

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
MEDICĪNAS FAKULTĀTE
ĀRSTNIECĪBAS STUDIJU PROGRAMMA

***ACINETOBACTER BAUMANNII UN PSEUDOMONAS
AERUGINOSA ANTIBAKTERIĀLĀS REZISTENCES
NOTEIKŠANA, LIETOJOT FENOTIPISKĀS UN
MOLEKULĀRI BIOLOĢISKĀS METODES***

DIPLOMDARBS

Autors: **Marta Mauriņa**

Studenta apliecības Nr.: mm14070

Darba vadītājs: profesore Dr. med. Iveta Līduma

RĪGA 2020

KOPSAVILKUMS

Acinetobacter baumannii un *Pseudomonas aeruginosa* ir gan Latvijā, gan visā Eiropā bieži sastopami intrahospitāli patogēni, pret kuriem antibiotiku rezistence pieaug ik gadu. Visbiežāk tie skar imūnsupresētus cilvēkus, apdraudot veselību un dzīvību.

Darba mērķis: Noteikt *A.baumannii* un *P. aeruginosa* jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem 2019. gadā un salīdzināt rezistences izmaiņas ar 2017. gadu, kā arī ar molekulāri bioloģisko metodi identificēt baktēriju sugas.

Uzdevumi: 1.No elpceļu paraugiem ar *BBL Crystal*TM identifikācijas sistēmām identificēt izolātus.

2. Noteikt antimikrobiālo jutību, izmantojot *Bauer-Kirby*TM disku difūzijas testu un MIC, lietojot ETM-testu.

3. Tipēt izdalīto baktēriju celmus pēc antibiogrammām.

4. Lietojot *Genotype BC Gramnegative*TM metodi identificēt gram-negatīvās baktērijas no hemokultūras.

Rezultāti: salīdzinot 2017. gadu un 2019. gadu, tika novērota gan *A.baumannii*, gan *P.aeruginosa* paraugu skaita palielināšanās. 2019.gadā no 20 *A.baumannii* izolātiem visi paraugi uzrādīja rezistenci pret kolistīnu, visbiežāk jutība tika novērota pret amikacīnu-60% (n-12). No 75 *P.aeruginosa* izolātiem visbiežāk jutība tika novērota pret meropenēmu 93,3% (n-70), bet visbiežāk sastopamā rezistence bija pret ciprofloksacīnu 17,33% (n-13). Sastopamākie *A.baumannii* fenotipi 2019.gadā bija I fenotips, kur no 20 paraugiem 40% (n-8) bija jutīgi pret visām izmantotajām antibakteriālajām vielām, un II fenotips, kur savukārt 40% (n-8) bija rezistenti pret visām antibakteriālajām vielām. Kombinētā rezistence tika novērota 45% gadījumu. No 75 *P.aeruginosa* paraugiem I fenotipam pieder 70% (n-53), kuri ir jutīgi pret visām antibakteriālajām vielām. Multirezistenci uzrādīja 9,33% (n-7) *P.aeruginosa* paraugu.

Atslēgas vārdi: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, baktēriju rezistence, antibakteriālie līdzekļi

SUMMARY

Acinetobacter baumannii and *Pseudomonas aeruginosa* are common intra-hospital pathogens, both in Latvia and throughout Europe against which antibiotic resistance is increasing every year. Most often these pathogens affect immunosuppressed patients, endangering their health and life.

The aim of the study: Studying susceptibility of *A.baumannii* and *P. aeruginosa* to antibacterial agents in 2019 and comparing changes in resistance with 2017. Using molecular biological method, determine bacterial species.

Tasks: 1. Identifying isolates from respiratory tract samples with *BB*TM and *Crystal*TM systems.

2. Performing antimicrobial susceptibility , using *Bauer-Kirby*TM disc diffusion test and MIC, using ETM-test.

3. Typing isolated bacterial strains according to antibiograms.

4. Detecting gram-negative bacteria from blood culture using *Genotype BC Gramnegative*TM method.

Results: comparing 2017 and 2019 the increase of *A.baumannii* and *P.aeruginosa* numbers was observed. In 2019 all out of 20 *A.baumannii* isolates showed resistance to colistin. The highest sensitivity was observed against amikacin – 60% (n-12).

Of the 75 *P.aeruginosa* isolates, the highest susceptibility was observed to meropenem in 93,3% (n-70), and the highest resistance to ciprofloxacin in 17,33% (n-13). The most common phenotypes of *A.baumannii* in 2019 were phenotype I, where 40% (n-8) of 20 samples were sensitive to all antibacterial agents used and phenotype II, where 40% (n-8) were, in turn, resistant to all antibacterial agents. Multidrug resistance was observed in 45% of cases. Of the 75 *P.aeruginosa* samples, phenotype I contains 70% (n-53), which are sensitive to all antibacterial agents. Multidrug resistance was shown in 9,33% (n-7) of *P.aeruginosa* samples.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, bacterial resistance, antibacterial agents

Saturs

KOPSAVILKUMS	2
SUMMARY	3
Apzīmējumu un saīsinājumu saraksts.....	5
Ievads.....	7
1.LITERATŪRAS APSKATS	9
1.1. <i>Acinetobacter baumannii</i>	9
1.1.1.Epidemioloģija	9
1.1.2. Virulences faktori un patoģenēze	10
1.1.3. <i>A.baumannii</i> izraisītās infekcijas.....	14
1.1.4. Rezistences mehānismi.....	15
1.1.5. Biofilmu veidošana.....	16
1.1.6.Antibakteriālā terapija	19
1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
1.2.1. Epidemioloģija	21
1.2.2. Virulences faktori un patoģenēze	21
1.2.3. <i>P.aeruginosa</i> izraisītās infekcijas.....	23
1.2.4. Rezistences mehānismi.....	25
1.2.5.Biofilmu veidošana.....	29
1.2.6.Antibakteriālā terapija	30
2.MATERIĀLI UN METODEDES.....	33
2.1. Materiāli	33
2.1.1. Antibakteriālie līdzekļi	33
2.1.2. Mikrobioloģiskās barotnes	34
2.1.3. Trauki un aparātūra.....	35
2.2. Metodes	36
2.2.1. Disku difūzijas tests.....	36
2.2.2. <i>ETM</i> -tests.....	37
2.2.3. <i>BD BBLTM CrystalTM E-tests</i>	38
2.2.4. <i>GenoType BC GramnegativeTM</i>	38
2.2.5. Datu statistiskā analīze	41
3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA	42
3.1. <i>A.baumannii</i> un <i>P.aeruginosa</i> antibiotiku rezistence.....	44
3.2. <i>A.baumannii</i> un <i>P.aeruginosa</i> izolātu fenotipi.....	60
3.3. Gram-negatīvo baktēriju identificēšana ar <i>GenoType BC GramnegativeTM</i>	66
SECINĀJUMI	69
PATEICĪBAS	70
ATSAUCES	71

Apzīmējumu un saīsinājumu saraksts

µm- mikrometri

AAC – aminoglikozīdu acetiltransferāze

ACDC – Eiropas slimību novēršanas un kontroles centrs (angļu val. – European centre for disease prevention and control)

ĀM – ārējā membrāna

ĀMP – ārējās membrānas proteīns (angļu val. – outer membrane protein)

ĀMV – ārējās membrānas vezīkulas

CFTR – cistiskās fibrozes transmembrānas regulators

CNS – centrālā nervu sistēma

CTX – cefotaksīms

Da- daltoni

DNS- dezoksiribonukleīnskābe

EARS-NET – Eiropas antibakteriālās rezistences uzraudzības tīkls (angļu val. –European Antimicrobial Resistance Surveillance Network)

ESBL – paplašināta spektra beta-laktamāzes (angļu val. – extended spectrum beta lactamase)

EU – Eiropas Savienība

ExoY - eksotoksīns Y

ExoS- eksoenzīms S

ExoT – eksotoksīns T

ExoU – eksoenzīms U

g – grami

h – stundas

HOPS – hroniski obstruktīva plaušu slimība

I – vidēji jutīgs (angļu val. – intermediate)

IgA – imūnglobulīns A

IgG – imūnglobulīns G

IgM – imūnglobulīns M

IL-6 – interleikīns 6

IL-8 – interleikīns 8

in vivo - dzīvā organismā

LPO - lipooligosaharīdi

LPS -lipopolisaharīdi

MIK – minimālā inhibējošā koncentrācija

ml- mililitri

mm- milimetri

MRAB – multirezistents *A.baumannii*

n – skaits

nm – nanometri

OXA – oksacilīnus hidrolizējošas beta- laktamāzes

PCR – polimerāzes ķēdes reakcija

PLC – fosfolipāze C

PLD – fosfolipāze D

PVO – Pasaules Veselības organizācija

QSS – kvoruma sajūtas sistēma (angļu val. – quorum sensing system)

R – rezistents (angļu val. – resistant)

S – jutīgs (angļu val. – susceptible)

SHV – sulfhidril mainīgā enzīmu grupa

T1SS - I tipa sekrēcijas sistēma

T2SS - II tipa sekrēcijas sistēma

T3SS – III tipa sekrēcijas sistēma

T4SS – IV tipa sekrēcija sistēma

T5SS – V tipa sekrēcija sistēma

TLR4 – toll – līdzīgais receptors-4

Ievads

A.baumannii un *P.aeruginosa* ir divas bīstamākās bakteriālo infekciju ierosinātājas slimnīcās pacientiem ar zemu imūno aizsardzību. Tām piemīt vairākas rezistences sistēmas pret antibakteriālajiem līdzekļiem. Baktērijas var izraisīt ar mākslīgo plaušu ventilāciju saistītas infekcijas, urīntrakta infekcijas, asinsrites infekcijas, ādas un mīksto audu infekcijas. Augstā mortalitāte ir saistīta ar jaunu, rezistentu celmu veidošanos.

Nozokomiālās infekcijas visbiežāk skar imūnnovājinātus pacientus, kuri atrodas intensīvās aprūpes vienībās un slimnīcā uzturas ilgāku laiku. Riska faktori saslimšanai ir imūnsupresija, vecums virs 65 gadiem, blakussaslimšanas, smagas traumas vai apdegumi, iepriekšēja antibiotiku lietošana, urīnkatetru lietošana un mehāniskā plaušu ventilācija.

Saskaņā ar slimību kontroles un prevencijas centra (*Centers for Disease Control and Prevention*, 2017) datiem ASV 2017.gadā ar karbapenēmrezistentu *A.baumannii* tika novēroti 8500 saslimšanas gadījumi un 700 nāves gadījumi. Savukārt ar *P.aeruginosa* infekciju saslimuši 32 tūkstoši pacientu, bet miruši apmēram 2700.

Baktēriju rezistencei katru gadu ir tendence pieaugt. Tas saistāms ar baktēriju rezistences mehānismiem, kas nodrošina baktēriju izturību. Šie mehānismi ietver gan šūnu membrānas caurlaidību, efluksa sūkņus, enzīmu medietu antibiobakteriālo vielu degradāciju, gēnu mutāciju, kā arī biofilmu veidošanu.

A.baumannii un *P.aeruginosa* tiek pieskaitītas pie ESKAPE (*Enterococcus*, *S. Aureus*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa* un *E.coli*) organismiem, kas aptver lielāko daļu rezistentu patogēnu, kuri tiek iegūti slimnīcās. Pēc Pasaules Veselības organizācijas ieteikuma, ir steidzami nepieciešams rast jaunus ārstēšanas risinājumus strauji augošajai antibiotiku rezistences problēmai (PVO, 2017).

Diplomdarba mērķis: Noteikt *A.baumannii* un *P. aeruginosa* jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem 2019. gadā un salīdzināt rezistences izmaiņas ar 2017. gadu, kā arī ar molekulāri bioloģisko metodi identificēt baktēriju sugas.

Darba uzdevumi:

1. No elpceļu paraugiem ar *BBL Crystal*TM identifikācijas sistēmāmu identificēt izolātus.
2. Noteikt antimikrobiālās jutības testus, izmantojot *Bauer-Kirby*TM disku difūzijas testu un MIC, lietojot ETM-testu.
3. Tipēt izdalīto baktēriju celmus pēc antibiogrammām.
4. Lietojot *Genotype BC Gramnegative*TM metodi identificēt gram-negatīvās baktērijas no hemokultūras.

1.LITERATŪRAS APSKATS

1.1. *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter spp. ir glikozi nefermentējošas, nekustīgas, oksidāzes negatīvas, katalāzes pozitīvas, aerobas, gram-negatīvas, 1,0-1,5 μm platas un 1,5-2,5 μm garas baktērijas. Tās ir atrodamas gan augsnē, gan ūdenī. Baktērija labi aug uz asins agara, šokolādes agara un *MacConkey* agara 37⁰C. Tās veido bezkrāsainas, nehemolītiskas, spīdīgas, gludas kolonijas. Uz *MacConkey* agara tās veido bezkrāsainas, spīdīgi mukoīdas kolonijas. Uz selektīvā agara (*Leeds Acinetobacter Medium*) tās veido rozā kolonijas uz violeta fona (Almasaudi, 2018).

Pēdējos gados *A.baumannii* ir kļuvusi īpaši bīstama tās karbapenēmu rezistences dēļ. Visām *Acinetobacter spp.* ir līdzīgas fenotipiskās un ģimijtoksonomiskās iezīmes, bet atšķirīga ir uzņēmība pret antibiotikām un klīniskā nozīmība. Lai atšķirtu *A.baumannii* no citām *Acinetobacter spp.*, nepieciešama precīza baktērijas genoma noteikšana, piemēram, ekstragēnas uz palindromisku sekvenci balstītas polimerāzes ķēdes reakcija (rep-PCR), impulsa lauka gēla elektroforēze (PFGE), masas spektrometrija, amplificētas ribosomālās DNS restrikcijas analīzes, nejauši amplificētās polimorfiskās DNS analīzes, multilokusu sekvenču tipēšana (MLST) un citas (C. R. Lee et al., 2017).

1.1.1.Epidemioloģija

Acinetobacter spp. ir plaši izplatīta, tā bieži konstatēta tropiskajās zonās, kara zonās, dabas katastrofu vietās, kā arī slimnīcās infekciju uzliesmojumu laikā mērena klimata apstākļos. *A.baumannii* pārsvarā apdzīvo ūdeni un augsni. Tā var būt arī dzīvniekos un posmkājos. Cilvēkam baktērija var kolonizēt ādu, brūces, respiratoro un gastrointestinālo traktu. Tā var veidot biofilmas arī mutes dobumā, kas ir sevišķi bīstami aspirācijas gadījumā, jo var izraisīt pneimoniju. Daži baktēriju celmi var izdzīvot sausumā, kas kopā ar strauji augošu rezistenci ir galvenais iemesls baktēriju izdzīvošanai slimnīcas vidē.

Biežāk baktērija novērojama siltajā sezonā, kas ir saistīts ar lielāku gaisa mitruma daudzumu, piesārņotu kondicionēto gaisu. Slimība ir asociēta ar veselības aprūpi, it sevišķi intensīvās aprūpes vienībās. Tiek minēts, ka *Acinetobacter spp.* ir sastopama 12,8% ar mehānisko ventilāciju saistītu pneimoniju gadījumos, 8,8% gadījumos ar asinsrites

infekcijām, 1,3% gadījumos ar katetru izraisītām urīnceļu infekcijām un 1,3% gadījumos ķirurģisko brūču infekcijās (Weiner et al., 2016).

Riska faktori saslimšanai ir nesena ķirurģiska iejaukšanās, centrālo vēnu kateterizēšana, traheostomija, mehāniskā ventilācija, parenterālā barošana, ārstēšana ar trešās paaudzes cefalosporīniem, fluorhinoloniem, karbapenēmiem. Svarīga loma ir personāla higiēnas ievērošanai, jo baktērijas tiek pārnestas ar rokām no viena pacienta pie otra. Sabiedrībā iegūta infekcija prevalē Āzijā un Austrālijā. *Acinetobacter spp.* uzliesmojumi Austrālijā saistīti ar mitro (masonu) sezonu, kur *A. baumannii* izraisa 10 % no sadzīvē iegūtajām pneimonijām. Infekcijas uzliesmojumi ir bijuši Korejas, Vjetnamas, Irākas un Afganistānas kara laikā. Pētījumā, kas tika veikts no 2007.gada līdz 2008. gadam, pacientu brūcēs, kas bija bijuši Irākā un Afganistānā *A.baumannii* bija sastopams 63% gadījumu (Kanafani & Kanj, 2016).

2015.gadā Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcā veica pētījumu, kur apkopoja datus par multirezistentās *A.baumannii* izplatību slimnīcā no 2009.gada līdz 2014. gadam. Tika noskaidrots, ka MRAB izplatība pieaug. 2009. gadā saslimušo skaits bija 71, 2013.gadā 217 gadījumu, savukārt 2014. gadā - 172 gadījumi. 2013.gadā invazīvo gadījumu skaits, kad MRAB tika izdalīts no asinīm un lumbālā punktatambija 33 gadījumi, 2014. gadā - 26 gadījumi (Liepiņš et al., 2016).

1.1.2. Virulences faktori un patoģenēze

A.baumannii virulences faktori ir ārējās membrānas porīni, fosfolipāzes, proteāzes, lipopolisaharīdi, kapsulas polisaharīdi, porīnu sekrēcijas sistēma un dzelzs-helātu sistēma (Lin et al., 2015).

Porīni nodrošina ārējās membrānas caurlaidību. Ārējās membrānas proteīns A (OmpA) ir visvairāk aprakstītais virulences faktors. OmpA ārējā membrānā veido astoņu ķēžu beta cilindru, ar poru 2 nm diametrā un C termināla periplazmas globulāro pagarinājumu, kas satur vairāk kā 500 Da molekulas. *A. baumannii* OmpA ir ievērojami samazināta caurlaidība, kas samazina vispārēju ārējās membrānas caurlaidību. Ir atklāts, ka C-termināla periplazmātiskais domēns ir kristalizēts un tas tieši saistās ar peptidoglikānu caur Asp271 un Arg286. Tiek uzskatīts, ka šī saistība ietekmē ārējās membrānas proteīnu (OMP) iesaiņošanu ārējās membrānas pūslīšos (OMV). Baktēriju šūnai OmpA saskaroties ar eikariotu epitēlija šūnu, notiek citotoksiska reakcija, kas nonāvē epitēlija šūnu. Pēc internalizācijas OmpA pārvietojas uz mitohondrijiem vai kodolu. Mitohondrijos OmpA ierosina proapoptotiskus

signālus, aktivējot Bcl-2 saimes olbaltumvielas, citohroma C un apoptozi izraisošo faktoru izdalīšanos. OmpA var pārvietoties arī uz kodolu, izmantojot tā paškodētā kodola lokalizācijas signālu (KTKAGRAMNRR). Papildus citotoksiskajām īpašībām OmpA piemīt arī izturība pret komplimentu mediēto iznīcināšanu. Saistoties ar faktoru H, OmpA veicina adhēziju pie ekstracelulārās matricas proteīniem, ieskaitot fibronektīnu, kas ir svarīgi plaušu epitēlija kolonizācijā (Morris et al., 2019). Ārējās membrānas proteīns Omp34 (Omp33-36) ierosina apoptozi eikariotu šūnās, izmantojot kaspāzes atkarīgus mehānismus un kavējot autofāgiju, veicina baktēriju izturību pret autofagosomām. Apoptoze visbiežāk tiek ierosināta plaušu epitēlija šūnās, tā var skart arī imūnās un saistaudu šūnas. Omp34 saista arī fibronektīnu un OMV tiek selektīvi koncentrēts. Omp34 ir izteikti imunogēnisks. Tas var izraisīt spēcīgu IgA, IgG, IgM antivielu reakciju inficēto pacientu serumos (Jahangiri et al., 2018).

Lipopolisaharīdi, lipooligosaharīdi un kapsula tiek sintezēti šūnas citoplazmā un ar īpašu olbaltumvielu palīdzību nogādāti uz ārējo membrānu. Lipopolisaharīdi sastāv no lipīdu A enkura, glikolizēta ar serdes oligosaharīdiem, kam pievienots O-antigēnu atkārtojums. LOS nesatur O-antigēnu, tam pievienoti paplašināti kodolu oligosaharīdi. Lipīds A ir imunostimulators gram-negatīvās baktērijās. Lipīdu A negatīva *A.baumannii* pirmo reizi tika identificēta, reaģējot uz kolistīna iedarbību *in vitro*, kā rezultātā IcxA, IpxC vai IpxD tika inaktivēti ATCC. Penicilīn-saistītājproteīns-1a (PBP1a) un it īpaši tā glikoziltransferāzes aktivitāte ir svarīga lipīda A zaudēšanas procesā. Lipīds A ir galvenais stimulss TLR4 (*toll like receptor 4*). Lipīdu A negatīvi celmi samazina TLR4 signālu pānesi, bet paaugstina TLR2 stimulāciju, tādējādi tiek palielināta OM lipoproteīnu izdale. *A.baumannii* bieži modificē lipīdu A fragmentu, lai veicinātu mikrobu rezistenci (Morris et al., 2019).

Kapsula veido aizsargslāni uz ekstracelulārās virsmas, veidojot aizsardzību pret katjonu antimikrobiālajiem peptīdiem un serumu, nodrošinot izdzīvošanu organismā. Kapsulas veidošanu nodrošina divkomponentu regulatorā sistēma, kā atbildes reakcija uz vides stimuliem, ieskaitot īpašas antibiotikas (hloramfenikolu un eritromicīnu), kā rezultātā palielinās ekspresija un antimikrobu rezistence. Kapsulas esamība vai neesamība ir saistīta ar *Acinetobacter spp.* fenotipisko maiņu, kurā necaurspīdīgo virulento formu raksturo pastiprināta kapsulas ražošana, pretstatā caurspīdīgajai avirulentajai formai, kura ražo kapsulu divkārt mazāk (Senchenkova et al., 2015). Kapsulārie polisaharīdi sastāv no oligosaharīdu subvienībām (K vienībām), kas pasargā baktērijas šūnu. Kapsulas veidošana sākas ar sākotnējo transferāzi (Itr), kas atrodas iekšējā membrānā, pānesot atkārtotās vienības pirmo cukuru molekulu uz lipīdu nesēju, cukuri tiek pievienoti specifiskām glikoziltransferāzēm iekšējās membrānas citosola pusē. Kapsulas subvienību K transportē uz perioplazmu caur

integrālo membrānas proteīnu Wzx. Cukuru subvienības polimerizē Wzy proteīnu un Wza/Wzb/Wzc kompleksu, koordinē augsta līmeņa polimerizāciju un eksportu no augošās ķēdes, ievietojot to šūnas ārējā membrānā (Singh et al., 2019).

Acinetobacter spp. kodē fosfolipāzes C un fosfolipāzes D fermentus, kas ir diferencēti pēc to šķelšanās pozīcijas. *A.baumannii* kodē divus fosfolipāzes C un trīs fosfolipāzes D fermentus, kas visi ir ar substrāta specifiskumu pret eikariotu membrānas komponentu fosfatidilholīnu. Abus fermentus transkripcijā regulē dzelzs uzņemšanas regulators un tiem piemīt hemolītiska aktivitāte pret cilvēka eritrocītiem, iegūstot no tiem dzelzi. Šīs svarīgās funkcijas dēļ fosfolipāze C tiek saglabāta daudzos *Acinetobacter* celmos, kā, piemēram, ATCC 19606, ATCC 17978, ACICU, AYE un AB0057. Trīs fosfolipāzes D gēni ir saistīti ar seruma rezistenci, invāziju epitēlija šūnās un *in vivo* patoģenēzi.

Acinetobacter spp. sekrēcijas sistēmas. Pirmā tipa sekrēcijas sistēma (T1SS) kodē trīspusēju sistēmu, kas piegādā proteīnus no citosola ārpusšūnu vidē. Ceturtā tipa sekrēcijas sistēma (T4SS) ir atbildīga par DNS plazmīdu un citu mobilo ģenētisko elementu konjugējošo pārvietošanu. Sestā tipa sekrēcijas sistēma (T6SS) ir mērķēta gan uz eikariotu, gan uz prokariotu šūnām. T6SS vairāk ir vērsta uz citām baktērijām, izdalot virkni toksīnu, ieskaitot peptidoglikānu hidrolāzes, nukleāzes, kas liecina par konkurenci ar citiem patogēniem.

Otrā tipa sekrēcijas sistēma (T2SS) ir divpakāpju sekrēcijas mehānisms, kas balstās uz Sec vai Tat substrāta translokāciju uz periplazmu pirms sekrēcijas. Efektorproteīni iekļauj lipāzi, elastāzi, sārmaino fosfatāzi, kas ir klīniski nozīmīgi *A.baumannii* virulencē. Lipāzes LipA un LipH hidrolizē garās ķēdes taukskābes kā oglekļa avotus augšanai. Metaloendopeptidāze CpaA atbild par fibrinogēna un V faktora sadalīšanos, kas ietekmē asins recēšanu. PilD peptidāzi veido gan T2SS gan T4SS.

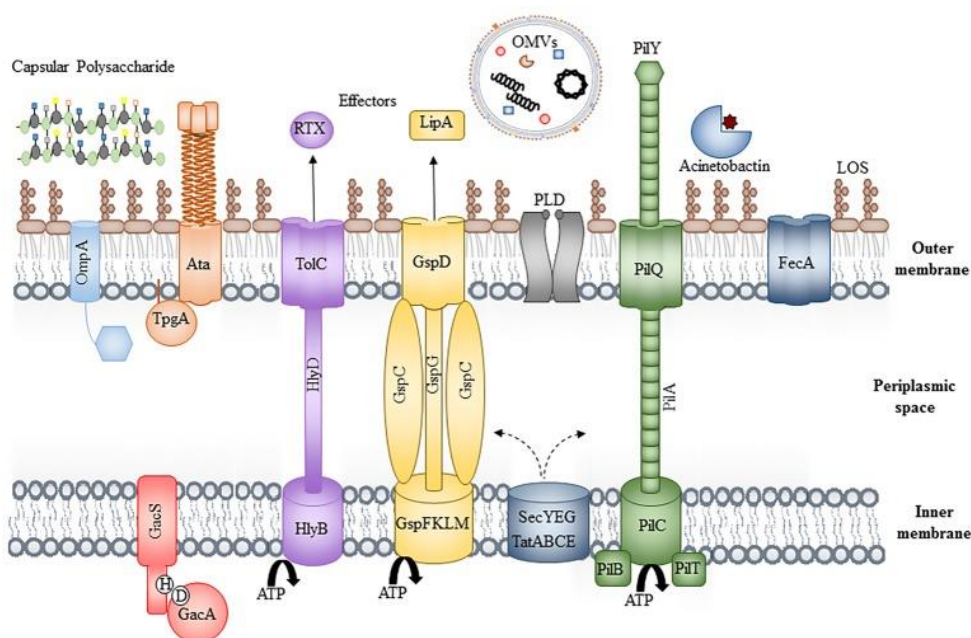
Piektā tipa sekrēcijas sistēma (T5SS) ir vērsta uz biofilmu veidošanu. *A.baumannii* kodē Vb (AbFhaB/C and CdiA/B) un Vc (ata) tipus. Vb tipa sekrēcijas sistēma kodē transporta un beta domēnus, kas no operona TspA (AbFhaB) un TspB (AbFhaC) kodē barelu ar diviem periplazmatiskiem polipeptīdu transportu saistītiem domēniem, lai atpazītu un pārvietotu AbFhaB uz šūnu virsmas, kur arginīna-glicīna-aspartāta (RGD) motīvs saista eikariotu integrīna un fibronektīna molekulas. Vc tips satur četras pentamēriskas kolagēnu saistošās konsensa sekvences (SVAIG) un RGD motīvu, kas piedalās saistībā ar ārpusšūnu matricu un bazālajiem proteīniem, tai skaitā, I, II, IV un V tipa kolagēnu un laminīnu.

A.baumannii izplūdes sistēma ir membrānu aptveroša, trīspusēja sistēma ar plašu substrāta specifiskumu. Ar tās palīdzību tiek izvadīti potenciāli toksiskie savienojumi no periplazmas uz ārpusšūnu vidi. Līdz šim ir identificētas sešas baktēriju izplūdes sūkņu saimes, ieskaitot galveno veicinātāju supergrupu, vairāku zāļu un toksīnu ekstrūzijas saimi (MATE),

mazo vairāku zāļu rezistences grupu (SMR), rezistences mezglīņgrupu supersaimi (RND) un proteobaktēriju pretmikrobu savienojumu izplūdes saimi. *A.baumannii* Acel un AdeABC izplūdes sūkņi veicina izturību pret biocīdiem un aminoglikozīdiem (Morris et al., 2019).

Ārējās membrānas vezīkulas (ĀMV) ir mazi, sfēriski pūslīši, kuru izmērs ir no 10-300 nm. Šīs vezīkulas ir fosfolipīdu, ārējo membrānu proteīnu, lipopolisaharīdu un perioplazmatisko olbaltumvielu ieslēgumi. Vezīkulas ražo visas gram-negatīvās baktēriju sugas. Vezīkulas veidojas kā vispārējs sekrēcijas ceļš, kas reaģē uz dažādiem vides apstākļiem. ĀMV darbojas kā baktēriju aizsardzības mehānisms pret iedzimto imūnsistēmu, pateicoties to saistībai ar baktēriju signalizāciju, saimnieka un patogēna mijiedarbības modulāciju. ĀMV nodrošina OmpA un citu virulences faktoru sekrēcijas mehānismu saimniekorganisma šūnās, izmantojot mijiedarbību ar eikariotu holesterīna mikrodomēniem. Organismā ĀMV var stimulēt imūno reakciju, aktivizējot TLR signalizāciju vai modulēt imūno izvairīšanos (Huang et al., 2019).

Barības vielu iegūšana- dzelzs ir visgrūtāk iegūstamā barības viela cilvēka organismā. Baktērijām ir divi dzelzs uzņemšanas veidi: tieša uzņemšana caur receptoriem, transportieriem un ar augstu afinitāti izdalīti dzelzs helātu proteīni (siderofori). *A. baumannii* celmi kodē līdz pat pieciem dažādiem sideroforiem. Dzelzs transportētāji un receptori FecI, FecR un FecA veicina celmu patoģenēzi un augšanas spējas, izmantojot hēmu (Morris et al., 2019).



1.1.att. *A.baumannii* virulences faktori (Morris et al., 2019)

1.1.3. *A.baumannii* izraisītās infekcijas

A.baumannii ir svarīgākā no *Acinetobacter* sugām, kas izraisa slimnīcā iegūtās infekcijas. Intensīvās aprūpes vienībās *A. baumannii* ir sastopama 20% gadījumu. Visbiežāk patogēns izraisa ādas, asinsrites, urīntrakta un mīksto audu infekcijas. Pēdējos gados pieaug arī sabiedrībā iegūtās saslimšanas biežums (Lin et al., 2015). Slimnīcās baktērija visbiežāk tiek pārnesta ar personāla starpniecību, netīrām rokām, aprīkojumu, kā arī tiek iegūta slimnīcas vidē (Garnacho-Montero & Timsit, 2019).

Slimnīcā iegūtā pneimonija visbiežāk ir sastopama intensīvās terapijas nodaļas pacientiem, kuri tiek nodrošināti ar mākslīgo ventilāciju. Infekcija bieži attīstās novēloti, it sevišķi jau iepriekš kolonizētiem pacientiem. *A. baumannii* ir viens no biežākajiem patogēniem, kas izraisa slimnīcā iegūtu pneimoniju. Pētījumā no 27 intensīvās aprūpes vienībām 9 Eiropas savienības valstīs, Grieķijā un Turcijā *A.baumannii* ir biežākais patogēns (Koulenti et al., 2016). Nozokomiālā pneimonija, ko izraisījusi multirezistentā *A.baumannii* 35-70% gadījumu izraisa nāvi, lai gan intensīvās terapijas vienībās nonāk pacienti smagā stāvoklī. Šādos gadījumos pozitīvs asins uzsējums un septiskais šoks liecina par augstu 30 dienu mirstības risku. Trešdaļai pacientu rodas septisks šoks. Sadzīvē iegūta *A.baumannii* pneimonija biežāk sastopama Āzijā un Austrālijā. Tai ir pēkšņs sākums un strauja slimības attīstība, kas var novest pie elpošanas mazspējas un nestabilas hemodinamikas.

A.baumannii izraisa 1,5-2,4% nozokomiālo asinsrites infekciju. Visbiežāk inficēšanos izraisa kontaminēti asinsvadu katetri un infekcijas transmisija no elpošanas ceļiem. Mazāk inficēšanās notiek no brūcēm un urīntrakta. Riska faktori infekcijas nonākšanai asinsritē ir intensīvā aprūpe, mehāniskās ventilācijas ierīces, pirms un pēc operācijas lietotās plaša spektra antibiotikas, imunosupresija, trauma, apdegumi, malignitātes, centrālo asinsvadu katetri, invazīvas procedūras un ilglaicīga uzturēšanās slimnīcā.

A.baumannii var būt iemesls infekciozajam endokardītam dabiskajos un protezētajos sirds vārstuļos. *A.baumannii* endokardītu raksturo akūts sākums un agresīva gaita. Pacientu mirstība ir lielāka, ja skarts ir dabiskais vārstulis.

Acinetobacter spp. var izraisīt meningītu pacientiem, kam veiktas neiroķirurģiskās procedūras, cerebrospinālā šķidrums noplūde, anamnēzē bijusi antibiotiku terapija un kraniālā asiņošana. Pacientiem ar *Acinetobacter spp.* meningītu tiek novērots drudzis, meningeālās pazīmes un/vai krampji. Cerebrospinālajā šķidrumā ir pleocitoze ar neitrofilu pārsvaru, paaugstinātu olbaltumvielu koncentrāciju un zemu cerebrospinālā šķidruma un seruma glikozes attiecību. (Kanafani & Kanj, 2016)

A.baumannii var nonākt ķirurģiskās un traumatiskās brūcēs, izraisot smagu mīksto audu infekciju, kas var progresēt līdz osteomielītam. Ķirurģiskās brūču infekcijas bieži saistītas ar protezēšanas materiālu. Traumatisko brūču infekcija bieži sastopama kara zonās, kas saistīta ar piesārņotu apkārtējo vidi, slimnīcām. Lielākā daļa ādas traumu sākas ar audu bojājumu. Celulīts sākas ar labi norobežotu eritēmu, kas sākumā izskatās pēc citrona miziņas, pēc tam pārvēršas smilšpapīram līdzīgā bojājumā un sāk veidoties daudzi pūslīši, kas vēlāk pārtop par hemorāģiskām bullām (Kanafani & Kanj, 2016).

1.1.4. Rezistences mehānismi

A.baumannii nodrošina rezistenci ar enzīmu medītētu degradāciju (beta-laktamāzēm), kas noārda medikamentus, mērķa modifikāciju (mutācijas, gēna iegūšana vai zaudēšana, gēnu ekspresijas regulēšana vai samazināšana), efluksa sūkņiem un šūnas caurlaidības defektiem (Lin et al., 2015).

Rezistence pret beta-laktāmiem. Rezistence pret beta-laktāma antibiotikām tiek nodrošināta caur pastiprinātu sadalīšanos penicilīnu saistošos proteīnos, mainot ārējās membrānas porīnus, samazinot caurejamību un pastiprināti izvadot ārā antibiotikas ar efluksa sūkņu palīdzību. Starp beta-laktamāzēm *A.baumannii* ir izplatīta ampC cefalosporināze kas ietilpst C molekulārajā klasē. To kodē bla gēns un tā nodrošina izturību pret penicilīniem, šaura un plaša spektra cefalosporīniem. Pie citām beta-laktamāzēm pieder A klases beta-laktamāzes, piemēram, paplašināta spektra beta laktamāzes (PER-1, VEB-1, CTX-M, TEM, SHV), B klases beta-laktamāzes, piemēram metallo-beta laktamāzes (MBL) - IMP, SIM, VIM un D klases beta-laktamāzes, piemēram, OXA. OXA tipa karbapenemāzes ir galvenais līdzeklis pret karbapenēmiem, kam seko MBLs. OXA23, OXA24 un OXA58 ir plazmīdas, kas kodē karbapenemāzes, kas galvenokārt ir atbildīgas par karbapenēma noārdīšanos.

Ārējās membrānas porīni un modificētie penicilīnsaistošie proteīni samazina antibiotiku iekļūvi šūnā un nodrošina rezistenci pret beta-laktāmiem. Samazināta OMP un PBP2 ekspresija izraisa rezistenci pret karbapenēmiem (Morán-Barrio et al., 2017).

Efluksa sūkņi nodrošina rezistenci pret vairākām antibiotiku klasēm. Ir identificētas sešas efluksa sūkņu grupas. AdeABC izplūdes sūknis mediē izturību pret cefotaksīmu, hloramfenikolu, eritromicīnu, aminoglikozīdiem un fluorhinoloniem. AdeABS pārmērīga ekspresija rada izturību pret karbapenēmiem. *A.baumannii* ir identificēts arī AbeS, AdelJK in AdeFGH, kas ir galvenie ABC saimes zāļu izplūdes sūkņi. Citi galvenie supersaimes locekļi ir CraA, AmvA/AedF un Tet (B), jaunatklātie proteobaktēriju pretmikrobu savienojumu

izplūdes pumpju grupas locekļi ir Acel, savukārt zāļu toksisko savienojumu izvades saimes pārstāvis ir AbeM (Asif et al., 2018).

Rezistence pret aminoglikozīdiem. Aminoglikozīdu rezistences mehānisms ir aminogrupas vai hidroksilgrupas modifikācija ar aminoglikozīdus modificējošiem fermentiem. *Acinetobacter spp.* ir identificēti visi aminoglikozīdus modificējošo enzīmu veidi (adenilāzes, acetilāzes, metiltransferāzes un fosfotransferāzes). Pret aminoglikozīdiem darbojas arī samazināta spēja iekļūt šūnā caur porīniem un samazināta iekļuve mērķa ribosomālajos proteīnos.

Rezistence pret hinoloniem. Galvenais rezistences mehānisms pret hinoloniem ir gyrA un parC gēnu mutācijas, kas izraisa fenotipiskas izmaiņas DNS girāzē un topoizomerāzē IV, kā rezultātā tiek samazināta zāļu afinitāte. Hromosomālā DNS kodētā zāļu pieplūdes un izplūdes sistēma mediē samazinātu OMP ekspresiju, kas izraisa aktīvo zāļu izvadišanu. *A.baumannii* ir identificēti arī plazmīdu kodēti pretestības determinanti qnrA, qnrB un qnrS, kas aizsargā DNS, kavējot hinolonu saistīšanos ar DNS girāzi un topoizomerāzi.

Rezistence pret kolistīnu. Rezistenci pret kolistīnu kodē baktēriju hromosomālā DNS. Pastāv divi mehānismi. Pirmajā ietilpst mutācijas lipīdu A kodējošajos gēnos (IpxA, IpxC un IpxD), kā rezultātā tiek zaudēti LPS gram-negatīvo organismu ārējā daļā, kas ir svarīgs kolistīna mērķis. Otrs mehānisms ietver divkomponentu sistēmu pmrAB, kas ir atbildes regulators un sensora kināze. Tā sajūt apkārtējos apstākļus (pH, Mg²⁺ un Fe³⁺) un, reaģējot uz tiem, regulē gēnu ekspresiju, kas ir iesaistīta lipīda A sintēzē. Punktveida mutācijas pmrA un pmrB pārregulē gēnu ekspresiju, kā rezultātā pārveidojas ārējā membrāna (Mac Laren, 2019).

1.1.5. Biofilmu veidošana

A.baumannii izdzīvošanas īpašības un rezistence pret antibiotikām saistīta ar spēju veidot biofilmas. Tās spēj nodrošināt baktēriju aizsardzību pret antibiotikām, imūnšūnām un ārējās vides iedarbību daudz labāk, nekā atsevišķas šo patogēnu šūnas. Ir pierādīts, ka 65-80% inficēšanās gadījumi ir saistīti ar biofilmu veidojošajām baktērijām. *A.baumannii* veido kolonijas uz medicīniskā aprīkojuma, instrumentiem, slimnīcas mēbelēm, aprūpētāju halātiem un cimdiem (Pakharukova et al., 2018).

Ir pierādīts, ka *A.baumannii* spēj augt uz dažādām mākslīgajām virsmām, tai skaitā uz stikla un plastmasas. Tas nozīmē, ka *A.baumannii* ir svarīga loma izraisot nozokomiālās infekcijas, slimnīcās pielietoto medicīnisko ierīču dēļ - urīna katetri, centrālie venozie katetri, endotraheālās caurules. Biofilmas labi veidojas 25-37⁰C temperatūrā. Urīnceļu infekcija rodas

urīna katetra ievietošanas laikā, kontaminējoties ar vienu vai vairākām gram-negatīvajām baktēriju sugām, radot multisugu baktēriju vairāku blīvu slāņu biofilmu (Djeribi et al., 2012).

Biofilmā tiek iestrādātas pašu šūnu ražotās ārpusšūnu polimēru vielas. Biofilma ir nekustīga baktēriju kopiena, kura sastāv no šūnām, kas ir neatgriezeniski piestiprinātas pie substrāta, virsmas vai arī saistītas viena ar otru un ir iestrādātas to ražotajā ārpusšūnu polimēru vielu matricā. Šai kopienai ir mainīts fenotips attiecībā uz augšanas ātrumu un gēnu transkripciju. Biofilmas ir svarīgas baktēriju izdzīvošanai. Ir pierādīts, ka biofilmās esošajām baktērijām ir augstāka rezistence pret skābes iedarbību un dehidratāciju (Brossard & Campagnari, 2012). *A.baumannii* spēj veidot bioplēves gan uz dabīgajām gan mākslīgajām virsmām. Kā pirmais posms biofilmas veidošanā un infekcijas ierosināšanā ir baktēriju pielipšana pie epitēlija šūnām, izmantojot pilus. Ir pierādīts, ka *A.baumannii* spēja veidot biofilmas uz cietām un šķidrām virsmām ir trīs reizes augstāka nekā citām *Acinetobacter* sugām (80-91%/ 5-24%) (Marti et al., 2013).

A.baumannii var veidot biofilmas uz vairākām mākslīgajām virsmām - polipropilēna, politetrafluoretilēna un stikla. Bioplēves veidošana ir saistīta ar rezistenci pret vairāku zāļu lietošanu, kā arī vairāku virulences faktoru izpausmēm - ārējās membrānas proteīns A (OmpA), ārpusšūnas polisaharīds poli-beta-(1,6)-N-acetilglikozamīns (PNAG), I tipa pili, stafilokoku Bap homologs, Omp CarO, QS sistēma un olbaltumvielas, kas iesaistītas histidīna metabolismā. Biofilmu veidošanā svarīgi ir šādi *A.baumannii* virulences faktori - K1 kapsulas polisaharīdu gēni, fosfolipāzes D veidošanās un OmpA. Virulences faktors Bap veicina baktēriju pielipšanu pie epitēlija virsmas, OmpA un fosfolipāze D veicina invāziju epitēlija šūnās (Amala Reena et al., 2017).

Šūnās proteīns RecA ir iesaistīts vispārējā stresa reakcijā un atbildē uz karstuma šoku un izžūšanu. Bioplēves ir galvenais virulences faktors, kas izraisa palielinātu rezistenci pret antibiotikām, samazinātu fagocitozi un baktēriju populācijas vispārēju noturību.

Biofilmu attīstība ir daudzpakāpju process. Piestiprināšanās pie mākslīgās virsmas ir atkarīga no šūnas sienas hidrofobitātes. Pēc adhēzijas virsmai intracelulāro agregāciju veicina eksopolisaharīdi, specifiski proteīni un papildus makromolekulas. Pie pārmērīgas šūnu blīvuma rašanās iesaistās kvoruma sajūtas sistēma, kas koordinē šūnas, veidojot biofilmu. Vēlāk fizisku spēku ietekmē un starpšūnu signālu ietekmē šūnas atdalās un izplatās, lai kolonizētu jaunus apgabalus. Faktori, kas veicina *A.baumannii* izturību slimnīcas vidē, ir izturība pret galvenajiem pretmikrobu līdzekļiem - izturība pret izžūšanu, dezinfektantiem un antimikrobiālajiem medikamentiem. *A.baumannii* saistīšanos pie eritrocītiem un bronhiālā epitēlija šūnām nodrošina piliem līdzīgas struktūras. (Amala Reena et al., 2017)

PNAG ir biofilmas galvenais komponents, kas ir iesaistīts saimnieka un mikrobu mijiedarbībā, virulencē un aizsardzībā pret antibiotikām. Pga lokuss kodē olbaltumvielas, kas iesaistītas PNAG sintēzē un pārvietošanā uz baktēriju virsmu. *A. baumannii* kodē paredzēto 821 aminoskābi Omp, kas satur porīna domēnu, kas atvieglo PNAG translokāciju caur ārējo membrānu un superhelisko periplazmatisko domēnu, kam ir loma proteīna-proteīnu mijiedarbībā. PgaB ir veidots no 510 aminoskābēm ar polisaharīdu deacetilāzes domēnu. Tas ir ārējās membrāns lipoproteīns, kas kopā ar pga A ir nepieciešams PNAG eksportam. Pga C kodē 392 aminoskābes n-glikoziltransferāzi, kas pieder pie glikoziltransferāzes 2. saimes. Gēns pga D kodē 150 aminoskābju olbaltumvielu, kas lokalizējas citoplazmā un palīdz pga C PNAG sintēzē. Bap (biofilmu asociētie proteīni) ir lielmolekulāri proteīni, kas atrodas uz baktēriju virsmas. Tie satur tandēma atkārtojuma serdes domēnu, un tiem piemīt svarīga loma šūnu mijiedarbībā un biofilmu nobriešanā. Bap ir viena no vairāk kā 8620 aminoskābēm, kas ir sakārtotas pāra moduļos. Galvenās Bap mērķa vielas biofilmā ir karbohidrāti. Galvenais Bap mērķis ir bioplēves kompleksa uzturēšana nobriedušās bioplēvēs.

Chaperone-usher sekrēcijas sistēma. Lai veidotu biofilmas uz mākslīgajām virsmām, *A.baumannii* ir nepieciešami *chaperone-usher* pili. Šī sekrēcijas sistēma ir nepieciešama bioplēves veidošanas uzsākšanai, jo tā kodē piliem līdzīgu struktūru, adhēzijas proteīnu. Ir seši ORF: csu ab-A-B-C-D-E, kas ir sagrupēti csu operonā. CSU operons ir saistīts ar *chaperone-usher* pili. Csu D un csu E translācijas produkti ir tieši saistīti ar baktēriju olbaltumvielām. Četri atlikušie ORFs kodē proteīnus, kas iesaistīti pīļu veidošanā. Csu operonu regulē divkomponentu sistēma - bfm RS. BfmS ir sensora kināze, kas sajūt vides apstākļus un aktivizē atbildes regulatoru, ko kodē bfm R. Pārmērīgu Csu AB operona ekspresiju izraisa paaugstināta bfmR intracelulāra koncentrācija. Intensīva bfmS un bfmR gēnu transkripcija pastiprina *chaperone-usher* sekrēcijas sistēmas ekspresiju. Šī ekspresija izraisa *A.baumannii* raustīšanās kustīgumu, kas palīdz *A.baumannii* pielipt pie abiotiskajām virsmām.

Kvoruma sajūtas sistēma (QSS). QSS ir koordinēta gēnu regulēšana, ko šūnas izmanto savstarpējai saziņai, lai uzraudzītu blīvumu, sinhronizētu uzvedību un sociāli mijiedarbotos. *A.baumannii* ražo mazas molekulas - acilētus homoserīna laktonus, 2-heptil-3-hidroks-4-hinolonus un diketopiperazīnus. Pieaugot baktēriju populācijas lielumam, pieaug arī QS molekulu skaits. Tiklīdz koncentrācija šķērso minimālo sliekšņa līmeni, molekulas atpazīst receptori un pārvades kaskādes rezultātā populācijā mainās gēnu ekspresija. QS procesi palīdz uzturēt biofilmas, regulēt rezistenci pret antibiotikām (Amala Reena et al., 2017).

1.1.6. Antibakteriālā terapija

Beta-laktāmu antibiotikas ir pirmās izvēles medikamenti pret jutīgām *Acinetobacter spp.* infekcijām. Tām ir baktericīdas un plašas dozēšanas iespējas. *Acinetobacter spp.* bieži satur beta-laktamāzes, kas inaktivē pirmās un otrās paaudzes cefalosporīnus un penicilīnus. Izplatītā ESBL ir izraisījusi karbapenēmu plašu izmantošanu slimnīcās *Acinetobacter spp.* infekcijas gadījumā, kā rezultātā ir parādījušies karbapenēmu rezistenti celmi (Karah et al., 2012).

Cefiderocols ir jauna sideroforu antibiotika, kas sastāv no cefasporīna molekulas ar katehola daļu. Tas ir stabils pret visām beta-laktamāžu klasēm, ieskaitot karbapenemāzes, un var būt kā jauna, efektīva terapija pret īpaši rezistentiem *Acinetobacter* celmiem (Jacobs et al., 2019).

Beta-laktāmu inhibitori. Beta-laktāmu antibiotikas bieži pielieto karbapenēmu rezistentu *Acinetobacter spp.* izraisītu infekciju ārstēšanā, vispirms veicot jutības pārbaudi. Visaugstākā beta-laktamāzes inhibitoru aktivitāte piemīt sulbaktāmam. Lietojot to atsevišķi vai kopā ar ampicilīnu, tas ir efektīvs pret invazīvām *Acinetobacter* infekcijām, ieskaitot pneimoniju, asinsrites infekcijas un meningītu. Sulbaktāms ir vienlīdz aktīvs kā karbapenēmi, tigeciklīns, kolistīns un polimiksīns B pneimonijas un bakterēmijas ārstēšanā.

Aminoglikozīdi. Testos pret aminoglikozīdiem var uzrādīties *Acinetobacter* jutība, tomēr tie nav pirmās izvēles medikamenti *A.baumannii* infekciju ārstēšanai (Anderson et al., 2018).

Tigeciklīns pieder pie glicilciklīna klases, ko izmanto karbapenēmu rezistentās *Acinetobacter baumannii* infekcijas ārstēšanā. Tigeciklīnu bieži lieto kombinācijā ar citiem medikamentiem. Tigeciklīns nav piemērots asinsrites infekciju ārstēšanā, jo tam ir liels izkļūdes tilpums un zema koncentrācija serumā. Ir novērota palielināta mirstība, ja tigeciklīnu lieto kopā ar kolistīnu (Cheng et al., 2015).

Polimiksīni. Kolistīns un polimiksīns B tiek iekļauti karbapenēmu rezistentā *Acinetobacter spp.* infekciju ārstēšanā. Ārstēšanas laikā var rasties *A.baumannii* kolistīna heterorezistence, bet rezistentie celmi ir ar samazinātu fizisko sagatavotību un virulenci.

Kombinētā terapija. *A.baumannii* infekciju ārstēšanai tiek ieteikta lietot kombinācija kolistīns-rifampicīns. Šādai kombinācijai baktērijas izskaušanas laiks ir īsāks, tomēr netiek novērota atšķirība ar infekciju saistītā nāvē vai hospitalizācijas ilgumā. *A.baumannii* ārstēšanai tiek izmantotas ilgstošas beta-laktāmu antibiotiku infūzijas, celmiem ar vidēju jutību un kolistīna lokālu pievienošanu, piemēram, intratekālas vai intraventrikulāras CNS infekciju gadījumā, ja intravenozā zāļu ievade nenodrošina pietiekamu medikamenta

koncentrāciju infekcijas vietā. Pagarināta beta-laktāmu antibiotiku infūzija ļauj maksimāli palielināt zāļu koncentrāciju serumā virs minimālās inhibējošās koncentrācijas, kas nepieciešama *Acinetobacter spp.* izolātam, palielinot devu un samazinot dozēšanas intervālu. Nepārtrauktas infūzijas rezultātā paaugstinās beta-laktāmu līmenis, kas var radīt labākus klīniskos rezultātus mazāk jutīgām *Acinetobacter spp.* infekcijām. Augstas devas kolistīns ar pagarinātu dozēšanas intervālu ir efektīvs pret karbapenēmu izturīgām *Acinetobacter spp.* infekcijām. Aerosolizētais kolistīns ir drošs un efektīvs pneimonijas ārstēšanā, ko izraisījusi rezistentā *Acinetobacter spp.* (Karah et al., 2012).

1.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa ir visuresoša gram-negatīva baktērija, kas sastopama zemē, ūdenī, augos, insektos un dzīvniekos. No visām pseidomonu sugām *P. aeruginosa* ir visnozīmīgākā cilvēkiem un ir atbildīga par virkni nopietnu, novājinošu un dzīvībai bīstamu stāvokli.

Pseudomonas aeruginosa ir obligāti aeroba, gram-negatīva, 0,5-1 μm plata un 1-3 μm gara kustīga nūjiņa. Tās motilitāti nodrošina flagella. Tā aug kā atsevišķa baktērija, bet dažreiz var veidot īsas baktēriju ķēdes. Baktērija aug uz dažādām barotnēm, veidojot gludas, apaļas kolonijas ar raksturīgu vīnogu smaržu un zaļgani zilu nokrāsu. Krāsu nodrošina mikroorganismu producētie pigmenti piocianīns (zila krāsa) un pioverdīns (zaļa krāsa). Daži baktēriju celmi producē arī piorubīnu (sarkanbrūnu krāsu) un piomelanīnu (melna krāsa). Izolējot mikroorganismu no cistiskās fibrozes pacientiem, var novērot izteikti mukoīdu izskatu. *P.aeruginosa* ir oksidāzes pozitīva, aug temperatūrā no 37-42 °C, kas to var atšķirt no pārējiem pseidomonu celmiem. (D'Agata, 2014).

P.aeruginosa var iegūt no klīniskajiem un vides paraugiem. Tās var kultivēt izmantojot standarta buljonu vai arī cietu neselektīvu barotni, kā, piemēram, Kolumbijas vai triptikāzes-sojas agaru. Var izmantot arī selektīvās barotnes, kā piemēram, *Mac Conkey* agaru. Selektīvās barotnes satur inhibitorus, kā piemēram, acedamīdu, nitrofurantoīnu, ceftrimīdu un nalidiksīnskābi, kas palīdz izolēt *P.aeruginosa* celmu. Kolonijas kļūst redzamas pēc 24-48 stundām. Uz cietas barotnes kolonijas parasti ir plakanas.

Citas baktēriju identifikāciju metodes ietver polimerāzes ķēdes reakciju (PCR), fluorescences *in situ* hibridizāciju (FISH) un masas spektrometriju (Wisplinghoff, 2017).

1.2.1. Epidemioloģija

Pseudomonas aeruginosa ir pasaulē plaši izplatīta infekcija, kas visbiežāk tiek iegūta slimnīcās, tomēr ir arī inficēšanās gadījumi sabiedrībā.

P.aeruginosa ir oportūnistisks patogēns, kas izraisa salimšanas imūnnovājinātiem pacientiem. Tā ir bieži sastopama arī ilgstošas aprūpes iestādēs, kur ilglaicīgi nepieciešams lietot katetrus, urīnkatetrus un citas medicīniskās ierīces. Vēsturiski *P.aeruginosa* tika asociēta ar brūču infekcijām, bakterēmiju neitropēniskiem pacientiem, kā arī svarīgākais patogēns cistiskās fibrozes pacientiem, kas lielākajā daļā gadījumu ir izraisījis nāvi. Pēc NHSN datiem, Amerikā *P.aeruginosa* ir sestā biežākā hospitāli iegūto infekciju izraisītāja - 7,3%. Otrā biežākā ventilatoru-asociētā pneimoniju izraisītāja (16,5%), trešā sastopamākā ar urīnkatetriem asociētā urīnceļu saslimšanas izraisītāja (10,3%) un piektā sastopamākā ķirurģisko brūču infekcijas ierosinātāja (5,7%) (Weiner et al., 2016). *P.aeruginosa* uzliesmojumi rodas kontaminētu medicīnas iekārtu vai izstrādājumu dēļ, piemēram, kontaminēti katetri, intubācijas iekārtas. Infekcija bieži var tikt pārnesta ar personāla starpniecību- neizmantojot individuālos aizsardzības līdzekļus - cimdsus un priekšautus, kā arī neapstrādājot rokas ar dezinfekcijas līdzekļiem. Viens no lielākajiem *P.aeruginosa* uzliesmojumiem tika novērots Norvēģijā, 2001.-2002. gada ziemā, kas skāra 231 pacientu 24 slimnīcās. Uzliesmojums bija saistīts ar kontaminētu mitro mutes tamponu lietošanu. Saslimšana izpaudās kā pneimonija un sepse (Iversen et al., 2007). Ir sastopami arī viltus *P.aeruginosa* uzliesmojumi, kas izpaužas kā viltus pozitīvas urīna analīzes, kontaminēta analizatora dēļ (Hallin et al., 2012).

P. aeruginosa var atrasties ūdenī, mitrās vietās. Sabiedrībā iegūtā *P.aeruginosa* infekcija var izpausties kā folikulīts, kas iegūts no karstajām baļļām, piesārņotiem sūkļiem, pneimonija, punkcijas brūces osteomielīts, endokardīts intravenozo narkotiku lietotājiem, ārējais otīts pēc peldēšanas saldūdens ezeros, peritonīts vai izejas vārtu infekcija pacientiem ar ambulatoru peritoneālo dialīzi. Pastāv arī sabiedrībā iegūta bakterēmija un pneimonija pacientiem ar AIDS (Ruiz et al., 1999; Stuart et al., 2009).

1.2.2. Virulences faktori un patoģenēze

P.aeruginosa savu patoģenitāti īsteno ar vairākiem mehānismiem. Šajos mehānismos ietilpst adhēzija, eksotoksīnu, proteāžu produkcija, sekrēcijas sistēmas, kvorumu sajūtas sistēma, biofilmu veidošana (Rocha et al., 2019).

Adhēzija. Lai sāktos infekcija, tāpat kā daudzām baktērijām, arī *P.aeruginosa* svarīga ir adhēzija saimniekorganisma šūnām. Šo adhēziju nodrošina četras sastāvdaļas, kas ir flagella, pili, lipopolisaharīdi (LPS) un algināts. Pili un flagella nodrošina baktērijas piesaistīšanos pie saimniekšūnas, motilitāti un biofilmas veidošanu. *P.aeruginosa* kustības nodrošina IV tipa pili. Tie veido saraustītu kustību, kuras ātrums ir 1mm/h. Pilu veidošanās samazinās hroniskas infekcijas laikā. Līdzīgi kā pili, flagella nodrošina motoriku, kolonizāciju un bioplēves veidošanu. Baktērijas producētie lipopolisaharīdi nodrošina endotoksīna aktivitāti. Algināts ir mukoīds eksopolisaharīds, kas ap baktēriju veido apjomīgu gļotu kapsulu un aizsargā mikroorganismu no fagocitozes un antibiotiku iedarbības. Gēni, kas kontrolē algināta polisaharīda produkciju, ir aktivēti pacientiem ar cistisko fibrozi (CF) vai kādu citu hronisku respiratorā trakta saslimšanu (D'Agata, 2014).

I un II tipa sekrēcijas sistēma. Pirmā tipa sekrēcijas sistēma (T1SS) sekretē toksīnus vienpakāpes procesā ārpusšūnu telpā. Vissvarīgākais T1SS toksīns ir alkalīna proteāze, kas kavē fibrīna veidošanos un veicina *P.aeruginosa* izplatīšanos. Otrā tipa sekrēcijas sistēma (T2SS) ir divpakāpju process, kurā toksīni ir sintezēti kā prekursoru proteīni un pēc tam sašķelti. Pie toksīniem, ko izdala šī sistēma, pieder eksotoksīns A, fosfolipāze C, proteāze IV un elastāze, kas mediē citotoksiskus efektus, iekaisuma procesus un veicina kolonizāciju.

Proteīnu sekrēcijas sistēma. Eksotoksīns A tiek uzskatīts par vienu no svarīgākajiem virulences faktoriem, ko producē *P.aeruginosa*. Toksīns izjauc olbaltumvielu sintēzi, bloķējot peptīdu ķēdes pagarinājumu eikariotu šūnās. Eksotoksīns A veicina dermatonekrozi, kas rodas apdegumu brūcēs, radzenes bojājumā pie acu infekcijām un audu bojājumos hronisku plaušu infekciju gadījumā. *P.aeruginosa* producētais pigments piocianīns veido superoksīda un ūdeņraža peroksīda toksisko skābekļa formu. Šis pigments stimulē arī Interleikīna (IL)- 8 izdalīšanos, pastiprinot neitrofilu piesaisti. Dzelteni zaļais pigments pioverdīns ir siderofors, kas saistās ar dzelzi, lai to izmantotu metabolismā. Šis pigments regulē arī citu virulences faktoru sekrēciju. Divas elastāzes LasA (serīna proteāze) un LasB (cinka metalloproteāze) darbojas sinerģiski, lai noārdītu elastīnu saturošos audus un radītu plaušu parenhīmas hemorāģiskus bojājumus (*ecthyma gangrenosum*). Šie enzīmi var arī noārdīt komplementa sastāvdaļas un kavēt neitrofilu hemotaksi un funkciju, izraisot audu bojājumus un akūtu infekciju. Hroniska *Pseudomonas spp.* infekcija raksturo antivielu veidošanās pret LasA un LasB, ar imūnkompleksu nogulsnešanos inficētajos audos. Līdzīgi kā elastāzes, arī sārmainā proteāze veicina audu destrukciju un *P.aeruginosa* izplatīšanos. *P.aeruginosa* producē elastāzi LasB, kas noārda elastīnu, kolagēnu un citus matricas proteīnus. Šādā veidā baktērija iegūst ekstracelulāro dzelzi no saimniekšūnām. Izdalītā proteāze LasA atbild par epitēlija šūnu bojājumu, eksotoksīns A veicina šūnu nāvi, alkalīna proteāze aprA veicina

saimniekšūnas komplementa sistēmas un citokīnu degradāciju. *Ramnosil* transferāze rhlAB atbild par makrofāgu un polimorfnukleāro limfocītu nekrozi. Lecitīns lecA atbild par elp vadu ciliju paralīzi. Hidrogencianīds hcnABC atbild par šūnu elpošanas apstāšanos un vājāku plaušu funkciju. Izdalītā piocianīna (phzABCDEFGphzM) oksidatīvā iedarbība mazina saimnieka šūnu elpošanu un izraisa oksidatīvo stresu. Notiek elpceļu ciliju paralīze, aizkavēta iekaisuma reakcija uz *P. aeruginosa* infekcijām. (C. R. Lee et al., 2017)

Fosfolipāze C ir karstuma izturīgs hemolizīns, kas noārda lipīdus un lecitīnu, atvieglojot audu destruktiju.

III tipa sekrēcijas sistēma. *P.aeruginosa* piemīt III tipa sekrēcija sistēma, kuru baktērijas izmanto, lai efektorproteīnus no baktērijas šūnas tieši piegādātu saimniekorganisma citoplazmā. Pagaidām ir atklāti 4 III sekrēcijas sistēmas efektori: ExoT, ExoS, ExoU un ExoY. ExoU ir fosfolipāze, kas inducē apoptozi un izraisa nekrozi fagocītos un parenhīmas šūnās. ExoY ir adenilāta ciklāze, kas bojā plaušu endotēlija šūnu barjeras funkciju. ExoT un ExoS ir bifunkcionāli proteīni, kas ietekmē mērķa šūnu augšanu, kavējot DNS sintēzi, un rada izmaiņas citoskeletā un šūnu morfoloģijā, kas savukārt ietekmē šūnas adherenci (Burstein et al., 2015).

Kvoruma sajūtas molekulas (*quorum-sensing molecules*). Kvoruma sajūta nosaka šūnu savstarpējo saziņu un ietver signālmolekulas. Kvoruma sajūtas sistēmā notiek autoierosinātāju veidošana, ko pēc tam aktīvi vai pasīvi izvada ārvidē. Šīs molekulas atpazīst specifiski receptori, kas veido izmaiņas gēnu regulācijā. Šīs signalizācijas tīkls ļauj *P.aeruginosa* kopienai reaģēt uz dažādiem signāliem un adaptēties. Ir trīs *P.aeruginosa* kvoruma sajūtas sistēmas. Divas tiek sauktas par LuxI/LuxR tipa QS shēmām, trešā par *Pseudomonas* hinolonu signālu sistēmu. Šīs kvoruma sajūtas sistēmas kontrolē virulences faktoru ekspresiju, ietverot elastāzes, eksotoksīna A un proteāzes izdalīšanos. Kvoruma sajūtas sistēma kontrolē arī biofilmu veidošanos. Biofilmas ir augšanas veids, kura rezultātā baktēriju kolonijas tiek piestiprinātas biopolimēra matricā, kas ir piestiprināts pie virsmām. Biofilmas pārsvarā veidojas uz implantējamajām ierīcēm vai arī hronisku slimību, piemēram, osteomielīta un cistiskās fibrozes, laikā. Biofilmu funkcija ir samazināt antimikrobiālo līdzekļu efektivitāti, kavējot vielu spēju sasniegt baktērijas (J. Lee & Zhang, 2014).

1.2.3. *P.aeruginosa* izraisītās infekcijas

P. aeruginosa ir biežākā gram-negatīvā baktērija, kas izraisa nozokomiālo infekciju. Bieži infekcija izpaužas tikai piektajā hospitalizācijas dienā. Saslimšanu ietekmē pacienta vecums, mehāniskās ventilācijas ilgums, iepriekšējo antibiotiku lietošana. Mirstība šajā

gadījumā sasniedz 42-87%. *P.aeruginosa* ir biežākais patogēns, ar ko var inficēties mākslīgās ventilācijas laikā. *P.aeruginosa* kolonizācija var būt endogēna vai eksogēna. Pie endogēniem veidiem pieder kolonozēšanās no aspirāta, kas nāk no aizdegunes un kuņģa. Eksogēnie veidi ietver *P.aeruginosa* izplatīšanos ar aprūpes darbiniekiem, piesārņotu ūdeni, izlietnēm, neatbilstošām dezinfekcijas procedūrām (Rodrigo-Troyano et al., 2016).

Elpceļu infekcijas. *P.aeruginosa* izraisa hronisku plaušu infekciju pacientiem ar cistisko fibrozi (CF). CF ir autosomāli recesīva slimība, kurā ir defekts hlora kanālu transmembranālajā gēnā. Tas noved pie multisistēmiskām izpausmēm. Slimība ir saistīta ar izmaiņām cistiskas fibrozes transmembrānas regulatora (CFTR) proteīnā, kas atbild par hlora transportu, kas nepieciešams homeostāzes nodrošināšanai epitēlija audos (Langan KM et al., 2015). CFTR kanāla mutācijas dēļ ir traucēts hlorīda jonu transports, kas noved pie samazināta mukociliārā klīrensa plaušās un mainītas saimniekorganisma - patogēna mijiedarbības. Plaušās ir novērojams pastiprināts iekaisums, kas noved pie strutainu, viskozu gļotu veidošanās, obstrukcijas, kas izraisa elpceļu destrūkciju un fibrozi. Tas noved pie samazinātas plaušu funkcijas un elpošanas mazspējas, kas ir iemesls plaušu transplantācijai vai nāvei. 80% pieaugušo pacientu *P.aeruginosa* infekcija pāriet hroniskā stāvoklī. *P.aeruginosa* ir konstatēts 70% pacientu ar cistisko fibrozi. Pret *P.aeruginosa* uzņēmīgi ir arī HOPS (hroniska obstruktīva plaušu slimība) pacienti. *P.aeruginosa* sastopama 5-30% infekciju gadījumos HOPS pacientiem, kas pasliktināja arī klīnisko iznākumu (Bhagirath et al., 2016).

Infekciozais endokardīts. Asinsrites infekcijas ir nopietnākās infekcijas, ko var izraisīt *P.aeruginosa*. Riska faktori saslimšanai ir imūnsupresija, iepriekšēja antibiotiku lietošana, vecums, iepriekšējās operācijas un implantējamās ierīces. *P.aeruginosa* ir sastopama 3% infekciozā endokardīta gadījumā. *P.aeruginosa* izraisītajam endokardītam nav specifisku pazīmju, kas to atšķirtu no citiem izraisītājiem. Bieži ir sastopamas slimības komplikācijas. Mirstība sasniedz 36-60%. Augstāks risks saslimt ar *P.aeruginosa* infekciozo endokardītu ir intravenozo narkotiku lietotājiem, komplikācijas bieži ietver sepsi, embolizāciju un sirds mazspēju. Bieži infekciozais endokardīts ir nozokomiāla saslimšana pēc invazīvām procedūrām, iekļaujot sirds un uroģenitālās procedūras. Inficēti intravenozie katetri arī ir saistīti ar infekciozo endokardītu (D'Agata, 2014).

Kaulu un locītavu iekaisumi. Iekaisums kaulos un locītavu sistēmā var rasties infekcijai izplatoties vai arī rodas tiešā saskarsmē ar mikroorganismiem. Šī saslimšana bieži skar intravenozos narkotiku lietotājus. *P.aeruginosa* infekcija var izraisīt sternoklavikulāro septisko artītu- 10 % gadījumu, mazā iegurņa simfīzes iekaisumu ar osteomielītu- 24% gadījumu, mugurkaula osteomielītu, galvaskausa pamatnes osteomielītu (Ribera et al., 2015).

Urīnceļu infekcijas. Urīntrakta infekcijas ir biežākā saslimšana hospitalizētajiem pacientiem, kas ir 20-49% no nozokomiālajām infekcijām. 7-9% gadījumu urīntrakta infekcijas izraisa *P.aeruginosa*. Infekciju izraisa dažādi faktori - vecums, mehāniskā ventilācija, centrālie katetri, iepriekšēja antibiotiku lietošana (Ferreiro et al., 2017). *P.aeruginosa* izraisa 12% no visām nozokomiālajām urīntrakta infekcijām, kas saistītas ar urīnkatetriem. Infekcija saistīta ar biofilmu veidošanu uz katetra virsmas. Bakterūrija ir saistīta ar kateterizācijas ilgumu. No 15-25% hospitalizēto pacientu tiek kateterizēti 2-4 dienas, savukārt aprūpes iestādēs esošie pacienti var būt kateterizēti mēnešiem, pat gadiem ilgi. Bakterūrija, kas ir saistīta ar kateterizāciju paildzina pacientu atrašanos slimnīcā (Cole et al., 2014).

Ādas un mīksto audu infekcijas. Ādā un mīkstajos audos *P.aeruginosa* var būt iesaistīta tādās infekcijās kā, piemēram, celulīts, postoperatīvās infekcijas, posttraumatiskās infekcijas un infekcijās, kas saistītas ar izgulējumiem. Gangrenozā ekstīma, ko izraisa *P.aeruginosa*, ir sastopama imūnkompromitētiem pacientiem, tā rodas, baktērijas izstrādātajam eksotoksīnam A un elastāzei sagraujot elastīnu, tādā veidā bojājot asinsvadu sienīgas. Fosfolipāze C šķel fosfolipīdus un šūnu membrānas. Piocianīna producētais reaktīvais skābeklis ir toksisks šūnām. Apdeguma infekcijās *P.aeruginosa* sastopama 9% gadījumu. Apdegums iznīcina dabisko aizsargslāni, kas ļauj baktērijai invadēt dermā un sasniegt limfātisko sistēmu, kas var izraisīt bakterēmiju. *P.aeruginosa* izraisītais folikulīts bieži tiek iegūts baseinos, burbuļvannās. Infekcija attīstās 8-48 stundu laikā pēc saskarsmes ar konatminēto ūdeni. Infekcija izpaužas kā niezoši izsitumi uz ķermeņa, rokām, kājām (Kanafani & Kanj, 2016).

Bakteriālais keratīts un otīts. Bakteriālo keratītu var izraisīt neliela trauma vai kontaktlēcņu lietošana. Pacientiem tas izpaužas kā acu graušana, sāpes un redzes miglošanās. Ārējās auss iekaisums ir saistīts ar peldbaseinu lietošanu, dzīvošanu mitrā vidē un īsu ārējo auss kanālu. Pacienti izjūt sāpess auss rajonā, var būt eritēma, strutu izdalīšanās (Wisplinghoff, 2017).

1.2.4. Rezistences mehānismi

Baktērijām piemīt dažādi rezistences mehānismi pret antibiotikām - samazināta caurlaidība, izplūdes sistēmu ekspresija, antibiotiku inaktivējošo enzīmu ražošana un mērķa olbaltumvielu modifikācija. *P.aeruginosa* izmanto gan iekšēji kodētos hromosomu, gan ģenētiski iegūtos rezistences faktorus, kas ietekmē galvenās antibiotiku klases, piemēram, kā b-laktāmus, aminoglikozīdus, hinolonus, polimiksīnus, karbapenēmus, fluorhinolonus.

Lai ārstētu *P.aeruginosa* izraisītās infekcijas, tiek lietotas astoņas antibiotiku klases: aminoglikozidāzes (gentamicīns, tobramicīns, amikacīns, netilmicīns), karbapenēmi (imipānēms, meropenēms), cefalosporīni (ceftazidīms, cefepīms), fluorhinoloni (ciprofloksacīns, levofloksacīns), penicilīni ar beta laktamāzes inhibitoriem (tikarcilīns un piperacilīns kombinācijā ar klavulānskābi vai tazobaktāmu), monobaktāmi (aztreonams), fosfomicīns un polimiksīni (kolistīns, polimiksīns B).

P.aeruginosa celmus iedala trīs grupās. MDR (*multi drug-resistant*), ja rezistenci novēro ≥ 1 antibakterilo aģentu ≥ 3 kategorijās. XDR (*extensively drug-resistant*), kad rezistenci novēro \geq antimikrobiālajos aģentos, bet \leq kategorijās un PDR (*pandrug-resistant*), kad celms ir nejūtīgs pret visiem antimikrobiālajiem līdzekļiem. MDR, XDR un PDR celmu rašanās notiek laicīgi, modificējot regulatīvos mehānismus, kas kontrolē rezistences faktoru ekspresiju ar mutācijām, mainot membrānas caurlaidību un veicot antibiotiku inaktivējošo enzīmu, vai enzīmu, kas izraisa mērķa molekulu modifikāciju horizontālu iegūšanu (pārņemšanu). (Bassetti et al., 2018).

Pēc ECDC (*European Centre for Disease Prevention and Control*) 2018.gada datiem, kombinētā rezistence pret vismaz trīs antibiotikām - piperacilīnu, tazobaktāmu, fluorhinolonu, ceftazidīmu, aminoglikozīdiem vai karbapenēmiem 25-50% ir sastopama vairākās Eiropas valstīs, kā Latvijā, Polijā, Slovākijā, Rumānijā, Bulgārijā un Grieķijā. (ECDC, 2018).

Iekšējā rezistence. Samazināta ārējās membrānas caurlaidība. Puscaurlaidīgā *P.aeruginosa* ārējā membrāna kalpo kā selektīva barjera, kas aizkavē antibiotiku iekļūšanu šūnā. To veido divi slāņi, kas sastāv no fosfolipīdiem un lipopolisaharīdiem, šajā slānī atrodas porīni. Tie var tikt iedalīti četrās klasēs: nespecifiskie porīni, kas ļauj šūnā iekļūt mazām hidrofilām molekulām, specifiskie porīni, kas veido īpašas vietas, lai piesaistītu molekulu kompleksus, vārtu porīni, kas atbild par dzelzs regulāciju un uzņemšanu, un efluksa porīni (Pang et al., 2019).

Porīni ļauj šūnā iekļūt dažādām vielām caur šūnas membrānā esošajiem porīniem. Daudzi antimikrobiālie aģenti, tostarp beta-laktāmi, aminoglikozīdi, tetraciklīni, fluorhinoloni un karbapenēmi, iekļūst šūnā caur porīniem. Ir atklāti vairāki porīnu veidi – OprF-galvenais nespecifiskais porīns, OprD, OprB, OprE, OprO un OprP – specifiskie porīni, OprC un OprH- vārtu porīni, OprM un OprN pieder pie efluksa porīniem. OprD ir visvairāk pētītais porīnu kanāls. Tas ļauj šūnā iekļūt karbapenēmiem, bet ne citiem beta-laktāmiem. Porīnu OprM saime tiek pieskaitīta pie šūnas efluksa pumpju sistēmas. Aminoglikozīdi un polimiksīns šūnā neiekļūst caur porīniem, bet tie samazina šūnas membrānas stabilitāti, piestiprinoties pie lipopolisaharīdiem uz šūnas ārējās membrānas.

Efluksa pumpji sastāv no citoplazmatiskās membrānas transportiera, periplazmatiskās saites proteīna un ārējās membrānas porīnu kanāla. Efluksa pumpji izvada baktērijai toksiskās vielas ārā no šūnas. Šie pumpji nodrošina rezistenci pret lielāko daļu antibioloģisko aģentu (izņemot pret polimiksīnu) un tā ir galvenā *P.aeruginosa* rezistences sistēma. Pastāv piecas efluksa sūkņu saimes - RND, MFS, ABC, SMR un R. Visbiežāk sastopamā ir RND (*resistance-nodulation-division*) saime. MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN un MexXY-OprM efluksu sistēma no RND saimes rada raksturīgu multirezistenci pret daudziem antimikrobiālajiem līdzekļiem, iekļaujot fluorhinolonus, aminoglikozidāzes, beta-laktāmus, tetraciklīnus, tigecilīnu un hloramfenikolu, MexAB-OprM arī nodrošina rezistenci pret meropenēmu, bet ne imipenēmu (D'Agata, 2014).

Antibiotiku inaktivējošie enzīmi. Beta laktamāzes. Beta-laktāmi ir visbiežāk lietotās antibiotikas bakteriālu infekciju ārstēšanai. Tās ir 60% no lietotajām antibiotikām. (Shrestha et al., 2017). *P.aeruginosa* piemīt inducējams ampC gēns, kas kodē beta-laktamāzes hidrolītisko enzīmu. Šis enzīms spēj izjaukt beta-laktāmu amīdu saiti, inaktivējot beta-laktāmu antibiotikas. Gēni, kas kodē beta-laktamāzes, var atrasties hromosomās vai plazmīdās (Bush, 2018). Beta-laktamāzes 3 grupās un 4 molekulārajās klasēs- A, B, C un D, balstoties uz aminoskābju sekvencēm.

Pirmās grupas beta-laktamāzes iekļauj C molekulāro klasi. Tās ir ar hromosomām saistītas cefalosporināzes (AmpC), kas ir atbildīgas par zemu *P.aeruginosa* iekšējās pretestības līmeni. Palielināta AmpC produkcija mutācijas dēļ, apvienojumā ar šūnas izplūdes sūkņiem vai samazinātu beta-laktāmu caurlaidību, ir atbildīga par rezistenci pret gandrīz visiem beta-laktāmiem, iekļaujot karbapenēmus, kas ir izturīgi pret AmpC inaktivāciju. C enzīmu klase hidrolizē beta-laktāmus caur serīna aktīvo saiti.

Otrās grupas beta-laktamāzes iekļauj A un D molekulāro klasi. Tā ir sarežģīta grupa, kas iekļauj daudzas enzīmu grupas, ko kodē pārnēsājami gēni - plazmīdas. Pie A molekulārās klases pieder sulfhidrilreaģenta mainīgā (SHV) saime, kas tika iegūta no *Klebsiella spp.* hromosomas, bet vēlāk iekļauta plazmīdās. Tā var hidrolizēt plaša spektra penicilīnus, kā, piemēram, ampicilīnu, piperacilīnu, bet ne oksiamino aizvietotājcefalosporīnus (ceftazidīmu un cefotaksīmu). SHV varianti - SHV-1, SHV-2, SHV-2a, SHV-5, SHV-12 ir izolēti no *P.aeruginosa*. TEM (*Temoneira*) tipa beta-laktamāzes ir funkcionāli līdzīgas SHV un pirmo reizi tika identificētas *E.coli*. Vēlāk daudzi TEM varianti (TEM-1, TEM-2, TEM-3, TEM-4, TEM-21, TEM-24, TEM-42, TEM-116) tika identificēti *P.aeruginosa* ar atšķirīgu enzimatisko kapacitāti (jaudu). Cefotaksīms (CTX) ir jauna beta-laktamāžu saime, kas nav saistīta ar SHV vai TEM tipiem, kam piemīt spēja hidrolizēt cefotaksīmu. To iegūst arī no enterobaktērijām un tiek izplatīta ar horizontālo gēnu pārneši.

Galvenie varianti, kas atrasti *P.aeruginosa*, ietver CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M43. A molekulārā klase hidrolizē beta-laktāmus caur aktīvo serīna saiti.

Pie D molekulārās klases pieder beta-laktamāzes, kas spēj hidrolizēt oksacilīnu (OXA), ir izolētas no *P.aeruginosa*. Ir identificēti vairāki OXA enzīmu varianti. Citas plaša spektra beta-laktamāzes (ESBL) iekļauj PER (hidrolizētos penicilīnus un cefalosporīnus, GES (hidrolizētos penicilīnus un plaša spektra cefalosporīnus) un KPC (hidrolizētos karbapenēmus). Daudzi varianti no šiem ir atklāti *P.aeruginosa* un tiem ir spēja radīt augstu rezistences līmeni pret beta-laktāmiem. D molekulārā klase hidrolizē beta-laktāmus caur aktīvo serīna saiti.

Trešās grupas beta-laktamāzes iekļauj B molekulāro klasi. Šīs klases beta-laktamāzes ir metalloenzīmi, jo to aktīvajā saitē ir cinks. Tās ir plazmīdu aktivētas un pārnēsājamas. Citas MGE saistītās metallo-beta-laktamāzes saimes ietver SPM, VIM un GIM. Tā ir noteiktas *P.aeruginosa* un to prevalence pakāpeniski palielinās. Kopš mutācijas ESBL gēnos producē atšķirīgu substrātu specifiskumu pret beta- laktāmu inhibitoriem, variantu skaits pieaug. (Shrestha et al., 2017).

Aminoglikozidāzes satur aminociklitola gredzenu, saistītu ar glikozīdu saišu amino cukuriem. Tā ir antibiotiku grupa, kas bieži tiek pielietota *P.aeruginosa* izraisīto infekciju ārstēšanā. *P.aeruginosa* rezistenci pret aminoglikozīdiem nosaka vairāki faktori, piemēram, samazināta šūnu membrānas caurlaidība, palielināta izplūde, ribosomu izmaiņas un enzīmu modifikācija. Starp šiem mehānismiem galveno lomu ieņem aminoglikozīdu molekulu struktūras aminoskābju un glikozīdu grupu fermentatīvā modifikācija. Ir atklāti trīs aminoglikozīdus modificējošo enzīmu veidi: aminoglikozīdu fosfotransferāze (APH), aminoglikozīdu acetiltransferāze (AAC) un aminoglikozīdu nukleotidiltransferāze (ANT). Ir atklāts, ka *P.aeruginosa* APH nodod fosforil-grupu aminoglikozīdu, kā, piemēram, kanamicīnam, neomicīnam un streptomicīna 3'hidroksil-grupai, šādā veidā inaktivējot antibiotikas. AAC pārnes acetilgrupu aminogrupai 3'un 6'pozīcijā, kas ir atbildīga par gentamicīna, netilmicīna, kanamicīna un amikacīna inaktivāciju. Izturību pret gentamicīnu, amikacīnu un tobramicīnu nodrošina *P.aeruginosa* ANT, kas pārvieto adenilgrupu aminoglikozidāzes amino vai hidroksilgrupai (Shrestha et al., 2017).

Fluorhinolonu rezistence. *P.aeruginosa* fluorhinolonu rezistence ir saistīta ar hromosomālajiem gēniem, kur mutācija ir izmainījusi fluorhinolonu mērķa DNS girāzes (gyrA un gyrB) un parC, parE gēnus, kas kodē topoizomerāzi IV, kā arī ir palielināts efluksa sūkņu skaits. Tas izraisa izmainītu aminoskābju secību A un B apakšgrupās, tāpēc tiek izmainīta topoizomerāze II ar zemu saistīšanās spēju pie hinolonu molekulas. Modifikācijas topoizomerāzē IV rada mutācijas parC un parE gēnos, kodējot parC un parE enzīmu

subvienības. Otrs fluorhinolonu rezistences mehānisms ir saistīts ar pārmērīgu efluksa sūkņu ekspresiju. Mutācijas atrodas *nalB*, *nfxB* un *nfcC* gēnos, kas rezultējas ar MexA-MexB-OprM-Mexc-MexD-OprJ un MexE-MexF-OprN pārmērīgu ekspresiju (Pachori et al., 2019).

1.2.5. Biofilmu veidošana

Biofilmas ir mikroorganismu agregāts, kas piesaistās viena otrai vai arī pie mākslīgas virsmas, un tās ir saistītas ar pašu radīto ekstracelulāro polimēru substances (EPS) matricu, kas iekļauj sevī eksopolisaharīdus, proteīnus, metabolītus un ekstracelulāru DNS. Šūnas, kas aug biofilmās, ir mazāk jutīgas pret antibiotiskajiem līdzekļiem nekā šūnas, kas augušas brīvā suspensijā. Arī baktērijas, kas ir mazāk rezistentas, augot biofilmās, ir izturīgākas pret antibakteriālo vielu iedarbību. Jūtīgumu pret baktērijām var atjaunot, ja tiek zaudēta biofilmas aizsardzība. Galvenā biofilmu medītētā rezistence, kas aizsargā baktērijas no antibiotiku iedarbības, ir samazināta antibiotiku spēja iekļūt mikrovidē, samazinot baktēriju augšanas ātrumu, adaptīvās stresa reakcijas indukciju un ilgstošu šūnu diferenciāciju. Biofilmu medītētā antibiotiku rezistence sevī ietver šādus faktorus: lēnu antibiotiku iekļūšanu biofilmā, biofilmas šūnu adaptīvo stresa reakciju, kas ļauj izdzīvot skarbos apstākļos, izmainītu ķīmisko mikrovidi bioplēvē, kas izraisa lēnu baktēriju augšanu un samazina antibiotiku uzņemšanu, veidojot multirezistentas šūnas.

P.aeruginosa izraisa hronisku iekaisumu pacientiem ar CF, veidojot biofilmas uz plaušu epitēlija šūnu virsmas, izdalot DNS, proteīnus un eksopolisaharīdus. *P.aeruginosa* regulētā biofilmu veidošana ir multifaktoriāla. Tā ir atkarīga no kvoruma sajūtas sistēmas un divām komponentu regulatorajām sistēmām GacS/GacA un RetS/LadS, eksopolisaharīdiem un c-di-GMP. Kvoruma sajūtas sistēma ir baktēriju no šūnas uz šūnu komunikācijas process, kas regulē gēnu ekspresiju kā atbildi uz izmaiņām šūnu populācijas daudzumā. Ir trīs galvenās QSs-LasI-LasR, RglI-RglR un PQS-MvfR, kas visas veicina nobriedušu un diferencētu biofilmu veidošanu. (Pang et al., 2019)

P.aeruginosa producētās eksopolisaharidāzes iekļauj alginātu, Pel un Psl, kas stabilizē biofilmas struktūru. Lizēto šūnu atbrīvotais ekstracelulārais DNS ir vēl viena svarīga biofilmas matricas sastāvdaļa, kas atvieglo šūnu adhēziju un agregāciju uz virsmām. Ir identificēta ekstracelulārā DNS funkcija, kas paskābina vidi un ierosina divkomponentu regulēto sistēmu - PhoPQ un PmrAB ievērojami paaugstinātu aminoglikozīdu rezistenci. C-di-GMP molekula ir nukleotīdu otrais kurjers signālu transdukcijā baktērijās. Augsts c-di-GMP līmenis ir saistīts ar biofilmu veidošanu, savukārt zems c-di-GMP līmenis ir saistīts ar planktona tipa šūnu veidošanu. C-di-GMP molekula regulē procesus, kas ir šūnu savstarpējai

saistībasi un eksopolisaharīdu producēšanai, kas veicina *P.aeruginosa* bioplēves veidošanos un nobriešanu.

Lai izveidotu biofilmu, *P.aeruginosa* piedzīvo daudzas fizioloģiskas un fenotipiskas izmaiņas. *P.aeruginosa* flagella ir svarīga bioplēves veidošanas uzsākšanai, jo tai piemīt spēja kustēties. Pēc piesaistīšanās virsmai *P.aeruginosa* samazina flagellu ekspresiju un ģenētisko mutāciju dēļ var arī neatgriezeniski zaudēt flagellas, tādējādi samazinās saimniekorganisma imūnā atbilde, kas ļauj *P.aeruginosa* izvairīties no imūnsistēmas darbības un fagocitozes. Ir identificēta cikliskā glicerofosforilētā beta (1,3) glukona saimi, ko producē *P.aeruginosa* ekstracelulārajā biofilmas matriksā. Tas iedarbojas uz kanamicīnu. Gēns PA 14 neietekmē biofilmu veidošanos, bet atbild par biofilmu specifisku antibiotiku rezistenci. NdvB gēns kodē glikoziltransferāzi, kas ir nozīmīga perifērisko ciklisko B-glikānu sintēzei, kas mijiedarbojas ar tobramicīnu un ir atdalīts periplazmā, pirms sasniedz aktivitāti. Gēns PA14_40260-40230 ir daļa no operona, kas kodē jaunu efluksa sūkni, un šī operona izdzēšana *P.aeruginosa* samazina baktērijas izturību pret gentamicīnu un ciprofloksacīnu. TssC1 gēns ir iesaistīts *P.aeruginosa* VI tipa sekrēcijā un ir ļoti izteikts bioplēvē. TssC1 zudums izraisa rezistences samazināšanos pret tobramicīnu, gentamicīnu un ciprofloksacīnu - antibiotikām, ko visbiežāk izmanto *P.aeruginosa* infekciju ārstēšanā (Pang et al., 2019).

1.2.6. Antibakteriālā terapija

Pieaugot baktēriju rezistencei, svarīgi ir izmantot kombinētos antibiotiskos līdzekļus smagu pacientu ārstēšanai.

Beta-laktāmi saistās un inaktivē penicilīna saistošos proteīnus, kā transpeptidāzes, kas iesaistītas baktēriju sienas veidošanā. Beta laktāmu antibiotikas ietver penicilīnus, cefalosporīnus, cefamicīnus, monobaktāmus, karbapenēmus un beta-laktamāzes inhibitorus. Efektīvākie medikamenti pret *P.aeruginosa* izraisītajām infekcijām no penicilīniem ir piperacilīns un tikarcilīns, no trešās paaudzes cefalosporīniem - ceftazidīms un ceturtās paaudzes cefalosporīniem - cefepīms, no monobaktāmiem - aztreonāms, no karbapenēmiem - imipenēms, meropenēms un doripenēms (Meletis & Bagkeri, 2013).

Penicilīnus bieži lieto kopā ar beta-laktamāzes inhibitoriem, kas ir klavulanāts un tazobaktāms. Kombinācijās: tikarcilīns-klavulināts un piperacilīns-tazobaktāms. Tazobaktāms inhibē AmpC-tipa beta-laktamāzes, bet tam nepiemīt tieša antipseidomonu aktivitāte.

Pret *P.aeruginosa* infekcijām izmanto trešās paaudzes cefalosporīnu – ceftazidīmu. Tas ir daļēji aktīvs pret baktēriju un to izmanto gadījumos, ja organisms ir rezistents pret antipseidomonu penicilīniem vai arī pacientam ir alerģija pret penicilīniem. Šis medikaments

ir efektīvs pret *P.aeruginosa* izraisīto meningītu. Ceftazidīmu būtu ieteicams nozīmēt kopā ar aminoglikozīdu. Ceftazidīmam ir vāja aktivitāte pret grampozitīvām baktērijām. Ceturtās paaudzes cefepīms, kam ir pozitīvi lādēts četrvērtīgs amonijs, kas pievienots dihidrotiazona gredzenam, kas nozīmē, ka tiek nodrošināta labāka ārējās membrānas šķērsošana gramnegatīvās baktērijās. Cefepīmu rekomendē kombinācijā ar aminoglikozīdiem (Kanafani & Kanj, 2016).

Fluorhinoloni ir sintētiskās antibiotikas, kas bloķē DNS replikāciju, kavējot DNS girāzi un topoizomerāzi IV. Fluorhinolonus pārsvarā uzņem perorāli un tie uzsūcas augšējā gastrointestinālajā traktā. Pret *P.aeruginosa* izmanto ciprofloksacīnu, levofloksacīnu un ofloksacīnu. Tās ir ļoti efektīvas antibiotikas, kaut gan tiek uzskatīts, ka šo antibiotiku lietošanas risks ir augstāks par ieguvumu gadījumos, ja novēro slimību bez komplikācijām. Pie smagākām saslimšanām jāizvērtē lietošanas ieguvums. Komplikācijas, ko rada fluorhinolonu lietošana, ietver gastrointestinālus simptomus- sliktu dūšu, vemšanu, caureju, galvas sāpes, reibšanu, izmainītu garastāvokli un traucētu miegu. Regulāra fluorhinolonu lietošana var izraisīt pastāvīgas muskuloskeletālās vai nervu sistēmas saslimšanas (Tandan et al., 2018).

Aminoglikozīdi saistās pie *P.aeruginosa* RNS 16S un 30S ribosomālās subvienības aminoacil saites, kas izmaina ģenētisko kodu un kavē translokāciju, tādā veidā traucējot olbaltumvielu sintēzi. Aminoglikozīdi iekļūst šūnā, izjaucot magnija un kalcija tiltus starp lipopolisaharīdu slāņiem. Aminoglikozīdu aktivitāte ir atkarīga no pH. Ja ir zems pH līmenis, tad antibakteriālā aktivitāte var samazināties. Pret *P.aeruginosa* efektīvi ir tobramicīns, amikacīns un gentamicīns. Aminoglikozidāžu lietošana var izsaukt ototoksicitāti, nefrotoksicitāti. Nefrotoksicitāte var būt novērojama 10-20% gadījumos. Ototoksicitāte pie vestibulāra bojājuma izpaužas kā reibšana, nestabilitāte, slikta dūša, vemšana. Kohleārs bojājums izpaužas kā dzīvkstēšana ausīs un dzirdes zudums. Aminoglikozīdus kombinē ar citiem antibakteriālajiem līdzekļiem. Monoterapijā lieto tikai pie *P.aeruginosa* urīntrakta infekcijām (Richard H Drew, 2018).

Polimiksīns E (kolistīns). Polimiksīni ir baktericīdi medikamenti, kas saistās pie gramnegatīvu baktēriju ārējās membrānas lipopolisaharīdiem un fosfolipīdiem. Polimiksīni ir šaura spektra antibakteriālās vielas. Kolistīnu lieto infekciju gadījumos, ko izraisa multirezistenti mikroorganismi, kā *Pseudomonas* un *Acinetobacter spp.* Tie konkurē ar divvērtīgajiem katjoniem no membrānas lipīdu fosfātu grupām par saistīšanos pie membrānas, kas noved pie ārējās šūnu membrānas sabrukšanas, iekšējā šūnas satura izplūdes un šūnas nāves. Kolistīnu var ievadīt intravenozi, perorāli, kā arī inhalēt, piemēram, cistiskās fibrozes

pacientiem. Rezistence pret polimiksīniem ir reta, tomēr tā tiek pētīta, un tiek novērota lipopolisaharīdu A komponenta modifikācija un efluksa sūkņu aktivācija. Polimiksīni var arī saistīt un neitralizēt lipopolisaharīdus un samazināt endotoksīna patofizioloģiskos efektus cirkulācijā. Svarīgākais kolistīna lietošanas blakusefekts ir nefrotoksicitāte, kas var izraisīt akūtu nieru mazspēju. Renāla toksicitāte sastopama 20-60% gadījumu. 7% gadījumu var novērot neirotoksicitāti - reibšanu, vājumu, sejas un perifēru parastēziju. (Greame MacLaren, 2019)

2.MATERIĀLI UN METODEDES

Diplomdarba praktiskā daļa tika veikta Tuberkulozes un plaušu slimību centra Mikrobioloģijas laboratorijā. Pētījumam tika izmantoti no pacientu bronhu atsūkņējumiem un krēpām izolēti *P.aeruginosa* un *A.baumannii* celmi. Pa vienam paraugam tika iegūts arī no brūces iztriepes, inducētām krēpām, operācijas brūces materiāla, drenas satura.

Pielietojot *BBL™ Crystal™* identifikācijas sistēmu patstāvīgi tika veikta mikroorganismu identifikācija. Patstāvīgi tika arī veikts *A.baumannii* un *P.aeruginosa* *Bauer-Kirby™* disku difūzijas tests, izmantojot papīra diskus, kas tika noteiktās koncentrācijas piesūcināti ar dažādām antibakteriālajām vielām - amikacīnu, ceftazidīmu, ciprofloksacīnu, imipenēmu, meropenēmu un piperacilīnu/tazobaktāmu. *E™*- tests tika veikts, lai noskaidrotu *A.baumannii* jutību pret kolistīnu, izmantojot antibiotiskā līdzekļa teststrēmeles ar koncentrācijas gradientu. Ar *Genotype BC Gramnegative™* patstāvīgi tika veikta 10 gram-negatīvo paraugu sugu identifikācija. Diplomdarbam nepieciešamie dati par 2017. gadu un 2019. gadu tika iegūti no Mikrobioloģijas laboratorijas datu bāzes. Laika periodā par 01.01.2017 - 31.12.2017 tika iegūti dati par 15 *A.baumannii* celmiem un 65 *P.aeruginosa* celmiem. Laika periodā no 01.01.2019 - 31.12.2019 tika iegūti dati par 20 *A.baumannii* un 75 *P.aeruginosa* celmiem. Dati sniedza arī informāciju par to, kāda ir katra izolāta jutība pret antibakteriālajām vielām. Dati tika analizēti un apkopoti, izmantojot *Microsoft Excel 2010*.

2.1. Materiāli

2.1.1. Antibakteriālie līdzekļi

Lai pētītu mikroorganismu jutību pret antibakteriālajām vielām, tika izmantotas trīs antibakteriālo vielu grupas. No beta-laktāmiem rezistence tika pētīta pret penicilīniem - piperacilīnu/tazobaktāmu, ampicilīnu/sulbaktāmu. No cefalosporīniem - ceftazidīmu, no karbapenēmiem- imipenēmu un meropenēmu. No aminoglikozīdiem jutība tika pētīta pret amikacīnu, savukārt no fluorhinoloniem – pret ciprofloksacīnu. Dažu *A.baumannii* izolātu jutība tika noteikta arī pret polimiksīnu - kolistīnu. Antibakteriālie līdzekļi atradās ar vielu piesūcinātos filtrpapīra diskos noteiktās koncentrācijās. Antibakteriālās vielas apkopotas 2.1. tabulā.

Antibakteriālie līdzekļi, to koncentrācija diskos

Preparāta nosaukums	Koncentrācija, µg
Amikacīns (AK)	30
Ceftazidīms (CAZ)	30
Ciprofloksacīns (CIP)	5
Imipenēms (IPM)	10
Meropenēms (MEM)	10
Ampicilīns/sulbaktāms	10/10
Piperacilīns/ tazobaktāms (TZP)	100/10

2.1.2. Mikrobioloģiskās barotnes

Mikrobioloģiskās barotnes satur barības vielas, kas nepieciešamas baktēriju veiksmīgai augšanai. Barotņu pamatā ir agars.

Triptikāzes sojas agars ar 5% asins piedevu. Ražotājs *Oxoid* (Anglija).

Triptikāzes sojas agars ar 5% asins piedevu sastāvs un vielas daudzums

Agara sastāvdaļas	Vielas daudzums
Triptons	15,0 g/l
Sojas peptons	5,0 g/l
Nātrija hlorīds	5,0 g/l
Agars	15,0 g/l
Aitas asinis	50,0 ml

Barotnes pagatavošana: 40 gramus sagatavotās sausās vielas izšķīdina 1l destilēta ūdens, karsējot ūdeni līdz vārīšanās temperatūrai. Lai maisījumu sterilizētu, to autoklavē 121⁰C temperatūrā 15 minūtes. Pēc tam barotni atdzesē līdz 47^o-49^o C temperatūrai un tai pievieno aitas asinis. Barotnes pH istabas temperatūrā (25⁰C) jābūt 7,1-7,5 robežās. Pagatavoto šķīdumu lej petri trauciņos. Barotni var uzglabāt 2⁰-8⁰ C temperatūrā.

Muller- Hinton agars. Ražotājs Liofilchem (Itālija).

2.3. tabula

Muller- Hinton agara sastāvs un vielas daudzums

Agara sastāvdaļas	Vielas daudzums g/l
Peptons	17,5
Liellopa gaļas ekstrakts	2,0
Ciete	1,5
Agars	17,0

Barotnes pagatavošana: 38 gramus sagatavotās sausās vielas izšķīdina 1l destilēta ūdens, karsējot līdz vārīšanās temperatūrai. Lai maisījumu sterilizētu, to autoklavē 121⁰ C temperatūrā. Pēc tam barotni atdzesē līdz 35⁰C temperatūrai un pilda petri trauciņos. Barotnes pH istabas temperatūrā (25⁰C) jābūt 7,1-7,5 robežās. Barotnes uzglabā tumsā, 2⁰-8⁰ C temperatūrā.

2.1.3. Trauki un aparatūra

2.4.tabula

Trauki un materiāli

Materiāls	Apraksts/tilpums/daudzums	Ražotājs
Pudeles autoklavēšanai	100 ml, 500 ml, 1000 ml	Boeco, Vācija
Antibakteriālo līdzekļu diski	50 gab/iepakojumā	BioMérieux, Francija
E-tests	30 gab/iepakojumā	BioMérieux, Francija
Petri trauki	Ø 10 cm	Anumbra, Čehija
Plastmasas cilpas	Looplast	LP Italiana spa, Itālija
Sterili vates kociņi	10 gab/iepakojumā	Deltalab, Spānija

Aparatūra, ražotājs

Aparatūra	Ražotājs
Autoklāvs	<i>Sanyo</i> , Japāna
Ledusskapis/saldētava	<i>Indesit</i> , Itālija
Mikroskops	<i>Leica</i> , Vācija
Termostats	<i>Heraeus</i> , Vācija
Velkmes skapis	<i>ESCO</i> , Vācija
Turbidimetrs	<i>BioMérieux</i> , Francija
Vortekss	<i>Labotek</i> , Dānija
<i>BBL™ Crystal™</i> identifikācijas sistēma	<i>Beckton Dickinson</i> , ASV
<i>Geno TYpe BC Gramnegative</i>	<i>Hain-lefescience</i> , Vācija
<i>BacT/ALERT®</i>	<i>BioMérieux</i> , Francija
<i>Twincubator</i>	<i>Hain-lefescience</i> , Vācija
Ultrasonikācijas vanna	
Mikropipetes	<i>IsoLab</i> , Vācija

2.2. Metodes**2.2.1. Disku difūzijas tests**

Disku difūzijas tests jeb agara difūzijas tests, jeb *Bauer-Kirby* tests ir metode, ar kuru nosaka baktēriju jutību pret antibakteriālajām vielām. Šajā testā tiek izmantoti antibiotiku diski, kas tiek novietoti uz agara platītes, uz kuras uzsētas baktērijas. Atkarībā no baktēriju atbildes, interpretē rezultātu.

Sākumā tiek veikta inokulāta pagatavošana. To veic laminārā. Inokulātam uz agara plates izvēlas 3-5 vienāda izskata izolētas kolonijas, kas augušas 18-24 stundas uz neselektīvas agara plates. Ar sterilu cilpu uzmanīgi paņem baktēriju kolonijas un suspendē buljonā vai fizioloģiskajā šķīdumā. Suspensijas duļķainību nosaka ar turbidimetru, kur duļķainība nedrīkst pārsniegt 0,5 *McFarland* turbiditātes standartu, kur ekvivalents 150 miljoniem šūnu 1ml.

Uzsēšanu veic 15 minūšu laikā no uzsēšanai paredzētās suspensijas koriģēšanas. Inokulātā ievieto vates kociņu, ko parotē suspensijā un lieko šķidrumu nospiež pret stobriņa iekšējo virsmu. Pēc tam pa agara plates virsmu ar vates kociņu blīvi velk svītras, tādā veidā

uz *Muller- Hinton* agara barotnes uzsējot suspensiju. Sēšana tiek atkārtota vēl divas reizes, plati pagriežot par 60° , nodrošinot vienmērīgu uzsēšanu. Lai izžūtu liekais mitrums, pēc sēšanas vāku var atstāt pusvair 3-5 minūtes.

Kad agars nožūvis, uz plates ar antibiotiku dispanseri liek antimikrobo preparātu diskus. Disku nedaudz piespiež agara virsmai, lai nodrošinātu pilnīgu kontaktu. Diski ir jānovieto ne tuvāk kā 24 mm attālumā no viena diska centra līdz otram, lai nepārklātos inhibējošās zonas. Uz 150 mm plates var uzlikt līdz 12 diskus, bet uz 100 mm plates ne vairāk kā sešus diskus. Disku nav ieteicams pārvietot, jo saskarē ar agaru, preparāti var sākt difundēt.

Plates novērtē pēc 18-24 stundu kultivēšanas. Ja plate ir atbilstoši uzsēta un inokulāts ir atbilstoša blīvuma, novērojamas vienmērīgas, apaļas augšanas aiztures zonas. Ja novērojama atsevišķu kultūru augšana, tas liecina, ka inokulāts ir bijis ar nepietiekamu optisko blīvumu. Inhibīcijas zonu mēra diametrā, iekļaujot arī paša diska diametru. Zonas robeža ir izaugušu kultūru vieta, kuru var noteikt ar neapbruņotu aci. Rezultātu novērtē pēc inhibīcijas zonu izmēru skaidrojošās tabulas. Mikroorganismus pret antibakteriālajām vielām novērtē kā jutīgus, vidēji jutīgus vai rezistentus.

Difūzijas disku testa interpretācija:

Jutīgs (S). Ja mikroorganisms ir jutīgs, tad tā izraisīto infekciju var ārstēt ar infekcijai vai infekciju ierosinātajām sugām ieteikto antimikrobo preparātu rekomendētajās devās.

Vidēji jutīgs (I). Ja mikroorganisms ir vidēji jutīgs pret antimikrobo preparātu, tas nozīmē, ka preparāta MIK var sasniegt šīs kultūras asinīs vai audos, tomēr jutība pret šo preparātu ir mazāka kā pret jutīgām kultūrām. Ja antibakteriālais preparāts ir vidēji jutīgs, lieto tādas, kas spēj koncentrēties noteiktās organisma vietās, piemēram, hinoloni vai beta-laktāmi urīnā. Ja nepieciešams, var lietot augstāku preparāta koncentrāciju, piemēram, beta-laktāmus.

Rezistents (R). Ar parastām antibakteriālo līdzekļu devām nevar nomākt rezistentos celmus un novērot klīnisko uzlabošanu.

2.2.2. E^{TM} -tests

E^{TM} -tests jeb epsilometra tests tiek izmantots manuālai *in vitro* diagnostikai. Testā tiek izmantota baktēriju minimālās inhibējošās koncentrācijas (MIC) noteikšana mikroorganismu tīrkultūrā. Testam tiek izmantoti stripi ar antibakteriālās vielas koncentrācijas skalu. 60 mm garajā stripā iestrādāts antibakteriālais līdzeklis 15 dažādos divkārtos atšķaidījumos.

Inokulātam izmanto mikroorganismu suspensiju, tās duļķainība ir atbilstoša 0,5 *McFarland* standarta vienībām. Lai veiktu testu, izmanto *Muller-Hinton* agaru. Uz tā uzsēj

mikroorganismu suspensiju. Uz agara novieto teststrēmeli ar antibakteriālo vielu koncentrācijas skalu. Pagatavoto agara plati inkubē $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ temperatūrā 24 stundas. Ap teststrēmeli, kas piesūcināta ar antibakteriālajām vielām, veidojas elipsveida inhibīcijas zona. Šo zonu izmēra un novērtē atbilstoši kritērijiem. MIK nolasa punktā, kur inhibīcijas zona šķērso stripu.

2.2.3. *BD BBL™ Crystal™ E-tests*

BBL Crystal™ E-tests ir identifikācijas sistēma, kur izmanto miniaturizētu identifikācijas metodi, izmantojot modificētu parasto un hromogēno substrātu. Tas ir paredzēts aerobu gram-negatīvu baktēriju identifikācijai, kā arī glikozi fermentējošu un nefermentējošu gram negatīvu baktēriju noteikšanai. Testa pamatnē ir 30 iedobes, kurās atrodas dažādi enzimatiskie un bioķīmiskie substrāti.

Lai veiktu testu, vispirms tiek pagatavots inokulāts - no triptikāzes sojas agara ar 5% aitas asiņu, ar cilpu uzmanīgi tiek paņemtas lielas 2-3 baktēriju kolonijas. Tās tiek suspendētas *BBL™ Crystal™* inokulāta šķidrums mēģenē. Mēģenes vāku aizver un uz 10-15 sekundēm ievieto vorteksā, lai pilnībā suspendētu materiālu. Iegūto inokulātu izlej uz sistēmas pamatnes atzīmētajā vietā, un rūpīgi turot ar abām rokām, izlīdzina šķidrumu, līdz visas iedobes ir aizpildītas. Lieko šķidrumu aizvirza prom uz norādīto vietu. Sistēmas pamatnei uzliek vāku un 35°C - 37°C temperatūrā inkubē 18-24 stundas. Pēc inkubācijas perioda, nolasa rezultātus, novietojot sistēmas pamatni uz *BBL™ Crystal™* gaismas kastes, un, izmantojot krāsu karti, nolasa parauga skaitli. Ja paraugs negatīvs, tam piešķir 0, ja paraugs ir pozitīvs, tam piešķir skaitli 4,2 vai 1 atkarībā no tā, kur ir lokalizēta testa aile. Visus skaitļus saskaita un sarindo 10 numuru virknē. Ievada šo skaitļu secību *BBL™ Crystal™* sistēmas elektroniskajā datu bāzē, kura atbilstoši rezultātam identificē mikroorganismu.

2.2.4. *GenoType BC Gramnegative™*

Lai noteiktu klīniski nozīmīgās gram-negatīvās baktērijas no asins kultūras, izmanto *GenoType BC gramnegative™*. *GenoType BC gramnegative™* ir stripu tehnoloģijas tests, kas balstīts uz DNS un spēj identificēt gram-negatīvo baktēriju sugas no asins kultūras. Var tikt identificētas tādas baktērijas kā, piemēram, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii/ koseri*, *Enterobacter agglomerans*, *Escherichia Coli*,

Shigella sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus Parainfluenzae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella Enteritidis/Typhimurium* un citas.

Procedūra norisinās trīs etapos. Pirmais ir DNS izolācija no pozitīvas asins kultūras. Otrais posms ir amplifikācija ar biotinilētiem praimeriem, bet trešais - reversā hibridizācija.

Asins kultūru iegūst, asinis injicējot speciālās pudelēs, kuras satur barotni. Pudeles ir divu veidu: viena, kas paredzēta aerobām baktērijām, un otra, kas paredzēta anaerobām. Asins kultūru lieto, lai noteiktu infekcijas, kuras izplatās ar asinsriti, piemēram, sepse vai bakterēmija. Pacientam ar sistēmiskas infekcijas pazīmēm un simptomiem, veicot hemokultūras izpēti, var noteikt, kāds mikroorganisms ir ierosinājis saslimšanu.

DNS savākšanu un amplifikāciju veic, balstoties uz amplifikācijas protokolu, kurš aprakstīts *GENO CARD* instrukcijā. *GENO CARD* nepieciešams, lai savāktu un uzglabātu amplificējamās nukleīnskābes. Uz speciālas pamatnes atrodas diski, kuri tiek caurdurti un pārnesti uz amplifikācijas reakciju.

Asins paraugu apstrāde. Uz *GENO CARD* pamatnes kopā var savākt četrus paraugus. Vispirms ar insulīna šļirci tiek paņemti 15 µl asiņu un pārnesti uz disku. Paraugu uz 15 minūtēm ievieto termostatā. Izžuventus paraugus var uzglabāt 3 mēnešus. Uzglabāšanai ieteicama tumša un sausa vieta.

Amplifikācijas maisījumu pagatavošanā, aisījumu (45 µl) gatavo no DNS brīvā telpā. Maisījumu veido četriem paraugiem.

Nepieciešamie reaģenti vienam amplifikācijas maisījumam:

- 35 µl PNM,
- 5 µl 10x polimerāzes inkubācijas buferis,
- 1 µl MgCl₂,
- 1 vienība termostabilas DNS polimerāzes,
- dejonizēts ūdes, to pievieno, lai iegūtu kopējo tilpumu- 45 µl,
- pēc tam pievieno 5 µl izolētā DNS.

Numurē amplificējamo paraugu skaitu, pievieno kontroles paraugu. Iegūto maisījumu sakrata, liek uz aukstā paliktņa un pārvieta uz PCR telpu.

Maisījumu sadala PCR paredzētajos stobriņos.

Disku savākšana. Izžāvētajā diskā iedur ar caurumotāju un uzmanīgi pagriež pulksteņrādītāja virzienā. Caurumotāju iespiež diska pamatnē, līdz disks atdalās no tās. Disku pārness uz PCR stobriņu, kurš pildīts ar maisījumu. Kopā izmanto četrus PCR stobriņus. Pirmais stobriņš satur disku, otrais/trešais DNS, bet ceturtais ir kontroles stobriņš.

Stobriņus ievieto PCR aparātā un veic amplifikāciju. Amplifikācijas cikli apkopoti 2.6. tabulā.

Amplifikācijas cikli, to temperatūra un ilgums

Ilgums	Temperatūra	Cikli
5 min	95 ⁰	1
30 sec	95 ⁰	10
2 min	58 ⁰	10
25 sec	95 ⁰	20
40 sec	53 ⁰	20
40 sec	70 ⁰	20
8 min	70 ⁰	1

Tālāk no baktēriju kolonijas paņem paraugu, kas satur baktēriju DNS. Paņem 150 µl destilēta ūdens, iepilina stobriņā, pēc tam pievieno baktēriju kolonijas un suspendē. Sagatavo vēl vienu stobriņu ar ūdeni – 150 µl. Paraugu silda ūdens peldē 5-7 minūtes. Pēc sildīšanas paraugu ievieto ultrasonikācijas vannā, tur notiek baktēriju DNS fragmentēšana.

Trešajā posmā notiek hibridizācija. Procesam nepieciešama ūdens vanna – *TwinCubator*, kas uzsildīta līdz 45⁰C. Nepieciešams sasildīt reaģentus HYB un STR līdz 37-45⁰C temperatūrai pirms lietošanas. Reaģenti nedrīkst saturēt nogulsnes. Uzsilda arī pārējos reaģentus, izņemot CON-C un SUB-C. Stobriņos atšķaida konjugāta koncentrātu un substrāta koncentrātu attiecībā 1:100. Attiecīgi CON-C ar CON-D un SUB-C ar SUB-D. Stripiem pievieno 10 µl koncentrāta.

1. Katrā plastikāta plates ailītē iepilina 20 µl DEN šķīduma.
2. Šķīdumam pievieno 20 µl amplificētā parauga, samaisa šķīdumu ar pipeti un inkubē 5 minūtes istabas temperatūrā.
3. Katrā testa ailītē pievieno 1ml HYB, kas sasildīts līdz 37-45 ° C. Saskalo plati, līdz šķīdums kļūst homogēns. Skalošana jāveic rūpīgi, lai nesajauktos ailītes blakus esošie šķīdumi.
4. Ailītē ievieto sanumurētus stripus. Stripiem jābūt pilnīgi pārklātiem ar šķīdumu. Identifikācijas marķieriem - strīpiņām jābūt vērstām pret augšu. Ievietošanu veic ar pinceti. Pēc katra stripa pinceti notīra, lai nerastos kontaminācija.
5. Plati ievieto ūdens vannā 45°C uz 30 min ar kustību ātrumu 80 kust./min. (*TwinCubator* 1. programma).
6. No ailītēm pēc inkubācijas atsūc hibridizācijas buferi- HYB, izmantojot pipeti.
7. Katrā ailītē pievieno 1ml STR reaģentu, inkubē uz 30 min 45°C.

8. Tālākās darbības veic istabas temperatūrā. No ailītēm atsūc STR, izmantojot pipeti.
9. Katrā ailītē pievieno 1ml RIN, ievieto uz 1minūti *TwinCubator*. Nolej un atkārti.
10. Katrā testa ailītē pievieno 1ml sagatavoto konjugātu (CON-C ar CON-D).
11. Inkubē istabas temperatūrā 30 min *TwinCubator*.
12. Sagatavo substrātu (SUB-C + SUB-D) tukšā pudelē atbilstoši paraugu skaitam.
13. Nolej konjugātu un izkrata lieko mitrumu, katrā testa ailē piepilina 1ml RIN un uz 1 min ievieto *TwinCubator*. Pēc tam nolej.
14. Katrā ailītē pievieno 1ml gatavo substrātu.
15. Inkubē istabas temperatūrā tumšā vietā. Pēc 5-10 minūtēm izveidojas kontroles zonas joslas un rezultātu līnijas.
16. Divas reizes stripus noskalo ar destilētu ūdeni, liek žāvēties un nolasa mērījumus.

2.2.5. Datu statistiskā analīze

Datu statistiskajai analīzei tika izmantota datorprogramma Microsoft Excel 2010. Dati tika atspoguļoti procentuālās attiecībās tabulu veidā. Vizuālai atspoguļošanai tika izmantotas arī dažāda veida diagrammas.

3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Laikā no 2017. gada 1.janvārim līdz 2017. gada 31.decembrim tika identificēti 3191 pozitīvi paraugi, savukārt laika posmā no 2019. gada 1. janvāra līdz 2019. gada 31. decembrim tika identificēti 3992 pozitīvie paraugi.

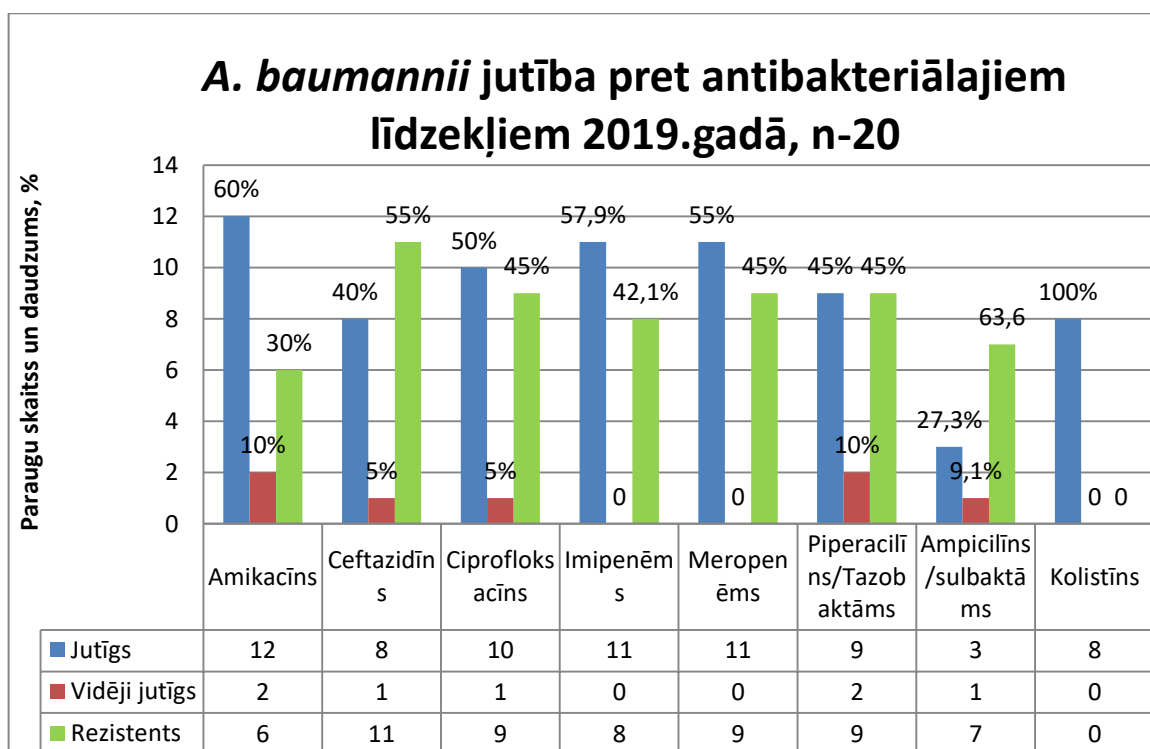
P.aeruginosa un *A.baumannii* paraugi galvenokārt tika iegūti no pacientu elpceļiem- bronhu atsūknējumiem un krēpu paraugiem. Baktēriju jutība galvenokārt tika noteikta pret amikacīnu, ceftazidīnu, ciprofloksacīnu, imipenēmu, meropenēmu, piperacilīnu/tazobaktāmu. Dažiem *P.aeruginosa* paraugiem jutība tika noteikta arī pret kolistīnu, cefoksitīnu, trimetoprimu-sulfametaksosolu, tobramicīnu. Dažiem *A.baumannii* paraugiem jutība tika noteikta arī pret kolistīnu, cefoksitīnu, gentamicīnu, trimetoprimu-sulfametaksosolu.

2019. gadā no 3992 pozitīvajiem paraugiem *A.baumannii* bija sastopama 0,5% (n-20) gadījumumu, bet *P.aeruginosa* bija sastopama 1,87% (n-75) gadījumumu.

2019. gadā *A.baumannii* jutība galvenokārt tika noteikta pret astoņiem antibakteriālajiem līdzekļiem. Vidējā jutības vērtība pret šiem astoņiem līdzekļiem bija 54,39%. Visjutīgākie *A. baumannii* paraugi bija pret kolistīnu (100%). No astoņiem testētajiem paraugiem visi bija jutīgi pret šo antibakteriālo līdzekli. Visbiežāk jutība tika noteikta arī pret amikacīnu (60%), imipenēmu (57,89%), meropenēmu (55%), savukārt zemāka antibiotiku jutība bija pret ciprofloksacīnu (50%), piperacilīnu/tazobaktāmu (45%), ceftazidīnu (40%) un ampilicīnu (27,27%).

Visbiežāk noteiktā vidējā jutība bija pret amikacīnu (10%) un piperacilīnu (10%), ampilicīnu/sulbaktāmu (9,09%), ceftazidīnu (5%) un ciprofloksacīnu (5%). Vidēja jutība netika konstatēta pret imipenēmu, meropenēmu un kolistīnu.

Vidējā rezistences vērtība pret astoņiem antibakteriālajiem līdzekļiem bija 40,71%. Visbiežāk tika noteikta *A.baumannii* rezistence bija pret ampilicīnu (63,63%), ceftazidīnu (55%), ciprofloksacīnu, meropenēmu, piperacilīnu/tazobaktāmu (45%) . Retāk rezistence tika novērota pret imipenēmu (42,10%) un amikacīnu (30%). *Acinetobacter baumannii* jutība pret antibakteriālajiem līdzekļiem apkopota 3.1. attēlā.



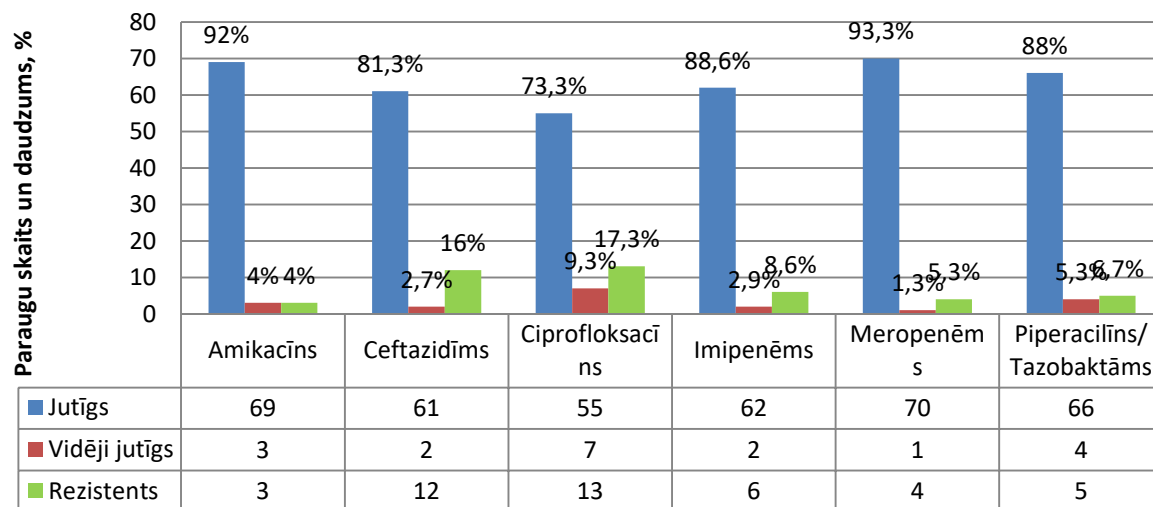
3.1.att A. baumannii jutība pret antibakteriālajiem līdzekļiem 2019. gadā. Paraugu skaits un jutība (%)

2019. gadā *P.aeruginosa* jutība tika galvenokārt pētīta pret sešiem antibakteriālajiem līdzekļiem. Vidējā jutība pret šiem sešiem līdzekļiem bija 86,09%. Visjutīgākie *P.aeruginosa* paraugi bija pret meropenēmu (93,33%), amikacīnu (92%), imipenēmu (88,57%) un piperacilīnu/tazobaktāmu (88%). Mazāka jutība tika novērota pret ceftazidīnu (81,33%) un ciprofloksacīnu (73,33%).

Visbiežāk vidējā jutība tika konstatēta pret ciprofloksacīnu (9,33%), piperacilīnu/tazobaktāmu (5,33%) un amikacīnu (4%), retāk vidējā jutība tika noteikta pret imipenēmu (2,85%), ceftazidīnu (2,66%) un meropenēmu (1,33%).

Vidējā rezistences vērtība pret sešiem antibakteriālajiem līdzekļiem bija 9,65%, visbiežāk rezistence tika novērota pret ciprofloksacīnu (17,33%), ceftazidīnu (16%). Retāk tika noteikta rezistence pret imipenēmu (8,57%) un piperacilīnu/tazobaktāmu (6,66%), meropenēmu (5,33%) un amikacīnu (4%). *Pseudomonas aeruginosa* jutība pret antibakteriālajiem līdzekļiem apkopota 3.2. attēlā.

***P.aeruginosa* jutība pret antibakteriālajiem līdzekļiem 2019.gadā, n-75**

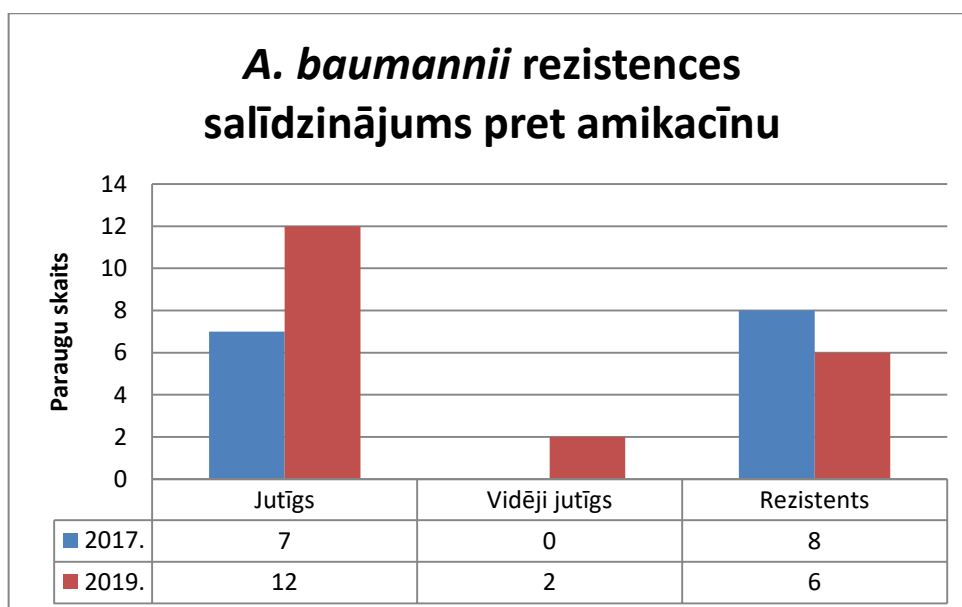


3.2.att. *P.aeruginosa* jutība pret antibakteriālajiem līdzekļiem 2019. gadā. Paraugu skaits un jutība (%)

3.1. *A.baumannii* un *P.aeruginosa* antibiotiku rezistence

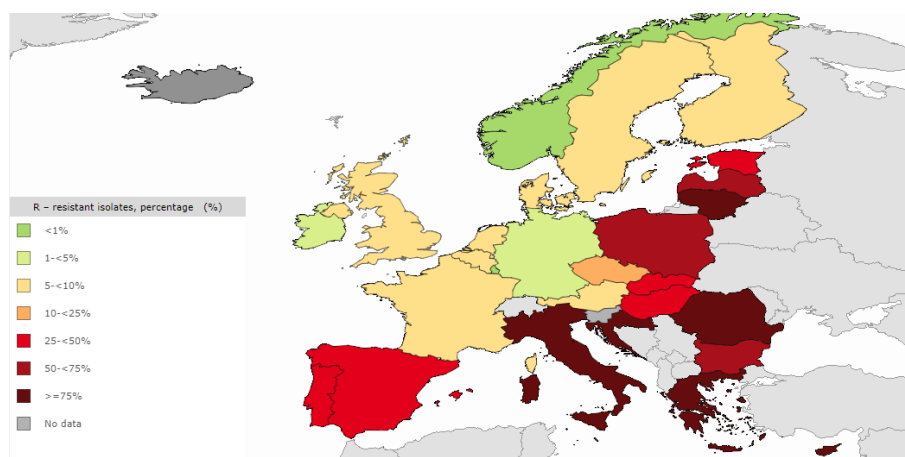
***A. baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017. un 2019.gadu pret amikacīnu**

2017. gadā tika pētīti 15 *A.baumannii* paraugi. Septiņi no tiem jeb 47% bija jutīgi pret amikacīnu, bet 8 jeb 53% bija rezistenti. Nevienam paraugam netika novērota vidēja jutība. 2019. gadā tika pētīti 20 *A.baumannii* paraugi. 12 paraugi jeb 60% bija jutīgi pret amikacīnu, 2 paraugi jeb 10% bija vidēji jutīgi un seši paraugi jeb 30% bija rezistenti. Salīdzinot abus gadus, jutība pret amikacīnu ir pieaugusi par 13%, bet rezistence samazinājusies 23%. Dati apkopoti 3.3. attēlā.



3.3.att. *A.baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017. gadu un 2019. gadu pret amikacīnu

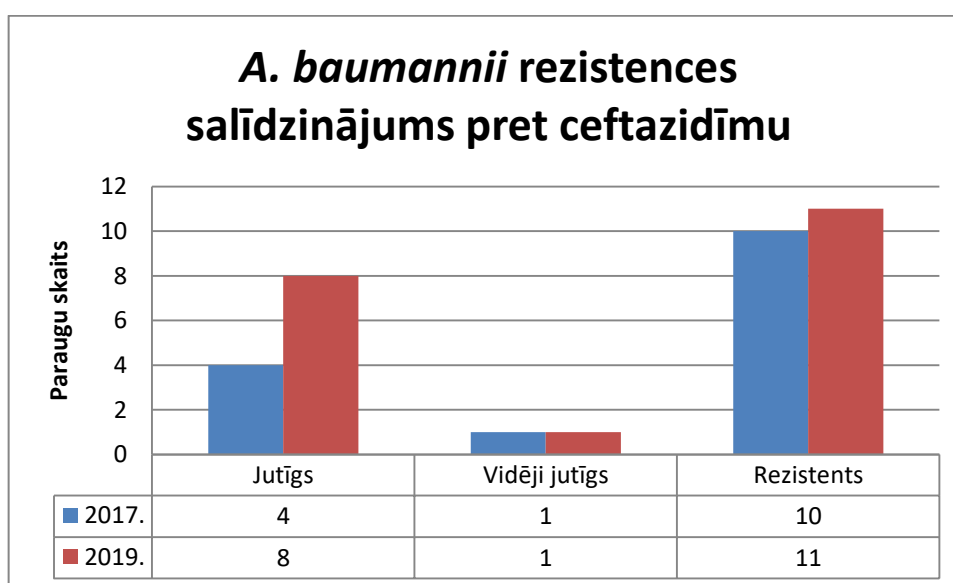
Pēc 2018. gada EARS-NET datiem var spriest, ka pret *A.baumannii* Eiropā un Eiropas Ekonomikas zonas valstīs ir novērojama liela rezistence. Vislielākā rezistence pret *A.baumannii* tika novērota Lietuvā (85,1%), kur no 87 izolātiem rezistenti bija 74, Grieķijā (81,6%), Rumānijā (80%), Itālijā (77%), Kiprā (75,4%). Liela rezistence, kas iekļaujas arī 50-75% rezistences grupā ir arī Bulgārijā, Polijā un Latvijā. 2018. gadā Latvijā pret aminoglikozīdiem no 48 testētajiem paraugiem rezistenti bija 29 paraugi, kas ir 60,4% (Surveillance report, 2018). Salīdzinot šos datus ar 2016. gada EARS-NET datiem, rezistence Latvijā pret aminoglikozīdiem ir samazinājusies par 17,4%, kur no 81 izolāta rezistenti bija 63. Salīdzinot šos datus ar diplomdarbā pētītajiem rezultātiem, novērojams, ka abos gadījumos rezistence pret aminoglikozīdiem samazinās. EARS-NET datus par 17,4% un pētījumā par 23%. Tas liecina, ka iespējams, pēdējos gados tiek labāk kontrolēta amikacīna lietošana. Dati apkopoti 3.4.attēlā.



3.4.att. 2018. gada EARS-NET dati. *Acinetobacter spp.* invazīvo izolātu procentuālais skaits ar rezistenci pret aminoglikozīdiem

***A. baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017. un 2019.gadu pret ceftazidīmu**

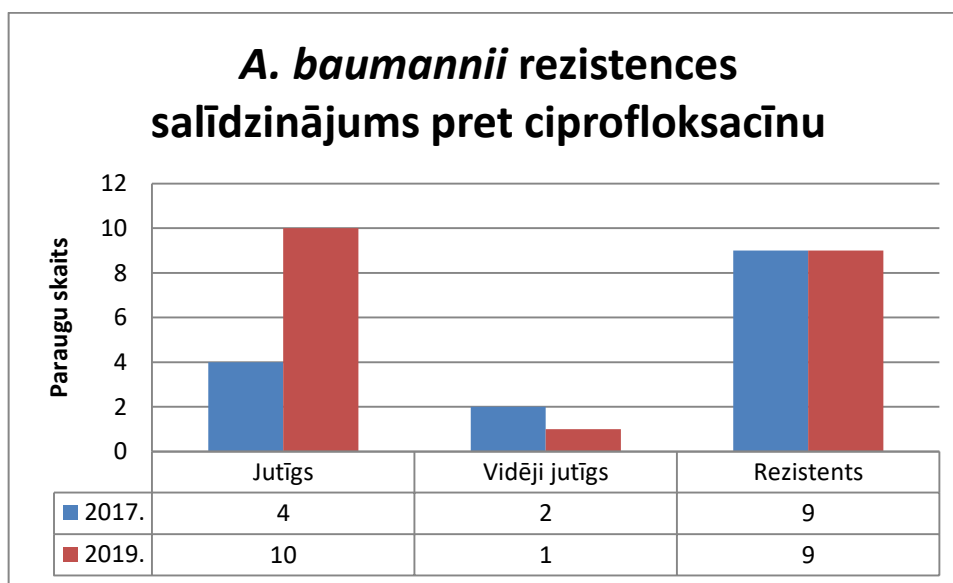
2017.gadā no 15 *A.baumannii* paraugiem jutīgi pret ceftazidīmu bija četri paraugi, kas bija 26,66%, vidēji jutīgs bija viens paraugs jeb 6,67% un rezistenti 10 paraugi jeb 66,67%. 2019. gadā no testētajiem 20 paraugiem jutīgi bija astoņi jeb 40%, vidēji jutīgs bija viens paraugs (5%), rezistenti bija 11 paraugi (55%). Salīdzinot abus gadus, jutība pret ceftazidīmu ir palielinājusies par 13,34%, vidējā jutība samazinājusies par 1,67%, bet rezistence samazinājusies par 11,67%. Rezultāti apkopoti 3.5.attēlā.



3.5.att. *A.baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017.gadu un 2019.gadu pret ceftazidīmu

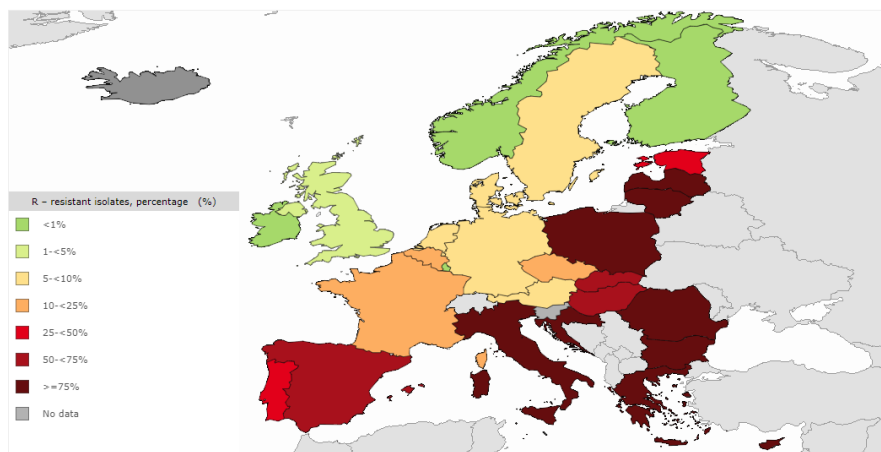
A. *baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017. gadu un 2019. gadu pret ciprofloksacīnu

Četri paraugi (26,67%) no 15 paraugiem 2017. gadā bija jutīgi pret ciprofloksacīnu, divi paraugi bija vidēji jutīgi (13,33%), bet rezistenti bija deviņi paraugi (60%). 2019. gadā no 20 *A.baumannii* paraugiem jutīgi bija 10 jeb 50%, vidēji jutīgs bija viens paraugs jeb 5%, bet rezistenti bija deviņi paraugi jeb 45%. Salīdzinot abus gadus, jutība pret ciprofloksacīnu ir samazinājusies par 23,33%, vidējā jutība samazinājusies par 8,33% un rezistence samazinājusies par 15%. Dati apkopoti 3.6. attēlā.



3.6. att. *A.baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017. gadu un 2019. gadu pret ciprofloksacīnu

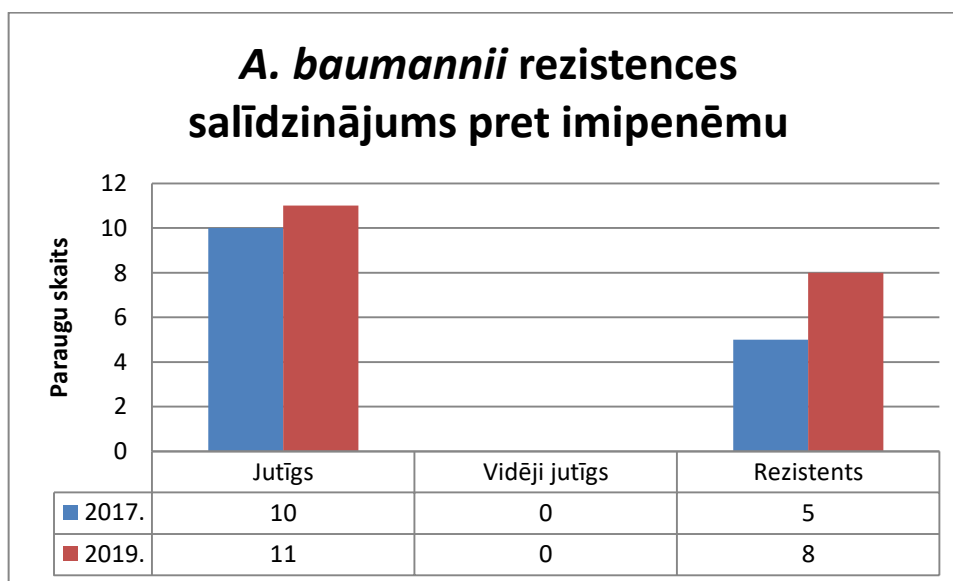
2018. gada EARS-NET dati liecina par to, ka rezistence pret fluorohinoloniem ir bijusi ļoti augsta, deviņās valstīs >75% no testētajiem izolātiem uzrādījuši rezistenci. Šajās valstīs ietilpst Grieķija, Kipra, Itālija, Horvātija, Bulgārija, Rumānija, Lietuva, Polija un Latvija. Visaugstākā rezistence novērota Horvātijā, kur no 155 izolātiem, rezistenti bijuši 149, kas ir 96,1%. 50-75% rezistenci no izolātiem uzrādījušas arī Spānija, Ungārija un Slovākija. Latvijā 2018. gadā, pēc EARS-NET datiem tika testēti 47 izolāti. 38 no tiem jeb 80,9% bija rezistenti (Surveillance report, 2018). 2016.gadā Latvijā no 68 izolātiem rezistenti bija 58 jeb 85,3% izolātu. Salīdzinot abus gadus, var secināt, ka rezistence pret fluorohinoloniem ir pieaugusi par 4,4%. Salīdzinot šos datus ar diplomdarba pētījuma datiem, var novērot nesakrītību, jo pētījumā tika iegūti dati, ka rezistence pret fluorohinoloniem ir samazinājusies par 15%, bet EARS-NET dati sniedz informāciju, ka rezistence ir pieaugusi par 4,4%. Datu atšķirība varētu rasties tādēļ, ka diplomdarbā tika izmantoti izolāti no elpceļiem, bet EARS-NET dati apkopoti, izmantojot invazīvos izolātus. Dati apkopoti 3.7.attēlā.



3.7. att. 2018.gada EARS-NET dati. *Acinetobacter spp.* invazīvo izolātu procentuālais skaits ar rezistenci pret fluorhinoloniem

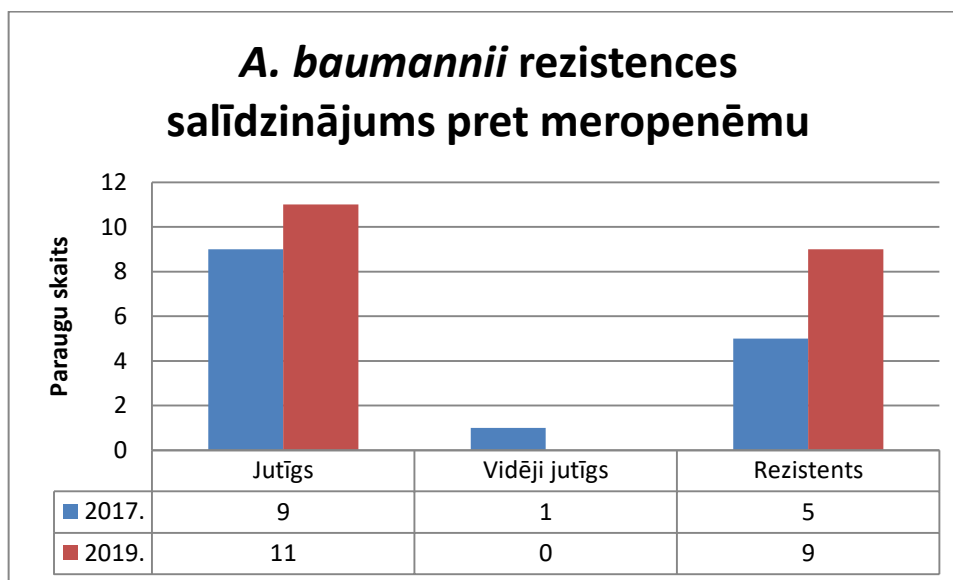
***A. baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017. un 2019. gadu pret imipenēmu un meropenēmu**

2017. gadā no 15 *A.baumannii* paraugiem 10 paraugi (66,67%) bija jutīgi pret imipenēmu, bet rezistenti pieci paraugi (33,33%). 2019. gadā no 19 paraugiem jutīgi bija 11 (57,89%), savukārt rezistenti astoņi (42,1%). Abos gados netika novērota vidēja jutība pret imipenēmu. Salīdzinot abus gadus, var konstatēt, ka jutība pret imipenēmu ir samazinājusies par 8,78%, savukārt rezistence ir pieaugusi par 8,77%. Dati apkopoti 3.8. attēlā.



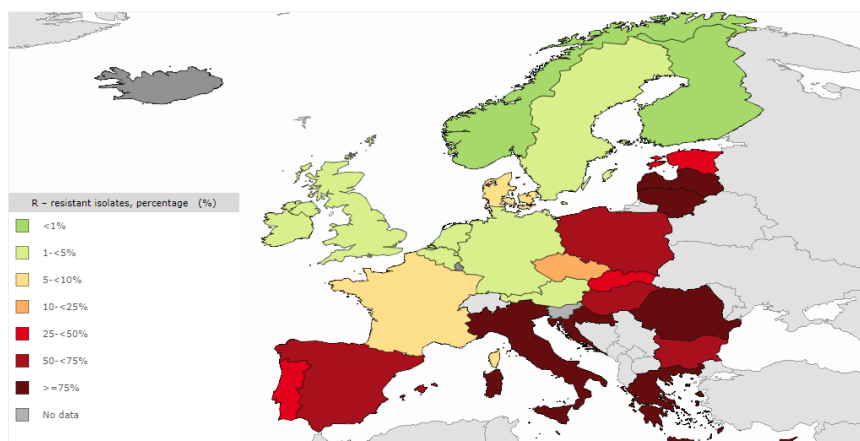
3.8.att. *A.baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017.gadu un 2019.gadu pret imipenēmu

2017. gadā no 15 paraugiem deviņi (60%) bija jutīgi pret meropenēmu. Viens paraugs (6,67%) bija vidēji jutīgs, bet rezistenti bija pieci paraugi (33,33%). 2019. gadā no 20 *A.baumannii* paraugiem jutīgi pret meropenēmu bija 11 (55%), bet rezistenti deviņi (45%). Netika novēroti vidēji jutīgi paraugi. Salīdzinot abus gadus, var spriest, ka jutība pret meropenēmu ir samazinājusies par 5%, bet rezistence palielinājusies par 11,67%. Dati apkopoti 3.9.attēlā.



3.9. att. *A.baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017.gadu un 2019.gadu pret meropenēmu

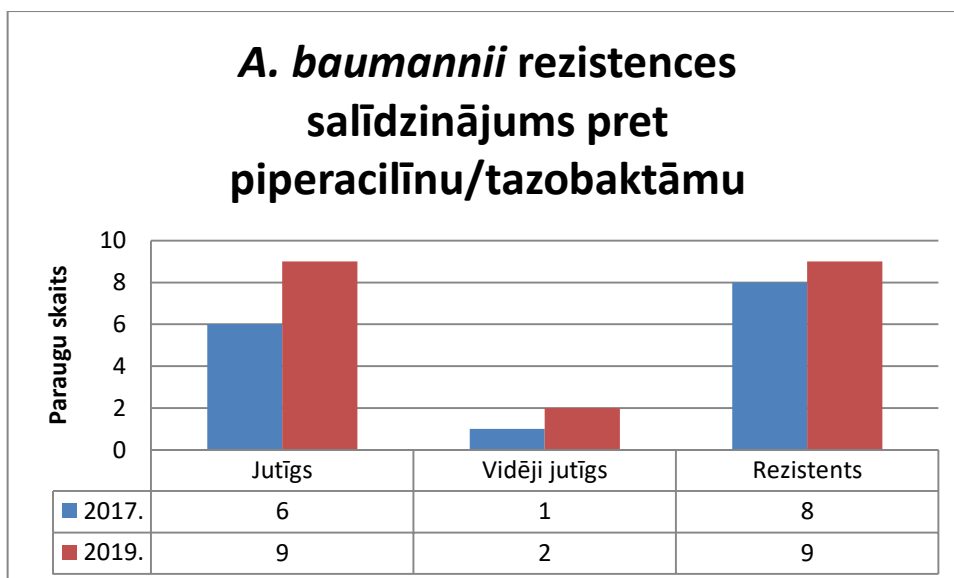
Pēc 2018. gada EARS-NET datiem var novērot, ka izplatība pret karbapenēmu rezistentajiem *P.aeruginosa* ir liela. Vislielākā rezistence tika novērota Horvātijā, kur no 155 izolātiem, rezistenti bija 148 (95,5%), Grieķijā (92,4%), Lietuvā (89,8%), Rumānijā (85,3%), Kiprā (84,2%), Itālijā (79,2%), bet Latvijā no 51 testētā izolāta rezistenti bija 40 jeb 78,4%. Liela rezistence (50-75%) tika novērota arī Spānijā, Bulgārijā, Ungārijā, Polijā (Surveillance report, 2018). Salīdzinot 2018. gada EARS-NET datus ar 2016. gada datiem, kur Latvijā no 82 izolātiem rezistenti pret karbapenēmiem bija 60 (73,2%), rezistence ir samazinājusies par 5,2%. Salīdzinot datubāzes rezultātus ar diplomdarbā apskatītajiem rezultātiem, kur rezistence pret imipenēmu pieauga par 8,77% un pret meropenēmu par 11,67%, novēro datu nesakrītību, jo pēc EARS-NET datiem rezistence samazinās, ko varētu skaidrot ar to, ka diplomdarbā pētītie paraugi tika iegūti no elpceļiem, bet EARS-NET dati liecina par invazīvajiem izolātiem. Dati apkopoti 3.10.attēlā.



3.10. att. 2018. gada EARS-NET dati. *Acinetobacter spp.* invazīvo izolātu procentuālais skaits ar rezistenci pret karbapenēmiem

***A. baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017. un 2019. gadu pret piperacilīnu/tazobaktāmu**

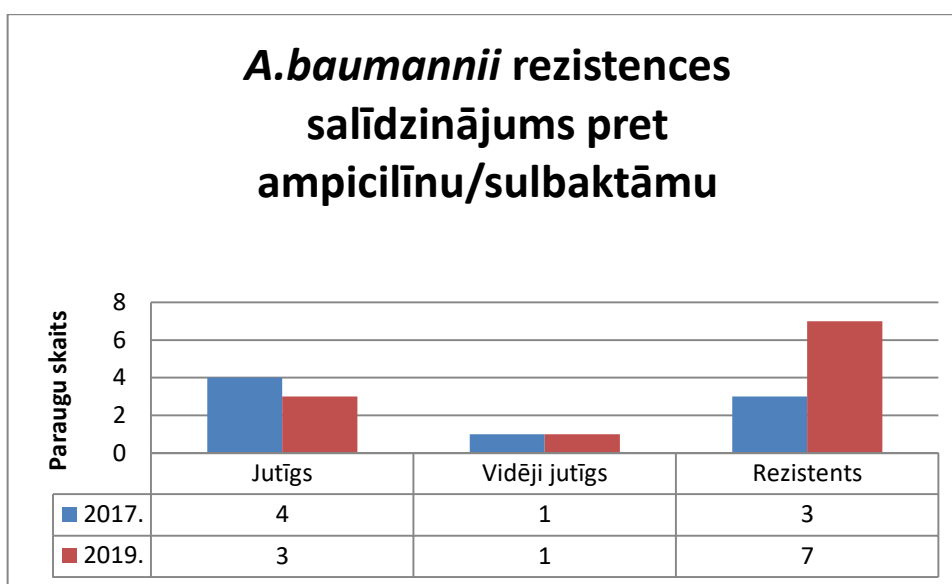
2017. gadā seši no 15 *A.baumannii* paraugiem jeb 40% bija jutīgi pret piperacilīnu/tazobaktāmu, viens paraugs (6,67%) bija vidēji jutīgs, bet astoņi paraugi bija rezistenti (53,33%). 2019. gadā no 20 paraugiem pret piperacilīnu/ tazobaktāmu jutīgi bija deviņi (45%), rezistenti deviņi paraugi (45%), bet vidēji jutīgi divi paraugi (10%). Salīdzinot abus gadus, jutība pret piperacilīnu/tazobaktāmu ir pieaugusi par 5%, vidējā jutība pieaugusi par 3,33%, bet rezistence samazinājusies par 8,33%. Dati apkopoti 3.11.attēlā.



3.11. att. *A.baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017.gadu un 2019.gadu pret piperacilīnu/tazobaktāmu

**A. baumannii rezistences salīdzinājums starp 2017. un 2019.gadu pret
ampicilīnu/sulbaktāmu**

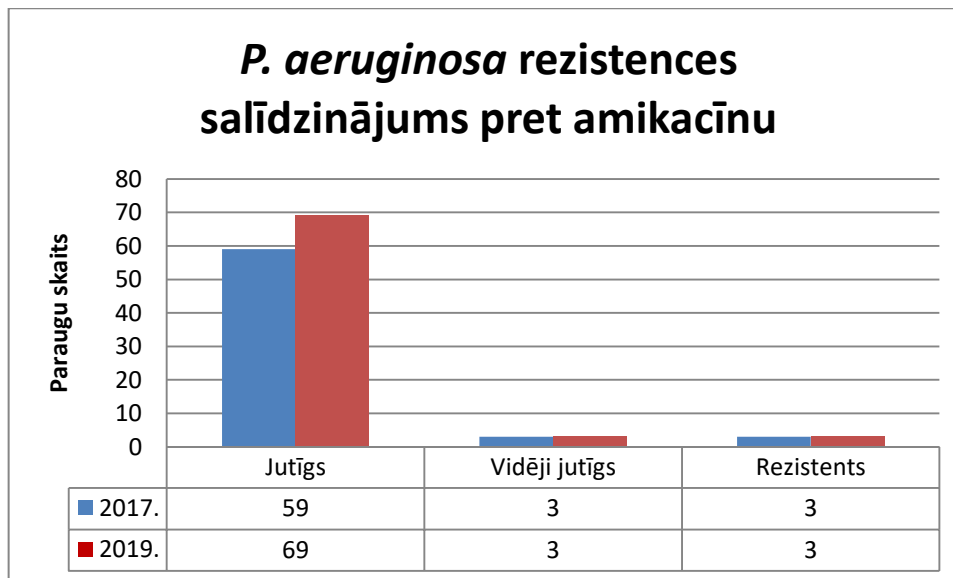
2017. gadā no astoņiem paraugiem, kas tika testēti pret ampicilīnu/sulbaktāmu, jutīgi bija četri (50%), vidēji jutīgs bija viens paraugs (12,5%), bet rezistenti trīs paraugi (37,5%). 2019. gadā no 11 *A.baumannii* paraugiem jutīgi bija trīs (27,27%), vidēji jutīgs viens paraugs (9,09%), bet rezistenti septiņi paraugi (63,63%). Salīdzinot abus gadus, var spriest, ka jutība pret ampicilīnu/sulbaktāmu ir samazinājusies par 22,73%, vidējā jutība samazinājusies par 3,41%, bet rezistence palielinājusies par 26,13 %. Dati apkopoti 3.12.attēlā.



3.12. att. *A.baumannii* rezistences salīdzinājums starp 2017.gadu un 2019.gadu pret ampicilīnu/sulbaktāmu

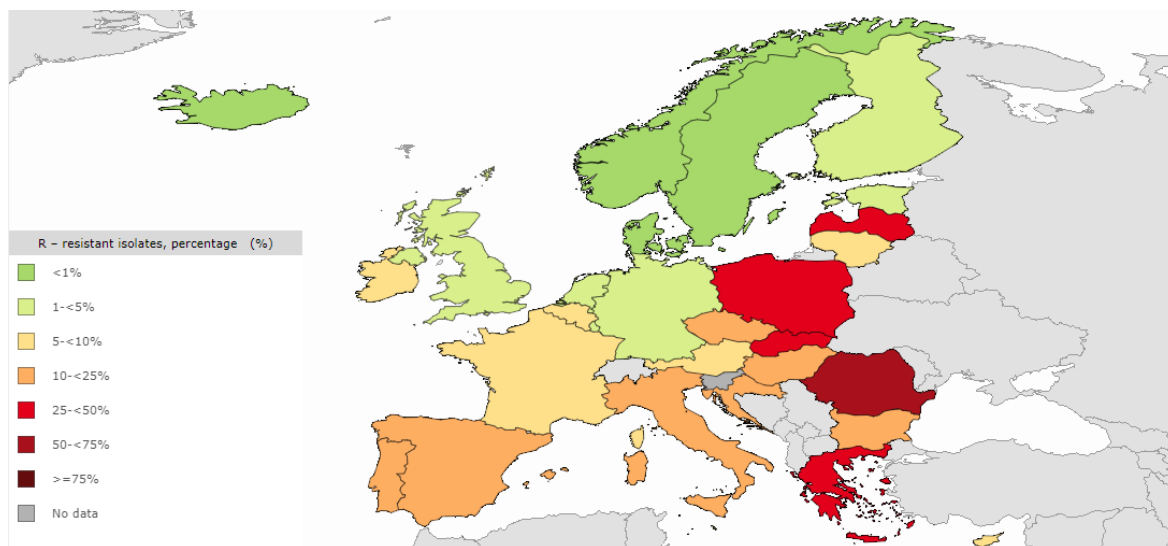
***P. aeruginosa* rezistences salīdzinājums starp 2017. un 2019. gadu pret amikacīnu**

2017. gadā pret amikacīnu tika testēti 65 *P.aeruginosa* paraugi. 59 paraugi, kas ir 90,77% , bija jutīgi pret šo antibakteriālo līdzekli, trīs paraugi jeb 4,69% bija vidēji jutīgi un trīs paraugi (4,69%) rezistenti. 2019. gadā no 75 paraugiem jutīgi bija 69 paraugi, kas ir 92%. Vidēji jutīgi bija trīs paraugi (4%) un rezistenti arī trīs paraugi (4%). Salīdzinot abus gadus, jutība ir palielinājusies par 1,23%. Vidējā jutība samazinājusies par 0,69%. Rezistence samazinājusies par 0,69%. (sk. 3.13.attēlu).



3.13.att. *P.aeruginosa* rezistences salīdzinājums starp 2017. gadu un 2019. gadu pret amikacīnu

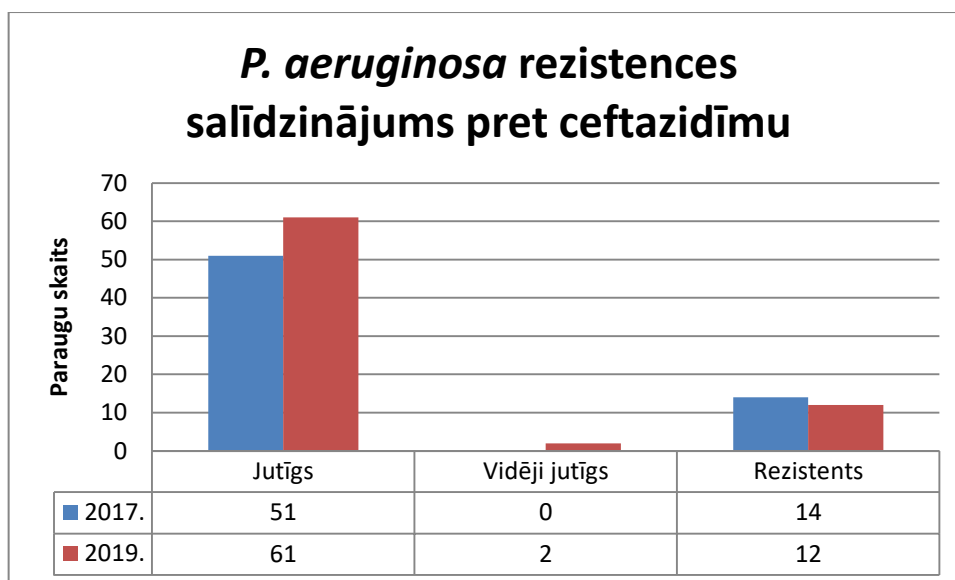
Pēc 2018. gada EARS-NET apkopotajiem datiem par *P.aeruginosa* rezistenci pret aminoglikozīdiem, var spriest, ka tā ir plaši izplatīta visā Eiropas Savienībā. Rezistence šajos pētījumos tika pētīta pret invazīvajiem izolātiem. Vislielākā rezistence pret aminoglikozīdiem tika novērota Rumānijā, kur no 146 testētajiem izolātiem 74 bija rezistenti (50,7%). Liels rezistento baktēriju skaits tika konstatēts arī Slovākijā (37,4%), Grieķijā (26,5%) un Polijā (26%). Latvijā tika noteikta rezistence pret 28,2% (11 no 39 izolātiem) paraugu. Vienīgā EEZ valsts, kurā netika novērota rezistence bija Islande. Salīdzinot EARS-NET 2016. gada datus ar 2018. gada datiem, *P.aeruginosa* rezistence pret aminoglikozīdiem Latvijā ir palielinājusies par 8,2 %. 2016.gadā no 15 izolātiem rezistenti bija tikai trīs (Surveillance report, 2018). Diplomdarba pētījumā tika noteikts, ka rezistence salīdzinot 2017. gadu un 2019. gadu ir samazinājusies par 0,69%. Ievērojamā atšķirība starp rezultātiem varēja rasties faktā, ka diplomdarbā tika pētīti paraugi no krēpām un bronhu atsūknējumiem, savukārt EARS-NET dati ir veidoti, balstoties uz invazīvajiem paraugiem. Dati apkopoti 3.14.attēlā.



3.14. att. 2018. gada EARS-NET dati. *P.aeruginosa* invazīvo izolātu procentuālais skaits ar rezistenci pret aminoglikozīdiem

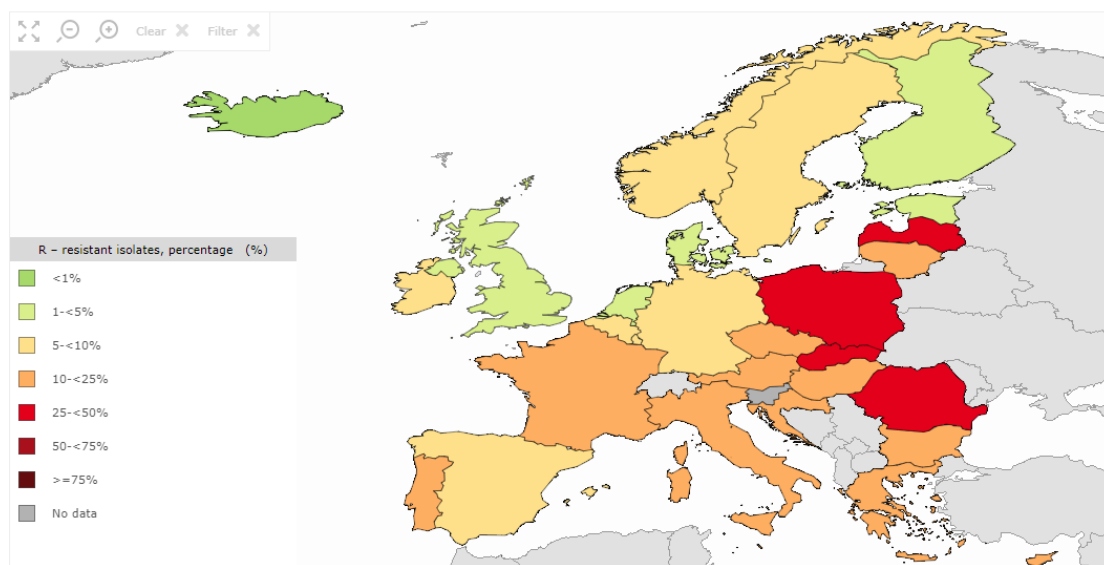
***P.aeruginosa* rezistences salīdzinājums starp 2017. un 2019.gadu pret ceftazidīmu**

2017. gadā no 65 paraugiem pret ceftazidīmu jutīgs bija 51 paraugs jeb 78,46%, savukārt 14 paraugi, kas ir 21,54%, bija rezistenti pret šo antibakteriālo līdzekli. Vidēji jutīgi paraugi 2017. gadā netika konstatēti. 2019. gadā no 75 paraugiem jutīgi pret ceftazidīnu bija 61 paraugs jeb 81,3%, vidēji jutīgi bija divi paraugi (2,66%) un rezistenti bija 12 paraugi, kas ir 16%. Salīdzinot abus gadus, jutība pret ceftazidīmu 2019. gadā ir palielinājusies par 2,84%, savukārt rezistence ir samazinājusies par 5,54%. Rezultāti apkopoti 3.15. attēlā.



3.15.att. *P.aeruginosa* rezistences salīdzinājums starp 2017.gadu un 2019.gadu pret ceftazidīmu

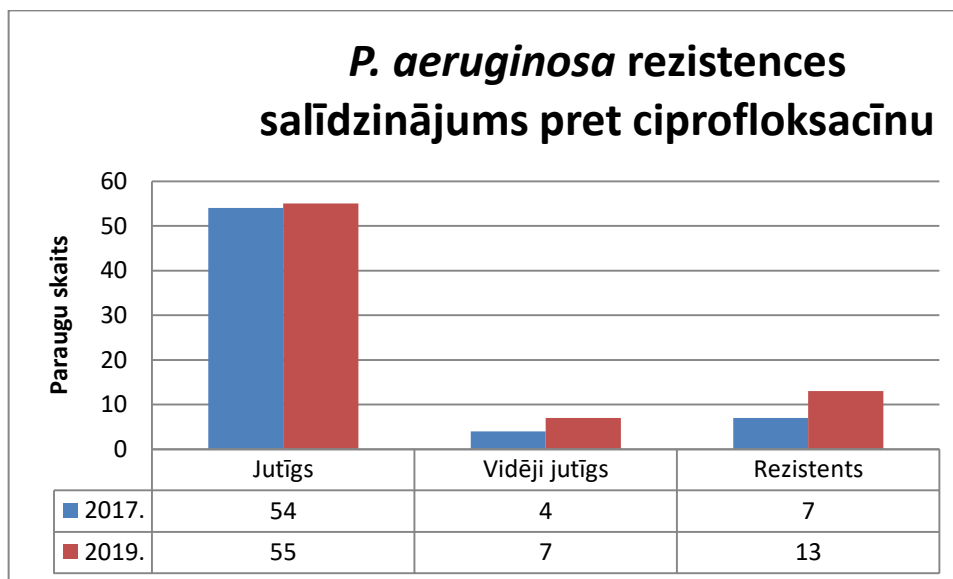
2018. gada EARS-NET dati par *P.aeruginosa* rezistenci pret ceftazidīnu sniedz informāciju, ka arī pret šo antibakteriālo līdzekli rezistence ir plaši izplatīta. Vislielākā rezistence Rumānijā, kur no 152 testētajiem izolātiem rezistenti bija 71, kas ir 46,7%. Vēl liela rezistence pret ceftazidīnu sastopama arī Slovākijā (32,1%), Polijā (26,9%) un Latvijā (33,3%). Latvijā no 39 izolātiem rezistenti bija 13 (Surveillance report, 2018). Salīdzinot EARS-NET 2016. gada un 2018. gada datus, rezistence pret ceftazidīnu Latvijā ir samazinājusies par 6,6%, jo 2016. gadā no 15 izolātiem, četri bija rezistenti, kas sastādīja 26,7%. Diplomdarba pētījumā tika noteikts, ka 2019.gadā no 75 paraugiem 12 bija rezistenti, kas ir 16%. Salīdzinot šo rezultātu ar 2017. gada rezistenci, kas bija 21,54%, rezistence ir samazinājusies par 5,54%. Pēc šiem datiem var spriest, ka kopējā tendence gan *P.aeruginosa* izolātiem diplomdarba pētījumā, kas ņemti no elpceļiem, gan invazīvajiem paraugiem no EARS-NET datiem, ir samazināties. Šādi dati liek secināt to, ka, iespējams, ceftazidīna lietošana pēdējos gados tiek labāk kontrolēta, kā rezultātā rezistence samazinās. Dati apkopoti 3.16. attēlā.



3.16. att. 2018.gada EARS-NET dati. *P.aeruginosa* invazīvo izolātu procentuālais skaits ar rezistenci pret ceftazidīmu

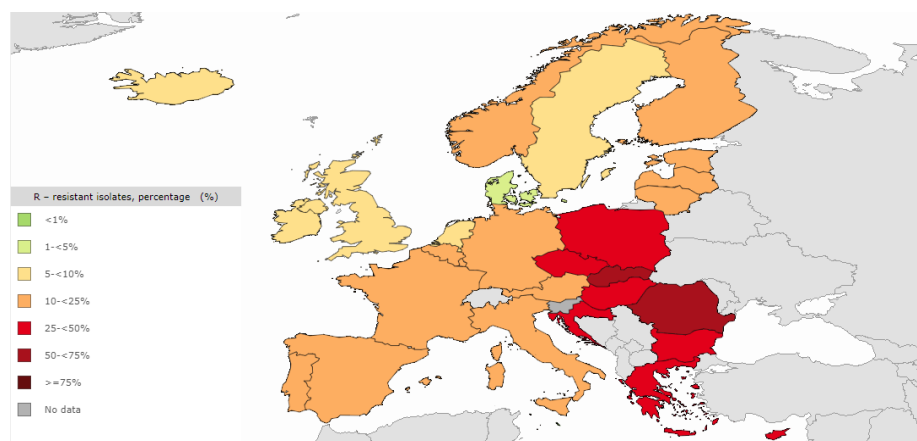
***P.aeruginosa* rezistences salīdzinājums starp 2017. un 2019.gadu pret ciprofloksacīnu**

2017. gadā 54 paraugi jeb 83,08% no 65 *P.aeruginosa* paraugiem bija jutīgi pret ciprofloksacīnu, vidēju jutību uzrādīja četri paraugi (6,15%), bet rezistenci septiņi paraugi (10,77%). 2019. gadā no 75 *P.aeruginosa* paraugiem 55 jeb 73,3% bija jutīgi, septiņi paraugi jeb 9,3% bija vidēji jutīgi un 13 jeb 17,33% bija rezistenti. Šajā gadā vislielākā rezistence tika novērota tieši pret ciprofloksacīnu. Salīdzinot 2017. gadu un 2019. gadu, jutība pret ciprofloksacīnu ir samazinājusies par 9,78%, bet rezistence ir pieaugusi par 6,56%. Rezultāti apkopoti 3.17.attēlā.



3.17.att. *P.aeruginosa* rezistences salīdzinājums starp 2017.gadu un 2019.gadu pret ciprofloksacīnu

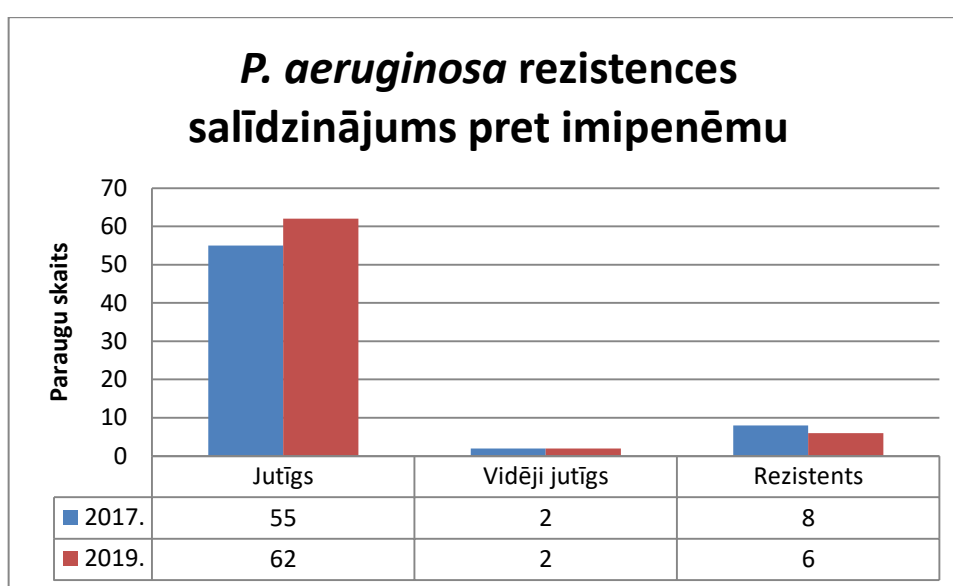
Pēc EARS-NET datiem, vislielākā rezistence pret fluorhinoloniem 2018. gadā bijusi Slovērijā (52,4%), kur no 252 testētajiem izolātiem rezistenti bijuši 132 un Rumānijā (52,3%), kur no 155 izolātiem rezistenti bija 81 jeb 52,3%. Liela rezistence sastopama arī Polijā (39,1%), Čehijā (33,4%), Grieķijā (33,1%), Bulgārijā (30%), Horvātijā (29%), Ungārijā (26%) un Kiprā (25,5%). Savukārt Latvijā rezistence pret fluorhinoloniem 2018. gadā bijusi 23,1%, kur no 39 baktēriju izolātiem rezistenti pret fluorhinoloniem bijuši deviņi. Salīdzinot 2016. gadu un 2018.gadu no EARS-NET datiem, Latvijā rezistence pret fluorhinoloniem ir palielinājusies par 8,2%, jo no 2016. gadā testētajiem 16 paraugiem, pieci bijuši rezistenti. Diplomdarba pētījumā, salīdzinot 2017. gadu un 2019.gadu tika iegūti dati, kas liecināja, ka rezistence pret ciprofloksacīnu ir pieaugusi par 6,56%. Salīdzinot diplomdarba datus ar EARS-NET datiem, kas ir attiecīgi rezistences pieaugums par 6,56% un 8,2%, ir novērojama līdzīga tendence.



3.18. att. 2018.gada EARS-NET dati. *P.aeruginosa* invazīvo izolātu procentuālais skaits ar rezistenci pret fluorhinoloniem

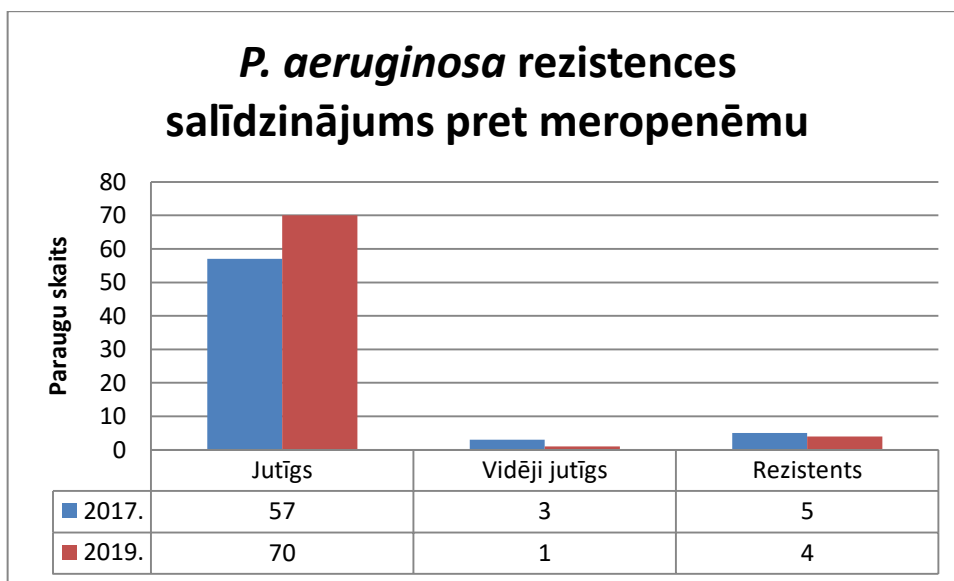
***P.aeruginosa* rezistences salīdzinājums starp 2017. un 2019.gadu pret imipenēmu un meropenēmu**

No 65 paraugiem 2017. gadā jutīgi pret imipenēmu bija 55, kas ir 84,62%, vidēji jutīgi bija divi paraugi (3,03%), bet rezistenti astoņi paraugi (12,12%). 2019. gada datus tika iegūta informācija, ka jutīgi pret imipenēmu no 70 paraugiem bija 62 (88,57%), vidēji jutīgi bija 2 paraugi (2,85%), savukārt rezistenti bija seši paraugi, kas ir 8,57%. Salīdzinot abus gadus, jutība pret imipenēmu ir palielinājusies par 3,95%, vidēji jutīgo paraugu skaits ir samazinājies par 0,18%, savukārt rezistence ir samazinājusies par 3,55%. Rezultāti apkopoti 3.19. attēlā.



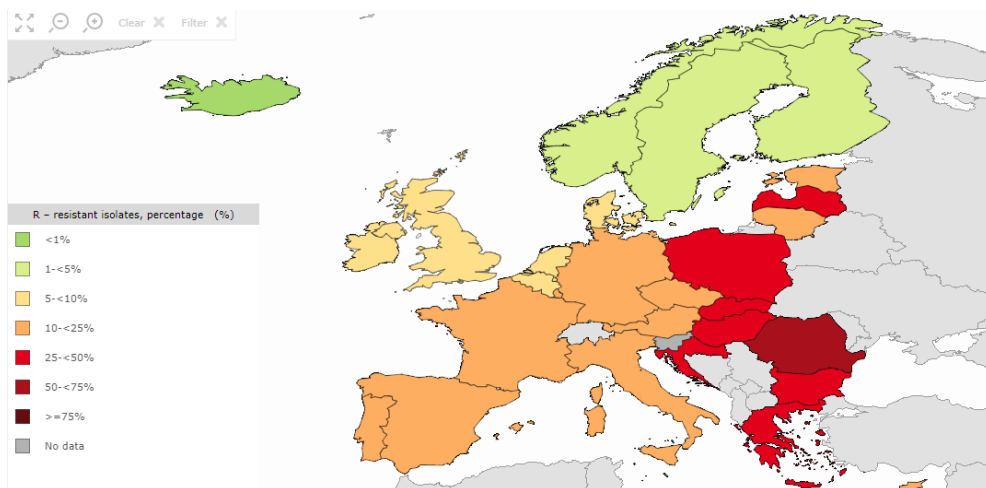
3.19.att. *P.aeruginosa* rezistences salīdzinājums starp 2017.gadu un 2019.gadu pret imipenēmu

2017. gadā no pētītajiem 65 paraugiem jutīgi pret meropenēmu bija 57, kas ir 87,69%, vidēji jutīgi bija trīs paraugi (4,62%) un rezistenti pieci paraugi (7,69%). 2019. gadā no 75 paraugiem, kas tika testēti pret meropenēmu, jutīgi bija 70 (93,3%), vidēji jutīgs bija viens paraugs (1,33%), bet rezistenti 4 paraugi (5,33%). Salīdzinot šos rezultātus, jutība pret meropenēmu ir pieaugusi par 5,61%. Vidējā jutība ir samazinājusies par 3,29%. Rezistence pret šo antibakteriālo līdzekli ir samazinājusies par 2,36%. Rezultāti apkopoti 3.20.attēlā.



3.20.att. *P.aeruginosa* rezistences salīdzinājums starp 2017.gadu un 2019.gadu pret meropenēmu

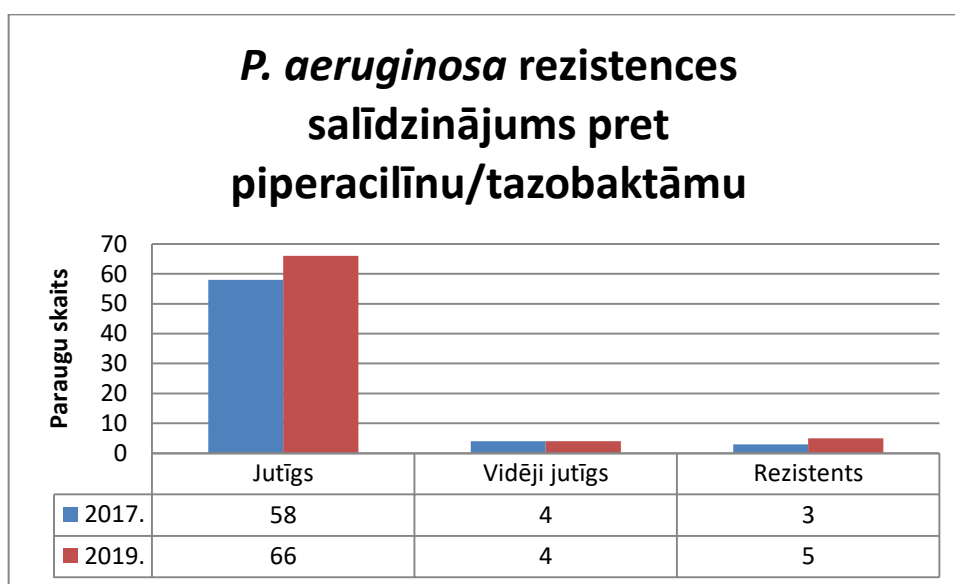
2018. gada EARS-NET dati sniedz informāciju par to, ka *P.aeruginosa* ir plaši izplatīta un ar augstu rezistenci lielā Eiropas daļā. Vislielākā rezistence pret karbapenēmiem novērojama Rumānijā, kur no 156 testētajiem izolātiem 86 jeb 55,1 % bija rezistenti. Augsta rezistence tika novērota arī Slovākijā, kur tā sasniedza 44%, Grieķijā (37,5%), Ungārijā (37,3%), Polijā (33,2%), Horvātijā (27,6%), Bulgārijā (25,6%). Islandē *P.aeruginosa* rezistence pret karbapenēmiem netika konstatēta. Pēc EARS-NET datiem, Latvijā *P.aeruginosa* rezistence pret karbapenēmiem 2018. gadā bija 28,2%, jo no 39 invazīvajiem izolātiem, rezistenci uzrādīja 11 paraugi. Salīdzinot šos datus ar EARS-NET 2016. gada datiem, rezistence pret karbapenēmiem Latvijā ir nedaudz samazinājusies, jo 2016. gadā tika uzrādīta 31,3% rezistence, kurā no 16 izolātiem rezistenti bija pieci. Salīdzinot šos datus ar diplomdarba pētījuma datiem, var spriest par to, ka rezistence pret karbapenēmiem - imipenēmu un meropenēmu-gan paraugos no elpceļiem, gan 2016. gada un 2018. gada EARS-NET datiem par invazīvajiem paraugiem, ir samazinājusies.



3.21. att. 2018. gada EARS-NET dati. *P.aeruginosa* invazīvo izolātu procentuālais skaits ar rezistenci pret karbapenēmiem

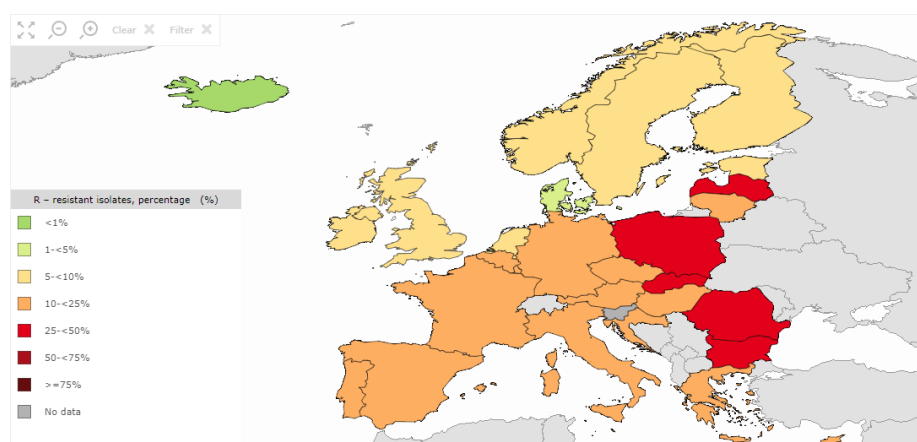
***P.aeruginosa* rezistences salīdzinājums starp 2017. un 2019.gadu pret piperacilīnu/tazobaktāmu**

89,23%, jeb 58 no 65 paraugiem 2017. gadā bija jutīgi pret piperacilīnu/tazobaktāmu. Vidēji jutīgi bija četri paraugi jeb 6,15% , bet rezistenti bija trīs paraugi (4,62%). 2019. gadā no 75 paraugiem jutīgi bija 66 jeb 88%, vidēji jutīgi bija 4 paraugi, kas ir 5,33%, un rezistenti- pieci paraugi, kas veido 6,66% no visiem *P.aeruginosa* paraugiem. Salīdzinot abus gadus, var secināt, ka jutība pret piperacilīnu/tazobaktāmu ir samazinājusies par 1,23%, savukārt rezistence pieaugusi par 2,04%. Dati apkopoti 3.22. attēlā.



3.22.att. *P.aeruginosa* rezistences salīdzinājums starp 2017.gadu un 2019.gadu pret piperacilīnu/tazobaktāmu

Apskatot EARS-NET 2018. gada datus par *P.aeruginosa* rezistenci pret piperacilīnu/tazobaktāmu Eiropā un EEZ valstīs, var spriest, ka problēmas izplatība nav pārāk liela. Vislielākā rezistence pret piperacilīnu/tazobaktāmu tika novērota Rumānijā - 43,3%, kur no 138 invazīvajiem izolātiem rezistenti bija 68, liela rezistence tika novērota arī Polijā un Slovākijā - abās pa 36,9% un Bulgārijā 32,6%. Arī Latvijā ir liels rezistentu izolātu daudzums- 35,9%, kur no 39 izolātiem rezistenti bija 14 (Surveillance report, 2018). Salīdzinot šos datus ar 2016. gada EARS-NET datiem, rezistence pret piperacilīnu/tazobaktāmu ir pieaugusi par 9,2%. 2016. gadā no 15 izolātiem rezistenti bija četri. Salīdzinot šos datus ar diplomdarbā iegūtajiem, var spriest, ka rezistence pret piperacilīnu/tazobaktāmu pieaug gan pētījumā par invazīvajiem izolātiem, gan pret elpceļu izolātiem.



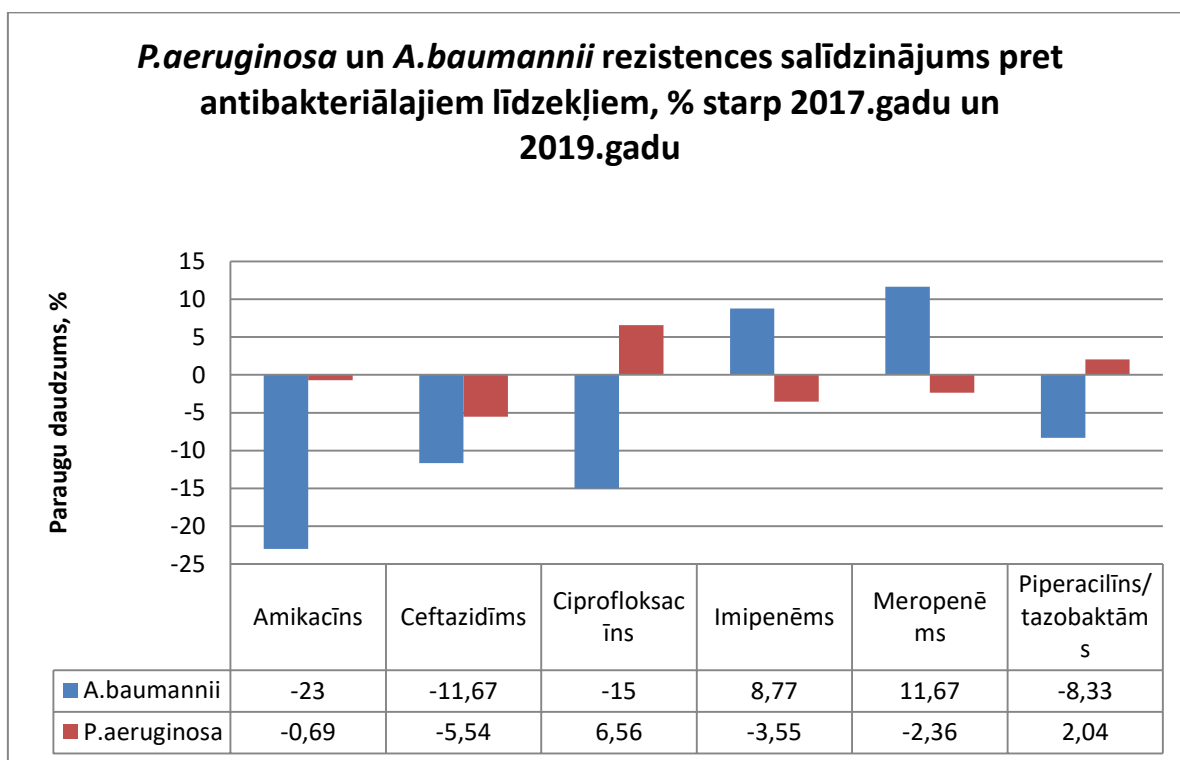
3.23. att. 2018.gada EARS-NET dati. *P.aeruginosa* invazīvo izolātu procentuālais skaits ar rezistenci pret piperacilīnu/tazobaktāmu

Apkopojot datus par *A.baumannii* un *P.aeruginosa* rezistenci pret antibakteriālajiem līdzekļiem 2017. gadā un 2019. gadā, abām baktērijām ir novērojama gan rezistences palielināšanās, gan samazināšanās. Apskatot *A.baumannii*, rezistence divu gadu laikā ir palielinājusies pret karbapenēmiem - imipenēmu un meropenēmu, bet lielākoties rezistence ir samazinājusies - pret amikacīnu, ciprofloksacīnu, ceftazidīmu, piperacilīnu/tazobaktāmu.

P.aeruginosa rezistence divu gadu laikā ir palielinājusies pret ciprofloksacīnu un piperacilīnu/tazobaktāmu, bet samazinājusies pret četriem antibakteriālajiem līdzekļiem, tas ir amikacīnu, ceftazidīmu un karbapenēmiem- imipenēmu un meropenēmu.

Salīdzinot šos datus ar Lindas Alksnes 2018. gadā izstrādāto bakalaura darbu par *P.aeruginosa* un *A.baumannii* rezistences noteikšanu, arī var vērot atšķirību. Salīdzinot 2016. gada un 2017. gada datus par rezistenci pret antibakteriālajiem līdzekļiem, *A.baumannii* uzrādīja rezistences pieaugumu pret visiem antibakteriālajiem līdzekļiem. *P.aeruginosa* uzrādīja rezistences pieaugumu pret ceftazidīmu, amikacīnu, piperacilīnu/tazobaktāmu, bet

rezistences samazinājumu pret ciprofloksacīnu un karbapenēmiem- imipenēmu un meropenēmu. (Alksne, 2018). Izvērtējot antibakteriālās rezistences samazināšanās tendenci tas liek domāt, ka ārstu praksēs un slimnīcās tiek rūpīgāk izvērtēta antibakteriālo līdzekļu lietošanas nepieciešamība. Vērtīgus ieteikumus sniedz arī Ministru kabineta rīkojums Nr. 402 “Par Antimikrobiālās rezistences ierobežošanas un piesardzīgas antibiotiku lietošanas plānu “Viena veselība” 2019.-2020. gadam. Baktēriju rezistences salīdzinājums starp 2017. gadu un 2019. gadu apkopots 3.24. attēlā.



3.24. att. *P.aeruginosa* un *A.baumannii* rezistences salīdzinājums pret antibakteriālajiem līdzekļiem, %, starp 2017.gadu un 2019.gadu (“-“-samazinājums par attiecīgiem %)

3.2. *A.baumannii* un *P.aeruginosa* izolātu fenotipi

Lai noteiktu 2019.gadā iegūto *A. baumannii* un *P.aeruginosa* izolātu fenotipus, tika apkopotas antibiogrammas ar antibakteriālo līdzekļu jutības testu rezultātiem, kas tika iegūti no disku difūzijas testa un E-testa (skat.3.1.tabulu).

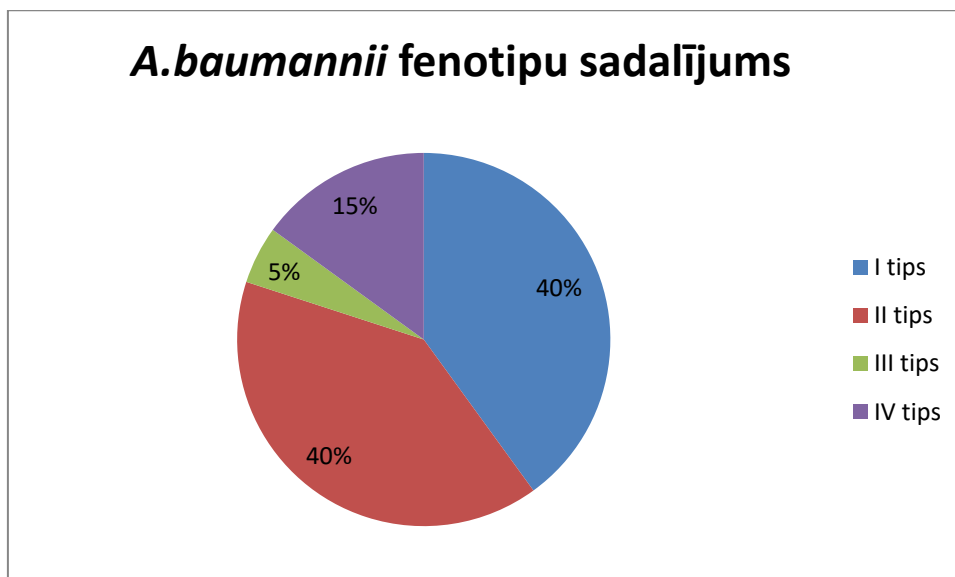
A.baumannii fenotipi 2019.gadā pēc to jutības pret antibakteriālajām vielām

	I (n-8)	II (n-8)	III (n-1)	IV (n-3)
Amikacīns	S	R	S	S
Ceftazidīms	S	R	R	R
Ciprofloksacīns	S	R	R	S
Imipenēms	S	R	R	S
Meropenēms	S	R	R	S
Piperacilīns/tazobaktāms	S	R	R	S

Apkopojot antibiogrammas, kurās tika noteikta *A.baumannii* jutība pret antibiotikām, tika noteikti četri fenotipi. Testētie paraugi tika iedalīti trīs grupās - jutīgi (S), vidēji jutīgi (I) un rezistenti (R). Vidēji jutīgie paraugi, atkarībā no to uzrādītās rezistences robežas, tika pieskaitīti vai nu sensitīviem, vai rezistentiem paraugiem. No 20 *A.baumannii* paraugiem astoņi (40%) bija jutīgi pret visām antibiotiskajām vielām, kas ir I fenotips. II fenotipā ietilpa astoņi paraugi (40%), kas uzrādīja multirezistenci pret sešām antibakteriālajām vielām – amikacīnu, ceftazidīmu, ciprofloksacīnu, imipenēmu, meropenēmu un piperacilīnu/tazobaktāmu. III fenotipā ietilpa viens paraugs (5%), kas uzrādīja kombinēto rezistenci pret piecām vielām - ceftazidīmu, ciprofloksacīnu, imipenēmu, meropenēmu, piperacilīnu/tazobaktāmu, uzrādot jutību tikai pret amikacīnu. IV *A.baumannii* fenotipam pieder trīs paraugi (15%), kas uzrādīja rezistenci tikai pret ceftazidīnu, pret pārējiem antibakteriālajiem līdzekļiem tika novērota jutība. Paraugi, kuri uzrādīja jutību pret visiem antibakteriālajiem līdzekļiem, tika testēti arī pret kolistīnu. Visos šajos gadījumos paraugi pret kolistīnu bija jutīgi. Kombinētā rezistence tika novērota deviņiem paraugiem, kas ir 45%.

Salīdzinot šo rādītāju ar 2017.gadā iegūto rādītāju, kur *A.baumannii* uzrādīja 60% kombinēto rezistenci, var novērot, ka tā samazinās (Alksne, 2018). *A.baumannii* fenotipu sadalījums 2019. gadā apkopots 3.25.attēlā.

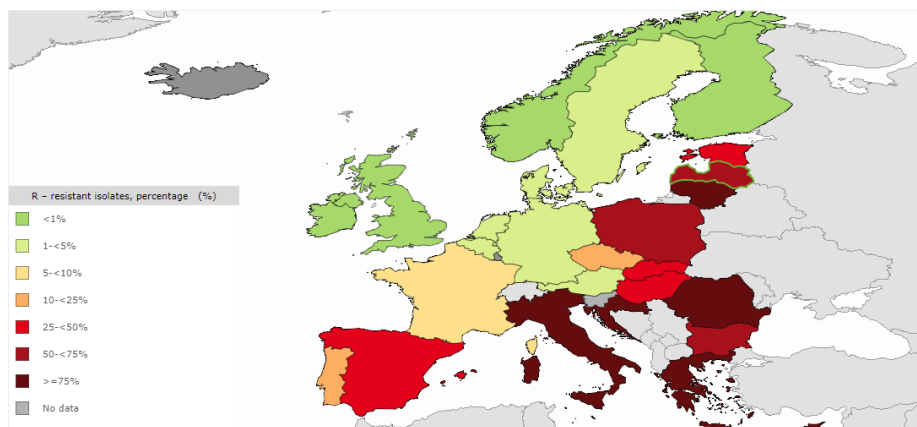
***A.baumannii* fenotipu sadalījums**



3.25. att. *A.baumannii* fenotipu sadalījums 2019.gadā

Apskatot EARS-NET 2018. gada datus par kombinēto *A.baumannii* rezistenci Eiropā un Eiropas Ekonomikas zonas valstīs, vislielākā rezistence tika novērota Horvātijā, kur no 153 izolātiem kombinēto rezistenci uzrādīja 139, kas ir 90,8%, ievērojama rezistence tika novērota arī Lietuvā - 85,1% gadījumu, Grieķijā - 81,3% gadījumu, Kiprā - 78,2%, Rumānijā 77,6%, Itālijā 75,7%. 50-75% kombinēto rezistenci sasniedz arī Bulgārija, Polija un Latvija. Latvijā 2018. gadā no 44 izolātiem kombinēto rezistenci uzrādīja 25, kas ir 56,8% (Surveillance, 2018). Salīdzinot 2018. gadu ar 2016. gadu, rezistence Horvātijā ir pieaugusi par 9,7%, Lietuvā pieaugusi par 9,2%, Grieķijā samazinājusies par 2,7%, Kiprā palielinājusies par 21,1%, Rumānijā samazinājusies par 5,3%, bet Itālijā palielinājusies par 1%. Pēc EARS-NET datiem Latvijā divu gadu laikā kombinētā rezistence ir samazinājusies par 10,4%, jo 2016. gadā tika novērota 62,7% rezistence.

Salīdzinot diplomdarbā iegūtos datus ar EARS-NET 2018. gada datiem, iegūtie diplomdarba rezultāti par *A.baumannii* multirezistenci (56.8%) iekļaujas Eiropas pētījumā noteiktajos 50-75% kombinētās rezistences gadījumā.



3.26. att. 2018.gada EARS-NET dati. *A.baumannii* invazīvo izolātu procentuālais ar kombinēto rezistenci (trīs vai vairāk antibakteriālās līdzekļu grupas- aminoglikozīdi, fluorhinoloni, ceftazidīms, piperacilīns/tazobaktāms un karbapenēmi)

2018.gadā Zagazigas Universitātes slimnīcā (Ēģiptē) veica pētījumu, kur tika testēti 50 *A.baumannii* un 43 *P.aeruginosa* paraugi no 2017.gada jūlija līdz decembrim. Ar PCR metodi tika noteikts baktēriju bla gēns, kas ir atbildīgs par karbapenēmu rezistenci. 30 jeb 60% *A.baumannii* izolātu un bija un 22 (51%) *P.aeruginosa* izolātu bija karbapenēmu rezistenti. PCR rezultāti parādīja, ka biežākais rezistences gēns *blaOXA-23* ir sastopams 90% izolātu, kam seko *bla NDM-* 66,7% gadījumu *bla GES-*50% gadījumu (Ramadan et al., 2018). Diplomdarba ietvaros, lai izpētītu karbapenēmu rezistenci, būtu interesanti pielietojot PCR metodi, noteikt, vai šajos izolātos arī bija sastopams *blaOXA-23*.

Kādā 2019. gadā publicētā pētījumā tika noskaidrots, ka *A.baumannii* kombinētā rezistence ir saistīta arī ar spēju veidot biofilmas. Tika novērota korelācija starp *A.baumannii* biofilmu veidošanā iesaistītajiem gēniem (*bap*, *bla PER-1*, *csuE*, *ompA* proteīniem), kombinēto rezistenci un biofilmu veidošanu. (Yang et al., 2019)

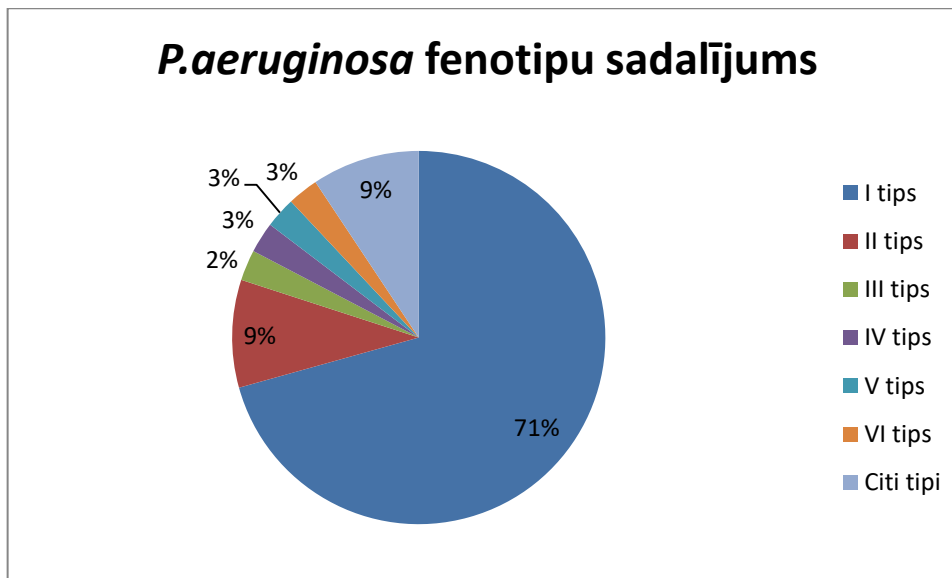
P.aeruginosa fenotipu sadalījums pēc rezistences pret antibakteriālajiem līdzekļiem 3.2.tabulā.

***P.aeruginosa* biežākie fenotipi, atkarībā no to jutības pret antibiotikām**

	I (n-53)	II (n-7)	III (n-2)	IV (n-2)	V (n-2)	V (n-2)
Amikacīns	S	S	R	S	S	S
Ceftazidīms	S	R	S	R	S	R
Ciprofloksacīns	S	R	R	S	S	R
Imipenēms	S	S	R	S	R	S
Meropenēms	S	S	R	S	S	S
Piperacilīns/tazobaktāms	S	S	S	R	S	R

P.aeruginosa izolāti pēc to augšanas zonas tika iedalīti jutīgos (S), vidēji jutīgos (I) un rezistentos (R) paraugos. Vidēji jutīgie paraugi atkarībā no to jutības vērtības robežām tika pieskaitīti pie jutīgiem vai rezistentiem paraugiem. 2019. gadā visbiežāk sastopamais bija I fenotips, kurā ietilpa 53 paraugi (70,6%), kas ir jutīgi pret visām antibakteriālajām vielām. Pie II fenotipa pieder septiņi izolāti (9,33%), kuriem bija rezistence pret ceftazidīmu un ciprofloksacīnu. Pie III fenotipa pieder divi paraugi (2,66%), kas ir rezistenti pret ceftazidīmu un piperacilīnu/tazocīnu, pie IV fenotipa pieder divi paraugi (2,66%), kuri ir rezistenti pret imipenēmu, bet jutīgi pret pārējām antibakteriālajām vielām. Pie V fenotipa pieder divi paraugi (2,66%), kuri ir rezistenti pret amikacīnu, ciprofloksacīnu un karbapenēmiem - imipenēmu un meropenēmu. Pie VI fenotipa arī pieder divi paraugi (2,66%), kuri ir rezistenti pret ceftazidīmu, ciprofloksacīnu un tazobaktāmu. Atlikušie septiņi paraugi (9,33%) katrs uzrādīja dažādu rezistenci pret atsevišķām antibiotikām vai antibiotiku kombinācijām. Viens paraugs (1,33%) uzrādīja rezistenci pret amikacīnu, ceftazidīmu, ciprofloksacīnu, viens pret ceftazidīmu, ciprofloksacīnu, meropenēmu un piperacilīnu/tazobaktāmu, viens pret ciprofloksacīnu, viens pret ceftazidīmu, ciprofloksacīnu, imipenēmu, meropenēmu, viens pret amikacīnu, viens pret piperacilīnu/tazobaktāmu un viens pret amikacīnu, imipenēmu. Kopumā multirezistenci (rezistence pret trīs un vairāk antibakteriālajām vielām) uzrādīja septiņi paraugi (9,33%).

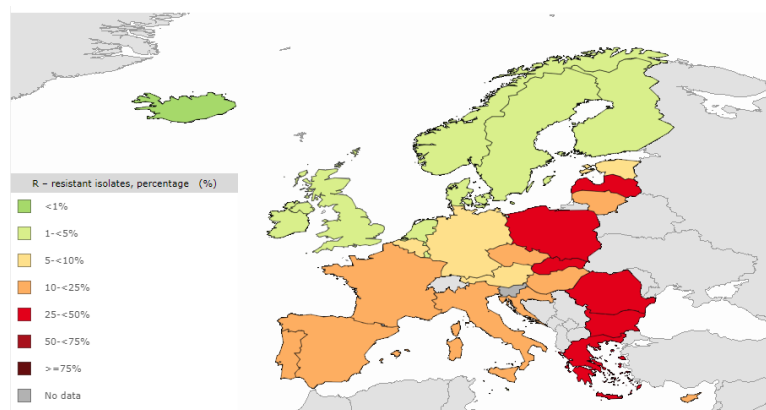
Salīdzinot šo rezultātu ar 2017.gadā konstatēto multirezistento *P.aeruginosa* daudzumu (9,23%) (Alksne, 2018), nav novērojama liela starpība, kas nozīmē, ka multirezistence saglabājas esošajā līmenī. *P.aeruginosa* fenotipu sadalījums apkopots 3.27.attēlā.



3.27. att. *P.aeruginosa* fenotipu sadalījums 2019.gadā

Pēc 2018. gada EARS-NET datiem var spriest, ka kombinētā rezistence ir izplatīta problēma Eiropā un Eiropas Ekonomiskās zonas valstīs. Visvairāk kombinētā rezistence pret *P.aeruginosa*, kas ir rezistence pret aminoglikozīdiem, fluorhinoloniem, ceftazidīmu, piperacilīnu/tazobaktāmu un karbapenēmiem, ir novērojama sešās valstīs, kurās rezistentu izolātu skaits ir robežās no 25-50% gadījumu. Vislielākā rezistence ir Rumānijā, kur no 154 testētajiem izolātiem kombinēto rezistenci uzrādīja 76 izolāti, kas ir 49,4%. Liels rezistentu izolātu daudzums sastopams arī Slovākijā - 35,9%, Polijā -29,4%, Grieķijā - 28,7%, un Bulgārijā - 25,6%. Salīdzinot 2018. gada un 2016. gada Eiropas datus, novērojama gan rezistences palielināšanās, gan samazināšanās dažādās valstīs. Rumānijā rezistence pieaugusi par 0,5%, kur 2016. gadā no 90 izolātiem rezistenti bija 44. Slovākijā rezistence pieaugusi par 2%, Polijā par 8,8%, Grieķijā samazinājusies par 2,7%, Bulgārijā samazinājusies par 10,1% (Surveillance, 2018).

Arī Latvijā kombinētā rezistence pēc EARS-NET datiem sasniedz augstu līmeni, kur no 39 testētajiem izolātiem 2018. gadā 12 (30,8%) uzrādīja rezistenci, savukārt 2016. gadā Latvijā no 16 testētajiem izolātiem rezistenti bija trīs, kas ir 18,8%, kas nozīmē, ka kombinētā rezistence ir palielinājusies par 12%. Salīdzinot šos datus, ar diplomdarbā iegūtajiem, kur multirezistenci uzrādīja 9,33% izolātu, diplomdarba rādītājs ir mazāks, nekā EARS-NET noteiktais.



3.28. att. 2018. gada EARS-NET dati. *P.aeruginosa* invazīvo izolātu procentuālais ar kombinēto rezistenci (trīs vai vairāk antibakteriālās līdzekļu grupas- aminoglikozīdi, fluorhvinoloni, ceftazidīms, piperacilīns/tazobaktāms un karbapenēmi)

2015. gadā veiktajā pētījumā, kur tika testēti 58 *P.aeruginosa* izolāti, kas ņemti no urīna paraugiem, asins paraugiem un bronhu aspirātiem, paraugi tika testēti pret 12 dažādām antibiotiskajām vielām. Multirezistence tika novērota 37,9 % gadījumu (Ochoa et al., 2015).

Apskatot EARS-NET datus, var novērot, ka Eiropā nav viendabīga tendence multirezistencei palielināties vai samazināties. Tas ir atkarīgs no dažādiem faktoriem - valsts, slimnīcām, un it sevišķi infekciju kontroles. Lai sniegtu pilnīgāku informāciju par antibakteriālo rezistenci un multirezistenci Latvijā, būtu nepieciešams izpētīt vairāku slimnīcu datus, kā arī apkopot informāciju par vairākiem gadiem.

Fenotipēšana palīdz sagrupēt izolātus atkarībā no to jutības pret antibakteriālajiem līdzekļiem, kas ļauj izvēlēties pēc iespējas atbilstošākus antibakteriālos līdzekļus.

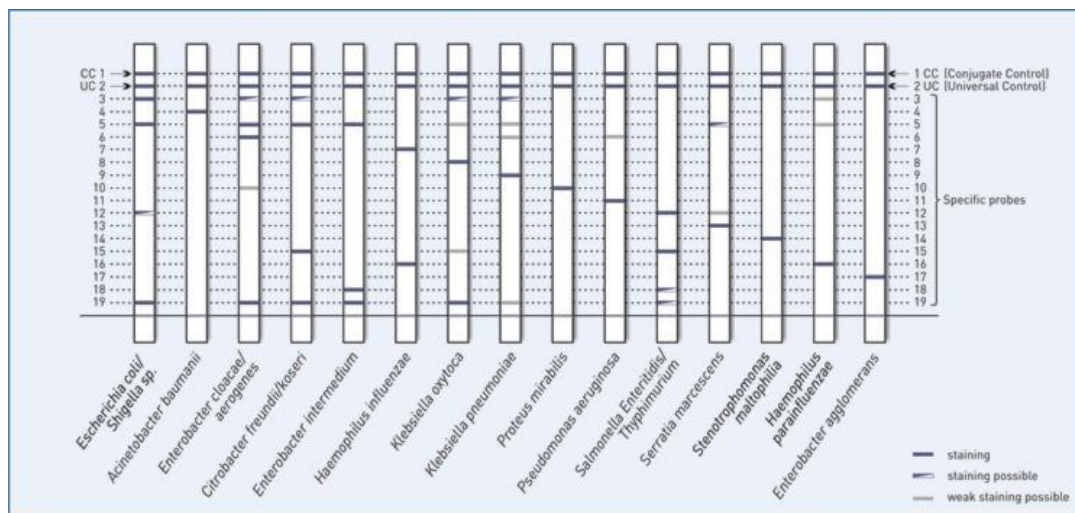
3.3. Gram-negatīvo baktēriju identificēšana ar *GenoType BC Gramnegative*TM

Ātra gram-negatīvo baktēriju sugu noteikšana ir ārkārtīgi svarīga laicīgai terapijas izvēlei un uzsākšanai. Baktēriju noteikšana klīniskās diagnostikas laboratorijās prasa astoņas līdz pat 120 stundas, atkarībā no specifiskās kultūras. Pēc tam nepieciešams noteikt to klasifikāciju pie gram-pozitīvām vai gram-negatīvām baktērijām, kas aizņem 24-48 stundas un tikai pēc tam, izmantojot selektīvās barotnes vai bioķīmisko testēšanu, noteikt baktēriju sugu, kas aizņem vēl, apmēram, 24 stundas. (Opota et al., 2015)

Lai noteiktu baktēriju paraugu piederību gram-pozitīvām vai gram-negatīvām sugām, vispirms tika veikts baktēriju skrīnings ar *BacT/ALERT*[®]. Izmantojot šo mikroorganismu noteikšanas skrīninga sistēmu, tika pārbaudītas vairākas hemokultūras. Ar šo sistēmu ātri un ērti var noteikt kultūras piederību. Testa pamatā ir kolorimetriskā metode. Speciālās barotnēs

atrodas šķīdumu emulsijas sensori, kuri iekrāsojas, kad mainās pH, kuru ietekmē CO₂ gāzes līmenis, ko izdala baktērijas. Krāsojuma izmaiņas tika mērītas ik pēc 10 minūtēm un analizētas. Sistēmā iekļauti arī “sliekšņa” algoritmi, kas paredzēti agrīnai mikroorganismu noteikšanai. Diplomdarba ietvaros, tika noteikti 10 gram-negatīvi paraugi, kuriem tālāk tika noteikta sugas piederība.

Gram-negatīvie paraugi tika testēti ar *GenoType BC Gramnegative*TM stripu tehnoloģijas testu, kas balstīts uz DNS un spēj identificē gram-negatīvo baktēriju sugas no asins kultūras.



3.29. att. *GenoType BC Gramnegative*TM rezultātu interpretācijas paraugs. *EMELCA Bioscience*. Tumši iekrāsojusies testa zona sniedz informāciju par pārliecinošu sugas noteikšanu, vidēji stipra zonas iekrāsošanās liecina par iespējamu sugu, bet vāja testa zonas iekrāsošanās liecina par nepārliecinošu baktērijas sugu

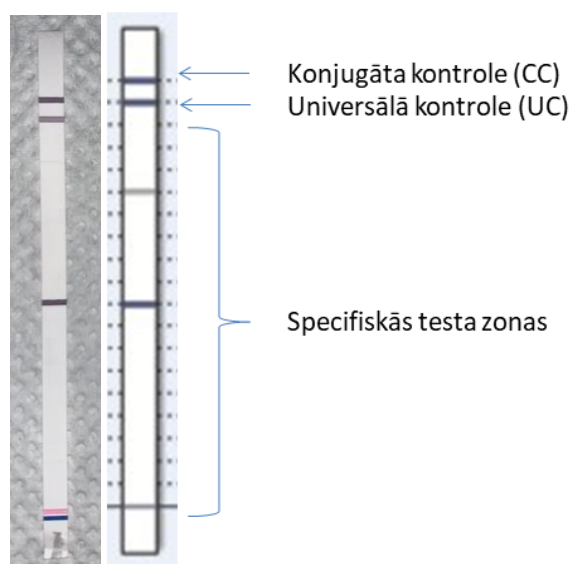
Nolasot rezultātus, kas parādījās kā iekrāsotas līnijas uz teststrēmēlēm, un salīdzinot tās ar *Geno Type BC Gramnegative*TM interpretācijas paraugu (3.29. attēls), tika iegūti rezultāti. No 10 paraugiem četri atbilda *A.baumannii*, trīs atbilda *P.aeruginosa*, divas atbilda *Klebsiella pneumoniae* un viens- *Citrobacter freundii*. Iegūtās baktērijas apkopotas 3.3.tabulā.

Identificētās baktērijas ar *GenoType BC GramnegativeTM* stripu tehnoloģijas testu, skaits

Baktērijas	Skaits
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
<i>Citrobacter freundii</i>	1

Testsrēmeļu paraugs ar interpretācijas paraugu attēlots 3.30. attēlā.

Paraugam iekrāsojusies konjugāta kontroles zona, universālā kontroles zona un spēcīgi iekrāsojusies specifiskā testa 11. kontroles zona, kas pārliecinoši atbilst *P.aeruginosa*.



3.30. att. Testsrēmeļu paraugs ar atbilstošu interpretācijas paraugu

Geno Type BC GramnegativeTM sistēma ļauj noteikt 15 dažādas gram-negatīvu baktēriju sugas. Šī ir ļoti ātra un ērta metode, salīdzinot to ar ilgo baktēriju kultūru augšanu uz mikrobioloģiskajām barotnēm. Izmantojot PCR metodi var daudz ātrāk noteikt baktēriju sugu un izvēlēties piemērotu antibakteriālo terapiju, kas ir īpaši svarīgi sepses pacientiem, kam terapijas uzsākšana ir nepieciešama pēc iespējas ātrāk. Savlaicīga ārstēšana palīdz pacientiem ātrāk un efektīvāk izvesēties. Īsāks un vieglāks slimības laiks ir valstiski ekonomiski izdevīgs, jo samazina netiešās izmaksas darbnespējas produktivitātes zuduma dēļ. Veselība ir dzīves kvalitātes un labklājības pamats. Sabiedrības veselība ir vērtība, kuru ir jācenšas uzlabot ar dažādiem pasākumiem, lai varētu notikt cilvēku individuālā un valsts izaugsme.

SECINĀJUMI

1. 2019. gadā visbiežāk (100% gadījumu) *Acinetobacter baumannii* jutība tika noteikta pret kolistīnu, sastopamākā vidējā jutība tika konstatēta pret amikacīnu (10%) un piperacilīnu (10%), bet visbiežāk sastopamā rezistence bija pret ampicilīnu (63,63%).
2. 2019. gadā visbiežāk (93,3% gadījumu) *Pseudomonas aeruginosa* jutība tika noteikta pret meropenēmu, sastopamākā vidējā jutība (9,33%) tika novērota pret ciprofloksacīnu, kā arī biežāk sastopamā rezistence (17,33%) tika novērota pret ciprofloksacīnu.
3. Vislielākā rezistences palielināšanās, salīdzinot 2017. gadu ar 2019. gadu *Acinetobacter baumannii* bija pret ceftazidīmu, kur rezistence pieauga par 11,67%, bet *A.baumannii* vislielākais rezistences pieaugums tika novērots pret ciprofloksacīnu-6,56%.
4. *Acinetobacter baumannii* biežāk sastopamie fenotipi 2019. gadā bija I fenotips, kur jutība pret antibakteriālajām vielām bija astoņiem paraugiem (40%), un II fenotips, kur astoņiem paraugiem (40%) rezistence tika novērota pret visām antibakteriālajām vielām, izņemot kolistīnu. Kombinēto rezistenci novēroja 45% gadījumu.
5. *Pseudomonas aeruginosa* biežāk sastopamais fenotips 2019. gadā bija I fenotips, kur 53 paraugiem (70%) bija jutība pret visiem antibakteriālajiem līdzekļiem. Kombinēto rezistenci novēroja 9,33% jeb septiņiem *Pseudomonas aeruginosa* paraugiem.
6. Baktēriju identifikācija ar *Geno Type BC GramnegativeTM* ir ātra un ērta metode, kas ļauj pēc iespējas ātrāk piemērot pacientiem efektīvu antibakteriālo terapiju.

PATEICĪBAS

Vēlos izteikt pateicību savai diplomdarba vadītājai Dr.med. Ivetai Līdumai, par atsaucību, veltīto laiku, sniegtajiem vērtīgajiem padomiem un palīdzību darba tapšanas laikā.

ATSAUCES

1. Almasaudi, S. B. (2018). Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. In *Saudi Journal of Biological Sciences*.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.009>
- Amala Reena, Aa., Subramaniyan, A., & Kanungo, R. (2017). Biofilm formation as a virulence factor of Acinetobacter baumannii: An emerging pathogen in critical care units. *Journal of Current Research in Scientific Medicine*.
https://doi.org/10.4103/jcrsm.jcrsm_66_17
- Anderson, S. E., Sherman, E. X., Weiss, D. S., & Rather, P. N. (2018). Aminoglycoside Heteroresistance in Acinetobacter baumannii AB5075 . *MSphere*.
<https://doi.org/10.1128/msphere.00271-18>
- Asif, M., Alvi, I. A., & Ur Rehman, S. (2018). Insight into acinetobacter baumannii: Pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. In *Infection and Drug Resistance*.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S166750>
- Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., & Guery, B. (2018). How to manage Pseudomonas aeruginosa infections. In *Drugs in Context*.
<https://doi.org/10.7573/dic.212527>
- Bhagirath, A. Y., Li, Y., Somayajula, D., Dadashi, M., Badr, S., & Duan, K. (2016). Cystic fibrosis lung environment and Pseudomonas aeruginosa infection. *BMC Pulmonary Medicine*. <https://doi.org/10.1186/s12890-016-0339-5>
- Brossard, K. A., & Campagnari, A. A. (2012). The Acinetobacter baumannii biofilm-associated protein plays a role in adherence to human epithelial cells. *Infection and Immunity*. <https://doi.org/10.1128/IAI.05913-11>
- Burstein, D., Satanower, S., Simovitch, M., Belnik, Y., Zehavi, M., Yerushalmi, G., Ben-Aroya, S., Pupko, T., & Banin, E. (2015). Novel type III effectors in pseudomonas aeruginosa. *MBio*. <https://doi.org/10.1128/mBio.00161-15>
- Bush, K. (2018). Past and present perspectives on β -lactamases. In *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. <https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18>
- Cheng, A., Chuang, Y. C., Sun, H. Y., Sheng, W. H., Yang, C. J., Liao, C. H., Hsueh, P. R., Yang, J. L., Shen, N. J., Wang, J. T., Hung, C. C., Chen, Y. C., & Chang, S. C. (2015). Excess Mortality Associated with Colistin-Tigecycline Compared with Colistin-Carbapenem Combination Therapy for Extensively Drug-Resistant Acinetobacter baumannii Bacteremia: A Multicenter Prospective Observational Study. *Critical Care*

- Medicine*. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000000933>
- Cole, S. J., Records, A. R., Orr, M. W., Linden, S. B., & Lee, V. T. (2014). Catheter-associated urinary tract infection by *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by exopolysaccharide-independent biofilms. *Infection and Immunity*.
<https://doi.org/10.1128/IAI.01652-14>
- D'Agata, E. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* and Other *Pseudomonas* Species. In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*.
<https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4801-3.00221-6>
- Djeribi, R., Bouchloukh, W., Jouenne, T., & Mena, B. (2012). Characterization of bacterial biofilms formed on urinary catheters. *American Journal of Infection Control*.
<https://doi.org/10.1016/j.ajic.2011.10.009>
- Ferreiro, J. L. L., Otero, J. Á., González, L. G., Lamazares, L. N., Blanco, A. A., Sanjurjo, J. R. B., Conde, I. R., Soneira, M. F., & De La Fuente Aguado, J. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections in hospitalized patients: Mortality and prognostic factors. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178178>
- Garnacho-Montero, J., & Timsit, J. F. (2019). Managing *Acinetobacter baumannii* infections. In *Current Opinion in Infectious Diseases*.
<https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000518>
- Hallin, M., Deplano, A., Roisin, S., Boyart, V., De Ryck, R., Nonhoff, C., Byl, B., Glupczynski, Y., & Denis, O. (2012). Pseudo-outbreak of extremely drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections due to contamination of an automated urine analyzer. *Journal of Clinical Microbiology*. <https://doi.org/10.1128/JCM.06268-11>
- Huang, W., Zhang, Q., Li, W., Chen, Y., Shu, C., Li, Q., Zhou, J., Ye, C., Bai, H., Sun, W., Yang, X., & Ma, Y. (2019). Anti-outer membrane vesicle antibodies increase antibiotic sensitivity of pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01379>
- Iversen, B. G., Jacobsen, T., Eriksen, H.-M., Bukholm, G., Melby, K. K., Nygard, K., & Aavitsland, P. (2007). An Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* Infection Caused by Contaminated Mouth Swabs. *Clinical Infectious Diseases*.
<https://doi.org/10.1086/511644>
- Jacobs, M. R., Abdelhamed, A. M., Good, C. E., Rhoads, D. D., Hujer, K. M., Hujer, A. M., Domitrovic, T. N., Rudin, S. D., Richter, S. S., van Duin, D., Kreiswirth, B. N., Greco, C., Fouts, D. E., & Bonomo, R. A. (2019). ARGONAUT-I: Activity of Cefiderocol (S-649266), a Siderophore Cephalosporin, against Gram-Negative Bacteria, Including Carbapenem-Resistant Nonfermenters and Enterobacteriaceae with Defined Extended-

- Spectrum β -Lactamases and Carbapenemases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01801-18>
- Jahangiri, A., Rasooli, I., Owlia, P., Imani Fooladi, A. A., & Salimian, J. (2018). Highly conserved exposed immunogenic peptides of Omp34 against *Acinetobacter baumannii*: An innovative approach. *Journal of Microbiological Methods*.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.11.008>
- Kanafani, Z. A., & Kanj, S. S. (2016). *Acinetobacter* infection: Epidemiology, microbiology, pathogenesis, clinical features, and diagnosis. *UpToDate*.
- Karah, N., Sundsfjord, A., Towner, K., & Samuelsen, Ø. (2012). Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. *Drug Resistance Updates*. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2012.06.001>
- Lee, C. R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., Cha, C. J., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2017). Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00055>
- Lee, J., & Zhang, L. (2014). The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein and Cell*. <https://doi.org/10.1007/s13238-014-0100-x>
- Liepiņš, M., Sīmanis, R., & Lejnieks, A. (2016). Decreasing Prevalence of Multidrug-Resistant *Acinetobacter Baumannii* in Rīga East University Hospital / Multirezistentās *Acinetobacter Baumannii* Izplatības Mazināšanās Rīgas Austrumu Klīniskajā Universitātes Slimnīcā. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*. <https://doi.org/10.1515/prolas-2016-0037>
- Lin, M. F., Lin, Y. Y., & Lan, C. Y. (2015). The role of the two-component system BaeSR in disposing chemicals through regulating transporter systems in *acinetobacter baumannii*. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132843>
- Marti, E., Jofre, J., & Balcazar, J. L. (2013). Prevalence of Antibiotic Resistance Genes and Bacterial Community Composition in a River Influenced by a Wastewater Treatment Plant. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078906>
- Meletis, G., & Bagkeri, M. (2013). *Pseudomonas aeruginosa*: Multi-Drug-Resistance Development and Treatment Options. In *Infection Control*.
<https://doi.org/10.5772/55616>
- Morán-Barrio, J., Cameranesi, M. M., Relling, V., Limansky, A. S., Brambilla, L., & Viale, A. M. (2017). The *Acinetobacter* outer membrane contains multiple specific channels for carbapenem β -lactams as revealed by kinetic characterization analyses of imipenem permeation into *Acinetobacter baylyi* cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.

<https://doi.org/10.1128/AAC.01737-16>

- Morris, F. C., Dexter, C., Kostoulias, X., Uddin, M. I., & Peleg, A. Y. (2019). The Mechanisms of Disease Caused by *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01601>
- Ochoa, S. A., Cruz-Córdova, A., Rodea, G. E., Cázares-Domínguez, V., Escalona, G., Arellano-Galindo, J., Hernández-Castro, R., Reyes-López, A., & Xicohtencatl-Cortes, J. (2015). Phenotypic characterization of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from pediatric patients associated to biofilm formation. *Microbiological Research*. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.11.005>
- Opota, O., Croxatto, A., Prod'hom, G., & Greub, G. (2015). Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: State of the art. In *Clinical Microbiology and Infection*. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.01.003>
- Pachori, P., Gothwal, R., & Gandhi, P. (2019). Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. In *Genes and Diseases*. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.04.001>
- Pakharukova, N., Tuittila, M., Paavilainen, S., Malmi, H., Parilova, O., Teneberg, S., Knight, S. D., & Zavialov, A. V. (2018). Structural basis for *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. <https://doi.org/10.1073/pnas.1800961115>
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. In *Biotechnology Advances*. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>
- Ramadan, R. A., Gebriel, M. G., Kadry, H. M., & Mosallem, A. (2018). Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: Characterization of carbapenemase genes and E-test evaluation of colistin-based combinations. *Infection and Drug Resistance*. <https://doi.org/10.2147/IDR.S170233>
- Ribera, A., Benavent, E., Lora-Tamayo, J., Tubau, F., Pedrero, S., Cabo, X., Ariza, J., & Murillo, O. (2015). Osteoarticular infection caused by MDR *Pseudomonas aeruginosa*: the benefits of combination therapy with colistin plus β -lactams. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv281>
- Rocha, A. J., De Oliveira Barsottini, M. R., Rocha, R. R., Laurindo, M. V., De Moraes, F. L. L., & Da Rocha, S. L. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*: Virulence factors and antibiotic resistance Genes. In *Brazilian Archives of Biology and Technology*. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180503>
- Rodrigo-Troyano, A., Suarez-Cuartin, G., Peiró, M., Barril, S., Castillo, D., Sanchez-Reus, F.,

- Plaza, V., Restrepo, M. I., Chalmers, J. D., & Sibila, O. (2016). *Pseudomonas aeruginosa* resistance patterns and clinical outcomes in hospitalized exacerbations of COPD. *Respirology*. <https://doi.org/10.1111/resp.12825>
- Ruiz, M., Ewig, S., Torres, A., Arancibia, F., Marco, F., Mensa, J., Sanchez, M., & Martinez, J. A. (1999). Severe community-acquired pneumonia: Risk factors and follow-up epidemiology. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.3.9901107>
- Senchenkova, S. N., Shashkov, A. S., Popova, A. V., Shneider, M. M., Arbatsky, N. P., Miroshnikov, K. A., Volozhantsev, N. V., & Knirel, Y. A. (2015). Structure elucidation of the capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* AB5075 having the KL25 capsule biosynthesis locus. *Carbohydrate Research*. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2015.02.011>
- Shrestha, A., Bajracharya, A. M., Subedi, H., Turha, R. S., Kafle, S., Sharma, S., Neupane, S., & Chaudhary, D. K. (2017). Multi-drug resistance and extended spectrum beta lactamase producing Gram negative bacteria from chicken meat in Bharatpur Metropolitan, Nepal. *BMC Research Notes*. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2917-x>
- Singh, J. K., Adams, F. G., & Brown, M. H. (2019). Diversity and function of capsular polysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03301>
- Stuart, S., Booth, T. C., Cash, C. F. C., Hameeduddin, A., Goode, J. A., Harvey, C., & Malhotra, A. (2009). Complications of continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Radiographics*. <https://doi.org/10.1148/rg.292085136>
- Tandan, M., Cormican, M., & Vellinga, A. (2018). Adverse events of fluoroquinolones vs. other antimicrobials prescribed in primary care: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. In *International Journal of Antimicrobial Agents*. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.04.014>
- Weiner, L. M., Webb, A. K., Limbago, B., Dudeck, M. A., Patel, J., Kallen, A. J., Edwards, J. R., & Sievert, D. M. (2016). Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated with Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011-2014. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. <https://doi.org/10.1017/ice.2016.174>
- Wisplinghoff, H. (2017). *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. and Miscellaneous Gram-Negative Bacilli. In *Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-7020-6285-8.00181-7>
- Yang, C. H., Su, P. W., Moi, S. H., & Chuang, L. Y. (2019). Biofilm formation in

Acinetobacter baumannii: Genotype-phenotype correlation. *Molecules*.

<https://doi.org/10.3390/molecules24101849>

50. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-NET) 2018 [tiešsaiste]
Pieejams: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf>
51. Antimikrobiālās rezistences ierobežošanas un piesardzīgas antibiotiku lietošanas plāns “Viena veselība” 2019.-2020. gadam [tiešsaiste] Pieejams :
<https://likumi.lv/ta/id/308758-par-antimikrobia-las-rezistences-ierobezosanas-un-piesardzigas-antibiotiku-lietosanas-planu-viena-veseliba-2019-2020-gadam>

DOKUMENTĀRĀ LAPA

Diplomdarbs „*Acinetobacter baumannii* un *Pseudomonas aeruginosa* antibakteriālās rezistences noteikšana, lietojot fenotipiskās un molekulāri bioloģiskās metodes” 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: _____
(vārds, uzvārds) (paraksts) (datums)

Rekomendēju/nerekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs: _____
(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts) (datums)

Recenzents: _____
(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts) (datums)

Darbs iesniegts LU Medicīnas fakultātē _____
(datums)

Vecākā lietvede Juta Bārtule _____
(paraksts)

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

Komisijas sekretāre: _____

(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts)