



Liene Čupāne

PANTON – VALENTINE LEIKOCIDĪNA (PVL)
POZITĪVA *S. AUREUS* MOLEKULĀRĀ
EPIDEMIOLOĢIJA UN KLĪNIKA BĒRNIEM
LATVIJĀ

Promocijas darbs

medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – bērnu infekcijas slimības

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. habil.med., LZA kor.loc. Dace Gardovska, Rīgas Stradiņa
universitātes profesore

Dr. biol., Edvīns Miklaševičs,

Rīgas Stradiņa universitātes asociētais profesors

Rīga, 2013

Pētnieciskā darba finansējums un atbalsts



1. ESF projekts „Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei RSU”, vienošanās Nr. 2009 /0147 /1DP /1.1.2.1.2. /09/IPIA/VIAA/009.
2. Valsts pētījuma programmas „Latvijas iedzīvotāju dzīvildzi un dzīves kvalitāti apdraudošo galveno patoloģiju zinātniska izpēte ar multidisciplināra pētnieciskā konsorcija palīdzību” projekts Nr. 7 “Bērnu mirstības samazināšana, uzlabojot dzīvībai bīstamu infekcijas slimību agrīnu diagnostiku, ārstēšanas rezultātus un profilaksi Latvijā, izmantojot modernās molekulārās bioloģijas, citometrijas un imūnģenētikas metodes”, 2007. gads.

ANOTĀCIJA

S. aureus ir viens no biežākajiem strutaino infekciju izsaucējiem. Patogēna spēju izraisīt ne tikai vieglas virspusējas ādas un zemādas infekcijas, bet arī smagas dzīvību apdraudošas saslimšanas, nosaka tā plašais virulences faktoru klāsts. Pantona – Valentina leukocidīns (PVL) ir ekstracelulārs poras veidojošs *S. aureus* gamma toksīns, kas sastāv no divām polipeptīdu ķēdēm - LukS-PV un LukF-PV, kuru darbības rezultātā organismā tiek bojāta leukocītu membrāna. PVL sintēzi nosaka *lukS/lukF-PV* gēnu ekspresija. Šim toksīnam raksturīga saistība ar abscesu, furunkulozes un nekrotisku pneimoniju veidošanos. PVL pozitīvie *S. aureus* parasti ir saistīti ar sabiedrībā iegūtām infekcijām, kas bieži skar iepriekš veselus bērnus un jaunus cilvēkus. Lai gan sākotnēji PVL klātbūtne bija raksturīga sabiedrībā iegūtajiem meticilīna rezistentiem *S. aureus* celmiem, tomēr arvien biežāk tiek ziņots par *lukS/lukF-PV* gēnus nesošajiem meticilīna jutīgajiem *S. aureus* izolātiem. Iepriekš veiktie pētījumi norāda uz PVL pozitīvo *S. aureus* paaugstināto virulenci, kas nosaka tādu smagu infekciju veidošanos kā kaulu un locītavu infekcijas un nekrotiskas pneimonijas. Latvijā iepriekš nav pētīta PVL toksīnu producējošo *S. aureus* izplatība un slimības gaita bērniem. Lai apzinātu situāciju Latvijā un veiktu efektīvus un zinātniski pamatotus pasākumus PVL pozitīvo *S. aureus* izplatības ierobežošanai, ir nepieciešams veikt *S. aureus* molekulāri epidemioloģiskos pētījumus un noteikt klīniski svarīgos patogenitātes faktoros.

SUMMARY

S. aureus is a major cause of purulent infections. The spectrum of staphylococcal infections varies from mild superficial to invasive life-threatening diseases due to the ability of *S. aureus* to produce a wide range of virulence factors. Pantone – Valentine leukocidin (PVL) is an extracellular pore forming *S. aureus* gamma toxin, which consists of two subunits F and S that together are leucocidal. PVL is encoded by *lukS/lukF-PV* genes. In humans PVL is associated with skin abscesses and necrotizing pneumonia. *S. aureus* strains which are positive for PVL are usually associated with community-acquired infections which generally affect previously healthy children and young adults. Although Pantone-Valentine leukocidin is strongly associated with community acquired methicillin – resistant *S. aureus* (CA – MRSA), *lukS/lukF-PV* genes can be carried also by methicillin susceptible *S. aureus* isolates. Recent investigations suggest that PVL-positive *S. aureus* exhibits enhanced virulence and are responsible for severe infections such as bone and joint infections and necrotising pneumonia. In Latvia studies of the prevalence and effect of PVL positive *S. aureus* on the clinical course of disease in children have not been done. To gather information about the situation in Latvia and take effective and scientifically-based measures for the limitation of the spread of PVL producing *S. aureus* it is necessary to carry out investigation into PVL positive *S. aureus* molecular epidemiology and define the clinically important pathogenicity factors.

SATURS

ANOTĀCIJA	3
DARBĀ IZMANTOTIE SAĪSINĀJUMI.....	8
DEFINĪCIJAS.....	10
IEVADS.....	11
Problēmas aktualitāte	12
Darba mērķis.....	12
Darba uzdevumi	12
Pētījuma jautājumi	13
Darba zinātniskā novitāte.....	13
1. LITERATŪRAS APSKATS	14
1.1. <i>S.aureus</i> vispārīgs apraksts	14
1.2. Virulences faktori.....	17
1.3. Antibakteriālā rezistence.....	26
1.3.1. Rezistence pret beta laktāmiem	26
1.3.2. <i>S. aureus</i> glikopeptīdu rezistence	29
1.3.3. <i>S. aureus</i> rezistence pret citiem antimikrobiem aģentiem	30
1.4. <i>S. aureus</i> epidemioloģija.....	32
1.4.1. <i>S. aureus</i> nēsāšana	32
1.4.2. <i>S. aureus</i> stacionārā	33
1.4.3. <i>S. aureus</i> ārpusstacionāra apstākļos	35
1.5. <i>S. aureus</i> izraisītās slimības un terapija	35
1.6. PVL pozitīvā <i>S. aureus</i> infekcija	42
1.6.1. Galvenie patoģenēzes mehānismi	42
1.6.2. Viegla virspusēja ādas un mīksto audu infekcijas	43
1.6.3. Smagas invazīvas infekcijas	45
1.6.4. PVL poz. <i>S. aureus</i> infekcijas diagnostikas iespējas	46

1.7.	PVL pozitīvās <i>S. aureus</i> infekcijas terapijas iespējas	47
2.	MATERIĀLI UN METODES	49
2.1.	Pētījumā izmantoto atsauču avotu atlase	49
2.2.	Pētījuma uzbūve	50
2.3.	Pētījumā izmantotās metodes	52
2.3.1.	<i>S. aureus</i> identifikācija	52
2.3.2.	Antibakteriālās jutības noteikšana	52
2.3.3.	<i>S. aureus mecA</i> gēna noteikšana	53
2.3.4.	<i>Staphylococcus aureus</i> PVL gēnu noteikšana	54
2.3.5.	<i>S. aureus</i> izolātu tipēšana pēc <i>spa</i> gēna	59
2.3.6.	<i>S. aureus</i> izolātu tipēšana pēc MLST	61
2.4.	Datu statistiskā apstrāde	63
3.	REZULTĀTI	65
3.1.	Stacionārā ārstēto <i>S. aureus</i> pozitīvo pacientu grupas analīze	65
3.1.1.	Pacientu raksturojums	65
3.1.2.	Terapijas analīze stacionārā ārstētiem pacientiem ar <i>S. aureus</i> infekciju	68
3.1.3.	Panton – Valentine leukocidīna gēnu pozitīvo <i>S. aureus</i> prevalence ...	70
3.1.4.	PVL ietekme uz pacientu stacionēšanas ilgumu	76
3.1.5.	BKUS <i>S. aureus</i> izolātu filoģenētiskais raksturojums	78
3.1.6.	PVL pozitīva <i>S. aureus</i> klīniskais gadījums Bērnu Klīniskajā Universitātes slimnīcā	81
3.2.	Sabiedrībā iegūtā MRSA nēsāšana bērnu sociālās aprūpes centrā	87
4.	DISKUSIJA	91
4.1.	PVL prevalence stacionārā ārstētiem pacientiem ar <i>S. aureus</i> infekciju	92
4.2.	PVL ietekme uz slimības gaitu stacionārā ārstētiem pacientiem ar <i>S. aureus</i> infekciju	95
4.3.	PVL ietekme uz stacionēšanas laiku pacientiem ar <i>S. aureus</i> infekciju	96

4.4.	<i>S. aureus</i> filoģenētiskais raksturojums	97
5.	SECINĀJUMI.....	101
6.	PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS.....	102
7.	PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU	103
8.	PUBLICĒTĀS TĒZES UN ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU.....	103
9.	LITERATŪRAS SARAKSTS.....	107
	PIELIKUMI.....	132

DARBĀ IZMANTOTIE SAĪSINĀJUMI

ACC- acetilcisteīns

ASV – Amerikas Savienotās Valstis

BD – *Becton Dickinson*

BKUS – Bērnu Klīniskā Universitātes slimnīca

BSAC – Bērnu sociālās aprūpes centrs

BURP – based upon repeat patern. Algoritms, lai aprēķinātu tuvākā iespējamā *spa* tipa radniecību ar citu *spa* tipu

CDC – Centers for Disease control and Prevention

CC – Klindamicīns

CIP – Ciprofloksacīns

clfA – *S. aureus* marķieris

CLSI – *Clinical and Laboratory Standarts Institute*

DNS – dezoksiribonukleīnskābe

em – praimeru pāris

EARSS – Eiropas Antimikrobiālās rezistences uzraudzības tīkls

ECDC – Eiropas slimību uzraudzības centrs

EGĀ – eritrocītu grimšanas ātrums

EMRSA – epidēmiskais meticilīna rezistentais *Staphylococcus aureus*

ERY – Eritromicīns

ES – Eiropas Savienība

ETA – eksfoliatīvais toksīns A

ETB – eksfoliatīvais toksīns B

GEN – Gentamicīns

glpF – *S. aureus* *housekeeping* gēns

gmk – *S. aureus* *housekeeping* gēns

HCV – vīrusa hepatīts C

hgl-v- hlg – *v toksīna gēns*

HI - MRSA – ar ārstniecības iestādi asociētais meticilīnrezistentais

Staphylococcus aureus

Hlg – hlg toksīna gēns

luk-PV – Panton-Valentine leukocidīna gēns

mecA – metecilīna rezistences gēns
MgCl₂ – magnija hlorīds
MLST – multilokusa sekvenču tipēšana
MRSA – metecilīnrezistentais *Staphylococcus aureus*
MSSA – metecilīna jutīgais *Staphylococcus aureus*
MPV- mākslīgā plaušu ventilācija
Na Cl – nātrija hlorīds
OX – Oksacilīns
PBP₂ – penicilīnu saistošais proteīns
PFGE – pulsējošā lauka elektroforēze gēlā
PĶR – polimerāzes ķēdes reakcija
PSKUS – Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca
PVL toksīns – *Panton-Valentine leukocidin* toksīns
RIF – Rifampicīns
SAPI – *Staphylococcus aureus* patogenitātes salas (*S. aureus* pathogenicity islands)
S. aureus – *Staphylococcus aureus*
SCC *mec* – stafilokoku hromosomāla kasete
SI-MRSA – sadzīvē iegūtais metecilīnrezistentais *Staphylococcus aureus*
spa – stafilokoka A proteīna gēns
ST – sekvenču tips
STX – Trimetoprima-Sulfametoksazols
TET – Tetraciklīns
TŠST – toksiskā šoka sindroma toksīns
tst – toksiskā šoka sindroma toksīna gēns
UV *transiluminators* – ultravioletās gaismas transiluminators
VAN – Vankomicīns
VISA – vankomicīna mēreni jutīgi *S. aureus*
VRSA – vankomicīna rezistenti *S. aureus*

DEFINĪCIJAS

Smagas invazīvas infekcijas – bakterēmija, endokardīts, pneimonija, septisks artrīts, osteomielīts vai cita saslimšana, kuras laikā *S. aureus* izolēts no asinīm vai citām sterilām organisma vidēm.

Vieglas virspusējas infekcijas – infekcijas, kas izveidojušās ādā vai mīkstajos audos - furunkuļi, karbunkuļi, hidradenīti, mastīti, impetigo, folikulīti, paronīhija.

Virspusēji abscesi – ādas vai ādas derivātu abscesi, kas skar epidermas un dermas slāni.

Sabiedrībā iegūtas *S. aureus* infekcijas – *S. aureus* izdalīts pirmo 48 stundu laikā pēc stacionēšanas slimnīcā pacientam ar saslimšanu.

IEVADS

Staphylococcus aureus ir viens no biežākajiem strutaino infekciju izraisītājiem. Patogēns izraisa ne tikai vieglas virspusējas ādas un mīksto audu infekcijas, bet arī smagas invazīvas saslimšanas kā nekrotisku pneimoniju, kaulu, locītavu infekcijas un infekciozo endokardītu. *S. aureus* patogenitāti nosaka plašais virulences faktoru klāsts, kas sekmē tā nokļūšanu organisma sterilajās vidēs. Viens no *S. aureus* virulences faktoriem ir γ toksīns Pantona - Valentine leukocidīns (PVL), kura producēšanu nosaka *lukS/lukF-PV* gēnu klātbūtne. PVL ir divu komponentu (LukS-PV un LukF-PV) poras veidojošs toksīns ar pierādītu aktivitāti pret cilvēka leukocītiem (Kaneko J *et al*, 2005). PVL producējošie *S. aureus* celmi pārsvarā ir saistīti ar ādas un mīksto audu infekcijām, īpaši furunkulozi (Lina G *et al*, 1999). Nozīmīga ir šī toksīna saistība ar neparasti smagi noritošām saslimšanām kā nekrotizējoša pneimonija, ostomielīts, nekrotizējošs fascīts. Šādas PVL pozitīvā *S. aureus* izraisītas patoloģijas visbiežāk skar tieši bērnus un jaunos, iepriekš veselus pieaugušos (Bochini CE *et al*, 2006, Dophin B *et al*, 2007, Yamasaki O *et al*, 2007). Pasaulē pieaug gadījumu skaits, kad PVL pozitīvie celmi ir saistīti ar sadzīvē iegūtas nekrotiskās pneimonijas saslimšanām. PVL pozitīvā *S. aureus* izraisītās nekrotiskās pneimonijas visbiežāk seko respiratoriem vīrusiem, īpaši gripai, skarot iepriekš veselus bērnus un jaunos cilvēkus. Novērots, ka mirstība šādos gadījumos ir ļoti augsta, līdz pat 75% pirmo 72 stundu laikā pēc saslimšanas (Gillet Y *et al*, 2002). PVL pozitīvo *S. aureus* izsauktās kaulu un locītavu infekcijas visbiežāk skar bērnus, bez tam PVL klātbūtne nosaka šo saslimšanu smagāku gaitu (Arnold SR *et al*, 2006, Martinez –Aguilar G *et al*, 2004). PVL pozitīvie *S. aureus* var izraisīt tādas retas, bet smagas saslimšanas, kā nekrotizējošs fascīts un purpura fulminans (Kravitz *et al*, 2005). Lai gan Pantona –Valentine leukocidīna klātbūtne parasti tiek saistīta ar sabiedrībā iegūto meticilīna rezistentu *S. aureus*, tomēr gēnus šī toksīna producēšanai atrod arī meticilīna jutīgajiem *S. aureus*. Eiropā vairumā gadījumu nekrotisko pneimoniju izraisītāji ir tieši meticilīna jutīgie *S. aureus* (Gillet Y *et al*, 2007). PVL pozitīvo *S. aureus* izraisīto smago, invazīvo infekciju slimības gaita ir strauja, tāpēc atbilstošas terapijas uzsākšana ir svarīga, lai panāktu labvēlīgu slimības iznākumu (Gillet Y *et al*,

2007). Atsevišķās Eiropas valstīs ir izstrādātas lokālas vadlīnijas, kas palīdz laicīgi atpazīt un ārstēt PVL pozitīvo *S. aureus* izraisītās infekcijas (HPA vadlīnijas).

Arī Latvijā *S. aureus* ir viens no biežākajiem strutaino infekciju izraisītājiem, tomēr iepriekš nav veikti pētījumi par PVL pozitīvo *S. aureus* izplatību un slimības gaitu bērniem.

Problēmas aktualitāte

S. aureus toksīns Panton – Valentine leukocidīns ir pazīstams jau kopš pagājušā gadsimta 30. gadiem. Sākotnēji PVL pozitīvie *S. aureus* celmi bija aprakstīti kā reti sastopami (vidēji 2% no visiem *S. aureus* izolātiem). Visbiežāk šie celmi tika saistīti ar vieglām virspusējām ādas un mīksto audu sasilšanām. Pēdējo desmit gadu laikā šis toksīns ir daudz pētīts ne tikai saistībā ar tā plašo izplatību dažādās populācijās un ģeogrāfiskos reģionos, bet arī ar tā spēju izraisīt neparasti smagas invazīvas sasilšanas. PVL tiek saistīts ar tādu smagu invazīvu sasilšanu izraisīšanu, kā nekrotiska pneimonija, kaulu un locītavu sasilšanas, nekrotizējošs fascīts un miozīts, kā arī purpura fulminants. Šīs patoloģijas īpaši bieži skar iepriekš veselus bērnus un jaunus cilvēkus.

Eiropā, tai skaitā arī Latvijā, publicētie dati par PVL toksīnu producējošo *S. aureus* celmu ietekmi uz slimības gaitu bērniem ir nepietiekami un pretrunīgi.

Lai apzinātu situāciju Latvijā un veiktu efektīvus un zinātniski pamatotus pasākumus PVL pozitīvo *S. aureus* izplatības ierobežošanai, ir nepieciešams noteikt *S. aureus* klonālo piederību, noteikt klīniski svarīgos patogenitātes faktorus, kā arī veikt molekulāri epidemioloģiskos pētījumus.

Darba mērķis

Darba mērķis – noteikt PVL pozitīvo *Staphylococcus aureus* molekulārbioloģisko raksturojumu, PVL toksīna ietekmi uz slimības gaitu bērniem stacionārā.

Darba uzdevumi

1. Noteikt PVL pozitīvo *izolātu* prevalenci kultūru izolātos stacionārā ārstētiem bērniem ar *S. aureus* izraisītām infekcijām.
2. Noteikt PVL ietekmi uz slimības gaitu stacionārā ārstētiem bērniem.

3. Noteikt PVL ietekmi uz stacionēšanos ilgumu hospitalizētiem bērniem ar *S. aureus* infekciju.
4. Identificēt dominējošos *spa* tipus stacionārā ārstētiem bērniem ar *S. aureus* infekciju.
5. Noteikt klonālā *spa* tipa ietekmi uz stacionārā ārstēto pacientu slimības gaitu.

Pētījuma jautājumi

1. Vai Latvijā vērojama PVL pozitīvo *S. aureus* izplatība bērniem stacionārā?
2. Kāda ir biežākā klīniskā PVL pozitīvo *S. aureus* infekcijas forma bērniem stacionārā Latvijā?
3. Vai PVL klātbūtne ietekmē pacientu slimības gaitu un iznākumus?
4. Vai PVL pozitīvo *S. aureus* genotipiskais raksturojums pēc *spa* gēna ir līdzīgs Eiropā sastopamo *S. aureus* *spa* gēna tipiem?

Darba zinātniskā novitāte

1. Ir pierādīta statistiski ticama PVL ietekme uz stacionēšanas ilgumu bērniem ar smagām invazīvām saslimšanām.
2. Raksturoti Latvijā sastopamie PVL poz *S. aureus* izolāti, kas veido CC435 klasteri.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. *S.aureus* vispārīgs apraksts

Staphylococcus aureus ir nozīmīgs cilvēka patogēns. Lai gan *S. aureus* ir oportūnistisks patogēns, citu vidū tas izceļas ar tam piemītošiem virulences faktoriem, kas palielina tā spēju cilvēka organismā nokļūt sterilajās vidēs un izraisīt virkni dažādu dzīvībai bīstamu infekciju (Waldvogel FA, 2000).

S.aureus pieder Micrococcaceae dzimtai. *Staphylococcus* ģintī izšķir 32 sugas, no kurām septiņpadsmit atrodas cilvēkiem, sešas no tām var izsaukt saslimšanas – *S.aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis* un *Staphylococcus schleiferi* (Chensey JP, 2003).

S.aureus no pārējām sešām sugām atšķir tā spēja producēt koagulāzi, α – toksīnu un karstuma izturīgo endonukleāzi, spēja aerobos un anaerobos apstākļos fermentēt mannītu, kā arī proteīna A klātbūtne. Mikroorganismam ir sfēriska forma, tas ir 0,5 – 1,5 μm diametrā liels. Ātri aug gan aerobos, gan anaerobos apstākļos, 24 – 36 h laikā veido hemolīzi asins agārā. Dažādos augšanas apstākļos var neveidot klasisko zeltaino koloniju pigmentāciju (Chensey JP, 2003).

S.aureus ir izturīgs sausumā, tas var saglabāties izžuvušās strutās un krēpās nedēļām ilgi, putekļos un augsnē pat gadiem ilgi. Salīdzinot ar citām baktērijām, stafilokoki ir izturīgāki pret karstumu (60 °C iet bojā stundas laikā), biežāk sastopamiem dezinfektantiem (piem. fenoliem) un augstām sāls koncentrācijām – 3,5M (20%) NaCl (viens no osmotolerantākajiem mikroorganismiem), kas savukārt ļauj šim patogēnam augt pārtikas produktos ar augstu osmolāro koncentrāciju, tādējādi paaugstinot pārtikas saindēšanās risku (Chensey JP, 2003, Foster JT *et al*, 2002).

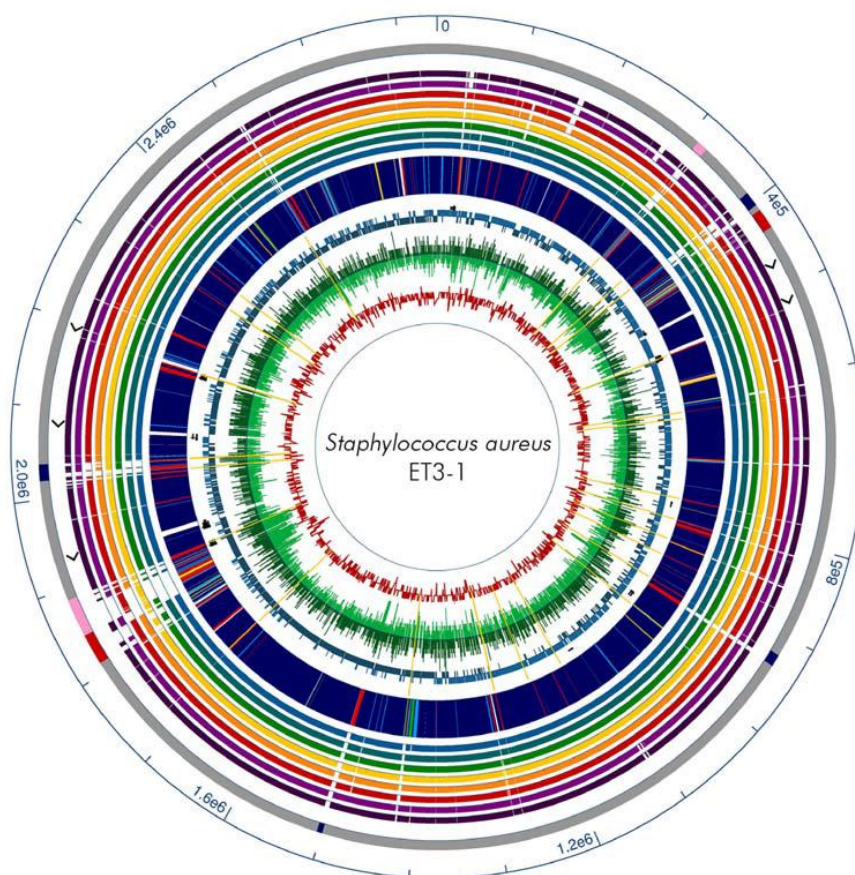
Stafilokoku genomi ir cirkulāras hromosomas, kas sastāv no aptuveni 2 800 000 bāzu pāriem un var saturēt vienu vai vairākas plazmīdas (Lowell GS, 2008).

S. aureus ģenētisko marķieru pozīcijas genomā tiek atzīmētas veidojot genoma kartes. Pirmās *S. aureus* genomu kartes tika izveidotas 2001. gadā klīniskajiem izolātiem N315 un Mu50 (Kuroda M *et al*, 2001). *S. aureus* genoma uzbūve starp izolātiem var variēt.

S.aureus genoms sastāv no serdes genoma un papildus gēniem. Aptuveni 75% no *S.aureus* genoma satur serdes gēnus, kas ir visiem *S. aureus* (Adebayo O *et al*, 2007). Tie ir „housekeeping” jeb mājturības gēni, kuri ir nemainīgi un neiztrūkstoši arī citu baktēriju genomā (Lindsey JA *et al*, 2008). Mājturības gēni ir nepieciešami baktērijas augšanai un izdzīvošanai. Parējie gēni ir virulences gēni, kas nav satopami citām stafilokoku sugām (Holden MT *et al*, 2004).

Vieni no pirmajiem tika aprakstīti divu *S. aureus* izolātu genomi. Viens no šiem izolātiem bija stacionārā iegūtais meticilīna rezistentais *S. aureus* – MRSA252, kas pieder pie klīniski nozīmīgā EMRSA-16 klona, kurš izraisījis vismaz pusi no MRSA infekcijām Lielbritānijā, un ir viens no biežākajiem *S. aureus* infekciju izsaucējiem ASV. Savukārt otrs izolāts bija sabiedrībā iegūts meticilīna jutīgs *S. aureus* – MSSA476, kas spēja izraisīt smagu invazīvu saslimšanu imūnkompetentam bērnam sabiedrībā un piederēja vienam no lielākajiem sabiedrībā iegūto invazīvo slimību izraisošajiem kloniem (Holden MT *et al*, 2004). Patreiz publiskajā datu bāzē GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) pieejama informācija par 15 *S. aureus* genomu uzbūvēm, kas izolēti no cilvēka un četriem *S. aureus* izolātu genomiem, kas iegūti no dzīvniekiem un putniem (McCartny *et al*, 2010) (att. 1.1.).

Papildus mājturības gēniem *S.aureus* satur mobilus ģenētiskus elementus: bakteriofāgus, patogenitātes salas (SAPI), genoma salas, plazmīdas, transpozonus, hromosomālās kasetes, no kuriem daudzi nosaka *S.aureus* virulences faktoru veidošanos un antibakteriālo rezistenci (Lowel GS, 2008).



1.1. att. (Herron – Olson L *et al* 2007). *S. aureus* celma ET3-1 cirkulāra genoma karte salīdzinoši ar citiem *S. aureus* celmu genomiem.¹

Bakteriofāgi nodrošina *S. aureus* horizontālu gēnu transfēru. Bakteriofāgi ir visiem sekvenētajiem izolātiem. Toksīnu gēnu transfērs pateicoties lizogēniem bakteriofāgiem vai fāgu konversijai ir nozīmīgs virulento klonu evolūcijas mehānisms (Kwan T *et al*, 2005). Piemēram, φSa3 dzimtas fāgs identificēts visiem sekvenētajiem *S. aureus* izolātiem, kur tie ir integrēti *hly* (β-hemolizīna) gēnā. Šie profāgi nes tādus

¹ No ārpuses 1) bāzu pāru skala, 2) mobilie elementi (sarkans-iekonservētas salas, zils-patognitātes salas, rozā – strutu fāgi), 3) ribosomālo RNS operoni (bultas), 4) homologija ar citiem *S. aureus* skatoties no apļa ārpuses ar krāsu kodiem, kur tumši violets – MRSA 252, gaiši violets – MSSA553, sarkans – NCTC8325, oranžs – COL, dzeltens – Mu50, zaļš – N315, zilizaļš – MW2, gaiši zils – MSSA476, 5) ORF (open reading frame) homologija ar ET3-1; jūras zils - izteikta homologija ar citiem *S. aureus*, gaiši zils - vidēji izteikta homologija, zaļš - vāja homologija ar pārējiem *S. aureus*, sarkans - nav homologijas ar pārējiem *S. aureus*, dzeltens - gēnu bankā nav datu, 6) tRNS lokalizācija (mazās bultas).

virulences faktorus kā stafilokināzi un pirogēnā toksīna superantigēna proteīnus (Gill SR *et al*, 2009).

S.aureus sastopamas trīs veidu genomu salas vSa α , vSa β un vSa γ , kas nes patogenitātes gēnus (Gill SR *et al*, 2005).

S.aureus patogenitātes salas SaPIs bieži nes superantigēnu gēnus kā toksiskā šoka (*tst*) un enterotoksīna B un C gēnus (*etb*, *etc*), kas izraisa toksisko šoku un pārtikas saindēšanos. Patogenitātes salas bieži var integrēties specifiskos vietās - saitos un veikt horizontālu tarnsfēru ar bakteriofāgu palīdzību (Holden MT *et al*, 2004).

S. aureus izolāti, īpaši stacionārā iegūtie var nest pat vairākas brīvas vai integrētas plazmīdas. Visas plazmīdas nes gēnus, kas kodē rezistenci pret antibiotikām, antiseptiķiem vai smagajiem metāliem (Holden MT *et al*, 2004).

Transpozoni un insērcijas sekvenču spēj integrēties jebkurā hromosomas lokusā tādējādi nodrošinot *S. aureus* spēju pielāgoties apkārtējai videi (Holden MT *et al*, 2004).

1.2. Virulences faktori

Lai gan *S. aureus* ir oportūnistisks patogēns, citu baktēriju vidū tas izceļas ar tam piemītošiem virulences faktoriem, kas palielina tā spēju cilvēka organismā nokļūt sterilajās vidēs un izraisīt virkni dažādu dzīvībai bīstamu infekciju (Waldvogel FA, 2000).

S. aureus virulences faktorus, pēc to bioloģiskās ietekmes uz saimnieka organismu, iedala trīs grupās. Pirmā grupa ir virsmas faktori, kur ietilpst adhēzijas faktori, cilvēka olbaltumvielas saistošie receptori (fibronektīns), A proteīns (piesaista Ig no Fc gala, inaktivējot AV un humorālo imūno atbildi. Otrajā grupā ietilpst toksīni – hemolizīni (alfa, beta, gamma), leukocidīns, eksfoliatīvie toksīni, TŠST, enterotoksīni (pārtikas toksikoinfekcijas). Trešo grupu veido dažādi enzīmi, kas veicina *S. aureus* izplatīšanos saimnieka organismā (Foster JT, 2002). Piemēram, katalāzi, beta laktamāzi, hialuronidāzi, stafilokināzi (darbojas fibrinolīzē), koagulāzi, fosfodiesterāzi, lipāzi (taukskābju modificējošo enzīmu), proteīnāzi,

laktātdehidrogenāzi. Daļai enzīmu precīza loma cilvēka slimību patogēnēzē nav skaidra (Lowel GS, 2008) (1.1. Tab.).

Lielākajai daļai *S. aureus* izolātu ir polisaharīdu kapsula. Lai gan ir aprakstīti 11 kapsulas serotipi, tomēr tiek uzskatīts, ka pastāv tikai četri no tiem (1, 2, 5, 8). Klīniski nozīmīgu cilvēka un dzīvnieku *S. aureus* izolātu biežāk sastopamie kapsulas polisaharīdu tipi ir piektais un astotais. Iespējams, tas norāda uz šo virsmas komponentu svarīgo lomu *S. aureus* izsaukto slimību patogēnēzē, kas nav līdz galam izpētīta (Lowel GS, 2008).

***S. aureus* virulences faktoru raksturojums**

Virulences faktors	Lokalizācija	Kodējošais gēns	Bioloģiskā aktivitāte	Klīniskās izpausmes	Sastopamība cilvēkiem	Atsauces
Hemolīzīni ($\alpha, \beta, \gamma, \lambda$ toksīni) α -toksīns	ekstracelulārs	<i>hla</i>	Bojā membrānas eritrocītiem, makrofāgiem, trombocītiem, fibroblastiem, dermonekrotisks, hemolītisks citotoksīns	Audu šūnu bojājums	85%	Foster JT <i>et al</i> , 2001, Bhadi S <i>et al</i> , 1991, Liang X <i>et al</i> , 2009, Yarovsky TO <i>et al</i> , 2008.
β -toksīns (sfingomielināze)	ekstracelulārs	<i>hly</i>	Hemolītiska aktivitāte. Sfingomielīns bojā un degradē eritrocītu, leikocītus, fibroblastus, iedarbojas uz cilvēka limfocītiem.	Audu šūnu bojājums	11-13%	Foster JT <i>et al</i> , 2001, Akerström FM <i>et al</i> , 1999, Walev I <i>et al</i> , 1996, Huseby M <i>et al</i> , 2007.

Turpinājums 1.1.tabulai

Virulences faktors	Lokalizācija	Kodējošais gēns	Bioloģiskā aktivitāte	Klīniskās izpausmes	Sastopamība cilvēkiem	Atsauces
γ –toksīns	ekstracelulārs	<i>hlgA, hlgB, hlgC</i>	Leikolītiska un hemolītiska aktivitāte, kombinējoties HlgA un HlgC proteīniem	Audu šūnu bojājums	Hlg lokusu atrod 99% izolātu	Prevost G <i>et al</i> , 1995.
λ -toksīns	ekstracelulārs	<i>hld</i>	Toksīns ir citolītisks pret dažādu šūnu membrānām, arī eritrocītiem, audu kultūru šūnām un baktēriju protoplastiem. Spēj stimulēt fosfolipāzes A2 aktivizāciju un prostoglandīnu sintēzi, kā arī dažādu šūnu lipīdu mediatorus	Audu šūnu bojājums	Neizsauc saslimšanas cilvēkiem	Foster JT, 2001
Leikocidīns PV	ekstracelulārs	<i>lukF-PV, S-PV</i>	PVL inducē bioloģiski aktīvo vielu histamīna, enzīmu, piem. beta glikuronidāze produkciju.	Nekrotiskas izmaiņas audos	Dažāds	WardPDetal,1980, PrevostGetal,1995, NaritaSet al, 2001

Turpinājums 1.1. tabulai

Virulences faktors	Lokalizācija	Kodējošais gēns	Bioloģiskā aktivitāte	Klīniskās izpausmes	Sastopamība cilvēkiem	Atsauces
Eksfoliatīvie toksīni. Epidermolītiskie toksīni A un B (ETA, ETB)	Ekstra-celulārs	<i>eta, etb</i>	Izraisa intraepidermālu sabrukšanu, granulārajā slānī bojājot keratinocītu adhēziju nodrošinošo proteīnu - desmogleīnu – 1. <i>etb</i> gēns lokalizēts plazmīdā, kas nodrošina multiplu šī gēna kopiju izveidi, kas paaugstina ETB produkciju	<i>eta</i> klātbūtne asociēta ar bulozo impetigo, savukārt <i>etb</i> ar ģeneralizētu stafilokoku applaucētās ādas sindromu.	<i>eta</i> un <i>etb</i> sastopami attiecīgi tikai 1,2% un 0,5% <i>S. aureus</i> klīnisko izolātu	Becker K <i>et al</i> , 2003. Yamasaki O <i>et al</i> , 2005.

Turpinājums 1.1. tabulai

Virulences faktors	Lokalizācija	Kodējošais gēns	Bioloģiskā aktivitāte	Klīniskās izpausmes	Sastopa-mība cilvēkiem	Atsauces
Enterotoksīni	Ekstracelulārs	Gēni lokalizēti plazmīdās, bakteriofāgos, patogēnētisk-ajās salās. Ekspresiju regulē <i>agr</i> <i>sar</i> , gēni	Šie toksīni ir mazas neglikolizētas polipeptīdu molekulas, kas ir vidēji stabilas pret ķīmisku inaktivāciju, proetolīzi un denaturāciju vārot.	<i>S. aureus</i> enterotoksīniem piemīt emētiska aktivitāte	Nav datu.	Foster JT 2001.

Turpinājums 1.1. tabulai

Virulences faktors	Lokalizācija	Kodējošais gēns	Bioloģiskā aktivitāte	Klīniskās izpausmes	Sastopa-mība cilvēkiem	Atsauces
Toksiskā šoka sindroma toksīns (TŠST)	Ekstracelulārs	<i>tst</i>	TŠST – 1 inducē Il-1 un tumora nekrozes faktora produkciju, kā rezultātā attīstās hipotensija, drudzis, multiorgānu bojājumi.	Associēts ar toksiskā šoka sindromu, kas parasti ir saistīts ar mentruācijām (95%) un stafilokoku infekciju (65%)	Nav datu	Dinges MM <i>et al</i> , 2000, Todd JK <i>et al</i> 2007.

Turpinājums 1.1.tabulai

Virulences faktors	Lokalizācija	Kodējošais gēns	Bioloģiskā aktivitāte	Klīniskās izpausmes	Sastopamība cilvēkiem	Atsauces
Ekstracelulārie enzīmi - katalāze, beta laktamāze, hialoronidāze, stafilokināze, koagulāze, fosfodieterāze, lipāze, u.c.	Ekstracelulāri, vai uz šūnas virsmas	dažādi	Šo enzīmu precīza loma cilvēka slimību patogēnēzē nav skaidra	Šo enzīmu precīza loma cilvēka slimību patogēnēzē nav skaidra	Šo enzīmu precīza loma cilvēka slimību patogēnēzē nav skaidra	Lowell S <i>et al</i> , 2008.
Virsmas komponenti: kapsulas polisaharīdi	Šūnas virsma	dažādi	Aprakstīti 11 kapsulas serotipi, tomēr tiek uzskatīts, ka pastāv tikai četri no tiem (1, 2, 5, 8).	Nav skaidra ietekme	Klīniski nozīmīgu cilvēka un veterināro <i>S. aureus</i> izolātu biežāk sastopamie kapsulas polisaharīdu tipi ir piektais un astotais.	Lowell S <i>et al</i> , 2008.

Nobeigums 1.1. tabulai

Virulences faktors	Lokalizācija	Kodējošais gēns	Bioloģiskā aktivitāte	Klīniskās izpausmes	Sastopamība cilvēkiem	Atsauces
Virsmas proteīni Fibronektīnu saistošais proteīns A un B	Šūnas virsma	<i>fnbA, fnB</i>	Piesaistās pie fibronektīna	Piesaiste implantētiem svešķermeņiem un traumētiem audiem	Nav zināms	Peacock SJ <i>et al</i> , 2000
Proteīns A	Šūnas siena un ekstraceluāri	<i>spa</i>	Spēj piesaistīt visas cilvēka IgG apakšklases (izņemot IgG3) no Fc puses, to inaktivējot, tādējādi kļūstot antifagocītisks. Aktivizē komplementu.	Lielākais šūnas sienas proteīns	Satur visi <i>S. aureus</i> izolāti	Schneewind O <i>et al</i> , 1995, Lowel GS, 2008.

1.3. Antibakteriālā rezistence

Rezistenci pret antibakteriālajām vielām nosaka divi galvenie mehānismi. Rezistence var veidoties hromosomālo gēnu mutācijas rezultātā, piemēram, rezistence pret flourkvinoloniem. Otra mehānisma ietvaros notiek gan horizontāla, gan vertikāla gēnu transmisiju, ko nodrošina mobili ģenētiski elementi, piemēram, plazmīdas, kas var nest vienu vai vairākus rezistences gēnus (Wright GD, 2010).

1.3.1. Rezistence pret beta laktāmiem

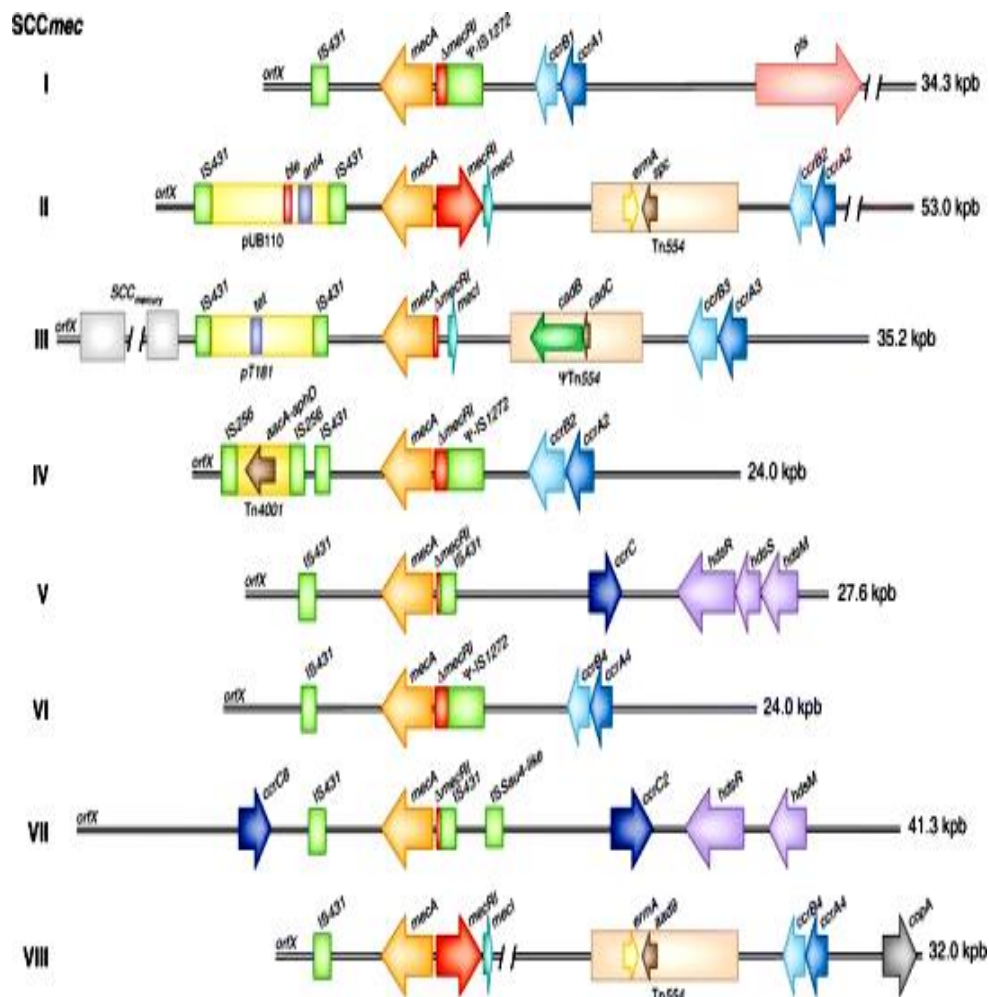
Beta laktāmi un to derivāti veido antibakteriālo vielu lielāko klasi. Galvenā šo antibakteriālo vielu darbība ir šūnas sienas biosintēzes inhibīcija (Goffin C *et al*, 1998).

S. aureus beta laktāmu rezistenci nosaka *blaZ* gēns, kas kodējo beta laktamāzi (penicilāzi), fermentatīvi hidrolizē beta laktāmus, noārdot beta laktāmu gredzenu, kā rezultātā veidojas rezistence pret beta laktāmu antibiotikām kā penicilīnu, ampicilīnu, amoxicilīnu, piperacilīnu, tikarcilīnu. *blaZ* gēna straujā izplatība starp *S. aureus* izolātiem notiek pateicoties plazmīdām. Līdz ar penicilīna ieviešanu medicīnas praksē 20. g.s. 40. gados samazinājās mirstība no *S. aureus* izraisītām slimībām. Tajā pašā laikā strauji pieauga penicilīna izmantošana infekcijas slimību ārstēšanā. Jau 20. g.s. 50. gadu vidū strauji pieauga penicilīna rezistentu izolātu skaits. Sākotnēji augsta penicilīna rezistence tika novērota hospitālajiem *S. aureus*. Turpmāk penicilīna rezistenci novēroja arī sadzīvē iegūtajiem izolātiem (Oliveira DC *et al*, 2002). Jau 60. gadu beigās vairāk ka 80% no sabiedrībā un stacionārā iegūtajiem *S. aureus* bija rezistenti pret penicilīnu. Patreiz vairāk kā 90% *S. aureus* izolātu producē penicilāzi un ir rezistenti pret penicilīnu (Olsen JE *et al*, 2006).

Meticilīns (celebenīns) ir pussintētisks penicilīna derivāts, kas ir ķīmiski modificēts, lai darbotos pretēji degradējošai penicilāzes darbībai. Šis medikaments

tika ieviests terapijā Eiropā 1959. – 1960. gadā, taču jau gadu vēlāk tika atklāti pirmie meticilīnrezistentie *Staphylococcus aureus* (MRSA), kam sekoja ziņojums par pirmo MRSA uzliesmoju 1963. gadā. Turpmāk vērojama viļņveidīga MRSA izplatība visā pasaulē (Oliveira DC *et al*, 2002).

S. aureus meticilīnrezistence veidojas, meticilīnjutīgajiem *S. aureus* (MSSA) iegūstot stafilokoku hromosomālo kaseti (*SCCmec*) (Feil EJ *et al*, 2003). Stafilokoku hromosomālā kasete ir mobils ģenētisks elements, kas satur *mecA* gēnu. *mecA* gēna ekspresija nosaka penicilīnu saistošā proteīna (PBP2A) produkcija, kā rezultātā tiek traucēta meticilīna un citu beta laktāmu piesaiste *S. aureus* šūnas sienai (Ito T *et al*, 2003). *Staphylococcus aureus* rezistenci pret visiem zināmajiem beta laktāmiem. Stafilokoku hromosomālajā kasetē var būt integrēti arī citi, daudz mazāk mobili ģenētiski elementi (plazmīdas, transpozoni), kuri, savukārt, arī satur rezistences gēnus (Kondo Y *et al*, 2007). *SCCmec* tipu klasifikāciju veido trīs *mec* gēna kompleksi un četri dažādi *ccr* (hromosomālās kasetes rekombināzes) gēna kompleksi. Patreiz zināmi astoņi *SCCmec* veidi (Ito T *et al*, 2009, Malachowa D *et al*, 2010). Sabiedrībā iegūtais MRSA parasti satur *SCCmec*IV, V, vai VII elementus (Ma XX *et al*, 2002). Savukārt stacionārā iegūto MRSA raksturo lielāku *SCCmec* klātbūtne *SCCmec*I, II, III, VI, vai VIII, kas, papildus *mecA*, satur arī citus rezistences gēnus (Chambers HF *et al*, 2009, Chongtrakool P *et al*, 2006, Ma XX *et al*, 2002). Piemēram, *SCCmec*VIII J2 reģionā atrodas Tn554 transpozons, ar tetramicīna rezistences gēnu (*ermA*) un streptomicīna/spectomicīna (*aad9*) gēniem (Zhang K *et al*, 2009) (1.2. attēls).



1.2.att. *S. aureus* SCCmec tipu salīdzinājums (Malachowa D *et al*, 2010).²

Lai gan pēdējo gadu laikā atsevišķās ES valstīs tiek novērota MRSA izolātu izplatības samazināšanās, tomēr vidēji 17,4% no invazīvo infekciju izraisītājiem ir MRSA (ECDC dati).

² *ccr* gēni kodē specifiskas rekombināzes un ir atšķirīgas starp kasešu tipiem. *mec* gēna komplekss satur *mecA* gēnu, kas raksturīgs visiem kasešu tipiem. Visas kasetes atrodas hromosomālajā *orfX* gēnā. *SCCmec* elementi satur papildus antimikrobās rezistences marķierus, piem. Tn554 spectomicīna/streptomicīna,eritromicīna rezistenci; pUB110 tobramicīna; plazmīda pT181 kodē tetraciklīna rezistenci; ΨTn554 kodē kadmija rezistenci (Malachowa *et al*, 2010; Ito T *et al*, 2009).

Latvijā prevalence ir zemāka kā vidēji Eiropā, no asinīm izdalīto MRSA izolātu daudzums 2010. gadā bija 13,7% (Heuer O *et al*, 2011).

1.3.2. *S. aureus* glikopeptīdu rezistence

Vankomicīns klīniskajā praksē tika ieviests 1956. gadā. Sākotnēji tā lietošana bija ierobežota nefrotoksicitātes dēļ, ka arī ar plašajām iespējām lietot beta laktāmu saturošās antibakteriālās vielas. Laikā, kad tika atklāti pirmie MRSA izolāti (1961.gads), un MRSA kļuva par nozīmīgu nozokomiālo infekciju izraisītāju, pagājušā gadsimta 70.gados, vankomicīnu uzsāka lietot kā efektīvu pret MRSA līdzekli. Pirmie vankomicīna rezistentie *S. aureus* izolāti (VRSA) tika identificēti 2002. gadā ASV, kad tika ziņots par 8 izolātiem.(Sievert DE *et al*, 2008, Zhu W *et al*, 2008). Vankomicīna rezistenci MRSA nosaka *vanA* gēna transpozons (Tn1546), kuru nes plazmīda, kas savukārt ir iegūts no *Enterococcus faecium* (Hiramatsu K, *et al* 2009). *S. aureus* vankomicīna iegūtā rezistence literatūrā nav aprakstīta kā plaši izplatīta. Līdz šim nav publicēti dati par šo gēnu atrašanos Latvijā.

Lielāka uzmanība literatūrā tiek pievērsta *S. aureus* celmiem, kas ir mēreni jutīgi vai ar samazinātu jutību pret vankomicīnu (VISA). Pirmie *S. aureus* izolāti ar samazinātu jutību pret vankomicīnu tika identificēti 90.gadu beigās. (Hiramatsu K *et al*, 2001, Friedkin SK *et al*, 2001, Hageman JC *et al*, 2001). Lai gan precīzs rezistences mehānisms nav skaidrs, tomēr patreiz tiek uzskatīts, ka *S. aureus* samazināta vankomicīna jutība attīstījusies mutāciju rezultātā (Howden BP *et al*, 2010). Ziņojumi par VISA izplatību saņemti gan no Eiropas un ASV, gan Austrālijas un Taizemes (Bierabaum G *et al*, 1999, Denis O *et al*, 2002, Howden BP *et al*, 2010, Trakulsomboon S *et al*, 2001).

Klīniski *S. aureus* iedalījumu VISA un VRSA nosaka MIC lielums, kur VISA ir *S. aureus* celmi ar MIC 4-8 µg/ml, bet VRSA ir izolāti ar MIC virs vai vienādi ar 16 µg/ml (Howden BP *et al*, 2010).

1.3.3. *S. aureus* rezistence pret citiem antimikrobiem aģentiem

S. aureus antimikrobā rezistence ir pazīstama ne tikai pret biežāk lietotajām antistafilokoku antibiotikām – beta laktāmiem un glikopetīdiem, bet arī pret citām antibakteriālajām vielām. Rezistences mehānismi un pakāpes ir dažādas.

Makrolīdi parasti tiek izmantoti kā droši un efektīvi antibakteriālie līdzekļi penicilīna un citu beta laktāmu hipersensitivitātes gadījumos. No tiem, kā visefektīvākais no makrolīdiem cīņā pret metecilīna jutīgajiem un metecilīna rezistentajiem stafilokokiem, tiek uzskatīts klaritromicīns (Nilius AM *et al*, 2001). Gan klinadmicīnam, gan linkozamīdam ir līdzīgi darbības un rezitences mehānismi kā eritromicīnam, lai gan ķīmiski šie preparāti ir atšķirīgi. Tā kā klinadmicīna antistafilokoku aktivitāte ir augstāka kā eritromicīnam, tad šo medikamentu bieži izmanto *S. aureus* infekciju ārstēšanā, tomēr pēdējā laikā sakarā ar novēroto rezistenci MRSA izolātos, tā izmantošanu klīniskajā praksē tiek ierobežota. (Moran GJ *et al*, 2006, Szumowski JD *et al*, 2007). Makrolīdu rezistences, tāpat kā rezistences pret linkozamīdiem, divi galvenie mehānismi ir ribosomālā modifikācija metilējot un medikamentu efflukss, kas nosaka augstāka un zemāka līmeņa rezistenci, kā papildus mehānisms ir pašu medikamentu modifikācija. (Strahilevitz J and Hooper DC, 2009).

Aminoglikozīdiem piemīt plašs darbības spektrs, arī pret *S. aureus*, tomēr tos reti izmanto kā pirmās līnijas preparātus *S. aureus* infekciju ārstēšanā. Aminoglikozīdi parasti tiek izmantoti kombinētās terapijas veidā, papildus beta laktāmiem un glikopetīdiem, *S. aureus* infekciozā endokardīta terapijā (Le T *et al*, 2003). Aminoglikozīdu rezsitenci *S. aureus* nosaka bifunkcionāls enzīms, kas katalizē medikamenta modifikāciju acetilejot un fosforilējot.

Rifampīns stafilokou izraisīto infekciju gadījumos tiek izmantots tikai kombinācijā ar kādu citu antistafiloku aģentiem, jo ir novērota strauja rezistences

attīstība, ja šis medikaments tiek lietots viens pats (Strahilevitz J, Hooper DC, 2009).

Mupirocīns tiek izmantots *S. aureus* infekciju topiskai ārstēšanai un eradikācijas nolūkos *S. aureus* kolonizācijas gadījumā. Pret mupirocīnu rezistentu celmu izplatību nodrošina plazmīdas, kas nes rezistences gēnu *ileS2* (*mupA*) (Strahilevitz J, Hooper DC, 2009).

Ir novērota rezistence arī pret kvinolonu grupas antibiotikām, trimetoprimu-sulfametaxozolu, kā arī nesen klīniskajā praksē ieviestajiem medikamentiem – daptomicīnu un linezolidu (Strahilevitz J, Hooper DC, 2009).

Lai gan fuzidīnskābe veiksmīgi tiek izmantota klīniskajā praksē, gan nozīmējot to parenterāli, gan perorāli, gan topiski dažādu infekciju gadījumos, tomēr arvien biežāk tiek ziņots par fuzidīna rezistenci, gan starp meticilīn jutīgajiem, gan meticilīn rezistentajiem *S. aureus* (Katopodis DG *et al*, 2010).

Multirezistentie MRSA ir sastopami stacionāros. Šo MRSA stafiloku hromosomālā kasetē *SCCmec* integrēti citi rezistences gēni plazmīdu, transpozonu veidā, tādējādi iegūstot rezistenci pret dažādu klašu antibakteriālajām vielām, piemēram, – kanamicīnu, tobramicīnu (pUB110), *ermA* gēna inducētā rezistence pret makrolīdiem, klindamicīnu, streptogramīniem (Tn554), tetraciklīniem (pT181). (Strahilevitz J, Hooper DC, 2009).

Sabiedrībā iegūtie MRSA saglabā jutību pret ne beta laktāmu antibiotikām, pateicoties tā *SCCmec* IV salīdzinoši nelielajam izmēram, jo satur vienīgi *mec* gēnus. Tomēr ir ziņojumi par SI MRSA celmiem, kas jau ir ieguvuši papildus rezistenci pret makrolīdiem, klindamicīnu, mupirocīnu, tetraciklīnu, pateicoties *ermC*, *mupA*, *tetK* gēniem, kurus nes dažādas plazmīdas (Diep BA *et al*, 2008, Han LL *et al*, 2007). Sabiedrībā iegūtie izolāti rezistenci iegūst arī epidemioloģiski sajaucoties ar stacionārā izraisīto infekciju ierosinātāju *S. aureus* izolātiem (Seybold U *et al*, 2006, Huang YH *et al*, 2007).

1.4. *S. aureus* epidemioloģija

1.4.1. *S. aureus* nēsāšana

Cilvēks ir viens no dabīgajiem *S. aureus* rezervuāriem. Personas, kuras ir kolonizētas sauc par *S. aureus* nēsātājiem. *S. aureus* visbiežāk kolonizē deguna ejas, taču tas var atrasties arī citur uz ķermeņa virsmām (1.2. tab.).

1.2. tabula

***S. aureus* nēsāšana atkarībā no ķermeņa vietas pieaugušajiem sabiedrībā**

(adaptēts no Verbrugh HA, 2009)

Lokalizācija	Biežums (%)
Deguns	30
Rīkle	20
Apakšdelmi	20
Starpe	22
Plaukstas	27
Vēdera un krūšu kurvja āda	15
Kakls	10
Paduses	8

Cilvēku populācijā izšķir trīs veidu *S. aureus* nēsātājus – pastāvīgi, intermitējoši nēsātāji un personas, kuras nav *S. aureus* nēsātāji. Apmēram 20- 40% no populācijas ir pastāvīgi kolonizēti ar *S. aureus*. Liela daļa populācijas (apmēram 60%) *S. aureus* no deguna izolē periodiski. Šādas personas sauc par intermitējošiem nēsātājiem. Tikai apmēram 20% no populācijas nav *S.aureus* nēsātāji, šīm personām no deguna nekad nav ticis izolēts *S. aureus* (Kluytmans JA

et al, 1997.).

Biežāki *S. aureus* nēsātāji ir personas ar insulīnējamu cukura diabētu, intravenozo narkotiku lietotāji, hemodialīzes pacienti, ka arī pacienti ar hroniskām ādas slimībām, sekundāriem imūndeficītiem un veselības aprūpes darbinieki. Apmēram 40% bērnu ir intermitējoši kolonizēti ar *S. aureus*. Bērniem un zīdaiņiem *S.aureus* kolonizāciju biežāk novēro rīklē, jaundzimušajiem biežāka ir ādas un nabas kolonizācija ar *S. aureus*. Bez tam *S. aureus* var kolonizēt arī paduses, perineum, vagīnu un taisno zarnu (Chensey JP, 2003.). Kāda cita pētījuma ietvaros, kur bērniem pētīta *S. aureus* kolonizācija bērnu dienas aprūpes centrā, konstatēts, ka 21% no 104 bērniem ir *S. aureus* nēsātāji. Pozitīvas izrādījās kultūras, kas iegūtas no deguna ejām un rīkles (Hewlett AL *et al*, 2009).

Šis patogēns spēj kolonizēt ne tikai cilvēkus, bet arī citus zīdītāju klases pārstāvjus, kā zirgus, kaļus, suņus, arī mājlopus – cūkas, govīs un kazas. Tas var kolonizēt arī putnus – vistas un tītarus, tādējādi ne tikai izraisot saslimšanas dzīvniekiem un putniem, bet arī kalpojot par rezervuāriem cilvēku kolonizācijai (Adebayo O *et al*, 2007).

Lai gan parasti *S. aureus* nēsātāji ir veselas personas, tomēr apstākļos, kad tiek nojauktas bioloģiskās aizsargbarjeras, iespējama endogēna infekcijas attīstība bez tam nēsātāji spēj inficēt personas, kuras nav nēsātāji. Bieži šādas situācijas iespējams stacionāros, kur inficēšanās iespējama gan pašu pacientu starpā, gan personāla un pacienta starpā. Sabiedrībā šāda inficēšanās iespējama vietās, kur notiek pastiprināta cilvēku pulcēšanās un cieša saskare, piemēram, sporta klubos (Verbrugh HA *et al*, 2009).

1.4.2. *S. aureus* stacionārā

Nozokomiālas infekcijas ir lokalizētas vai sistēmiskas salīmšanas, kuras izraisījis infekcijas aģents vai tā toksīni un, kura nav konstatēta vai bijusi inkubācijas periodā stacionēšans laikā (vairumā infekciju, pēdējo 48 stundu laikā pēc hospitalizācijas) (Garner JS *et al*, 1988.) Nozokomiālo infekciju avoti bērniem

var būt māte, invazīva monitorēšana un dažādas dzīvībai svarīgu funkciju uzturošas ierīces, asins produkti, mākslīgie piena maisījumi un mātes piens, slimnīcas personāls un citi kontakti kā vecāki un citi radnieki (Lowel GS, Daum RS, 2008). Infekciju transmisijas veidi ir dažādi – tiešs un netiešs kontakts, gaisa pilienu un aerosola veidā (Lowel GS, Daum RS, 2008). Biežākās nozokomiālās infekcijas ir urīnceļu infekcijas, elpceļu infekcijas, pēcoperācijas infekcijas, asinrites infekcijas un citas. Aptuveni 5% gadījumu tiek izolēts multi rezistentais *Staphylococcus aureus* (Lowel GS, Daum RS, 2008).

S.aureus ir viens no biežākajiem nozokomiālo infekciju izraisītājiem. *S. aureus*, kā nozokomiālo infekciju izraisītāju, galvenokārt raksturo tā spēja īsā laika periodā iegūt rezistenci pret klīniskajā praksē lietotajiem medikamentiem. To pierāda gan straujā beta laktāmu rezistences izveidošanās pēc penicilīna ieviešanas klīniskajā praksē pagājušā gadsimta 40.gados, gan turpmāk attīstījusies meticilīna rezistence pēc ķīmiski modificētu pussintētisko penicilīna derivātu ieviešanas klīniskajā praksē. Patreiz MRSA ir viens no nopietnākajiem stacionārā iegūto infekciju izraisītājiem. Šos izolātus raksturo ne tikai meticilīna rezistence bet arī rezistence pret citiem antibakteriālajiem aģentiem. Riska faktori MRSA iegūšanai stacionārā ir gan iepriekšēja antibakteriālās terapijas saņemšana, gan hroniskas saslimšanas, kas prasa stacionāra terapiju, hronisku brūču esamība un dažādu patstāvīgi ievietotu ierīču klātesamība. Nozokomiālo infekciju uzraudzība Eiropā tiek veikta pateicoties Eiropas infekciju uzraudzības centra (ECDC) atbalstam. Eiropā ir izveidota sistēma (EARSS), kuras ietvaros tiek veikta informācijas saņemšana un apkopošana par invazīvo MRSA tendencēm Eiropā. Šajā sistēmā iesaistījušās 26 Eiropas valstis, to skaitā arī Latvija. Lai gan 2010. gada dati liecina par invazīvo MRSA daudzuma samazināšanos, tomēr vairāk kā viena ceturtdaļa no informāciju iesniegušajām valstīm ziņo, ka invazīvie MRSA izolēti 25% gadījumu un biežāk (Heuer O *et al*, 2011).

1.4.3. *S. aureus* ārpusstacionāra apstākļos

Meticilīnrezistentais *S. aureus* šobrīd ir kļuvis par nozīmīgu sadzīvē iegūstamu patogēnu. Pazīmes, kas atšķir hospitālos MRSA celmus no sadzīvē iegūtajiem, ir hospitālo riska faktoru neesamība, jutība pret lielāko daļu antimikrobiālo vielu, izņemot β – laktāmus, atšķirīgi genotipi, kas nesakrīt ar biežāk atrasto hospitālo celmu genotipiem, IV vai V tipa SCCmec kasete, kas reti sastopama nozokomiālajiem celmiem, un gēni, kas kodē Pantona – Valentine leukocidīnu (Shukla SK *et al*, 2004). Lai gan jutība pret lielāko daļu antibiotiku ir viena no raksturīgajām SI – MRSA īpašībām, viena no galvenajām sadzīvē iegūto meticilīnrezistentu *S. aureus* pazīmēm ir PVL toksīna producēšana. Pasaulē pieaug gadījumu skaits, kad PVL pozitīvie celmi ir saistīti ar sadzīvē iegūtu nekrotisku pneimoniju. PVL producējošo *S. aureus* saistību ar sadzīvē iegūto pneimoniju pirmo reizi aprakstīja Lina *et al.*, kas izstrādāja arī PQR PVL gēnu noteikšanai un, apstiprinot iepriekšējos pētījumus, pierādīja, ka PVL gēni ir ļoti cieši saistīti ar primārajām ādas infekcijām, īpaši, furunkulozi (Lina G *et al*, 1999).

1.5. *S. aureus* izraisītās slimības un terapija

Novājinoties saimnieka organismam, *Staphylococcus aureus* spēj izraisīt dažādas slimības (Waldvogel FA, 2000).

S. aureus ir biežākais ādas un mīksto audu infekciju ierosinātājiem, kā rezultātā var attīstīties gan viegli virspusēji ādas un mīksto audu bojājumi, gan arī smagas invazīvas infekcijas. *S. aureus* patogenitātei liela nozīme ir gan paša patogēna adhēzijas spējai, gan saimnieka organisma aizsargbarjeru – ādas un gļotādu, stāvoklim (Cheney JP, 2003, Zetola N *et al*, 2005). ASV ādas un mīksto audu infekcijas bija viens no biežākajiem ārsta apmeklējuma iemesliem laika periodā no 2001.-2003. gadam - 410,7 vizītes uz 10 000 personām gadā, pie tam, salīdzinājumā ar iepriekš analizēto laika periodu (1992-1994.), vizīšu daudzumam

bija tendence pieaugt. Vairāk kā puse no šiem apmeklējumiem bija saistīti ar sūdzībām par abscesiem un celulītu. Četros procentu gadījumu bija nepieciešma pacientu hospitalizācija. (McCaig LF *et al* 2006). *Staphylococcus aureus* visbiežāk izraisītās ādas un mīksto audu infekcijas ir impetigo, folikulīti, furunkuloze, abscesi, mastīti, cellulīti un nekrotizējošais fascīts. Bērniem, īpaši vecumā no 2-6 gadiem, biežākā *S. aureus* izsauktā ādas infekcija ir impetigo (Stevens DL *et al*, 2005). Izpētīts, ka impetigo incidence personām jaunākām par 18 gadiem bija 20,7 gadījumi uz 1000 personām gadā, pie tam plašāku tā izplatību novēroja siltajā gadalaikā apdzīvotās vietās (Koning S *et al*, 2006). Vēl nesen tika uzskatīts, ka nebulozo impetigo izraisa galvenokārt streptokoki, tomēr patreiz tiek uzskatīts, ka biežākie izraisītāji ir *S. aureus* vai *S. aureus* un streptokoki (Stevens DL *et al*, 2005). Šo saslimšanu biežāk novēro bērniem ar atopisko dermatītu vai bērniem, kuri dzīvo tropiskā klimata apgabalos, vai, kuri uzturas pārapdzīvotās telpās, kur netiek ievērota pienācīga personīgā higiēna (Sladden MJ *et al*, 2004). Koning *et al*, veicot *S. aureus* izpēti bērniem ar impetigo, secinājis, ka slimības smagumu un izpausmes nosaka *S. aureus* epidermolītisko toksīnu ETA un ETB klātbūtne. Bez tam, pētījumā konstatēts, ka 79% no impetigo pacientiem ir *S. aureus* nēsātāji (Koning S *et al*, 2003). Ņemot vērā to, ka biežākais impetigo izraisītājs ir *S. aureus*, empīriski terapijā tiek ieteikts izmantot penicilāzes rezistentos beta laktāmus vai pirmās paaudzes cefalosporīnus (Stevens DL *et al* 2005).

Furunkuloze ir visbiežākā sabiedrībā iegūtā meticilīnrezistentā *S. aureus* izpausme. Ādas un mīksto audu bojājumu progresēšanas rezultātā attīstās abscesi (70-100%) vai celulīts (50-70%). Lai gan infekcija visbiežāk ir lokalizēta ādā un mīkstajos audos, tomēr ir ziņojumi par infekcijas ģeneralizāciju līdz bakterēmijai, septiskam šokam un toksiskam šokam līdzīgam sindromam (Zetola N *et al*, 2005). Meticilīnjutīgā *S. aureus* vai meticilīnrezistentā *S. aureus* furunkulozes uzliesmojumi ir novēroti gan ģimenēs, gan cita veida sabiedrības grupās, kur notiek cilvēku savstarpēja cieša ikdienas kontaktēšanās (Stevens DL *et al* 2005).

S. aureus ir viens no biežākajiem ādas abscesu izraisītājiem (McCaig LF *et al*, 2006). ASV veiktā observatīvi retrospektīvā pētījumā bērniem ar abscesiem, konstatēts, ka salīdzinot 2003. gadu un 2006. gadu ir pieaudzis *S. aureus* izraisīto

abscesu daudzums par 38% (Hsiao CB *et al*, 2010). Kādā citā pētījumā, kur veikta 442 bērnu lielas grupas analīze arī laikā no 2003-2006.gadam, konstatēts, ka 62% gadījumu ādas abscesu izraisītājs bijis MRSA, pie tam, salīdzinot 2003. gada rezultātus ar 2006.gada rezultātiem, šo gadījumu skaitam bija tendence pieaugt no 36,2% līdz 66,5% ($p < 0.001$) (Pickett A *et al*, 2009). Pie tam novērots, ka *S. aureus* celmi, kas izraisa ādas primārus abscesus 70 – 89% gadījumu satur gēnus Pantone-Valentine leukocidīna sintēzei (del Guidice P *et al*, 2009, Issatrel B *et al*, 2005). Gan pieaugušajiem, gan bērniem abscesu bieža attīstība novērota uz ekstremitātēm un iegurņa rajonā, kā arī intravenozo narkotiku lietotājiem, injekciju veikšanas vietās (Talbot TR *et al*, 2007). Abscesu ārstēšanā galvenokārt tiek izmantota incīzija un drenāža. Antibakteriālai terapijai abscesu ārstēšanas procesā ir sekundāra nozīme, piemēram, izmantojot šos medikamentus komplikāciju ārstēšanā (Duong M *et al*, 2010).

Celulīts ir ādas un zemādas audu piogēns iekaisums. Viens no šo saslimšanu izraisītājiem ir *S. aureus* (Stevens DL *et al*, 2005). ASV veiktā pētījumā, kas veikts laika posmā no 1997.gada līdz 2002.gadam, celulīta incidence novērota 26,4 gadījumos uz 1000 personām gadā. Šajā pētījumā bija iekļauti visu vecuma grupu pacienti. Lielākā saslimstība tika novērota visa vecuma vīriešiem un biežāk (39,9%) skartas bija apakšējās ekstremitātes, pie tam celulīts biežāk tika diagnosticēts ambulatori ārstētiem pacientiem (73,8%) (Ellis Simonsen SL *et al*, 2006).

Nekrotizējošais fascīts ir reta, bet dzīvību apdraudoša mīksto audu infekcija, ko raksturo ādas, mīksto audu un fasciju nekroze, kas skar visu vecumu pacientus (Stevens DL *et al*, 2005). Lai gan nekrotizējošo fascītu etioloģija ir polimikrobiāla, tomēr ir pētījumi, kur 19,8% gadījumu kā vienīgais etioloģiskais aģents tiek izdalīts *S. aureus*. Daļai pacientu ar nekrotizējošu fascītu bieži ir arī cukura diabēts, hipertensija, hronisks hepatīts (Miller LG *et al*, 2005, Changchien CH *et al*, 2011). Lai gan nekrotizējošais fascīts ir strauji noritoša infekcija, tai iespējama arī subakūta gaita, kas aprakstīta, piemēram, SI-MRSA gadījumā. Bez tam nereti šī infekcija var asociēties ar bakterēmiju (Miller LG *et al*, 2005). Infekcijas diagnostika ir sarežģīta, nereti tās diagnosticēšanā tiek izmantota

magnētiskās rezonanses izmeklēšanas metode. Terapijā galvenā nozīme ir savlaicīgai agresīvai ķirurģiskai ārstēšanai ar plašu bojāto audu ekscīziju, papildus tiek izmantota antibakteriālā terapija (Miller LG *et al*, 2005, Morgan WR *et al*, 2007).

Piomiozīts ir primārs strutains skeleta muskuļu iekaisums (Stevens DL *et al*, 2005). Piomiozīts var attīstīties gan imūnkompetentām personām, gan pacientiem ar imūndeficītu visās vecuma grupās (Drosos G, 2005; Tlacuilo-Parra JA *et al*, 2005). *S. aureus* vairāk kā 70% piomiozīta gadījumu ir vienīgais piomiozīta izsaucējs (Fox LP *et al*, 2004). Klīniski piomiozītam raksturīga subakūta gaita, sūdzības par krapmjveida sāpēm muskulī un nelielu drudzi. Terapijā izmanto antibakteriālos līdzekļus, kā arī, nepieciešamības gadījumā, ķirurģiskas manipulācijas, kā incīzija un drenāža (Crum NF, 2004).

S. aureus ir viens no mastīta un strutaina hidradenīta izraisītājiem. Ļoti reta *S. aureus* izsaukta hroniska granulomatoza ādas infekcija ir botriomikoze, kas biežāk novērota personām ar diabētu, alkoholiķiem, kā arī pacientiem ar cilvēka imūndeficīta vīrusu (Stryjewski ME *et al*, 2009).

Ādas infekciju ārstēšanai parasti tiek izmantota ķirurģiskā drenāža un antimikrobiāla terapija. Empīriskā antibakteriālā terapija atkarīga no *S. aureus* epidemioloģijas konkrētā reģionā, riska faktoriem un infekcijas smaguma. Reģionos, kur MRSA izplatība ir zema, iesaka izmantot penicilāzes rezistentus beta laktāmus vai pirmās paaudzes cefalosporīnus (Stevens *et al*, 2005). Ja ādas un mīksto audu izraisītājs ir SI-MRSA, tiek rekomēdēta antibakteriālā terapija ar perorālu trimetoprimu - sulfametaksazolu un klindamicīnu (Fergie J *et al*, 2008, Daum RS, 2007). Arī pediātriskajā praksē trimetoprim - sulfametaksazols un klindamicīns var tikt sekmīgi izmantots ādas un mīksto audu infekciju perorālai terapijai papildus ķirurģiskām manipulācijām ambulatori (Hyun DY *et al*, 2008). Jaunākās ASV izstrādātās vadlīnijas ādas un mīksto audu ārstēšanā, bērniem SI-MRSA gadījumā rekomēdē terapijā izmantot klindamicīnu, sākumā sistēmiski, turpmāk pārejot uz perorālu ievades veidu, pie nosacījuma, ja izolētā kultūra ir jutīga uz šo antibakteriālo līdzekli. Vankomicīns tiek rekomēdēts, ja pacienta

vispārējais stāvoklis ir smags ar sistēmiskas infekcijas pazīmēm. Kā alternatīva vankomicīnam var tikt izmantots linezolid (Liu C *et al*, 2011).

S. aureus var izraisīt pneimoniju. Pēdējo divdesmit gadu laikā šis patogēns ir kļuvis par nozīmīgu un plaši izplatītu stacionārā un ārpusstacionārā iegūtu pneimoniju izraisītāju (Rubinstein E, Kollef MH, 2009). ASV *S. aureus* 20-40% ir stacionārā iegūtas un ar mākslīgo plaušu ventilāciju saistītas pneimonijas izraisītājs. Pneimoniju ierosinātājs stacionārā pārsvarā ir meticilīna rezistentais *S. aureus*, kam raksturīga polimikroba rezistence (Rubinstein E, 2009). Eiropā nozokomiālo stafilokoku pneimoniju incidence salīdzinot 1974. gadu ar 1997. gadu ir pieaugusi attiecīgi no 2% līdz 50% (Rubinstein E, Kollef MH, 2009). *S. aureus* izraisītajām pneimonijām raksturīga smaga norise, ko raksturo empiēmu un plaušu abscesu attīstība. *S. aureus* izraisītas pneimonijas un plaušu empiēmas biežums bērniem vecumā līdz 2 gadiem ASV laika periodā no 2005. gada līdz 2007. gadam ir pieaudzis četras reizes, sasniedzot 2,5 gadījumus uz 100 000 bērnu, salīdzinot ar laika posmu no 1996. gada līdz 1998. gadam, kad tas bija 0,6 gadījumi uz 100 000 bērnu. Līdzīgas tendences vērojamas arī bērniem vecumā no diviem līdz četriem gadiem (Grijalva CG *et al*, 2010). Kādā citā pētījumā ziņots, ka bērniem empiēma attīstījās 62% gadījumu, bet plaušu abscess – 12% *S. aureus* izraisītas pneimonijas gadījumos. Pie tam pētītajā laika periodā no 2001. gada līdz 2009. gadam, tika novērots stacionēšanas biežuma pieaugums bērniem ar *S. aureus* izraisītu pneimoniju, no 4,81 gadījuma līdz 9,75 gadījumiem uz 10 000 stacionētajiem bērniem (Caririllo-Marquez MA *et al*, 2011). *S. aureus* izraisītām pneimonijām raksturīga attīstība pēc virālām elpceļu infekcijām, īpaši gripas (Peltola VT *et al*, 2004). 2002. gadā tika publicēts pētījums, kurā autori ziņoja par nekrotiskas pneimonijas attīstību jauniem, iepriekš veseliem cilvēkiem pēc gripas. Pie tam 63% gadījumu iznākums bija letāls 48 stundu laikā no saslimšanas sākuma. Pneimoniju izraisītājs bija SI-MRSA, kas saturēja SCCmec IV un gēnus Panton – Valentine leukocidīna sintēzei (Gillet Y *et al*, 2002). No ASV ziņots par pieaugošu bērnu mirstību gripas sezonas laikā. Salīdzinot 2004. - 2005. gada gripas sezonu un 2006. - 2007. gada gripas sezonu, mirstība pieaugusi trīs reizes, kas saistīts ar bakteriālas infekcijas pievienošanos, 64% gadījumu tika izolēts

metecilīna rezistentais *S. aureus* (Finelli L *et al*, 2008). Savukārt kādā citā pētījumā ziņots, ka stacionārā ārstētiem bērniem ar gripu 11% attīstījās *S. aureus* izraisīta pneimonija. Šiem bērniem (ar *S. aureus* pneimoniju), salīdzinot ar bērniem bez gripas, tika novērots garāks mediānais stacionēšanas laiks un smagāka slimības gaita (Reed C *et al*, 2009). Smagi noritošu *S. aureus* pneimoniju gadījumi ziņoti arī pēc respiratori sincitiālā vīrusa saslimšanas maziem bērniem (Stockman LJ *et al*, 2010). Ņemot vērā plašo MRSA izplatību, empīriskai *S. aureus* pneimonijas ārstēšanai bērniem tiek rekomendēts vankomicīns, linezolīds vai klindamicīns (Liu C *et al*, 2011). Rekomendētais terapijas ilgums ir dažāds, no septiņām dienām līdz pat 21 dienai komplikētas pneimonijas gadījumā (Hersh AL *et al*, 2011).

S. aureus ir biežākais, līdz pat 90%, hematogēna osteomielīta izraisītājs bērniem. Visbiežāk tiek skartas garo kaulu metafīzes (Lowel GS, Daum RS, 2008). Pieaugot MRSA izplatībai pasaulē, pieaug arī MRSA izraisītu osteomielītu biežums bērniem. No ASV ziņots par MRSA izraisītu osteomielīta biežuma pieaugumu pediatriem pacientiem laika periodā no 2000 - 2004. gadam, kad MRSA izolēšanas biežums pieaudzis attiecīgi no 4 līdz 40% (Arnold SR *et al*, 2006). Savukārt, kādā citā ziņojumā norādīts, ka MRSA izraisītu osteomielītu biežums bērniem laika posmā no 2002. gada līdz 2007. gadam pieaudzis no 0,3 līdz 1,4 gadījumiem uz 1000 stacionētiem bērniem, kamēr MSSA izraisīto osteomielītu biežums palicis nemainīgs (Gerber JS *et al*, 2009). Slimības gaita bērniem ar MRSA izraisītu hematogēnu osteomielītu ir smagāka pateicoties komplikācijām, kā miozīts, dziļo vēnu trombozes, patoloģiski lūzumi, kaulu abscesi (Saavedra-Lozano J *et al*, 2008). Osteomielītu ārstēšanā vienlīdz svarīga ir gan pareiza antibakteriālās terapijas izvēle, gan ķirurģisko manipulāciju, kā incīzija un drenāža veikšana (Liu C *et al*, 2011). Osteomielīta antibakteriālai terapijai bērniem tiek rekomendēts vankomicīns vai klindamicīns intravenozi. Kā alternatīvi antibakteriāli līdzekļi tiek rekomendēti daptomicīns vai linezolīds. Terapijas ilgums var sasniegt pat 6 nedēļas (Liu C *et al*, 2011). Metecilīna jutīga *S. aureus* gadījumā konservatīvai terapijai bērniem var izmantot antistafilokoku penicilīnus – naficilīnu un oksacilīnu vai pirmās paaudzes cefalosporīnus (Harik NS *et al*, 2010).

Sabiedrībā iegūta *S. aureus* bakterēmija visbiežāk attīstās pacientiem, ja *S. aureus* nokļūst asinsritē no lokalizētas infekcijas vai ādas abrāzijas. Bakterēmijas rezultātā var attīstīties dziļo audu infekcijas, piemēram, endokardīts. Stacionārā iegūta bakterēmija attīstās inficētu svešķermeņu, piemēram, perifēro vai centrālo katetru, gadījumos. Bieži lokāli nenovēro iekaisuma pazīmes. Bakterēmiju rezultātā var attīstīties kaulu, locītavu, plaušu infekcijas, kā arī endokardīts (Eykyn SJ, 2005).

S. aureus izraisīts endokardīts parasti attīstās iepriekš veselīgiem jauniem cilvēkiem. Stafilokoku izraisītais endokardīts ir strauji progresējoša destruktīva slimība, kas tiek dēvēta arī par ļaundabīgo endokardītu. Infekcijas gadījumā tiek novērotas arī ādas manifestācijas, kas līdzinās meningokoku infekcijas gadījumā novērotajām. Stafilokoku endokardīts bieži komplicējas ar liesas abscesiem. Paaugstināts risks iegūt stafilokoku endokardītu ir intravenozo narkotiku lietotājiem (Eykyn SJ, 2005).

Stafilokoku pārtikas saindēšanās sindromu raksturo vemšana, slikta dūša, sāpes vēderā, diareja. Sindroma izsaucējs ir stafilokoku enterotoksīns. Stafilokoku augšanai labvēlīgus apstākļus un karstumizturīgā enterotoksīna produkciju nodrošina nepareizos apstākļos glabāta, olbaltumvielām bagāta un pienu saturoša pārtika. Pārtikas saindēšanās gadījumā var attīstīties tādas komplikācijas kā dehidratācija, hipotensija. Saindēšanās simptomi izzūd apmēram 8 stundu laikā. Diagnozi apstiprina, izdalot *S. aureus* no ēdiena vai tā gatavotāja rokām.

Stafilokoku applaucētās ādas sindroms jeb Ritera slimība ir reta saslimšana, kas visbiežāk sastopama zīdaiņiem un maziem bērniem. Izsaucējs ir *S. aureus* epidermolītiskie toksīni. Klīniski izpaužas ar plašu ādas eritēmu, kam seko ādas deskvamācija. Stafilokoku toksiskā šoka sindroms visbiežāk sastopams sievietēm un saistīts ar menstruācijām un tamponu lietošanu (Waldvogel FA, 2000).

1.6. PVL pozitīvā *S.aureus* infekcija

S. aureus Panton –Valentine leukocidīnu atklāja Van deVelde 1894. gadā, kad tika novērota tā spēja degradēt leukocītus. Toksīna nosaukums radās 1932. gadā, kad zinātnieki Filips Noels Pantons (Philip Noel Panton) un Francis Valentains (Francis Valentine) novēroja šī leukocidīna produkcijas saistību ar strutainām ādas infekcijām (Panton PN *et al*, 1932, citēts pēc Prevost G *et al*, 1995).

PVL pozitīvie *S. aureus* celmi visbiežāk ir saistīti ar virspusējām ādas un mīksto audu infekcijām (Lina G *et al*, 1999). Pateicoties Panton – Valentine leukocidīnam *S. aureus* spēj izraisīt arī dzīvībai bīstamas invazīvas infekcijas kā nekrotiska pneimonija, osteomielīts, nekrotisks fascīts.

1.6.1. Galvenie patoģenēzes mehānismi

PVL ir divu komponentu toksīns, kas iedarbojas uz šūnu ārējo membrānu. Abu toksīna komponentu (LukS un LukF) darbības rezultātā veidojas poras, kas savukārt veicina kalcija kanālu atvēršanos šūnās, kā rezultātā notiek kalcija ieplūšana, masīva iekaisuma mediatoru atbrīvošanās, šūnu apoptoze un nekroze. (Tristan F and Ettiene J, ch 26, (Gillet Y *et al*, 2002, Prevost G *et al*, 1995). PVL ir citolītiska aktivitāte attiecībā pret cilvēka un truša polimorfnukleārajām šūnām, monocītiem un makrofāgiem, bet ne pret eritrocītiem (Prevost G *et al*, 1995).

Panton - Valentine leukocidīna (PVL) produkciju nosaka divi gēni *lukF-PV* un *lukS-PV*. Šie gēni atrodas uz atšķirīgiem bakteriofāgiem, kas spēj inficēt PVL negatīvos *S.aureus* (Narita S *et al*, 2001, Kaneko J *et al*, 1997).

1.6.2. Viegla virspusējās ādas un mīksto audu infekcijas

PVL produkcija saistīta ar ādas un mīksto audu infekcijām un nekrotisku pneimoniju attīstību. 1992. gadā Cribier B. ar autoriem savā ziņojumā demonstrē PVL saistību ar primārām ādas infekcijām, īpaši ar furunkuliem un abscesiem. (Cribier B *et al*, 1992) Jau 1995. gadā Prevost G. ar autoriem ziņo, ka 2% no Strasbūras Universitātes Centrālās slimnīcas *S. aureus* izolātiem nes *luk-PV* gēnu, turpretī *hlg* lokusu atrod 99% izolātu. PVL pozitīvie *S. aureus* izolāti pārsvarā tiek saistīti ar strutainām un nekrotiskām ādas un zemādas audu infekcijām. Pētījumā iekļauti izolāti no pacientiem ar sabiedrībā un stacionārā iegūtām infekcijām, primārām un sekundārām ādas un mīksto audu infekcijām, kā arī sistēmiskām infekcijām. Pacientiem ar PVL pozitīvām ādas un zemādas audu infekcijām konstatēta ģenētiski identisku *S. aureus* izolātu nēsāšana. Autors izsaka hipotēzi, ka *Luk-PV* gēnus varētu izmantot kā marķierus, lai identificētu *S. aureus*, kas potenciāli spēj izraisīt nekrotiskas ādas izmaiņas (Prevost G *et al*, 1995). Četrus gadus vēlāk PVL producējošo *S. aureus* saistību ar sadzīvē iegūto pneimoniju aprakstījusi Lina G. ar autoriem, kas izstrādāja arī PQR (polimerāžu ķēžu reakcijas) PVL gēnu noteikšanai un, apstiprinot iepriekšējos pētījumus, pierādīja, ka PVL gēni ir ļoti cieši saistīti ar primārajām ādas infekcijām, īpaši, furunkulozi (Lina G *et al*, 1999). PVL pozitīvu infekciju izplatība novērota slēgtās sabiedrībās, kā cietumi, skolas, bērnudārzi, sporta zāles. Pirmais šāda veida ziņojums saņemts no Šveices, kur 2000. gadā novērots PVL pozitīvu meticilīna jutīgu *S. aureus* infekcijas ādas un mīksto audu infekciju uzliesmojums skolā vienas klases bērniem un to ģimenēm nelielā ciematā. Apsekojot bērnus un vecākus ar atkārtotām ādas un zemādas audu infekcijas pazīmēm, konstatēts, ka šīs personas ir arī PVL pozitīvu *S. aureus* izolātu nēsātājas (Boubaker K *et al*, 2004). 2002. gadā veikts prospektīvs klīniskais un mikrobioloģiskais pētījums Jaunkaledonijas Gastona Boureta (Gaston Bourret) teritoriālajā stacionārā pacientiem ar abscesiem un mīksto audu infekcijām. PVL pozitīvi izrādījās 89% no izolētajiem *S. aureus* celmiem un visi izolāti bija meticilīna jutīgi. Slimības gaita pārsvarā bija viegla vai vidēji smaga.

Genotipiska radniecība tika konstatēta izolātiem, kas iegūti slēgtas grupas ietvaros. Pie tam, izmantojot PFGE tipēšanas metodi, atklājās, ka PVL pozitīvie izolāti savā starpā ir genotipiski radniecīgāki kā PVL negatīvie celmi savā starpā. Raksta autori izvirza hipotēzi, ka *S. aureus* PVL pozitīvie celmi izplatās sekmīgāk kā PVL negatīvie celmi. Pacienti ar smagām *S. aureus* ādas un mīksto audu infekcijām biežāk bija arī bija *S. aureus* nēsātāji (Issarel B *et al*, 2005). Līdzīgs ziņojums saņemts no ASV, kad 2003. gadā veikta pētījuma ietvaros konstatēts PVL pozitīvā MRSA izraisīts ādas infekcijas uzliesmojums vienas futbola komandas ietvaros (Kazakova SV *et al*, 2005). Lielbritānijā no 2002. līdz 2003. gadam, veicot *S. aureus* izolātu analīzi, izrādījās, ka 1,6% satur PVL ekspresijai nepieciešamos gēnus, pie tam lielākā daļa no tiem bija meticilīnjutīgi, 65% no šiem izolātiem bija saistīti ar ādas un mīksto audu infekcijām, bet 17% ar pneimonijām (Holmes A *et al*, 2005). Par rekurentu abscesu gadījumiem pacientiem pēc ceļojumiem uz tropu zemēm ziņots 2008. gadā no Vācijas. No strutām iegūtie *S. aureus* izolāti bija PVL pozitīvi. Pacienti izrādījās arī PVL pozitīvā *S. aureus* nēsātāji (Schleucher RD *et al*, 2008).

Epidēmisko furunkulozi izraisošajiem *S. aureus* celmiem raksturīga PVL klātbūtne, kas arī nosaka nekrožu attīstīšanos un abscesu veidošanos. Lina G. ar autoriem jau 1999. gadā pierādīja, ka PVL pozitīvie *S. aureus* ir saistīti ar furunkulozi (Lina G *et al*, 1999). Issarel B. ar autoriem izpētīja pacientus ar sabiedrībā iegūtiem mīksto audu abscesiem, 72% gadījumu no strutām izolēja *S. aureus*, no tiem 89% bija PVL pozitīvi (Issarel B *et al*, 2005). Pēdējā laikā parādās ziņojumi par meticilīnjutīgajiem *S. aureus*, kas ir PVL pozitīvi un bieži izraisa lokalizētas ādas un mīksto audu infekcijas (Zetola N *et al*, 2005). Tinnelli M. ar autoru kolektīvu ziņo par PVL pozitīva MSSA uzliesmojumu Itālijā, kur *S. aureus* izplatība notikusi no stacionāra sabiedrībā, izraisot rekurentas ādas un mīksto audu infekcijas vairākās ģimenēs ilgākā laika posmā (Tinnelli M *et al*, 2009). *S. aureus* izraisīto ādas un mīksto audu infekcija bieži aprakstīta jauniem, iepriekš veseliem cilvēkiem, kuri uzturas slēgtās grupās, piemēram, sportistiem, skolniekiem, karavīriem. (Kazakova SV *et al*, 2005, Bobaker K *et al*, 2004, Zinderman CE *et al*, 2004).

Miller L. G. un autori ziņo par vairākiem nekrotizējoša fascīta gadījumiem ASV, Kalifornijā, kur sabiedrībā iegūtais MRSA tika identificēts kā etioloģiskais aģents 14 nekrotizējošā fascīta klīniskajos gadījumos pieaugušajiem. Ziņojumā minēts, ka lielākajai daļai (71%) pacientu paralēli bija citas hroniskas slimības (cukura diabēts, HCV, cilvēka imūndeficīta vīruss vai cits sekundārs imūndeficīts, ka arī daļa pacientu (41%) bija intrvenoza narkotiku lietotāji. Visi *S. aureus* izolāti saturēja PVL gēnus un 86% gadījumu bija vienīgie nekrotizējoša fascīta etioloģiskie aģenti (Miller LG *et al*, 2005).

1.6.3. Smagas invazīvas infekcijas

PVL producējošie *S. aureus* celmi spēj izsaukt nekrotizējošajās pneimonijas imūnkompetentiem bērniem un jauniem cilvēkiem, to norise ir smaga un 75% gadījumu beidzas letāli (Gillet Y *et al*, 2002). Gillet Y. ar autoriem savā ziņojumā salīdzinājis PVL pozitīvo un PVL negatīvo pneimoniju klīniskās izpausmes un secinājis, ka pacienti ar PVL pozitīvā *S. aureus* izraisītām pneimonijām salīdzinoši ar pacientiem, kuriem bija PVL negatīvā *S. aureus* izraisītas pneimonijas, bija jaunāki un pārsvarā imūnkompetenti. Visbiežāk šiem pacientiem bija gripai līdzīgi simptomi, drudzis, tahipnoja, tahikardija, *heamoptysis*, abpusēji plaušu bojājumi (Gillet Y *et al*, 2002). PVL pozitīvajiem *S. aureus* ir izteikta afinitāte pret bojātu elpceļu epitēliju, kur tie ātri nostiprinās un izdala leukocidīnu. PVL iznīcinot polimorf nukleārās šūnas, izraisa iekaisuma mediatoru atbrīvošanos. Alveolārie makrofāgi, pateicoties kuriem virālai infekcijai ir samazināta fagocitārā aktivitāte, ļauj baktērijām netraucēti vairoties. Šim procesam seko nekrotizējošs vaskulīts un hemorāģijas (Morgan M, 2005). Ziņojumi no Lielbritānijas un Vācijas apstiprina *S. aureus* PVL pozitīvo nekrotizējošo pneimoniju norises smagumu (Roberts JC *et al*, 2008, Jung e *et al*, 2008). PVL pozitīvo nekrotizējošas pneimonijas gadījumi ziņoti ne tikai no

Eiropas, bet arī no Amerikas, Austrālijas, Ziemeļamerikas un tālajiem Austrumiem (Roberts JC *et al*, 2008).

S. aureus Pantón - Valentine leukocidīns var izraisīt ādas sepsi un *purpura fulminans*, kuras gadījumā vērojama 60% mirstība, lai gan slimības izraisītājs ir meticilīna jutīgais *S. aureus*. No ASV ziņots par *purpura fulminans* gadījumiem jaunām, iepriekš veselām personām (Kravitz GR *et al*, 2005). No Lielbritānijas ziņots par *purpura fulminans* gadījumu ar turpmāku plaušu bojājumu un multiplu osteomielītu attīstību iepriekš veselam zīdaiņim (Hussain A *et al*, 2007).

1.6.4. PVL poz. *S. aureus* infekcijas diagnostikas iespējas

PVL - pozitīvām *S. aureus* infekcijām raksturīgi ir paaugstināti iekaisuma rādītāji (augsts EGĀ, C-reaktīvais proteīns), lokālas izmaiņas (miozīts, piomiozīts), akūts hematogēns osteomielīts vai osteoartikulāras infekcijas bērniem (Bochini CE *et al*, 2006). Ādas un mīksto audu infekcijas diagnostika balstīta uz PVL pozitīva *S. aureus* celma izolēšanas no bojātā ādas vai zemādas rajona un PVL gēna noteikšanas ar polimerāžu ķēdes reakciju. Pacientiem ar atkārtotiem multipliem furunkuliem un smagām nekrotiskām infekcijām kā nekrotizējošais fascīts reģionos, kur ir augsta SI-MRSA izplatība, PVL pozitīvas *S. aureus* infekcijas iespējamība ir ļoti augsta un tāpēc apsverama (Zetola N *et al*, 2005, Daum RS. 2007, Yamasaki O *et al*, 2005, Miller LG *et al*, 2005). PVL-pozitīvu *S. aureus* osteoartikulāru infekciju diagnosticēšana ir balstīta uz PVL – pozitīva *S. aureus* izolēšanu no asinīm vai osteoartikulārā materiāla. Uz PVL klātbūtni var norādīt smagu osteoartikulāru infekciju attīstība bērniem reģionos ar augstu SI-MRSA izplatību. Nekrotizējošu pneimoniju gadījumā diagnoze balstās uz PVL – pozitīva *S. aureus* izolāciju no asins kultūras vai/un respiratorā trakta materiāla (Zetola N *et al*, 2005, Gillet Y *et al*, 2007). Ja tiek apstiprināta PVL klātbūtne nekrotizējošas pneimonijas gadījumā, Lielbritānijā pieņemtās vadlīnijas rekomendē veikt respiratoro vīrusu, tai skaitā gripas, koinfekcijas noteikšanu. PVL

klātbūtne ir raksturīga ne tikai SI-MRSA, bet arī meticilīna jutīgajiem *S. aureus*, tāpēc gadījumos, kad tiek novērotas iepriekš minēto infekciju pazīmes, *S. aureus* izolātiem būtu jāveic PVL gēnu noteikšana izmantojot polimerāžu ķēžu reakciju (HPA vadlīnijas, 2008).

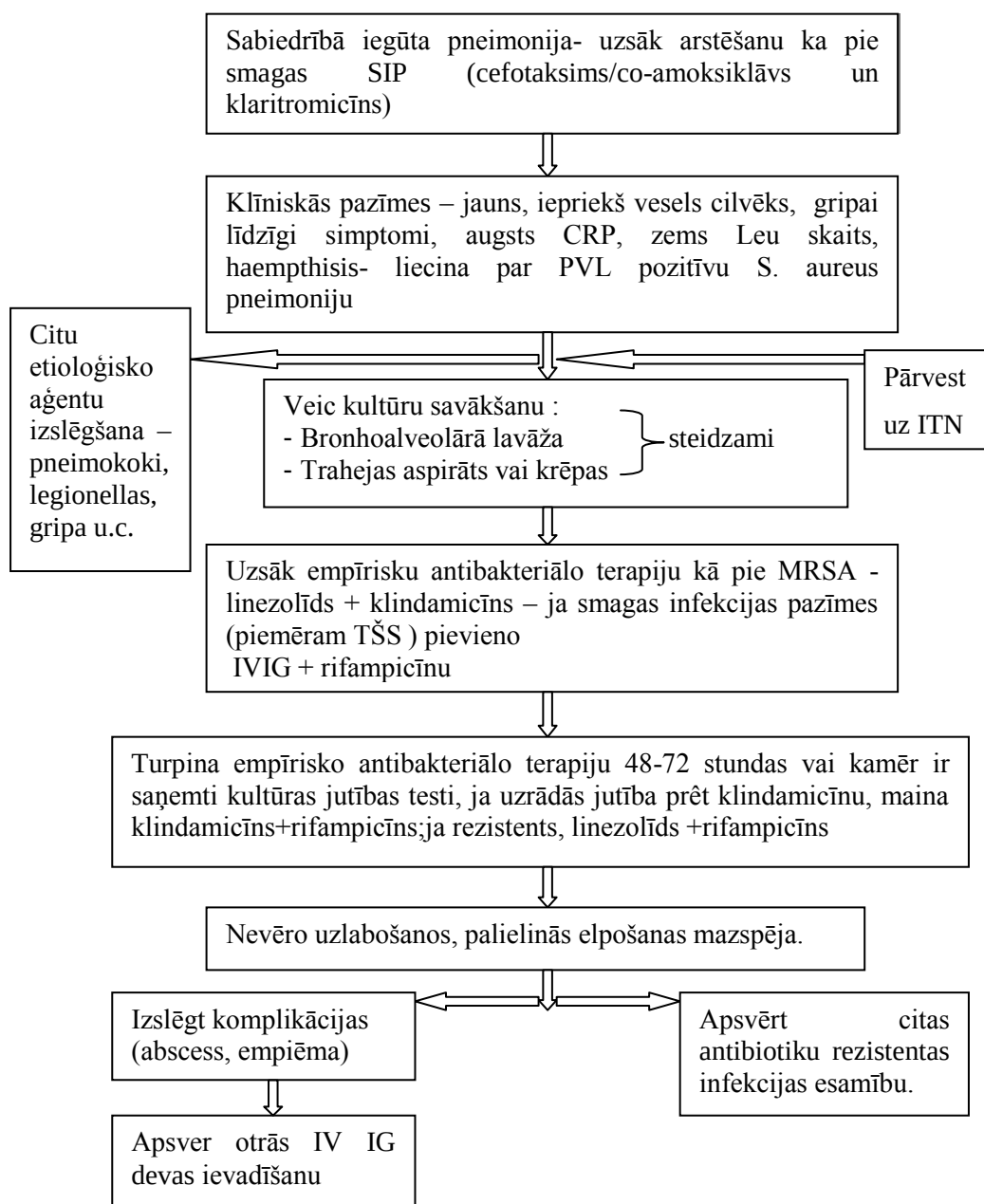
Latvijā nav izveidota datu bāze, kas apkopotu informāciju par PVL pozitīvo *S. aureus* gadījumiem. Lielbritānijas vadlīnijas rekomendē veikt šo gadījumu ziņošanu un uzskaiti atbildīgajās institūcijās (HPA *guidelines*, 2008).

1.7. PVL pozitīvās *S. aureus* infekcijas terapijas iespējas

Lielbritānijā izstrādātās vadlīnijas PVL pozitīvo *S. aureus* infekciju ārstēšanā ādas un mīksto audu infekciju gadījumā rekomendē vienīgi ķirurģiskas manipulācijas (incīzija un drenāža), ja ādas bojājums ir neliels, līdz 5 cm diametrā. Pie lielākiem bojājumiem, tiek rekomendēts, papildus ķirurģiskām manipulācijām, izmantot perorālu antibakteriālu terapiju ar antistafilokoku medikamentiem. Parenterālu antibakteriālu terapiju iesaka lietot gadījumos, kad ir aizdomas par toksiskā šoka attīstību vai piomiozītu. Tāpat parenterāla antibakteriāla terapija tiek rekomendēta, ja ir aizdomas par PVL pozitīvu pneimoniju, šajā gadījumā terapija uzsākama nekavējoties (HPA *guidelines*, 2008).

Rekomendētie antibakteriālie līdzekļi perorāli ir flukoksacilīns vai klindamicīns, MRSA gadījumā rifampicīns kombinācijā ar fuzidīnskābi vai doksiciklīnu, vai trimetoprimu, vai arī klindamicīns viens pats. Smagu infekciju gadījumā, ja ir aizdomas par PVL- pozitīvu *S. aureus* infekciju (MSSA vai MRSA), rekomendē vankomicīnu, teikoplanīnu, daptomicīnu vai linezolīdu (HPA *guidelines*, 2008). Daptomicīns un tigecilīns netiek pielietots ārstēšanā bērniem (Daum RS *et al*, 2007). Antibakteriālā terapija nekrotizējošas pneimonijas gadījumā, ja ir aizdomas par PVL klātbūtni, rekomendē uzsākt terapiju ar klindamicīnu, linezolīdu (samazina alfa toksīna un PVL produkciju) un rifampicīnu. Šādu kombināciju iesaka turpināt lietot līdz pacienta stāvoklis

uzlabojas un kļūst stabils. Terapiju turpina 10 - 14 dienas, kontrolējot C- reaktīvo proteīnu (HPA *guidelines*, 2008). PVL asociētas pneimonijas gadījumā var izmantot terapiju ar intravenozo imūnglobulīnu (IV IG) papildus antibakteriālajai terapijai. Bērniem ieteicamā reizes deva ir 1 g/kg, ko var atkārtot pēc 48 stundām (HPA *guidelines*, 2008) (1.3. att.).



1.3. att. Pacienta terapija stacionārā, iespējamās PVL pozitīvas *S. aureus* izraisītas pneimonijas gadījumā (adaptēts pēc HPA vadlīnijām)

2. MATERIĀLI UN METODES

2.1. Pētījumā izmantoto atsauču avotu atlase

Pētījuma ietvaros tika veikts sistēmisks literatūras apskats par pētījumā izvirzītajiem jautājumiem, ar mērķi noteikt, atlasīt un analizēt uz pierādījumiem balstītas medicīnas zinātnisko literatūru par *S. aureus* virulences faktoriem un izraisītajām infekcijām bērniem. Sistēmiskā literatūras apskata ietvaros tika izmantota: The Cochrane Library (www.cochrane.org), Pub Med Clinical Queries: Find Systematic Reviews (www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query/static/clinical.shtml), EbscoHost (www.ebscohost.com) ar ieeju DynaMed (www.dynaweb.ebscohost.com), ProQuest (www.proquest.com) un MDConsult (www.MDConsult.com) datubāzes.

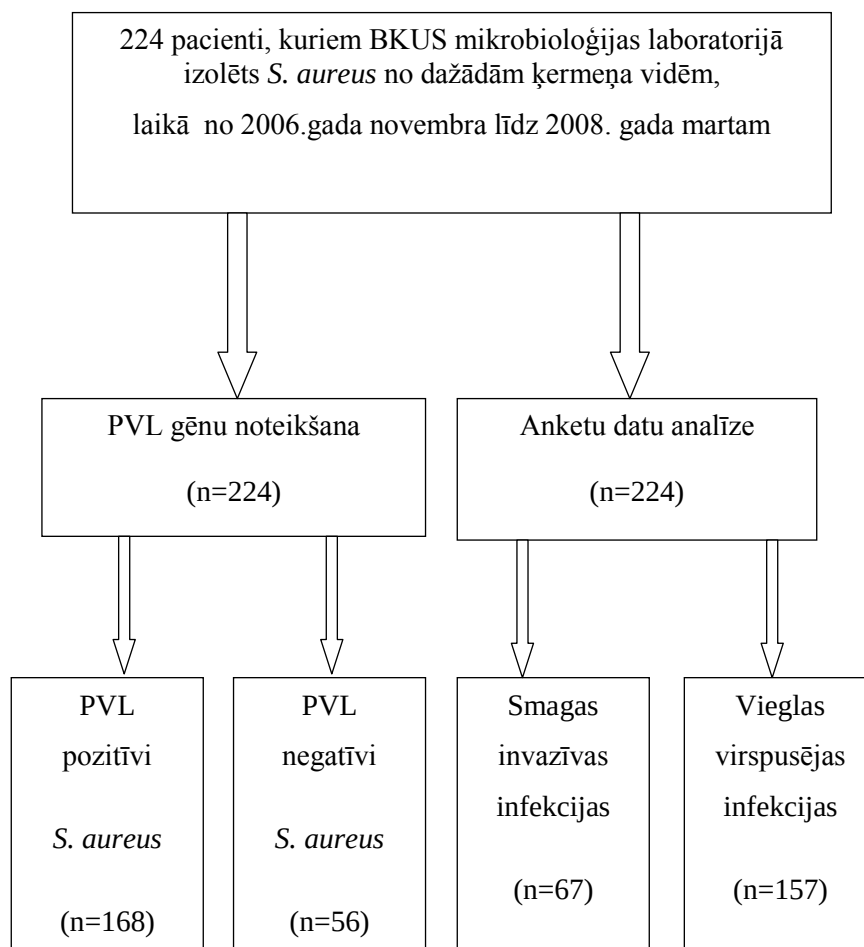
Atsaucēs tika izmantoti raksti no interneta žurnālu – Journal of Clinical Microbiology (<http://jcm.asm.org/>), New England Journal of Medicine (<http://nejm.org/>), Europe's Journal on Infectious disease Epidemiology, Prevention and Control (www.eurosurveillance.org) – publikācijām.

Kā atslēgas vārdi tika izmantoti „*Staphylococcus*”, „*Staphylococcus aureus*”, „*S. aureus* genome”, „methicillin resistance”, „community acquired infections”, „virulence”, „toxins”, „leukocidin”, „Panton-Valentine”, „hemolysin”, „superantigen”.

Literatūras apskatā ietverti darbi, kas nav vecāki par 1985. gadu. Tika atlasīti raksti par *S. aureus* infekciju, kas atbilda dotā pētījuma mērķim. Tie tika iekļauti detalizēti sistemātiskā literatūras apskatā.

2.2. Pētījuma uzbūve

Pētījums ir retrospektīvs, veikts Bērnu Klīniskajā Universitātes slimnīcā Rīgā, P. Stradiņa Klīniskajā Universitātes slimnīcas (PSKUS) Apvienotās laboratorijas Molekulārās bioloģijas un ģenētikas nodaļā un Rīgas Stradiņa Universitātes (RSU) Pārmantotā vēža institūtā un Pediatrijas katedrā (2.1.att.).



2.1. att. Pētījuma uzbūve

Pētījumā tika iekļautas 224 *S. aureus* kultūras, kas iegūtas no Bērnu Klīniskās Universitātes slimnīcā (BKUS) stacionēto bērnu asinīm, likvora, strutām, operāciju materiāla, intravenoziem katetriem. Izolātu mikrobioloģiskā izmeklēšana veikta BKUS Mikrobioloģijas laboratorijā, turpmākā molekulārģenētiskā izolātu izmeklēšana veikta Paula Stradiņa Klīniskajā Universitātes slimnīcas (PSKUS) Apvienotās laboratorijas Molekulārās bioloģijas un ģenētikas nodaļā un Rīgas Stradiņa Universitātes (RSU) Pārmantotā vēža institūtā, Rīgā.

Slimnieku demogrāfiskās informācijas un slimības klīniskās gaitas datu analīze veikta 224 pacientiem, kuri laika periodā no 2006. gada novembra līdz 2008. gada martam bija stacionēti BKUS un, kuriem BKUS mikrobioloģijas laboratorijā tika identificētas pozitīvas *S. aureus* kultūras, kas iegūtas no asinīm, likvora, strutām, operāciju materiāla, intravenoziem katetriem. Visi pacienti tika iedalīti divās grupās, atkarībā no *luk-PV* klātbūtnes – pacienti ar *S. aureus* izraisītām PVL pozitīvām infekcijām un PVL negatīvām infekcijām (katra grupa tika sadalīta divās grupās – pacienti ar smagām invazīvām infekcijām un pacienti ar vieglām virspusējām infekcijām). Pacientu grupu raksturošanai tika izmantoti šādi rādītāji – pacientu mediāna vecums, dzimums, blakussalīmšanas, infekcijas iegūšanas vieta, veiktā ārstēšana (antibakteriāla terapija, ķirurģiskas manipulācijas). P vērtība tika izmantota, lai salīdzinātu pacientus, kuriem bija smagas invazīvas infekcijas ar pacientiem, kuriem bija vieglas virspusējas infekcijas Pēc iekļaušanas pētījumā katram bērnam tika piešķirts identifikācijas numurs. Izmantojot anketēšanas metodi, tika iegūti dati ne tikai par bērna slimības anamnēzi, bet arī demogrāfiskie dati un slimības klīnisko gaitu un izmantoto ārstēšanu. Anketas paraugs darba pielikumā.

Pētījuma ietveršanas kritēriji: *S. aureus* kultūras, kas iegūtas no asinīm, likvora, strutām, operāciju materiāla, intravenoziem katetriem BKUS hospitalizētiem bērniem.

Pētījuma izslēgšanas kritēriji – personas vecākas par 18 gadiem.

Pētījuma protokolu apstiprinājusi Latvijas Centrālā Ētikas komisija.

2.3. Pētījumā izmantotās metodes

2.3.1. *S. aureus* identifikācija

Izmeklējamais materiāls ar tamponu un cilpu tika uzsēts uz AA agara (TSA ar 5% aitas asins piedevu) un mannitola sāls agara, sektoros. Plates tika inkubētas 36+/-1 ° C temperatūrā 24 stundas. Ja netika novērota augšana, inkubēja vēl 24 stundas. No izaugušajām kolonijām gatavoja preparātu un krāsoja pēc Grama, veica katalāzes testu. Grama krāsotā preparātā garmpozitīvi koki, bija izvietoti ķekaros. Ja preparātā bija redzami tipiski grampozitīvi koki un katalāzes tests pozitīvs, veica koagulāzes testu ar komerciālo truša plazmu un proteīna A testu (izmantojot komerciālo SLIDEX StaphPlus (bioMerieux) lateksa aglutinācijas testu *Staphylococcus aureus* noteikšanai). Truša plazma stobriņā 4-24 stundu laikā sarecēja un pozitīva lateksa aglutinācijas testa gadījumā bija redzama aglutinācija. Identifikāciju līdz sugai veica izmantojot pusautomātisko BBL CRYSTAL GP ID paneli. Kā references materiālu izmantotoja *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 un *Staphylococcus aureus* ATCC 12228 celmus.

2.3.2. Antibakteriālās jutības noteikšana

Antibakteriālā jutība tika noteikta pret šādām Staph. panelī iekļautajām antibiotikām - oksacilīnu, cefoksitīnu, eritromicīnu, klindamicīnu, fuzidīnskābi, vankomicīnu, kanamicīnu, ciprofloksacīnu, rifampīnu, gentamicīnu, nitrofurantoīnu, novobiocīnu, izmantojot disku difūzijas metodi (saskaņā ar CLSI standartiem (aktuālā versija)).

2.3.3. *S. aureus mecA* gēna noteikšana

Ar 10 µl bakterioloģisko cilpu pārbaudāmo mikroorganismu tīrkultūru suspendēja 200 µl fizioloģiskā šķīdumā. Nepieciešamības gadījumā sagatavoto suspensiju ar materiālu var uzglabāt līdz 1 gadam pie -20 °C.

Izmeklēšanas gaita

1. Sagatavoja PĶR maisījumu atbilstoši norādēm 2.1. tabulā.

2.1. tabula

PĶR maisījuma sastāvs *Staphylococcus aureus* molekulārajai verifikācijai

Reāģents	Gala koncentrācija
10x Taq polimerāzes buferis	1x
25 mM MgCl ₂	3 mM
10 mM dNTP maisījums	0,4 mM
praimeris em81(skāt. 2.2. tabulu)	100 nM
praimeris em82 (skāt.2.2. tabulu)	100 nM
Taq polimerāze	1 U
Destilēts ūdens	līdz 25 µl

2. PĶR mēģenēs ienesa 2 µl testējamo baktēriju suspensiju, 23 µl PĶR maisījumu un samaisīja pipetējot.
3. PĶR mēģenes ievietoja amplifikatorā un amplificēja ar programmu MRSA (programmas amplifikācijas režīmu skatīt 2.4. tabulā).
4. Amplifikācijas laikā sagatavoja 2% agarozes gēlu. 8 g agarozes iebēra kolbā ar 400 ml 0,5x TBE bufera un uzmanīgi uzvārīja mikroviļņu krāsnī

līdz agarozē izšķīda un šķidrums kļuva pilnīgi caurspīdīgs. Agarozes šķīdumam pievienoja 1,8 µl etīdija bromīdu, atdzesēja ūdens vannā līdz apmēram 50 °C temperatūrai un ielēja gēla formā. Gēlu 30 – 45 minūtes sacietināja istabas temperatūrā, pēc tam to pārvietoja elektroforēzes tankā ar 0,5x TBE buferi.

5. Pēc amplifikācijas paraugus ienesa iepriekš sagatavotajā agarozes gēlā, kur tos elektroforēzē sadalīja pie 120V 40 min.
6. Amplifikācijas produktu sadalījums agarozes gēlā tika vizualizēts uz UV transiluminatora un pēc nepieciešamības fotografēts ar digitālo kameru.

Katrai analīzei ir tika pievienota pozitīvā (jau zināms, identificēts MRSA) un negatīvā (ūdens) kontrole.

2.3.4. *Staphylococcus aureus* PVL gēnu noteikšana

Staphylococcus aureus toksīnu gēni tika noteikti ar PĶR, izvēloties *luk* – PV gēnam specifisku praimeru pāri (2.2. tabula).

Izmeklēšanas gaita

1. Sagatavoja baktēriju suspensiju - 10 µl bakterioloģisko cilpu pārbaudāmo mikroorganismu tīrkultūru suspendēja 200 µl fizioloģiskā šķīduma. Nepieciešamības gadījumā sagatavoto materiālu var uzglabāt līdz 1 gadam pie - 20°C.
2. Sagatavoja PĶR maisījumu atbilstoši norādēm 2.3. tabulā.
3. PĶR mēģenēs ienesa 1 µl testējamo baktēriju suspensijas, 11,5 µl PCR maisījumu un samaisīja pipetējot.
4. PĶR mēģenes ievietoja amplifikatorā un amplificēja ar programmu TOX (programmas amplifikācijas režīmu skatīt 2.4. tabulā).
5. Amplifikācijas laikā sagatavoja 2% agarozes gēlu. 8 g agarozes iebēra kolbā ar 400 ml 0,5X TBE bufera un uzmanīgi uzvārīja mikroviļņu krāsnī līdz agarozē izšķīda un šķidrums kļuva pilnīgi caurspīdīgs. Agarozes šķīdumam pievienoja 1,8

μl etīdija bromīdu, atdzesēja ūdens vannā līdz apmēram 50°C temperatūrai un ielēja gēla formā. Gēlu 30 – 45 minūtes sacietināja istabas temperatūrā, pēc tam to pārvietoja elektroforēzes tankā ar 0,5x TBE buferi.

2.2. tabula

Darbā izmantotie praimerī

N.p.k.	Praimera secība	Amplificējamais gēns	Pielietojums	Atsauce
em81	TCCAGGAATGCAGAAAGACCA AAGC	<i>mecA</i>	MRSA verifikācija	Jonas D <i>et al</i> , 2002.
em82	GACACGATAGCCATCTTCATGT TGG			
em117	ATCATTAGGTAAATGTCTGGAC ATGATCCA	<i>Luk-PV</i>	PVL toksīna gēnu noteikšana	Jarraud S <i>et al</i> , 2002.
em118	GCATCASTGTATTGGATAGCAA AAGC			
em163	TAAAGACGATCCTTCGGTGAGC	<i>spa</i>	<i>Spa</i> tipa noteikšana	Shopsin B <i>et al</i> , 1999.
em164	CAGCAGTAGTGCCGTTTGCTT			
em119	TTGATTACCCAGCGCGTATTGT C	MLST	<i>arcC</i>	Enright MC <i>et al</i> , 2000
em120	AGGTATCTGCTTCAATCAGCG			

2.2. tabulas nobeigums

N.p.k.	Praimera secība	Amplificējamais gēns	Pielietojums	Atsauce
em121	ATCGGAAATCCTATTTACATT C	<i>aroE</i>	MLST	Enright MC <i>et al</i> , 2000
em122	GGTGTTGTATTAATAACGATA TC			
em123	CTAGGAACTGCAATCTTAATC C	<i>glpF</i>	MLST	Enright MC <i>et al</i> , 2000
em124	TGGTAAAATCGCATGTCCAAT TC			
em125	ATCGTTTTATCGGGACCATC	<i>gmk</i>	MLST	Enright MC <i>et al</i> , 2000
em126	TCATTAAC TACAACGTAATCG TA			
em127	GT TAAAATCGTATTTACCTGA AGG	<i>pta</i>	MLST	Enright MC <i>et al</i> , 2000
em128	GACCCTTTTGTTGAAAAGCTTA A			
em129	TCGTTCAATTCTGAACGTCGTGA A	<i>tpi</i>	MLST	Enright MC <i>et al</i> , 2000
em129	TCGTTCAATTCTGAACGTCGTGA A			
em130	TTTGCACCTTCTAACAATTGTA C	<i>yqiL</i>	MLST	
em131	CAGCATACAGGACACCTATTG GC			

PĶR maisījuma sastāvs *Staphylococcus aureus* PVL gēnu noteikšanai

Reāģents	Gala koncentrācija
10x Reakcijas buferis (+MgCl ₂)	1x
10 mM dNTP maisījums	0,1 mM
Praimeris em117 (skat. 2.2. tabulu)	200 nM
Praimeris em118 (skat. 2.2. tabulu)	200 nM
Taq polimerāze	1U
Destilēts ūdens	Līdz 12,5 µl

PQR režīmi darbā izmantotajām metodēm

Manipulācija	MRSA	PVL	SPA	MLST
Uzkarsēšana Temperatūra/ Laiks	94°/5 min	95°/5 min	95°/5 min	95°/5 min
Denaturācija Temperatūra/ Laiks	94°/30 s	95°/30 s	94°/30 s	95°/30 s
Hibridizācija Temperatūra/ Laiks	55°/30 s	50°/30 s	57°/45 s	53°/60 s
Polimerizācija Temperatūra/ Laiks	72°/1 min	72°/30 s	72°/1 min 30 s	72°/1 min
Ciklu skaits	39	39	39	39
Amplifikācijas nobeigums Temperatūra/ Laiks	72°/10 min	72°/10 min	72°/10 min	72°/10 min

6. Pēc amplifikācijas paraugus ienesa iepriekš sagatavotajā agarozes gēlā, kur tos elektroforēzē sadalīja pie 120V 40 min.

7. Amplifikācijas produktu sadalījums agarozes gēlā tika vizualizēts uz UV transiluminatora un pēc nepieciešamības fotografēts ar digitālo kameru.

2.3.5. *S. aureus* izolātu tipēšana pēc *spa* gēna

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

Izmeklēšanas gaita

1. Sagatavoja baktēriju suspensiju kā aprakstīts 2.3.3. punktā.
2. Sagatavoja PĶR maisījumu atbilstoši norādēm 2.5. tabulā.
3. PĶR mēģenēs ienesa 2 µl testējamo baktēriju suspensijas, 48 µl PĶR maisījumu un samaisīja pipetējot.
4. PĶR mēģenes ievietoja amplifikatorā un amplificēja ar programmu SPA (programmas amplifikācijas režīmu skatīt 2.4. tabulā).
5. Amplifikācijas laikā sagatavoja 2% agarozes gēlu. 8 g agarozes iebēra kolbā ar 400 ml 0,5X TBE bufera un uzmanīgi uzvārīja mikroviļņu krāsnī līdz agarozē izšķīda un šķidrums kļuva pilnīgi caurspīdīgs. Agarozes šķīdumam pievienoja 1,8 µl etīdija bromīdu, atdzesēja ūdens vannā līdz apmēram 50°C temperatūrai un ielēja gēla formā. Gēlu 30 – 45 minūtes sacietināja istabas temperatūrā, pēc tam to pārvietoja elektroforēzes tankā ar 0,5x TBE buferi.
6. Pēc amplifikācijas, lai pārlicinātos, ka amplifikācija bijusi sekmīga un iegūts vajadzīgais PĶR produkts, paraugus ienesa agarozes gēlā, kur tos elektroforēzē sadalīja pie 120V, 40 min.
7. Amplifikācijas produktu sadalījums agarozes gēlā tika vizualizēts uz UV transiluminatora un pēc nepieciešamības fotografēts ar digitālo kameru.
8. DNS attīrīšana pirms sekvenēšanas tika veikta ar firmas „Mbiotech” SpinClean™ PCR Purification komplektu, kas paredzēts ātrai vienpavediena vai divpavedienu PĶR produktu attīrīšanai. DNS fragmenti tiek attīrīti no oligonukleotīdiem, nukleotīdiem un polimerāzes 90 – 95% apmērā.

Darba gaita:

1. Marķētos mikrocentrifūgas stobriņos pārnese attīrāmo PĶR produktu un pievienoja 5 reizes lielāku tilpumu PĶR purifikācijas bufera no reaģentu komplekta, sajauc sapipetējot.
2. Ievietoja SpinCleanTM kolonnu savācējstobriņā.
3. Pārnese attīrāmo maisījumu uz kolonnu un centrifugēja 1 minūti 13000 rpm istabas temperatūrā.
4. Izlēja savācējstobriņa saturu un ievietoja kolonnu atpakaļ savācējstobriņā.
5. Pievienoja 750 µl mazgāšanas šķīduma no reaģentu komplekta un centrifugēja 1 minūti 13000 rpm.
6. Atkārtoja 4. soli, vēlreiz centrifugējot 1 minūti, lai pilnībā atbrīvotos no atlikušā mazgāšanas šķīduma.
7. Pārnese kolonnu tīrā 1.5 ml mikrocentrifūgas stobriņā.
8. Pievienoja 50 µl Elution buferi.
9. Nogaidīja 1 minūti un centrifugēja 1 minūti ar maksimālo ātrumu.
10. Izņēma kolonnu no stobriņa un iegūto attīrīto produktu pārbaudīja agarozes gēlā.
11. Attīrītie PĶR produkti tika nosūtīti komerciālai sekvenčēšanai.
12. Iegūtās *spa* sekvenču hromatogrammas tika analizētas ar datorprogrammu Ridom StaphType (Ridom GmbH).

PĶR maisījuma sastāvs *Staphylococcus aureus* spa tipa noteikšanai

Reāģents	Gala koncentrācija
10x Reakcijas buferis (+MgCl ₂)	1 x
10 mM dNTP maisījums	0.4 mM
Praimeris em163 (skat. 2.2. tabulu)	200 nM
Praimeris em164 (skat. 2.2. tabulu)	200 nM
Taq polimerāze	1,25U
Destilēts ūdens	līdz 50 µl

2.3.6. *S. aureus* izolātu tipēšana pēc MLST**Izmeklēšanas gaita**

1. Sagatavoja suspensiju kā aprakstīts 2.3.3. punktā.
2. Atbilstoši norādēm 2.6. tabulā, sagatavoja PĶR maisījumu katram no septiņiem mājturības gēniem (2.2. tabula).

PQR maisījums *S. aureus* tipēšanai pēc MLST

Reaģents	Gala koncentrācija
10x Reakcijas buferis (+MgCl ₂)	1 x
10 mM dNTP maisījums	0.2 mM
Praimeris em119* (skat. 2.2. tabulu)	200 nM
Praimeris em120* (skat. 2.2. tabulu)	200 nM
Taq polimerāze	1,25U
Destilēts ūdens	līdz 50 µl

* tabulā norādīts *arcC* gēnam specifiskā praimeru pāra piemērs

- Katram no testējamiem izolātiem septiņās PQR mēģenēs ienesa 2 µl testējamo baktēriju suspensijas un pievienoja 48 µl PCR maisījuma ar attiecīgi katrā no septiņām mēģenēm ar atbilstošo praimeru pāri un samaisīja pipetējot. Pirmajos divos punktos aprakstītās darbības tika veiktas ledus vannā.
- PQR mēģenes ievietoja amplifikatorā ar programmu MLST (programmas amplifikācijas režīmu skatīt 2.4. tabulā).
- Amplifikācijas laikā sagatavoja 1,5% agarozes gēlu. 6g agarozes iebēra kolbā ar 400 ml 0,5X TBE bufera un uzmanīgi uzvārīja mikroviļņu krāsnī līdz agaroze izšķīda un šķidrums kļuva pilnīgi caurspīdīgs. Agarozes šķīdumam pievienoja 1,8 µl etīdija bromīdu, atdzesēja ūdens vannā līdz apmēram 50°C temperatūrai un ielēja gēla formā. Gēlu 30 – 45 minūtes

sacietināja istabas temperatūrā, pēc tam to pārvietoja elektroforēzes tankā ar 0,5x TBE buferi.

6. Pēc amplifikācijas, lai pārlicinātos, ka amplifikācija bijusi sekmīga un iegūts vajadzīgais PĶR produkts, paraugus ienesa agarozes gēlā, kur tos sadalīja pie 120V 40 min.
7. Amplifikācijas produktu sadalījums agarozes gēlā tika vizualizēts uz UV transiluminatora un pēc nepieciešamības fotografēts ar digitālo kameru.
8. DNS attīrīšana pirms sekvencēšanas tika veikta ar firmas „Mbiotech” SpinCleanTM PCR Purification kit, kas paredzēts ātrai vienpavediena vai divpavedienu PĶR produktu attīrīšanai. DNS fragmenti tika attīrīti no oligonukleotīdiem, nukleotīdiem un polimerāzes 90 – 95% apmērā. DNS attīrīšanas protokolu skatīt punktā 2.3.5. nodaļas 8. Punktā.
9. Attīrītie PĶR produkti tika pārbaudīti agarozes gēlā un nodoti komerciālai sekvenēšanai.
10. Iegūtās mājturības jeb „housekeeping” gēnu sekvenses tika salīdzinātas ar mlst.net datu bāzi, pēc kuras tika noteikts sekvenses tips (ST).

2.4. Datu statistiskā apstrāde

Datu ievadei, uzkrāšanai un apstrādei pēc bioloģisko pētījumu apstrādē pieņemtajām standartmetodēm ar datora palīdzību tika izmantota speciāli pielāgota Microsoft Excel 2003 un Windows SPSS 18.0 versija. Pacientu datu analīzei tika izmantotas aprakstošās statistikas metodes: aprēķināti absolūtie un relatīvie biežumi, novērtēti centrālās tendences rādītāji – vidējais aritmētiskais, mediāna, kā arī izkliedes rādītāji – standartnovirze, starpkvartiļu amplitūda. Statistisko rādītāju salīdzināšanai izmantoti kvantitatīviem datiem Manna – Vitnija (*Mann-Whitney*) tests un kvalitatīviem datiem hī kvadrāta (*Chi-Square*), Fišera (*Fisher's Exact*) testi. Izvēlētais nozīmīguma līmenis α - 0,05.

Iegūtās *spa* sekvenču hromatogrammas tika analizētas ar datorprogrammu Ridom StaphType (Ridom GmbH). Iegūto *spa* sekvenču radniecības noteikšanai

un klonālo klasteru izveidošanai tika izmantots BURP (Ridom GmbH) algoritms, kur pamatojoties uz *spa* atkārtojumu delēciju vai insērciju tiek rēķināta tuvākā iespējamā radniecība ar citu *spa* tipu. Par klonālo klasteri tika uzskatīti *S. aureus* izolāti, kuru *spa* sekvenču secību ģenētiskie attālumi bija vienādi vai mazāki par diviem soļiem.

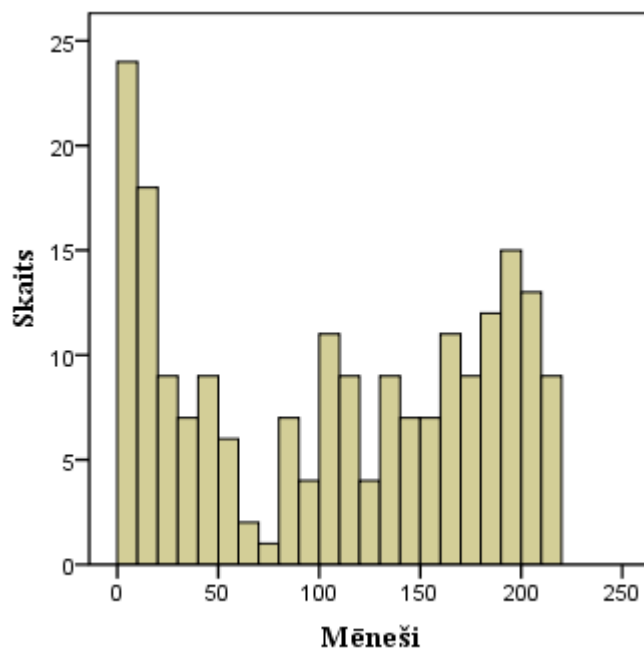
3. REZULTĀTI

3.1. Stacionārā ārstēto *S. aureus* pozitīvo pacientu grupas analīze

3.1.1. Pacientu raksturojums

Slimnieku demogrāfiskās informācijas un slimības klīniskās gaitas datu analīzē secīgi tika iekļauti pirmie 224 bērni, kuri laika periodā no 2006. gada novembra līdz 2008. gada martam bija stacionēti BKUS un, kuriem BKUS mikrobioloģijas laboratorijā tika identificētas pozitīvas *S. aureus* kultūras un, kuri atbilda pētījuma ietveršanas kritērijiem.

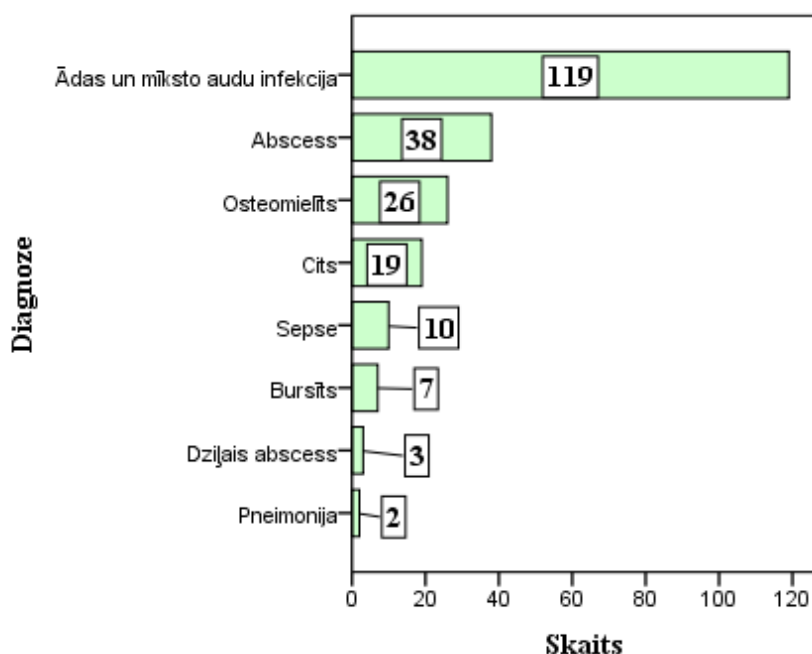
S. aureus paraugi 134 (59,9%) gadījumos izolēti zēniem, 92 (41,1%) – meitenēm. Vidējais pacientu vecums, kas stacionēti BKUS šajā laika periodā un, no kuriem tika izolēti *S. aureus*, bija 8,9 gadi jeb 107,4 (SD 73,4) mēneši no 1 līdz 214 mēnešiem, skatīt 3.1. attēlu.



3.1. att. Pacientu vecuma histogramma, kuriem BKUS mikrobioloģijas laboratorijā izolēts *S. aureus*. Pacientu mediānais vecums 9,5 gadi (114 mēneši, IQR 29;114)

Bērni pārsvarā tika stacionēti no mājām 83,9% (n=188), 13,8% (n=31) gadījumos no cita stacionāra, 2,2% gadījumos no bērnu aprūpes centra (n=5).

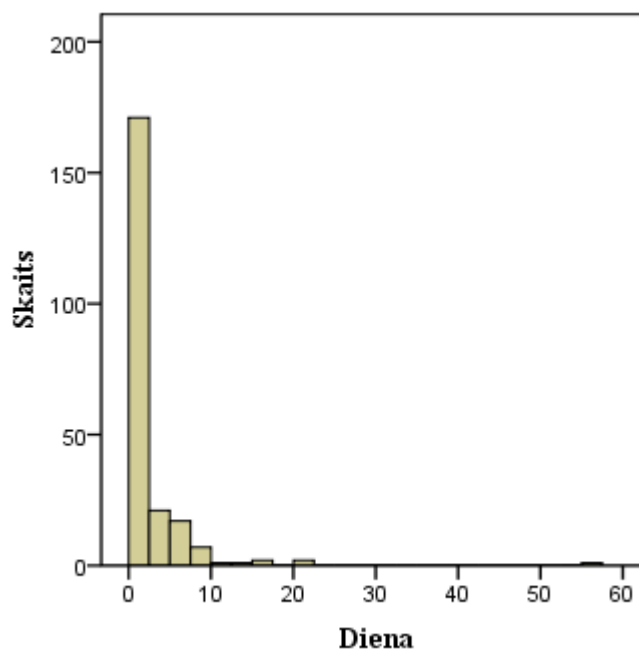
No visiem analizētajiem pacientiem, 18,8% (n=42) bija blakus slimības - ādas slimības (atopisks dermatīts, ihtioze, scabies) (n=7), CNS patoloģijas (n=6), kaulu sistēmas salīmšanas (juvenila osteohondroze, hronisks osteomielīts) (n=4), neiznēsātība (n=3), anēmija (n=3), sirds patoloģijas (iedzimta sirdskaite, sirds ritma traucējumi) (n=3), pilorostenoze (n=2), imūndeficīts (n=2), dermatomiozīts (n=2), pārtikas alerģija (n=2), citas saslimšanas (nieru patoloģija, traheomalācija, narkomānija, adipozitāte, iedzimta acs patoloģija, glikozes tolerances traucējumi, hronisks apendicīts). Galvenie stacionēšanas iemesli: strutainas ādas un zemādas infekcijas (furunkuloze, parafimija, limfadenīti, mastīti) – 53,1% (n=119), abscesi – 17% (n=38). Osteomielīts diagnosticēts 11,6% (n=26) gadījumu, 4,4% (n=10) gadījumu pacientiem attīstījusies sepse. Pārējiem pacientiem konstatētas dažāda veida saslimšanas (3.2. att.).



3.2. att. Pētījumā iekļauto pacientu stacionēšanas diagnozes

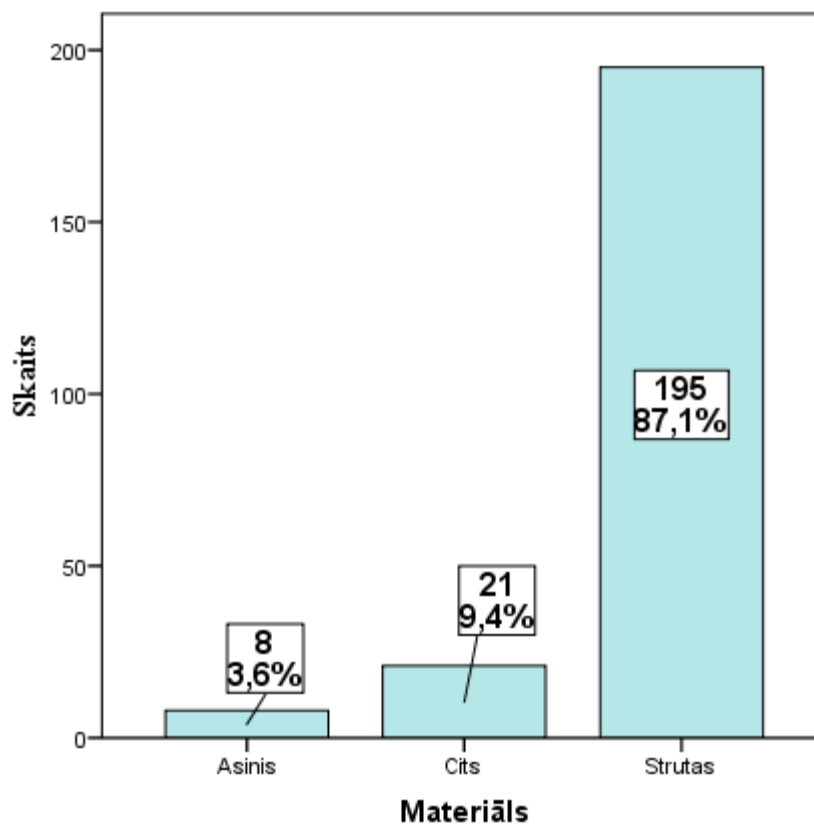
S. aureus infekcija galvenokārt iegūta ārpusstacionārā apstākļos 78,6% (n=176). Stacionārā iegūta *S. aureus* infekcija bija 21,4% (n=48) pacientiem.

Vairumā gadījumu *S. aureus* kultūras savāktas pirmo 48 stundu laikā – 76,7% (n=171) (3.3. attēls).



3.3. att. Kultūras paņemšanas laika histogramma

S. aureus paraugi visbiežāk tika iegūti no strutām operatīvu procedūru laikā vai aspirācijas veidā, pārējie paraugi tika iegūti no asinīm un no citām organisma vidēm (3.4.attēls).

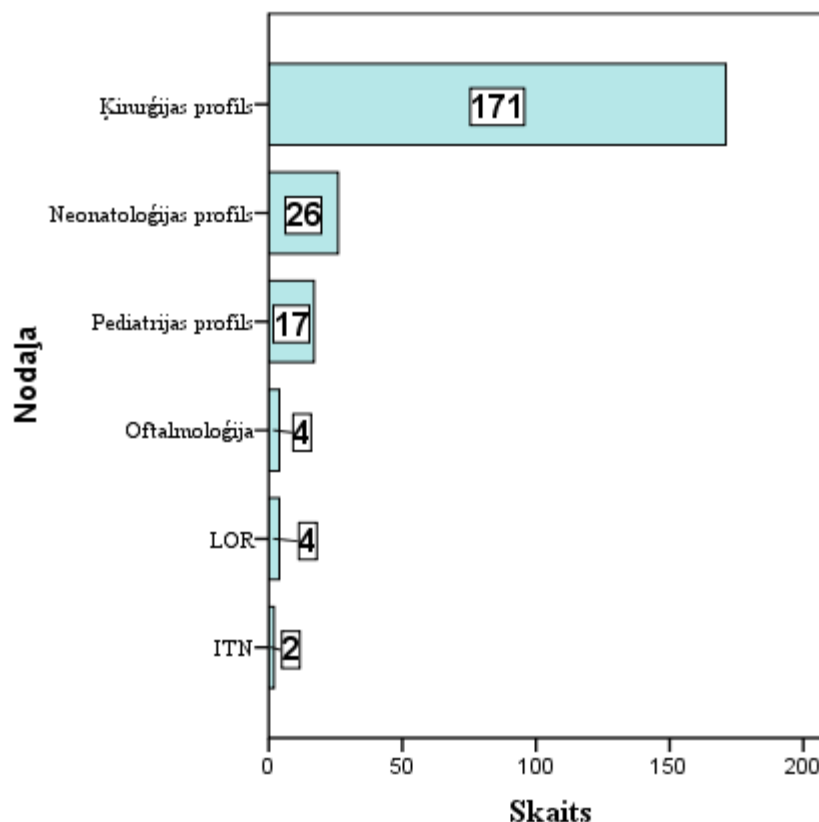


3.4. att. Slimnieku materiāls *S. aureus* kultivēšanai

Cits - no vēdera dobuma šķidruma n=1, pleiras šķidruma n=1, eksudāta n=2, intubācijas caurules n=2, perifērā venozā katetera n=1, urīna n=2, granulācijas audiem n=1.

3.1.2. Terapijas analīze stacionārā ārstētiem pacientiem ar *S. aureus* infekciju

Pacienti pārsvarā stacionēti dažādu profilu ķirurģijas nodaļās (strutainā ķirurģija, abdominālā ķirurģija, neiroķirurģija, torakālā ķirurģija, traumatoloģija), pārējie pacienti stacionēti neonatoloģijas un pediatrijas profila nodaļās, kā arī intensīvās terapijas nodaļā (3.5. attēls).



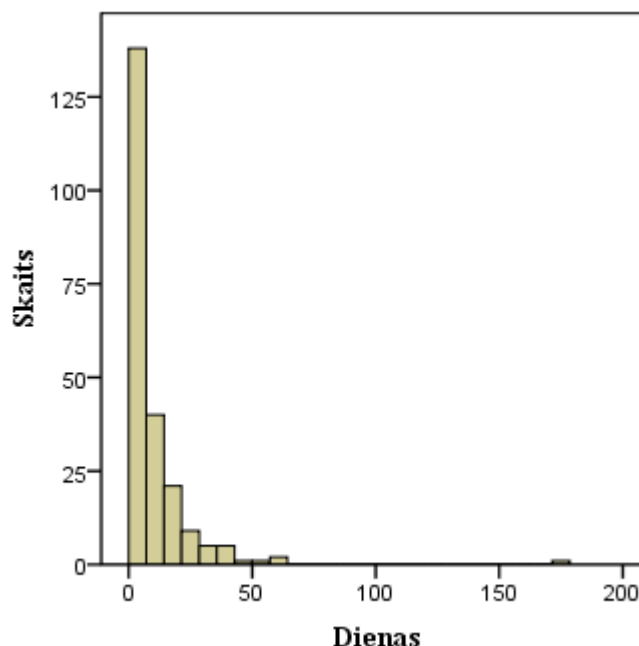
3.5. att. Analizēto pacientu sadalījums pēc nodaļām

Antibakteriālā terapija tika nozīmēta 216 (96,4%) no 224 pacientiem. Visiem pacientiem, kuri nesaņēma antibakteriālo terapiju, tika veikta ķirurģiskas manipulācijas. Ziņas par diviem pacientiem pielietoto ārstēšanu nebija pieejamas.

Ķirurģiskas manipulācijas tika veiktas 172 (75,5%) pacientiem. Visbiežāk veikta incīzija un drenāža 79,1% (n=136). Osteoperforācija tika veikta 15 pacientiem. Atlikušajiem pacientiem tika veiktas citas ķirurģiskas manipulācijas kā paranefrālā dobuma drenāža (n=1), ventrikuloperitoneālā šunta izņemšana un nomaiņa (n=1), torakotomija un pleiras dobuma drenāža (n=2), adatas aspirācija (n=1), frontoetmoidotomija (n=1), laparatomija (n=2), laparoskopija un apendektomija (n=1), sekvestrektomija (n=1), eksostožu ekscīzija (n=1), limfangiomas ekscīzija (n=1), oftalmoloģiska operācija (n=1).

Mediānais hospitalizācijas ilgums, pētījumā iekļautajiem pacientiem bija 6

dienas (IQR 4,0;12,0). Stacionārā pavadītais laiks variēja no 1 līdz 174 dienām (3.6. attēls). Neviens no pētījumā iekļautajiem bērniem hospitalizācijas laikā nav miris.

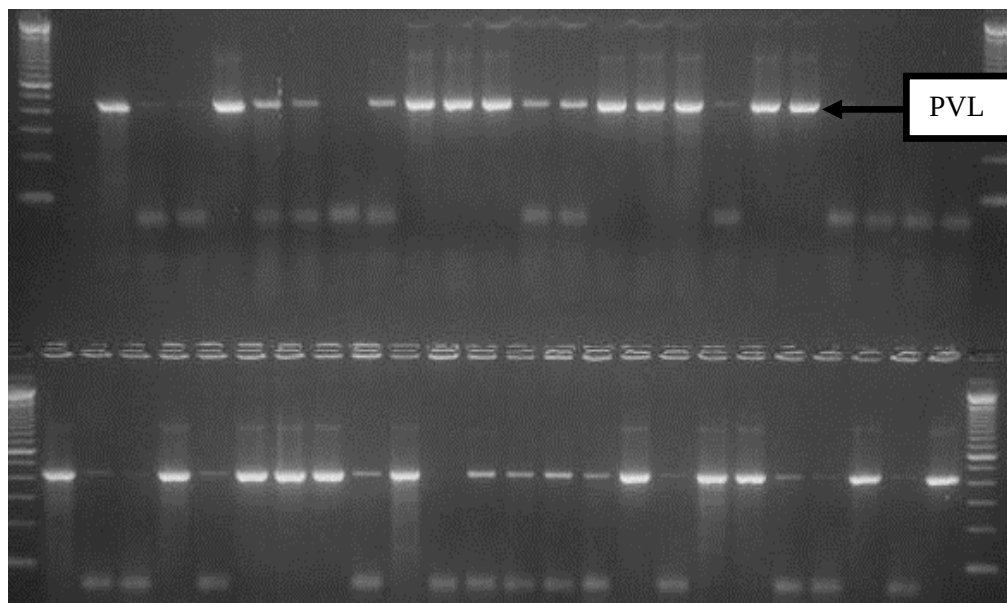


3.6. att. Pacientu stacionēšanas ilguma histogramma

3.1.3. Panton – Valentine leukocidīna gēnu pozitīvo *S. aureus* prevalence

Rezultāti balstās uz anketu datu analīzi, kas apstrādāti, izmantojot pielāgotu Microsoft Excel 2003, Windows SPSS 18.0 versiju. Anketas veidlapu skatīt pielikumā. Laika posmā no 2006. gada novembra līdz 2008. gada martam pētījumā tika iekļauti 224 pacienti, kuriem tika laboratoriski pierādīta *S. aureus* infekcija.

Pētot PVL pozitīvo *S. aureus* prevalenci BKUS stacionētiem bērniem ar *S. aureus* infekciju, PVL gēnu klātbūtne tika pierādīta 75,0% (n=168) pacientu (95% TI 69 – 80%) (3.7.attēls).



3.7. att. Amplifikācijas produktu sadalījums 2% agarozes gēlā *S. aureus* paraugiem, kas izolēti Bēnu klīniskās Universitātes slimnīcas mikrobioloģijas laboratorijā

Pacientu raksturojums, atkarībā no PVL klātbūtnes *S. aureus* izolātos un slimības gaitas, attēlots 3.1. , 3.2. tabulās.

Pacientu raksturojums, kuriem tika konstatēta PVL gēnu klātbūtne

Rādītāji	Visi pētījumā iekļautie pacienti	<i>S. aureus</i> PVL(+) n=168		
		Smagas invazīvas infekcijas n=42	Vieglas virspusējas infekcijas n=126	p³
Mediānais vecums, mēn., (min.-maks.)	114 (1-214)	112 (1-214)	112 (1-214)	0,947
Dzimums (meitenes)	92 (41,1%)	16 (39,0%)	51 (40,0%)	0,897
Blakus slimības	42 (18,8%)	20 (48,8%)	11 (8,7%)	<0,001
Sabiedrībā iegūta	176 (78,6%)	24 (48,8%)	124 (91,3%)	<0,001
Nozokomiāla	48 (21,4%)	17 (51,0%)	3 (8,7%)	<0,001
Antibakteriālā terapija	214 (95,5%)	39 (95,1%)	121 (95,3%)	1,000
Ķirurģiskas manipulācijas	172 (75,7%)	29 (72,5%)	95 (74,8%)	0,771

³ p vērtība, lai salīdzinātu pacientus pēc *S. aureus* infekcijas norises smaguma - smagas invazīvas infekcijas/ vieglas virspusējas infekcijas.

Pacientu raksturojums, kuriem netika konstatēta PVL gēnu klātbūtne

Rādītāji	Visi pētījumā iekļautie pacienti	<i>S. aureus</i> PVL(-) n=56		
		Smagas invazīvas infekcijas n=25	Vieglas virspusējas infekcijas n=31	p ⁴
Mediānais vecums, mēn., (min.-maks.)	114 (1-214)	142 (1- 210)	87 (2-213)	0,959
Dzimums (meitenes)	92 (41,1%)	11 (47,8)	14 (42,4%)	0,689
Blakus slimības	42 (18,8%)	9 (39,1%)	2 (6,1%)	0,004
Sabiedrībā iegūta	176 (78,6%)	13 (56,5%)	27 (81,8%)	0,039
Nozokomiāla	48 (21,4%)	10 (43,5%)	6 (18,2%)	<0,001
Antibakteriālā terapija	214 (95,5%)	23 (100%)	31 (93,9%)	0,507
Ķirurģiskas manipulācijas	172 (75,7%)	19 (82,6%)	25 (78,1%)	0,745

Salīdzinot analizētos datus pacientu grupām ar smagām invazīvām

⁴ p vērtība, lai salīdzinātu pacientus pēc *S. aureus* infekcijas norises smaguma - smagas invazīvas infekcijas/ vieglas virspusējas infekcijas.

infekcijām un pacientiem ar vieglām virspusējām saslimšanām, netika novērota statistiski ticama atšķirība pacientu mediānajā vecumā, dzimumā, kā arī pielietotajā terapijā – antibakteriālajā terapijā un veikto ķirurģisko manipulāciju biežumā, ne pacientiem ar PVL pozitīvām *S. aureus* infekcijām, ne pacientiem ar PVL negatīvām infekcijām (3.1. tabula un 3.2. tabula).

Pacientu grupā ar smagām invazīvām infekcijām bija vairāk pacientu ar nozokomiāli iegūtām *S. aureus* izraisītām infekcijām ($p < 0,001$). Sabiedrībā iegūtas infekcijas biežāk tika konstatētas pacientiem ar vieglām virspusējām infekcijām ($p < 0,001$). Savukārt pacientiem ar blakussaslimšanām biežāk bija attīstījušās smagas invazīvas *S. aureus* infekcijas ($p < 0,001$). Atrastās atšķirības bija statistiski ticamas abās pacientu grupās, gan pacientiem ar PVL pozitīvajām *S. aureus* infekcijām, gan ar PVL negatīvajām *S. aureus* infekcijām (3.1., 3.2. tabula).

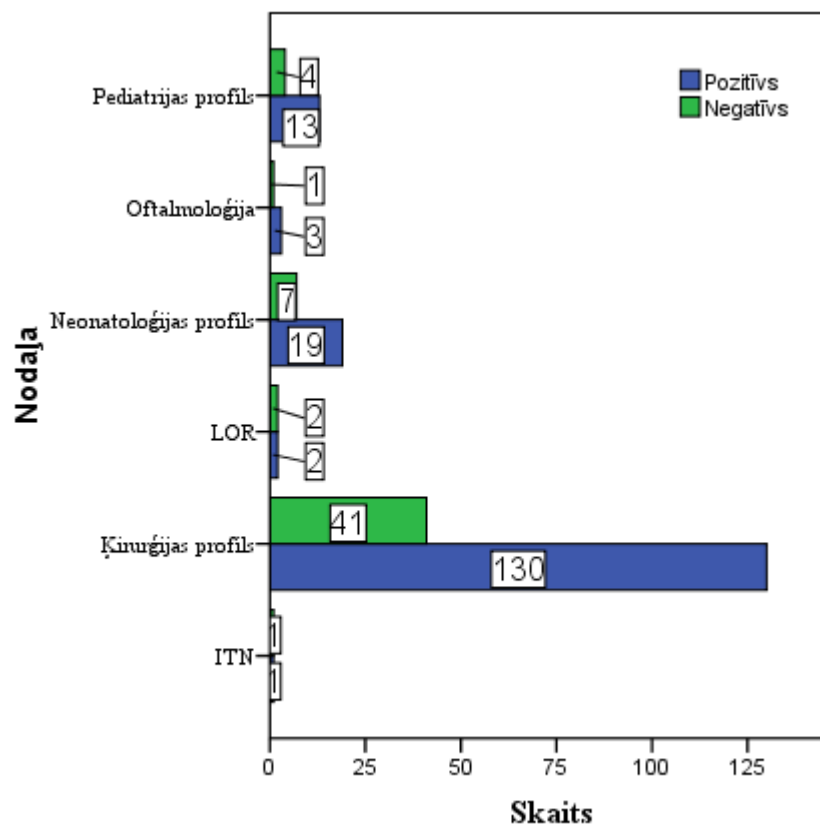
Diagnožu sadalījums pacientiem ar PVL poz. un PVL neg. *S. aureus* izolātiem parādīts 3.3. tabulā. Pacientiem ar izdalītu PVL pozitīvo *S. aureus* vieglas virspusējas infekcijas diagnosticēja 75% ($n=126$) gadījumu. PVL negatīvo *S. aureus* gadījumā biežāk nekā PVL pozitīvo *S. aureus* gadījumā tika diagnosticētas smagas invazīvas infekcijas, attiecīgi 45% ($n=25$) un 25% ($n=42$).

Pantona –Valentina leukocidīna pozitīvo *S. aureus* klīniskās izpausmes salīdzinot ar PVL negatīvajiem *S. aureus* (p=0,014)

Klīniskās izpausmes		PVL pozitīvie <i>S. aureus</i> (n=168)	PVL negatīvie <i>S. aureus</i> (n=56)
Vieglas virspusējas infekcijas (n=157)	Virspusēji abscesi (n=38)	126 (75%)	31 (55%)
	Citas ādas un mīksto audu infekcijas (n=119)		
Smagas invazīvas infekcijas (n=67)	Kaulu un locītavu infekcijas (n=33)	42 (25%)	25 (45%)
	Citas infekcijas (n=34)		

Nosakot katras diagnožu grupas attīstības iespējamību atkarībā no PVL klātbūtnes, atrasts, ka virspusējo abscesu attīstības risks ir 2,49 reizes lielāks gadījumos, ja tiek izolēts PVL pozitīvs *S. aureus*. (p=0,07) Savukārt kaulu, locītavu infekciju risks un citu infekciju risks, ja *S. aureus* satur PVL gēnus, nepaaugstinājās.

Pārsvarā pacienti, kuriem tika identificēts PVL pozitīvs *S. aureus* stacionāri ķirurģijas profila nodaļā (att. 3.8.).



3.8. att. Pacientu sadalījums pa nodaļām atkarībā no PVL gēnu klātbūtnes *S. aureus* izolātos

3.2.1. PVL ietekme uz pacientu stacionēšanas ilgumu

Stacionēšanas mediānais ilgums pacientiem, kuriem izolēja PVL pozitīvos *S. aureus*, un pacientiem, kuriem izolēja PVL negatīvos *S. aureus*, statistiski ticami neatšķirās. PVL pozitīvajā grupā tās bija 6,0 dienas (IQR 4,0;10,8), bet PVL negatīvajā grupā 8,0 dienas (IQR 4,0; 14,0). Savukārt, salīdzinot mediāno stacionēšanas ilgumu pacientu grupā, ar smagām invazīvām *S. aureus* izraisītām infekcijām, kā osteomielīts, dziļie abscesi, pneimonija, bakterēmija, atrasta statistiski ticama atšķirība starp PVL pozitīvo un PVL negatīvo pacientu grupām. Pacientiem ar PVL negatīvu *S. aureus* izsauktām infekcijām mediānais stacionēšanas ilgums bija 12,0 dienas (IQR 6,0; 24,0). Septiņas dienas garāks

mediānais stacionēšanas laiks bija pacientu grupai ar smagām invazīvām saslimšanām, kuras izraisījis PVL pozitīvais *S. aureus*, 19 (IQR 12,5;19,0) dienas. Savukārt pacientu grupā ar vieglām virpusējām *S. aureus* izraisītām infekcijām mediānie stacionēšanas ilgumi PVL pozitīvajā grupā un PVL negatīvajā grupā bija līdzīgi, attiecīgi 5 (IQR 4,0;7,0) dienas un 6,5 (IQR 4,0; 10,0) dienas (3.4.tabula).

3.4. tabula

Mediānais stacionēšanas ilgums pacientiem, kuriem izolēts *S. aureus* atkarībā no PVL klātbūtnes *S. aureus* izolātos

Rādītāji	PVL(+) Mediānais stacionēšanas ilgums (dienas)	PVL(-) Mediānais stacionēšanas ilgums (dienas)	p vērtība
Visi pacienti (n=224)	6,0 (IQR 4;10,5)	8,0 (IQR 4;14)	0,088
Smagas invazīvas infekcijas (n=67)	19,0 (IQR 12,5;28)	12 ,0 (IQR 6;24)	0,033
Virspusējas ādas un mīksto audu infekcijas (n=157)	5,0 (IQR 4;7)	6,5 (4;10)	0,034

Garāks stacionēšanas laiks tika novērots pacientu grupā ar blakussaslimšanām, salīdzinot ar pacientiem, kuriem blakussaslimšanu nebija, attiecīgi 11 un 5 dienas ($p<0,001$).

Savukārt pacienti ar blakussaslimšanām, kuriem tika izolēts PVL pozitīvs *S. aureus*, tika stacionēti 5 dienas ilgāk kā pacienti, kuriem izolēja PVL negatīvo *S.aureus*, attiecīgi mediānais stacionēšanas ilgums bija 15 un 10 dienas ($p<0,001$). Pacientu grupā bez blakussalimšanām mediānais stacionēšanas ilgums starp PVL pozitīvajiem pacientiem un PVL negatīvajiem pacientiem atšķīrās tikai par 2,5 dienām, attiecīgi 5 un 7,5 dienas (3.5.tabula).

**Mediānais stacionēšanas ilgums pacientiem atkarībā no blakusslimību
esamības un PVL klātbūtnes *S. aureus* izolātos**

Mediānais stacionēšanas ilgums (dienas)	Blakus slimības (n=42)	Nav zināmas blakus slimības (n=182)
Visi pacienti p<0,001	11 (IQR 6;25)	5 (IQR 4;10)
PVL + p<0,001	15 (IQR 6;27)	5 (IQR 4;8)
PVL – p=0,164	10 (IQR 6;17)	7,5 (IQR 4;13,5)

3.2.2. BKUS *S. aureus* izolātu filoģenētiskais raksturojums

S. aureus tipēšana pēc *spa* gēna tika veikta 219 izolātiem. Piecu atlikušo *S. aureus* izolātu analīze netika veikta, jo šo izolātu kultūras nebija pieejamas vai nebija izmantojamas *spa* secību noteikšanai un analīzei. Tipēšanas rezultātā tika identificēti 98 dažādi *spa* tipi. Pārsvarā (41,1% (n=90)) tipēto *S. aureus* izolātu bija vienādi (*t435* (n=52)) vai tuvu radniecīgi (*t308*, (n=10), *t284*, (n=10), *t159* (n=5)). Pārējie biežāk identificētie *spa* tipi bija *t012* (8,6% (n=19)), *t015* (6,8% (n=15)), *t318* (2,7% (n=6)) un *t1397* (1,8% (n=4)) (3.9. attēls).

(3.6. tabula).

3.6. tabula

BKUS pacientu *S. aureus* izolātu filoģenētiskais raksturojums pēc *spa* tipa

Spa tips (n=219)	PVL +			PVL -		
	Viegla virspusējās infekcijas n(%)	Smaga invazīvās infekcijas n(%)	P vērtība	Viegla virspusējās infekcijas n(%)	Smaga invazīvās infekcijas n(%)	P vērtība
CC 435* (n=90)	62 (68,8%)	16 (17,7%)	0,135	9 (10,0%)	3 (3,3%)	0,040
Pārējie spa tipi n=129)	63 (48,8%)	26 (20,2%)		19 (14,7%)	21(16,3%)	

*CC 435 (t435, t159, t308, t284, txAB)

Analizējot *spa* tipa ietekmi uz stacionēšanas ilgumu, atrasts, ka CC435 grupā tas bija īsāks (vidējais 8,9 dienas (SD 10,0); mediānais 5,0 (IQR 4,0;10,0) dienas), nekā *S. aureus* izolātu grupā, kas nepiederēja CC435 (vidējais 11,7 dienas (SD 17,7); mediānais 7,0 (IQR 4,0; 12,8) dienas), atšķirība statistiski ticama ($z = -2,235$; $p=0,025$, *Mann-Witney tests*).

Netika novērota statistiski ticama atšķirība stacionēšanas ilgumā salīdzinot PVL pozitīvos *S. aureus* izolātus ar PVL negatīvajiem *S. aureus* izolātiem CC435 grupas ietvaros ($z=0,331$; $p=0,741$, *Mann-Witney tests*). PVL pozitīvo *S. aureus* izolātu grupā, kas pieder CC435, vidējais stacionēšanas ilgums bija 8,6 dienas (SD 10,0), mediānais stacionēšanas ilgums 5,0 (IQR 4,0;8,0) dienas. PVL negatīvo *S. aureus* izolātu grupā vidējais stacionēšanas ilgums bija 10,8 dienas (SD 10,3), mediānais stacionēšanas ilgums 7,0 (IQR 3,3;14,0) dienas.

Tipēšana pēc MLST tika veikta septiņiem *S. aureus* izolātiem, kas piederēja CC435. (3.7.tabula).

PVL pozitīvo *S. aureus* tipēšana pēc MLST

Nr. p.k.	Klīniskās izpausmes	Materiāls	Spa tips	MLST
1.	streptodermija	strutas	t308	MSSA ST121
2.	flegmona	strutas	t435	MSSA ST121
3.	osteomielīts	strutas	t284	MSSA ST121
4.	bursīts	strutas	t159	MSSA ST121
5.	osteomielīts	strutas	t435	MSSA ST121
6.	furunkulis	strutas	t435	MRSA ST121
7.	limfadenīts	strutas	t435	MSSA ST121

MLST tipēšanā atrasts, ka visi tipētie *S. aureus* izolāti pieder ST 121.

**3.2.3. PVL pozitīva *S. aureus* klīniskais gadījums Bērnu Klīniskajā
Universitātes slimnīcā**

**Klīniskais gadījums - metilcīlīnjutīga PVL pozitīvā *S. aureus* pneimonija
bērnā ar A gripas vīrusu**

BKUS Intensīvās terapijas nodaļā 2009. gada 30. novembrī ar smagas elpošanas mazspējas pazīmēm tika stacionēts 15 gadīgs pacients ar rtg. apstiprinātu totālu labās puses pneimoniju no Daugavpils reģionālās slimnīcas, kur pacients bija hospitalizēts 29.11.2009. ar četru dienu ilgām sūdzībām par gripai līdzīgiem simptomiem.

Iestājoties BKUS ITN 5. slimības dienā (30.11.09.) pacienta vispārējais stāvoklis tika vērtēts kā ļoti smags sakarā ar izteiktu elpošanas nepietiekamību –

bērns bija uzbudināts, atradās piespiedu pozā, elpoja stenoši ar palīgmuskulatūras līdzdalību 35 – 40, x/min. Bez papildus skābekļa pievades PO2 kritās zem 80 mmHg st. Sākotnēji veiktie laboratoriskie asins gāzu izmeklējumi bija izmainīti, atbilstoši klīniski izteiktajai elpošanas mazspējai, asins aina un asins bioķīmiskie izmeklējumu rezultāti atbilda smagai bakteriālai infekcijai (3.8., 3.9., 3.10. tabulas).

3.8. tabula

Laboratoriskie asins gāzu izmeklējumi

Rādītājs	30.11.2009. plkst.15.25	30.11.2009. plkst.20.18	01.12.2009. plkst.4.04	02.12.2009.
pO2 mmHg (N 71-104)	70,6	64,7	55,4	132,2
pCO2 mmHg (N 32-46)	78,6	75,1	59,5	42,9
Be (B) mmol/l (-5-5)	6,0	10,3	11,2	6,7
pH (N 7,37- 7,45)	7,28	7,30	7,40	7,40
HCO3 std mmol/l (N 21-26)	29,9	30,8	32,9	30,0

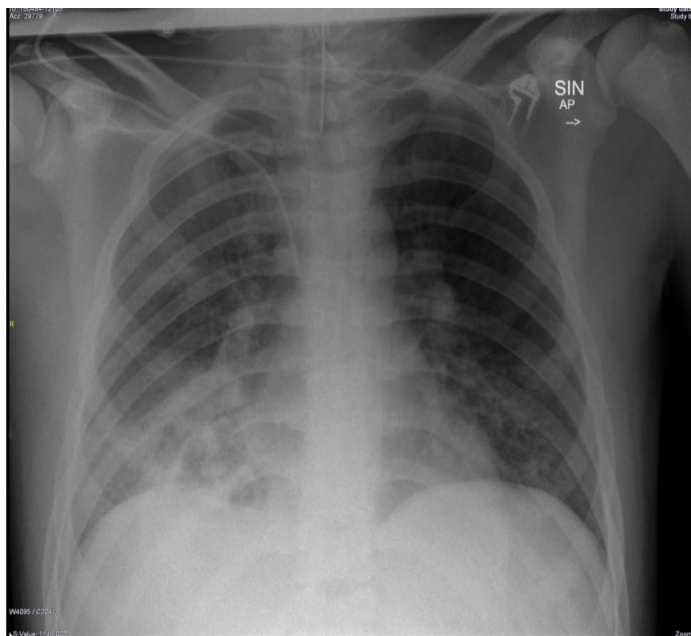
Asins ainas laboratoriskie izmeklējumi

Rādītājs	30.11.2009.	02.12.2009.	03.12.2009.	22.01.2010.
LEU x10 ³ /μl (4,5-13)	6,85	6,54	9,87	9,66
Er x10 ⁶ /μl(4,5-5,3)	5,37	4,31	4,35	5,10
Tr x10 ³ /μl (181-521)	143	166	197	413
HGB (g/dl)	14,3	11,5	11,5	12,6
Mo%	10	7	-	-
Ly%	12	15	-	-
Sg%	52	61	-	-
St%	25	15	-	-
Metamielociti%	1	-	-	-

Asins bioķīmiskie izmeklējumi

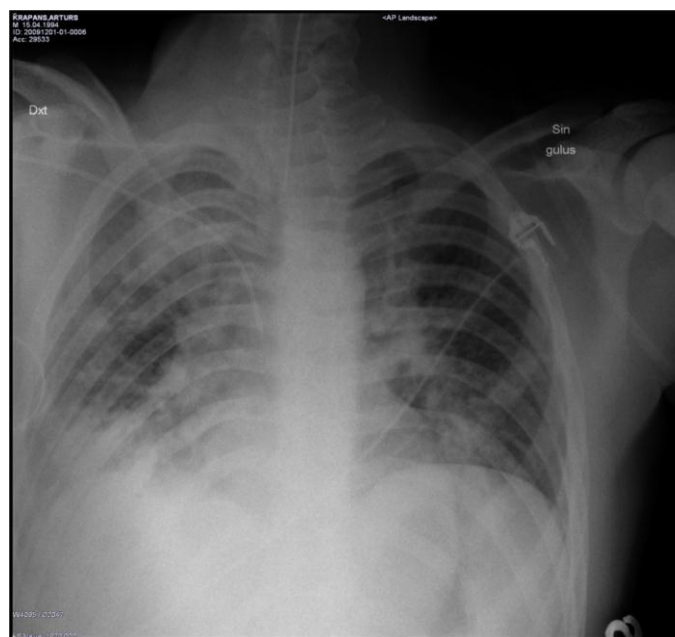
Rādītājs	30.11. 09.	02.12. 09.	03.12. 09.	07.12. 09.	16.12. 09.	27.01. 10.
CRO mg/l	261,0	163,0	179,0	96,0	50,7	5,1
Kop. OB g/l	71,0	50,4	-	-	68,3	-
Laktāts	2,26	1,30	-	-	-	-
Crea µl/l	63	69	-	45	51	-
Urea mmol/l	7,3	8,9	-	6,4	4,2	-
ASAT U/l	14,2	91,4	-	134,7	97,6	-
ALAT U/l	7,7	20,3	-	150,7	134,7	-
Kop. Bil. µl/l	6,1	-	-	11,1	5,2	-
LBP	-	44,4	108,0	-	-	-
Il6 pg/ml	-	172	135	-	-	-

Rtg. izmeklējumi krūšu kurvī 6. slimības dienā (01.12.09.) norādīja uz strauji progresējošu abpusēju pneimoniju (3.10., 3.11. attēli).



3.10. att. Rtg. thoracis 01.12.2009. plkst. 7.35.

Multipli fokāli aizēnojumi abās plaušās, intensīvs infiltratīva rakstura aizēnojums kreisajā plaušā



3.11. att. Rtg. thoracis plkst. 11.36.

Negatīva dinamika, strauji progresējoši multipli fokāli aizēnojumi abās plaušās, intensīvs infiltratīva rakstura aizēnojums kreisajā plaušā mediāli.

Pacienta vispārējam stāvoklim pasliktinoties, 11 stundas pēc stacionēšanas uzsāka mākslīgo plaušu ventilāciju (MPV).

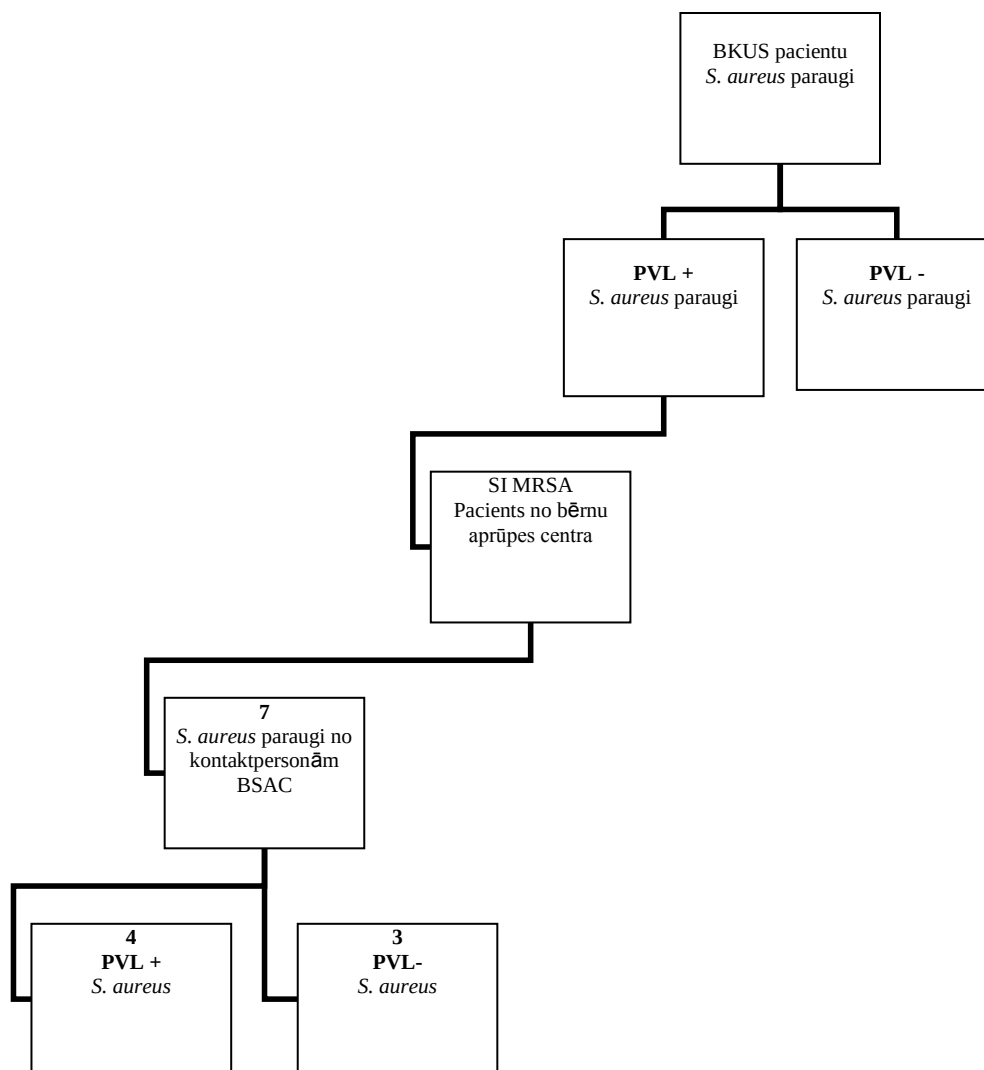
Veicot nazofaringeālās iztriepes izmeklēšanu ar reālā laika polimerāžu ķēdes reakciju, tika identificēts A gripas H1N1 vīruss.

Invazīvais *S. aureus*, kas tika izolēts no asinīm un pleiras punktāta stacionēšanas dienā (30.11.09.), bija meticilīna jutīgs, saturēja gēnus Pantona-Valentine leukocidīna sintēzei un piederēja *spa* tipam *t435*.

Nemot vērā gripai līdzīgos simptomus un smago slimības gaitu, iestājoties BKUS pacientam tika uzsākta antivirālā terapija ar oseltamivir phosphate, kas tika turpināta 5 dienas. Vienlaikus uzsāka antibakteriāla terapija ar ceftriaxone (14 dienas) un oxacillin (14 dienas). Dienu vēlāk terapijā pievienoja klindamicīnu (21 diena). Papildus konservatīvai terapijai, pacientam veica ķirurģisku ārstēšanu — 11.12.2009. tika veikta labās puses vidējā lobektomija. Pacienta vispārējam stāvoklim nelabojoties, 11.01.2010. tika nolemts veikt retorakotomiju ar bronhu fistulas nošūšanu endoskopijas kontrolē. Bez tam tika veiktas atkārtotas bronhoskopijas bronhu koka sanācijai ar ACC (28.12.09., 11.01.2010., 22.01.2010., 26.01.2010.). Ārstēšanās laikā 15 dienas bērnam tika veikta MPV (01.12.09.), 17 dienas no visa stacionāra pavadītā laika (30.11.09.– 16.12.09.) zēns atradās intensīvās terapijas nodaļā, turpmāko ārstēšanu turpinot ķirurģijas profila nodaļā. Dinamikā zēna vispārējais stāvoklis labojās un zēns tika izrakstīts no stacionāra vispārējā apmierinošā stāvoklī pēc 58 dienām 27.01.2010. Aprakstītais gadījums norāda, ka *S. aureus t435*, kas galvenokārt bērniem izraisa strutainas ādas un zemādas infekcijas, var izraisīt nopietnas komplikācijas iepriekš veseliem pacientiem ar gripas vīrusu, kā rezultātā iespējama strauja pneimonijas attīstība, kas prasa nopietnu un ilgstošu ārstēšanos stacionārā.

3.3. Sabiedrībā iegūtā MRSA nēsāšana bērnu sociālās aprūpes centrā

2007. gada augustā Bērnu Klīniskajā Universitātes slimnīcā iestājās 8 mēnešus veca meitene ar sturtaīnu kakla limfmezglu iekaisumu (3.12.attēls).



3.12. att. Bērnu Klīniskajā Universitātes slimnīcā stacionētais pacients

Stacionēšanas dienā limfmezgla incīzijas laikā ņemtajā iztriepē no strutām, fenotipiski un genotipiski tika identificēts sadzīvē iegūtais *S. aureus*. Tas bija jutīgs pret visām testētajām antibakteriālajām vielām, izņemot cefoksitīnu, nesa

mecA gēnu un gēnus PVL sintēzei, un *IV SCCmec*. Pacientei tika veikta bojātā kakla limfmezgla incīzija, papildus bērns saņēma empīrisku antibakteriālo terapiju ar gentamicīnu un oksacilīnu, kā rezultātā meitene tika izrakstīta 2 nedēļas pēc stacionēšanas. Stacionārā bērns nonāca no bērnu aprūpes centra, kurā tiek aprūpēti 62 bērni vecumā līdz četriem gadiem. Ņemot vērā pacienta ilgstošo un ciešo kontaktu ar bērnu novietnes citiem bērniem un personālu, kā rezultātā iespējama sadzīvē iegūta *S. aureus* (SI – MRSA) izplatība slēgtā kolektīva, tika nolemts paņemt deguna un ādas iztriepes arī no bērniem un personāla bērnu aprūpes centrā. 2007. gada septembrī tika iegūti 7 *S. aureus* paraugi. Veicot antibakteriālās jutības pārbaudi iegūtajiem izolātiem, atrada, ka tie visi ir jutīgi pret cefoxitīnu (FOX). Turpmāk veicot iegūto izolātu genotipisku izmeklēšanu, četriem izolātiem tika atrastas SI-MRSA raksturīgās pazīmes - *mecA* gēns, PVL sintēzei nepieciešamie gēni, kā arī *IV* tipa *SCCmec* kasete. Veicot paraugu tipēšanu pēc *spa*, četriem paraugiem atrasti radniecīgi *spa* tipi, pie tam, trijiem no tiem, tie bija identiski un piederēja *spa* tipam *t1298* (3.11.tabula).

SI-MRSA nēsātāju dekolonizācija netika veikta. Veicot atkārtotu bērnu nama iemītnieku un personāla nazālo iztriepju izmeklēšanu pēc gada, tika atrasti 13 *S. aureus* izolāti, taču MRSA netika identificēts.

Iegūto izolātu raksturojums

Izo- lāts	Iegūšanas vieta	Laiks un vieta	Pers.	Antibakteriālā rezistence											luk-PV	mec-A	SCCmec tips	spa atkārtojumi	spa tips
				P	F O X	G M	E	C I P	C	C C	R A	T	S T X	V A					
14.	Akūts strutains limfadenīts (strutas)	27.08. 07. BKUS	pacients	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	poz.	poz.	IV	15-12-16-16- 02-16-02-25- 17	t433
13.	deguns	07.09. 07. BSAC	bērns	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	poz.	poz.	IV	23-21-22-16- 34-33-13	jauns
10.	deguns	07.09. 07. BSAC	personāls	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	poz.	poz.	IV	15-16-02-16- 02-25-17-24	t1298
9.	deguns	07.09. 07. BSAC	bērns	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	poz.	poz.	IV	15-16-02-16- 02-25-17-24	t1298
7.	deguns	07.09. 07. BSAC	bērns	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	poz.	poz.	IV	15-16-02-16- 02-25-17-24	t1298

3.11. tabulas nobeigums

Izo- lāts	Iegūšanas vieta	Laiks un vieta	Pers.	Antibakteriālā rezistence											luk-PV	mec-A	SCCmec tips	spa atkārtojumi	spa tips
				P	F O X	G M	E	C I P	C	C C	R A	T	S T X	V ⁵ A					
5.	deguns	07.09. 07. BSAC	personāls	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	poz.	neg.	-	14-44-13-17- 17-17-23-18-- 17	t435
4.	deguns	07.09. 07. BSAC	bērns	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	neg.	neg.	-	-	
1.	deguns	07.09. 07 BSAC	bērns	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	neg.	neg.	-	-	-

⁵ P- penicillin, FOX- cefoxitin, GM- gentamicin, E – erythromycin, CIP – ciprofloxacin, C- chlorampfenicol, CC – clindamycin, RA – rifampin, T – tetracycline, STX – trimethoprim/sulfamethoxazole, VA – vancomycin.

4. DISKUSIJA

S. aureus ir patogēns, kas vienlīdz veiksmīgi spēj izraisīt saslimšanas gan stacionārā, gan ārpusstacionārā apstākļos. Izraisīto saslimšanu spektrs ir plašs, sākot ar lokālām virspusējām ādas infekcijām līdz nopietnām invazīvām saslimšanām, kā dziļo audu abscesi, pneimonija, endokardīts, sepse. *S. aureus* patogenitāte ir saistīta ne tikai ar tā adaptācijas spējām, īsā laikā iegūstot rezistenci pret plašāk izmantotajiem antibakteriālajiem līdzekļiem, bet arī ar virulences faktoriem, kas kavē antivielu piesaistīšanos un fagocitozi, sekmē baktērijas piesaisti saimnieka audiem, spēj tos degradēt, kā arī sekmē baktēriju dziļāku penetrāciju audos. Pie šiem virulences faktoriem pieder Panton–Valentine leukocidīns (Holmes A *et al*, 2004). Vairāk kā pirms piecpadsmit gadiem tika ziņots, ka PVL kodējošos gēnus identificēja vien 2% klīnisko *S. aureus* izolātu (Prevost G *et al*, 1995). Turpmākie ziņojumi norāda uz PVL pozitīvo *S. aureus* skaita pieaugumu (Issatrel B *et al*, 2005, Chini V *et al*, 2005, Del Giudice P *et al*, 2009, Nickerson E, *et al*, 2009, Masiuk H *et al*, 2010).

Lai gan PVL klātbūtne raksturo sabiedrībā iegūtos MRSA, tomēr pēdējo gadu laikā veiktie pētījumi norāda uz pieaugošo PVL pozitīvo MSSA skaita pieaugumu, gan izolātos, kas iegūti no asinīm smagu invazīvu infekciju gadījumā, gan vieglu virspusēju ādas infekciju gadījumos no strutām iegūtos *S. aureus* izolātos.

Dati par PVL pozitīvo *S. aureus* izplatību ir atšķirīgi un, jādomā, tas ir saistīts gan ģeogrāfisko reģionu, kur veikts pētījums, gan ar pētīto materiālu, tomēr visumā vērojams PVL pozitīvo *S. aureus* izolātu izplatības pieaugums pasaulē. Bažas rada gan plašā PVL pozitīvo *S. aureus* izplatība, gan fakts, ka bieži šis toksīns tiek identificēts *S. aureus* paraugos, kas izraisījis ne tikai strutainas ādas infekcijas, bet arī smagas invazīvas saslimšanas bērniem un jauniem cilvēkiem (Gillet Y *et al*, 2002, Gillet Y *et al*, 2007).

4.1. PVL prevalence stacionārā ārstētiem pacientiem ar *S. aureus* infekciju

PVL prevalence *S. aureus* izolātiem pacientiem ar *S. aureus* infekciju Latvijā iepriekš nav pētīta. Pētījums veikts Latvijas vienīgajā terciārās aprūpes bērnu slimnīcā, kur gada laikā ārstējas aptuveni 420 000 bērni no visas valsts, tāpēc veiktais pētījums varētu raksturot situāciju bērniem visā Latvijā. Lai precīzi veiktu PVL pozitīvo *S. aureus* uzskaiti, būtu nepieciešama centralizēta šādu datu apkopošana, kurā tiktu iesaistītas pediatriiskās nodaļas no visas valsts reģionu slimnīcām.

Pētījuma laikā iegūtie dati liecina par augstu PVL prevalenci stacionārā ārstētiem bērniem ar *S. aureus* infekciju. PVL pozitīvo *S. aureus* augsto prevalenci bērniem Latvijā, domājams, nosaka divi faktori. Pirmkārt, iepriekš Latvijā nav veikti pētījumi par šī virulences gēnu izplatību *S. aureus* izolātiem, tāpēc nevar apgalvot, ka PVL gēnu plaša izplatība nav bijusi arī pirms pētījuma veikšanas. Otrs izskaidrojums varētu būt pētītā populācija – pediatriiski pacienti ar pārsvarā purulentām ādas un zemādas infekcijām. Literatūrā ir atrodami pētījumi, kas norāda uz PVL ciešo saistību ar virspusējām ādas un zemādas infekciju izplatību dažādās populācijās, arī bērniem (4.1. tabula).

PVL sastopamība *S. aureus* izolātos pasaulē pēc literatūras datiem

Vieta, gads	Pētītā populācija	<i>S. aureus</i> kultūru skaits	Pētītais materiāls	PVL prevalence	Atsauce
Jaunkaledonija, Francija, 2002. gads februāris - aprīlis	Pieaugušie stacionārā	65 MSSA	Strutas no abscesiem	89%	Issatrel B <i>et al</i> , 2005
Francija 2003.-2006.gads	Nav precizēts	57	Strutas no abscesiem	70%	del Giudice P <i>et al</i> , 2009
Taizeme 2006. - 2007.gads	Visi vecumi stacionārā	248	Strutas Asinis- Plaušu šķidrums Cerebrospinālais šķ.	49%	Nickerson E <i>et al</i> , 2009
ASV, 2005. oktobris-2006. gada marts	bērni	214 MSSA	Abscesi, brūces	14,5%	Orscheln RC <i>et al</i> , 2009
Latvija, 2006.-2008. gads	Bērni, stacionārs	224 MSSA	Strutas, asinis, operāciju materiāls	75%	Dati no veiktā pētījuma BKUS
Jaunzēlande 2008.gada februāris-aprīlis	Visi vecumi	335 MSSA	Pacienti ar ādas infekcijām	37%	Muttaiyah S <i>et al</i> , 2010

Pētījuma laikā veicot *S. aureus* izolātu grupēšanu stacionārā ārstētiem bērniem pēc izraisītās infekcijas rakstura, atrasts, ka PVL pozitīvie izolāti biežāk saistīti ar ādas un mīksto audu infekcijām. Šie rezultāti apstiprina iepriekš veikto pētījumu rezultātus, kur novērota augsta PVL pozitīvo *S. aureus* prevalence izolātiem, kas izolēti pacientiem ar furunkulozi un citām ādas un mīksto audu

infekcijām(Lina G *et al*, 1999, del Guidice P *et al*, 2009, Baba-Mousa L *et al*, 2011, del Guidice P, 2011). Veiktais pētījums, kā arī nesenie ziņojumi no Eiropas norāda, ka PVL pozitīvie meticilīna jutīgie *S. aureus* ir vērtējami kā nozīmīgi ādas un mīksto audu infekciju izsaucēji (Masiuk H *et al*, 2010, Melles DC *et al*, 2006). Lielā PVL pozitīvo *S. aureus* izsaukto ādas un mīksto audu infekciju izplatība bērniem veiktajā pētījumā, liecina par nepieciešamību izstrādāt vadlīnijas to izplatības ierobežošanai. Pētījuma ietvaros aprakstītais gadījums bērnu aprūpes centrā, apstiprina ciešo ikdienas kontaktu nozīmi, īpaši slēgtās sabiedrībās, PVL pozitīvo *S. aureus* izplatībā. Šāda izplatība aprakstīta, gan starp futbola komandas biedriem, gan kādā skolā, gan nelielā ciematā Vācijā, gan vienas ģimenes ietvaros (Fontanilla JM *et al*, 2010, Cheril LM *et al*, 2005, Boubaker K *et al*, 2004, Wiese-Posselt M *et al*, 2007, Tinelli M *et al*, 2009).

S. aureus ir viens no biežākajiem osteomielītu izsaucējiem bērnu vecumā (Darville T *et al*, 2004, Kao HC *et al*, 2003). Piemēram, dati par osteomielīta incidenci bērniem Lietuvā, liecina, ka tā divdesmit gadu ilga laika periodā ir pieaugusi no 11,5 slimības gadījumiem uz 100 000 bērniem 1982.gadā līdz 14,3 gadījumiem 2003. gadā (Malcius D *et al*, 2005). Pētījumā kaulu un locītavu infekcijas bija viens no biežākajiem stacionēšans iemesliem, sekojot ādas un mīksto audu infekcijām. Vairāk kā pusē no *S. aureus* izraisītajām kaulu un locītavu infekcijām tika identificēts PVL pozitīvais *S. aureus*. Literatūrā nav daudz informācijas par PVL pozitīvo *S. aureus* izraisītiem osteomielītiem. Pieejamā informācija liecina, ka PVL pozitīvā *S. aureus* izraisītās kaulu un locītavu infekcijas ir sastopamas arī bērniem (Kaplan SL *et al*, 2005,). Pie tam nereti osteomielīta izraisītājs ir ne tikai PVL gēnus saturošais MRSA, bet arī MSSA (Sdgoukus D *et al*, 2007). Lielais pacientu skaits ar PVL pozitīvu meticilīna jutīgo *S. aureus* izraisītu osteomielītu veiktā pētījuma ietvaros, norāda uz nepieciešamību veikt papildus molekulāros izmeklējumus, lai identificētu PVL gēnus *S. aureus* izolātos pacientiem ar smagu slimības gaitu, lai veiktu mērķtiecīgu terapiju, kas vērsta pret toksīna iedarbību.

PVL pozitīvie *S. aureus* literatūrā bieži aprakstīti kā nekrotisku pneimoniju izraisītāji (O Gorman J *et al*, 2004, Rouzic N *et al*, 2010,). Bažas rada PVL

pozitīvo *S. aureus* pneimoniju biežā sastopamība bērniem un jauniem cilvēkiem. Pacientu mediānais vecums pēc literatūras datiem ir četrpadsmit gadi, un fatālu iznākumu novēro vairāk kā pusē no saslimšanas gadījumu (Gillet Y *et al*, 2002, Gillet Y *et al*, 2007). Ir konstatēts, ka PVL pozitīvā *S. aureus* izraisītā pneimonija biežāk attīstās pēc respiratorām infekcijām, īpaši gripas (Roberts JC *et al* 2008, Gillet Y *et al*, 2002). Veiktā pētījuma ietvaros PVL pozitīvais *S. aureus* tika izolēts vien diviem pacientiem ar pneimoniju. Abi bērni bija vecumā līdz 3 gadiem. Retrospektīvi iegūstot informāciju no abu pacientu medicīnas kartēm, netika iegūti dati par gripas vai citu respiratoro vīrusu izolēšanu stacionēšanas laikā. Sīkāka informācija tika iegūta par pacientu ar PVL pozitīvu *S. aureus* izsauktu pneimoniju pēc gripas vīrusa. Šī pacienta vecums, slimības sākums un turpmākā gaita sakrita ar literatūrā aprakstīto. Visos gadījumos slimība noritēja labvēlīgi, bērni atveseļojās. Lai gan veiktā pētījuma ietvaros pneimoniju gadījumu ir maz, tomēr tas liecina par PVL nozīmi smagu infekciju izraisīšanā.

4.2. PVL ietekme uz slimības gaitu stacionārā ārstētiem pacientiem ar *S. aureus* infekciju

PVL ietekme uz *S. aureus* izsauktas infekcijas gaitu ir diskutēta literatūrā. Ir pētījumi, kas apliecina šī toksīna nelabvēlīgo ietekmi uz slimības gaitu, gan izraisot saslimšanas ar smagām invazīvām infekcijām, gan paaugstinot mirstību no *S. aureus* izraisītām infekcijām (Gillet Y *et al*, 2002, Dophin B *et al* , 2007). Pierādījumi šī toksīna degradējošajai iedarbībai uz organismu atrasti arī veicot eksperimentus uz dzīvnieku modeļiem (Labandeira-Rey M *et al*, 2007, Diep BA *et al*, 2010). Tomēr pastāv arī pētījumi, kuros tiek apšaubīta šī toksīna ietekme uz slimības gaitu (Voyich JM *et al* 2006, Bubeck Wardenburg J *et al* 2008). Veiktajā pētījumā PVL ietekme uz slimības gaitu ir noteikta izmantojot pieejamos klīniskos datus retrospektīvi pētot slimības vēstures. Pētījuma trūkums ir informācijas iegūšana no dokumentiem nevis klātienē apskatot pacientu, tāpēc pastāv iespēja, ka ir informācija, kas netika apkopota, jo nebija atrodama slimības vēsturēs.

Pētījumā iegūtā informācija liecina, ka PVL gēnu klātbūtne noteica smagāku slimības norisi pacientiem, kuriem bija blakussaslimšanas un, kuri infekciju ieguva stacionāra apstākļos. PVL klātbūtne 2,49 reizes paaugstināja abscesu attīstības risku. Nebija norādes, ka PVL klātbūtne *S. aureus* izolātos paaugstinātu risku iegūt tādas smagas infekcijas kā sepse, pneimonija un osteomielīts. Tomēr literatūrā ir pieejama informācija par pētījumu, kas veikts visu vecuma pacientiem terciārās aprūpes stacionārā, kur norādīts, ka sepses attīstības risku paaugstina PVL klātbūtne *S. aureus* izolātos 1,94 reizes (Tong SY *et al* 2010).

Pārsvārā pacienti tika hospitalizēti ķirurģijas profila nodaļās, jo pacientiem bija strutainas ādas un mīksto audu infekcijas. 76% gadījumu tika veiktas dažādas ķirurģiskas manipulācijas, savukārt antibakteriālu terapiju saņēma 96% pacientu. Ņemot vērā atsevišķas lokālās vadlīnijas, vienīgi incīzija un drenāža bez antibakteriālās terapijas tiek rekomendēta kā optimālākā ārstēšanas metode tādu ādas un mīksto audu infekciju gadījumā kā virspusējie abscesi un furunkuloze (HPA 2008). Antibakteriālā terapija tiek rekomendēta pacientiem ar abscesiem, kas pārsniedz piecu centimetru izmēru, kā arī pacientiem ar sistēmiskas infekcijas pazīmēm kā drudzis un tahikardija, kā arī pacientiem, kuriem nav vērojami uzlabojumi pēc ķirurģisku manipulāciju veikšanas (Daum RS, 2007).

4.3. PVL ietekme uz stacionēšanas laiku pacientiem ar *S. aureus* infekciju

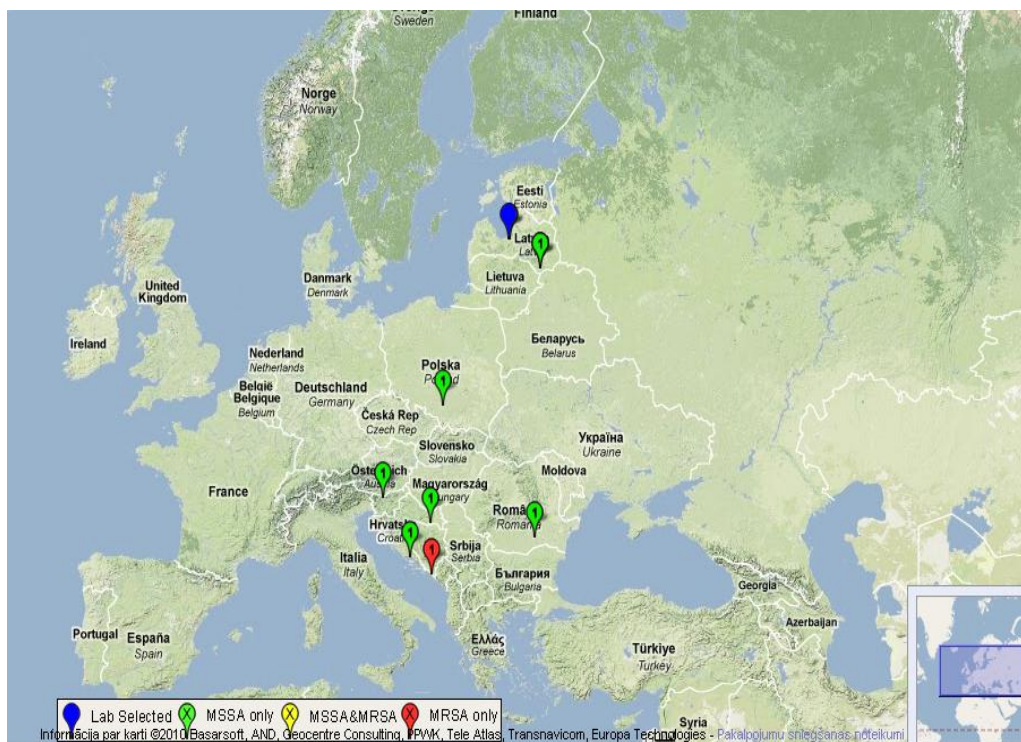
Pacienti ar PVL pozitīvām invazīvām infekcijām stacionārā ārstējās septiņas dienas ilgāk kā pacienti ar PVL negatīvām invazīvām infekcijām. Ilgāk stacionārā atradās pacienti ar blakussaslimšanām. PVL saistība ar garāku stacionēšanas laiku literatūrā ir maz aprakstīta, pretrunīga, kā arī pētījumos iekļauto paraugu mazā skaita dēļ to ticamība ir ierobežota. Kādā pētījumā ziņots, ka stacionēšanas ilgums pediatriem pacientiem bija vienāds neatkarīgi no PVL gēnu klātbūtnes sabiedrībā iegūtu invazīvu un neinvazīvu *S. aureus* infekciju gadījumā. Citā ziņojumā trīs reizes garāks stacionēšanas ilgums konstatēts bērniem ar PVL pozitīvām kaulu un locītavu infekcijām salīdzinot ar kontroles

grupu – PVL negatīvā *S. aureus* izraisītām kaulu un locītavu infekcijām (Dophin B *et al*, 2009, Papenburg J *et al*, 2009).

4.4. *S.aureus* filoģenētiskais raksturojums

S. aureus molekulārās epidemioloģijas pētīšanā tiek izmantotas dažādas tipēšanas metodes. Populārākās ir PFGE (pulsējošā lauka elektroforēze (pulsed-field gel electrophoresis)), MLST (tipēšana izmantojot septiņus mājturības gēnus (multi-locus-sequence typing) un tipēšana pēc *spa* gēna (Said-Salim B *et al*, 2003, Enright MC *et al*, 2000,). Pētījuma ietvaros *S. aureus* tipēšanai tika izvēlēta tipēšana pēc *spa* gēna, kas ir ātra, iegūto sekvenču dati ir veinozīmīgi un nepārprotami, bez tam iegūtie dati ir viegli pārnesami elektroniskā veidā, kas nodrošina informācijas apmaiņu starp laboratorijām un datu bāzu veidošanu (Aires-de-Sousa M *et al*, 2006). Šī tipēšanas metode ir piemērota infekcijas uzliesmojumu izmeklēšanai gan lokāli stacionāros, gan ārpusstacionāra apstākļos (Harmsen D *et al*, 2003) Bez tam, izmantojot *spa* sekvenču analīzes rezultātus un BURP algoritmu, ir iespējams izsekot analizēto izolātu klonālajai radniecībai tikpat labi, kā izmantojot MLST tipēšanas metodi, kas ir dārgāka un darbietilpīgāka (Mellmann A *et al*, 2007).

Spa sekvenču analīze atklāja, ka liela daļa no *S. aureus* izolātiem ir meticilīna jutīgi un pieder vienam *spa* tipam *t435* vai ir tuvu radniecīgi. Sporādiski *S. aureus* izolāti ar *spa* tipu *t435* izolēti Polijā, Austrijā, Rumānijā un Ungārijā (Grundman H *et al*, 2010) (4.1.attēls).



4.1. att. *S. aureus* ar *spa* tipu *t435* izplatība Eiropā (Grundman H *et al*, 2010)⁶

Latvijā *S. aureus* ar *spa* tipu *t435* aprakstīti pirmo reizi. Izolāti ar šo *spa* tipu izplatīti galvenokārt bērnu populācijā, bet pieaugušo populācijā Latvijā plaši izplatīti izolāti ar *spa* tipu *t433*, kas nav radniecīgs ar *t435*. Strommenger B ar autoriem aprakstot *S. aureus* izolātu tipēšanu pēc *spa* un MLST, identificē meticilīn-jūtīgos *S. aureus* izolātus, kas pieder CC435, kurā ietilpst *t435*, *t159*, *t308*, *t284*, *t269*. Aprakstītajiem izolātiem nav raksturīga PVL gēnu klātbūtne (Strommenger B *et al*, 2006). Savukārt veiktajā pētījumā šī klonālā klatera ietvaros lielākā daļa izolātu ir PVL pozitīvi. Literatūrā aprakstīts, ka PVL gēni atrodas uz bakteriofāgiem, kas nodrošina to cirkulāciju starp *S. aureus* izolātiem un spēju inficēt PVL negatīvos izolātus (Narita S *et al*, 2001, Kaneko J *et al*, 1997). Kādā pētījumā no Polijas ziņots, ka pacientiem ar *S. aureus* izraisītu furunkulozi biežāk

⁶ Zaļā krāsā atzīmēti meticilīna jutīgie *S. aureus* izolāti, sarkanā krāsā – meticilīna rezistentie *S. aureus* izolāti, kas pieder *spa* tipam *t435*.

noteiktie *spa* tipi bija *t435* un šim tipam tuvu radniecīgais *t159* (Masiuk H et al, 2010). Šis atklājums sakrīt ar veiktajā pētījumā novēroto, kur lielākā daļa izolātu ar *spa* tipu *t435* un tam tuvu radniecīgiem *spa* tiem tika izolēti no pacientiem ar virspusējām ādas un mīksto audu infekcijām.

Izmantojot *spa* tipēšanu, tika identificēts SI-MRSA uzliesmojums Bērnu sociālās aprūpes centrā, no kurienes BKUS tika stacionēts bērns ar mīksto audu infekciju. No pacienta kontaktpersonām iegūto *S. aureus* kultūru molekulārā izmeklēšana norādīja uz SI-MRSA uzliesmojumu, jo identificētie *S. aureus* izolāti bija tuvu radniecīgi vai vienādi. Atsevišķu secību izzušana vai identisku secību noteikšana izolētajiem celmiem, norādīja uz vienu infekcijas izcelsmes avotu (3.11.tabula).

S. aureus proteīns A ir nozīmīgs *S. aureus* virulences faktors, kas ietekmē gan humorālo imūno atbildi piesaistoties IgG Fc daļai, gan piesaistoties von Willebranta faktoram, tādējādi ietekmējot trombocītu agregāciju, gan piesaistoties tumora nekrozes faktora receptoriem-1, ietekmējot *S. aureus* izraisītas pneimonijas patogēnēzi (Foster TJ, 2005, O'Seaghdha M et al, 2006, Gomez MI et al, 2006). Bez tam aprakstīts, ka *S. aureus* A proteīnam ir nozīmīga loma *S. aureus* izraisītu osteomielītu patogēnēzē, ietekmējot osteoblastu apoptozi un inhibējot to proliferāciju (Claro T et al, 2011). Veiktajā pētījumā atrasts, ka *S. aureus* izolāti, kas piederēja CC435, biežāk iegūti no pacientiem ar vieglām virspusējām infekcijām, bet izolāti, kas iegūti no pacientiem ar smagam invazīvām infekcijām, biežāk piederēja citiem *spa* tiem, kas varētu norādīt uz *spa* tipu ietekmi uz *S. aureus* infekcijas norises gaitu, tomēr literatūrā nav datu par pētījumiem, kas norādītu uz šī proteīna kodējošā gēna *spa* sekvenču sīku mutāciju ietekmi uz proteīna A virulenci. Tāpat literatūrā nav atrodami dati, par *spa* tipu saistību ar stacionēšanas ilgumu. Pētījumā iegūtie dati liecina, ka dominējošie *spa* tipi, kas identificēti stacionētiem bērniem *S. aureus* izolātos, nenosaka garāku stacionēšanas laiku.

Veicot MLST tipēšanu izolātiem ar *spa* tiem, kuri savā starpā bija tuvu radniecīgi, atrasts, ka tie visi pieder vienam ST121, kas sakrīt ar MLST datu bāzē pieejamo informāciju. Visi tipētie izolāti bija meticilīna jutīgi. Pieejamā

informācija liecina, ka izolāti, kas pieder ST 121 var būt gan meticilīna rezistenti, gan meticilīna jutīgi (Nickerson EK *et al*, 2009). Piemēram, ziņojumā no Portugāles, kur aprakstītas *S. aureus* filoģenētiskās īpašības, liela daļa izolātu, kas iegūti no bērniem ar ādas un mīksto audu infekcijām piederēja ST121 (Conceicao T *et al*, 2011). Meticilīna jutīgie *S. aureus* izolāti, kas pieder ST121 un iegūti no ādas aprakstīti arī citur pasaulē – Dienvidāfrikā, Krievijā, Indijā, ASV. (Goering RV, 2008). Ziņojumi par MSSA-ST121 izolēšanu gan furunkulozes uzliesmojumā, gan terapijas refraktārās sepses izraisīšanā, norāda uz šim ST piederošo izolātu nozīmīgumu un svarīgumu (Wiese-Posselt M *et al*, 2007, Schefold JC *et al*, 2007). Pētījums, kas veikts ilgā laika posmā un aptvēris daudzas valstis, atklāj, ka PVL-pozitīvo MSSA izplatība ir pandēmiska un tie ir filoģenētiski saistīti ar CA-MRSA (Rasigade JP *et al*, 2010). Šī saistība iespējams nozīmē, ka PVL-pozitīvie MSSA var kalpot par CA-MRSA rezervuāriem (Monecke S *et al*, 2007). Pētījuma rezultāti norāda uz nepieciešamību veikt PVL pozitīvo *S. aureus* celmu identificēšanu un tipēšanu, lai ierobežotu to izplatību un izvēlētos atbilstošu ārstēšanu.

5. SECINĀJUMI

1. Pētījumā konstatētā PVL pozitīvo *S. aureus* prevalence stacionāra ārstētiem bērniem ar *S. aureus* infekciju bija 75%, (95% TI 69% – 80%).
2. Smagu invazīvu PVL pozitīvu *S. aureus* infekciju attīstību statistiski ticami biežāk novēro pacientiem ar blakus saslimšanām ($p < 0,001$) un pacientiem, kuri *S. aureus* infekciju ieguvuši atrodoties stacionārā ($p < 0,001$).
3. PVL gēnu klātbūtne *S. aureus* izolātos statistiski ticami nosaka ilgāku stacionēšanas laiku pacientiem ar smagām invazīvām saslimšanām ($p = 0,033$) un pacientiem ar blakussaslimšanām ($p < 0,001$).
4. Latvijā vērojama *spa* klonālā tipa CC435 *S. aureus* izolātu izplatība stacionārā ārstētiem bērniem.
5. Latvijā dominējošais CC453 nepildzina stacionēšanas laiku pediatriskiem pacientiem, salīdzinot ar citu klonālo tipu *S. aureus* infekcijām.

6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

1. Centralizēt informāciju par *S. aureus* izraisītu nekrotisku pneimoniju, osteomielītu, citu smagu invazīvu infekciju gadījumiem bērniem.
2. PVL pozitīvo *S. aureus* izplatības ierobežošanai liela nozīme ir higiēnas normu ievērošanai vietās, kur pulcējas bērni (pirmsskolas izglītības iestādes, sociālās aprūpes centri, skolas, sporta zāles u.c.).

7. PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

1. **L. Čupāne**, N. Pugačova, I. Selga, A. Balode, D. Gardovska, E. Miklaševičs. Bērnu Klīniskās universitātes slimnīcas MRSA izolātu klīniskais un molekulārais raksturojums. 2007. gada RSU Zinātnisko rakstu krājuma infekcijas slimību sadaļa; 219-223.
2. **L. Čupāne**, A. Dzirniece, L. Drukaļska, N. Pugačova, I. Selga, Z. Nora, A. Balode, D. Gardovska, E. Miklaševičs. *S. aureus* izplatība BKUS un ārpusstacionāra bērnu aprūpes centrā. 2008. gada RSU Zinātnisko rakstu krājuma infekcijas slimību sadaļa; 212-217.
3. D. Gardovska, I. Grope, J. Pavāre, E. Miklaševičs, S. Ņikuļšins, Ž. Kovaļova, D. Grāvele, N. Pugačova, L. Eihvalde, D. Zavadska, **L. Čupāne**, S. Polukarova, Z. Pučuka, M. Grūtupa, A. Nagle, K. Aksenoka, T. Lopatina, O. Šakele, E. Eglīte-Mahotkina, E. Hagina, A. Sočņevs, O. Rasnačs, I. Kalniņš: Bērnu mirstības samazināšana, uzlabojot dzīvībai bīstamu infekcijas slimību agrīnu diagnostiku. *Monogrāfija "Latvijas iedzīvotāju dzīvildzi un dzīves kvalitāti apdraudošās slimības, zinātniskā analīze un galvenās rekomendācijas"* 2009; 95. – 108.
4. **L. Čupāne**, N. Pugačova, I. Selga, A. Balode, D. Gardovska, E. Miklaševičs. PVL pozitīvo *S. aureus* izplatība pacientiem Bērnu klīniskajā universitātes slimnīcā. 2009. gada RSU Zinātnisko rakstu krājuma infekcijas slimību sadaļa; 66-70.
5. **L. Čupane**, N. Pugacova, G. Aleksejevs, D. Berzina, D. Gardovska, E. Miklasevics. Methicillin susceptible Panton –Valentine leukocidin positive *S. aureus* pneumonia in a child with novel influenza H1N1 infection. *Acta Chirurgica Latviensis*, 2010 (10/2); 127-131.
6. **Cupane L**, Pugacova N, Berzina D, Cauce V, Gardovska D, Miklaševics E. Patients with PVL positive *S. aureus* infections run an increased risk of longer hospitalisation. *Int J Mol Epidemiol Genet*. 2012; 3(1): 48-55.

8. PUBLICĒTĀS TĒZES UN ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU

1. **L. Čupāne**, Ņ. Pugačova, A. Balode, D. Gardovska, E. Miklaševičs. Bērnu Klīniskās Universitātes slimnīcas MRSA izolātu klīniskais un molekulārais raksturojums. 2007. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2007; 148.
2. **L. Čupāne**, E. Pujāte, A. Balode, D. Gardovska, E. Miklaševičs, U. Dumpis. Jaundzimušo ādas infekcijas izraisītāja molekulārā analīze. 2007. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2007; 146.
3. **L. Čupāne**, Ņ. Pugačova, L. Drukaļska, I. Selga, A. Balode, D. Gardovska, E. Miklaševičs. Bērnu Klīniskās Universitātes slimnīcas *S. aureus* izolātu klīniskais un molekulārais raksturojums. 2008. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2008; 128.
4. **L. Čupāne**, A. Dzirniece, L. Drukaļska, Ņ. Pugačova, A. Balode, Z. Nora, D. Gardovska, E. Miklaševičs. Pirmais sadzīvē iegūtā MRSA uzliesmojums Latvijā ārpus stacionāra. 2008. Gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2008; 127.
5. **L. Čupāne**, Ņ. Pugačova, I. Selga, A. Balode, D. Gardovska, E. Miklaševičs. PVL pozitīvo *S. aureus* izplatība BKUS, to molekulārais un klīniskais raksturojums. 2009. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2009; 126.
6. **L. Čupāne**, A. Dzirniece, Ņ. Pugačova, A. Balode, Z. Nora, D. Gardovska, E. Miklaševičs. Sadzīvē iegūtā metcilīna rezistentā *S. aureus* nēsāšana bērniem ārpus stacionāra bērnu aprūpes centrā. 2009. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2009; 146.
7. **L. Čupane**, N. Pugacova, L. Drukalska, I. Selga, A. Balode, D. Gardovska, E. Miklasevics. Spread of PVL positive *S. aureus* among patients at children clinical university hospital. 27th annual meeting of the European society for paediatric infectious diseases. *ESPID* 2009.

8. **L. Čupāne**, A. Balode, Ņ. Pugačova, I. Selga, D. Gardovska, E. Miklaševičs. PVL positive *S. aureus* sepsis with bilateral necrotic pneumonia and multiple osteomyelitis in previously healthy boy. The 28th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, **2010**.
9. **L. Čupane**, N. Pugačova, I. Selga, A. Balode, D. Gardovska, E. Miklaševičs. Spread of Panton-Valentine leukocidin positive *S. aureus* among children's clinical university hospital, Riga, Latvia. 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), **2010**.
10. **L. Čupāne**, Ņ. Pugačova, I. Selga, A. Balode, J. Žestkova, D. Gardovska, E. Miklaševičs. Sabiedrībā iegūto *S. aureus* filoģenētiskais raksturojums. 2010. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2010; 168.
11. **L. Čupāne**, Ņ. Pugačova, I. Selga, A. Balode, D. Bērziņa, D. Gardovska, E. Miklaševičs. Metilīn jutīgā PVL pozitīvā *S. aureus* pneimonija bērnam ar A gripas vīrusu. 2010. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2010; 180.
12. **L. Čupāne**, Ņ. Pugačova, I. Selga, A. Balode, J. Žestkova, D. Gardovska, E. Miklaševičs. Bērnu Klīniskās Universitātes slimnīcas *S. aureus* izolātu klīniskais un filoģenētiskais raksturojums. 2011. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2011; 211.
13. **L. Čupāne**, A. Balode, Ņ. Pugačova, I. Selga, D. Gardovska, E. Miklaševičs. PVL positive *S. aureus* pneumonia in a child with novel influenza H1N1 infection. Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, **2011**.
14. **L. Čupāne**, Ņ. Pugačova, I. Selga, A. Balode, J. Žestkova, D. Gardovska, E. Miklaševičs. Bērnu Klīniskās Universitātes slimnīcas *S. aureus* izolātu klīniskais un filoģenētiskais raksturojums. Latvijas Zinātņu akadēmijas, Latvijas Universitātes, Rīgas Tehniskās universitātes un Rīgas Latviešu biedrības rīkotais Apvienotais pasaules latviešu zinātnieku 3. un Letonikas 4.

kongress „Zinātne, sabiedrība un nacionālā identitāte” , 2011. gada 24.-27. oktobris.

15. **Cupane L**, Pugačova N, Berzina D, Cauce V, Gardovska D, Miklaševics E. PVL positive MSSA are more prone to cause superficial skin and soft tissue infections. 22th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), 2012.
16. **Čupāne L**, Pugačova N, Bērziņa D, Cauce V, Gardovska D, Miklaševics E. PVL pozitīvas *S. aureus* infekcijas attīstība nosaka garāku stacionēšanas laiku. 2012. gada RSU Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2012, 168

9. LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Aarestrup FM, Larsen HD, Eriksen NHR, Elsberg CS, Jensen NE. Frequency of α - and β -haemolysin in *Staphylococcus aureus* of bovine and human origin. A comparison between pheno- and genotype and variation in phenotypic expression. APMIS.1999;107:425-430.
2. Adebayo O, Shittu BS, Udo EE, Lin J. Insights of virulence and antibiotic resistance: review of the accessory genome of *Staphylococcus aureus*: comparative genomics of *S. aureus*. Wounds. 2007; 19(9): 237 -244.
3. Aires-de-Sousa M, Boye K, de Lencastre H, Deplano A, Enright MC, Etienne J, Friedrich A, Harmsen D, Holmes A, Huijsdens XW, Kearns AM, Mellmann A, Meugnier H, Rasheed JK, Spalburg E, Strommenger B, Struelens MJ, Tenover FC, Thomas J, Vogel U, Westh H, Xu J, Witte W. High interlaboratory reproducibility of DNA sequence-based typing of bacteria in a multicenter study. J Clin Microbiol. 2006 ;44(2):619-621.
4. Arnold SR, Elias D, Buckingham SC, Thomas ED, Novais E, Arkader A, Howard C Changing patterns of acute hematogenous osteomyelitis and septic arthritis: emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Pediatr Orthop. 2006;26(6):703-708.
5. Baba-Moussa L, Sina H, Scheftel JM, Moreau B, Sainte-Marie D, Kotchoni SO, Prévost G, Couppié P. Staphylococcal Panton-Valentine leucocidin as a major virulence factor associated to furuncles. PLoS One. 2011;6(10):e25716.
6. Bartlett AH, Hulten KG. *Staphylococcus aureus* pathogenesis: secretion systems, adhesins, and invasins. Pediatr Infect Dis J. 2010;29(9):860-861.
7. Becker K, Friedrich AW, Lubritz G, Weilert M, Peters G, von Eiff. Prevalence of genes encoding pyrogenic toxin superantigens and exfoliative toxins among strains of *Staphylococcus aureus* isolated from blood and nasal specimens. J Clin Microbiol.2003;41:1434-1439.

8. Berger-Bachi B, Senn MM, Ender M, Seidl K, Hubscher J, Schulthess B, Heusser R, Stutzmann P, McCallum M, McCallum N. Resistance to beta lactam antibiotics. In: Crossley KB, Jefferson KK, Archer GL, Fowler VG. *Staphylococci in human disease*. Second edition, Willey-Blackwell, 2009; 170-192.
9. Bhadi S, Tranum-Jensen J. Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Rev*. 1991;55:733-751.
10. Bierbaum G, Fuchs K, Lenz W, Szekat C, Sahl HG Presence of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1999;18(10):691-696.
11. Bocchini CE, Hulten KG, Mason EO Jr, Gonzales, BE, Hammerman WA, Kaplan SL. Panton-Valentine leukocidin genes are associated with enhanced inflammatory response and local disease in acute hematogenous *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in children. *Pediatrics*. 2006; 117: 433-440.
12. Boubaker K, Diebold P, Blanc DS, Vandenesch F, Praz G, Dupuis G, Triollet N. Panton-Valentine leukocidin and *Staphylococcal* skin infections in schoolchildren. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(1): 121-124.
13. Bubeck Wardenburg J, Palazzolo-Ballance AM, Otto M, Schneewind O, DeLeo FR. Panton-Valentine leukocidin is not a virulence determinant in murine models of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease. *J Infect Dis*. 2008;198:1166-1170.
14. Carrillo-Marquez MA, Hulten KG, Hammerman W, Lamberth L, Mason EO, Kaplan SL. *Staphylococcus aureus* pneumonia in children in the era of community-acquired methicillin-resistance at Texas children's hospital. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30:545-550
15. Centers for disease control. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: United States, 2002. *MMWR* 2002;51:565-567.
16. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7(9):629-641.

17. Changchien CH, Chen YY, Chen SW, Chen WL, Tsay JG, Chu C. Retrospective study of necrotizing fasciitis and characterization of its associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Taiwan. BMC Infect Dis. 2011;11(1):297.
18. Cheryl LM, Jayaratne P, Haley A, Ruthrford C, Smaill F, Fisman DN. Outbreaks of infection caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Canadian correctional facility. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2005; 16(6): 343–348.
19. Chesney JP. *Staphylococcus aureus*. In: Long SS, Pickering LK, Prober CG. Principles and practice of pediatric infectious diseases. Churchill Livingstone. 2003: 694 - 707.
20. Chongtrakool P, Ito T, Ma XX, Kondo Y, Trakulsomboon S, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chavalit T, Song JH, Hiramatsu K. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCCmec elements. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(3):1001-1012.
21. Claro T, Widaa A, O'Seaghdha M, Miajlovic H, Foster TJ, O'Brien FJ, Kerrigan SW. *Staphylococcus aureus* Protein A Binds to Osteoblasts and Triggers Signals That Weaken Bone in Osteomyelitis PLoS One. 2011; 6(4): e18748
22. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing M100-S16; 16th informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2006.
23. Conceição T, Aires-de-Sousa M, Pona N, Brito MJ, Barradas C, Coelho R, Sardinha T, Sancho L, de Sousa G, Machado Mdo C, de Lencastre H. High prevalence of ST121 in community-associated methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* lineages responsible for skin and soft tissue infections in Portuguese children. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011;30(2):293-297.
24. Cribier B, Prevost G, Couppie P, Finck-Barbancon V, Gosshans E, Piemont Y. *Staphylococcus aureus* leukocidin: a new virulence factor in cutaneous

- infections?: an epidemiologic and experimental study. *Dermatology*. 1992; 185(3): 175-180.
25. Crum NF. Bacterial pyomyositis in the United States. *Am J Med*. 2004;117(6):420-428.
 26. Darville T, Jacobs RF. Management of acute hematogenous osteomyelitis in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23 :255– 257.
 27. Daumm RS. Clinical practice. Skin and soft-tissue infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med*. 2007; 357: 380-390.
 28. Del Giudice P, Bes M, Hubiche T, Blanc V, Roudière L, Lina G, Vandenesch F, Etienne J. Panton-Valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus* strains are associated with follicular skin infections. *Dermatology*. 2011;222(2):167-170.
 29. Del Giudice P, Blanc V, de Rougemont A, Bes M, Lina G, Hubiche T, Roudière L, Vandenesch F, Etienne J. Primary skin abscesses are mainly caused by Panton-Valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus* strains. *Dermatology*. 2009;219 (4):299-302.
 30. Denis O, Nonhoff C, Byl B, Knoop C, Bobin-Dubreux S, Struelens MJ. Emergence of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a Belgian hospital: microbiological and clinical features. *J Antimicrob Chemother*. 2002;50(3):383-391.
 31. Diep BA, Chambers HF, Graber CJ, Szumowski JD, Miller LG, Han LL, Chen JH, Lin F, Lin J, Phan TH, Carleton HA, McDougal LK, Tenover FC, Cohen DE, Mayer KH, Sensabaugh GF, Perdreau-Remington F. Emergence of multidrug-resistant, community-associated, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone USA 300 in men who have sex with men. *Ann Intern Med*. 2008;148:249-257.
 32. Diep BA, Chan L, Tattévin P, Kajikawa O, Martin TR, Basuino L, Mai TT, Marbach H, Braughton KR, Whitney AR, Gardner DJ, Fan X, Tseng CW, Liu GY, Badiou C, Etienne J, Lina G, Matthay MA, DeLeo FR, Chambers HF. Polymorphonuclear leukocytes mediate *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin-induced lung inflammation and injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*

2010;107:5587-5592.

33. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev. 2000;13(1): 16-34.
34. Dophin B, Gillet Y, Kohler R, Lina G, Vandenesch F, Vanhems P, Floret D, Etienne J. Pediatric bone and joint infections due to Panton – Valentine leukocidin – positive *Staphylococcus aureus*. Pediatr Infect Dis J. 2007; 26: 1042-1048.
35. Drosos G. Pyomyositis. A literature review. Acta Orthop Belg. 2005;71(1):9-16.
36. Duong M, Markwell S, Peter J, Barenkamp S. Randomized, controlled trial of antibiotics in the management of community-acquired skin abscesses in the pediatric patient. Ann Emerg Med. 2010;55(5):401-7.
37. Ellis Simonsen SM, van Orman ER, Hatch BE, Jones SS, Gren LH, Hegmann KT, Lyon JL. Cellulitis incidence in a defined population. Epidemiol Infect. 2006;134(2):293-9.
38. Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2000; 38:1008–1015.
39. Eykyn SJ. Staphylococci. In: Warell DA, Cox TM, Firth JD, Benz Jr EJ. Oxford textbook of medicine. Fourth edition. Oxford University press, 2005: 470-478.
40. Feil EJ, Cooper JE, Grundmann H, Robinson DA, Enright MC, Berendt T, Peacock SJ, Smith JM, Murphy M, Spratt BG, Moore CE, Day NP. How clonal is *Staphylococcus aureus*? J Bacteriol. 2003; (6): 3307-3316.
41. Fergie J, Purcell K. The treatment of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Pediatr Infect Dis J. 2008;27:67-68.
42. Ferry T, Etienne J. Toxin-mediated syndromes. In: Crossley KB, Jefferson KK, Archer GL, Fowler VG. Staphylococci in human disease. Second edition. Wiley-Blackwell. 2009: 444-454.
43. Finelli L, Fiore A, Dhara R, Brammer L, Shay DK, Kamimoto L, Fry A, Hageman J, Gorwitz R, Bresee J, Uyeki T. Influenza-associated pediatric mortality in the United States: increase of *Staphylococcus aureus* coinfection. Pediatrics. 2008;122(4):805-811.

44. Fontanilla JM, Kirkland KB, Talbot EA, Powell KE, Schwartzman JD, Goering RV, Parsonnet J. Outbreak of skin infections in college football team members due to an unusual strain of community-acquired methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2010;48(2):609-611.
45. Foster TJ. *Staphylococcus aureus*. In: Sussman M. Molecular Medical Microbiology. London: Academic Press, 2002: 839-841.
46. Foster TJ. Immune evasion by staphylococci. Nat Rev Microbiol. 2005;3(12):948-958.
47. Fox LP, Geyer AS, Grossman ME Pyomyositis. J Am Acad Dermatol. 2004; 51(2):308-314.
48. Fridkin SK. Vancomycin-intermediate and -resistant *Staphylococcus aureus*: what the infectious disease specialist needs to know. Clin Infect Dis. 2001;32:108-115.
49. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Huges JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1998. Am J Infect Control. 1998;16(3):128-140.
50. Gerber JS, Coffin SE, Smathers SA, Zaoutis TE. Trends in the incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in children's hospitals in the United States. Clin Infect Dis. 2009;49(1):65-71.
51. Gill SR, Fouts DE, Archer GL, Mongodin EF, Deboy RT, Ravel J, Paulsen IT, Kolonay JF, Brinkac L, Beanan M, Dodson RJ, Daugherty SC, Madupu R, Angiuoli SV, Durkin AS, Haft DH, Vamathevan J, Khouri H, Utterback T, Lee C, Dimitrov G, Jiang L, Qin H, Weidman J, Tran K, Kang K, Hance IR, Nelson KE, Fraser CM. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain. J Bacteriol. 2005;187:2426-2438.
52. Gill SR. Genomics of Staphylococci. In: Crossley KB, Jefferson KK, Archer GL, Fowler VG. Staphylococci in human disease. Second edition. Wiley-Blackwell. 2009:19-30.
53. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet J. C, Lina G, Bes M, Vandenesch F, Piémont Y, Brousse N, Floret D, Etienne J. Association between

- Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton – Valentine leukkocidin and highly lethal necrotizing pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet*. 2002; 359: 753 – 759.
54. Gillet Y, Vanhems P, Lina G, Bes M, Vandenesch F, Floret D, Etienne J. Factors predicting mortality in necrotizing community-acquired pneumonia caused by *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine leukocidin. *Clin Infect Dis*. 2007; 45:315–321.
 55. Goering RV, Shawar RM, Scangarella NE, O'Hara P, Amrine-Madsen H, West JM, Dalessandro M, Becker JA, Walsh SL, Miller LA, van Horn SF, Thomas ES, Twynholm ME. Molecular epidemiology of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from global clinical trials. *J Clin Microbiol*. 2008; 9:2842-2847.
 56. Goffin C, Ghuysen JM, Multimodular penicillin-binding proteins: an enigmatic family of orthologs and paralogs. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998;62: 1079-1093.
 57. Gomez MI, O'Seaghdha M, Magargee M, Foster TJ, Prince AS. *Staphylococcus aureus* protein A activates TNFR1 signaling through conserved IgG binding domains. *J Biol Chem*. 2006;281(29):20190-20196.
 58. Grijalva CG, Nuorti JP, Zhu Y, Griffin NL. Increasing incidence of empyema complicating childhood community-acquired pneumonia in the United States. *Clin Infect Dis*. 2010;50(6):805-813.
 59. Hageman JC, Pegues DA, Jepson C, Bell RL, Guinan M, Ward KW, Cohen MD, Hindler JA, Tenover FC, McAllister SK, Kellum ME, Fridkin SK. Vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a home health-care patient. *Emerg Infect Dis* 2001;7:1023-1025.
 60. Han LL, McDougal LK, Gorwitz RJ, Mayer KH, Patel JB, Sennott JM, Fontana JL. High frequencies of clindamycin and tetracycline resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pulsed-field type USA300 isolates collected at a Boston ambulatory health center. *J Clin Microbiol*. 2007;45:1350-1352.
 61. Hanakawa Y, Schester NM, Lin C, Garza L, Li H, Yamaguchi T, Fudaba Y, Nishifuji K, Sugai M, Amagai M, Stanley JR. Molecular mechanism of blister

- formation in bullous impetigo and staphylococcal scalded skin syndrome. *J Clin Invest.* 110, 2002, 53-60.
62. Harik NS, Smeltzer MS. Management of acute hematogenous osteomyelitis in children. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010 ; 8(2):175–181.
 63. Harmsen D, Claus H, Witte W, Rothganger J, Claus H, Turnwald D, Vogel U. Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 5442–5448.
 64. Hayashida A, Bartlett A H., Foster, T J, Park P W. *Staphylococcus aureus* Beta-Toxin Induces Lung Injury through Syndecan-1. *American Journal of Pathology.* 2009 February; 174(2): 509–518.
 65. Health Protection Agency. Revised guidance on the diagnosis and management of PVL-associated *Staphylococcus aureus* infections (PVL-SA) in the UK. [HPA web site] 2008.
 66. Herron-Olson L, Fitzgerald JR, Musser JM., Kapur V. Molecular Correlates of Host Specialization in *Staphylococcus aureus*. *PLoS One.* 2007;2(10):e1120
 67. Hersh AL, Shapiro DJ, Newland JG, Polgreen PM, Beekmann SE, Shah SS. Variability in Pediatric Infectious Disease Consultants' Recommendations for Management of Community-Acquired Pneumonia. *PLoS One.* 2011; 6(5): e20325
 68. Heuer O, Magiorakos AP, Gunell M, Ecomnomopoulou A, Blomquist PB, Brown D, Walton C, Patel N, Monnet D. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-NET). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2010. http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111_SUR_AMR_data.pdf. pdf Pub date 17 Nov 2011, revised December 2011
 69. Hewlet AL, Falk PS, Hughes KS, Mayhall CG. Epidemiology of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in a University Medical center day care facility. *Ped infect Dis J.* 2009; 29:145-147.

70. Hiramatsu K. Resistance to glycopeptides. In: Crossley K, Jefferson KK, Archer GL, Fowler JVG. *Staphylococci in human disease*. Second edition. Wiley Blackwel. 2009: 193-209.
71. Hiramatsu K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. *Lancet Infect Dis*. 2001;1(3):147-155.
72. Holden MT, Feil EJ, Lindsay JA, Peacock SJ, Day NP, Enright MC, Foster TJ, Moore CE, Hurst L, Atkin R, Barron A, Bason N, Bentley SD, Chillingworth C, Chillingworth T, Churcher C, Clark L, Corton C, Cronin A, Doggett J, Dowd L, Feltwell T, Hance Z, Harris B, Hauser H, Holroyd S, Jagels K, James KD, Lennard N, Line A, Mayes R, Moule S, Mungall K, Ormond D, Quail MA, Rabinowitsch E, Rutherford K, Sanders M, Sharp S, Simmonds M, Stevens K, Whitehead S, Barrell BG, Spratt BG, Parkhill J. Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: Evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. *PNAS*. 2004; 101(26): 9786–9791.
73. Holmes A, Ganner S, McGuane S, et al. *Staphylococcus aureus* isolates carrying Panton – Valentine leucocidin gene in England and Wales: frequency, characterization, and association with clinical disease. *J Clin Microbiol*. 2005; 5: 2384 – 2390.
74. Howden BP, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, Grayson LM. Reduced Vancomycin Susceptibility in *Staphylococcus aureus*, Including Vancomycin-Intermediate and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate Strains: Resistance Mechanisms, Laboratory Detection, and Clinical Implications. *Clin Microbiol Rev*. 2010; 23(1): 99–139.
75. Hsiao CB, Hsiao CB, Dryja D, Abbatesse L, Patel PH. *Staphylococcus aureus* antimicrobial susceptibility of abscess samples from adults and children from the Kaleida Health System in western New York State, 2003 to 2006. *J Clin Microbiol*. 2010;48(5):1753-1757.
76. http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1011_SUR_Annual_Epidemiological_Report_on_Communicable_Diseases_in_Europe.pdf

77. <http://saureus.mlst.net/sql/spadvanced.asp?type=qry&select1=st&symbol1=%3D&text1=121>
78. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/genlist.cgi?taxid=2&type=1&name=Bacteria%20Complete%20Chromosomes>
79. Huang YH, Tseng SP, Hu JM, Tsai JC, Hsueh PR, Teng LJ. Clonal spread of SCCmec type IV methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between community and hospital. Clin Microbiol Infect. 2007;13:717-724.
80. Huseby M, Shi K, Brown CK, Digre J, Mengistu F, Seo SK, Bohach GA, Schlievert PM, Ohlendorf DH, Earhart CA. Structure and biological activities of beta toxin from *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol. 2007;12: 8719-8726.
81. Hussain A, Robinson G, Malkin J, Duthie M, Kearns A, Perera N. Purpura fulminans in a child secondary to Panton- Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus*. J Med Microbiol. 2007;56:1407-1409.
82. Hyun DY, Mason EO, Forbes A, Kaplan SL. Trimethoprim-sulfamethoxazole or clindamycin for treatment of community-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus skin and soft tissue infections. Ped Infect Dis J. 2009;28:57-58.
83. Issatrel B, Tristan A, Lechevallier S, Bruye`re F, Lina G, Garin B, Lacassin F, Bes M, Vandenesch F, Etienne J. Frequent carriage of Panton-Valentine Leucocidin genes by *Staphylococcus aureus* isolates from surgically drained abscesses. J Clin Microbiol. 2005; 43(7):3203–3207.
84. Ito T, Hiramatsu K, Oliveira DC, de Lencastre H, Zhang K, Westh H, O'Brien F, Giffard PM, Coleman D, Tenover FC, Boyle-Vavra S, Skov RL, Enright MC, Kreiswirth B, Ko KS, Grundmann H, Laurent F, Sollid JE, Kearns AM, Goering R, John JF, Daum R, Soderquist B. Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(12):4961-4967.
85. Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzwa H, Hiramatsu K. Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* derived by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. Antimicrob Agents Chemother. 2004; (7): 2637 – 2651.

86. Ito T, Okuma K, Ma XX, Yuzawa H, Hiramatsu K. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: Genomic island SCC. *Drug Resist Updat*. 2003;6:41–52.
87. Jeyakumari D, Gopal R, Eswaran M, Maheshkumar C. Staphylococcal scalded skin syndrome in a newborn. *J Glob Infect Dis*. 2009 Jan;1(1):45-47.
88. Jonas D, Speck M, Daschner FD, Grundman H. Rapid PCR-based identification of methicillin resistant *S. aureus* from screening swabs. *J Clin Microbiol*. 2002; 40(5): 1821-1823.
89. Jung N, Lehmann C, Hellmann M, Seifert H, Valter MM, Hallek M, Fatkenheuer G, Kochanek M. Necrotizing pneumonia caused by Panton-Valentine-producing *Staphylococcus aureus* originating from a Bartholin's abscess. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2008; 2008:491401.
90. Jarraud S, Mougel C, Thioulouse J, Lina G, Meugnier H, Forey F et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, *agr* groups (alleles), and human disease. *Infect Immun* 2002; 70(2): 631–641.
91. Kaneko J, Kimura T, Kawakami Y, Tomita T, Kamio Y. Panton-Valentine leukocidin genes in a phage like particle isolated from mitomycin C-treated *Staphylococcus aureus* V8 (Atcc49775). *Biosci Biotechnol Biochem*. 1997;61:1960-1962.
92. Kao HC, Huang YC, Chiu CH, Chang LY, Lee ZL, Chung PW, Kao FC, Lin TY. Acute hematogenous osteomyelitis and septic arthritis in children. *J Microbiol Immunol Infect*. 2003;36(4):260-265.
93. Kaplan SL, Hulten KG, Gonzalez BE, Hammerman WA, Lamberth L, Versalovic J, Mason EO Jr. Three-year surveillance of community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in children. *Clin Infect Dis*. 2005;40 :1785–1791.
94. Katopodis GD, Grivea IN, Tsantsaridou AJ, Pournaras S, Petinaki E, Syrogiannopoulos GA. Fusidic acid and clindamycin resistance in community-

associated, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in children of Central Greece. BMC Infect Dis. 2010; 10: 351

95. Kazakova SV, Hageman JC, Matava M, Srinivasan A, Phalan L, Garfinkel B, Boo T, McAllister S, Anderson J, Jensen B, Dodson D, Lonsway D, McDougal LK, Arduino M, Fraser VJ, Killgore G, Tenover FC, Cody S, Jernigan DG. A clone of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among professional football players. N Engl J Med. 2005; 352(5): 468-471.
96. Kliment CR, Englert JM, Gochuico BR, Yu G, Kaminski N, Rosas I, Oury TD. Oxidative Stress Alters Syndecan-1 Distribution in Lungs with Pulmonary Fibrosis. J Biol Chem. 2009; 284(6): 3537–3545.
97. Kluytmans JAJW, Van Belkum A, Verburgh A. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev. 1997; 10: 505-520.
98. Kondo Y, Ito T, Ma XX, Watanabe S, Kreiswirth BN, Etienne J, Hiramatsu K. Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome *mec* type assignment: rapid identification system for *mec*, *ccr*, and major differences in Junkyard regions. Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51(1): 264–274.
99. Koning S, van Belkum A, Snijders S, van Leeuwen W, Verburgh H, Nouwen J, Veld O, van Suijlekom-Smit LWA, van der Wouden JC, Verduin C. Severity of nonbullous *Staphylococcus aureus* impetigo in children is associated with strains harbouring genetic markers for exfoliative toxin B, Panton –Valentine leukocidin, and the multidrug resistance plasmid pSK41. J Clin Microbiol. 2003; 41(7): 3017-3021.
100. Kravitz GR, Dries DJ, Peterson L, Schlievert M. Purpura fulminans due to *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2005; 40(7): 941-947.
101. Kuroda M, Ohta T, Uchiyama I, Baba T, Yuzawa H, Kobayashi I, Cui L, Oguchi A, Aoki K, Nagai Y, Lian J, Ito T, Kanamori M, Matsumaru H, Maruyama A, Murakami H, Hosoyama A, Mizutani-Ui Y, Kobayashi N, Tanaka T, Sawano T, Inoue R, Kaito C, Sekimizu K, Hirakawa H, Kuhara S, Goto S, Yabuzaki J, Kanehisa M, Yamashita A, Oshima K, Furuya K, Yoshino C, Shiba T, Hattori M, Ogasawara N, Hayashi H, Hiramatsu K. Whole genome

- sequencing of methicillin (sic) -resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*. 2001; 357:1225-1240.
102. Kwan T, Liu J, DuBow M, Gros P, Pelletier J. The complete genomes and proteomes of 27 *Staphylococcus aureus* bacteriophages. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:5174-5179.
 103. Labandeira-Rey M, Couzon F, Boisset S, Brown EL, Bes M, Benito Y, Barbu EM, Vazquez V, Höök M, Etienne J, Vandenesch F, Bowden MG. *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin causes necrotizing pneumonia. *Science* 2007;315:1130-1133.
 104. Le T, Bayer AS. Combination antibiotic therapy for infective endocarditis. *Clin Inf Dis*. 2003;36:615-621.
 105. Liang X, Yan M, Ji Y. The H35A mutated alpha-toxin interferes with cytotoxicity of staphylococcal alpha-toxin. *Infect Immun*. 2009;77(3):977-983.
 106. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, Vandenesch F, Etienne J. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis*. 1999; 29:1128-1132.
 107. Lindsey JA, Holden MTG. Whole genomes and systems biology. In: Lindsey JA. *Staphylococcus: molecular genetics*. Caister Academic Press. 2008: 1-12.
 108. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, Kaplan SL, Karchmer AW, Levine DP, Murray BE, J Rybak M, Talan DA, Chambers HF. Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children: executive summary. *Clin Infect Dis*. 2011;52(3):285-292.
 109. Lowell GS, Daum RS. *Staphylococcus aureus*. Principles and practice of pediatric infectious diseases. Third edition. Churchill Livingstone. 2008: 679 - 693.
 110. Lowy SD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*. 2003;111(9): 1265–1273.
 111. Ma XX, Ito T, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chongtrakool P, Boyle-Vavra S, Daum RS, Hiramatsu K. Novel type of staphylococcal cassette chromosome

- mec identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(4):1147-1152.
112. Malachowa N, DeLeo FR. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67(18):3057-3071.
 113. Malcius D, Trumpulyte G, Barauskas V, Kilda A. Two decades of acute hematogenous osteomyelitis in children: are there any changes? *Pediatr Surg Int*. 2005;21(5):356-359.
 114. Marshall MJ, Bohach GA, Boehm DF. Characterization of *Staphylococcus aureus* beta-toxin induced leukotoxicity. *J Nat Toxins*. 2000; 9:125-138.
 115. Martinez-Aguilar G, Avalos-Mishaan A, Hulten K, Hammerman W, Mason EO, Jr, Kaplan SL. Community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* musculoskeletal infections in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23:701-706.
 116. Masiuk H, Kopron K, Grumann D, Goerke C, Kolata J, Jursa-Kulesza J, Giedrys-Kalemba S, Bröker BM, Holtfreter S. Association of recurrent furunculosis with Panton-Valentine leukocidin and the genetic background of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2010;48(5):1527-1535.
 117. McCaig LF, McDonald LC, Mandal S, Jeringan DB. *Staphylococcus aureus*-associated skin and soft tissue infections in ambulatory care. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:1715-1723.
 118. McCartney AJ, Lindsay JA. Genetic variation in *Staphylococcus aureus* surface and immune evasion genes is lineage associated: implications for vaccine design and host-pathogen interactions. *BMC Microbiol*. 2010; 10:173.
 119. Melles DC, van Leeuwen WB, Boelens HAM, Peeters JK, Verbrugh HA, van Belkum A. Panton-Valentine Leukocidin Genes in *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis*. 2006; 12(7): 1174-1175.
 120. Mellmann A, Weniger T, Berssenbrügge C, Rothgänger J, Sammeth M, Stoye J, Harmsen D. Based Upon Repeat Pattern (BURP): an algorithm to characterize the long-term evolution of *Staphylococcus aureus* populations based on spa polymorphisms. *BMC Microbiol*. 2007 ;29(7):98.

121. Miller LG, Perdreau-Remington F, Rieg G, Mehdi S, Perlroth J, Bayer AS, Tang AW, Phung TO, Spellberg B. Necrotizing fasciitis caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Los Angeles. *N Engl J Med*. 2005;352(14):1445-1453.
122. Monecke S, Slickers P, Ellington MJ, Kearns AM, Ehricht R. High diversity of Panton-Valentine leukocidin-positive, methicillin-susceptible isolates of *Staphylococcus aureus* and implications for the evolution of community-associated methicillin-resistant *S. aureus*. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13:1157–1164.
123. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ et al. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med*. 2006;355:666-674.
124. Morgan M. *Staphylococcus aureus*, Panton-Valentine leukocidin, and necrotising pneumonia. A rare but often lethal cocktail that complicate flu. *BMJ*. 2005;331:793-794.
125. Morgan WR, Caldwell MD, Brady JM, Stemper ME, Reed KD, Shukla SK. Necrotizing fasciitis due to a methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* isolate harboring an enterotoxin gene cluster. *J Clin Microbiol*. 2007;45(2):668-671.
126. Muttaiyah S, Coombs G, Pandey S, Reed P, Ritchie S, Lennon D, Roberts S. Incidence, Risk Factors, and Outcomes of Panton-Valentine Leukocidin-Positive Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Infections in Auckland, New Zealand *J Clin Microbiol*. 2010 October; 48(10): 3470–3474.
127. Narita S, Kaneko J, Chiba J, Piémont Y, Jarraud S, Etienne J, Kamio Y. Phageconversion of Panton –Valentine leukocidin in *Staphylococcus aureus*; molecular analysis of a PVL-converting phage, phiSLT. *Gene*. 2001; 268:195-206.
128. Nickerson EK, Wuthiekanun V, Wongsuvan G, Limmathurosakul D, Srisamang P, Mahavanakul W, Thaipadungpanit J, Shah KR, Arayawichanont A, Amornchai P, Thanwisai A, Day NP, Peacock SJ. Factors predicting and

- reducing mortality in patients with invasive *Staphylococcus aureus* disease in a developing country. Plos one. 2009; 8: e6512.
129. Nilius AM, Bui MN, Almer L, Hensey-Rudloff D, Beyer J, Ma Z, Or YS, Flamm RK Comparative in vitro activity of ABT-773, a novel antibacterial ketolide. Antimicrob Agents Chemother. 2001;45: 2163 – 2168.
 130. O’Gorman J, Cormican M. Panton –Valentine leukocidin producing strains associated with serious community acquired *S. aureus* infection in Ireland. Eurosurveillance, Volume 8, Issue 44, 28 October 2004.
 131. Okuma K, Iwakawa K, Turnidge JD, Grubb WB, Bell JM, O’Brien FG, Coombs GW, Pearman JW, Tenover FC, Kapi M, Tiensasitorn C, Ito T, Hiramatsu K. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in community. J Clin Microbiol. 2002;11: 4289-4294.
 132. Oliveira DC, Lancastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 27: 2155 – 2161.
 133. Oliveira DC, Tomasz A, de Lancastre H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet. 2002; 2(3):180-189.
 134. Olsen JE, Christensen H, Aarestrup FM. Diversity and evolution of bla_Z from *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. J Antimicrob Chemother. 2006;57(3):450-460.
 135. O’Seaghdha M, van Schooten CJ, Kerrigan SW, Emsley J, Silverman GJ, Cox D, Lenting PJ, Foster TJ. *Staphylococcus aureus* protein A binding to von Willebrand factor A1 domain is mediated by conserved IgG binding regions. FEBS J. 2006;273(21):4831-4841.
 136. Panton PN, Valentine FCO, Staphylococcal Toxin. The Lancet. 1932; 1: 506–508.
 137. Papenburg J, Fontela P, Raynal L, Jette L, Bekal S, Al-Zahrani I, Quach C. Panton-Valentine leukocidin in pediatric community-acquired *Staphylococcus aureus* infections. Clin Invest Med. 2009; 32(5): 352-359.

138. Peacock SJ, Day NP, Thomas MG, Berendt AR, Foster TJ. Clinical isolates of *Staphylococcus aureus* exhibit diversity in *fnb* genes and adhesion to human fibronectin. *J Infect*. 2000;41:23-31.
139. Peltola VT, McCullers JA. Respiratory viruses predisposing to bacterial infections: role of neuraminidase. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23:87-97.
140. Pickett A, Wilkinson M, Menoch M, Snell J, Yniguez R, Bulloch B. Changing incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin abscesses in a pediatric emergency department. *Pediatr Emerg Care*. 2009;25(12):831-834.
141. Prevost G, Cribier B, Couppie P, Petiau P, Supersac G, Finck-Barbançon V, Monteil H, Piemont Y. Panton-Valentine leukocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities. *Infect Immun*. 1995; 63(10): 4121–4129.
142. Prevost G, Couppie P, Prevost P, Gayet S, Petiau P, Cribier B, Monteil H, Piemont Y. Epidemiological data on *Staphylococcus aureus* strains producing synergohymenotropic toxins. *J Med Microbiol*. 1995;42(4):237-245.
143. Rasigade JP, Laurent F, Lina G, Meugnier H, Bes M, Vandenesch F, Etienne J, Tristan A. Global distribution and evolution of Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, 1981-2007. *J Infect Dis*. 2010; 201(10):1589-1597.
144. Reed C, Kallen AJ, Patton M, Arnold KE, Farley MM, Hageman J, Finelli L. Infection with community-onset *Staphylococcus aureus* and influenza virus in hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:572-576.
145. Roberts JC, Gulino SP, Peak KK, Luna VA, Sanderson R. Fatal necrotizing pneumonia due to a Panton – Valentine leukocidin positive community-associated methicillin – sensitive *Staphylococcus aureus* and Influenza co-infection: a case report. *Ann of Clin Microbiol Antimicrob*. 2008; 7: 5.
146. Rouzic N, Janvier F, Libert N, Javouhey E, Lina G, Nizou JY, Pasquier P, Stamm D, Brinquin L, Pelletier C, Vandenesch F, Floret D, Etienne J, Gillet Y. Prompt and successful toxin-targeting treatment of three patients with necrotizing pneumonia due to *Staphylococcus aureus* strains carrying the

- Panton-Valentine leukocidin genes. *J Clin Microbiol*. 2010 May;48(5):1952-1955.
147. Rubinstein E, Kollef MH. Staphylococcal pneumonia. In: Crossley KB, Jefferson KK, Archer GL, Fowler VG. *Staphylococci in human disease*. Second edition. Wiley-Blackwell. 2009: 444-454.
 148. Saavedra-Lozano J, Mejías A, Ahmad N, Peromingo E, Ardura MI, Guillen S, Syed A, Cavuoti D, Ramilo O. Changing trends in acute osteomyelitis in children: impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *J Pediatr Orthop*. 2008;28(5):569-75.
 149. Said-Salim B, Mathema B, Kreiswirth BN. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003; 24:451–455.
 150. Schefold JC, Esposito F, Storm C, Heuck D, Krüger A, Jörres A, Witte W, Hasper D. Therapy-refractory Panton Valentine Leukocidin-positive community-acquired methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* sepsis with progressive metastatic soft tissue infection: a case report. *BMC*. 2007; 1:165.
 151. Schleucher RD, Gaessler M, Knobloch J. Panton-Valentine leukocidin-producing methicillin-sensitive *S. aureus* as a cause of recurrent, contagious skin infections in young, healthy travelers returning from a tropical country: a new worldwide public health problem. *J Travel Med*. 2008;15(2):137-139.
 152. Schneewind O, Fowler A, Faull KF. Structure of the cell wall anchor of surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Science*. 1995; 268: 103-106.
 153. Sdougkos G, Chini V, Papanastasiou DA, Christodoulou G, Tagaris G, Dimitracopoulos G, Spiliopoulou I. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* producing Panton–Valentine leukocidin as a cause of acute osteomyelitis in children. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13:651–654.
 154. Seybold U, Kourbatova EV, Johnson JG, Halvosa SJ, Wang YF, King MD, Ray SM, Blumberg HM. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 genotype as a major cause of health care-associated blood stream infections. *Clin Infect Dis*. 2006;42:647-656.

155. Shopsin B, Gomez M, Montgomery SO, Smith DH, Waddington M, Dodge DE, et al. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol* 1999;37:3556–3563.
156. Shukla SK, Stemper ME, Ramaswamy SV, Conradt JM, Reich R, Graviss EA, Reed KD. Molecular characteristics of nosocomial and native american community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones from Rural Wisconsin. *J Clin Microbiol*. 2004; 8: 3752-3757.
157. Sievert DM, Rudrik JT, Patel JB, McDonald LC, Wilkins MJ, Hageman JB. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002–2006. *Clin Infect Dis*. 2008;46:668–74.
158. Sladden MJ, Graham AJ. Common skin infections in children. *BMJ* – 2004;329; 95-99.
159. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Everett ED, Dellinger P, Goldstein JCE, Gorbach SL, Hirschmann JV, Kaplan EL, Montoya JG. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft – tissue infections. *J Clin Infect Dis*. 2005; 41: 1373 – 1406.
160. Stockman LJ, Reed C, Kallen AJ, Finelli L, Anderson LJ. Respiratory syncytial virus and *Staphylococcus aureus* coinfection in children hospitalized with pneumonia. *Ped Infect Dis J*. 2010;(29):1048-1050.
161. Strahilevitz J, Hooper DC. Resistance to other agents. In: Crossley KB, Jefferson KK, Archer GL, Fowler VG. *Staphylococci in human disease*. Second edition. Wiley-Blackwell. 2009: 210-234.
162. Strommenger B, Kettlitz C, Weniger T, Harmsen D, Friedrich AW, Witte W. Assignment of *Staphylococcus* isolates to groups by spa typing, SmaI macrorestriction analysis, and multilocus sequence typing. *J Clin Microbiol*. 2006;44(7):2533-2540.
163. Stryjewski ME, Nannini EC, Corey GR. Skin and soft tissue infections. In: Crossley KB, Jefferson KK, Archer GL, Fowler VG. *Staphylococci in human disease*. Second edition. Wiley-Blackwell. 2009: 378-394.

164. Szumowski JD, Cohen DE, Kanaya F, Mayer KH. Treatment and outcomes of infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at an ambulatory clinic. *Antimicrob Chemoter.* 2007;51:423-428.
165. Talbot TR, Nania JJ, Wright PW, Jones I, Aronsky D. Evaluation of the microbiology of soft-tissue abscesses in the era of community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an argument for empirical contact precautions. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007; 28(6): 730-732.
166. Tinelli M, Monaco M, Vimercati M, Ceraminiello A, Pantosti A. Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in skin and soft tissue infections, Northern Italy. *Emerg Infect Dis.* 2009 ;15(2):250-257.
167. Tlacuilo-Parra JA, Guevara-Gutiérrez E, González-Ojeda A, Salazar-Páramo M. Nontropical pyomyositis in an immunocompetent host. *J Clin Rheumatol.* 2005;11(3):160-3.
168. Todd JK. *Staphylococcus*. In: Kligman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF. *Nelson text book of pediatrics.* 18th ed. Saunders, Elsevier. 2007:1123-1130.
169. Tong SY, Lilliebridge RA, Bishop EJ, Cheng AC, Holt DC, McDonald MI, Giffard PM, Currie BJ, Boutlis CS. Clinical correlates of Panton-Valentine leukocidin (PVL), PVL isoforms, and clonal complex in the *Staphylococcus aureus* population of Northern Australia. *J Infect Dis.* 2010 ; 202(5):760-769.
170. Trakulsomboon S, Danchaivijitr S, Rongrungruang Y, Dhiraputra C, Susaemgrat W, Ito T, Hiramatsu K. First report of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Thailand. *J Clin Microbiol.* 2001;39(2):591-595.
171. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina GR, Nimmo H, Heffersan N, Liassine N, Bes M, Greenland T, Reverdy ME, Etienne J. Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: world wide emergence. *Emerg infect Dis.* 2003; 9 : 978-984
172. Verbrugh HA. Colonization with *Staphylococcus aureus* and the role of colonization in causing infection. In: Crossley KB, Jefferson KK, Archer GL,

- Fowler VG. Staphylococci in human disease. Second edition. Wiley-Blackwell. 2009: 378-394.
173. Voyich JM, Otto M, Mathema B, Braughton KR, Whitney AR, Welty D, Long RD, Dorward DW, Gardner DJ, Lina G, Kreiswirth BN, DeLeo FR. Is Pantone-Valentine leukocidin the major virulence determinant in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease? *J Infect Dis* 2006;194:1761-1770.
 174. Waldvogel FA. *Staphylococcus aureus* (including Staphylococcal toxic shock). Principles and practises of infectious diseases. Churchill Livingstone. 2000: 2069-2092.
 175. Walev I, Martin E, Jonas D, Mohamadzadeh M, Müller-Klieser W, Kunz L, Bhakdi S. Staphylococcal alpha-toxin kills human keratinocytes by permeabilizing the plasma membrane for monovalent ions. *Infect Immun*. 1993;61(12):4972-4979.
 176. Walev I, Weller U, Strauch S, Foster T, Bhakdi S. Selective killing of human monocytes and cytokine release provoked by sphingomyelinase (beta-toxin) of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*. 1996; 64(8):2974-2979.
 177. Ward PD, Turner WH. Identification of staphylococcal Pantone-Valentine leukocidin as a potent dermonecrotic toxin. *Infect Immunol*. 1980;.5: 393-397.
 178. Weller TMA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* typing methods: which should be the international standard? *J Hosp Infect*. 2000;. 44:160-172.
 179. Wiese-Posselt M, Heuck D, Draeger A, Mielke M, Witte W, Ammon A, et al. Successful termination of a furunculosis outbreak due to lukS-lukF-positive, methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in a German village by stringent decolonization, 2002–2005. *Clin Infect Dis*. 2007;44:88–95.
 180. Wright GD. Q&A:Antibiotic resistance:where does it come from and what can we do about it? *BMC Biology*. 2010;8:123
 181. Yamasaki O, Kaneko J, Morizane S, Akiyama H, Arata J, Narita S, Chiba J, Kamio Y, Iwatsuki K. The associaton between *Staphylococcus aureus* strains carrying Pantone-Valentine leukocidin genes and the development of deep-seated follicular infection. *Clin Infect Dis*. 2005;40:381-385.

182. Yamasaki O, Yamaguchi T, Sugai M, Chapuis-Celler C, Arnaud F, Vandenesch F, Etienne J, Lina G. Clinical manifestations of Staphylococcal scalded-skin syndrome depend on serotypes of exfoliative toxins. *J Med Microbiol.* 2005;43(4):1890-1893.
183. Yarovinsky TO, Monick MM, Husmann M, Hunninghake GW. Interferons increase cell resistance to Staphylococcal alpha-toxin. *Infect Immun.* 2008; 76(2): 571-577.
184. Zetola N, Francis JS, Nurmberger EL, Bishai WR. Community – acquired methicillin – resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. *Lancet Infect Dis.* 2005; 5: 275 – 286.
185. Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Conly JM. Novel staphylococcal cassette chromosome mec type, tentatively designated type VIII, harboring class A mec and type 4 ccr gene complexes in a Canadian epidemic strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(2):531-540.
186. Zhu W, Clark NC, McDougal LK, Hageman J, McDonald LC, Patel JB. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with Inc18-like vanA plasmids in Michigan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(2):452-457.
187. Zinderman CE, Conner B, Malakooti MA, LaMar JE, Armstrong A, Bohnkert BK. Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among military recruits. *Emerg Infect Dis.* 2004; 10(5): 941-944.

PIELIKUMS

1.pielikums. Darbā izmantotās anketas paraugs

Anketa

I Anamnēze

1.	Nodaļa										
2.	Vēstures nr.										
3.	Uzvārds										
4.	Vārds										
5.	Dzimums	zēns		meitene							
6.	Vecums (mēnešos)										
7.	Adrese	7.1.Pilsēta (nosaukums,iela)		7.2.Lauki							
7A	Dzīvesvieta	dzīvoklis		māja		Bērnu centrs	aprūpes				
8.	Saslimšanas datums										
9.	Gadalaiks										
	Ziema (XII-II)										
	Pavasaris(III-V)										
	Vasara(VI-VIII)										
	Rudens(IX-XI)										
10.	Hospitalizācijas laiks						10.A Slimības diena				
11.	Bērns no										
11.1	mājām										
11.2	skolas										
11.3	Bērnu aprūpes centra										
11.4	Cita stacionāra						kura stacionāra				
11.5	Mūsu stacionāra										
12.	Sākotnējā diagnoze	12.1. pamata diagnoze									
		12.2. komplikācijas									
		12.3. blakus diagnoze									

13.	Klīniskā diagnoze	13.1. pamata diagnoze
		13.2. komplikācijas
		13.3. blakus diagnoze

14.	Citu ģimenes locekļu hospitalizācija	NĒ	JĀ	Kapēc?	Datums	Stacionārs
					Sūdzības	
15.	Hospitalizācija pēdējo 3 nedēļu laikā	NĒ	JĀ	Kapēc?	Datums.	Stacionārs Ludzas slca
					Sūdzības	
16.	Slimības ilgums pirms stacionēšanas (dienas)					
16.1.	Maksimālā temperatūra		T >38 dienas			

II KLĪNISKIE SIMPTOMI – ELPOŠANAS ORGĀNI

17.	Drudzis	JĀ	NĒ	
17.A	Cik ilgi (dienas)			
17.B	T>38 (dienas)			
18.	Aizlikts deguns	JĀ	NĒ	
19.	Rhionorhea	JĀ	NĒ	
20.	Klepus	JĀ	NĒ	
21.	Sāpes ausīs	JĀ	NĒ	
22.	Reģionālo limfmezglu palielināšanās	JĀ	NĒ	Rajons
23.	Pneumonia (X-ray)	JĀ	NĒ	Lokalizācija

24.	Normopnoe	JĀ	NĒ	
24.A	Bradipnoe	JĀ	NĒ	
24.B	Tachipnoe	JĀ	NĒ	
25.	Conjunctivitis			

II KLĪNISKIE SIMPTOMI – ĀDA

26.	Mīksto audu iekaisums, izņemot rīkli	JĀ	NĒ	
26.A	Lokalizācija			
26.B	Veids			
27.	Brūce	JĀ	NĒ	
27.A	Lokalizācija			
27.B	Sekundāra brūču infekcija			

II KLĪNISKIE SIMPTOMI – KARDIOVASKULĀRĀ SISTĒMA

28.	Sirds ritms normāls	JĀ	NĒ	
28.A	Bradycardia	JĀ	NĒ	
28.B	Tachycardia	JĀ	NĒ	
29.	Trokšņi			
29.A	Veids			
30.	Normotension	JĀ	NĒ	
30.A	Hypertension	JĀ	NĒ	
30.B	Hypotension	JĀ	NĒ	

II KLĪNISKIE SIMPTOMI – GASTROINTESTINĀLĀ SISTĒMA

31.	Gastritis				
32.	Gastroenteritis				
33.	Gastroenterocolitis				
34.	Enteritis				
35.	Colitis				

36.	Hemocolitis				
37.	Dehidratācija		neliela(5%)	vidēja(6-10%)	smaga(>10%)
38.	Constipation				
39.	Icterus				
40.	Palielinātas aknas				

III KLĪNISKIE SIMPTOMI – NERVU SISTĒMA

41.	Krampji		
42.	Meningeālie simptomi		
43.	Patoloģiskie refleksi		

III KLĪNISKIE SIMPTOMI – URĪNIZVADSISTĒMA

44.	Normāla diurēze		
45.	Oliguria		
46.	Anuria		
47.	Disuria		
48.	Hematuria		
49.	Proteinuria		
50.	Tūskas		
50.A	Lokalizācija		

IV LABORATORĀ ATRADNE

51.	Max CRP					
52.	Max LEU					
53.	Jaunās formas					
54.	Asins kultūra					
54.A	Nav izmeklēta					
54.B	Ir izmeklēta (slimības diena)					
54.C	Izolēta kultūra	<i>S.aureus</i>			Stacionēšanas diena	
		Cits m.o.			Stacionēšans diena	
54.C	Materiāls, izņemot asinis		stacionēšanas diena		<i>S.aureus</i>	

					Cits m.o.(kāds?)	
55.	LP					
55.A	Nav veikta					
55. B	Veikta	Normāls			Serozs	Bakteriāls
	Slimības diena					

V ĀRSTĒŠANA

56.	I/v rehidratācija	Nē		Jā		Dienas		
57.	Parenterāla barošana	Nē		Jā		Dienas		
58.	A/b terapija	Nē		Jā		Dienas (kopējais ilgums)		Svars kg
		A						
		B						
		C						
		D						
60.	Simptomātiska terapija							
61.	AB rezistences pārbaude							
	Jā		Nē			A	Oksacilīns	
						B	Ciprofloksacīns	
						C	Rifampīns	
						D	Gentamicīns	
						E	Eritromicīns	
						F	Fuzidīnskābe	
						G	Vankomicīns	
						H	Kanamīcīns	
						I	Klindamicīns	
						J		
						K		
62.	Nēsātājs (<i>S. aureus</i> izolēts no deguna, padusēm, ingvinālā raj.)					Jā		Nē
63.	Mehāniskā plaušu					Jā		Nē
							Ja jā, cik dienas	

	ventilācija					
64.	Operatīva terapija		Jā		Nē	Ja jā, veids un stacionēšanas diena (datums)
65.	Perifērais venozais katēteris		Jā		Nē	Dienas
66.	Centrālais venozais katēteris		Jā		Nē	Dienas

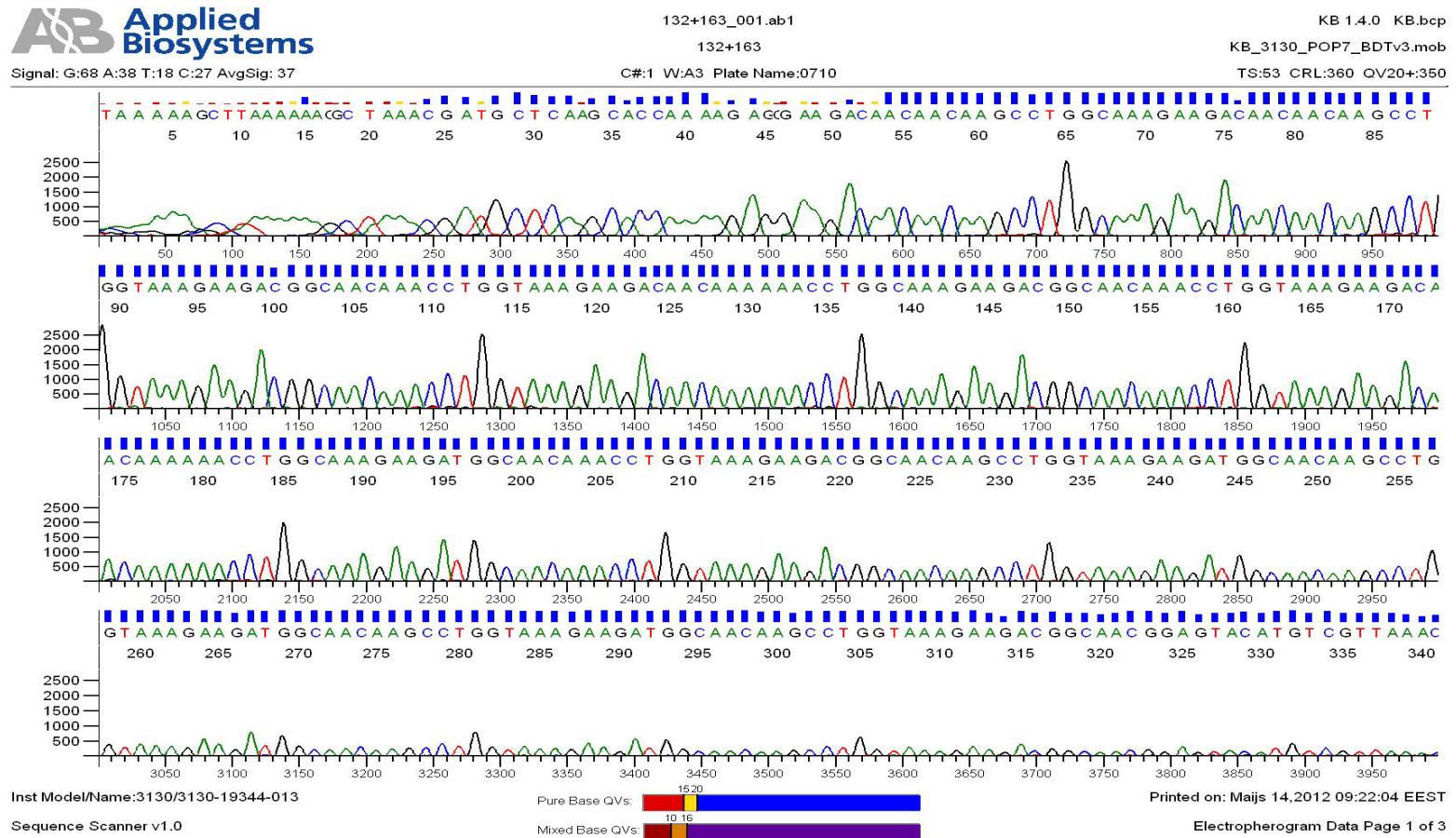
VI SLIMĪBAS IZNĀKUMS

67.	Pilnīga atveseļošanās		
68.	Daļēja atveseļošanās		
69.	Exitus letalis		

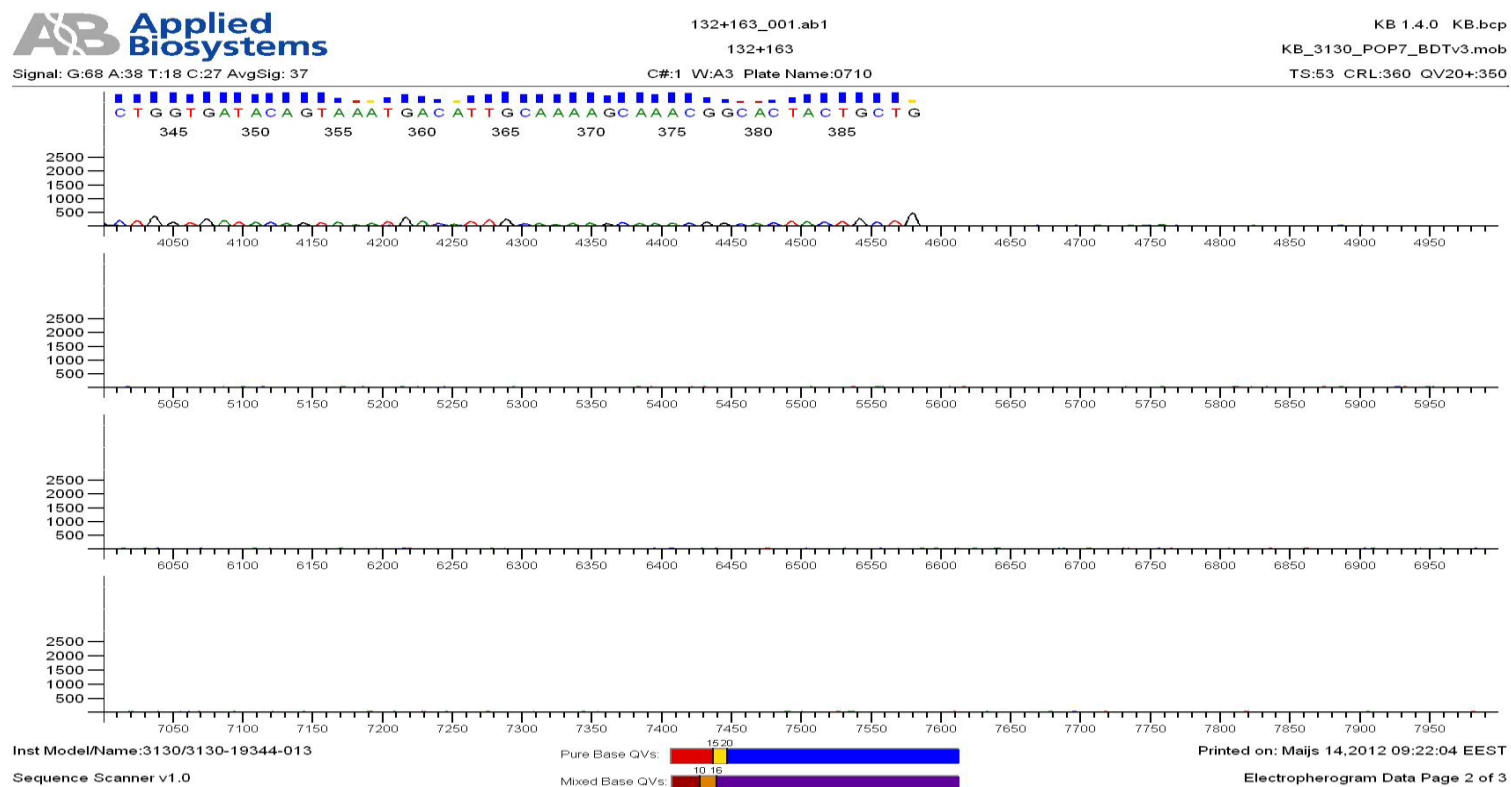
2.pielikums. Nozīmīgākās publikācijas

- 1. L. Cupane**, N. Pugacova, G. Aleksejevs, D. Berzina, D. Gardovska, E. Miklasevics. Methicillin susceptible Panton –Valentine leukocidin positive *S. aureus* pneumonia in a child with novel influenza H1N1 infection. *Acta Chirurgica Latviensis*, 2010 (10/2); 127-131.
- 2. Cupane L**, Pugacova N, Berzina D, Cauce V, Gardovska D, Miklaševics E. Patients with PVL positive *S. aureus* infections run an increased risk of longer hospitalisation. *Int J Mol Epidemiol Genet*. 2012; 3(1): 48-55.

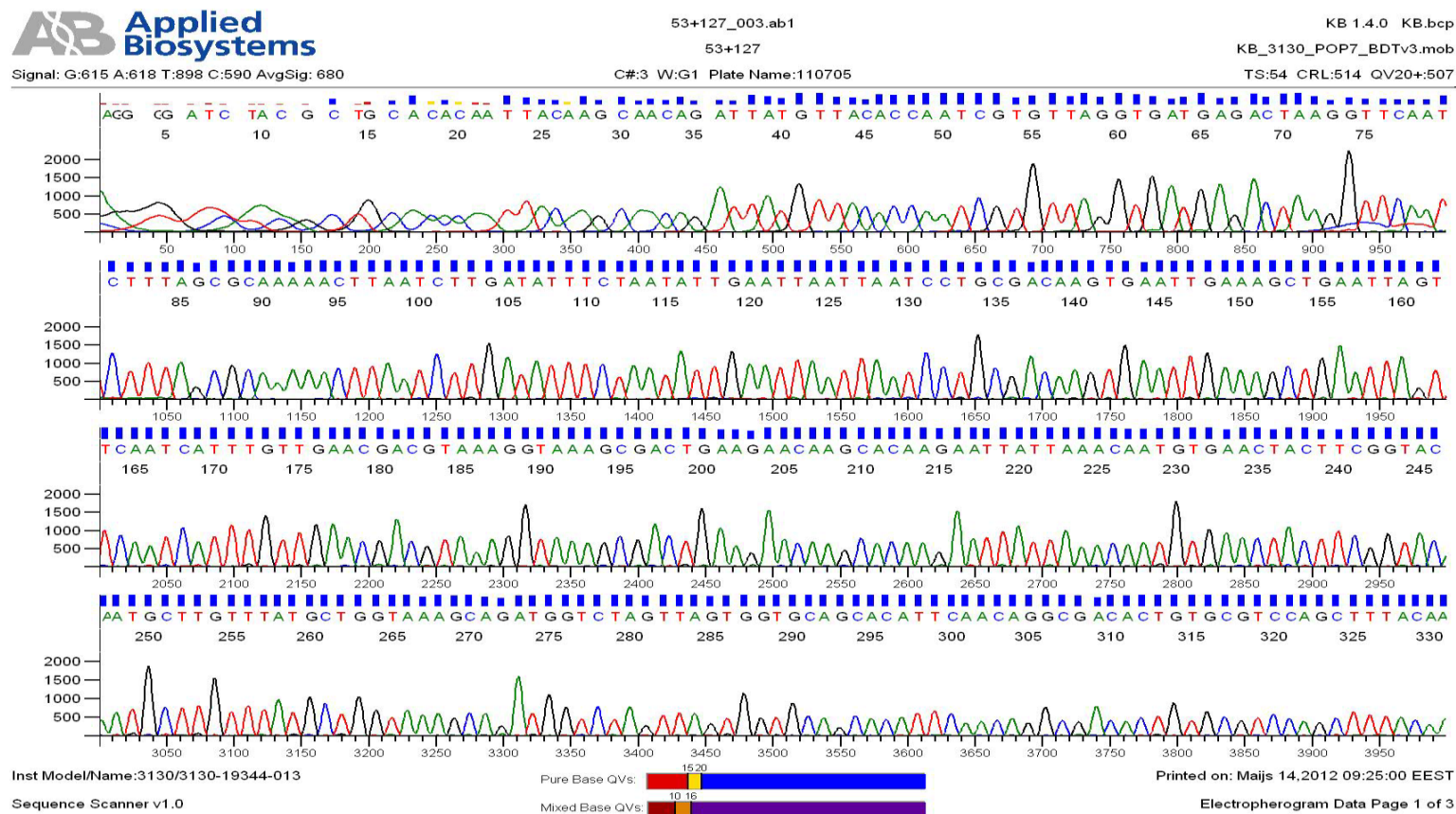
3. pielikums *S. aureus* izolāta spa sekvences piemērs



3. pielikums *S. aureus* izolāta spa sekvences piemērs (turpinājums)



4. pielikums. *S. aureus* izolāta MLST pta lokusa piemērs



4. pielikums. *S. aureus* izolāta MLST pta lokusa piemērs (turpinājums)

