audi ir vāji perfuzēti un līdz ar to lēni, slikti dzīst. Zemādas audi nespēj reproducēties – ja brūce veidojas zemādas audu slānī, brūce sadziest, veidojot rētu. Derma un hipoderma ir visefektīvākās ādas barjeras pret traumatiskiem un termiskiem kairinātājiem (3,4).

Muskuļu slānis ir mīksto audu slānis, kas iet dziļi līdz hipodermai un atrodas tieši blakus kaulam, šim slānim ir lielāks vielmaiņas ātrums nekā ādai vai zemādas audiem. Muskuļu slānis ir slānis, ko visvairāk ietekmē neatslogots spiediens kaula punktā (*unrelieved pressure over a bony prominence*). Pēdējie pētījumi liecina, ka lielākā daļa spiediena čūlu rodas pie muskuļu – kaulu saskarsmes (3).

## 1.2. Ādas funkcijas

Āda ir lielākais organisma orgāns, un tās galvenā funkcija ir kalpot kā aizsargbarjerai starp ārējo un iekšējo vidi. Āda uztur organisma homeostāzi, nodrošina vielmaiņu, kalpo kā izvadorgāns (caur ādu izdalās medikamenti, toksīni un citas vielas), tā parāda iekšējo orgānu un sistēmu darbības traucējumus, kā arī tā darbojas kā imūnorgāns. Ādas virsmu klāj aizsargplēvīte – skābā mantija, kuru veido ādas dziedzeru (tauku, sviedru) sekrēts, kā arī raga plātnītes ar starpšūnu lipīdiem. Šī mantija neļauj ādai zaudēt mitrumu, samazina siltumatdevi, kā arī aizsargā ādu no saplaisāšanas un inhibē patogēnu augšanu. Šī aizsargplēvīte pazūd uz 3 – 4 stundām, ja āda tiek mazgāta ar sārmainām ziepēm. Ja process tiek atkārtots vairākkārtīgi dienas laikā, ādā parādās mikroplaisiņas, kas pakļauj risku ādā iekļūt mikroorganismiem un kaitīgām vielām, tādējādi āda zaudē savas dabīgās aizsargspējas, rodas iekaisumi, ādas strutainās slimības (12).

Āda ir sekojošas funkcijas:

- Aizsargfunkcija;
- Vielmaiņas funkcija;
- Maņu funkcija;
- Termoregulācijas funkcija;
- Gāzu apmaiņas funkcija;
- Sekrēcijas un ekskrecijas funkcija;
- Resorbcijas funkcija;
- Imūnfunkcija (12).

### 1.2.1. Aizsargfunkcija

Viena no ādas galvenajām funkcijām ir kalpot par iekšējās un ārējās vides barjeru, tādējādi aizsargājot ādu no vides, mehānisku, bioloģisku, fizikālu un ķīmisku kairinātāju iedarbības, kā arī pasargājot ādu no pārmērīga vides mitruma ietekmes. Barjeras funkcija ir atkarīga no *stratum corneum* jeb epidermas raga slāņa un normāla ādas lipīdu slāņa esamības. *Stratum corneum* slānis, dermas šķiedras un hipodermas tauku polsteris aptur vai samazina mehānisko kairinātāju, tādu kā spiedienu, berzi, sitienu, iedarbību. Spēcīga kairinātāja gadījumā āda tiek traumēta, bet, ja kairinājums ir neliels, bet ilgstošs, raga slānis sabiezē un veido varžaci, sarepējumus (12).

Aizsargājot organismu no ārējās vides patogēniem, tiek realizēta ādas bioloģiskā aizsardzība. No ārējās vides mikroorganismiem ādu pasargā nemitīgi noloģīties un atjaunoties

spējīgais blīvais raga (*stratum corneum*) slānis, sekrēts, ko izdala tauku un sviedru dziedzeri, kā arī lizocīma esamība ādas aizsargplēvē – ādas skābajā mantijā. *Stratum corneum* slāņa nolobīšanās ātrums ir atkarīgs no dažādiem faktoriem, tādiem kā ādas rajona, piemēram, visātrāk (nedēļas laikā) ādas virskārta nolobās vietās, kas ir atklātas – seja, plaukostas, vislēnāk (2-4 nedēļu laikā) – aizklātajās ķermeņa daļās, tāpat nolobīšanās ātrumu ietekmē cilvēka vecums un gadalaiks – ādas lobīšanās vasarā paātrinās (12).

Epidermas skābā mantija, ādas uzbūve un virsmas negatīvais lādiņš rada ādas ķīmisko aizsardzību. Ādā iekļūst un rada bojājumus tikai tādas ķīmiskās vielas, kas šķīdina ādas raga slāni, kā arī šķīst taukos un/vai ūdenī (12).

Ādas fizikālā aizsardzība raksturojas ar ādas spēju pasargāt ādu no fizikālo faktoru – gaismas, ultravioleto staru un elektriskās strāvas – kaitīgās iedarbības. Ādu pret elektrisko strāvu aizsargā ādas virsmas negatīvais lādiņš un ādas raga slānis. Ja āda svīst (ir mitra), aizsardzība pret elektrisko strāvu ievērojami samazinās. Melanīns, pigments, ko producē epidermas bazālā slāņa *stratum basale* dendrītiskās šūnas – melanocīti, pasargā ādu no ultravioleto staru iedarbības. Melanīna sintēzei nepieciešami vara joni, ultravioletie stari un skābekļa klātbūtne, kā arī enzīms tirozināze (12).

Ultravioletajiem stariem UV ir dažāds viļņa garums, un tie dažādi ietekmē ādu. Īsie UV stari UVC neiziet cauri ozona slānim, to garums ir 180 – 280 nm, tie nesasniedz ādu. UVB staru garums ir 280 – 320 nm, šo staru iedarbībā pēc 12 – 24 stundām novēro eritrēmas parādīšanos, bet vēl pēc 48 – 72 stundām tiek novērota melanīna sintēze. Šie stari iet cauri ūdenim. Ozona slānim samazinoties, ievērojami paaugstinās UVB staru iedarbība. Tāpat šie stari veicina D<sub>3</sub> vitamīna sintēzi. Ilgstoša UVB staru iedarbība rada keratinocītu mutāciju, bojā šūnu membrānas, izraisa saistaudu bojājumus, imūnsupresiju un solāro keratomu veidošanos. Līdz dermas slānim nokļūst 10% no UVB starojuma (12).

UVA stari ir 320 – 400 nm gari. Šie stari iet cauri stiklam, mākoņiem, plānam apģērbam, to nokļūšanu līdz Zemes virsmai neietekmē ozona slāņa biezums. Ādas raga slānis aiztur līdz 50% no UVA stariem. Tie iet cauri epidermai, 30 – 50 % sasniedz dermas virsējo slāni, bet UVA ar viļņa garumu 400 nm iekļūst arī dziļākos dermas slāņos. Šie stari rada melanīna oksidāciju, taču pigments ir nenoturīgs, jo melanīns netiek sintezēts. Īsāka viļņa garuma UVA stari (320 – 340 nm) rada DNS bojājumus un eritēmu, bet garāka viļņa garuma UVA stari (340 – 400) nm izraisa melanīna sintēzi, ilgstoša gara viļņa garuma UVA staru iedarbība šķīdina starpsūnu lipīdus, rada strukturālas pārmaiņas – ādā izzūd kolagēnās un elastīgās šķiedras, veidojas brīvie radikāļi, āda dehidratējas, t.s. noveco, šiem stariem ir arī loma ādas vēža

attīstībā. Ādā ir atrodamas divu tipu barjeras, kas pretojas UV staru radiācijai: melanīna barjera epidermā un proteīnu barjera *stratum corneum* slānī. Abas barjeras absorbē DNS, tādējādi mazinot DNS absorbciju (9)(12).

Redzamās gaismas stari, kuru garums ir 400 – 480 nm, iekļūst ādā līdz hipodermas slānim, radot siltuma sajūtu. Homeostāzes nodrošināšanai ādā sāk darboties sviedru dziedzeri, paplašinās asinsvadi un palielinās siltuma atdeve. Saules infrasarkanie stari (800 – 10000 nm) 59% iet cauri ādai, un šo staru radītais siltums iespiežas ādā dziļāk nekā redzamās gaismas staru radītais siltums (3)(12).

### 1.2.2. Vielmaiņas funkcija

Pastāv vairāki ādas vielmaiņas veidi: ūdens un elektrolītu vielmaiņa, oglehidrātu, olbaltuma un lipīdu vielmaiņas, kā arī ādai pašai ir fermentatīvā aktivitāte.

Cilvēka organismā ūdens procentuālais daudzums sastāda līdz 71%, bet ādā no šī procenta ūdens daudzums sastāda apmēram 20%. Cilvēka ādā ūdens atrodams gan brīvā veidā, gan saistoties ar mukopolisaharīdiem, proteīniem un lipīdiem. Visvairāk ūdens ir atrodams ādas saistaudos. No ādas virsmas ūdens izdalās gan kā izgarojot ādas dziedzeru sekrētu, tā arī neredzamā jeb *perspiratio insensibilis* veidā. Ādā atrodas vairāki elektrolīti: nātrijs Na, kas atrodas starpšūnu telpā, piesaistot ūdeni. Paaugstinoties nātrija līmenim, rodas tūska. Kālijs K atrodams epidermā, iekšā šūnās (intracelulāri). Kalcijs Ca atrodas šūnu membrānās, kur tas saistās ar olbaltumvielām. Magnijs Mg atrodas šūnu iekšienē, epidermas virskārtā, un tam ir svarīga loma enzimatiskajos procesos. Fosfors P ietilpst daudzu organisko un neorganisko savienojumu, tādu kā oglehidrāti, fosfolipīdi, nukleotīdi, sastāvā, kā arī tas piedalās vielmaiņas procesos. Sērs S nepieciešams normālam ādas šūnu – keratinocītu normālam diferenciacijas procesam – keratinizācijai, kā arī tā ir svarīga aminoskābju sastāvdaļa. Ādā ir atrodami arī vairāki mikroelementi, piemēram, dzelzs Fe un varš Cu piedalās normāla melanīna (ādas pigments) sintēzē, bet mangāns Mn un cinks Zn iesaistās enzimatiskajos procesos (12).

Ādas cukuru procentuālais daudzums ir apmēram 60mg%. Cukuru daudzumam ādā nav attiecības (korelācijas) ar cukura līmeni asinīs, kā arī tas mainās ādas un vielmaiņas slimību laikā. Enerģijas materiāls keratinizācijai – glikogēns – veidojas epidermā un tās atvasinājumos (derivātos). Glikogēns noārdās enzīma fosforilāzes klātbūtnē un tas nav atrodams dermā un hipodermā. Nozīmīga ādas sastāvdaļa ir arī skābie mukopolisaharīdi – hondroitīnsērskābe un hialuronskābe, kas savienojas ar olbaltumvielām un veido normālu epidermas virsmas raga slāni (kertānsulfāts). Ādas tuklās šūnas dermas slānī ražo heparīnu (mukoitīnpolisulfoskābe, polisaharīds), kas ir dabīgais antikoagulants un svarīga enzimatisko procesu sastāvdaļa (12).

Brīvās aminoskābes, kas piesaista ūdeni, rada aizsargkārtiņu, aizsargā ādu no ultravioleto staru iedarbības, kā arī iesaistās ādas pH veidošanā, ir atrodamas visos ādas slāņos, un to sastāvs ir nemainīgs. Epidermā sarežģīta bioķīmiskā procesa rezultātā veidojas keratīns, kura veidošanās sākas no cisteīnu un sēru saturoša proteīna ādas bazālajā – *stratum basale* slānī. Secīga pārragošanās procesa beigās veidojas no polisaharīdiem, fosfolipīdiem un neitrālām aminoskābēm sastāvošs raga slānis. Atkarībā no tā, kā sakārtojas polipeptīdi, izšķir divu tipu keratīnus:  $\alpha$ -keratīns – ādas raga slānis, kas ir mīksts, un  $\beta$ -keratīns – no šī keratīna sastāv mati un nagi.  $\beta$ -keratīns ir ciets. Dermas slāni veido irdenie saistaudi, kuri veidojas sarežģītā bioķīmiskā procesā. Galvenā to sastāvdaļa ir proteīni, taču tie sastāv arī no dažādām šķiedrām (kolagēnajām, argirofilajām, elastīgajām), starpšūnu vielas un šūnām. Saistaudi nodrošina vielu apmaiņu, kura savukārt nodrošina dažādas funkcijas – trofiskās, reģenerācijas (plastiskās) funkcijas, kā arī aizsardzības (mehāniskās, imunoloģiskās) funkcijas. Galvenā saistaudu daļa ir no ūdens un kolagēna, skābajiem mukopolisaharīdiem un lipīdiem sastāvošās kolagēnās šķiedras. Kolagēna pamatsastāvā ir viela, ko producē fibroblasti – prokolagēns. Kolagēnās šķiedras ir izturīgas, sakopotas kūlīšos, veido ādas karkasu un ir maz elastīgas. Argirofilo šķiedru pamatā ir retikulīns – lipoglikoproteīns, kas veido pinumus ap epidermas un dermas slāņu robežu – bazālo membrānu, kā arī ap ādas veidojumiem. Argirofīlās šķiedras ir izturīgas. Elastīgo šķiedru pamatā ir elastīns, kas ir līdzīgs kolagēnam, bet elastīna sastāvā ir arī mukopolisaharīdi un polisaharīdi, tāpēc elastīns atšķirībā no kolagēna ir elastīgs, nodrošinot ādas apaļīgās formas. Ar vecumu elastīgo šķiedru daudzums kļūst mazāks (12).

Hipodermas slānī atrodas visvairāk tauku slāni veidojošo lipīdu, kuru galvenā sastāvdaļa ir skvalēns. Tauku slānis kalpo kā uzkrājējs (rezervuārs), tauku slānim ir polsterfunkcija un tam ir liela nozīme vielmaiņas procesos. Epidermas slānī atrodami dažādi lipīdi: epidermas normālu funkciju nodrošināšanai un vielmaiņas procesiem nepieciešamās taukskābes, D provitamīns, fosfolipīdi, holesterīns (sterīni). Ādas lipīdu saturs ir mainīgs, to ietekmē dažādi faktori, tādi kā lietotais uzturs, vecums, dzimums (12).

Dažādos ādas slāņos lielā skaitā ir atrodami vielmaiņas katalizatoru – fermentu, kuru sintēze notiek ādā: fosfatāzes, aldolāze, amilāze un citi enzīmi. Tauku dziedzeru izvadkanālos atrodas enzīms lipāze, kas šķeļ ādas taukus. Epidermas slānī pigmentu melanīnu veidojošajās šūnās – melanocītos aminoskābe tirozīns enzīma tirozināzes klātbūtnē vairāku starpposmu (starpstadiju) rezultātā pārvēršas par pigmentu - melanīnu. Šo procesu sauc par melanoģenēzi. Enzīma tirozināzes Cu (vara) jonam saistoties ar sulfidrilgrupu UV staru un skābekļa klātbūtnē melanocītos tiek ierosināta aminoskābes tirozīna oksidācija un veidojas melanīns. Melanoģenēzi ietekmē veģetatīvā nervu sistēma un endokrīnā nervu sistēma (12).

### 1.2.3. Maņu funkcija

Ādai ir vairāki aferentie receptori, kas uztver un reaģē uz apkārtējās vides radītajiem stimuliem. Receptori ir izvietoti visos ādas slāņos un var uztvert pieskārienu, spiedienu, temperatūras izmaiņas, sāpes un niezi. Pastāv trīs maņu funkciju veidi: taktilā recepcija, termorecepcija, kā arī sāpju un niezes recepcija (12).

Pieskārienu (taktilo) un spiediena sajūtu ādas epidermas slānī uztver nervu šķiedras, kas sakopotas pinumos apmatotajās ādas vietās ap matu folikuliem. Neapmatotajās ādas vietās šo funkciju veic divu tipu neiroreceptori, kas uztver pieskārienus, spiedienu, vibrācijas: epidermas slānī – Meisnera ķermenīši, dermas slānī – Merkela ķermenīši. Hipodermas slānī atrodas Fātera – Pačīni ķermenīši, kas ir dziļā spiediena receptori – uztver spiediena izmaiņas. Par cik ādas slāņos ir nevienmērīgs neiroreceptoru izvietojums, ādas taktilā sajūta ir atšķirīga dažādās vietās (6)(12).

Ir divu tipu specializētie nervgaļi, kas uztver temperatūras pārmaiņas ādā: kolbveida jeb Krauzes ķermenīši, kas ir izvietoti pa vienam uz 15 mm<sup>2</sup> un atrodas 0,1 mm dziļi un Rufini ķermenīši, kas ir jutīgi arī pret stiepšanu un atrodas dziļāk – 0,3 mm dziļi un tie ir izvietoti pa vienam uz katru 1 mm<sup>2</sup> ādas. Ja temperatūra mainās lēni, āda adaptējas un pierod. Āda uztver temperatūras izmaiņas par 0,3°C, ja temperatūras svārstības ir straujas. Temperatūras pārmaiņu laikā tiek ierosināta asinsvadu reakcija un tiek regulēta sviedru dziedzeru darbība (6)(12).

Ādā nav specifisku sāpju vai niezes receptoru. Nieze ir specifiska ādas izpausme. Sāpju (niezes) sajūtu ādā var radīt kā ārēji kairinātāji, tā neiroloģiskas pārmaiņas, bioķīmiskas pārmaiņas ādā, elektrolītu koncentrācijas izmaiņas, arī skābekļa trūkums. Niezes atšķiras pēc kvalitātes, piemēram, veciem cilvēkiem niezi var radīt vielmaiņas un pārragošanās traucējumi, taukos šķīstošo vitamīnu nepietiekamība, pārsutināta āda, atopiskā dermatīta pacientiem novērojama lēkmjveida nieze, bet nātrenes laikā nieze ir saistīta ar histamīna (iekaisuma mediators) iedarbību, un tā ir jūtama brīdī, kad parādās izsitumi. Visbiežāk cilvēkiem ar ādas saslimšanām niezi novēro vakaros un naktīs (12).

### 1.2.4. Termoregulācijas funkcija

Ir divi termoregulācijas veidi: ķīmiskā termoregulācija jeb siltuma produkcija, kurā iesaistās endokrīnā sistēma, tiek iesaistīti vielmaiņas procesi un tā notiek caur smadzeņu centriem reflektorā un humorālā veidā, un fizikālā termoregulācija jeb siltuma atdeve. Fizikālajā termoregulācijā galvenā loma ir termoreceptoriem, ādas asinsvadiem un sviedru dziedzeriem. Fizikālā termoregulācija var izpausties vadīšanas ceļā vai kā izstarojums,

izgarojums. Ādas spēja kontrolēt asins plūsmu ir vitāli svarīga termoregulācijā un fizioloģiskas ķermeņa temperatūras nodrošināšanā. Ādas asinsriti regulē simpātiskā nervu sistēma, un noradrenalīns un adrenalīns ir galvenie neurotransmiteri, kas tiek iesaistīti asinsrites regulēšanas procesos. Noradrenalīna vai adrenalīna atbrīvošanās noved pie vazokonstrikcijas (asinsvadu sašaurināšanās), kas noved pie ādas asins plūsmas samazināšanās. Kad noradrenalīna un adrenalīna līmeņi ir samazināti, novēro vazodilatāciju un asins plūsmas paplašināšanos. Karstā laikā asinsvadi paplašinās, āda kļūst sārta un cilvēks izdala sviedrus, regulējot temperatūru. Aukstā laikā norit pretējs process – novēro asinsvadu konstrikciju, tādējādi pasargājot ādu no siltuma zuduma. Organismam pielāgoties ārējās temperatūras izmaiņām palīdz kā āda, tā hipofīze, vairogdziedzeris, virsnieres. Ķermeņa temperatūra dažādās ādas vietās ir atšķirīga – visaugstākā tā ir padusēs un cirkšņos, zemākā – roku un kāju (ekstremitāšu) distālajos jeb tālākajos galos (3)(10)(12).

### **1.2.5. Gāzu apmaiņas funkcija**

Āda uzņem skābekli un izdala ogļskābo gāzi. Caur ādu uzņemtais skābekļa daudzums sastāda 1,9% no skābekļa daudzuma, kas tiek uzņemts ar plaušām. Fiziska darba veikšanas laikā un pie paaugstinātas temperatūras skābekļa daudzums, kas tiek uzņemts ar ādu, var palielināties par 10 reizēm. Caur ādu izdalītā skābekļa daudzums ir apmēram divas reizes mazāks nekā izdalītās ogļskābās gāzes (2,7 – 3,2%) daudzums. Pie pastiprinātas svīšanas, paātrinātas asinsrites un ādas iekaisumu gadījumos gāzu apmaiņa ir intensīvāka. Galvas un ķermeņa ādā ir novērojama lielāka gāzu apmaiņas intensitāte. Gāzu vielmaiņu var pastiprināt, pateicoties dažādām fizioprocedūrām, tādām kā UV stari, pirtis, siltumprocedūru un ārstniecisko vannu apmeklēšana. Gāzu difundēšanas procesa intensitāte ir pastiprināta ādas iekaisumu laikā (12).

### **1.2.6. Sekrēcijas un ekskrecijas funkcija**

Ādā esošie dziedzeri nodrošina ādas sekretorās un ekskretorās funkcijas, kas aizsargā ādas virsmu. Ir trīs tipu dziedzeri: ekrīnie sviedru, apokrīnie sviedru, tauku dziedzeri.

Ekrīnie sviedru dziedzeri ir galvenie sviedru dziedzeri cilvēka organismā, tiem ir liela nozīme ādas vielmaiņas un termoregulācijas procesos. Ekrīnos sviedru dziedzerus stimulē simpātiskā nervu sistēma, tie atrodas visā ādā un to darbība sākas no cilvēka piedzimšanas brīža. Ekrīnie dziedzeri ražo dzidru vielu bez smaržas – sviedrus, kuru sastāvā ir daudz dažādu sastāvdaļu: ūdenī šķīstošu neorganisko vielu savienojumi – nātrijs, hlors, kalcijs, kālijs, arī magnijs, sulfāti, mazliet dzelzs, vara, joda. Sviedros ir atrodami arī slāpekļa savienojumi, tādi kā aminoskābes, kreatinīns, urīnviela, cukuri, pienskābe, mukopolipeptīdi, vitamīni,

pirovīnogskābe, histamīns, virsnieru hormoni un citi. Šlakvielas un dažādi medikamenti arī tiek izdalīti caur ekkrīnajiem sviedru dziedzeriem (12,13).

Apokrīnie sviedru dziedzeri tiek aktivēti pubertātes (dzimumnobriešanas) perioda laikā, kad tos aktivē dzimumhormoni. Apokrīnie sviedru dziedzeri atrodas vietās, kur novērojams sekundārais apmatojums – padusēs, ģenitāliju rajonā, ap krūšu galiem un anālo atveri. Apokrīno sviedru dziedzeru darbību ietekmē simpātiskā nervu sistēma. Apokrīno sviedru sastāvā ir lipīdi, holesterīns un citoplazmas granulas. Apokrīnie sviedri veido līmveida plēvīti uz ādas virsmas. Paši sviedri ir bez smaržas, sviedriem raksturīgā specifiskā smarža parādās, pateicoties mikroorganismu (baktēriju) aktivitātei apokrīnajos sviedru dziedzeros – oksidācijas procesā, piedaloties baktērijām, veidojas katra cilvēka individuālā sviedru smaka (12,13).

Tauku dziedzeru izdalīšanos (sekrēciju), līdzīgi kā apokrīno sviedru dziedzeru darbību, arī regulē dzimumhormoni. Arī tauku dziedzeru aktivitāte sākas organisma dzimumbrieduma laikā. Tauku dziedzeru izvietojums ādā ir nevienmērīgs, visvairāk tauku dziedzeru ir atrodams uz sejas, galvas matainajā daļā, starplāpstiņu un krūšu kaula rajonā. Vīrišķie jeb androgēnie hormoni, stimulējot mitozes, izraisa tauku dziedzeru šūnu hipertrofiju, savukārt sievišķie (estrogēnie) hormoni bloķē vīrišķo hormonu sintēzi caur hipofīzi, tādējādi nomācot tauku dziedzeru sekrēciju. Tauku sekrēta sastāvu ietekmē kā hormoni, tā ar uzturu uzņemtie pārtikas produkti. Tauku sastāvā ir atrodamas taukskābes kā brīvā, tā saistītā veidā, fosfolipīdi, D provitamīns, stearīni. Ādas aizsargspējas samazinās, mainoties tauku sastāvam, tāpat, mainoties vecumam, mainās tauku dziedzeru aktivitāte, piemēram, par cik pubertātes vecumā tauku dziedzeri strādā īpaši aktīvi, tauku sastāvs un hormonālais līmenis nav normalizējies, tādējādi izsaucot ādas problēmas – t.s. akni (seboreju ar pinnēm) (12,13).

Ādas virsmā esošajiem ādas dziedzeru taukiem sajaucoties ar lipīdiem un sviedriem, kas atrodami ādas raga slānī, ādas virsmā veidojas skābā mantija, kas pasargā ādu no izžūšanas un ilgstošas atrašanās mitrumā (macerācijas), kā arī aizsargā ādu no ārējās vides faktoriem, tādējādi kalpojot kā ādas pirmā aizsargbarjera (12,13).

### **1.2.7. Resorbcijas funkcija**

Dažādu vielu uzsūkšanās (resorbcija) var notikt caur ādas virsmu, rezultātā vielas nokļūst dažādos ādas slāņos un var pat nonākt asinsritē. Vielu uzsūkšanās var notikt kā iekšā šūnās (intracelulāri), izspraucoties cauri (penetrējot) šūnu membrānām, tā transcelulārā veidā – izmantojot dažādas ādas struktūras, tādas kā matu folikuli, sviedru un tauku dziedzeri. Vielu

penetrācijai ādā pretojas ādas aizsargmehānismi – ādas raga un dermas slāņi, bazālā membrāna, ādas tauku kārtiņa, ādas virsmas pH, kā arī ādas virsmas elektriskais lādiņš (12).

Vielu uzsūkšanos caur ādu nosaka vielas īpašības, kas ir svarīgs faktors, tāpat arī svarīgi zināt vielas elektrisko lādiņu, kas mainās iekaisīgu procesu laikā, un vielas molekulāros izmērus (lielumu). Caur šūnu membrānām un vietām, kur ir daudz tauku dziedzeru, labi uzsūcas tās vielas, kas šķīst ūdenī un lipīdos. Lipīdos šķīstošās vielas labi uzsūcas no tām ādas vietām, kurās atrodami tauku dziedzeri un matu folikuli, un neuzsūcas vietās, kur to nav, piemēram, plaukstās, pēdās. Ādā labāk uzsūcas tās vielas, kas spēj šķīst gan taukos, gan ūdenī, īpaši gadījumos, ja vielām piemīt hidrofilas īpašības, kā tas ir, piemēram, lanolīnam. Šī īpašība tiek izmantota medicīnā, piemēram, ādas uzsūkšanās (resorbcijas) spēja ir pamatā visai arīgi lietojamajai (lokālajai) terapijai dermatoloģijā. Vielu resorbciju var uzlabot, attaukojot ādas virsmu, nolobot ādas raga slāni, ja tas ir sabiezējis, izraisot iekaisumu ādā, uzlabojot ādas asinsriti, kā arī mainot elektrisko potenciālu ādā – šo īpašību pielieto fizikālo procedūru laikā, kad medikamenti tiek ievadīti caur ādu (12).

### **1.2.8. Imūnfunkcija**

Viena no svarīgākajām ādas funkcijām ir pasargāt ādu no patogēno mikroorganismu invāzijas. Ir divi imunitātes veidi – dabiskā jeb iedzimtā imunitāte un dzīves laikā iegūtā jeb adaptīvā imunitāte.

Iedzimtā imunitāte ir pirmais organisma aizsardzības mehānisms, kas pastāv no organisma (bērna) piedzimšanas brīža. Tā nekavējoties reaģē uz mikroorganismiem, tai nav imunoloģiskās atmiņas un tā ir spējīga atpazīt tikai svešus antigēnus. Komponenti, kas iesaistīti iedzimtās imunitātes veidošanā, ir šūnas – fagocīti, makrofāgi, granulocīti (leikocīti), komplementa sistēma, antimikrobiālie peptīdi, patogēna paveida pazīšanas receptori (PRR) (12).

Granulocīti, kas ir vieni no iedzimtās imunitātes veidotājiem, ir leikocīti. Ir trīs veidu leikocīti – neitrofilie, eozinofilie un bazofilie leikocīti. Visvairāk satopamie ir neitrofilie leikocīti jeb neitrofili. Neitrofilie leikocīti ir fagocītiskas šūnas, kas iznīcina patogēnus un kurām ir svarīga loma cīņā ar bakteriālām infekcijām. Neitrofili ir pirmās šūnas, kas ierodas akūta iekaisuma vietā. Neitrofilu hemotaksi – aktīvu pārvietošanos kairinātāju virzienā vai prom no tā – veicina interleikīns (IL) - IL-8, komplements C5a. Neitrofilajiem leikocītiem ir divu tipu granulas, kuras iedala atkarībā no enzīma mieloperoksidāzes, kas atrodas šajās granulās, satura. Pastāv peroksidāzes pozitīvās granulas, kuras sauc par azurofilajām jeb primārajām granulām, un peroksidāzes negatīvās granulas, kuras ir vismaz trīs veidu –

sekretorās granulas, želatīnu saturošās granulas un specifiskās jeb sekundārās granulas. Peroksidāzes pozitīvās – azurofilās granulas satur dažādus enzīmus – mieloperoksidāzi, neitrofilu elastāzi, proteīnāzi-3, defensīnus, katepsīnu G un citas vielas. Patogēni tiek iznīcināti, mieloperoksidāzei reaģējot ar NADPH oksidāzi, kā rezultātā rodas reaktīvās skābekļa formas (ROS), kuras oksidē fagocitēto patogēnu. Sekundārajās granulās ir enzīms kolagenāze, NOX2, lizozīms, laktoferīns, želatināzes granulās atrodamas tādas sastāvdaļas kā SCAMP receptori, enzīmi argināze I, želatināze, lizozīms, bet sekretorajās granulās sastopami receptori, kas nodrošina neitrofilu atbildi uz iekaisuma signāliem – SCAMP, VAMP-2, MMP-25 (12)(14).

Otra granulocītu grupa ir eozinofīlie leukocīti, kuru līmenis asinīs sastāda apmēram 2% no visa leukocītu daudzuma. Eozinofīli veidojas kaulu smadzenēs. Morfoloģiski eozinofīli raksturojas ar vairākām citoplazmas (eozinofilām) granulām, kuru sastāvā ir citotoksiski proteīni – galvenais bāziskais proteīns MBP, kurš degranulē tuklās šūnas un bazofilos leukocītus, eozinofilais katjoniskais proteīns ECP, eozinofilu neitrotoksīns, kā arī enzīms – eozinofilu peroksidāze. Eozinofilos leukocītus aktivē interleikīni IL-3 un IL-5, kā arī granulocītu – makrofāgu koloniju stimulējošais faktors GM-CSF. Pēc aktivēšanas eozinofīlie leukocīti izdala mitohondriālo DNS, granulu proteīnus, kā arī ROS, kas var kā nogalināt patogēnus, tā izraisīt audu bojājumus. Eozinofīli iesaistās alergiskās reakcijās, tās veicinot, kā arī iedarbojas pret parazītiem, īpaši parazītiskajiem tārpiem (helmintiem). Eozinofīlie leukocīti satur imūnregulāciju un audu remodelēšanu veicošos lipīdu un citokīnu mediatorus (12)(14).

Trešā, skaitliski mazākā granulocītu grupa ir bazofīlie leukocīti, kuru līmenis asinīs ir mazāks par 1%. Uz bazofilu membrānas atrodas IgE receptori un to citoplazmā sastopamas bazofilas granulas. Bazofīlie leukocīti izdala interleikīnus IL-4 un IL-13, kā arī ķīmiskus mediatorus, tādus kā histamīnu un leukotriēnu C4. Bazofīlie leukocīti ir iesaistīti alergisku reakciju attīstībā, aizsardzībā pret endo- un ekto- parazītiem, imūnās atbildes regulācijā un autoimunitātē (12)(14).

Makrofāgi jeb histiocīti ir mononukleāri fagocīti, no kaulu smadzenēm attīstījušās (atvasinātas) šūnas, kuras galvenokārt inducē gamma interferons IFN- $\gamma$ . Asins plazmā šīs šūnas ir sastopamas monocītu formā, nokļūstot audos, tās pārveidojas un kļūst par makrofāgiem. Līdzīgi kā leukocītiem, arī makrofāgu funkcijas ietver fagocitozi un patogēnu iznīcināšanu. Bez tam makrofāgi piedalās brūču dzīšanas procesos, koagulācijas nodrošināšanā, modulē iekaisumu un audus, kā arī prezentē antigēnus - makrofāgi degradē fagocitētus antigēna proteīnus, sadalot tos mazos peptīdos un prezentē antigēna informāciju T šūnām ar galvenā audu saderības kompleksa (MHC) II tipa molekulu palīdzību. Iekaisuma procesu laikā novēro histiocītu proliferāciju (vairošanos) un šūnas migrē uz iekaisuma vietu. Makrofāgi nodrošina

citotoksisku aktivitāti un T helperšūnu Th1 atbildi, kā arī stimulē IFN- $\gamma$  produkciju, izdalot IL-1, IL-10, IL-12, IL-18. Makrofāgi izdala arī alfa tumornekrozes faktoru TNF- $\alpha$ , kā arī granulocītu koloniju stimulējošo faktoru G-CSF. Citokīnu (interleikīnu un interferonu) sekrēcijas rezultātā tiek inducēta patogēna fagocitoze, kas rezultējas ar iekaisīgo, infekciozo šūnu bojājumu. Makrofāgi ir galvenās šūnas, kas iesaistītas granulomu veidošanā hronisku iekaisumu laikā (12)(14).

Dabiskās galētājšūnas NK uzskata par vienu no nozīmīgākajiem iedzimtās imūnsistēmas komponentiem. Dabiskās galētājšūnas ir limfocīti, kas nepieder ne T-, ne B- limfocītiem. Tās veidojas kaulu smadzenēs, iniciē (uzsāk) imūno atbildi. Šīs šūnas iedala četros tipos: NK-1, NK-2, NK-reg un NK-22. NK-1 producē IFN- $\gamma$ , NK-2 stimulē imunoglobulīna IgE produkciju un alergisku reakciju, NK-reg darbojas pretēji NK-2, t.i. apspiež imunoglobulīna IgE izdali, savukārt NK-22 nodrošina epiteliālo barjeru aizsardzību. Par cik dabiskās killeršūnas nepieder ne T, ne B limfocītiem, tām nav šiem leukocītiem raksturīgo receptoru, dabiskajās killeršūnās nav atrodamī arī imunoglobulīnu receptori, bet ir atrodamī citi, specifiski receptori – toll-līdzīgie receptori TLR un galētājšūnu imunoglobulīnam līdzīgie KIR receptori. KIR atpazīst uz veselām šūnām esošo cilvēka leukocītu antigēnu (HLA) I tipa molekulas. Par cik ne vīrusu, ne audzēju šūnām nav HLA-1 molekulu, KIR šīs šūnas neatpazīst un notiek šo šūnu iznīcināšana. Tāpēc dabiskās galētājšūnas ir svarīgas vīrusa un audzēja skartu šūnu kontrolei. NK-T šūnas ir T šūnas, uz kurām ir NK šūnu virsmas marķieri. Tiek uzskatīts, ka šīm šūnām ir loma bronhiālās astmas izcelsmē (12)(15).

Komplementa sistēma sastāv no apmēram 30 plazmā (serumā) esošiem proteīniem, kas parasti ir neaktīvā formā. Komplementa sistēmas komponenti iedalās deviņos tipos (C1-C9) un vairākos apakštipos. Ir trīs veidi (ceļi), kā komplementa sistēma var aktivēties – klasiskais, alternatīvais un lektīna ceļš. Klasiskajā ceļā C1 reaģē ar IgG vai IgM antivielām un komplementa kaskāde izraisa patogēnu un inficēto šūnu destrukciju. Bez antigēna-antivielu kompleksa klasiskajā ceļā piedalās arī apoptotiskās šūnas. Alternatīvo ceļu aktivē bakteriālās komponentes, kas aktivē C3, B un D faktorus. Lektīna ceļš sevī iekļauj lektīnu – proteīnu, kas piesaistās mannozes atlikumiem uz patogēnu (mikrobu) virsmas un inducē komplementa sistēmas aktivāciju, aktivējot mannānu saistošās ar lektīnu saistītās serīna proteāzes 1 un 2 (MASP-1 un MASP-2). Aktivējoties komplementa sistēmai, patogēnu šūnu membrānās izveidojas porai līdzīgs veidojums un patogēnās šūnas citolīzes ceļā tiek iznīcinātas. Neatkarīgi no tā, kurš aktivācijas ceļš tiek izmantots, dažādu secīgu reakciju rezultātā, piedaloties enzīmiem – konvertāzēm, rodas dažādi anafilotoksīni un komplementa komponenti, no kuriem

svarīgākie ir anafilotoksīni C3a un C5a, kas ir spēcīgi iekaisuma aktivētāji, kā arī membrānārdes komplekss MAC (12)(14).

Antimikrobiālie peptīdi ir maza izmēra molekulas, kas iedarbojas uz mikroorganismiem, tādiem kā baktērijas un sēnes, un kurus ražo dažādas šūnas – ādas šūnas keratinocīti, elpceļu epitēlijs, tauku dziedzerus veidojošie sebocīti un sviedru dziedzeru šūnas. Keratinocīti ir galvenās šūnas, kas izstrādā visvairāk antimikrobiālo peptīdu, tādus kā lizozīms, cilvēka beta defensīni (HBD-2, HBD-3 un HBD-4), psoriazīns (šo antimikrobiālo peptīdu izstrādā arī sebocīti), antileikoproteāze ALP, ribonukleāze – 7 (RNase7), katehildīns (LL-37) un cilvēka katjoniskais antimikrobiālais peptīds-18 (hCAP18). Sviedru dziedzeri izstrādā dermicidīnu (DCD-1). Antimikrobiālie peptīdi katehildīns un beta defensīni var atpazīt ar patogēniem saistītās molekulārās struktūras (PAMPs) uz baktēriju virsmas, pateicoties toll-līdzīgajiem receptoriem uz baktēriju virsmas un to citosolā. Toll-līdzīgo receptoru aktivēšana izraisa interferonu atbrīvošanos un T-helperšūnu Th1 mediētu imūno atbildi (12)(15).

PRR ir toll-līdzīgie receptori un nukleotīdu oligomerizācijas domēni, kuru funkcija ir atpazīt PAMPs. Toll-līdzīgie receptori parasti ir atrodami uz antigēnus prezentējošajām šūnām, un tie nodrošina, ka patogēni tiek fagocitēti, pēc kā izdalās iekaisuma mediatori – citokīni un hemokīni, kā arī attīstās iekaisums. Bez tam toll-līdzīgie receptori, kas ir lokalizēti antigēnus prezentējošajās šūnās, mijiedarbojas ar uz mikroorganismu virsmas esošajiem PAMPs, kā rezultātā T šūnām tiek prezentēts attiecīgā patogēna antigēns. Šis process nodrošina iedzimtās un iegūtās imunitātes saistību (12).

Otrs imunitātes veids ir adaptīvā jeb dzīves laikā iegūtā imunitāte. Atšķirībā no iedzimtās imunitātes, kas pastāv no pirmā cilvēka dzīves brīža, adaptīvā imunitāte attīstās vairāku dienu laikā, tai piemīt imunoloģiskā atmiņa, kā arī tā ir augsti selektīva pret antigēniem. Komponenti, kas iesaistīti adaptīvās imunitātes veidošanā, ir T un B limfocīti, tuklās un Langerhansa šūnas, antivielas un jau iepriekš aprakstītā komplementa sistēma, citokīni, tādi kā interleikīni, kā arī HLA sistēma un MHC (12)(14,15).

T limfocīti, saukti arī par T šūnām, rodas kaulu smadzenēs, bet nobriest un iegūst tiem raksturīgos antigēna jeb T-šūnu receptorus aizkrūts (aizkuņģa) dziedzerī jeb tīmā. Šie receptori nodrošina, ka T šūnas atpazīst antigēnu informāciju, kas saistīta ar MHC. T šūnas iedalās pēc atšķirīgajām CD virsmas molekulām jeb CD receptoriem. Sākotnēji tīmā rodas T limfocīti, kuriem ir gan CD4+, gan CD8+ receptori. Laika gaitā viens no diviem receptoriem inaktivējas, rezultātā izveidojoties vai nu CD4+, vai CD8+ T limfocītiem. Tie T limfocīti, uz kuru virsmas ekspresējas CD4+ receptori, inducē imūnās reakcijas un stimulē iekaisumu, savukārt T šūnas

ar ekspresētiem CD8+ receptoriem ir citotoksiskas un spēj lizēt vīrusu inficētas un vēža šūnas (12)(14,15).

CD4+ šūnas jeb helperšūnas (Th) iedalās Th1 šūnās, kuras izdala interleikīnu-2 (IL-2; T-šūnu augšanas faktors), kā arī IFN- $\gamma$ , kuri ir iesaistīti histiocītu jeb makrofāgu aktivēšanā, kā arī inducē šūnu imunitāti, ierosinot dažādas iekaisuma reakcijas. Šīm šūnām ir svarīga loma cīņā ar iekššūnas patogēniem, tās inducē šūnu vadītās imūnās reakcijas ādā, tādas kā kontaktdermatīts un hipersensitivitātes reakcijas. Šīs šūnas ir iesaistītas IV tipa alergiskajās reakcijās. Otra CD4+ šūnu grupa ir Th2 šūnas, kuras ražo interleikīnus 4, 5, 9 un 13 (IL-4, IL-5, IL-9 un IL-13). Šīs šūnas ir vērstas uz ekstracelulāriem patogēniem, tostarp helmintiem, kā arī tās palīdz B šūnām producēt antivielas. Trešā CD4+ šūnu grupa ir Th17 šūnas, kuras izdala interleikīnus 6, 17, 22, 23, 36 (IL-6, IL-17, IL-22, IL-23 un IL-36), kā arī alfa tumornekrozes faktoru (TNF- $\alpha$ ). Šīs šūnas ierosina citokīnu un hemokīnu ražošanu, piesaista neitrofilos leukocītus iekaisuma vietā, aktivējot tos caur fibroblastiem vai epidermālajām šūnām, kā arī aktivizē šūnu mediētu iekaisumu. Th šūnas ekspresē šūnas virsmas marķieri CD4+, kas saistās ar galvenā audu saderības kompleksa MHC II klases molekulām, tādējādi CD4+ šūnas reaģē ar antigēnus prezentējošajām šūnām un atbrīvo citokīnus, kas piesaista un aktivē citas imūnās sistēmas šūnas (12)(14,15).

CD8+ T šūnas lizē audzēju un vīrusu inficētas šūnas. Tām ir T šūnu receptori (TCR), kas saistās ar galvenā audu saderības kompleksa (MHC) I tipa molekulām, iniciējot citotoksisko imunitāti. Šīm šūnām ir svarīga loma pie transplantātu imunitātes, audzēju imunitātē un pie vīrusu infekcijām. Ir trīs CD8+ T šūnu tipi: naivās CD8+ T šūnas, kas akūtas infekcijas laikā pārveidojas (proliferējas) par CD8+ efektoru šūnām, lielākā daļa no kurām iet bojā pēc patogēna iznīcināšanas, bet atlikušie 5 – 10% efektoru šūnu pārveidojas par specifisku CD8+ šūnu apakšklasi – CD8+ T atmiņas šūnām, kas paliek ādā un spēj īsā laikā pastiprināt atbildes reakciju uz infekciozu aģentu (12)(14,15).

Pēdējā laikā ir atrasts un identificēts arī trešais T šūnu tips, ko sauc par T regulējošajām šūnām jeb T reg šūnas, sauktas arī par T supresoru šūnām. T reg šūnās ekspresējas transkripcijas faktors Foxp3. Arī šīs šūnas nobriest aizkuņģa dziedzerī, tās ir CD4 un CD25 pozitīvas T šūnas, kurām ir spēcīgas imunosupresīvas funkcijas, kuras aizsargā organismu no autoimūnām reakcijām, alergijām, kaitīgām organisma imūnajām atbildēm pret sevi pašu. Bez tam, T reg šūnas regulē iekaisuma reakciju balansu, inhibējot imūnās šūnas, veicot dabisko galētājšūnu, B šūnu, CD4 un CD8, kā arī antigēnu prezentējošo šūnu aktivēšanu, pārveidošanu (proliferāciju), funkciju veikšanu (12)(14,15).

B limfocīti jeb B šūnas veidojas no hematopoētiskajām cilmes šūnām kaulu smadzenēs. Pēc tam šūnas nobriestot migrē uz limfātiskiem orgāniem, tādi kā liesa un limfmezgli. B šūnām ir raksturīgi virsmas marķieri C19 un C20, kā arī uz B šūnām ir atrodami receptori, tādi kā antivielu fragments Fc un komplementa HLA (cilvēka leukocītu antigēnu) MHC (galvenā saderības kompleksa) II tipa molekulas. B šūnas uzturas limfmezglu limfoidajā folikulā, un, tām aktivējoties, tās diferencējas par plazmas šūnām jeb plazmocītiem, kas ir antivielas veidojošas šūnas. Pirmoreiz saskaroties ar antigēnu, rodas primārā imūnā atbilde, kad veidojas IgM. Dažas B šūnas spēj diferencēties, kļūstot par atmiņas B šūnām, kas ļauj tām veidot specifiskas antivielas atkārtotas infekcijas gadījumā. Pie atkārtotas saskares ar antigēnu veidojas sekundārā imūnā atbilde, kad atmiņas B šūnas pārveidojas par plazmas šūnām un veidojas augstas afinitātes antivielas – IgG, IgA, IgE. Ir divu tipu B šūnas – jau pieminētie plazmocīti – šūnas, kuras nodrošina imūno aizsardzību un piedalās alergiskās un autoimūnās reakcijās. Plazmocīti var būt neilgi dzīvojošie, kas atbild uz citostatiķu un kortikosteroīdu terapiju, un ilgi dzīvojošie, kas izdala antivielas bez ārēja antigēna kairinājuma (pēc atmiņas), šīs plazmas šūnas ir rezistentas pret terapiju ar imunosupresīviem līdzekļiem. Otrs B šūnu tips ir B regulējošās šūnas B reg, kas mazina imūnās sistēmas pārmērīgu aktivitāti, izstrādājot citokīnus – interleikīnu 10 IL-10 un beta augšanas faktoru TGF- $\beta$ , kas ir negatīvās regulācijas citokīni. Samazināts B reg šūnu daudzums var saasināt alergisku slimību simptomus. B reg šūnas var transformēties par Ig4, kas ir specifiskas alergēnu saistošas plazmas šūnas, kuras bloķē saistītā alergēna savienošanos ar IgE un veicina tuklo šūnu degranulāciju (12)(14).

Langerhansa šūnas ir dendrītiskas, no kaulu smadzenēm atvasinātas šūnas, kurām ir svarīga loma antigēnu prezentēšanā. Šīs šūnas ir piesaistījušās keratinocītiem epidermas slānī. Langerhansa šūnas ir viegli identificējamās, pateicoties to virsmas marķierim CD207 jeb langerīnam. Šīs šūnas arī ekspresē MHC II klases molekulas, CD1 antigēnu, kā arī tām ir specifiskas granulas, kas ir saredzamas elektronmikroskopā - Birbeka granulas. Langerhansa šūnu funkcijas vēl tiek pētītas, pašlaik ir zināms, ka tām ir fagocitējošas īpašības un svarīga loma T šūnu atbildes reakciju inducēšanā – pēc antigēna uzņemšanas un aktivēšanas Langerhansa šūnas migrē uz limfvadiem un var inducēt vai nu imūno reakciju veidošanos (imunitāti) vai toleranci uz antigēnu, producējot un sekretējot dažādus citokīnus, tādus kā interleikīni IL - 1 $\beta$  un IL - 6, TNF- $\alpha$ , tādējādi aktivējot imūnās sistēmas mehānismus. Ultravioletie stari UV-B supresē (mazina) Langerhansa šūnu skaitu un funkcijas (12)(14,15,16).

Tuklās šūnas veidojas kaulu smadzenēs, cirkulē pa asinsvadiem, bieži ir atrodamas dermas slānī, saistaudos, tām ir svarīga loma alergiskās reakcijās, tādās kā anafilakse, urtikārija, angioedēma. Šīs šūnas satur granulas, kurās ir iekaisuma mediators histamīns, sastopamas arī

dažādas proteāzes, heparīns, kā arī augstas afinitātes IgE receptori. Tiem saistoties ar IgE un IgE specifiskajiem antigēniem, tuklās šūnas degranulējas, atbrīvojot interleikīnus IL-3, IL-4, IL-5, veidojas arī leikotriēni, prostaglandīni, trombocītu aktivizācijas faktors (12)(14,15).

MHC ir HLA kodējošs gēnu komplekss. Cilvēka leikocītu antigēni ir iedzimti, to funkcija ir noteikt audu saderību, prezentēt antigēnus, tādējādi regulējot adaptīvo imūno atbildi. Audu saderību ir svarīgi pārbaudīt pirms orgānu transplantēšanas, tāpēc HLA sauc arī par transplantācijas antigēniem. Ir aptuveni 40 gēnu, kas kodē HLA, tie atrodas uz 6.hromosomas īsā pleca. HLA I klases gēnu alēles prezentē antigēnus CD8 T šūnām, tās ir sastopamas visās ķermeņa (somatiskajās) šūnās. HLA II klases gēni ir ekspresēti B limfocītos, Langerhansa šūnās, dažās T šūnās, makrofāgos, endoteliālajās šūnās un keratinocītos. Šie gēni ir svarīgi imunoloģiskās atbildes veidošanā un transplantātu atgrūšanā (12)(16).

### 1.3. Ādas mikrobiotas daudzveidība

Ādas, kas ir mūsu organisma lielākais orgāns, laukums ir ap diviem kvadrātmetriem, un to ļoti blīvi apdzīvo ap  $10^{12}$  baktēriju jeb 200000 koloniju/cm<sup>2</sup>. Ādas mikrobiotas daudzveidību ietekmē dažādi faktori, tādi kā saimniekorganisma (cilvēka) vecums, dzimums, nodarbošanās (profesija), antibakteriālo aģentu lietošana. Ir četri galvenie ādu apdzīvojošie baktēriju tipi: aktinobaktērijas (51,8%), firmikuti (24,4%), proteobaktērijas (16,5%) un bakteroidētes (6,5%). Trīs visbiežākās uz ādas atrastās baktēriju ģintis ir *Corynebacteria*, *Propionibacteria* un *Staphylococci* ģints baktērijas (17,18,19).

Cilvēka ādas reģioni (vietas) tiek iedalītas trīs tipos: mitras, taukainas, sausas vietas. Mitras vietas ir, piemēram, naba, paduses, elkoņu iekšējās puses, cirkšņi, pēdas, taukainas – piere, deguna (nāsu) malas, vietas aiz ausīm, uz muguras, savukārt sausas vietas ir, piemēram, sēžamvieta, apakšdelmi, rokas. Mikroorganismu koloniju daudzveidība variē dažādās ādas vietās, piemēram, mitrākos reģionos dominē *Staphylococcus* un *Corynebacteria* ģintis, dzīvei taukainākos ādas rajonos, kur ir viszemākā baktēriju daudzveidība, par cik ir maz mikroorganismu, kas spēj panest specifiskos apstākļus ādas taukainajās vietās, ir piemērojušās *Propionibacteria* (*Cutibacteria*) ģints baktērijas, savukārt ādas sausajās vietās, kurās ir vislielākā baktēriju izplatība, dominē *Staphylococcus*, *Propionibacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Flavobacteriales*, *Enhydrobacter* un *Streptococcus* baktēriju celmi (18,19,20).

Bieža ādas mikrobiotas sastāvdaļa ir jau pieminētie koagulāzi neveidojošie (nepatogēnie) stafilokoki – *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis*, *S.capitis*, *S.hominis*, *S.warneri*, *S.auricularis*. Predominantais jeb visbiežāk sastopamais stafilokoks ir *Staphylococcus epidermidis*, kas blīvi atrodams ( $10^3 - 10^4 / \text{cm}^2$ , sastāda 90% no ādas kolonistiem) uz ādas. Tas ir nepatogēns, bet var kļūt par patogēnu, nokļūstot konkrētās ādas vietās, piemēram, nonākot sirds vārstuļos. *S.epidermidis* visvairāk atrodams ādas raga (stratum corneum) slānī, bet daži pārstāvji atrodami arī matu folikulos. Otrs zināmākais pārstāvis – zeltainais stafilokoks *S. aureus* apdzīvo ādas mitrākus rajonus, patogēnie *S.aureus* ir sastopami tādās ādas vietās kā nāsis un perianālais rajons. Pētījumi ādas kultūrās liecina, ka *Staphylococcus aureus* novērots apmēram 4% indivīdu (17)(20).

Otra ādu bieži apdzīvojošā mikroorganismu grupa ir dažādas zemas virulences grampozitīvas nūjiņas – difteroiādi. Nūjiņas ir līdzīgas *Corynebacterium diphtheriae*, taču tām ir atšķirīgas īpašības, tādēļ tās nevar izraisīt difteriju. Šīs grupas pazīstamākais pārstāvis ir anaerobā nūjiņa *Propionibacterium* (*Cutibacterium*) *acne*, kas aug matu folikulos un ir iesaistīts

aknes patogēnēzē. Svarīgi atzīmēt, ka minētā baktērija atrodas uz visu cilvēku ādas, bet ar akni sirgst daļa cilvēku: aknes patogēnēzē nozīme ir arī tauku dziedzeru darbībai – pastiprināti izdalījumi no tauku dziedzeriem ir labvēlīgi baktēriju augšanai, kā arī aknes rašanos ietekmē hormonālais līdzsvars, par cik minētā saslimšana rodas pusaudžu vecumā (17).

Svarīgi atzīmēt, ka arī vīrusi, sēnes un ērces ir ādas mikrobiotas sastāvdaļas. Sēnes sastāda mazāk nekā 1% no kopējās mikrobiotas daudzuma, to ir vairāk tādās vietās kā uz pieres un reģionos ap ausīm. Uz ādas visbiežāk atrodamas *Malassezia* ģints sēnes (90% no visām sēnēm), tādās kā *M. restricta*, *M. globosa* un *M. sympodialis*, bet ir atrodamas arī citas, piemēram, uz pēdām var atrast *Aspergillus spp.*, *Cryptococcus spp.*, *Rhodotorula spp.*, *Epicoccum spp.* u.c. sēnes. Sēnes ir vesela cilvēka normāla ādas mikrofloras sastāvdaļa, tomēr pie noteiktiem apstākļiem tās var izraisīt saslimšanas, tādās kā piena ēde vai seboreja (17)(21,22).

#### 1.4. Antibakteriālo līdzekļu rezistence un tās mehānismi

Antibakteriālie (antimikrobiālie) līdzekļi, bieži dēvēti arī par antibiotikām, ir medikamenti, kas nonāvē baktērijas vai nomāc to augšanu, tādējādi ārstējot cilvēku, dzīvnieku, dažreiz arī augu infekcijas slimības. Antimikrobiālie līdzekļi cīnās pret bakteriālām infekcijām, piemēram, streptokoku pneimoniju, ko izraisa streptokoks *Streptococcus pneumoniae*. Pārmērīga vai nepareiza antibakteriālo līdzekļu lietošana noved pie antibakteriālās rezistences veidošanās, kā rezultātā ārstēšana kļūst neefektīva un tādējādi rodas nopietni riski sabiedrības veselībai (23)(24).

Slimību profilakses un kontroles centrs (SPKC), Eiropas pārtikas nekaitīguma iestāde (EFSA) un PVO norāda, ka antimikrobiālā rezistence veidojas, baktērijām gūstot noturību – tās kļūst nejutīgas pret antimikrobiālajiem līdzekļiem, pret kuriem baktērijas iepriekš bija jutīgas. PVO norāda, ka antimikrobiālā rezistence ir viens no 10 globālajiem veselības draudiem cilvēcei. Baktēriju rezistence var būt iedzimta (dabīgā rezistence), taču nopietnāka problēma ir otrs rezistences veids – iegūtā rezistence, kad baktērijām ģenētisku pārmaiņu rezultātā (hromosomālas mutācijas vai rezistences gēnu iegūšana horizontālā gēnu transfērmehānisma ceļā) veidojas rezistence. Baktērijas izdzīvo antibakteriālās terapijas laikā, turpina vairoties, tādējādi pagarinot slimības ilgumu vai izraisot nāvi. Ja baktērijām novēro rezistenci pret vairākām mikroorganismu grupām, šādas baktērijas dēvē par multirezistentiem mikroorganismiem. Šādu baktēriju izraisītu slimību ārstēšana ir apgrūtināta – šādos gadījumos ir nepieciešama īpaša ārstēšana, kā arī jāpiemeklē speciāli, citi antibakteriālie līdzekļi, kuriem, iespējams, var rasties nopietnākas blakusparādības, bieži veidojas situācijas, kad pieejamo antibakteriālo līdzekļu, kas spēj iznīcināt baktēriju, ir maz vai vairs nav nemaz. Multirezistentu mikroorganismu piemēri ir, piemēram, multirezistentas *Enterobacteriaceae* dzimtas baktērijas, meticilīna rezistentais *Staphylococcus aureus* (MRSA), pret vankomicīnu rezistenti enterokoki, pret karbapenēmiem rezistentas *Acinetobacter baumannii* baktērijas (2)(23,24,25,26).

Ir četri bioķīmiskie mehānismi, kas veido baktēriju rezistenci pret antimikrobiālajiem līdzekļiem: enzīma, kas inaktivē antibakteriālo līdzekli, izstrādāšana; antibakteriālā līdzekļa piesaistes mērķa (receptora, struktūras) izmainīšana; šūnas membrānas poru caurlaidības izmainīšana; bioķīmisko reakciju izmainīšana (17)(26).

Baktērijas spēj izstrādāt enzīmus, kas sagrauj un modificē antimikrobiālos līdzekļus, tos inaktivējot. Daudzi no šiem rezistences enzīmiem iedarbojas uz proteīnu sintēzes inhibitoriem, tādiem kā aminoglikozīdi un hloramfenikols. Kā piemērs ir atzīmējamas baktēriju producētās β-laktamāzes, kas spēj sagraut β-laktāma gredzenu tādos antibakteriālajos līdzekļos kā

cefalosporīni un penicilīni, tādējādi inaktivējot šos antimikrobiālos aģentus. Līdzīgs – graužošs – efekts notiek arī ar mikroorganismu producēto enzīmu hloramfenikola acetiltransferāze. Lai veidotos rezistence pret antimikrobiālo līdzekli, ne vienmēr ir obligāti jāsaug antibakteriālais līdzeklis, pietiek ar medikamenta modifikāciju, lai tas kļūtu neaktīvs un nespētu darboties, piemēram, baktērijas izstrādā fermentus, kas spēj fosforilēt, adenilēt, acetilēt antibakteriālo līdzekli, izmainot tā darbību. Gramnegatīvās baktērijas – *Pseudomonas*, *Acinetobacter* – bieži producē transferāzes, veidojot rezistenci. Aminoglikozīdus modificējošie enzīmi mediē aminoglikozīdu acetilāciju, fosforilēšanu, adenilēšanu, samazinot antibakteriālā līdzekļa spēju iznīcināt baktērijas, tie ir sastopami *Enterobacteriaceae* dzimtas baktērijās, tie atrasti arī hromosomālās pārneses ceļā enterokokos, šādā veidā rezistenci veido arī streptokoki un stafilokoki (17)(27,28).

Otrs mehānisms, kā mikroorganismi pretojas antibakteriālo līdzekļu darbībai, ir izmainot mērķi, pie kā piesaistās antibakteriālais preparāts. Šādi darbojas metilcīnrezistentie stafilokoki, kas izmaina penicilīnu saistošo proteīnu (PBP) – no PBP2 veidojot PBP2a, kuram ir zemāka afinitāte, līdz ar to penicilīns nespēj sākt savu darbību. Līdzīgi baktērijas iedarbojas arī uz aminoglikozīdiem un tetraciklīniem, kuri baktēriju šūnā iedarbojas attiecīgi uz 30S un 50S ribosomu subvienībām. Rezistentas baktērijas izmaina savu proteīnu apakšvienības un antibakteriālie preparāti nedarbojas. Baktērijām veidojas vienpunkta mutācijas RNS polimerāzē un DNS girāzē (topoizomerāzē II un topoizomerāzē IV), kas ir mērķa enzīmi tādiem antimikrobiāliem aģentiem kā rifampīns un fluorhinoloni, līdz ar to izmainīti enzīmi padara baktērijas rezistentas. Rezistentie *Streptococcus pneumoniae* ar metilāžu palīdzību pārveido mRNS 23S subvienību, metilējot *cfr* gēnu, līdz ar to šiem mikroorganismiem novēro samazinātu makrolīdu saistīšanos, attīstoties spēcīgai rezistencei. Enterokoku rezistence pret glikopeptīdiem veidojas, tiem iegūstot *van* gēnu klasterus, kas noved pie glikopeptīdu mērķa nomaiņas – nerezistentos mikroorganismos glikopeptīdi iedarbojas uz d-alanīna-d-alanīna (d-Ala-d-Ala) termināli, savukārt rezistentām baktērijām šis termināls ir izmainīts uz d-alanīna-d-laktāta terminālu, veidojot samazinātu glikopeptīdu saistīšanās afinitāti, kā rezultātā rodas rezistence pret glikopeptīdiem. Pastāv arī otrs variants, kur baktērijām veidojas d-alanīna-d-serīna terminālis, taču šim variantam ir zemāka rezistence nekā laktāta termināla variantam (17)(27,28,29,30).

Daudzas gramnegatīvas baktērijas savu rezistenci realizē, mainot šūnas membrānas poru caurlaidību, nodrošinot, ka šūnā no apkārtējās vides neiekļūst nevēlamas vielas, tādas kā antimikrobiālie preparāti. Šis sūkņa jeb efluksa mehānisms tiek nodrošināts ar specifisku proteīnu, kas selektīvi izvada šūnā nonākušās kaitīgās molekulas. Citas gramnegatīvās

baktērijas maina porīnu, kas regulē antibakteriālo preparātu uzņemšanu, daudzumu. Baktērijas samazina porīnu skaitu šūnā, tādējādi antibakteriālajiem līdzekļiem mazinās efekts. Gramnegatīvas baktērijas, tādas kā *Enterobacter* ģints baktērijas, piemēram, *Escherichia coli*, uzņem cefalosporīnus ar porīna F palīdzību. Rezistentajiem *Enterobacter* celmiem ir samazināti porīna F un palielināti porīna C daudzumi, tādējādi baktērija iegūst rezistenci pret cefalosporīniem. Šādu mehānismu izmanto arī citas gramnegatīvas baktērijas, piemēram, pret imipenēmu rezistentās *Pseudomonas aeruginosa* un *Acinetobacter baumannii* (17)(27)(29).

Baktērijas maina savas bioķīmiskās reakcijas, izslēdzot ķēdes, kas ir jutīgas pret antibakteriālajiem līdzekļiem. Daži antibakteriālie līdzekļi, tādi kā sulfonamīdi, trimetoprims, vēršas pret folskābes sintēzi. Sulfonamīdi inhibē folskābes sintēzes procesā iesaistīto enzīmu dihidropteroātsintetāzi. Baktērijas aizvieto šo ķēdi ar citu, lai izdzīvotu, kā arī izmaina (aizstāj) fermentus ar citiem – nejutīgiem pret antimikrobiālajiem līdzekļiem, piemēram, producējot enzīmu dihidrofolāta reduktāzi, kas ir rezistenta pret trimetoprimu – sulfametoksazolu (17)(29).

## 2. MATERIĀLI UN METODEDES

### 2.1. Pētījuma apraksts

Bakalaura darba pētījuma daļa tika veikta Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorijā (vadītāja Dr.med Iveta Līduma). Pētījuma veikšana tika saskaņota ar Latvijas Universitātes Kardioloģijas un reģeneratīvās medicīnas institūta zinātniskās izpētes ētikas komisiju, iegūstot atļauju (*skat. 1.pielikumu*) pētījuma veikšanai (apstiprināts 10.11.2020, komisijas locekļi L.Plakane un T.Freivalds), kā arī pētījuma dalībniekiem tika izdalītas informētās piekrišanas formas, kurās pētījuma dalībnieki apstiprināja piedalīšanos pētījumā un apliecināja savu informētību par pētījuma norisi, tā ieguvumiem un riskiem.

Pētījumā piedalījās 20 dalībnieki. No katra pētījuma dalībnieka tika paņemts neinvazīvs ādas mikrobiotas uzsējums no vaiga 5 cm<sup>2</sup> lielumā. Paņemtie uzsējumi tika ievietoti sterilās transporta barotnēs, nogādāti laboratorijā, kur tika uzsēti uz triptikāzes sojas agara (TSA) ar 5% asins piedevu baktēriju savairošanai un sekojošai identifikācijai ar Crystal ID sistēmu. Pēc tīrkultūras iegūšanas tika lietota Millera – Hintona (Mueller – Hinton) agara barotne, lai varētu veikt identificēto baktēriju antibakteriālās jutības noteikšanas testu (DDT). Pēc tam tika veikta mikroorganismu tīrkultūras izolēšana un identificēšana, kā arī noteikta antibakteriālā jutība.

### 2.2. Materiāli

#### 2.2.1. Transporta barotnes

Lai no pētījuma dalībniekiem paņemtos ādas uzsējumus nogādātu laboratorijā, tika izmantotas transporta barotnes, kas sastāv no sterila vates tampona un gela, kurā tampons tiek ievietots uzsēto mikroorganismu fiksēšanai.



2.1. attēls. Sterila mikroorganismu transporta barotne

## 2.2.2. Laboratorijā pieejamās iekārtas un piederumi

Lai no transporta barotnes pārsētu uz cieto agaru barotni mikroorganismus, kā arī tos pārsētu, izdalot tīrkultūru, pētījumā tika izmantotas 1mkl un 10 mkl mikrobioloģiskās cilpas. Pēc mikroorganismu uzsēšanas uz agara barotnes tika ievietotas termostatā, kas ir ierīce nemainīgas 37° C temperatūras uzturēšanai. Baktēriju identifikācijai tika izmantota BBL™ Crystal™ identifikācijas sistēma. Baktēriju uzsēšana un pārsēšana tika veikta laminārās plūsmas skapī.

2.1. tabula. Pētījumos izmantotā aparātūra

Nosaukums	Modelis	Ražotājs un ražotājvalsts
Autoklāvs	MLS- 302011	Sanyo, Japāna
Centrifūga	Centrifuge 5810R	Eppendorf AG, Vācija
Elektroniskie svāri	Precisa	Precisa Gravimetrics AG, Šveice
Laminārās plūsmas skapis	Biowizard 130	Kosair KR, Somija
Ledusskapis	Electrolux	Electrolux, Zviedrija
Maināma tilpuma pipetes	P1000, 200, 100, 10	Gilson, Vācija
Saldētava	Indesit	Indesit, Vācija
Termostats	Heraeus	Function Line, Vācija
Turbidimetrs (duļķainības mērītājs)	BioMérieux	BioMérieux, Francija

2.2. tabula. Pētījumā izmantotie materiāli un trauki

Nosaukums	Apraksts	Ražotājs un ražotājvalsts
Autoklavējamās tvertnes	500mL, 1000mL	Boeco, Vācija
E- testa sloksnītes	30 gab. iepakojumā	BioMérieux, Francija
Eppendorf mikromēģenes (centrifūgas stobriņi)	1,5mL	Deltalab, Spānija
Kriobankas	Stobriņi ilgstošai uzglabāšanai saldētavā	Copan, ASV
<i>Petri</i> plates	Ø 10cm	Čehija
Pipešu uzgaļi	100µL, 200µL, 1000µL	Finntip, Somija
Plastmasas inokulācijas cilpas	20 gab. iepakojumā	LP Italiana, Itālija
Sterili vates kociņi	10 gab. iepakojumā	Deltalab, Spānija

### 2.2.3. Cietās barotnes mikroorganismu kultivēšanai

Laboratorijā nogādātie uzsējumi no transporta barotnes tika pārnesti uz asins agara barotnēm. Baktēriju kultivēšanai tika izmantots triptona sojas agars (Oxoid CM0131) ar 5% aitas 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 1 L destilēta ūdens, autoklāvē 121 °C temperatūrā 15 min. Atdzesētai barotnei līdz 47 – 49 °C pievieno auna asinis. Antibakteriālās rezistences noteikšanai tika izmantots Mueller-Hinton agars (Scharlau, 01-136). (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 1 L destilēta ūdens, autoklāvē 121 °C, 1,5 atmosfērās 30 min. Tālāk barotnes uz 24h tika ievietotas termostatā, pēc 24h baktērijas tika

izņemtas no termostata, lai uz agara esošos mikroorganismus ar mikrobioloģisko cilpu palīdzību pārsētu uz Mueller – Hinton barotnes mikroorganismu tīrkultūras izdalīšanai.



2.2.attēls. Mikroorganismu koloniju augšana uz asins agara barotnes, autores foto

## 2.3. Metodes

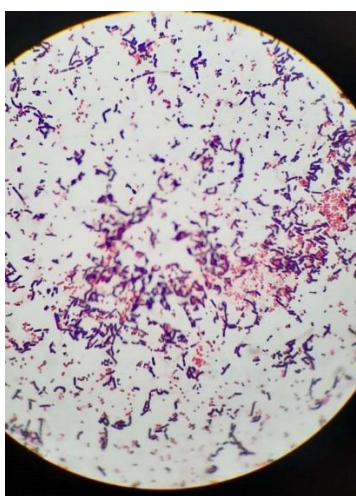
### 2.3.1. Ādas uzņēmumu ievākšana

Ādas uzņēmumu ievākšana notika 2021.gada aprīlī Rīgā. Lai iegūtie uzņēmumi būtu pēc iespējas tīrāki, pētījuma dalībniekiem tika lūgts neizmantot tonālos krēmus u.c. kosmētiku, kas varētu traucēt pilnvērtīgu datu ieguvei. Paraugu paņemšanai tika izmantotas sterilas transporta barotnes, kurās esošais vates tampons tika samitrināts ar 0,89% NaCl fizioloģisko šķīdumu un tad no pētījuma dalībnieku ādas tika paņemts 5 cm<sup>2</sup> liels uzņēmums. Pēc tam vates tamponi tika ielikti gēlā, transporta barotnes aizvērtas un fiksētas ar cipariem un nākamajā dienā nogādātas uz pētījuma veikšanas vietu – Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcu, kur uzņēmumi tika uzņemti uz cietajām barotnēm mikroorganismu kultivēšanai – asins agara barotnēm. Barotnes tika attiecīgi nomarkētas pēc paraugu numuriem, ievietotas termostatā 37° C uz 24h, pēc 24h barotnes tika izņemtas no termostata. Paralēli vates tamponi tika ievietoti mēģenēs ar buljona kultūrām, lai Mueller – Hinton cietajā barotnē varētu uzstiet un pārlicināties par *Staphylococcus* baktēriju klātbūtni.

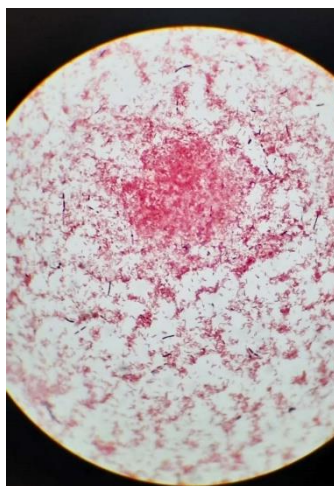
### 2.3.2. Krāsošana pēc Grama metodes

Lai veiktu baktēriju identifikāciju no izvēlētās barotnes, vispirms tika veikts baktēriju krāsošanas tests pēc Grama metodes, lai noteiktu baktēriju piederību gramnegatīvai vai grampozitīvai grupai. Ar mikrobioloģiskās cilpas palīdzību no baktēriju kolonijas tika paņemts paraugs, uzņests uz priekšmetstikliņa un nofiksēts, ar pinceti turot priekšmetstikliņu un 10

reizes izejot cauri spirta lampiņas liesmai. Pēc tam priekšmetstikliņam uz 1 minūti tika uznesta pamata krāsa – karbolgencianvioletais, pēc 1 min tas tika noskalots ar ūdeni. Pēcāk uz 1 minūti tika uzlieta kodne – Lugola šķīdums, kurš pēc 1min atkal tika noskalots ar ūdeni. Tālāk uz 20 sekundēm tika uzliets 96° spirts preparāta atkrāsošanai un noskalots ar ūdeni. Pēdējā solī priekšmetstikliņam uz divām minūtēm tika uzliets safranīns, pēc kā paraugs atkal tika noskalots ar ūdeni un nožāvēts. Identisks process tika atkārtots arī ar paraugiem no citām barotnēm. Pēc tam uz katra no paraugiem tika uzpilināts eļļas piliens, lai priekšmetstikliņu varētu aplūkot mikroskopā un identificēt mikroorganismu piederību pēc Grama krāsojuma. Ja paraugs iekrāsojas violetā krāsā, paraugā ir grampozitīvas baktērijas, ja paraugs iekrāsojas sārti – gramnegatīvas baktērijas.



**2.4.attēls. 2.paraugs gaismas mikroskopā 100x palielinājumā, autores foto.** Paraugā predominē violetas krāsas baktērijas, kas liecina par to piederību gramnegatīvo baktēriju grupai.



**2.5.attēls. 3.paraugs gaismas mikroskopā 100x palielinājumā, autores foto.** Paraugā redzamas sārtas krāsas – gramnegatīvās baktērijas.

Pēc paraugu apskatīšanas gaismas mikroskopā, vienojoties ar darba vadītāju, tika atsijāti vairāki paraugi, kuri tiks virzīti tālākai mikroorganismu identifikācijai. Viens no tiem ir 2.4.attēlā jeb 2.paraugā redzamā mikroorganismu kolonija – violetās nūjiņas. Baktēriju identifikācija tika veikta ar BBL™ Crystal™ identifikācijas metodi: ar vates tamponu no asins agara tika paņemta mikroorganismu – nūjiņu – kolonija, ko suspendēja mēģenē ar speciālu šķīdumu. Mēģenes saturu samaisa un pārbauda, vai tās optiskais blīvums pēc McFarland standarta ir 0,5. Šķīdumu ielej speciālā panelī ar iedobītēm, kas satur enzimatiskus substrātus, vienmērīgi izlīdzina, aizver paneli ciet un uz 24h ievieto termostatā 37° C. Iegūtos rezultātus nolasa ar speciālas interpretācijas tabulas palīdzību, iegūstot speciālu profilnumuru, kuru ievada BBL™ Crystal™ identifikācijas datorprogrammā, kura uzrāda identificēto mikroorganismu. Identisks process tika atkārtots arī ar citiem identificējamajiem paraugiem.



2.6.attēls. BBL™ Crystal™ identifikācijas panelis, autores foto

### 2.3.3. Disku difūzijas un E – tests

Antibakteriālās jutības noteikšanai tika izmantoti divi testi: Kērbija – Bauera (Kirby – Bauer) jeb disku difūzijas tests (DDT) un E – tests. Disku difūzijas testa pamatā ir ar antimikrobiālajiem līdzekļiem piesātināti diski, kurus novieto uz agara barotnēm. Uz Millera – Hintona agara barotnēm ar vates tampona palīdzību uzsēj izolēto mikroorganismu tīrkultūru, ar speciālas iekārtas palīdzību uzspiež antibakteriālos diskus un novieto barotnes uz 24h termostatā 37° C. Pēc 24h agari tika izņemti no termostata un ar lineālu izmērīta inhibīcijas zona milimetros. Iegūtie rezultāti tika salīdzināti pēc CLSI 2020 standarta, kura princips ir, jo lielāka augšanas aiztures zona, jo labāk darbojas antimikrobiālais līdzeklis. Ja augšanas aiztures zona ir maza, mikroorganisms ir rezistents pret konkrēto antimikrobiālo līdzekli. Ar DDT testa palīdzību tika noskaidrota antibakteriālā jutība pret *Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterococcus spp.* un *Staphylococcus epidermidis*.



2.7.attēls. Kērbija – Bauera disku difūzijas tests, autores foto

Līdzīgi tika veikts arī E – tests mikroorganismu antimikrobiālās jutības noteikšanai: šajā testā izmanto vienu ar antibakteriālā līdzekļa atšķaidījumu piesūcinātu strēmeli, pēc kuras atkal ir iespējams noteikt mikroorganismu augšanas aiztures zonu. Šim testam ir priekšrocība, salīdzinot ar DDT testu – pateicoties E – testa skaitliskajām iedaļām, ir iespējams noteikt minimālo augšanas koncentrāciju. Darba autores E - testa gadījumā antimikrobiālais līdzeklis, ar ko bija piesūcināta teststrēmele, bija ceftazidīms (CAZ), skala 0,16 – 256 µg/ml.



2.8.attēls. E – tests, kas uzrāda rezistenci pret ceftazidīmu, autores foto

### 3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

#### 3.1. Rezultāti

Bakalaura darba praktiskajā daļā tika pētītas ādas mikrobiotas sastāvā esošās baktērijas un noteikta to jutība pret antimikrobiālajiem aģentiem. Pētījumā piedalījās 20 veseli cilvēki vecumā no 21 – 54 gadiem. Pētījuma praktiskā daļa tika veikta Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorijā laika posmā no 2021.gada 19.aprīļa līdz 2021.gada 30.aprīlim.

Pētījumā tika analizēti 20 paraugi, kas ievākti no divdesmit pētījuma dalībniekiem. Lai ievāktie ādas uzsējumi būtu pēc iespējas korektāk ievākti, pētījuma dalībniekiem tika lūgts uz sejas neuzklāt tonālos krēmus, taukainus krēmus u.c. kosmētiku, kas apgrūtinātu pilnvērtīgu datu iegūvi.

#### 3.1.1. Mikroorganismu identifikācija

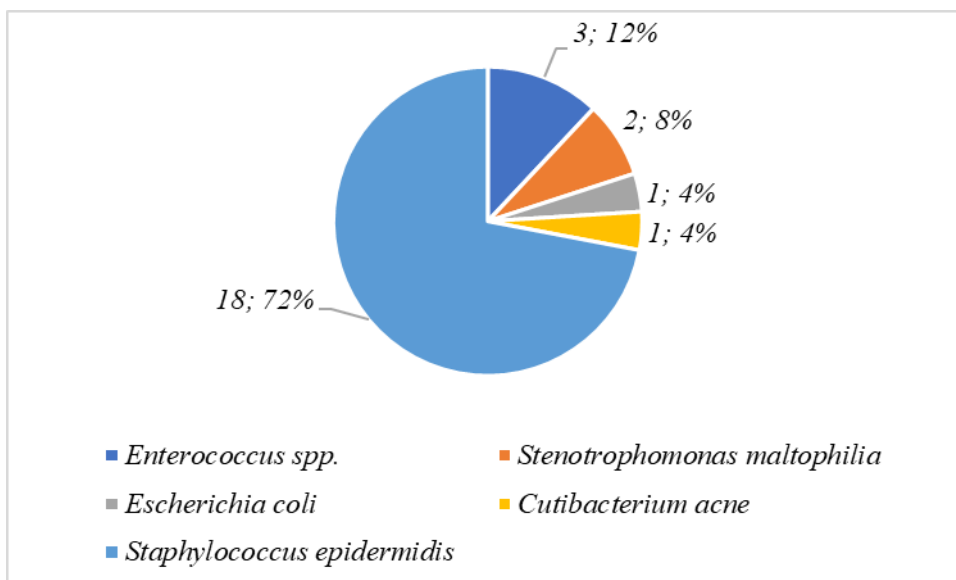
No uzsējumiem izdalītās baktērijas tika identificētas, izmantojot BBL™ Crystal™ baktēriju identifikācijas sistēmu. Pētījumā tika konstatēts, ka viens no asins agara barotnē izolētajiem mikroorganismiem bija nūjiņa *Stenotrophomonas maltophilia*, kas pēc Grama krāsošanas metodes nokrāsojas negatīvi (*skatīt 3.1. attēlu*).

The image shows a BBL Crystal Enteric/Nonfermenter ID System test card. The card is used for identifying Gram-negative, non-fermenting bacteria. It features a grid of 10 biochemical tests (A-J) and a series of numbers (1-4) indicating the results. The results for the tests are as follows:

Test	Result
A (ARA)	+
B (MNS)	+
C (SUC)	+
D (MEL)	-
E (RHA)	+
F (SOR)	-
G (MNT)	-
H (ADO)	-
I (GAL)	-
J (INO)	+
1 (PHO)	+
2 (BGL)	+
3 (NPG)	+
4 (PRO)	-
5 (BPH)	+
6 (BXY)	-
7 (AAR)	-
8 (PHC)	-
9 (GLR)	-
10 (NAG)	+
11 (GGL)	-
12 (ESC)	+
13 (PHE)	-
14 (URE)	+
15 (GLY)	+
16 (CIT)	+
17 (MLO)	-
18 (TTC)	-
19 (ARG)	-
20 (LYS)	+

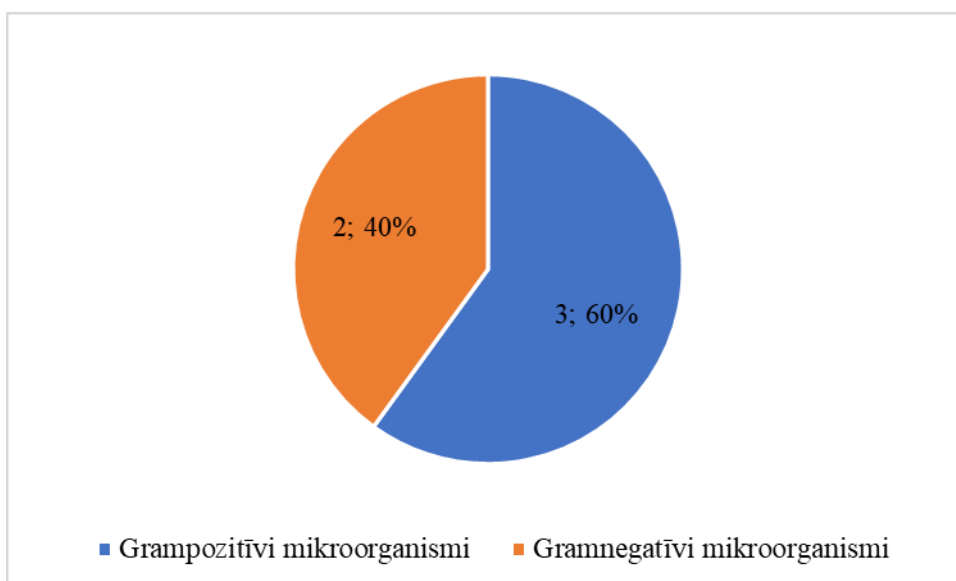
The card also includes handwritten information: "No. 2" and "26.04.2021" in the top right, and "2 3 2 1 3 1 1 2 1 3" in the bottom left. The identification result is "Stenotrophomonas maltophilia" with a confidence of "0.876 confidence".

3.1. attēls. BBL™ Crystal™ identifikācijas datorprogrammā izgūtie dati, autores foto



3.2. attēls. No ādas uzņēmumiem izolēto mikroorganismu daudzveidība

Astoņpadsmit izolātos tika konstatēta *Staphylococcus epidermidis* klātbūtne, trijos paraugos – *Enterococcus spp.* klātbūtne, bet vēl pa vienam paraugam atrasti un identificēti *Cutibacterium acne* un *Escherichia coli* (skatīt 3.2. attēlu). Baktēriju iedalījumu pēc Grama krāsojuma var redzēt 3.3. attēlā.



3.3. attēls. No ādas uzņēmumiem izolēto mikroorganismu iedalījums pēc Grama krāsojuma

### 3.2.2. Antibakteriālās jutības testi

Disku difūzijas testā iegūtos rezultātus interpretējot tika izmantoti standarta CLSI M100-S30, 2020 kritēriji. Pie jutīgiem (S) mikroorganismu celmiem pieder mikroorganismi, kuru izraisītās infekcijas viegli padodas ārstēšanai un var tikt ārstētas ar pirmās izvēles preparātiem, standarta devās. Vidēji jutīgi (I) mikroorganismi uzrāda nedaudz zemāku antibakteriālo jutību. To izraisīto infekciju ārstēšanā tiek izmantoti otrās grupas izvēles preparāti. Antibakteriālās jutības klasifikācijā ietilpst arī robežzona. Rezistentu (R) mikroorganismu celmu izraisītās infekcijas ārstēšanai padodas grūti, izraisītās infekcijas nevar izārstēt, lietojot antibakteriālo līdzekļu standarta devas. DDT rezultātu apkopojums attēlots tabulās katrai mikroorganismu grupai. *Stenotrophomonas maltophilia* disku difūzijas testa rezultāti ir apkopoti tabulā (skat. 3.1.tabulu).

3.1. tabula. *Stenotrophomonas maltophilia* disku difūzijas testa rezultāti, n – 2

Nr.p.k.	Antimikrobiālais līdzeklis un tā saīsinājums	Inhibīcijas zona, mm	Iegūto rezultātu interpretācija, skaidrojums
1.	Ceftazidīms CAZ	0	NI (nav inhibīcijas zonas), rezistents (R)
2.	Ciprofloksacīns CIP	38	S (jutīgs)
3.	Tetraciklīns TE	29	S
4.	Ceftriaksons CRO	0	NI, R
5.	Cefuroksīms CXM	0	NI, R
6.	Ampicilīns + sulbaktāms AMS	0	NI, R
7.	Doksiciklīns DXT	22	S
8.	Linezolid LZN	37	S
9.	Amoksicilīns + klavulānskābe AUG	0	NI, R
10.	Meropenēms MRP	18	I (vidēji jutīgs)
11.	Gentamicīns GN	25	S

Par cik gan disku difūzijas tests, gan E tests sevī ietvēra vienu un to pašu antimikrobiālo aģentu, proti, ceftazidīmu, tad likumsakarīgi, ka, ja mikroorganisms pret konkrēto

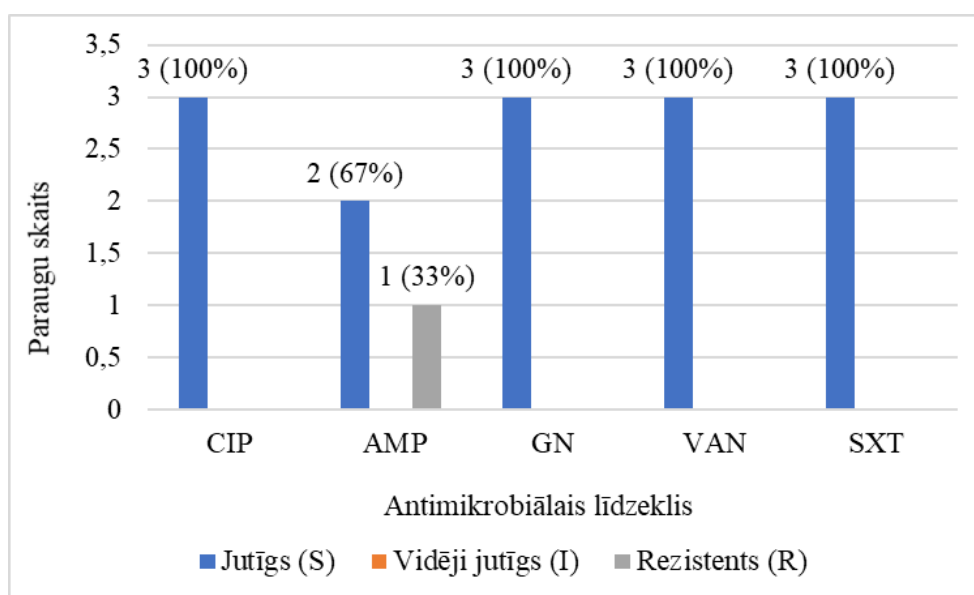
mikroorganismu uzrāda rezistenci disku difūzijas testā, tad tas uzrādīs rezistenci arī E – testā, ko varēja novērot arī autores pētījumā.

Gan E – tests, gan disku difūzijas tests uzrādīja, ka abi izdalītā mikroorganisma *Stenotrophomonas maltophilia* izolāti ir rezistenti (R) pret ceftazidīmu, papildus disku difūzijas tests uzrādīja, ka mikroorganismi ir rezistenti arī pret ceftriaksonu, cefuroksīmu, ampicilīnu + sulbaktāmu, kā arī amoksicilīnu + klavulānskābi, vislabāko jutību (S) izolāti uzrāda pret ciprofloksacīnu un linezolidu, tie ir jutīgi (I) arī pret tetraciklīnu, gentamicīnu un doksiciklīnu, kā arī tie uzrāda vidēju jutību pret meropenēmu.

Trīs izolāti uzrādīja piederību *Enterococcus spp.* Noteikto mikroorganismu jutību pret antimikrobiālajiem līdzekļiem var aplūkot 3.2.tabulā.

3.2.tabula. *Enterococcus spp.* disku difūzijas testa rezultāti, n – 3

Antimikrobiālais līdzeklis un tā saīsinājums	Jutīgs (S)	Vidēji jutīgs (I)	Rezistents (R)
Ciprofloksacīns CIP	3	0	0
Ampicilīns AMP	2	0	1
Gentamicīns GN	3	0	0
Vankomicīns VAN	3	0	0
Trimetoprim/sulfametoksazols SXT	3	0	0



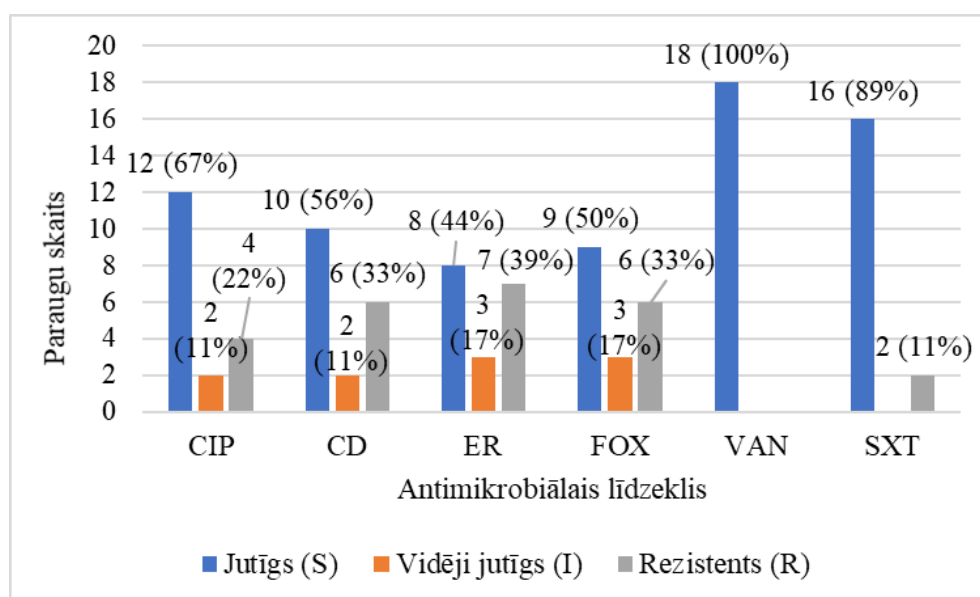
3.4.attēls. *Enterococcus spp.* izolātu jutība pret dažādiem antimikrobiālajiem aģentiem

Kā redzams 3.4. attēlā, *Enterococcus spp.* pārstāvji ir 100% jutīgi (S) pret ciprofloksacīnu, gentamicīnu, vankomicīnu un trimetoprimu/sulfametoksazolu (n – 3), 67% ir jutīgi pret ampicilīnu (n – 2), bet 33% ir rezistenti (R) pret ampicilīnu (n – 1).

Astoņpadsmit paraugi pēc identifikācijas uzrādīja *Staphylococcus epidermidis* klātbūtni. Šiem paraugiem arī tika veikts disku difūzijas tests, kura rezultāti aplūkojami 3.3. tabulā.

3.3. tabula. *Staphylococcus epidermidis* disku difūzijas testa rezultāti, n – 18

Antimikrobiālais līdzeklis un tā saīsinājums	Jutīgs (S)	Vidēji jutīgs (I)	Rezistents (R)
Ciprofloksacīns CIP	12	2	4
Klindamicīns CD	10	2	6
Eritromicīns ER	8	3	7
Cefoksitīns FOX	9	3	6
Vankomicīns VAN	18	0	0
Trimetoprimis/sulfametoksazols SXT	16	0	2



3.5.attēls. *Staphylococcus epidermidis* izolātu jutība pret dažādiem antimikrobiālajiem aģentiem

3.5. attēlā redzami dati liecina, ka visi izolāti jeb 100% no paraugiem ir jutīgi (S) pret vankomicīnu (n – 18), otra labākā jutība novērota pret trimetoprimu/sulfametoksazolu, kur jutīgumu uzrādīja 89% izolātu (n – 16) un tikai 11% (n – 2) uzrādīja rezistenci (R), 67% (n – 12) ir jutīgi pret ciprofloksacīnu, 11% (n – 2) ir daļēji jutīgi (I) un 22% (n – 4) ir rezistenti, 56% (n – 10) ir jutīgi pret klindamicīnu, 11% (n – 2) ir daļēji rezistenti pret to, savukārt 33% (n – 6)

uzrāda rezistenci pret šo antimikrobiālo aģentu, 50% (n – 9) izolātu ir jutīgi pret cefoksitīnu, 17% (n – 3) ir daļēji jutīgi un 33% (n – 6) ir rezistenti, bet viszemāko jutību – 44% (n – 8) uzrāda eritromicīns, pret kuru ir vidēji jutīgi 17% (n – 3) un pilnībā rezistenti 39% (n – 7) izolātu.

Izdalītie un identificētie *E.coli* un *Cutibacterium acne* bija jutīgi (S) pret visiem sešiem antibakteriālajiem aģentiem – ciprofloksacīnu, klindamicīnu, eritromicīnu, cefoksitīnu, vankomicīnu un trimetoprimu / sulfametoksazolu.

## 3.2. Diskusija

Bakalaura darba pētījuma daļas ietvaros tika noskaidrots, ka divi galvenie no ādas izdalītie mikroorganismi ir *Stenotrophomonas maltophilia* un *Staphylococcus epidermidis*. *S.maltophilia* ir aerobs, gramnegatīvs, oportūnistisks, nozokomiāls patogēns, kas nereti izraisa saslimšanas imunokompromitētiem indivīdiem. *S.maltophilia* izraisa ādas, mīksto audu infekcijas, bieži sastopams arī pie elpošanas orgānu infekcijām, tādām kā pneimonija un HOPS, ar *S.maltophilia* asociētās slimības ir arī tādi iekaisumi kā osteomielīts, endokardīts, urīnceļu infekcijas, meningīts, keratīts u.c. Kā iespējamie *S.maltophilia* rezistences mehānismi tiek minēti ārējās membrānas caurlaidības samazināšana, efluksa pumpja mehānisma nodrošināšana,  $\beta$  – laktamāžu producēšana. Divu vai vairāku augstākminēto rezistences mehānismu ekspresija noved pie multirezistences pret vairākiem antimikrobiālajiem līdzekļiem veidošanās, tādējādi apgrūtinot ārstēšanu un uzrādot augstus mirstības rādītājus – zinātniskā literatūra liecina, ka *S.maltophilia* mirstības rādītāji ir 25%, bet pie metastātiskām ādas un mīksto audu infekcijām šie rādītāji pieaug pat līdz 80%. PVO ir nodēvējusi *Stenotrophomonas maltophilia* kā vienu no vadošo pret antibakteriālajiem līdzekļiem rezistentu patogēnu slimnīcās visā pasaulē (31,32,33,34).

Zinātniskajā literatūrā pieejamā literatūra liecina, ka CSLI standarts iesaka noteikt *S.maltophilia* jutību pret tādiem antimikrobiālajiem aģentiem kā minociklīns, levofloksacīns, trimetoprimis/sulfametoksazols, kā arī klavulānskābe, ceftazidīms un hloramfenikols. Pētījumos iekļauti arī tādi antibakteriālie aģenti kā meropenēms, ciprofloksacīns, doksiciklīns, kolistīns, tikarcilīns/klavulānskābe u.c. No augstākminētajiem aģentiem darba autore savā pētījumā iekļāva *S.maltophilia* jutības noteikšanu pret ciprofloksacīnu, tetraciklīnu, ceftriaksonu, meropenēmu, doksiciklīnu un ceftazidīmu, kā arī amoksicilīna un klavulānskābes kombināciju (31)(35).

2010.gada pētījumā Turcijā tika konstatēts, ka trimetoprimis/sulfametoksazols un doksiciklīns ir uzrādījuši lielāko efektivitāti *S.maltophilia* ārstēšanā. Minētajā pētījumā, analizējot 25 izolātus, 88% uzrāda rezistenci pret ceftazidīmu, 100% izolātu ir rezistenti pret meropenēmu, 4% ir rezistenti pret doksiciklīnu un trimetoprimu / sulfametoksazolu, bet 40% uzrāda rezistenci pret ciprofloksacīnu. Salīdzinot minētā pētījuma rezultātus ar darba autores darbu, novērotas nelielas atšķirības – darba autores izolētie *S.maltophilia* ir 100% rezistenti pret ceftazidīmu, daļēji jutīgi pret meropenēmu, jutīgi pret doksiciklīnu un pret ciprofloksacīnu. Turcijas pētījumā uzrādīta 76% rezistence pret tikarcilīna/klavulānskābes kombināciju, kamēr darba autores pētījumā tika novērota 100% rezistence pret amoksicilīna/klavulānskābes kombināciju. 2010.gada pētījumā 96% *S.maltophilia* izolātu tika konstatēta multirezistence

pret beta laktāma antibiotikām, ciprofloksacīnu un kolastīnu, savukārt darba autores praktiskajā daļā abiem izolātiem bija vienāda antibiogramma un tika konstatēta *S.maltophilia* multirezistence pret pieciem aģentiem: ceftazidīmu, ceftriaksonu, cefuroksīmu, ampicilīnu + sulbaktāmu, kā arī amoksicilīnu + klavulānskābi (24)(31).

Līdzīgas atšķirības tika novērotas arī 2020.gadā publicētajā pētījumā Meksikā, kurā tika analizēti *S.maltophilia* virulences faktori un antibakteriālā jutība uzliesmojuma laikā – no 30 analizētajiem izolātiem 80% analizēto paraugu uzrādīja rezistenci pret tetraciklīniem, 33,3% uzrādīja rezistenci pret ceftazidīmu. Darba autores pētījumā *S.maltophilia* izolāti uzrādīja jutību pret tetraciklīniem un 100% rezistenci pret ceftazidīmu (36).

Arī 2021.gada pētījums Irānā uzrādīja *S.maltophilia* pieaugošo multirezistenci – kā salīdzinājumu ņemot darba autores pētījumā izmantotos antimikrobiālos aģentus, pētījuma rezultāti uzrāda, ka no 85 izolātiem tikai 24 jeb 28,24% uzrāda jutību, 61 jeb 75,72% uzrāda rezistenci pret ceftazidīmu, 85 izolāti jeb 100% uzrādīja rezistenci pret meropenēmu. Darba autores izolāti uzrādīja pilnīgu rezistenci pret ceftazidīmu, savukārt pret meropenēmu tika novērota daļēja jutība (37).

Salīdzinot Baibas Zandersones 2015.gadā Latvijas Universitātē izstrādāto maģistra darbu ar darba autores pētnieciskajā daļā iegūtajiem rezultātiem, redzamas gan atšķirības, gan sakritības *S.maltophilia* antibakteriālajā jutībā – visi B.Zandersones izolāti uzrādīja jutību pret ceftazidīmu (31 no 31 jeb 100%), turpretim darba autores izolāti uzrādīja pilnīgu rezistenci pret konkrēto antimikrobiālo aģentu. No 31 B.Zandersones izolāta trīs izolāti jeb 9,67% uzrādīja rezistenci pret ciprofloksacīnu, kamēr darba autores abi izolāti uzrādīja jutību pret šo antimikrobiālo līdzekli. Visi 31 B.Zandersones izolāti uzrādīja rezistenci pret meropenēmu, kamēr darba autores izolāti uzrādīja vidēju jutību pret šo antibakteriālo aģentu (38).

Aplūkojot Danielas Puzko 2017.gadā Latvijas Universitātē izstrādāto bakalaura darbu un salīdzinot to ar darba autores iegūtajiem datiem, arī novērojamas atšķirības – D.Puzko darbā no pieejamajiem četriem *S.maltophilia* izolātiem četri jeb 100% uzrādīja jutību pret ceftazidīmu, kamēr darba autores izolāts bija rezistents pret šo antimikrobiālo līdzekli, savukārt, analizējot jutību pret ciprofloksacīnu, D. Puzko darbā novērojams, ka divi no četriem izolātiem jeb 50% ir rezistenti, kamēr darba autores izolētais paraugs uzrāda 100% jutību pret konkrēto antibakteriālo līdzekli. 50% D. Puzko izolātu uzrāda rezistenci pret meropenēmu, bet darba autores pētījumā tika konstatēta *S.maltophilia* izolātu vidēja jutība pret meropenēmu (39).

Otrs no pētījuma dalībniekiem izdalītais ievērojamais mikroorganisms ir *Staphylococcus epidermidis*. Tas ir grampozitīvs koagulāzes negatīvs oportūnistisks stafilokoks, vesela cilvēka

normāla ādas mikrobiotas sastāvdaļa, kas apdzīvo dažādus ādas rajonus, piemēram, tas sastopams nāsīs, padusēs, uz galvas. *S.epidermidis*, līdzīgi kā *S.maltophilia*, var nereti izsaukt nozokomiālas saslimšanas imunokompromitētiem pacientiem, piemēram, radot tādus iekaisīgus procesus kā endokardītu, abscesus, ar perifēro / centrālo vēnu katetriem saistītas asinsrites infekcijas, arī radīt t.s. “operāciju” infekcijas gūžu, locītavu, ceļa operāciju laikā, iesaistīties arī ādas iekaisīgajos procesos, piemēram aknes patoģenēzē. Zinātniskā literatūra liecina, ka *S. epidermidis* ir uzrādīts 24% letalitātes risks. Arī šim mikroorganismam ir vairāki rezistences mehānismi, populārākais no tiem ir uzrādītā spēja veidot biofilmas, kas bieži apgrūtina ārstēšanos un noved pie multirezistences, piemēram, *S.epidermidis* uzrāda mainīgu rezistenci pret meticilīnu, kas variē no 75 – 90%, tāpat medikaments ir uzrādījis augstu rezistenci pret trimetoprimu, klindamicīnu, flurorohinoloniem. Otrs mehānisms, kā *S.epidermidis* mediē savu rezistenci, ir ar specifisku rezistences gēnu palīdzību – gēns mecA kodē PBP2a proteīnu, līdz ar to veidojot rezistenci pret beta laktāma grupas antibiotikām (40,41,42,43,44).

CSLI standarts pēc zinātniskās literatūras datiem rekomendē *S.epidermidis* jutības noteikšanā izmantot tādus antimikrobiālos aģentus kā penicilīnu, vankomicīnu, eritromicīnu, klindamicīnu, tetraciklīnus, trimetoprimu/sulfametoksazolu, ciprofloksacīnu, levofloksacīnu, arī klindamicīnu. Darba autore savā pētījumā ielāva ciprofloksacīnu, klindamicīnu, eritromicīnu, cefoksitīnu, trimetoprimu / sulfametoksazolu un vankomicīnu, par cik to uzskata par pirmās izvēles medikamentu *S.epidermidis* izraisīto infekciju ārstēšanā (42)(45,46).

2014.gada pētījums kādas Irānas slimnīcas intensīvās terapijas nodaļā salīdzinājumā ar darba autores pētījumu uzrādīja gan līdzīgus, gan atšķirīgus rezultātus. Kā darba autores darbā visi analizētie 18 izolāti, tā Irānas pētījuma visi pētītie izolāti uzrādīja 100% jutību pret vankomicīnu. Irānas slimnīcā rezistence pret ciprofloksacīnu bija 23,4%, pret trimetoprimu/sulfametoksazolu 51,6% (jutīgs 46%), savukārt rezistence pret eritromicīnu tika novērota 59,4% gadījumā. 2019.gada pētījums citā Irānas slimnīcā uzrādīja *S. epidermidis* rezistenci pret eritromicīnu (82,60%), trimetoprimu/sulfametoksazolu (73,91%), ciprofloksacīnu (69,56%), klindamicīnu (65,21%). Salīdzinot ar darba autores pētniecisko daļu, redzamas ievērojamas atšķirības, proti, darba autores rādītāji ir daudz zemāki – eritromicīns un klindamicīns uzrādīja rezistenci 39% gadījumā, ciprofloksacīns 22% gadījumā, trimetoprim/sulfametoksazols vien 11% gadījumā. Jāatzīmē, ka abos Irānas pētījumos tika analizēti krietni vairāk izolātu – 2014.gadā 64, 2019. gadā 46 *S.epidermidis* izolāti, kamēr darba autore analizēja vien 18, kas izskaidro kraso rezultātu starpību. Tomēr, par cik pētījums ir salīdzinoši nesens, iezīmējas bīstama multirezistences tendence – 2014.gadā no 64 izolātiem

tikai viens bija jutīgs pret visiem analizētajiem antimikrobiālajiem aģentiem, bet 31,3% uzrādīja rezistenci pret četriem līdzekļiem. 2019.gada situācija ir mazliet pozitīvāka, tomēr arī nav iepriecinoša – visi 46 izolāti uzrādīja rezistenci pret vismaz trim dažādiem antimikrobiālajiem līdzekļiem, kamēr 17,39% uzrādīja rezistenci pat pret 7 dažādiem antimikrobiālajiem aģentiem (41)(43).

Salīdzinot darba autorei pētījumā iegūtos datus ar Lāsma Grīnbergas 2015.gadā Latvijas Universitātē izstrādāto bakalaura darbu, iegūti līdzīgi dati – abos darbos novērota 100% jutība pret vankomicīnu, L.Grīnbergas izolātiem (n – 48) vislielāko rezistenci jeb 77% uzrāda divi līdzekļi – eritromicīns un klindamicīns, arī darba autorei abi minētie aģenti uzrādījuši vislielāko rezistenci no visiem analizētajiem aģentiem, sastādot 39 un 33%, respektīvi. Līdzīgus datus novēro arī Reiņa Maļuhina 2018.gadā Latvijas Universitātē izstrādātajā bakalaura darbā – arī šeit visi izolāti (n – 43) uzrādījuši 100% jutību pret vankomicīnu, lielākā rezistence veidojusies pret eritromicīnu, ko uzrādījuši 93% izolātu, kā arī pret cefoksitīnu un ciprofloksacīnu – 74% (darba autorei izolāti – 33% pret cefoksitīnu, kas ir dalīts otrs lielākais rezistences rādītājs kopā ar klindamicīnu, un 22% pret ciprofloksacīnu, attiecīgi). Pozitīva tendence novērojama faktā, ka trijos no četriem analizētajiem pētījumiem visi izolāti uzrādījuši pilnīgu jutību pret vankomicīnu, kas pierāda šī antibakteriālā līdzekļa pareizu izvēli kā pirmās izvēles medikamentu (47,48).

Darba autorei veiktajam pētījumam ir vairāki virzieni, kā nākotnē turpināt pētījumu. Vispirms jāatzīmē, ka Latvijā un pasaulē esošās koronavīrusa SARS-CoV-2 pandēmijas dēļ darba autore nevarēja pētījumu veikt tik plaši, kā tas bija sākotnēji iecerēts – viens no variantiem, kā padarīt pētījumā iegūtos datus kvalitatīvākus, būtu palielināt pētījuma dalībnieku skaitu, jo, kā redzams augstāk aplūkotajos pētījumos gan ar *S.maltophilia*, gan *S.epidermidis*, ja pētījumā ir vairāk izolātu, tas ļauj iegūt pilnvērtīgākus, labāk reprezentējamus un salīdzināmus datus. Tāpat ļoti daudzos literatūras avotos tiek minēts, ka dažādi *S.maltophilia* un *S.epidermidis* izolāti uzrāda plašu rezistences spektru pret  $\beta$ -laktāma aģentiem, aminoglikozīdiem, kvinoloniem, makrolīdiem, cefalosporīniem, augstāk bieži pieminēto trimetoprimu/sulfametoksazolu, karbapenēmiem, polimiksīniem u.c. antibakteriālajiem aģentiem. Antibakteriālo līdzekļu, pret kuriem tiek noteikta jutība, paplašināšana var nodrošināt plašākus un labāk analizējamus datus (34)(41).

Vairāki zinātniskās literatūras avoti min, ka *S.maltophilia* un *S.epidermidis* ir ievērojama spēja veidot biofilmas, kam būtu jāpievērš pastiprināta uzmanība, jo šādos gadījumos pieaug mikroorganismu rezistence pret vairākiem antimikrobiālajiem aģentiem, līdz ar ko apgrūtinot ārstēšanu, kā arī tas ir īpaši bīstami nozokomiālo infekciju gadījumos, kur augstākminētās

baktērijas mēdz veidot biofilmas uz intravenoziem, urīna katetriem, nebulaizeros u.c. slimnīcās sastopamās iekārtās. *S.maltophilia* biofilmas rada papildus infekcijas un samazina plaušu funkcijas cistiskās fibrozes pacientiem. *S.epidermidis* biofilmas uzrāda paaugstinātu rezistenci pret penicilīniem, aminoglikozīdiem, hinoloniem. Jaunākie pētījumi liecina par kombinētas terapijas pielietojumu *S.maltophilia* ārstēšanā, piemēram, *in vitro* farmakodinamiskie modeļi ir uzrādījuši, ka trimetoprima/sulfametoksazola, kas uz doto brīdi ir biežāk izmantotais līdzeklis *S.maltophilia* izraisīto slimību ārstēšanā, kombinācijas ar ciprofloksacīnu, ceftazidīmu vai tobramicīnu uzrādīja augstāku baktericīdo aktivitāti nekā trimetoprima/sulfametoksazola monoterapija. *S.maltophilia* un *S.epidermidis* biofilmu veidošanās vai antibakteriālo līdzekļu kombināciju efektivitātes pētīšana ir vēl viens virziens, kurā iespējams turpināt darba autores pētījumu (32,33,34)(42)(44).

#### 4. SECINĀJUMI

1. Uzsējumos no sejas ādas tika noteiktas gan gramnegatīvas nūjiņas, gan grampozitīvi koki.
2. Ar BBL™ Crystal™ identifikācijas sistēmu konstatēts, ka divi galvenie no ādas uzsējumiem izolētie mikroorganismi ir *Stenotrophomonas maltophilia* un *Staphylococcus epidermidis*. Bez tam uzsējumos tika atrasti arī *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Cutibacterium acne*.
3. *Stenotrophomonas maltophilia* izolāti ir rezistenti pret ceftazidīmu, ceftriaksonu, cefuroksīmu, ampicilīnu/sulbaktāmu un amoksicilīnu/klavulānskābi, vidēji jutīgi pret meropenēmu un jutīgi pret ciprofloksacīnu, tetraciklīnu, doksiciklīnu, linezolidu un gentamicīnu.
4. E – tests apstiprina *Stenotrophomonas maltophilia* rezistenci pret ceftazidīmu.
5. Visi *Staphylococcus epidermidis* izolāti (n – 18) ir jutīgi pret vankomicīnu, 89% izolātu (n – 16) izrāda jutību pret trimetoprimu / sulfametoksazolu.
6. Vislielākā *Staphylococcus epidermidis* rezistence konstatēta pret eritromicīnu (n – 7) – 39% un klindamicīnu un cefoksitīnu (n – 6) – 33%.
7. Visi *Enterococcus spp.* uzrādīja jutību pret ciprofloksacīnu, gentamicīnu, vankomicīnu un trimetoprimu/sulfametoksazolu (n – 3), divi izolāti uzrādīja jutību pret ampicilīnu, bet viens no izolātiem bija rezistents) pret ampicilīnu.
8. *Cutibacterium acne* un *Escherichia coli* bija jutīgi pret visiem sešiem analizētajiem antibakteriālajiem aģentiem - ciprofloksacīnu, klindamicīnu, eritromicīnu, cefoksitīnu, vankomicīnu un trimetoprimu / sulfametoksazolu.

## **PATEICĪBAS**

Bakalaura darba autore izsaka lielu pateicību docentei Dr.med. Ivetai Līdumai par palīdzību, komentāriem un atbalstu bakalaura darba tapšanas laikā.

Pateicība arī Traumatoloģijas un Ortopēdijas slimnīcas Mikrobioloģijas laboratorijas darbiniecēm par palīdzību bakalaura darba praktiskās daļas tapšanas laikā.

## IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. **Young Bok Lee, Eun Jung Byun, Hei Sung Kim.** *Potential Role of the Microbiome in Acne: A Comprehensive Review.* Journal of Clinical Medicine. 2019;8(7), 987.
2. **World Health Organisation.** *Antimicrobial Resistance* [tiešsaiste] – [skatīts 31.10.2020]. Pieejams: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
3. **Ostomy and Continence Nurses Society Wound, Doughty Dorothy, McNichol Laurie.** *Wound, Ostomy and Continence Nurses Society® Core Curriculum: Wound Management,* Wolters Kluwer, 2015. 1670 lpp.
4. **Baroni, A., Buommino, E., De Gregorio, V., Ruocco, E., Ruocco, V., & Wolf, R.** *Structure and function of the epidermis related to barrier properties.* Clinics in Dermatology. 2012;30(3), 257–262.
5. **Khavkin, J., & Ellis, D. A. F.** *Aging Skin: Histology, Physiology, and Pathology.* Facial Plastic Surgery Clinics of North America. 2011;19(2), 229–234.
6. **Arda, O., Göksügür, N., & Tüzün, Y.** *Basic histological structure and functions of facial skin.* Clinics in Dermatology. 2014;32(1), 3–13.
7. **Menon, G. K., Cleary, G. W., & Lane, M. E.** *The structure and function of the stratum corneum.* International Journal of Pharmaceutics. 2012;435(1), 3–9.
8. **Norman, R. A., & Menendez, R.** *Structure and Function of Aging Skin.* Diagnosis of Aging Skin Diseases. 2008; 5–10.
9. **Rook, et al.** *Rook's Textbook of Dermatology.* 8th ed., Wiley-Blackwell; 2010. 4316 lpp.
10. **Lawton, S.** *Skin 1: The structure and functions of the skin.* Nursing Times. 2019;(115), 30-33.
11. **Kolarsick, P. A. J., Kolarsick, M. A., & Goodwin, C.** *Anatomy and Physiology of the Skin.* Journal of the Dermatology Nurses' Association. 2011;3(4), 203–213.
12. **Rubins, et al.** *Dermatoveneroloģija. 2. papildinātais izdevums.* Rīga: Latvijas Dermatoveneroloģijas fonds; 2020. 592 lpp.
13. **Lumen Learning: Anatomy and Physiology I. Module 6: The Integumentary System.** *Functions of the Integumentary System* [tiešsaiste] – [skatīts 17.01.2021]. Pieejams: <https://courses.lumenlearning.com/boundless-ap/chapter/functions-of-the-integumentary-system/>

14. **Shimizu, Hiroshi.** *Shimizu's Dermatology*, John Wiley & Sons, Incorporated, 2017. 653 lpp.
15. **Weller, Richard B., et al.** *Clinical Dermatology*, John Wiley & Sons, Incorporated, 2015. 439 lpp.
16. **Gawkrodger, D. J.** *Dermatology : an Illustrated Colour Text* / David J. Gawkrodger. 4th ed., Churchill Livingstone Elsevier, 2008. 132 lpp.
17. **Žilēvica, A., Mazjānis, I., Morica, D., & Tiltiņa, I.** *Medicīnas mikrobioloģija*. Rīga: LU Akadēmiskais apgāds; 2014. 365 lpp.
18. **Grice, E. A., & Segre, J. A.** *The skin microbiome*. Nature Reviews Microbiology. 2011;9(4), 244–253.
19. **Dréno, B., Araviiskaia, E., Berardesca, E., Gontijo, G., Sanchez Viera, M., Xiang, L. F., ... Bieber, T.** *Microbiome in healthy skin, update for dermatologists*. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2016;30(12), 2038–2047.
20. **Schommer, N. N., & Gallo, R. L.** *Structure and function of the human skin microbiome*. Trends in Microbiology. 2013;21(12), 660–668.
21. **Balato, A., Cacciapuoti, S., Di Caprio, R., Marasca, C., Masarà, A., Raimondo, A., & Fabbrocini, G.** *Human Microbiome: Composition and Role in Inflammatory Skin Diseases*. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis. 2018;67(1):1-18.
22. **Byrd, A. L., Belkaid, Y., & Segre, J. A.** *The human skin microbiome*. Nature Reviews Microbiology. 2018;16(3), 143–155.
23. **Slimību profilakses un kontroles centrs (SPKC).** *Antibiotiku lietošana un antibakteriālā rezistence* [tiešsaiste] – [skatīts 01.05.2021]. Pieejams: <https://www.spkc.gov.lv/lv/antibiotiku-lietosana-un-antimikrobiala-rezistence>
24. **Eiropas pārtikas nekaitīguma iestāde (EFSA).** *Antimikrobiālā rezistence* [tiešsaiste] – [skatīts 01.05.2021]. Pieejams: [https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate\\_publications/files/factsheeta\\_mrlv.pdf](https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/factsheeta_mrlv.pdf)
25. **Slimību profilakses un kontroles centrs (SPKC).** *Antibiotiku rezistences cēloņi* [tiešsaiste] – [skatīts 01.05.2021]. Pieejams: <https://www.spkc.gov.lv/lv/antibiotiku-rezistences-celoni>
26. **Rossolini, G. M., Arena, F., & Giani, T.** *Mechanisms of Antibacterial Resistance*. Infectious Diseases. Elsevier. 2017;1181–1196.

27. **Khan, A., Miller, W. R., & Arias, C. A.** *Mechanisms of antimicrobial resistance among hospital-associated pathogens.* Expert Review of Anti-Infective Therapy. 2018;16(4), 269–287.
28. **Christaki, E., Marcou, M., & Tofarides, A.** *Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence.* Journal of Molecular Evolution. 2020;88:26-40.
29. **McManus, M. C.** *Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents.* American Journal of Health-System Pharmacy. 1997;54(12), 1420–1433.
30. **Abushaheen MA, Muzaheed, Fatani AJ, et al.** *Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance.* Disease-a-month : DM. 2020 Jun;66(6):100971.
31. **Gülmez, D., Çakar, A., Şener, B., Haşçelik, G., Karakaya, J., & Gülmez, D.** *Comparison of different antimicrobial susceptibility testing methods for Stenotrophomonas maltophilia and results of synergy testing.* Journal of Infection and Chemotherapy. 2010; 16(5), 322–328.
32. **Brooke, J. S.** *Stenotrophomonas maltophilia: an Emerging Global Opportunistic Pathogen.* Clinical Microbiology Reviews. 2012; 25(1), 2–41.
33. **Baumrin, E., Piette, E. W., & Micheletti, R. G.** *Stenotrophomonas maltophilia: an emerging multidrug-resistant opportunistic pathogen in the immunocompromised host.* BMJ Case Reports. 2017.
34. **Brooke, J. S.** *New strategies against Stenotrophomonas maltophilia: a serious worldwide intrinsically drug-resistant opportunistic pathogen.* Expert Review of Anti-Infective Therapy. 2013; 12(1), 1–4.
35. **Nicodemo, A. C., & Paez, J. I. G.** *Antimicrobial therapy for Stenotrophomonas maltophilia infections.* European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2007;26(4), 229–237.
36. **Cruz-Córdova, A., Mancilla-Rojano, J., Luna-Pineda, V. M., Escalona-Venegas, G., Cázares-Domínguez, V., Ormsby, C., ... Xicohtencatl-Cortes, J.** *Molecular Epidemiology, Antibiotic Resistance, and Virulence Traits of Stenotrophomonas maltophilia Strains Associated With an Outbreak in a Mexican Tertiary Care Hospital.* Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2020;10.
37. **Bostanghadiri N, Ardebili A, Ghalavand Z, et al.** *Antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-associated genes among Stenotrophomonas maltophilia clinical isolates.* BMC Res Notes. 2021;14(1):151.

- 38. Zandersone B.** *Klīniski nozīmīgo gram negatīvo baktēriju rezistence pret antibakteriālajiem līdzekļiem.* [maģistra darbs]. Rīga: Latvijas Universitāte; 2015. 108.lpp.
- 39. Puzko D.** *Urīnceļu infekciju izraisīto gram-negatīvo baktēriju jutība pret antibakteriālajiem līdzekļiem.* [bakalaura darbs]. Rīga: Latvijas Universitāte; 2017. 44.lpp
- 40. Morris, C. P., & Simner, P. J.** *Tailoring Antimicrobial Susceptibility Testing to Individual Species of Coagulase-Negative Staphylococci: Next up, Staphylococcus epidermidis.* Journal of Clinical Microbiology. 2019.
- 41. Chabi, R., & Momtaz, H.** *Virulence factors and antibiotic resistance properties of the Staphylococcus epidermidis strains isolated from hospital infections in Ahvaz, Iran.* Tropical Medicine and Health. 2019;47(1).
- 42. European Centre for Disease Prevention and Control.** *Multidrug-resistant Staphylococcus epidermidis* – 8 November 2018. Stockholm: ECDC; 2018. [tiešsaiste] – [skatīts 12.05.2021]. Pieejams: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-multidrug-resistant-staphylococcus-epidermidis>
- 43. Najjar-Peerayeh, S., Jazayeri Moghadas, A., & Behmanesh, M.** *Antibiotic Susceptibility and mecA Frequency in Staphylococcus epidermidis, Isolated From Intensive Care Unit Patients.* Jundishapur Journal of Microbiology. 2014;7(7).
- 44. Otto, M.** *Staphylococcus epidermidis — the “accidental” pathogen.* Nature Reviews Microbiology. 2009;7(8), 555–567.
- 45. Guo Y, Ding Y, Liu L, Shen X, Hao Z, Duan J, Jin Y, Chen Z, Yu F.** *Antimicrobial susceptibility, virulence determinants profiles and molecular characteristics of Staphylococcus epidermidis isolates in Wenzhou, eastern China.* BMC Microbiology. 2019;19(1).
- 46. Molina-Manso, D., del Prado, G., Ortiz-Pérez, A., Manrubia-Cobo, M., Gómez-Barrena, E., Cordero-Ampuero, J., & Esteban, J.** *In vitro susceptibility of Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis isolated from prosthetic joint infections.* The Journal of Antibiotics. 2012;65(10), 505–508.
- 47. Grīnberga L.** *No perifēro vēnu katetru uzsējumiem izdalīto Staphylococcus epidermidis bioplēvju veidošana un jutība pret antibakteriālajiem līdzekļiem.* [bakalaura darbs]. Rīga: Latvijas Universitāte; 2015. 59.lpp

**48. Maļuhins R.** *Staphylococcus epidermidis* biofilmu veidošana un rezistences pret metilcīnu noteikšana, lietojot fenotipiskās un molekulāri bioloģiskās izmeklēšanas metodes. [bakalaura darbs]. Rīga: Latvijas Universitāte; 2018. 45.lpp

## **PIELIKUMI**

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

LATVIJAS UNIVERSITĀTES KARDIOLOĢIJAS UN REĢENERATĪVĀS  
MEDICĪNAS INSTITŪTA ZINĀTNISKĀS IZPĒTES ĒTIKAS KOMISIJA

PIETEIKUMS

I. PĒTĪJUMA VADĪTĀJS

Vārds, uzvārds: Iveta Līduma  
Zinātniskais grāds: Dr.med.  
Amats: docente  
Zinātniskās iestādes nosaukums: Latvijas Universitātes Mikrobioloģijas laboratorija  
Adrese: Jelgavas iela 1, Rīga  
E-pasts: iveta.liduma@lu.lv

II. PĒTĪJUMA NOSAUKUMS Ādas mikrobiotas sastāvā esošo baktēriju identifikācija un  
jutības pret antibakteriālajiem līdzekļiem noteikšana

III. PĒTĪJUMA IZPILDĪTĀJI

Vārds, uzvārds: Laine Freimane  
Amats: Latvijas Universitātes Medicīnas fakultātes BSP "Farmācija" 3.kursa studente  
Zinātniskās iestādes nosaukums: Latvijas Universitātes Mikrobioloģijas laboratorija,  
Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcas mikrobioloģijas laboratorija  
Adrese: Jelgavas iela 1; Dunties iela 22, Rīga  
Tālr.: 23661734  
E-pasts: laineifr@inbox.lv

IV. PĒTĪJUMA KOPSAVILKUMS

- A. PLĀNOTAIS PĒTĪJUMA DALĪBNIEKU SKAITS: Pētījumā tiks iesaistīti 10 cilvēki  
(studenti)
- B. PĒTĪJUMA PROTOKOLA PAMATOJUMS  
Pētījuma mērķis: Noskaidrot studentu ādas mikrobiotas sastāvu, kā arī noskaidrot  
mikroorganismu jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem.  
Pētījuma hipotēze: Visbiežāk sastopamie mikroorganismi ādas mikrobiotā pieder  
*Staphylococcus* ģintij.

**1.pielikums. Ētikas komisijas atļauja pētījuma veikšanai**

### C. PĒTĪJUMA PROTOKOLA ĪSS APRAKSTS

Pētījumā piedalīsies 10 studenti – sievietes vecumā no 18 līdz 25 gadiem. Pētījuma dalībniekiem tiks noņemts neinvazīvs uzsējums 5 cm<sup>2</sup> lielumā no vaiga. Uzsējumi tiks ievietoti sterilās transporta barotnēs, nogādāti laboratorijā, kur tiks pētīts, kādi mikroorganismi ir izauguši (tiks veikta tīrkultūras identifikācija) un tiks noteikta mikroorganismu antibakteriālā jutība.

### D. PĒTĪJUMA IZPILDES TERMIŅI

Sākums novembris  
Beigas maijs

E. PĒTĪJUMA NORISES VIETA (-AS) Latvijas Universitātes mikrobioloģijas laboratorija un Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcas mikrobioloģijas laboratorija

F. INFORMĒTĀ PIEKRIŠANA: Pētījuma dalībnieki aizpildīs (tiks iepazīstināti ar) informētās piekrišanas veidlapu, kurā būs norādīts pētījuma mērķis, norise, ieguvumi un riski. Piekrišana pētījumā tiks apliecināta ar pētījuma dalībnieka parakstu, kas apliecinās, ka dalībnieks ir iepazinies un ir informēts, kā arī piekrīt pētījuma veikšanai. Pētījumā iegūtie dati būs anonīmi, saglabājot pētījuma dalībnieku konfidencialitāti un tie tiks izmantoti tikai vispārīgam salīdzinājumam.

### V. RISKI UN IEGUVUMI

1. Izskaidrot pētījuma procedūru iespējamās blakusparādības, fiziskos riskus (sāpes, veselības pasliktināšano utml.), un psiholoģiskos riskus, kas var rasties pētījuma dalībniekiem protokola izpildes gaitā.
2. Izskaidrot veiktos pretpasākumus, lai mazinātu riskus un aizsargātu pētījuma dalībnieku tiesības un labklājību.
3. Izskaidrot šā pētījuma potenciālos ieguvumus (i) pētījuma dalībniekiem (ja tādi paredzami) un (ii) sabiedrībai.

Pētījumā izmantotās metodes ir neinvazīvas, t.i. nerada nekādu risku pētījumā iesaistītajiem dalībniekiem. Pētījumā iesaistītajiem dalībniekiem, kā arī citiem interesentiem būs iespēja uzzināt studentu ādas mikrobiotas daudzveidību un jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem. Iegūtie rezultāti tiks prezentēti anonīmi (vispārīgi), atsevišķi neizdalot konkrētus gadījumus.

### VI. APLIECINĀJUMS

Es, Soeeta Līduma (projekta vadītājs),

ievērošu pētījuma protokolu, Pasaules medicīnas asociācijas Helsinku deklarāciju par ētikas principiem medicīnas pētniecībai ar cilvēkiem, Eiropas padomes Oviedo konvenciju par cilvēktiesību un cieņas aizsardzību bioloģijā un medicīnā, un uz zinātnisko pētniecību un personas datu aizsardzību attiecināmos Latvijas Republikā spēkā esošos normatīvos aktus. Man ir pienākums ziņot par protokola izmaiņām Ētikas komisijai un zinātniskā pētījuma rezultātiem kompetentām pētniecības iestādēm un komisijām.

Datums \_\_\_\_\_

Paraksts \_\_\_\_\_

Šo vietu aizpilda LU KRMI Zinātniskās izpētes Ētikas komisija

VII. PARAKSTI

APSTIPRINĀTS X

NEAPSTIPRINĀTS \_\_\_

Datums 10.11.2020.

Paraksts, atšifrējums

M. Maas, L. PLAKSĀNS  
LU KRMI Zinātniskās izpētes Ētikas komisija

Datums 10.11.2020.

Paraksts, atšifrējums

[Signature], I. FRIVALDIS  
LU KRMI Zinātniskās izpētes Ētikas komisija

DOKUMENTĀRĀ LAPA

Bakalaura darbs

Tēlas mikrobiotas sastāvā esošo baktēriju identifikācija  
un jutības pret antibakteriālajiem līdzekļiem  
noteikšana

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/e: Laine Freimane [paraksts] 18.05.2021  
(vārds, uzvārds) (paraksts) (datums)

Rekomendēju/nerekomendēju darbu aizstāvēšanai  
Vadītājs/a: Med. doc. I. Lauce [paraksts] 18.05.2021  
(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts) (datums)

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

Darbs iesniegts LU Medicīnas fakultātē \_\_\_\_\_  
(datums)

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

Bakalaura darbs aizstāvēts bakalaura studiju programmas „Farmācija” Bakalaura gala pārbaudījuma komisijas sēdē \_\_\_\_\_ 2021., prot. Nr. \_\_\_\_\_.

Komisijas sekretāre: docente Kristīne Saleniece, Dr.pharm. \_\_\_\_\_  
(paraksts)