

VILNIAUS UNIVERSITETAS

MEDICINOS FAKULTETAS

Biomedicinos mokslų institutas (Farmacijos ir farmakologijos centras)

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

Visuomenėje paplitusių ir hospitalinių *Staphylococcus aureus* padermių atsparumas mupirocinui

Studentė: Eglė Galminaitė

V kursas, I grupė

Darbo vadovė:

doc. dr. Agnė Kirkliauskienė

\_\_\_\_\_

(parašas)

Farmacijos ir farmakologijos centro vadovė:

doc. dr. Kristina Garuolienė

\_\_\_\_\_

(parašas)

Biomedicinos mokslų instituto direktorius:

prof. dr. Algirdas Edvardas Tamošiūnas

\_\_\_\_\_

(parašas)

Darbo įteikimo data: 2023 m. gegužės 14 d.

Registracijos Nr. \_\_\_\_\_

Studentės elektroninio pašto adresas: [egle.galminaitė@mf.stud.vu.lt](mailto:egle.galminaitė@mf.stud.vu.lt)

# TURINYS

SANTRAUKA.....	4
SUMMARY.....	6
DARBO TEMA ATLIKTŲ PRANEŠIMŲ SĄRAŠAS.....	8
SANTRUMPŲ SĄRAŠAS.....	9
ĮVADAS .....	11
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	14
1.1. <i>Staphylococcus spp.</i> istorija, taksonomija ir bendrosios savybės.....	14
1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> morfologija, kultūrinės ir biocheminės savybės .....	15
1.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> morfologija.....	15
1.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> kultūrinės savybės .....	15
1.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> biocheminės savybės ir identifikavimas .....	16
1.3. <i>Staphylococcus aureus</i> virulentiškumas .....	18
1.4. <i>Staphylococcus aureus</i> nešiojimas ir perdavimo mechanizmas .....	20
1.5. <i>Staphylococcus aureus</i> atsparumas antibakterinėms medžiagoms.....	22
1.5.1. <i>Staphylococcus aureus</i> atsparumas mupirocinui .....	25
1.5.2. <i>Staphylococcus aureus</i> atsparumas fuzido rūgščiai.....	27
2. TYRIMO MEDŽIAGOS IR METODAI.....	30
2.1. Tyrimo atlikimo vieta .....	30
2.2. Tyrime naudotos bakterijų padermės.....	30
2.3. Tyrime naudotos terpės, buferiniai tirpalai, reagentai ir kitos medžiagos.....	30
2.4. Tyrime naudota aparatūra .....	30
2.5. Tiriamų padermių antimikrobinio atsparumo nustatymas .....	31
2.6. <i>Staphylococcus aureus</i> lizatų paruošimas.....	33
2.7. Tyrimui naudoti genų pradmenys .....	34
2.8. Realus laiko polimerazės grandininės reakcijos procedūra .....	35
2.9. Duomenų analizė .....	35
3. TYRIMO REZULTATAI.....	37
3.1. Tiriamų <i>Staphylococcus aureus</i> padermių imties charakteristika .....	37
3.2. <i>Staphylococcus aureus</i> padermių atsparumas antibakterinėms medžiagoms.....	38
4. REZULTATŲ APTARIMAS.....	43
5. IŠVADOS .....	48
6. REKOMENDACIJOS .....	49
PADĖKA .....	51

LITERATŪROS SĀRAŠAS ..... 52

## SANTRAUKA

Eglės Galminaitės magistro baigiamasis darbas, mokslinio darbo vadovė doc. dr. Agnė Kirkliauskienė, Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, Biomedicinos mokslų institutas, Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedra.

**Magistrinio darbo tema.** Visuomenėje paplitusių ir hospitalinių *Staphylococcus aureus* padermių atsparumas mupirocinui.

**Tyrimo tikslas.** Nustatyti visuomenėje paplitusių ir klinikinių *Staphylococcus aureus* padermių atsparumą mupirocinui bei atsparumą šiai antimikrobinei medžiagai koduojančius genus.

### Tyrimo uždaviniai:

1. Nustatyti visuomenėje cirkuliuojančių *S. aureus* padermių aukšto ir žemo lygio atsparumą mupirocinui;
2. Nustatyti klinikinių *S. aureus* padermių aukšto ir žemo lygio atsparumą mupirocinui;
3. Nustatyti visuomenėje cirkuliuojančių ir klinikinių *S. aureus* padermių atsparumą mupirocinui koduojančių genų paplitimą;
4. Palyginti visuomenėje paplitusių ir hospitalinių *S. aureus* padermių atsparumą mupirocinui bei kitam eradikacijai naudojamam antibakteriniam preparatui.

**Tyrimo metodai.** Tyrime ištirtos 2018–2019 m. iš hospitalizuotų pacientų klinikinių ėminių ir visuomenės respondentų nosies landų bei ryklės lankų išskirtos *S. aureus* padermės. Izoliatų atsparumas mupirocinui nustatytas diskų difuzijos ir gradiento metodais. *S. aureus* izoliatų atsparumą mupirocinui koduojančių genų aptikimui taikyta realaus laiko polimerazės grandininė reakcija. Palyginamajai antimikrobinio atsparumo analizei diskų difuzijos metodu nustatytas į tyrimą įtrauktų *S. aureus* padermių atsparumas kitam antibakteriniam preparatui – fuzido rūgščiai.

**Rezultatai.** Ištirtos 408 fenotipiškai skirtingos *S. aureus* (216 klinikinių ir 192 visuomenėje cirkuliuojančios) padermės. Aukšto ir (arba) žemo lygio mupirocinui atsparių izoliatų nenustatyta nei tarp visuomenėje cirkuliuojančių, nei tarp hospitalinių *S. aureus* padermių. Atsparumą mupirocinui koduojančių genų taip pat neaptikta tirtose *S. aureus* padermėse. Visuomenėje paplitusių ir klinikinių *S. aureus* padermių atsparumas fuzido rūgščiai siekė atitinkamai 2,1 proc. ir 5,1 proc.

### Išvados:

1. Visuomenėje cirkuliuojančioms *S. aureus* padermėms nenustatytas aukšto ir (arba) žemo lygio atsparumas mupirocinui;

2. Klinikinių *S. aureus* padermių imtyje nenustatytas aukšto ir (arba) žemo lygio atsparumas mupirocinui;
3. Atsparumą mupirocinui koduojančių *mupA* ir *mupB* genų nenustatyta tarp visuomenėje cirkuliuojančių ir klinikinių *S. aureus* padermių;
4. Lyginant visuomenėje paplitusių ir hospitalinių *S. aureus* padermių atsparumą mupirocinui ir fuzido rūgščiai, atsparumas abiejose grupėse nustatytas tik fuzido rūgščiai. Hospitalinėms *S. aureus* padermėms būdingas didesnis atsparumas šiai antimikrobinei medžiagai.

**Raktiniai žodžiai.** Visuomenėje paplitusios, hospitalinės, *Staphylococcus aureus*, padermės, atsparumas, mupirocinas.

## SUMMARY

Master's Thesis by Eglė Galminaitė, supervisor – Agnė Kirkliauskienė, PhD. Vilnius University, Faculty of Medicine, Institute of Biomedical Sciences, Department of Physiology, Biochemistry, Microbiology and Laboratory Medicine.

**Topic of the thesis.** Mupirocin resistance in community-acquired and nosocomial *Staphylococcus aureus* strains.

**Aim of the research.** To determine mupirocin resistance and the presence of genes encoding resistance to this antimicrobial agent in community-acquired and nosocomial *Staphylococcus aureus* strains.

**Objectives of the research:**

1. To determine high- and low-level mupirocin resistance in community-acquired *S. aureus* strains;
2. To determine high- and low-level mupirocin resistance in nosocomial *S. aureus* strains;
3. To determine the prevalence of genes encoding resistance to mupirocin among community-circulating and clinical *S. aureus* strains;
4. To compare the resistance of community-acquired and nosocomial *S. aureus* strains to mupirocin and to another antibacterial agent used for eradication.

**Methods.** The study investigated *S. aureus* strains isolated in 2018–2019 from clinical samples of hospitalised patients and from both nasal and throat swabs of community respondents. Mupirocin resistance of the isolates was determined by disc diffusion and gradient methods. Real-time polymerase chain reaction was used to detect genes encoding mupirocin resistance in all *S. aureus* isolates. For comparative antimicrobial resistance analysis, disc diffusion method was applied to determine the resistance of the tested *S. aureus* strains to another antimicrobial agent, fusidic acid.

**Results.** The analysis included 408 phenotypically different *S. aureus* strains (216 clinical and 192 community-circulating). No high- and/or low level mupirocin-resistant isolates were detected among either the community-circulating or the nosocomial *S. aureus* strains. Genes encoding mupirocin resistance were also not detected in the tested *S. aureus* strains. Resistance to fusidic acid in community and clinical *S. aureus* strains was 2.1% and 5.1% respectively.

**Conclusions:**

1. *S. aureus* strains circulating in the community did not show high- and/or low level of resistance to mupirocin;
2. No high- and/or low level of resistance to mupirocin was detected in clinical *S. aureus* strains;

3. The *mupA* and *mupB* genes encoding mupirocin resistance have not been detected in community-circulating and clinical strains of *S. aureus*;
4. When comparing resistance to mupirocin and fusidic acid between community-acquired and nosocomial strains of *S. aureus*, only resistance to fusidic acid was found in both groups. The nosocomial strains of *S. aureus* are more resistant to this antimicrobial agent.

**Keywords.** Community-acquired, nosocomial, *Staphylococcus aureus*, strains, resistance, mupirocin.

## DARBO TEMA ATLIKTŲ PRANEŠIMŲ SĄRAŠAS

### Žodinis pranešimas

**E. Galminaitė.** Visuomenėje cirkuliuojančių ir klinikinių *Staphylococcus aureus* padermių atsparumas eradikacijai iš viršutinių kvėpavimo takų skirtoms antimikrobinėms medžiagoms. Pranešimas LXXV-ojoje Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Studentų mokslinės veiklos tinklo (SMVT) Mikrobiologijos būrelio konferencijoje, 2023 m. gegužės mėn., Vilnius.

Pranešimo tezės išspausdintos Studentų mokslinės veiklos LXXV-ajame leidinyje.



## SANTRUMPŲ SĄRAŠAS

<b>16S rRNR</b>	– 16 subvieneto ribosominės ribonukleorūgšties tarpgeninis regionas
<b>angl.</b>	– anglų kalba
<b>aps./min</b>	– apsisukimai per minutę
<b>CVK</b>	– centrinės venos kateteris
<b>DNR</b>	– deoksiribonukleorūgštis
<b>ECDC</b>	– Europos ligų prevencijos ir kontrolės centras (angl. <i>European Centre for Disease Prevention and Control</i> )
<b>EF-G</b>	– elongacijos veiksnys G (angl. <i>elongation factor G</i> )
<b>ET</b>	– eksfoliacinis toksinas
<b>EUCAST</b>	– Europos jautrumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimų komitetas (angl. <i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i> )
<b>FAMASA</b>	– fuzido rūgščiai ir meticilinui atsparus <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>FAMJSA</b>	– fuzido rūgščiai atsparus, meticilinui jautrus <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>FASA</b>	– fuzido rūgščiai atsparus <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>FJMASA</b>	– fuzido rūgščiai jautrus, meticilinui atsparus <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>FJMJSA</b>	– fuzido rūgščiai ir meticilinui jautrus <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>FJSA</b>	– fuzido rūgščiai jautrus <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>FR</b>	– fuzido rūgštis
<b>HI</b>	– Higienos institutas
<b>Hla</b>	– $\alpha$ -hemolizinas
<b>IL</b>	– interleukinas
<b>LĮ-MASA</b>	– ligoninėje įgytas meticilinui atsparus <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>lot.</b>	– lotynų kalba
<b>LPSN</b>	– Prokariotinių pavadinimų sąrašas su nuoroda į nomenklatūrą (angl. <i>List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature</i> )
<b>LR</b>	– Lietuvos Respublika
<b>MASA</b>	– meticilinui atsparus <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>MDA</b>	– manitolio druskos agaras
<b>MJSA</b>	– meticilinui jautrus <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>MSK</b>	– minimali slopinamoji koncentracija
<b>MUP</b>	– mupirocinas
<b>MupASA</b>	– mupirocinui atsparus <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>n</b>	– imties dydis

<b>pav.</b>	– paveikslas
<b>PFT</b>	– poras formuojantis toksinas
<b>PGR</b>	– polimerazės grandininė reakcija
<b>pH</b>	– vandenilio potencialas
<b>PKS</b>	– plazmą koaguliuojantys stafilokokai
<b>proc. (%)</b>	– procentai
<b>PSO</b>	– Pasaulio sveikatos organizacija
<b>PVL</b>	– Pantono Valentino leukocidinas
<b>RNR</b>	– ribonukleorūgštis
<i>S. albus</i>	– <i>Staphylococcus albus</i>
<i>S. aureus</i>	– <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	– <i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>S. haemolyticus</i>	– <i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>S. saprophyticus</i>	– <i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>S. pseudintermedius</i>	– <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
<b>SAg</b>	– superantigenas
<b>Sb</b>	– stafilokokinis baltymas
<b>SE</b>	– stafilokokinis enterotoksinas
<b>SMVT</b>	– Studentų mokslinės veiklos tinklas
<i>spp.</i>	– rūšys (angl. <i>species</i> )
<i>subsp.</i>	– porūšis (angl. <i>subspecies</i> )
<b>tRNR</b>	– transportinė ribonukleorūgštis
<b>TŠST</b>	– toksinio šoko sindromo toksinas
<b>VAPRIS</b>	– Vaistinių preparatų informacinė sistema
<b>VVKT</b>	– Valstybinė vaistų kontrolės tarnyba

## IVADAS

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), visuomenėje dažnai vadinamas auksiniu stafilokoku, yra vienas iš geriausiai žinomų ir patogeniškiausių *Staphylococcus* genties atstovų (1). *S. aureus* kolonizuoja apie 20–30 proc. sveikų žmonių populiacijos, sudarydamas normalią žmogaus mikroflorą. Šio mikroorganizmo fundamentinė ekologinė niša yra žmogaus nosies ertmė (2). Nors *S. aureus* nešiojimas yra besimptomis, nekeliantis pavojaus šeiminiui ar netgi apsaugantis nuo kitų patogenų invazijos, nusilpus imunitetui, pažeidus odos ar gleivinės barjerą, šis oportunistinis patogenas gali sukelti įvairias visuomenėje įgytas ar kliniškes infekcijas: nuo lengvų odos ir minkštųjų audinių infekcijų (karbunkuliozė, furunkuliozė, impetiga) iki sunkių ir gyvybei pavojingų skirtingos lokalizacijos invazinių ligų, tokių kaip bakteriemija, osteomielitas, endokarditas, meningitas, pneumonija ir kt. (3,4). Sveikatos priežiūros specialistai, kolonizuoti *S. aureus*, yra galimas stafilokokinių infekcijų rizikos veiksnys pacientams, dėl kurio padidėja hospitalinių infekcijų dažnis, pailgėja ligonių hospitalizavimo laikas, mirtingumas bei gydymo kaštai (5–9). Higienos instituto (HI) duomenimis, Lietuvoje *S. aureus* išlieka vienas svarbiausių hospitalinių infekcijų etiologijos veiksnių (10). Be to, daugelyje pasaulio šalių *S. aureus* yra pagrindinė pooperacinių žaizdų infekcijų priežastis, todėl svarbu laiku imtis efektyvių prevencinių priemonių – priešoperacino *S. aureus* eradikavimo antimikrobiniais vaistiniais preparatais (11).

1941 m. stafilokokinių infekcijų gydymui pradėjus vartoti peniciliną, ženkliai pagerėjo *S. aureus* infekcijų gydymo prognozė, tačiau jau 1942 m. ligoninėse išskirti pirmieji penicilinui atsparūs *S. aureus* izoliatai, o po dvejų metų ta pati tendencija pastebėta ir visuomenėje (12). Šeštojo dešimtmečio pabaigoje mokslininkai sukūrė *S. aureus* išskiriamai penicilinazei atsparų, pusiau sintetinį peniciliną – meticiliną. Netrukus pasirodė pirmieji pranešimai ir apie meticilinui atsparias *S. aureus* padermes (MASA) (13). Pasak Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO), žmonėms, sergantiems MASA padermių sukeltomis infekcijomis, yra 64 proc. didesnė mirties tikimybė nei infekuotiems meticilinui jautriomis padermėmis (MJSA) (14).

Didėjantis dauginiu atsparumu pasižyminčių MASA padermių paplitimo dažnis yra itin aktuali šiandieninės medicinos problema, kelianti grėsmę visuomenės sveikatai visame pasaulyje (15). Dėl veiksmingos antimikrobinės terapijos trūkumo bei vis didėjančių sveikatos priežiūros sąnaudų, *S. aureus* eradikacijai iš nosies šnervių pradėtas naudoti mupirocinas (16,17). Nors preparatai, kurių veiklioji medžiaga – mupirocinas, yra Lietuvoje neregistruoti, remiantis gydytojo paskyrimu, gali būti įvežami į Lietuvos Respubliką (LR) kaip vardiniai vaistiniai preparatai pavienio paciento gydymui. Valstybinės vaistų kontrolės tarnybos (VVKT) duomenimis, 2020 m. Lietuvoje mupirocino tepalo užsakytos ir nupirktos 5 pakuotės, o 2021 m. parduotų pakuočių skaičius išaugo daugiau nei penkis kartus ir siekė 26 vienetus (18,19). Kaip kitų antibiotikų, taip

ir vietiskai veikiančio mupirocino, dažnas ir iracionalus vartojimas skatina mupirocinui atsparių padermių atsiradimą ir nesėkmingą *S. aureus* eradikaciją (20). Kaimyninėje šalyje Lenkijoje stebimas 8,7 proc. išskirtų *S. aureus* padermių atsparumas mupirocinui, kurį lėmė platus mupirocino skyrimas MJSA ir MASA eradikacijai iš nosies landų (21). Pasaulyje *S. aureus* dekolonizacijai dažnai naudojamas ir kitas antibiotikas, registruotas ir LR vaistinių preparatų registre – fuzido rūgštis, bei mupirocino tepalo ir chlorheksidino vonių kombinacija (22–24).

Lietuvoje, kaip ir kitose pasaulio šalyse, atliekama nemažai tyrimų, nustatančių didelį skirtingiems antibakteriniams vaistiniams preparatams atsparių *S. aureus* padermių paplitimą, tačiau trūksta duomenų, kurie apibrėžtų *S. aureus* atsparumą mupirocinui. Tokie tyrimai būtų naudingi siekiant įvertinti *S. aureus* padermių, kurioms būdingas dauginis atsparumas, eradikacijos galimybes ir parinkti efektyvų antibakterinį gydymą.

**Darbo tikslas** – nustatyti visuomenėje paplitusių ir klinikinių *S. aureus* padermių atsparumą mupirocinui bei atsparumą šiai antimikrobinei medžiagai koduojančius genus.

#### **Darbo uždaviniai:**

1. Nustatyti visuomenėje cirkuliuojančių *S. aureus* padermių aukšto ir žemo lygio atsparumą mupirocinui;
2. Nustatyti klinikinių *S. aureus* padermių aukšto ir žemo lygio atsparumą mupirocinui;
3. Nustatyti visuomenėje cirkuliuojančių ir klinikinių *S. aureus* padermių atsparumą mupirocinui koduojančių genų paplitimą;
4. Palyginti visuomenėje paplitusių ir hospitalinių *S. aureus* padermių atsparumą mupirocinui bei kitam eradikacijai naudojamam antibakteriniam preparatui.

#### **Savarankiškai atlikti darbai:**

1. Darbo temos parinkimas;
2. Literatūrinių ir mokslinių šaltinių, susijusių su darbo tema, analizė;
3. Tyrimo metodologijai atlikti reikalingos literatūros surinkimas ir analizė;
4. Brain Heart Infusion ir Mueller-Hinton agarų paruošimas;
5. Visuomeninių ir klinikinių *S. aureus* padermių atšviežinimas;
6. Išskirtų *S. aureus* padermių atsparumo mupirocinui ir kitam eradikacijai naudojamam antibakteriniam preparatui nustatymas diskų difuzijos bei gradiento metodu;
7. *S. aureus* lizatų paruošimas;
8. Atsparumą mupirocinui koduojančių genų: *mupA* ir *mupB*, nustatymas realaus laiko polimerazės grandininės reakcijos metodu;

9. Duomenų analizės atlikimas ir vizualizavimas „Microsoft Office Excel 2016“ kompiuterine programa;
10. Rezultatų aptarimas, išvadų ir rekomendacijų pateikimas.

### **Tyrimo naujumas**

Mūsų žiniomis, iki šiol Lietuvoje publikuotas tik vienas tyrimas, kuriame nustatytas *S. aureus* padermių atsparumas mupirocinui. Be to, jame tirtos tik visuomenėje cirkuliuojančios *S. aureus* padermės (25). Taigi, šiame darbe pirmą kartą Lietuvoje tirtas *S. aureus* padermių, išskirtų iš hospitalizuotų pacientų ėminių, atsparumas mupirocinui.

Šiame darbe, vykdant antimikrobinio atsparumo mupirocinui nustatymą diskų difuzijos metodu, į tyrimą įtrauktas ir atsparumo fuzido rūgščiai nustatymas. Todėl šiuo tyrimu, taikant diskų difuzijos metodą, buvo nustatytas visų į tyrimą įtrauktų *S. aureus* padermių atsparumas tiek mupirocinui, tiek fuzido rūgščiai, palyginti atsparumo duomenys, gauti tiriant visuomenės ir hospitalizuotų pacientų grupes. Gradientu metodu patvirtinti diskų difuzijos testo metu gauti antimikrobinio atsparumo mupirocinui rezultatai ir nustatytos visų *S. aureus* padermių jautrumo mupirocinui minimalios slopinamosios koncentracijos.

Mūsų duomenimis, tai pirmasis tyrimas Lietuvoje, kuriame atlikta *S. aureus* padermių atsparumą mupirocinui koduojančių genų (*mupA* ir *mupB*) paieška bei minimalios slopinamosios koncentracijos nustatymas.

### **Darbo praktinė reikšmė**

Atlikto tyrimo rezultatai gali būti naudingi būsimiems moksliniams tyrimams atlikti. Taip pat darbo duomenis galima panaudoti įgyvendinant LR sveikatos apsaugos ministro įsakymu patvirtintą strateginį planą „Antimikrobinėms medžiagoms atsparių mikroorganizmų ir hospitalinių infekcijų plitimo prevencijos ir kontrolės 2023–2027 metų veiksmų planą“, kurio vienas iš tikslų yra vykdyti tyrimus antimikrobinėms medžiagoms atsparių mikroorganizmų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tema, veiksmingų priemonių, mažinančių antimikrobinėms medžiagoms atsparių mikroorganizmų atsparumą antimikrobinėms medžiagoms, paiešką bei jų vertinimą (26).

### **Darbo trūkumai:**

1. Tyrimo metu iširta tik nedidelė dalis visuomenės ir hospitalizuotų ligonių grupėse cirkuliuojančių *S. aureus* padermių;
2. Tyrimo metu tirtos retrospektyviai surinktos bakterijų padermės, todėl gauti rezultatai neatspindi dabartinio antimikrobinio atsparumo tendencijų.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. *Staphylococcus spp.* istorija, taksonomija ir bendrosios savybės

Pirmą kartą *Staphylococcus* (iš graikų kalbos: *staphyle* – vynuogių kekė, *kokkos* – uogos) genties pavadinimą paminėjo 1880 m. škotų chirurgas A. Ogstonas, rašytiniuose šaltiniuose vaizdingai aprašęs stafilokokus: „masės atrodė kaip vynuogių kekės” (27). Ogstonas stafilokokus išskyrė iš chirurginio absceso pūlių kelio sąnaryje ir aiškiai atskyrė juos nuo streptokokų (28).

Po ketverių metų, 1884 m., gydytojas iš Vokietijos F. J. Rosenbachas (27) patvirtino bendrinį, Ogstono pavartotą genties pavadinimą „*Staphylococcus*” ir, atsižvelgdamas į bakterijų kolonijų pigmentaciją, išskyrė dvi bakterijų rūšis: *S. aureus* (iš lotynų kalbos (lot.) *aurum* – auksas) bei *S. albus* (lot. *album* – balta). *S. albus* padermės vėliau pervadintos į *S. epidermidis*, nes jų pagrindinė žmogaus organizme užimama ekologinė niša – oda (29). Remiantis dviejų mokslininkų Skinner ir Keefer 1941 m. publikuotu tyrimu, *S. aureus* rūšies atradimo metu infekuotų pacientų, sergančių *S. aureus* sukelta bakteriemija, mirtingumas siekė beveik 82 proc. (30).

Pagal naujausius duomenis, prieinamus prokariotinių pavadinimų sąrašė su nuoroda į nomenklatūrą (angl. *List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, LPSN*), *Staphylococcus* gentį sudaro 85 rūšys ir 30 porūšių (31). Medicinoje svarbiausios ir daugiausiai infekcijų žmonių organizmuose sukeliančios rūšys yra *S. aureus* (1 lentelė), *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* ir *S. haemolyticus* (32).

### 1 lentelė. *S. aureus* taksonomija (33)

Karalystė:	<i>Bacteria</i>
Tipas:	<i>Firmicutes</i>
Klasė:	<i>Bacilli</i>
Būrys:	<i>Bacillales</i>
Šeima:	<i>Staphylococcaceae</i>
Gentis:	<i>Staphylococcus</i>
Rūšis:	<i>Staphylococcus aureus</i>

Mikroskopiškai stafilokokai yra gramteigiami organizmai, jų vienasluoksnę lipidinę membraną dengia ląstelės sienelė, kurioje gausu teicho rūgšties, gebančios jungtis prie storą apvaskalą sudarančio peptidoglikano sluoksnio su dominuojančia L-lizino aminorūgštimi. Apvaskalo dėka ląstelės ne tik palaiko savo formą, standumą, bet ir apsaugomos nuo išorinės aplinkos veiksnių keliamų pavojų, kenksmingų molekulių ir osmosinės lizės (34). Stafilokokai yra sporų neformuojantys, keliose plokštumose dalijimosi metu išsidėstantys mikroorganizmai. Sferinės formos ląstelės nėra judrios, todėl negeba išsisklaidyti ir lieka sukibusios į krūveles. Tai fakultatyviniai anaerobai, naudojantys aplinkoje esančius angliavandenius kaip energijos ir anglies

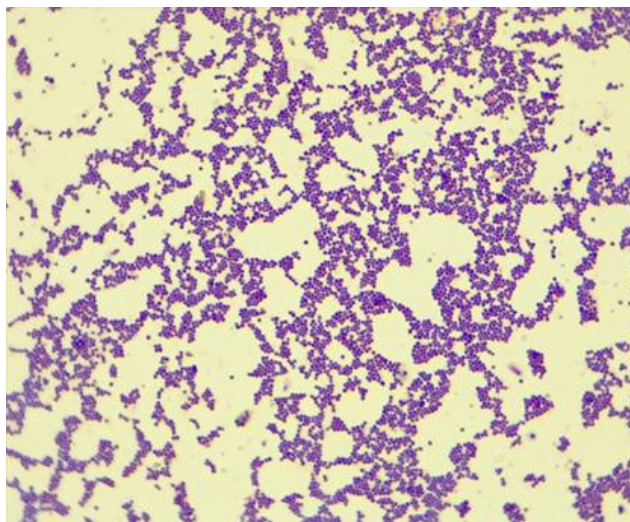
šaltinį. Jiems būdingas skirtingas proteolizinis aktyvumas ir gebėjimas fermentuoti angliavandenius iki galutinio produkto – pieno rūgšties. Tačiau didžioji dalis stafilokokų rūšių teikia pirmenybę energijos gavimui aerobinio kvėpavimo būdu, kurio metu oksiduoja angliavandenius iki acto rūgšties ir anglies dioksido, taip pat nemaža dalis stafilokokų geba skaidyti aminorūgštis, gliukozę ir tokiu būdu pasigaminti reikiamos energijos (35).

Dešimtmečius pačia patogeniškiausia *Staphylococcus* genčiai priklausančia rūšimi laikoma *S. aureus*, sukianti daugybę įvairių autoinfekcijų su skirtingomis klinikinėmis išraiškomis (1,36). Tai vienas iš daugiausiai klausimų ir visuomenės sveikatos problemų keliančių stafilokokų genties atstovų, kurio virulentiškumas pasireiškia sunkiais, gyvybei pavojingais sveikatos sutrikimais, nuo lengvų odos pažeidimų iki sudėtingų invazinių ligų ar toksikoinfekcijų (37).

## **1.2. *Staphylococcus aureus* morfologija, kultūrinės ir biocheminės savybės**

### **1.2.1. *Staphylococcus aureus* morfologija**

*S. aureus* yra  $0,89 \pm 0,07 \mu\text{m}$  (38) diametro kokai, kaip ir kiti stafilokokai, išsidėsto krūvelėmis, primenančiomis vynuogių kekes. Tai gramteigiamos bakterijos, taikant diferencinį ir sudėtinį dažymo būdą – Gramo metodą, nusidažo violetine spalva (1 pav.) ir taip tampa lengvai atskiriamos nuo gramneigiamų bakterijų (39).



**1 pav.** *S. aureus* nusidažymas Gramo būdu (x1000). Nuotrauka iš asmeninio autoriaus archyvo.

### **1.2.2. *Staphylococcus aureus* kultūrinės savybės**

Dauguma *Staphylococcus* genties rūšių, tarp jų ir *S. aureus*, gali augti esant 10 proc. NaCl (m/t) ir 18–40 °C temperatūrai (34). *S. aureus* yra ne tik mažai jautrus druskai, bet ir nereiklūs terpėms, todėl gali būti kultivuojami skystose, pusiaustandžiose ar standžiose mitybinėse

terpėse. Po 24 val. inkubacijos periodo, neutralioje (pH = 7,4) terpėje, 35–37 °C temperatūroje *S. aureus* suformuoja 1–2 mm diametro S-formos, blizgias, sviestinės konsistencijos kolonijas (2 pav.) (38,40).



**2 pav.** *S. aureus* kolonijos, užaugintos kraujo agare po 24 val. kultivavimo. Nuotrauka iš asmeninio autoriaus archyvo.

### 1.2.3. *Staphylococcus aureus* biocheminės savybės ir identifikavimas

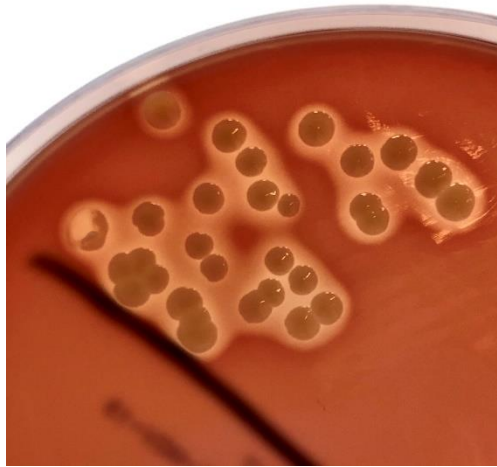
Klinikinėje praktikoje dažniausiai sutinkamos *S. aureus* ir *S. pseudintermedius* rūšys. Jos priskiriamos plazmą koaguliuojantiems stafilokokams (PKS), dėl to gali būti identifikuojamos pagal fermento koaguliazės aktyvumą. *S. aureus* padermės yra labiau paplitusios tarp žmonių, o *S. pseudintermedius* – dažniau išskiriamos iš šunų. Nepaisant to, abu PKS gali sukelti įvairias visuomenėje ir ligoninėje įgytas ligas žmonėms (41). Fermentas koaguliazė dalyvauja kraujo krešėjime fibrinogeną versdamas netirpiu fibrinu. *S. aureus* gamina koaguliazę, todėl siekiant atskirti *S. aureus* nuo kitų stafilokokų svarbu atlikti plazmos koaguliazės aktyvumo testą, kuris bus teigiamas (39).

Vienas iš identifikavimo metodų, skirtų *Staphylococcus spp.* bakterijų atskyrimui nuo *Streptococcus spp.*, yra katalazės aktyvumo testas. Katalazė – fermentas, skaidantis toksišką vandenilio peroksidą į nekenksmingą vandenį ir deguonį, taip apsaugodamas bakterijas nuo oksidacinės pažaidos. Streptokokai negamina katalazės, todėl testas parodo neigiamą rezultatą, o stafilokokai geba sintetinti katalazę, todėl daugeliui jų būdinga teigiama katalazės reakcija (42).

Dėl toksino – hemolizino – išskyrimo, didžioji dalis *S. aureus* padermių geba vykdyti hemolizę ir skaidyti eritrocitus. *S. aureus* pagal hemolizinį aktyvumą gali būti skirstomi į keturias grupes:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  ir  $\gamma$ , kurios nustatomos pagal hemolizinių žiedų išorines linijas, dydžius ir

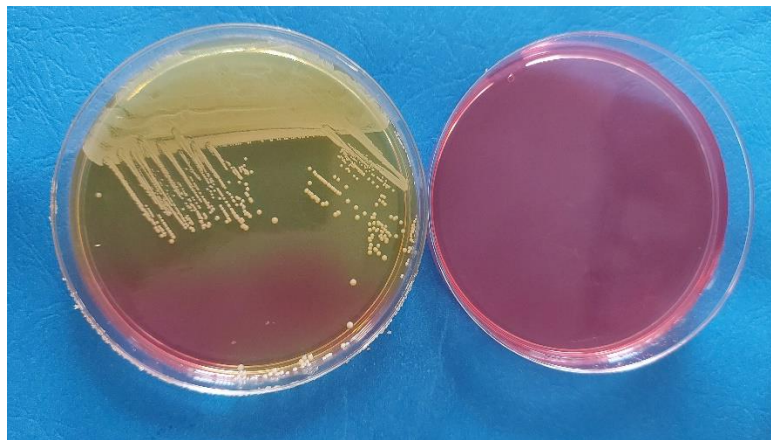


skaidrumą. Hemoliziniai žiedai susidaro aplink kolonijas, išsėjus bakterijų kultūras į lėkšteles su kraujo agaru (3 pav.) (43).



**3 pav.** Hemoliziniai žiedai aplink *S. aureus* kolonijas kraujo agare. Nuotrauka iš asmeninio autoriaus archyvo.

*S. aureus*, išsėti ant manitolio druskos agaro (MDA), fermentuoja manitolį. Dėl šios biocheminės reakcijos pasikeičia terpės pH, o su juo ir terpės spalva. Įprastai MDA būna rausvos-raudonos spalvos, tačiau manitolio skaidymo dėka, terpė įgauna geltoną spalvą (4 pav.) (44).



**4 pav.** *S. aureus* kolonijos manitolio druskos agare – kairėje, neužsėtas manitolio druskos agaras – dešinėje. Nuotrauka iš asmeninio autoriaus archyvo.

Nors dauguma stafilokokų rūšių terpėse auga baltomis arba bespalvėmis kolonijomis, daugiau nei 90 proc. *S. aureus* izoliatų gamina oranžinį-raudoną, su membrana sujungtą karotenoidą, vadinamą stafiloksantinu, kuris nudažo jų kolonijas išskirtine, auksine spalva. Šis triterpenoidas prisideda prie *S. aureus* virulentiškumo, apsaugodamas bakteriją nuo neutrofilų fagocitozės, oksidacinio streso ir radiacinės pažeidimos – ultravioletinės bei rentgeno spinduliuotės poveikio (45,46).

*S. aureus* kolonijų morfologija, jų augimas selektyviose ir (arba) diferencinėse mitybinėse terpėse, biocheminės savybės prisideda prie *S. aureus* identifikavimo ir diferenciacijos nuo kitų stafilokokų rūšių.

### 1.3. *Staphylococcus aureus* virulentiškumas

*S. aureus*, kaip ir kitos stafilokokų rūšys, kolonizuoja savo šeimininkus ir sukelia įvairias imuninio atsako reakcijas dėl gebėjimo sintetinti virulentiškumo veiksnius – pirogeninius toksinus bei egzofermentus.

Ištirta daugiau nei 40 *S. aureus* išskiriamų egzotoksinų (47). Toksinų koordinuota veikla gali lemti itin silpną kolonizuoto organizmo atsaką į infekcijos sukėlėją. Egzotoksinai geba manipuliuoti įgimtu bei įgytu imuniniais atsakais, ardyti ląsteles, tarpląstelines jungtis, sustabdydami ląstelių proliferaciją ar net sukeldami jų žūtį. Mokslininkų teigimu, *S. aureus* gaminamus toksinus galima suskirstyti į tris pagrindines grupes: poras formuojančius toksinus (PFT), eksfoliacinius toksinus (ET) ir superantigenus (SAg) (48).

Didžiausiu virulentiškumu pasižyminčios *S. aureus* padermės išskiria net septynis poras formuojančius toksinus, tarp jų  $\alpha$ -hemoliziną (Hla) bei šešis dvikomponenčius PFT (leukocidinus): Pantono Valentino leukocidiną, LukED, LukAB/GH ir  $\gamma$ -hemoliziną (HlgAB ir HlgCB) (49). Dvikomponenčiai PFT ir Hla pasižymi labai svarbia funkcija, jie geba lizuoti įvairias ląsteles ir taip keisti ligos sunkumą. Sergant *S. aureus* sukeltomis odos infekcijomis, Hla priskiriamas pagrindiniams virulentiškumo veiksniams. Šį PFT išskiria dauguma *S. aureus* padermių kaip vandenyje tirpų monomerą, nukreiptą į eritrocitų lizę (50). Tik 3–10 proc. klinikinių *S. aureus* padermių gamina virulentiškiausiu *S. aureus* leukotoksinu laikomą Pantono Valentino leukocidiną (PVL). PVL yra dvikomponentis toksinas, sudarytas iš dviejų sinergistiškai aktyvuojančių ląsteles-taikinius baltymų, LukS-PV ir LukF-PV, koduojamų dviejų genų *LukS-PV* ir *LukF-PV* (51). Jis formuoja poras polimorfonuklearinių leukocitų, monocitų ir makrofagų membranose bei skatina priešūždegiminių citokinų ir branduolinio faktoriaus- $\kappa$ B išsiskyrimą neutrofiluose. Įrodyta, jog tai yra ypatingai svarbus virulentiškumo veiksnys nekrozuojančių plaučių ir odos infekcijų atvejais (52). Šį toksiną gali produkuoti tiek meticilinui jautrios, tiek atsparios *S. aureus* padermės, tačiau užsienio mokslininkų atliktų studijų rezultatai patvirtino dažnesnę PVL gamybą tarp meticilinui atsparių bakterijų (53–55). Taip pat Lietuvos ligoninėje atliktu tyrimu nustatytas didesnis PVL toksiną sintezuojančių *S. aureus* padermių paplitimo dažnis tarp vyresnio amžiaus pacientų. Šioms infekcijoms būdingas staigus ligos progresavimas ir dažnas pacientų perkėlimas į intensyvios terapijos skyrius (56).

Genų *eta* ir *etb* koduojami eksfoliaciniai toksinai (ETA ir ETB), dar vadinami epidermolitinais toksinais, yra itin specifinės *S. aureus* išskiriamos serino proteazės, susijusios su keratinocitų jungčių skilimu ir ląstelių adhezija šeimininko epidermyje. Jos atpažįsta ir hidrolizuoja desmosomų kadherinus paviršiniuose odos sluoksniuose, sukelia plokščių pūslelių susidarymą, odos lupimąsi ir eroziją – stafilokokinį nuplikytos odos sindromą. Dažniausiai šiuo sindromu serga naujagimiai, rečiau – vaikai iki penkerių metų amžiaus, dėl nesubrendusios imuninės sistemos ir silpno toksinų išskyrimo per inkstus (48,57).

Superantigenai sukelia T ir B ląstelių proliferaciją, taip prisideda prie masinės citokinų gamybos, o šių sekretuojami fermentai pažeidžia žinduolių ląsteles. *S. aureus* gaminami SAg gali būti skirstomi į tris grupes: T ląstelių superantigenus, stafilokokinius enterotoksinus (SEA–SEE, SEG–SEI) (50) ir B ląstelių superantigenus (47). T ląstelių SAg molekulinė masė svyruoja nuo 19 iki 30 kDa, jie yra laikomi didžiausia *S. aureus* gaminamų egzotoksinų šeima. T limfocitų superantigenai išsiskiria iš kitų SAg šeimų, nes pasižymi atsparumu karščiui, skrandžio rūgščiai, proteolizei (pvz., tripsinu, pepsinu) ar net džiovinimui. Vienas iš T ląstelių SAg – toksinio šoko sindromo toksinas (TŠST) – sukelia toksinio šoko sindromą, diagnozuojamą pagal būdingus simptomus: karščiavimą, hipotenziją, odos bėrimą, pleiskanojimą ir lupimąsi praėjus 1–2 savaitėms nuo pirmųjų simptomų atsiradimo pradžios (58,47). Dar 1993 m. užsienio mokslininkų atliktas pelių modelio tyrimas parodė, kad TŠST-1, skatindamas citokinų, įskaitant interleukino (IL)-6 ir naviko nekrozės faktoriaus, išsiskyrimą, sukelia nuo T ląstelių priklausomą šoko sindromą, pasižymintį itin dideliu pelių mirtingumu (59). Stafilokokinis baltymas A (SbA) yra vienintelis žinomas B ląstelių SAg, kurį gamina šios bakterijos. SbA jungiasi prie imunoglobulino molekulių, šios absorbuojasi ant bakterijų paviršiaus ir taip užkertamas kelias *S. aureus* fagocitozei bei išvengiama žmogaus imuninės sistemos poveikio (47,60). Be to, *S. aureus* į maistą išskiria baltymą – stafilokokinį enterotoksina A (SEA), kuris sukelia apsinuodijimą (vėmimą, diarėją) suvalgius užkrėsto maisto. SEA geba išlaikyti savo aktyvumą net po maisto perdirbimo, kadangi yra termostabilus, atsparus denatūracijai. Viena vertus, SEA yra susijęs su hospitalinėmis infekcijomis, kurios pasireiškia apie 30 proc. infekcinio endokardito atvejų, kita vertus, tai yra pagrindinė ligoninėje įgytos pneumonijos priežastis (37).

Taip pat stafilokokai pasižymi gebėjimu gaminti įvairius fermentus, tokius kaip koaguliazės, lipazės, nukleazės, proteazės, hialuronidazės, stafilokinazės ir kt., kurie padeda išvengti šeimininko imuninės sistemos gynybos mechanizmų, prisideda prie patogeno invazijos ir prasiskverbimo į infekuoto organizmo gretimus audinius. Dauguma fermentų veikia skaidydami šeimininko molekules arba trukdydami signalų perdavimo kaskadoms ir medžiagų apykaitos keliams (61).

#### 1.4. *Staphylococcus aureus* nešiojimas ir perdavimo mechanizmas

Pagal 1997 m. įsigaliojusį LR žmonių užkrečiamųjų ligų profilaktikos ir kontrolės įstatymą, užkrečiamųjų ligų sukėlėjų nešiotaju yra laikomas žmogus ar gyvūnas, neturintis užkrečiamosios ligos klinikinių požymių, tačiau savo organizme nešiojantis ir į aplinką išskiriantis užkrečiamųjų ligų sukėlėjus (62).

*S. aureus* sudaro normalią žmogaus mikrobiotos dalį, kolonizuoja apie 20–30 proc. sveikų žmonių populiacijos ir gyvena kaip nuolatinis arba laikinas komensalas nosies, žarnyno, įskaitant išeinamosios angos, lytinių organų gleivinėse, gerklėje ar ant odos, pvz., pažastyse, tarpvietėje. *S. aureus* pagrindinė ekologinė niša yra žmogaus nosies ertmė (nuo nosies prieančio iki nosiaryklės), o daugiau nei 60 proc. nosį kolonizavusių *S. aureus* yra aptinkami būtent nosies prieangyje (2,63,64). Tačiau 2007–2008 m. Lietuvoje atliktu tyrimu įrodyta, jog nustatant *S. aureus* kolonizaciją ėminių paėmimas iš ryklės yra vienodai svarbus kaip ir iš nosies landų. Tyrimo duomenimis, 39 proc. kolonizuotų suaugusiųjų *S. aureus* nešiojo nosies prieangyje, 32 proc. – gerklėje, o likusieji (29 proc.) tiek nosyje, tiek ryklėje (65).

*S. aureus* iš nešiotųjų kitiems žmonėms gali būti perduodamas įvairiais būdais. Pagrindinis šių bakterijų plitimo kelias yra kontaktinis – per sąlytį su užkrėstais paviršiais, daiktais, sveikais nešiotojais ar sergančiais žmonėmis. Užkratas gali būti pernešamas rankomis ant kitų kūno vietų (nosies gleivinės). Be to, *S. aureus* gali būti perduodami suvalgius užkrėsto maisto arba įkvepiami oro lašeliniu keliu – čiaudint, kosint *S. aureus* kolonizuotam organizmui (64,66). *S. aureus* kolonizuoja ne tik žmonių populiaciją, bet ir gyvūnus, todėl galimas tarp rūšių perdavimas iš gyvūnų žmonėms ir atvirkščiai (67). Bangladeše atliktame tyrime buvo tiriama MJSA ir MASA padermių aptikimas galvijų, šunų, kačių ir hospitalizuotų žmonių organizmuose. Ėminiai, įskaitant motinos pieną, žaizdų, diabetinės opos, nosies tepinėlius, pūlius, eksudatus, buvo imami iš sveikų ir sergančių gyvūnų bei iš sergančių žmonių. Gauti rezultatai parodė, kad identiškų *S. aureus* padermių kolonizuoja ne tik žmonių, bet ir gyvūnų organizmus (68). Tyrimais įrodyta, jog naujagimiai, kaip ir suaugusieji, gali būti stafilokokų nešiotojais. Stafilokokinė kolonizacija gali prasidėti pirmosiomis žmogaus gyvenimo dienomis, o horizontalus perdavimas iš infekuotos motinos yra pagrindinis *S. aureus* perdavimo naujagimiams kelias. Izraelyje atlikto tyrimo metu nustatyta, kad 86 proc. iš 43 *S. aureus* kolonizuotų naujagimių gimė motinoms, nešiojusioms *S. aureus* (69).

Nors *S. aureus* nešiojimas yra besimptomis, įprastai nekeliantis jokio pavojaus šeiminkui ar netgi trukdantis kitų patogenų kolonizacijai, esant bakterijoms palankioms sąlygoms, pavyzdžiui, hospitalizacijai ar operacijų metu, gali sukelti daugybę vietinių ir invazinių infekcijų (4). Pažeidus odos ar gleivinės barjerą, nusilpus imunitetui, *S. aureus* padermės pasižymi gebėjimu

užkrėsti beveik visus šeimininko giliuosius audinius ir sukelti įvairias infekcijas su skirtingomis klinikinėmis išraiškomis, tarp jų bakteriemiją, šlapimo takų infekcijas, infekcinį endokarditą, osteomielitą, septinį artritą, gastroenteritą, pneumoniją, meningitą, toksinio šoko sindromą, odos ir minkštųjų audinių infekcijas, pvz., folikulitą, impetigą, karbunkuliozę, furunkuliozę ir kt. (3). 2022 m. „Hospitalinių infekcijų epidemiologinės priežiūros reanimacijos ir intensyvios terapijos skyriuose“ ataskaitos duomenimis, *S. aureus* sukėlė daugiausiai hospitalinių infekcijų tarp gramteigiamų koku (70). Remiantis informacija, pateikta HI internetinėje svetainėje, hospitalinėmis infekcijomis dažniausiai laikomos infekcijos, pasireiškusios praėjus dviems paroms po hospitalizavimo (10).

Rizika tapti *S. aureus* nešiotuju priklauso nuo žmogaus geografinės padėties, etninės grupės, amžiaus, lyties, mitybos, gyvenimo būdo, profesijos (gydytojai, slaugytojai, kiti ligoninių darbuotojai), taip pat nuo ligų, tokių kaip atopinė egzema, cukrinis diabetas, inkstų nepakankamumas, žmogaus imunodeficito viruso infekcija. Gretutinės ligos, imunosupresinės būklės, dažnos hospitalizacijos reikšmingai didina riziką tapti *S. aureus* nešiotuju. Viena iš *S. aureus* pažeidžiamiausių grupių, kuriai dažniau gali išsivystyti ir stafilokokinės infekcijos, laikomi asmenys, reguliariai naudojančys adatas, pavyzdžiui, diabetikai, hemodializuojami pacientai, intraveninių narkotikų vartotojai (39,71). Pastebėta, jog hemodializuojami ligoniai dažnai yra *S. aureus* nešiotujai. Nuo 2017 m. spalio mėn. iki 2019 m. spalio mėn. Kolumbijos ambulatorinės dializės centre atliktu tyrimu siekta nustatyti *S. aureus* kolonizacijos pokyčius suaugusių žmonių organizmuose per tam tikrą laiko tarpą. Visi tyrime dalyvavę pacientai sirgo lėtiniu inkstų nepakankamumu ir turėjo išvestą centrinės venos kateterį (CVK) hemodializei atlikti. *S. aureus* kolonizacija tirta ėminiuose, paimtuose nuo CVK išėjimo srities ir iš nosies landų. *S. aureus* nešiojimas tirtas tris kartus: tyrimo pradžioje, po dviejų ir po šešių mėnesių nuo tyrimo pradžios. Jei visus tris kartus *S. aureus* aptikta nebuvo – kolonizacija laikyta neigiama, jei vienas arba du tyrimai patvirtino *S. aureus* buvimą – tiriamieji laikyti laikiniais nešiotujais, jei visų trijų tyrimų metu ėminiai buvo *S. aureus* teigiami – tiriamieji priskirti nuolatinių nešiotųjų grupei. Atliktos studijos duomenimis, iš 141 tyrime dalyvavusio paciento, 81 tiriamojo ėminiuose bent vieno tyrimo metu nustatytas *S. aureus*. Tiriamojoje imtyje laikinų nešiotųjų aptikta 63 (77,8 proc.), o nuolatinių gerokai mažiau – 18 (22,2 proc.). Taip pat tyrimo metu nustatyta, jog *S. aureus* kolonizacijos rizika yra iki šešių kartų didesnė tarp rūkančių žmonių nei nerūkančių (72). Be to, atlikta daug tyrimų, įrodančių, kad žmonės, dirbantys medicinos įstaigose, yra dažniau kolonizuoti *S. aureus*. Besimptomis *S. aureus* nešiojimas tarp sveikatos priežiūros specialistų yra rizikos veiksnys, dėl kurio padidėja pacientų sergamumas, hospitalizavimo trukmė, mirtingumas bei gydymo kaštai (5–9). Pietų Brazilijoje atliktu tyrimu siekta nustatyti *S. aureus* nešiojimo mastą tarp universitetinėje ligoninėje dirbančių sveikatos priežiūros specialistų ir praktiką atliekančių

studentų. Remiantis tyrimo rezultatais, iš 324 ėminių, paimtų iš savanorių nosies ertmės, net 139 (42,9 proc.) išskirtos ir identifikuotos *S. aureus* padermės (5).

Per pastaruosius šešerius metus Lietuvoje atlikti moksliniai tyrimai rodo stabilų *S. aureus* nešiotojų paplitimo dažnį. 2017–2018 m. Vilniaus mieste ištyrus 373 atsitiktinės atrankos būdu pasirinktos nemedicininės paskirties įmonės darbuotojus nustatyta, kad 137 (36,7 proc.) tirtieji buvo *S. aureus* nešiotojai (73). 2019–2020 m. studijos duomenimis, 100 (36,2 proc.) tyrime sutikusių dalyvauti pirmo ir trečio kurso Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto studentų nešiojo *S. aureus* (25).

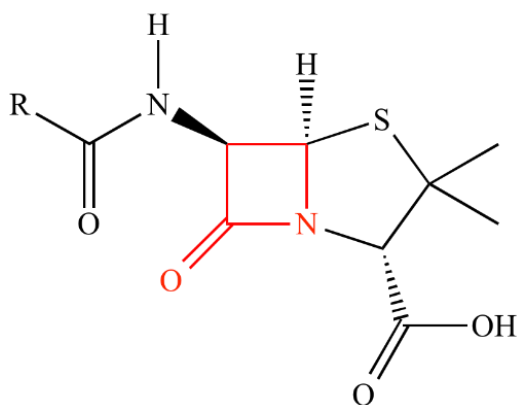
### **1.5. *Staphylococcus aureus* atsparumas antibakterinėms medžiagoms**

*S. aureus* laikomas reikšmingu oportunistiniu patogenu žmonių medicinoje ir yra dažna visuomenėje įgytų bei hospitalinių infekcijų mirties priežastis, kuriai išvengti imamasi gydymo antibakteriniais vaistiniaisiais preparatais (64). Atliktos studijos duomenimis, 2017 m. Jungtinėse Amerikos Valstijose *S. aureus* sukėlė 119 247 kraujo infekcijas, iš kurių 19 832 (16,6 proc.) baigėsi mirtimi (74).

Antibiotikų era prasidėjo 1928 m. A. Flemingui atradus *Penicillium notatum* grybo gaminamą antibiotiką peniciliną. Jau 1941 m. penicilinas pradėtas naudoti klinikinėje praktikoje stafilokokinių infekcijų gydymui. Tuo metu *S. aureus* infekcijos tapo gerai kontroliuojamos, smarkiai sumažėjo mirčių skaičius. Tačiau šis gydymo prognozės pagerėjimas truko neilgai, jau 1942 m. išskirti pirmieji penicilinui atsparūs stafilokokų izoliatai ligoninėse, o nuo 1944 m. atsparios padermės išplito ir visuomenėje (12). 1944 m. mokslininkas W. Kirby ištyrė fermentinių reakcijų mechanizmą, atsakingą už *S. aureus* atsparumą penicilinui (75). Antimikrobinį atsparumą penicilinui lėmė *S. aureus* plazmidėje arba chromosomoje integruoto *blaZ* geno koduojamas ekstraląstelinis fermentas, vadinamas penicilinaze ( $\beta$ -laktamaze) (76). Penicilinazė hidrolizuoja penicilino struktūroje esantį  $\beta$ -laktamo žiedą, kuriam suirus inaktyvuojamas penicilino antibakterinis aktyvumas (13). 1948 m. apie 50 proc. visų identifikuotų *S. aureus* padermių buvo atsparios penicilinui, o 1957 m. atsparumo lygis išaugo iki 80 proc. (77). Prieš septynerius metus Indijoje atliktame tyrime tirti *S. aureus* kolonizuotų pacientų klinikiniai ėminiai (pūliai, kraujas ir šlapimas). Šiuo tyrimu siekta nustatyti *S. aureus* atsparumą 14 antibiotikų, priklausančių skirtingoms klasėms. Tyrimo duomenimis, didžiausias atsparumas (97 proc.) užfiksuotas būtent penicilinui (78). Švedijoje atlikta studija vertintas penicilinui atsparių *S. aureus* izoliatų paplitimo dažnis dviem laikotarpiais. Padermės buvo išskirtos iš patogenų kolonizuotų pacientų, sergančių bakteriemija, kraujo. 2008–2009 m. aptikta 43 proc. penicilinui atsparių *S. aureus*, o 2014–2015 m. atsparių padermių paplitimo dažnis išaugo iki 71 proc. (79). Šių laikų duomenimis,

daugiau nei 95 proc. *S. aureus* bakterijų yra atsparios penicilinui (80). Ne tik užsienio studijų, bet ir Lietuvoje atliktų tyrimų rezultatai atskleidžia didelį iš klinikinės medžiagos išskirtų *S. aureus* izoliatų atsparumą penicilinui. 2017–2018 m. Vilniaus miesto klinikinėje ligoninėje atlikto tyrimo duomenimis, ištyrus 364 klinikinės *S. aureus* padermes, atsparumas penicilinui nustatytas 269 (73,9 proc.) izoliatams (81).

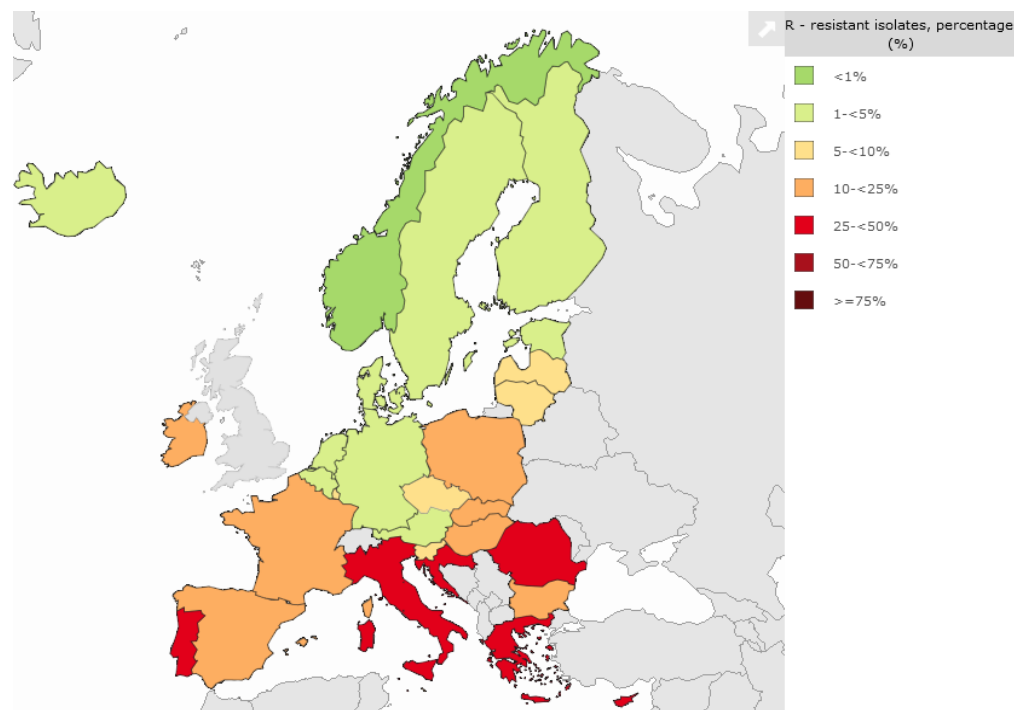
Reaguodami į atsparumo tendencijas, 1959 m. mokslininkai sukūrė penicilinazei atsparų, pusiau sintetinį peniciliną ir pavadino jį meticilinu, kuris buvo laikomas antistafilokokinių penicilinų atmaina. Tačiau praėjus dvejiems metams po meticilino atradimo, 1961 m., Jungtinės Karalystės ligoninėje pastebėtos pirmosios meticilinui atsparios *S. aureus* padermės (13). Tiek penicilinas, tiek meticilinas priskiriamas  $\beta$ -laktaminių antibiotikų grupei, kurių funkcinę šerdį sudaro  $\beta$ -laktamo žiedas (5 pav.).  $\beta$ -laktaminių antibiotikų klasę sudaro penicilinai, cefalosporinai, karbapenemai ir monobaktamai (82).



**5 pav.** Penicilino cheminė formulė, raudonai pažymėtas  $\beta$ -laktamo žiedas (83).

*S. aureus* padermių atsparumas meticilinui, skirtingai nei atsparumas penicilinui, yra susijęs ne su vaisto inaktyvacija ( $\beta$ -laktamo žiedo hidrolize), o su vaisto taikinio modifikavimu (82,84). Šį atsparumą lėmė MASA padermių chromosomos kasetėje *mec* (SCC*mec*) lokalizuoto *mecA* geno koduojamas baltymas – PBP2a (angl. *penicillin-binding protein 2a*), kuris yra pakitęs penicilinus surišantis fermentas PBP. PBP2a baltymo struktūros pakitimas lemia sumažėjusį afinitetą meticilinui ir kitiems  $\beta$ -laktaminiams antibiotikams. Pakitusi vaisto taikinio – transpeptidazės konfigūracija, neleidžia vaistui specifiskai prisijungti prie *S. aureus* sienelės ir šis yra inaktyvuojamas (13,85,86). Svarbu tai, kad nors  $\beta$ -laktamazės sintezės sukeltas atsparumas yra siauro spektro atsparumo mechanizmas, t.y. fermentas inaktyvuoja tik peniciliną, atsparumas  $\beta$ -laktamams dėl PBP2a ekspresijos priklauso plataus spektro mechanizmui, kadangi visi  $\beta$ -laktaminiai antibiotikai, įskaitant penicilinus, cefalosporinus ir karbapenemus, yra neaktyvūs prieš PBP2a sintezuojančias bakterijų padermes. Šios padermės formuoja kryžminį atsparumą visiems  $\beta$ -laktamams (84). 2021 m. Europos ligų prevencijos ir kontrolės centro (angl. *European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC*) infekcinių ligų stebėjimo atlaso

duomenys rodo bendrą iš kraujo išskirtų MASA paplitimo dažnio didėjimo tendenciją iš žemyno šiaurės į pietus, kai <5 proc. *S. aureus* kultūrų yra atsparios meticilinui Šiaurės Europoje (pvz., Norvegijoje, Islandijoje, Švedijoje, Suomijoje, Danijoje, Estijoje), net 25–<50 proc. MASA padermių yra paplitusios Pietų Europoje (pvz., Portugalijoje, Italijoje, Kroatijoje, Rumunijoje, Graikijoje). ECDC duomenimis, Lietuvoje MASA padermių paplitimas 2021 m. siekė 9 proc. (6 pav.) (87).



**6 pav.** MASA padermių paplitimas Europoje 2021 m. (87).

Šiuo metu MASA yra viena iš labiausiai paplitusių infekcinio endokardito, taip pat odos ir kvėpavimo sistemos infekcijas sukeliančių padermių visame pasaulyje (88). Meticilinas iš pradžių buvo plačiai naudojamas, tačiau dėl sukeliama toksiško poveikio žmonėms, jo tiekimas į rinką sustabdytas. MASA invazinių infekcijų gydymui meticilinas pakeistas panašiais, stabilesniais penicilinais, tokiais kaip oksacilinas, flukloksacilinas, nafcilinas ir dikloksacilinas (89,90). PSO duomenimis, tikimybė mirti žmonėms, sergantiems MASA sukeltomis infekcijomis, yra 64 proc. didesnė nei sergantiems meticilinui jautriomis infekcijomis. Tai kelia didelį susijaudinimą klinacistams (14). MASA izoliatai yra rezistentiški daugeliui antibiotikų, tačiau pasižymi jautrumu glikopeptidiniams antibakteriniams preparatams, tokiems kaip vankomicinas. Nepaisant to, po ilgo vankomicino vartojimo, trukusio beveik 40 metų, 1997 m. Japonijoje užregistruotas pirmasis vankomicinui atsparaus *S. aureus* atvejis, o 2002 m. Jungtinėse Amerikos Valstijose nustatytos vankomicinui atsparios *S. aureus* padermės diabetu sergančiam pacientui (91,92). Rezultatai iš užsienio mokslininkų atliktos sisteminės literatūros apžvalgos bei 62 tyrimų metaanalizės rodo pasauliniu mastu didėjantį *S. aureus* atsparumą sisteminio poveikio antibiotikui vankomicinui. Iki



2006 m. vankomicinui atsparių *S. aureus* padermių buvo 2 proc., 2006–2014 m. – 5 proc., o 2015–2020 m. – 7 proc. (93).

Tad, siekiant parinkti efektyvų antimikrobinį *S. aureus* sukeltų infekcijų gydymą ir (arba) profilaktiką, labai svarbu vykdyti *S. aureus* izoliatų atsparumo antibiotikams stebėseną.

### 1.5.1. *Staphylococcus aureus* atsparumas mupirocinui

Dėl nepaliamajam augančio dauginiu atsparumu pasižyminčių, ligoninėje įgytų MASA (LĮ-MASA) infekcijų skaičiaus bei vis didėjančių sveikatos priežiūros išlaidų, gydymui pradėtas naudoti antibiotikas mupirocinas (pseudomoninė rūgštis). Mupirocinas (MUP) yra keturių pseudomoninių rūgščių (A–D) mišinys, išskirtas 1971 m. iš bakterijų – *Pseudomonas fluorescens*. Jis specifiskai jungiasi su bakterine izoleucilo tRNR sintetaze ir inhibuoja *S. aureus* baltymų sintezę. Dėl labai mažo MUP afiniteto žinduolių izoleucilo tRNR sintetazei, MUP vartojimas nesukelia didelio toksinio poveikio žmonėms (16,17).

Klinikinėje praktikoje MUP pradėtas naudoti Jungtinėje Karalystėje 1985 m. kaip vietiskai veikiantis antibiotikas odos ir minkštųjų audinių infekcijų gydymui bei *S. aureus* eradikacijai iš nosies landų (94). Pastebėta, jog MUP pasižymi dideliu aktyvumu ne tik prieš stafilokokus, bet ir prieš streptokokus bei kai kurias gramneigiamas bakterijas, įskaitant *Haemophilus influenzae* ir *Neisseria gonorrhoeae*. 1985 m. publikuoto tyrimo duomenimis, visi tirti klinikiniai *S. aureus* izoliatai pasižymėjo jautrumu MUP. Be to, rezultatai parodė vienodą penicilinui jautrių, penicilinui atsparių ir meticilinui atsparių *S. aureus* padermių jautrumą mupirocinui (95).

1987 m., po dvejų metų nuo mupirocino naudojimo klinikoje pradžios, užregistruota pirmą mupirocinui atspari *S. aureus* padermė (MupASA) (20). Mupirocinui atsparios padermės empiriškai grupuojamos į dvi kategorijas: žemo lygio ir aukšto lygio MUP atsparias padermes. Skiriami du aukšto lygio atsparumą mupirocinui lemiantys mechanizmai: pirmasis yra susijęs su plazmidėse pernešamo *mupA* geno, o antrasis su *mupB* geno įgijimu. Abu genai koduoja naujas izoleucilo tRNR sintetazes, prie kurių mupirocinas negali prisijungti. Taip pat šie genai yra pernešami plazmidėse, tai įgalina jų gebėjimą plisti. Įrodyta, kad aukšto lygio MupASA padermių nešiojimas gali lemti nesėkmingą *S. aureus* dekolonizaciją po gydymo mupirocinu. Žemo lygio atsparumas mupirocinui atsiranda dėl izoleucilo tRNR sintetazę koduojančio chromosominio *mupA* geno (taškinių) mutacijų, kurios lemia valino pakeitimą fenilalaninu koduojamoje polipeptidinėje grandinėje. Šios mutacijos įprastai yra stabilios ir neperkeliamos. Žemo lygio atsparumas siejamas su *S. aureus* rekolonizacija po pastangų siekiant išnaikinti patogenus mupirocinu (16,20,96). Remiantis trimis mokslinėmis studijomis, aukšto lygio MUP atsparios *S. aureus* padermės aptinkamos dažniau nei žemo lygio MUP atsparios padermės. Taip pat atlikus šiuos tyrimus nustatyta, jog MASA padermės yra labiau atsparios mupirocinui nei MJSA

padermės, kurios pasižymėjo didesniu, 91– 98 proc. siekiančiu jautrumu mupirocinui (97–99). Remiantis visame pasaulyje atliktų tyrimų apžvalga, aukšto ir žemo lygio atsparumo MUP paplitimas tarp MASA klinikinių izoliatų skiriasi geografiškai ir svyruoja atitinkamai 0,5–10,1 proc. ir 2,4–8,6 proc. Jungtinėse Amerikos Valstijose, 0–75,0 proc. ir 0–46,7 proc. Azijoje bei 0,8–98,0 proc. ir 0–31,2 proc. Europoje (16). Dažniausiai *S. aureus* atsparumas MUP nėra tiriamas rutiniškai, nes ankstesnių metų tyrimais nustatyta, kad aukšto lygio MupASA padermės yra gana retos, jų paplitimas svyruoja nuo 1 iki 5 proc. MASA izoliatų, išskirtų iš hospitalizuotų suaugusiųjų Šiaurės Amerikoje ir Europoje (20,100–102). Tačiau paskutinių šešerių metų tyrimai atskleidžia vis didėjantį MASA aukšto lygio atsparumą MUP, kuris siekia iki 17,6 proc. (97,99,103–105). Didelė dalis MASA padermių, pasižyminčių aukšto lygio atsparumu MUP, yra nustatyta Irane ir siekia net 52,8 proc. (106).

Siekiant išvengti hospitalinių infekcijų ypač jautriose pacientų grupėse (hemodializuojami, cukriniu diabetu sergantys, imunosupresiniai asmenys), MASA dekolonizacijai dažnai naudojama MUP tepalo ir chlorheksidino gliukonato tirpalo vonių kombinacija. Jungtinėse Amerikos Valstijose atliktų, vienas nuo kito priklausomų tyrimų metu siekta nustatyti MASA infekuotų ir kolonizuotų suaugusių pacientų eradikacinio gydymo efektyvumą po išrašymo iš ligoninės. Tiriamieji atsitiktiniu būdu suskirstyti į dvi grupes. Pirmoji pacientų grupė dalyvavo MASA prevencijos mokymuose, o antroji, be higienos švietimo, buvo įtraukta ir į MASA kolonizacijos intervenciją, kurią sudarė kasdienės 4 proc. chlorheksidino vonios, burnos skalavimas 0,12 proc. chlorheksidino tirpalu bei nosies landų tepimas 2 proc. mupirocino tepalu du kartus per parą. Kolonizacijos gydymas taikytas penkias dienas du kartus per mėnesį ir iš viso truko šešis mėnesius. Išanalizavus tyrimo duomenis nustatyta, kad dekolonizacijos grupės dalyviai, sąžiningai besilaikantys nustatyto gydymo režimo, sumažino MASA infekcijų riziką 30 proc., lyginant su edukacinei grupei priklausančiais pacientais. Be to, MASA kolonizacija sumažėjo daugiau nei 50 proc. tarp dekolonizuojamų pacientų (23,24).

Nepageidaujamos reakcijos į mupirocino tepalą pasireiškia gana retai. Dažniausiai pasitaiko vietinės nosies gleivinės reakcijos, pvz., deginimo pojūtis, dilgčiojimas, niežulys ar nosies užgulimas (107).

Mupirocinas nėra registruotas LR vaistinių preparatų registre ir yra priskiriamas vardiniams vaistiniams preparatams, todėl gali būti gydytojo išrašomas tik būtinu atveju, kai gydymas šalyje registruotais vaistais yra neveiksmingas. VVKT duomenimis, 2017 m. Lietuvoje per metus MUP tepalo užsakytos ir nupirktos 6 pakuotės, 2018 m. – 20 pakuočių, 2019 m. – 28 pakuotės, 2020 m. – 5 pakuotės, o 2021 m. – 26 pakuotės (18,19). Kitose šalyse ir (arba) žemynuose (Jungtinės Amerikos Valstijos, Afrika, Naujoji Zelandija, Australija ir kt.) MUP yra registruotas ir plačiai naudojamas *S. aureus* sukeltamų paviršinių ir hospitalinių ligų gydymui bei

prevencijai (100,108). Graikijos ligoninėse atliktu tyrimu nustatyta, kad visi mupirocinui atsparūs MJSA izoliatai, išskirti iš odos ir minkštųjų audinių infekcinių zonų, pasižymėjo atsparumu penicilinui (100 proc.), o 1376 (92,7 proc.) iš 1484 mupirocinui atsparių MJSA izoliatų buvo atsparūs ir kitam antibiotikui – fuzido rūgščiai (57).

Taigi, siekiant išvengti galimų infekcijų, *S. aureus* eradikacijai iš nosies landų gali būti naudojamas ir kitas preparatas – fuzido rūgštis.

### **1.5.2. *Staphylococcus aureus* atsparumas fuzido rūgščiai**

Fuzido rūgštis (FR) išskirta 1960 m. iš grybo *Fusidium coccineum*. Tai tetraciklinis triterpenoidas, turintis siaurą biologinio aktyvumo spektrą prieš kai kuriuos anaerobinius gramneigiamus organizmus ir daugumą gramteigiamų bakterijų, ypač stafilokokus, įskaitant MASA ir koaguliazės nekoaguliuojančius stafilokokus. Natrio fuzidatas – FR natrio druska – stafilokokinių odos infekcijų gydymui pradėtas naudoti 1962 m. Šiuo metu rinkoje prieinami FR preparatai skiriami vartoti per burną, leisti į veną arba vartoti vietiškai. Dažniausiai FR naudojama kremo, tepalo, losjono ar gelio pavidalu lokalioms odos infekcijoms gydyti ir *S. aureus* eradikacijai iš kvėpavimo takų. Intraveniniai ir per burną vartojami preparatai, savo sudėtyje turintys fuzido rūgštis, vartojami lėtinių odos ligų, taip pat kaulų ir sąnarių infekcijų gydymui (109,110).

Fuzido rūgštis, helvolio rūgštis ir cefalosporinas P1 yra trys tipiški fuzidano tipo antibiotikai, iš kurių kliniškai naudojama tik fuzido rūgštis. Fuzidano tipo antibiotikai yra nukreipti į *fusA* geno koduojamą *S. aureus* transliacijos elongacijos veiksni G (angl. *elongation factor G*, EF-G), kuris prisijungia prie ribosomų po peptidinio ryšio susidarymo ir dalyvauja peptidų translokacijoje. FR inhibuoja EF-G, prisijungdama prie jo ribosomoje, slopina EF-G GTPazės funkciją ir taip trukdo polipeptidinei grandinei ilgėti. Tai lemia sutrikusią bakterijų baltymų biosintezę. Fuzidani pasižymi mažu toksiškumu, nepasižymi kryžminiu atsparumu dažniausiai vartojamiems antibiotikams ( $\beta$ -laktamams, aminoglikozidams, makrolidams), dėl to plačiai vykdoma šių antibiotikų cheminė sintezė ir derivatizacija. Tačiau iki šiol nebuvo rasta stipresnių analogų, galinčių pakeisti FR klinikinėje praktikoje (111–113). Nepaisant gero FR toleravimo, Prancūzijoje atlikto tyrimo metu keturiems iš 42 tiriamųjų nustatytos nepageidaujamos reakcijos, pasireiškusios dėl stafilokokinių infekcijų gydymo. Pranešta apie viduriavimą, vėmimą, odos bėrimą, hipokalcemiją ir rbdomiolizę. Manoma, jog rbdomiolizės sindromas pasireiškė dėl FR sąveikos su statiniais, kurių vartojimas nebuvo nutrauktas. Tyrimo duomenimis, 17 proc. *S. aureus* padermių buvo atsparios FR (114).

Nuo 1990 m. vidurio daugelyje Europos šalių buvo stebimas didėjantis *S. aureus* padermių, atsparių fuzido rūgščiai, paplitimo dažnis, ypač išskirtų iš odos ir minkštųjų audinių infekcijų

ėminių (115). Klinikinėje aplinkoje *S. aureus* atsparumas fuzido rūgščiai pasireiškia dėl *fusA* geno mutacijų arba įgyjant horizontaliai perduodamus elementus, tokius kaip atsparumo FR genas 1 (*far1* arba *fusB*) ir *far1* homologus (*fusC* ir *fusD*). Dėl *fusA* mutacijų atsiranda struktūrinių EF-G pakitimų, kurie sumažina afinitetą tarp FR bei EF-G ribosominio komplekso. Dažniausiai *fusA* geno mutacijos siejamos su aukšto lygio atsparumo FR tipu. Chromosomų arba plazmidžių pernešami genai, *fusB* ir jo homologai, palaiko FR taikinio apsaugos mechanizmą, koduodami specifinius proteinus, kurie geba prisijungti prie EF-G aktyviojo centro ir taip užkirsti kelią fuzido rūgščiai. Įrodyta, kad papildomi mechanizmai, tokie kaip mutacijos *rplF* (*fusE*) gene, koduojančiame ištekėjimo siurblio aktyvumą ir ribosominį baltymą L6, kuris sąveikauja su EF-G, taip pat prisideda prie *S. aureus* atsparumo FR. Mutacijos *fusB–E* genuose stafilokokams suteikia žemo lygio atsparumą FR (111,116).

Pagal imlumą fuzido rūgščiai, bendrai *S. aureus* galima suskirstyti į FR atsparias *S. aureus* padermes (FASA), FR jautrias *S. aureus* padermes (FJSA) bei atitinkamai į FR atsparias MASA arba MJSA padermes (FAMASA ar FAMJSA) ir FR jautrias MASA arba MJSA padermes (FJMASA arba FJMJA). Atsparumas fuzido rūgščiai 13 Europos šalių aprašytas sisteminėje literatūros apžvalgoje ir metaanalizėje. 2000–2020 m. atliktų tyrimų duomenimis, bendras FASA paplitimas buvo 0,5 proc. tarp 157 220 išskirtų *S. aureus* izoliatų, FAMASA – 2,6 proc. tarp 94 238 *S. aureus* izoliatų, o FAMJSA paplitimas siekė 6,7 proc. tarp 11 992 *S. aureus* izoliatų (110). 2017–2018 m. Vilniaus miesto klinikinėje ligoninėje iširtos 364 iš klinikinės medžiagos išskirtos *S. aureus* padermės. Atsparumas FR tarp tirtų *S. aureus* izoliatų siekė 3,8 proc. (14/364). Nustatyta 3,6 proc. (13/364) MASA padermių, iš kurių viena pasižymėjo atsparumu ir fuzido rūgščiai (FAMASA) (81).

FR registruota daugelyje Europos šalių, tarp jų ir Lietuvoje, Jungtinėje Karalystėje, Australijoje, Naujojoje Zelandijoje, Kanadoje ir kai kuriose Azijos šalyse (116,117). Pastebėta, jog *S. aureus* izoliatų atsparumo fuzido rūgščiai rodikliai yra ypač žemi Jungtinėse Amerikos Valstijose (0,3 proc.), kur FR nėra plačiai vartojama sistemiškai ir dar nebuvo pradėta vartoti vietiskai (118). Jungtinėse Amerikos Valstijose fuzido rūgštis registruota sąnarių protezų sukeltoms infekcijoms gydyti. Be to, naujausiais duomenimis, jos veiksmingumas patvirtintas III fazės klinikiniuose tyrimuose tarp pacientų, sergančių ūmiomis bakterinėmis odos infekcijomis (112).

Antimikrobinė terapija FR yra alternatyvus būdas gydant infekcijas, sukeltas vankomicinui atsparių *S. aureus* padermių. Taip pat įrodyta, jog kombinuotas gydymas fuzido rūgštimi ir rifampicinu yra veiksmingas kovojant su sunkiai gydomomis MASA infekcijomis (76).

Teigiama, kad tiek fuzido rūgšties, tiek mupirocino vietiškas vartojimas yra efektyvus būdas odos ir minkštųjų audinių infekcijoms gydyti, kurias sukelia *S. aureus* padermės, įskaitant

MASA, taip pat šios antibakterinės medžiagos gali būti naudojamos *S. aureus* dekolonizacijai iš organizmo, ypač rizikos grupėms priklausantiems pacientams (22).

## 2. TYRIMO MEDŽIAGOS IR METODAI

### 2.1. Tyrimo atlikimo vieta

Tyrimas atliktas Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedros Mikrobiologijos skyriaus laboratorijoje.

### 2.2. Tyrime naudotos bakterijų padermės

Šiam tyrimui pasirinktos visuomenėje paplitusios ir hospitalinės *S. aureus* padermės, identifikuotos biocheminio aktyvumo testais ir laikomos ilgesniam saugojimui Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedros Mikrobiologijos skyriuje, -70 °C temperatūroje. Tyrime panaudotos hospitalinės padermės išskirtos 2018–2019 m. iš klinikinės medžiagos: odos ir minkštųjų audinių, skreplių ir trachėjos sekreto, kraujo, šlapimo bei iš kitų vietų ėminių (reprodukcinės sistemos organų, pilvaplėvės ertmės, motinos pieno, sąnario ertmės, protezų, išmatų, smegenų skysčio ir kt.). Visuomenėje cirkuliuojančių *S. aureus* padermių kolekciją sudarė padermės, išskirtos 2018–2019 m. iš visuomenės respondentų grupės nosies landų ir ryklės.

### 2.3. Tyrime naudotos terpės, buferiniai tirpalai, reagentai ir kitos medžiagos

- Brain Heart Infusion agaras (*Bio-Rad*, Prancūzija);
- Mueller-Hinton agaras (*Bio-Rad*, Prancūzija);
- Antibiotikų diskai (*Liofilchem*, Italija);
- E-testo juostelės (*Liofilchem*, Italija);
- Sterilus dejonizuotas vanduo;
- *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC 29213 (*Liofilchem*, Italija);
- Realus laiko polimerazės grandininės reakcijos SensiMix™ II Probe rinkinys (*Bioline Reagents*, Jungtinė Karalystė);
- *mupA*, *mupB* genų pradmenys;
- Hidrolizės zondai.

### 2.4. Tyrime naudota aparatūra

- Šaldiklis (*Thermo Electron Corporation*, Vokietija);

- Autoklavas (*Tuttnauer T-Edge10*, Vokietija);
- Termostatas (*Memmert ICO 105*, Vokietija);
- Densitometras (*BioSan DEN-1B*, Latvija);
- Maišyklė (*BioSan Vortex V-1*, Latvija);
- Antibiotikų diskų dispenseris (*Liofilchem*, Italija);
- Automatinės pipetės (*Eppendorf Research plus*, Vokietija);
- Kaitinimo stovas (*Techne Dri-Block DB-3D*, Jungtinės Amerikos Valstijos);
- Centrifuga (*Eppendorf Centrifuge 5415 D*, Vokietija);
- Termocikleris (*Rotor-Gene Q 5plex HRM*, Jungtinės Amerikos Valstijos).

Laboratorinio darbo metu taip pat naudotos sterilios inokuliacinės kilpelės, vienkartinės Petri lėkštelės, stiklinės maišymo lazdelės, stikliniai mėgintuvėliai, mėgintuvėlių kamšteliai, stikliniai matavimo cilindrai, stikliniai užsukami buteliai, vienkartiniai automatinėjų pipečių antgaliai, Eppendorf mėgintuvėliai, vienkartiniai tamponėliai ir kitos sterilios priemonės, reikalingos tyrimui atlikti.

## 2.5. Tiriamų padermių antimikrobinio atsparumo nustatymas

Į tyrimą įtrauktų *S. aureus* padermių atsparumas antimikrobinėms medžiagoms nustatytas Kirby-Bauer diskų difuzijos (mupirocinui ir fuzido rūgščiai) bei gradiento metodu (mupirocinui), laikantis Europos jautrumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimų komiteto (angl. *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST*) rekomendacijų (119). Iš 24 val. kultivuotos Brain Heart Infusion agare *S. aureus* kultūros paruošta 0,5 McFarland drumstumo standartui ekvivalentiška suspensija. Paruošta suspensija per 15 min. steriliu vatos tamponėliu išsėta ant Mueller-Hinton agarų. Dispenserio pagalba per 15 min. uždėti 6 mm diametro mupirocino (5 µg ir 200 µg) bei fuzido rūgšties (10 µg) diskai (7 pav.). Lėkštelės su diskais apverstos ir inkubuotos termostate  $35 \pm 1$  °C temperatūroje  $18 \pm 2$  valandas. Atsparumas mupirocinui ir fuzido rūgščiai įvertintas remiantis 2 lentelėje nurodytais inhibicijos zonų diametrais, išmatuojant mikroorganizmus slopinančias zonas milimetrų tikslumu. Mupirocino 200 µg ir fuzido rūgšties 10 µg antibiotikogramų rezultatai vertinti remiantis *EUCAST* 12.0 versijoje pateiktais standartais (119). Mupirocino 5 µg inhibicinės zonos vertintos pagal M. Bhavana ir kt. straipsnyje pateiktas jautrumo bei atsparumo ribas (120). Jautrumo mupirocinui minimali slopinamoji koncentracija (MSK) nustatyta gradiento metodu, naudojant mupirocinu impregnuotas E-testo juosteles (0,064–1024 mg/l) (8 pav.). E-testo metu gauti rezultatai vertinti

vadovaujantis M. Bhavana ir kt. straipsnyje pateiktomis jautrumo, žemo ir aukšto lygio atsparumo koncentracijomis (3 lentelė) (120).

Atsparumo rezultatų patikimumui (diskų difuzijos ir E-testo kontrolei) patvirtinti naudota etaloninė *S. aureus* ATCC 29213 padermė. Mueller-Hinton terpės sterilumo kontrolinis bandymas atliktas su viena Petri lėkšte iš kiekvienos pagamintos agarų partijos. Po inkubacijos vertinta ar neįvyko agarų kontaminacija pašaliniais mikroorganizmais.



**7 pav.** Antibiotikų diskai. A – mupirocinas 5 µg; B – mupirocinas 200 µg; C – fuzido rūgštis 10 µg. Nuotraukos iš asmeninio autoriaus archyvo.

**2 lentelė.** Jautrumo / atsparumo antimikrobinėms medžiagoms vertinimas diskų difuzijos metodu

Antimikrobinė medžiaga	Koncentracija diske	Vertinimas pagal inhibicijos zonos diametrą		Literatūros šaltinis
		Jautru	Atsparu	
Mupirocinas	5 µg	≥14 mm	<14 mm	(120)
	200 µg	≥30 mm	<18 mm	(119)
Fuzido rūgštis	10 µg	≥24 mm	<24 mm	(119)





**8 pav.** E-testo juostelės. Mupirocinas 0,064–1024 mg/l. Nuotrauka iš asmeninio autoriaus archyvo.

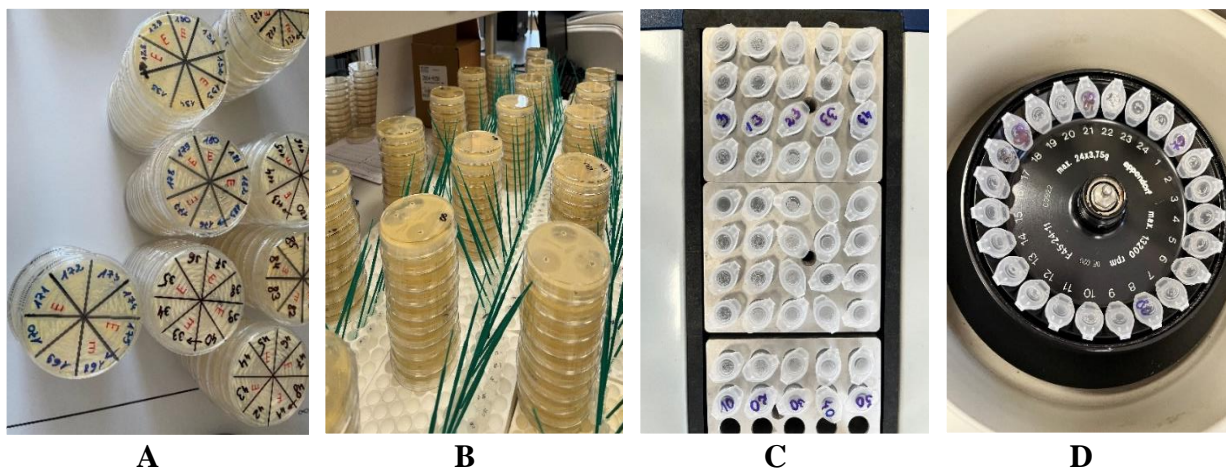
**3 lentelė.** Jautrumo / atsparumo antimikrobinėms medžiagoms vertinimas gradiento metodu

Antimikrobinė medžiaga	Koncentracija E-testo juostelėje	Vertinimas pagal MSK			Literatūros šaltinis
		Jautru	Žemo lygio atsparumas	Aukšto lygio atsparumas	
Mupirocinas	0,064–1024 mg/l	≤4 mg/l	8–256 mg/l	≥512 mg/l	(120)

## 2.6. *Staphylococcus aureus* lizatų paruošimas

1. -70 °C temperatūroje saugotos *S. aureus* padermės išsėtos į Brain Heart Infusion agarą ir aerobinėmis sąlygomis kultivuotos termostate 24 val. 35 ± 1 °C temperatūroje (9 pav. A);
2. Į sterilius 5 ml Eppendorf mėgintuvėlius įpilta 500 µL sterilaus dejonizuoto vandens;
3. Plastikine 1 µL sterilia mikrobiologine kilpele nukabintos vidutiniškai 3–4 bakterijų kolonijos, užaugusios ant Brain Heart Infusion agaro;
4. Nuo terpės nukabintos bakterijų kolonijos suspenduotos paruoštuose Eppendorf mėgintuvėliuose, pripildytuose sterilaus dejonizuoto vandens (9 pav. B);
5. Mėgintuvėliai su bakterijų kultūra sumaišyti maišykle iki tolygaus bakterijų pasiskirstymo dejonizuotame vandenyje;
6. Eppendorf mėgintuvėliai sustatyti į kaitinimo stovą (9 pav. C);
7. Mėgintuvėliai su bakterijų kultūra kaitinti 10 min., po virinimo atvėsinti kambario temperatūroje;
8. Lizatai centrifuguoti 10 min., 10 000 aps./min. greičiu (9 pav. D);

9. Po centrifugavimo lizatai laikyti lede, viršutinė lizatų dalis nusiurbta (supernatantas) ir perpilta į naujai paruoštus Eppendorf mėgintuvėlius, o mėgintuvėliai su nuosėdomis tinkamai utilizuoti;
10. Mėgintuvėliai su paruoštais supernatantais užšaldyti -20 °C temperatūroje ir taip laikyti iki tyrimo.



**9 pav.** A – *S. aureus* pasėliai į Brain Heart Infusion agarą; B – bakterijų kolonijų suspendavimas Eppendorf mėgintuvėliuose; C – paruoštų suspensijų kaitinimas; D – lizatų centrifugavimas. Nuotraukos iš asmeninio autoriaus archyvo.

## 2.7. Tyrimui naudoti genų pradmenys

Tiriamų visuomenėje paplitusių ir hospitalinių *S. aureus* padermių atsparumą mupirocinui koduojančių genų nustatymui naudotų detekcijos hidrolizės zondų sekos nurodytos 4 lentelėje. Kiekvieno lizato bakterinei kilmei patvirtinti naudotas 16S rRNR pradmuo.

**4 lentelė.** Nustatomų genų detekcijos pradmenys ir hidrolizės zondai

Nustatomas genas	Pradmens / detekcijos hidrolizės zondo pavadinimas	Detekcijos pradmenys ir hidrolizės zondai
<i>mupA</i>	mupA_F	TCTAATAATTC CCCAGTTACACCG
	mupA_R	CTCAGTGAAGATAATGACTGCGTT
	mupA_Pr	FAM/TCGCGAAGGACATGCTAGAGAGCTCA/BHQ <sub>1</sub>
<i>mupB</i>	mupB_F	CATTTGTTTTTACGATGGTCCTCC
	mupB_R	GGTAGTCCATGGGTATCCCAC
	mupB_P	HEX/TGCCAATGGCTTACCACATACAGGTCACG/BHQ <sub>1</sub>

Pradmenis ir zondus sukūrė Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedros mokslo darbuotojas dr. Maksim Bratčikov.

## 2.8. Realus laiko polimerazės grandininės reakcijos procedūra

Realus laiko polimerazės grandininės reakcijos (PGR) metodas naudotas nustatyti atsparumą mupirocinui koduojančius genus: *mupA* ir *mupB*. Naudoto PGR mišinio sudėtis ir koncentracija nurodyti 5 lentelėje, reakcijos etapai ir sąlygos – 6 lentelėje. Galutinis mišinio tūris, su kuriuo buvo atlikta realus laiko PGR – 15 µL. Reakcija buvo atlikta naudojant *Rotor-Gene Q 5plex HRM* termociklerį.

**5 lentelė.** Realus laiko PGR mišinio sudėtis ir koncentracija

Reakcijos komponentai	Kiekis
<i>S. aureus</i> lizato DNR	1 µL
SensiMix™ II Probe	7,5 µL
Kiekvienas pradmuo	200 nM
Kiekvienas hidrolizės zondas	100 nM
Vanduo	6,2 µL

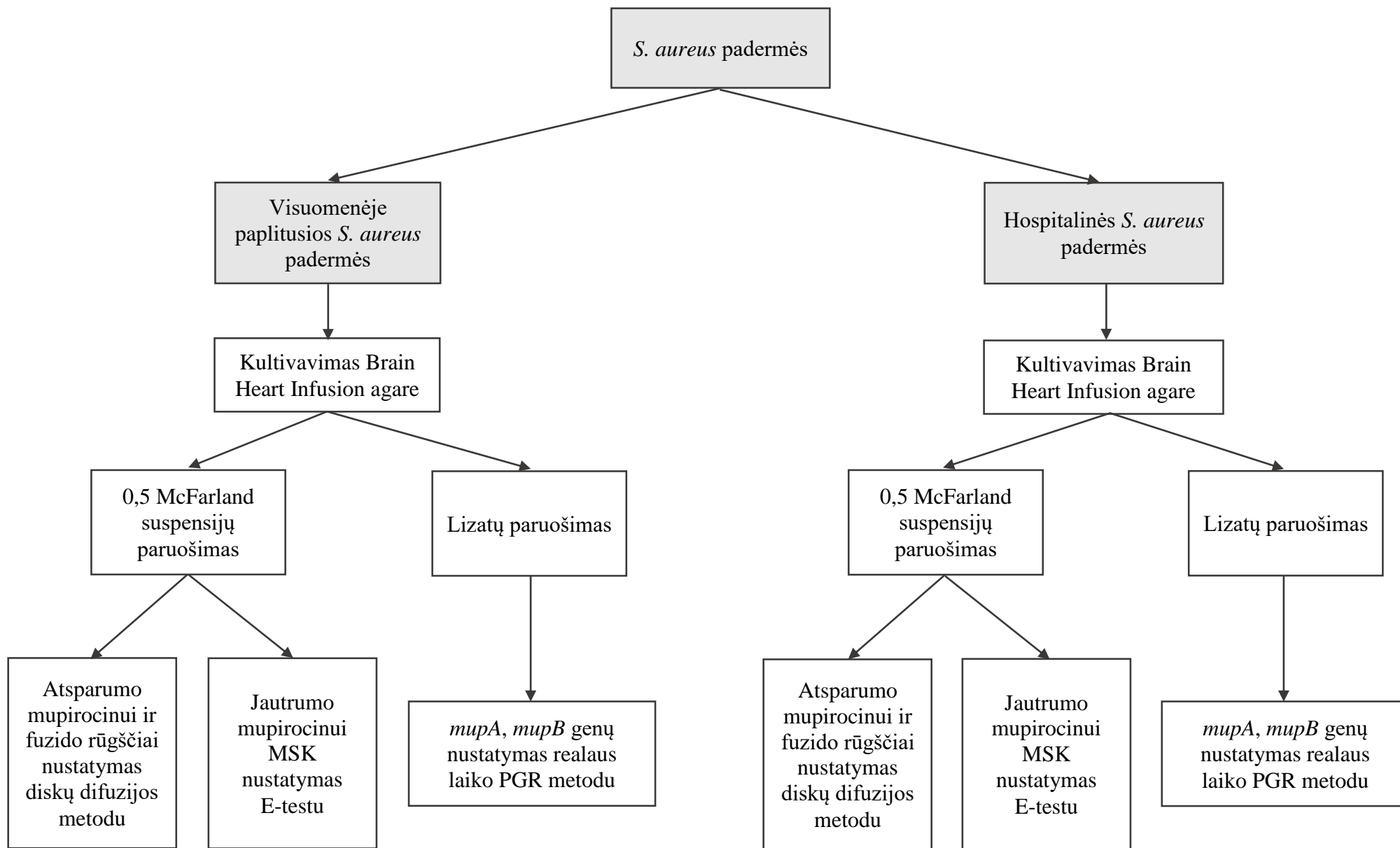
**6 lentelė.** Realus laiko PGR etapai ir sąlygos

Reakcijos etapai	Sąlygos
Pradinė denatūracija	95 °C 10 min.
Denatūracija	95 °C 20 sek.
Pradmens prilipimas ir elongacija	55 °C 1 min.
Ciklų skaičius	40

*S. aureus* padermių antimikrobinio atsparumo nustatymo metodus apjungianti tyrimo schema pavaizduota 10 paveiksle.

## 2.9. Duomenų analizė

Tyrimo metu gautų duomenų apdorojimas, analizė ir grafinis rezultatų vaizdavimas atliktas naudojant „Microsoft Office Excel 2016“ kompiuterinę programą.



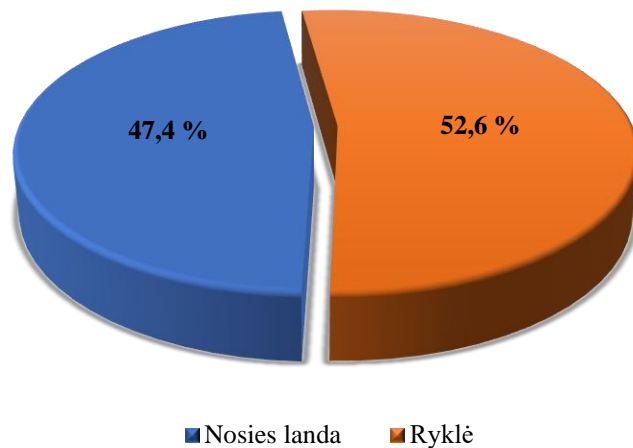
**10 pav.** Bendra tyrimo atlikimo schema nustatant *S. aureus* padermių jautrumą antimikrobinėms medžiagoms.

### 3. TYRIMO REZULTATAI

#### 3.1. Tiriamų *Staphylococcus aureus* padermių imties charakteristika

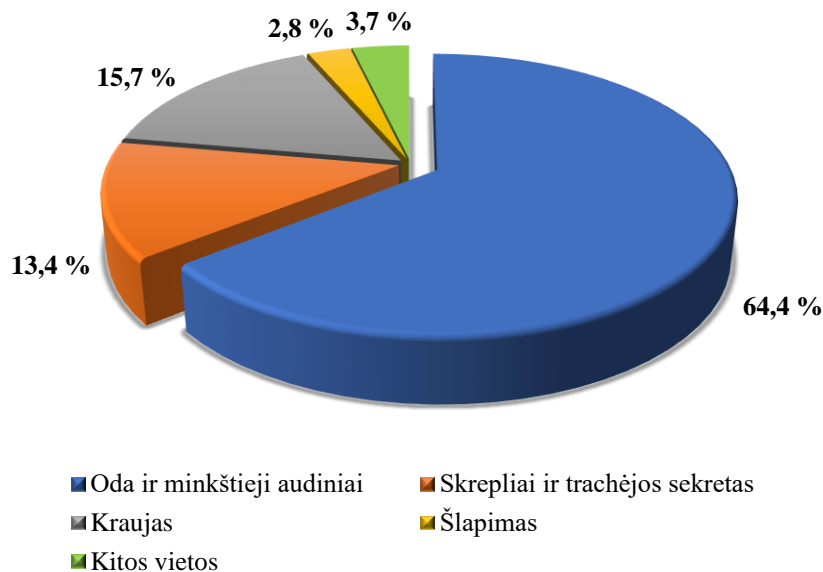
Tyrimo metu ištirtos 408 fenotipiškai skirtingos *S. aureus* padermės. Iš jų, 192 (47,1 proc.) *S. aureus* izoliatai išskirti 2018–2019 m. iš visuomenės respondentų grupės ėminių, likusieji – 216 (52,9 proc.) *S. aureus* izoliatų, išskirti tais pačiais metais (2018–2019 m.) iš hospitalizuotų pacientų ėminių.

Visuomenėje cirkuliuojančios *S. aureus* padermės (n = 192) išskirtos iš ėminių, paimtų iš sveikų nešiotųjų nosies landų (n = 91, 47,4 proc.) ir ryklės lankų (n = 101, 52,6 proc.). *S. aureus* padermių pasiskirstymas tarp ėminių, paimtų iš nosies landų ir ryklės lankų, pavaizduotas 11 paveiksle.



**11 pav.** *S. aureus* padermių, išskirtų iš visuomenės respondentų nosies landų ir ryklės, pasiskirstymas.

Hospitalinės *S. aureus* padermės (n = 216) išskirtos iš penkių klinikinės medžiagos ėminių grupių: odos ir minkštųjų audinių (n = 139, 64,4 proc.), skreplių ir trachėjos sekreto (n = 29, 13,4 proc.), kraujo (n = 34, 15,7 proc.), šlapimo (n = 6, 2,8 proc.) ir kitų ėminių / ėminių paėmimo vietų: reprodukcinės sistemos organų, pilvaplėvės ertmės, motinos pieno, sąnario ertmės, protezų, išmatų, smegenų skysčio ir kt. (n = 8, 3,7 proc.) (12 pav.). Procentiniu atžvilgiu vyravo padermės, išskirtos iš odos ir minkštųjų audinių tiriamųjų medžiagų: trofinių opų, diabetinės pėdos, pragulų, pūlinių, pooperacinių žaizdų. *S. aureus* izoliatai, išskirti iš skreplių ir trachėjos sekreto, bei izoliatai, išskirti iš kraujo, sudarė panašią dalį tarp tirtų hospitalinių padermių (atitinkamai 13,4 proc., 29/216 ir 15,7 proc., 34/216).

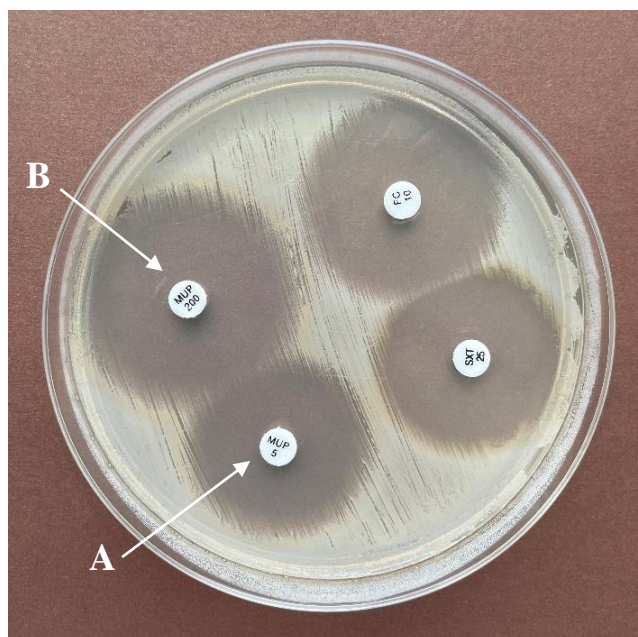


**12 pav.** *S. aureus* padermių, išskirtų iš skirtingų klinikinių medžiagų, pasiskirstymas.

### **3.2. *Staphylococcus aureus* padermių atsparumas antibakterinėms medžiagoms**

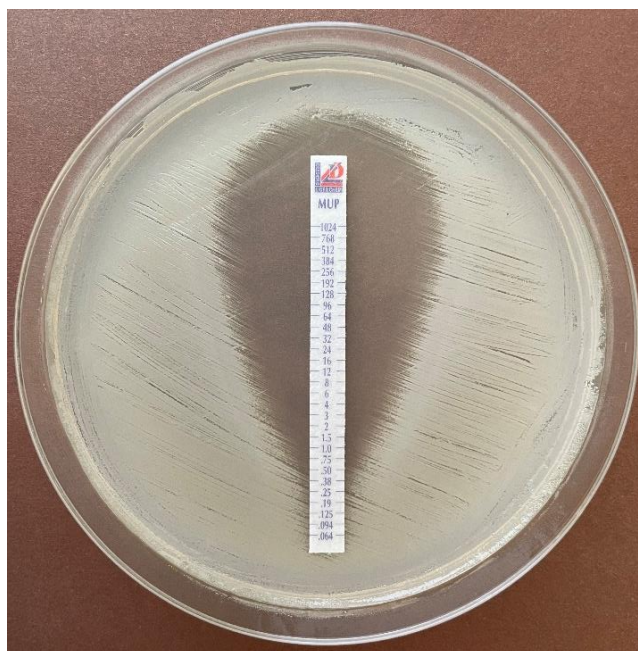
Tyrimo metu tirtas visų (n = 408) *S. aureus* padermių, išskirtų iš sveikų nešiotojų ir hospitalizuotų pacientų grupių, atsparumas mupirocinui ir kitam *S. aureus* dekolonizacijai naudojamam antibakteriniam preparatui – fuzido rūgščiai.

Siekiant nustatyti visų 408 *S. aureus* padermių aukšto ir žemo lygio atsparumą mupirocinui, atlikti diskų difuzijos ir minimalios slopinamosios koncentracijos nustatymo testai. Analizuojant diskų difuzijos metodu gautus rezultatus nenustatyta nei viena mupirocinui atspari visuomenėje paplitusi ar klinikinė *S. aureus* padermė (0 proc.), t.y. visi *S. aureus* izoliatai pasižymėjo jautrumu tiek 5 µg, tiek 200 µg mupirocino diskams. Vienos iš tirtų *S. aureus* padermių antibiotikograma pavaizduota 13 paveiksle.



**13 pav.** Diskų difuzijos metu gauti rezultatai. A – mupirocino 5  $\mu\text{g}$  *S. aureus* augimo inhibicijos zona; B – mupirocino 200  $\mu\text{g}$  *S. aureus* augimo inhibicijos zona. Nuotrauka iš asmeninio autoriaus archyvo.

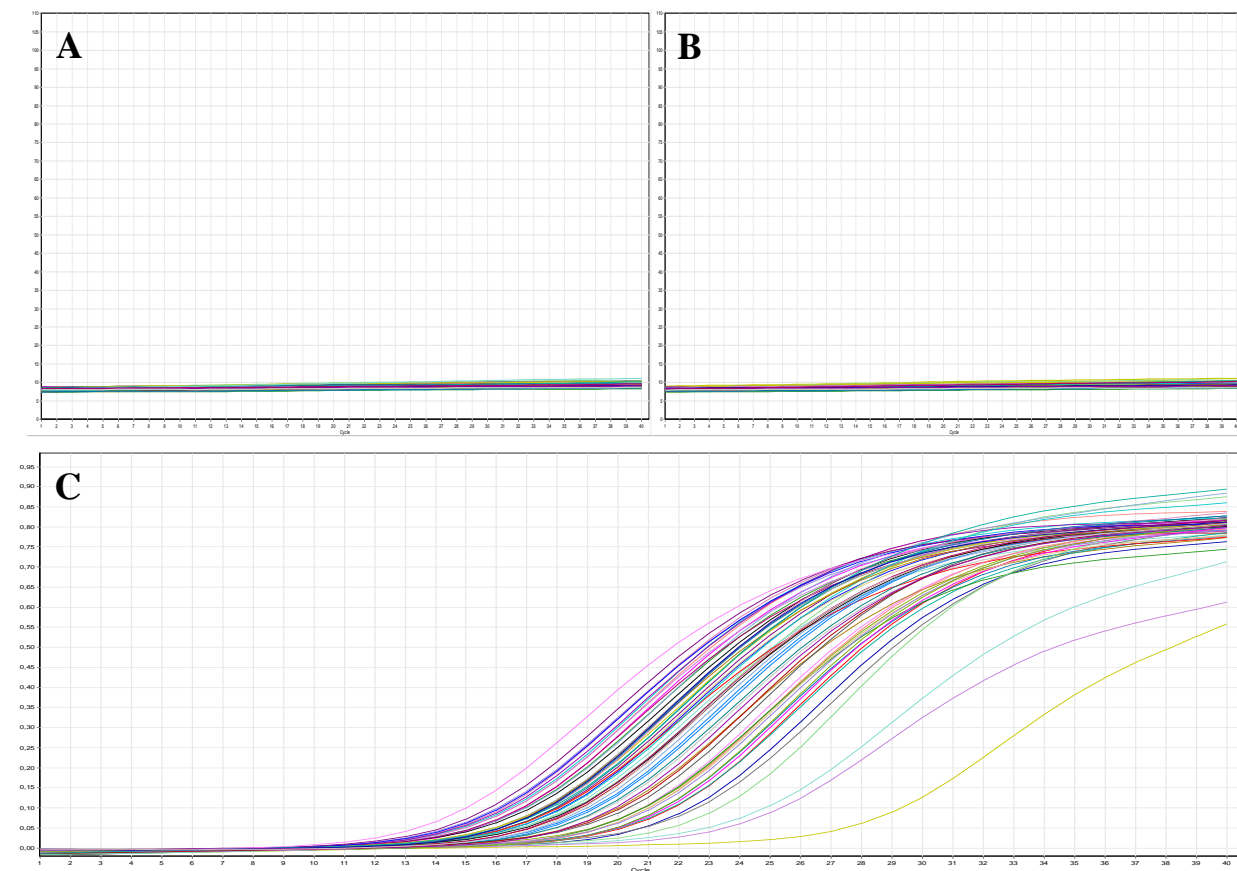
Jautrumo tyrimo rezultatų patvirtinimui ir minimalios slopinamosios koncentracijos nustatymui naudotos E-testo juostelės. MSK nustatymo testo rezultatai patvirtino visų *S. aureus* padermių ( $n = 408$ , 100 proc.), išskirtų iš hospitalizuotų pacientų klinikinių ėminių ir visuomenės respondentų nosies landų bei ryklės, jautrumą mupirocinui (14 pav.). Visų tirtų 408 *S. aureus* padermių inhibicijos zonos buvo  $\leq 4$  mg/l.



**14 pav.** Gradientu metodu gauti rezultatai. Nuotrauka iš asmeninio autoriaus archyvo.

Tyrimo metu, atliekant realaus laiko PGR metodą, siekta nustatyti ir atsparumą mupirocinui koduojančių genų, *mupA* bei *mupB*, buvimą paruoštuose *S. aureus* supernatantuose.

Atlikus genų paiešką ir įvertinus visų tirtų *S. aureus* DNR amplifikacijos kreives, *mupA* ir *mupB* genų nustatyta nebuvo (0 proc.). Tirtų genų amplifikacijos kreivės matomos 15 paveiksle.

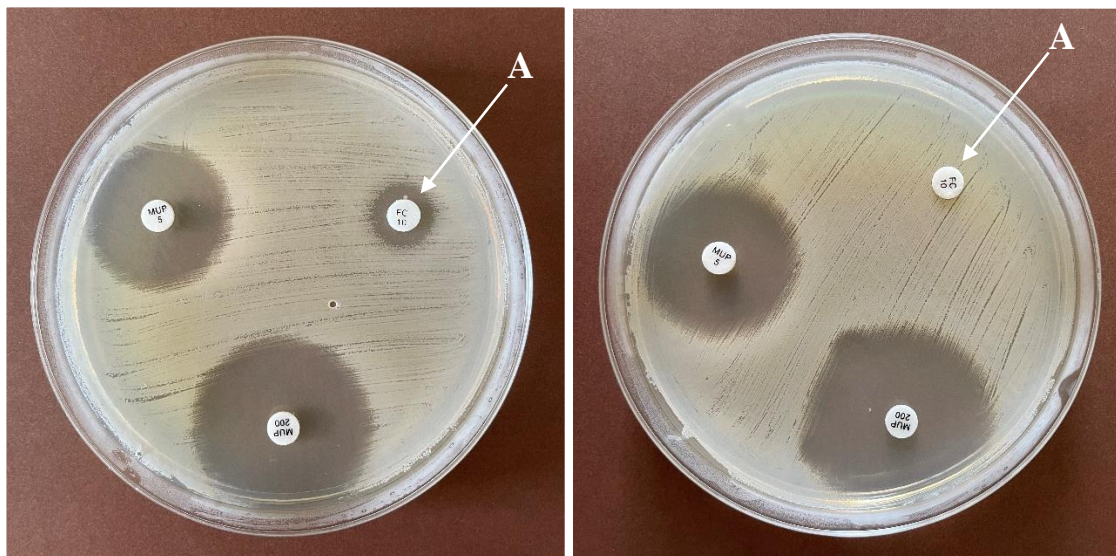


**15 pav.** Tirtų genų nustatymo vizualizacija, matoma *Rotor-Genes Q Software* programoje. A – *mupA* geno nustatymas; B – *mupB* geno nustatymas; C – 16S rRNR kontrolė.

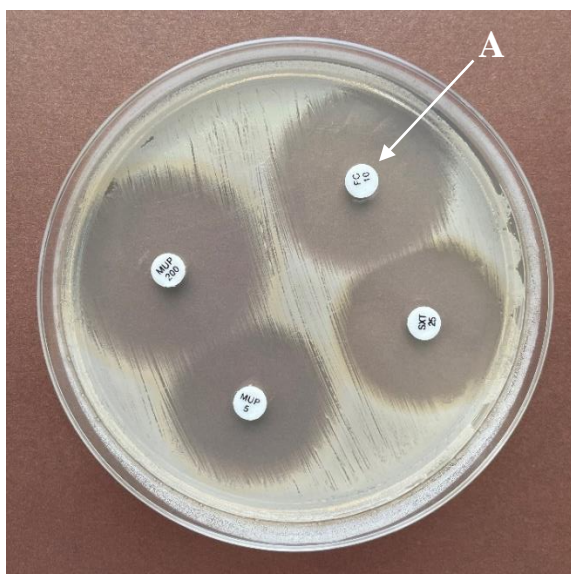
Siekiant palyginti *S. aureus* padermių atsparumą mupirocinui su atsparumu kitam eradikacijai naudojamam antibiotikui – fuzido rūgščiai, panaudoti ne tik mupirocinu, bet ir fuzido rūgštimi impregnuoti diskai. Iš visų visuomenėje paplitusių ir hospitalinių *S. aureus* padermių nustatyta 3,7 proc. (15/408) fuzido rūgščiai atsparių *S. aureus* izoliatų (16 pav.). Iš kurių, keturi fuzido rūgščiai atsparūs *S. aureus* izoliatai aptikti visuomenės respondentų ėminiuose ir procentiškai sudarė 2,1 proc. (4/192) tirtų visuomenėje paplitusių *S. aureus* padermių. Nustatyta, kad 1,0 proc. (2/192) fuzido rūgščiai atsparių padermių išskirta iš tiriamosios medžiagos, paimtos iš tirtųjų nosies landų, o 0,5 proc. (1/192) atsparių padermių – iš ryklės. Viena fenotipiškai vienoda *S. aureus* padermė išskirta iš visuomenės respondento nosies landų ir gerklės (0,5 proc., 1/192). Tiriant kliniškes *S. aureus* padermes, nustatyta, kad 11 jų buvo atsparios fuzido rūgščiai, procentiškai tai sudarė 5,1 proc. (11/216) hospitalinių *S. aureus* izoliatų. Didžioji dauguma fuzido rūgščiai atsparių hospitalinių *S. aureus* padermių išskirta iš odos ir minkštųjų audinių (3,7 proc., 8/216), mažesnė dalis – iš skreplių ir trachėjos sekreto (0,9 proc., 2/216) bei kraujo (0,5 proc., 1/216). Fuzido rūgščiai atsparių *S. aureus* padermių, išskirtų iš šlapimo ir kitų klinikinių ėminių,



nenustatyta (0 proc.). Vienos iš tirtųjų, fuzido rūgščiai jautrių *S. aureus* padermių, antibiotikograma pateikta 17 paveiksle.



**16 pav.** Kelios iš diskų difuzijos metu gautų fuzido rūgščiai atsparių *S. aureus* padermių antibiotikogramų. A – fuzido rūgšties 10  $\mu$ g *S. aureus* augimo inhibicijos zona. Nuotraukos iš asmeninio autoriaus archyvo.



**17 pav.** Viena iš diskų difuzijos metu gautų fuzido rūgščiai jautrių *S. aureus* padermių antibiotikogramų. A – fuzido rūgšties 10  $\mu$ g *S. aureus* augimo inhibicijos zona. Nuotrauka iš asmeninio autoriaus archyvo.

Hospitalinių *S. aureus* padermių, išskirtų iš skirtingų klinikinės medžiagos ėminių, atsparumo mupirocinui ir fuzido rūgščiai rezultatai pateikti 7 lentelėje, o visuomenėje cirkuliuojančių *S. aureus* padermių, išskirtų iš sveikų nešiotųjų nosies landų ir (arba) ryklės, atsparumo antibiotikams rezultatai atsispindi 8 lentelėje.

**7 lentelė.** Klinikinių *S. aureus* padermių atsparumo mupirocinui ir fuzido rūgščiai pasiskirstymas tarp skirtingų ėminių

Antimikrobinė medžiaga	Klinikinės medžiagos ėminių grupės					
	Oda ir minkštieji audiniai	Skrepliai ir trachėjos sekretas	Kraujas	Šlapimas	Kiti klinikiniai ėminiai	Iš viso
	n (proc.)	n (proc.)	n (proc.)	n (proc.)	n (proc.)	n (proc.)
Mupirocinas	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Fuzido rūgštis	8 (3,7)	2 (0,9)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	11 (5,1)

Pastaba: n – atsparių *S. aureus* padermių skaičius

**8 lentelė.** Visuomenėje paplitusių *S. aureus* padermių atsparumo mupirocinui ir fuzido rūgščiai pasiskirstymas tarp skirtingų ėminių

Antimikrobinė medžiaga	Visuomenės respondentų grupės ėminiai			
	Nosies landa	Ryklė	Nosies landa ir ryklė	Iš viso*
	n (proc.)	n (proc.)	n (proc.)	n (proc.)
Mupirocinas	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Fuzido rūgštis	2 (1,0)	1 (0,5)	1 (0,5)**	4 (2,1)

Pastaba: n – atsparių *S. aureus* padermių skaičius

\* – bendras fenotipiškai skirtingų padermių skaičius

\*\* – fenotipiškai vienoda padermė, išskirta iš visuomenės respondento nosies landos ir ryklės

## 4. REZULTATŲ APTARIMAS

Tyrimo metu siekta nustatyti visuomenėje paplitusių ir klinikinių *S. aureus* padermių atsparumą mupirocinui bei atsparumą koduojančius genus.

Literatūros šaltinių paieška atlikta siekiant sukurti teorinį pagrindą tyrimui atlikti. Tam naudoti internetinių duomenų bazių PubMed, Google Scholar ir kitų atviros prieigos internetinių šaltinių duomenys. Pirmenybė teikta moksliniams straipsniams, publikuotiems ne anksčiau nei prieš penkerius metus nuo skaitymo datos, taip pat didesnis dėmesys teiktas tyrimams, atliktiems Europos šalyse. Atrinkti moksliniai straipsniai išanalizuoti bei susisteminti, įvertintas jų patikimumas ir aktualumas pasirinktai baigiamojo darbo temai. Dalis statistinių duomenų pateikta remiantis informacija iš temą atitinkančios srities atlasų. Tyrimui atlikti naudotasi *EUCAST* (versija 12.0) pateiktomis rekomendacijomis.

Literatūros duomenimis, *S. aureus* išlieka vienu reikšmingiausių oportunistinių patogenų ligoninėje ir visuomenėje, galinčiu užkrėsti daugelį šeiminingo audinių ir sukelti įvairias infekcijas: nuo santykinai lengvų paviršinių audinių pažeidimų (folikulitas, karbunkuliozė, furunkuliozė ir kt.) iki sudėtingų invazinių infekcijų su skirtingomis klinikinėmis išraiškomis ar net letaliomis baigtimis (bakteriemijs, endokarditas, osteomielitas, pneumonija, toksinio šoko sindromas ir kt.). *S. aureus* infekcijoms išvengti naudojami skirtingi antibakteriniai vaistiniai preparatai (3,64). Dėl nepaliamajai augančio antibiotikams atsparių MASA sukeltų infekcijų skaičiaus, efektyvios antimikrobinės terapijos trūkumo bei vis didėjančių sveikatos priežiūros išlaidų, *S. aureus* eradikacijai pasaulyje pradėtas naudoti antibiotikas mupirocinas (16,17). Vaistiniai preparatai, sudėtyje turintys veikliosios medžiagos – mupirocino, nėra įrašyti į LR vaistinių preparatų registrą, tačiau yra registruoti daugelyje kitų Europos ekonominės erdvės valstybių. Lietuvoje mupirocinas gali būti skiriamas, tiekiamas bei parduodamas kaip vardinis vaistinis preparatas pavieniams pacientams (18,19).

Šiame retrospektyviniame tyrime ištirtos 2018–2019 m. surinktos visuomenėje paplitusios ir hospitalinės *S. aureus* padermės. Hospitalinės *S. aureus* padermės sudarė šiek tiek didesnę tirtų izoliatų dalį (52,9 proc., 216/408) nei visuomeninės *S. aureus* padermės (47,1 proc., 192/408). Panašaus pobūdžio tyrime, atliktame 2017–2021 m. Italijoje, daugiausia ištirtų *S. aureus* padermių buvo visuomeninės – 60,0 proc., tuo tarpu klinikinės padermės sudarė mažesnę dalį – 40,0 proc. Kaip ir šiame darbe, taip ir Italijos mokslininkų tyrime, didžioji dalis (atitinkamai 64,4 proc. ir 57,6 proc.) į tyrimą įtrauktų klinikinių *S. aureus* padermių išskirtos iš odos ir minkštųjų audinių ėminių (121).

Žinoma, kad *S. aureus* padermės pasižymi gebėjimu greitai įgyti atsparumą dažnai vartojamiems antibakteriniams vaistiniams preparatams. Šio tyrimo metu ištyrus 408 (216 –

klinikinių, 192 – visuomenėje paplitusias) fenotipiškai skirtingas *S. aureus* padermes tiek diskų difuzijos, tiek gradiento metodu nustatyta, kad 100 proc. tirtų padermių buvo jautrios mupirocinui. Tokie patys rezultatai gauti R. Sinkevič ir kt. (25) 2019–2020 m. atliktame tyrime, kurio metu išskirtų visuomeninių *S. aureus* padermių atsparumas mupirocinui siekė 0 proc., t.y. visos padermės pasižymėjo jautrumu mupirocinui. Tačiau minėtame tyrime, skirtingai nei šiame darbe, pasirinkta kitokia metodika: atsparumo mupirocinui nustatymui naudoti tik 200 µg tiriamosios antimikrobinės medžiagos diskai, nenaudoti 5 µg diskai žemo lygio atsparumui nustatyti, neatliktas jautrumo mupirocinui minimalios slopinamosios koncentracijos nustatymas, į tyrimą neįtraukta genų, koduojančių atsparumą mupirocinui, paieška, kurios metu galima nustatyti ir neaktyvius genus ar jų fragmentus, kurie, esant tiriamų antibiotikų fonui, gali aktyvuotis ar vienu iš bakterijų rekombinacijos būdų gali būti perduoti kitoms padermėms, taip susidarant naujoms, mupirocinui atsparioms bakterijoms. Paskutinių metų tyrimų rezultatai rodo, kad mupirocinui atsparių *S. aureus* padermių nešiojimo mastas pasaulyje svyruoja nuo 0 proc. iki 63,6 proc. ir skiriasi priklausomai nuo geografinio regiono bei tiriamųjų imties: Lenkijoje 8,1 proc. (7/86) (21), Vokietijoje 2,1 proc. (2/94) (122), Jungtinėje Karalystėje 11,0 proc. (24/218) (123), Brazilijoje 1,9 proc. (4/216) (124), Jungtinėse Amerikos Valstijose 1,5 proc. (1/65) (125), Kinijoje 10,1 proc. (46/457) (126), Irane 1,8 proc. (1/55) (127), Indijoje 4,0 proc. (10/247) (128), Ispanijoje 0,7 proc. (1/151) (129), Portugalijoje 63,6 proc. (28/44) (130), Prancūzijoje 0 proc. (0/73) (11), Austrijoje 0 proc. (0/25) (131), Švedijoje 0 proc. (0/291) (15). Analizuojant mokslinius straipsnius, publikuotus ne anksčiau nei prieš penkerius metus, nebuvo identifikuota panašaus tipo *S. aureus* padermių atsparumo mupirocinui nustatymo tyrimų, atliktų kaimyninėse Baltijos šalyse: Latvijoje ir Estijoje. 2008–2016 m. J. Enström ir kt. (15) Švedijoje atlikto tyrimo duomenimis, ištyrus 291 *S. aureus* izoliatą, nustatyta, kad visi jie jautrūs mupirocinui. Tokie patys antimikrobinio jautrumo rezultatai stebimi ir Prancūzijoje bei Austrijoje atliktuose tyrimuose, kuriuose nenustatyta mupirocinui atsparių *S. aureus* padermių (11,131). Taip gali būti dėl to, kad mupirocinas minėtose šalyse, kaip ir Lietuvoje, nėra registruotas, jį sunkiau įsigyti, jis rečiau naudojamas stafilokokinių infekcijų gydymui. Tačiau Portugalijos mokslininkų atliktas tyrimas atskleidė itin didelį mupirocinui atsparių *S. aureus* padermių, išskirtų iš benamių nosies landų, paplitimą, kuris siekė 63,6 proc. (28/44). Manoma, jog tai lėmė dažnas mupirocino skyrimas priešoperacinei *S. aureus* dekolonizacijai Portugalijos ligoninėse (130). R. Nicolas ir kt. (11) Prancūzijoje atlikto tyrimo duomenimis, ištyrus 73 *S. aureus* izolatus nenustatyta mupirocinui atsparių *S. aureus* padermių. Nors ir buvo atlikta priešoperacinė *S. aureus* dekolonizacija mupirocino tepalu, 26,0 proc. (19/73) pacientų eradikacija buvo nesėkminga ir iš nosies landų pooperacinių ėminių išskirtas *S. aureus*. Autorių duomenimis, didžiojoje dalyje nesėkmingai eradikuotų pooperacinių ėminių (89,5 proc., 17/19) aptikta *S. aureus* padermių dėl dekolonizacijos schemos nesilaikymo. Manoma, jog

dviejuose ėminiuose (10,5 proc., 2/19) *S. aureus* nepavyko eradikuoti dėl tarpląstelinio *S. aureus* rezervuaro, kurio į nosies šnerves aplikotas ir vietiskai veikiantis mupirocino tepalas negalėjo pasiekti. Galima daryti prielaidą, jog *S. aureus* padermių atsparumo mupirocinui testų atlikimas neužtikrina sėkmingos mupirocinui jautrių *S. aureus* padermių eradikacijos mupirocinu, o pooperacinis *S. aureus* nešiojimas didina *S. aureus* sukeliamų infekcijų riziką.

Įrodyta, jog didelį *S. aureus* atsparumą mupirocinui lemia nekontroliuojamas / rutininis mupirocino vartojimas. Sparčiai didėjantis *S. aureus* padermių atsparumas mupirocinui įvairiose šalyse kelia mokslininkų susirūpinimą (107). J. Allport ir kt. (132) atliktos retrospektyvinės 2013–2019 metų kohortinės studijos duomenimis, priešoperacinei profilaktikai (MJA dekolonizavimui) intranazaliai naudojamo mupirocino efektyvumas siekė 89,1 proc., t.y. *S. aureus* padermės sėkmingai eradikuotos iš 622/698 nešiotųjų nosies šnervių.

Šiame tyrime atlikta *S. aureus* atsparumą mupirocinui koduojančių genų (*mupA* ir *mupB*) paieška. Atlikus realaus laiko polimerazės grandininę reakciją su visomis 408 *S. aureus* padermėmis, gauta, kad nei vienas izoliatas, iš tirtųjų, savo DNR sekoje neturėjo *mupA* ir (arba) *mupB* geno. Įrodyta, kad *mupA* arba *mupB* geno įgijimas *S. aureus* bakterijoms suteikia aukšto lygio atsparumą mupirocinui, tuo tarpu žemo lygio atsparumą lemia taškinės mutacijos *mupA* gene. T. Bes ir bendraautorių (124) tyrime nustatyta 1,9 proc. (4/216) mupirocinui atsparių MASA padermių, išskirtų iš klinikinės medžiagos. Tiek šiame tyrime, tiek Brazilijos mokslininkų darbe tirtas vienodas skaičius (n = 216) klinikinių *S. aureus* padermių. Taikant dauginę PGR ir naudojant specifines pradmenų poras, gauta, kad visos keturios Brazilijos tyrime analizuotos, mupirocinui atsparios *S. aureus* padermės turėjo *mupA*, *blaZ* genus, dvi iš jų – *ileS* geną, tačiau nei vienoje iš jų *mupB* geno aptikta nebuvo. Autorių duomenimis, tyrimui pasirinktoje Brazilijos ligoninėje nėra taikoma rutininė MASA dekolonizacijos praktika, tačiau anksčiau, MASA protrūkio metu, tokia strategija buvo vykdoma naujagimių intensyvios terapijos skyriuose. Lietuvos klinikinėje praktikoje priešoperacinė patikra dėl *S. aureus* nešiojimo nėra vykdoma rutiniškai. 2022 m. rugpjūčio mėn. HI parengtose metodinėse rekomendacijose „Operacinių žaizdų infekcijų prevencija“ rekomenduojama pacientams, žinomiems kaip *S. aureus* nešiotojai nosies šnervėse, prieš širdies ir ortopedines operacijas atlikti *S. aureus* eradikaciją 2 proc. mupirocino tepalu su arba be kūno prausimo chlorheksidino gliukonato tirpalu. Taip pat siūloma apsvarstyti dekolonizacijos mupirocinu poreikį prieš kitas operacijas, atkreipiant dėmesį į procedūros pobūdį, individualius rizikos veiksnius ir galimos infekcijos žalą (133). Nors šio tyrimo duomenimis atsparumo mupirocinui atvejų nenustatyta, žinoma, jog dažnas ir iracionalus mupirocino skyrimas prieš chirurgines operacijas gali tapti priežastimi mupirocinui atsparioms padermėms atsirasti ir šioms plisti, todėl būtina įvertinti galimus *S. aureus* dekolonizacijos padarinius. A. Shittu ir kt. (134) sisteminės metaanalizės duomenimis, tik 22,2 proc. (12/54) Afrikos šalių taikyta

mupirocinui atsparių *S. aureus* izoliatų stebėjimo sistema (nešiotojų nustatymas), o bendras mupirocinui atsparių MASA padermių dažnis siekė net 14,0 proc. Autoriai rekomendavo prieš skiriant mupirociną sveikatos priežiūros įstaigų pacientams atlikti atsparumo antimikrobinėms medžiagoms nustatymo tyrimus.

Nors užsienio šalyse intranazaliai naudojamas mupirocino tepalas yra plačiai ištirtas ir veiksmingas medikamentas prieš *S. aureus* kolonizaciją nosies landose, atsižvelgiant į atsparumo mupirocinui riziką, reikalingi alternatyvūs *S. aureus* dekolonizacijos būdai (107). Literatūros duomenimis pastebima, kad dažnai varijuojama tarp *S. aureus* eradikacijai paskiriamo gydymo vietiskai naudojamomis antimikrobinėmis medžiagomis: mupirocinu ir fuzido rūgštimi. Y. Yoo ir kt. (135) Pietų Korėjoje atliktame tyrime viena iš keturių MASA padermių, išskirtų iš sveikatos priežiūros specialistų, pasižymėjo atsparumu vietiskai naudojamam mupirocino tepalui. Po nesėkmingos *S. aureus* eradikacijos mupirocinu, dekolonizacijai pasirinktas fuzido rūgšties tepalas išnaikino bakterijas iš tiriamųjų nosies šnervių.

Šio tyrimo metu siekta palyginti tirtų *S. aureus* padermių atsparumo duomenis Lietuvoje neregistruotam preparatui – mupirocinui su atsparumo duomenimis Lietuvoje registruotam ir klinikinėje praktikoje plačiau naudojamam antimikrobiniam vaistui. Tam pasirinkta fuzido rūgštis. Vaistinių preparatų informacinės sistemos (VAPRIS) duomenimis, ne vienas receptinis vaistinis preparatas, kurio veiklioji medžiaga ar viena iš veikliųjų medžiagų – fuzido rūgštis, yra registruotas LR vaistinių preparatų registre arba įtrauktas į lygiagrečiai importuojamų vaistinių preparatų sąrašą (117).

Atlikto tyrimo rezultatai atskleidė, jog *S. aureus* izoliatų atsparumas fuzido rūgščiai išlieka aktualia problema ne tik Lietuvos sveikatos sektoriuje, bet ir visuomenėje. Į atsparumo fuzido rūgščiai nustatymo tyrimą įtraukti visi 408 *S. aureus* izoliatai. Atlikus diskų difuzijos metodą nustatyta 3,7 proc. (15/408) fuzido rūgščiai atsparių *S. aureus* izoliatų: 2,1 proc. (4/192) jų – tarp visuomeninių padermių ir 5,1 proc. (11/216) – tarp klinikinių. Pastebėta, kad didžioji dalis fuzido rūgščiai atsparių izoliatų išskirta iš klinikinių ėminių. Visi fuzido rūgščiai atsparūs izoliatai pasižymėjo jautrumu mupirocinui, todėl tyrimo metu nenustatyta atsparumu abiems antimikrobinėms medžiagoms pasižyminčių *S. aureus* padermių. A. Kirkliauskienės ir kt. (81) 2017–2018 m. atliktame tyrime nagrinėtas klinikinių *S. aureus* padermių atsparumas fuzido rūgščiai. Tyrimo metu gauta mažesnė fuzido rūgščiai atsparių hospitalinių *S. aureus* izoliatų dalis nei šio darbo tyrime ir ji siekė 3,8 proc. (14/364). Tikėtina, kad tyrimų rezultatų skirtumus galėjo lemti skirtingais metais surinktų *S. aureus* padermių naudojimas bei didesnis tirtų klinikinių *S. aureus* izoliatų skaičius A. Kirkliauskienės ir kitų autorių atliktame darbe. Jau minėtoje R. Sinkevič ir kt. (25) 2019–2020 m. studijoje, ištyrus *S. aureus* padermes, surinktas iš pirmo ir trečio kurso medicinos studentų nosies šnervių bei ryklės, nustatytas dar didesnis, 9,3 proc.

(10/107) siekiantis, fuzido rūgščiai atsparių padermių kiekis. Palyginus šio darbo ir dviejų Lietuvoje atliktų tyrimų rezultatus, galima daryti prielaidą, jog fuzido rūgščiai atsparių *S. aureus* paplitimas priklauso nuo tiriamųjų populiacijos ir ją veikiančių rizikos veiksnių. Literatūroje nurodoma, kad didesnę fuzido rūgščiai atsparių *S. aureus* kolonizacijos laipsnį lemia dažnos hospitalizacijos, darbas arba klinikinė praktika sveikatos priežiūros sektoriuje. Airijoje ištyrus ėminių, paimtus iš medicinos studentų nosies ertmių, nustatytas dar didesnis fuzido rūgščiai atsparių *S. aureus* nešiojimo mastas, siekiantis 22,6 proc. (31/137). Mokslininkų teigimu, didelis atsparumas susijęs su dažnu fuzido rūgšties vartojimu (136). B. Hajikhani ir kt. (110) autorių atliktos metaanalizės duomenimis, fuzido rūgščiai atsparių izoliatų pasiskirstymas tarp skirtingų šalių svyruoja nuo 3,4 proc. iki 8,8 proc. Mažiausias atsparių padermių paplitimas stebimas Lenkijoje atliktuose tyrimuose ir siekia 3,4 proc. (10/291), o didžiausias Norvegijoje – 8,8 proc. (12/136). Tačiau lyginant šiuos duomenis su anksčiau aptartu mupirocinui atsparių *S. aureus* padermių paplitimo dažniu skirtingose šalyse atliktuose tyrimuose (nuo 0 proc. iki 63,6 proc.), fuzido rūgščiai atsparių padermių pasiskirstymas tarp skirtingų valstybių svyruoja gerokai mažiau ir išlaiko gana tolygią procentinę vertę (3,4 proc. – 8,8 proc.).

## 5. IŠVADOS

1. Visuomenėje cirkuliuojančioms *S. aureus* padermėms nenustatytas aukšto ir (arba) žemo lygio atsparumas mupirocinui;
2. Klinikinių *S. aureus* padermių imtyje nenustatytas aukšto ir (arba) žemo lygio atsparumas mupirocinui;
3. Atsparumą mupirocinui koduojančių *mupA* ir *mupB* genų nenustatyta tarp visuomenėje cirkuliuojančių ir klinikinių *S. aureus* padermių;
4. Lyginant visuomenėje paplitusių ir hospitalinių *S. aureus* padermių atsparumą mupirocinui ir fuzido rūgščiai, atsparumas abiejose grupėse nustatytas tik fuzido rūgščiai. Hospitalinėms *S. aureus* padermėms būdingas didesnis atsparumas šiai antimikrobinei medžiagai.



## 6. REKOMENDACIJOS

1. Atlikto tyrimo rezultatai gali būti pritaikyti įgyvendinant antimikrobinėms medžiagoms atsparių mikroorganizmų ir hospitalinių infekcijų plitimo prevencijos ir kontrolės 2023–2027 metų veiksmų plano tikslus;
2. Mupirocino tepalas gali būti efektyviai naudojamas *S. aureus* padermių eradikacijai iš ligonių kvėpavimo takų prieš kardiologines ir ortopedines operacijas, taip pat rizikos grupėms priklausantiems pacientams (imunosupresiniams, hemodializuojamiems, intensyvios terapijos skyriuose gydomiems pacientams);
3. Sveikatos priežiūros įstaigoms, atliekančioms *S. aureus* dekolonizaciją mupirocinu, rekomenduojama atlikti išskirtų *S. aureus* padermių atsparumo mupirocinui stebėsenos tyrimus, nes dažnas vartojimas gali lemti mupirocinui atsparių *S. aureus* padermių atsiradimą ir sumažinti mupirocino veiksmingumą;
4. Siekiant įgyvendinti antimikrobinio atsparumo vystymosi bei neracionalaus ir nepagrįsto antimikrobinų medžiagų vartojimo raštingumo didinimo programas visuomenėje, rekomenduojama įtraukti informaciją apie bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms vystymosi mechanizmus;
5. Siekiant laiku suvaldyti stafilokokinių infekcijų protrūkius, rekomenduojama *S. aureus* nešiotųjų nustatymo testus atlikti sveikatos priežiūros specialistams bei studentams, dirbantiems arba atliekantiems praktikas gydymo įstaigose. Taip būtų galima parinkti efektyvų, laiku atliktą *S. aureus* eradikacijos metodą ir išvengti bakterinio užkrato pernešimo stacionariai arba ambulatoriškai gydomiems pacientams;
6. Sveikatos priežiūros specialistams rekomenduojama remtis atliktu tyrimu, siekiant išsiaiškinti *S. aureus* antimikrobinio atsparumo mupirocinui situaciją Lietuvoje, tiek visuomeniniame, tiek klinikiniame sektoriuje;
7. Rekomenduojama gerinti sveikatos priežiūros specialistų ir medicinos personalo žinias apie *S. aureus* bei kitų mikroorganizmų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms vystymosi mechanizmus, racionalaus antimikrobinų medžiagų vartojimo principus;
8. Remiantis atlikto tyrimo rezultatais, rekomenduojama apsvarstyti mupirocino įtraukimo į LR vaistinių preparatų registrą galimybes;
9. Kadangi tai vienas iš pirmųjų tyrimų Lietuvoje, kuriame nustatytas visuomenėje ir ligoninėje cirkuliuojančių *S. aureus* padermių atsparumas mupirocinui, atliktos studijos rezultatai gali būti naudingi būsimiems moksliniams tyrimams ar metaanalizėms atlikti;

10. Būsimų mokslinių tyrimų metu, nustatčius mupirocinui atsparias *S. aureus* padermes, rekomenduojama atlikti mupirocinui atsparių padermių nešiotojus veikiančių rizikos veiksnių analizę.

## **PADĖKA**

Norėčiau išreikšti nuoširdžią padėką darbo vadovei doc. dr. Agnei Kirkliauskienei už suteiktą galimybę atlikti tyrimą Mikrobiologijos skyriaus laboratorijoje ir sutikimą būti mano darbo vadove. Nuoširdžiai dėkoju už pagalbą pasirenkant aktualią magistro darbo temą, visapusišką pagalbą tiek tyrimo planavimo, organizavimo ir atlikimo, tiek baigiamojo darbo rašymo metu. Esu labai dėkinga už pasitikėjimą, kantrybę, vertingas diskusijas, pastabas ir nuoširdų bendradarbiavimą bei palaikymą.

Taip pat dėkoju Mikrobiologijos skyriaus laboratorijoje dirbančioms vyr. specialistėms Olgai Purakevič ir Halinai Gluchovienei už pagalbą atliekant paruošiamuosius laboratorinio tyrimo darbus, suteiktą techninę informaciją ir nuoširdų bendravimą.

Ačiū dr. Maksim Bratčikov už sukurtus pradmenis ir zondus polimerazės grandininės reakcijos metodui atlikti, vertingus patarimus, paskirtą laiką ir perduotas žinias.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Cheung GYC, Bae JS, Otto M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*. 2021 Dec 31;12(1):547–69.
2. Laux C, Peschel A, Krismer B. *Staphylococcus aureus* Colonization of the Human Nose and Interaction with Other Microbiome Members. *Microbiology Spectrum*. 2019 Apr 19;7(2):7.2.34.
3. Taylor TA, Unakal CG. *Staphylococcus Aureus*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cited 2023 Jan 17]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
4. Chmielowiec-Korzeniowska A, Tymczyna L, Wlazło Ł, Nowakowicz-Dębek B, Trawińska B. *Staphylococcus aureus* carriage state in healthy adult population and phenotypic and genotypic properties of isolated strains. *Postepy Dermatol Alergol*. 2020 Apr;37(2):184–9.
5. Danelli T, Duarte FC, Oliveira TA de, Silva RS da, Frizon Alfieri D, Gonçalves GB, et al. Nasal Carriage by *Staphylococcus aureus* among Healthcare Workers and Students Attending a University Hospital in Southern Brazil: Prevalence, Phenotypic, and Molecular Characteristics. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. 2020 Dec 4;2020:e3808036.
6. R D, Khanum S, R SS, A T, Prasad N, V RB. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriage among health care personnel in nonoutbreak settings in tertiary care hospital in Mysore. *American Journal of Infection Control*. 2021 Dec 1;49(12):1499–502.
7. Shih HI, Chang CM, Shen FC, Lee YJ, Wu CH, Hsu HC, et al. High prevalence nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among long term care facility healthcare workers in relation to patient contact. *Infection Prevention in Practice*. 2021 Mar 1;3(1):100117.
8. Conceição T, de Lencastre H, Aires-de-Sousa M. Carriage of *Staphylococcus aureus* among Portuguese nursing students: A longitudinal cohort study over four years of education. *PLoS One*. 2017;12(11):e0188855.
9. Genc O, Arikan I. The relationship between hand hygiene practices and nasal *Staphylococcus aureus* carriage in healthcare workers. *Med Lav*. 2020;111(1):54–62.
10. Bendroji informacija - Higienos institutas [Internet]. [cited 2023 Jan 17]. Available from: <https://www.hi.lt/lt/bendroji-informacija.html>

11. Nicolas R, Carricajo A, Morel J, Rigail J, Grattard F, Guezzou S, et al. Evaluation of effectiveness and compliance with the mupirocin nasal ointment part of *Staphylococcus aureus* decolonization in real life using UPLC-MS/MS mupirocin quantification. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2020 Jun 1;75(6):1623–30.
12. Munch-Petersen E, Boundy C. Yearly incidence of penicillin-resistant staphylococci in man since 1942. *Bull World Health Organ*. 1962;26(2):241–52.
13. Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020 Mar 17;10:107.
14. Antimicrobial resistance [Internet]. [cited 2022 Nov 8]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
15. Enström J, Fröding I, Giske CG, Ininbergs K, Bai X, Sandh G, et al. USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Stockholm, Sweden, from 2008 to 2016. *PLOS ONE*. 2018 Nov 7;13(11):e0205761.
16. Khoshnood S, Heidary M, Asadi A, Soleimani S, Motahar M, Savari M, et al. A review on mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of mupirocin against *Staphylococcus aureus*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019 Jan 1;109:1809–18.
17. Dadashi M, Hajikhani B, Darban-Sarokhalil D, van Belkum A, Goudarzi M. Mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus*: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2020 Mar 1;20:238–47.
18. Vartotojui - tik saugūs ir efektyvūs vaistai! - Parduotų vardinių vaistinių preparatų pakuočių kiekis [Internet]. [cited 2022 Nov 11]. Available from: <https://www.vvkt.lt/index.php?2631586640>
19. V-374 Dėl Vardinių vaistinių preparatų įsigijimo taisyklių patvirtinimo [Internet]. [cited 2023 Feb 6]. Available from: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.255896/asr>
20. Antonov NK, Garzon MC, Morel KD, Whittier S, Planet PJ, Lauren CT. High Prevalence of Mupirocin Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolates from a Pediatric Population. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2015 May 14;59(6):3350–6.
21. Masiuk H, Weisłek A, Jursa-Kulesza J. Determination of nasal carriage and skin colonization, antimicrobial susceptibility and genetic relatedness of *Staphylococcus aureus* isolated from patients with atopic dermatitis in Szczecin, Poland. *BMC Infect Dis*. 2021 Jul 23;21(1):701.

22. Chen W, He C, Yang H, Shu W, Cui Z, Tang R, et al. Prevalence and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with mupirocin, fusidic acid and/or retapamulin resistance. *BMC Microbiology*. 2020 Jun 29;20(1):183.
23. Huang SS, Singh R, McKinnell JA, Park S, Gombosev A, Eells SJ, et al. Decolonization to Reduce Postdischarge Infection Risk among MRSA Carriers. *New England Journal of Medicine*. 2019 Feb 14;380(7):638–50.
24. Miller LG, Singh R, Eells SJ, Gillen D, McKinnell JA, Park S, et al. Chlorhexidine and Mupirocin for Clearance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization After Hospital Discharge: A Secondary Analysis of the Changing Lives by Eradicating Antibiotic Resistance Trial. *Clinical Infectious Diseases*. 2022 May 31;ciac402.
25. Sinkevič R, Mikulevič J, Gluchovienė H, Kirkliauskienė A. Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto studentų tyrimas dėl *Staphylococcus aureus* nešiojimo, išskirtų padermių jautrumas antimikrobinėms medžiagoms | *Laboratorinė medicina*. 2022, t. 24, Nr. 1, p. 3-11.
26. V-192 Dėl Antimikrobinėms medžiagoms atsparių mikroorganizmų ir hospitalinių infekcijų plitimo prevenci... [Internet]. [cited 2023 Mar 5]. Available from: <https://www.e-tar.lt/portal/lt/legalAct/200be3d0a7b611ed8df094f359a60216>
27. Licitra G. Etymologia: *Staphylococcus*. *Emerg Infect Dis*. 2013 Sep;19(9):1553.
28. Shaw C, Stitt JM, Cowan STY 1951. *Staphylococci and their Classification*. *Microbiology*. 5(5):1010–23.
29. Cowan ST, Shaw C, Williams REOY 1954. Type Strain for *Staphylococcus aureus* Rosenbach. *Microbiology*. 10(1):174–6.
30. Skinner D, Keefer CS. Significance of bacteremia caused by *Staphylococcus aureus*: a study of one hundred and twenty-two cases and a review of the literature concerned with experimental infection in animals. *Archives of Internal Medicine*. 1941 Nov 1;68(5):851–75.
31. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature [Internet]. [cited 2022 Nov 25]. Available from: <https://lpsn.dsmz.de/search?word=staphylococcus>
32. Delmas J, Chacornac JP, Robin F, Giammarinaro P, Talon R, Bonnet R. Evaluation of the Vitek 2 System with a Variety of *Staphylococcus* Species. *J Clin Microbiol*. 2008 Jan;46(1):311–3.
33. *Staphylococcus aureus* C0673::Genome Overview [Internet]. [cited 2022 Sep 17]. Available from: <https://www.bv-brc.org/view/Genome/1413510.3>

34. Madhaiyan M, Wirth JS, Saravanan VS 2020. Phylogenomic analyses of the Staphylococcaceae family suggest the reclassification of five species within the genus *Staphylococcus* as heterotypic synonyms, the promotion of five subspecies to novel species, the taxonomic reassignment of five *Staphylococcus* species to *Mammaliicoccus* gen. nov., and the formal assignment of *Nosocomiicoccus* to the family Staphylococcaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 70(11):5926–36.
35. The Prokaryotes: Firmicutes And Tenericutes [PDF] [4fh2j7ql6fg0] [Internet]. [cited 2022 Sep 20]. Available from: <https://vdoc.pub/documents/the-prokaryotes-firmicutes-and-tenericutes-4fh2j7ql6fg0>
36. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* Infections. *New England Journal of Medicine*. 1998 Aug 20;339(8):520–32.
37. Scudiero O, Brancaccio M, Mennitti C, Laneri S, Lombardo B, De Biasi MG, et al. Human Defensins: A Novel Approach in the Fight against Skin Colonizing *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics (Basel)*. 2020 Apr 21;9(4):198.
38. González-Pérez CJ, Tanori-Cordova J, Aispuro-Hernández E, Vargas-Arispuro I, Martínez-Téllez MA. Morphometric parameters of foodborne related-pathogens estimated by transmission electron microscopy and their relation to optical density and colony forming units. *J Microbiol Methods*. 2019 Oct;165:105691.
39. Asif A, Asghar M, Khan HU, Haq I, Shuaib SL, Khalid F, et al. Antibiotic Susceptibility Pattern of Clinical Isolates of Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* in Peshawar, Pakistan. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 2021 Sep 12;25(6):20116–31.
40. Pavlova IB, Kononenko AB, Tolmacheva GS, Kardash GG, Rytsarev AY. Formation of biofilms of pathogenic bacteria and the effect of a new disinfectant. *BIO Web Conf*. 2020;17:00204.
41. Sahin-Tóth J, Kovács E, Tóthpál A, Juhász J, Forró B, Bányai K, et al. Whole genome sequencing of coagulase positive staphylococci from a dog-and-owner screening survey. *PLOS ONE*. 2021 Jan 11;16(1):e0245351.
42. Abdelhamid HN, Wu HF. Selective biosensing of *Staphylococcus aureus* using chitosan quantum dots. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2018 Jan 5;188:50–6.

43. Wang LJ, Yang X, Qian SY, Liu YC, Yao KH, Dong F, et al. Identification of hemolytic activity and hemolytic genes of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Chinese children. *Chin Med J (Engl)*. 2020 Jan 5;133(1):88–90.
44. Bano SA, Hayat M, Samreen T, Asif M, Habiba U, Uzair B. Detection of Pathogenic Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. from Raw Milk Samples of Different Cities of Pakistan. *Natural Science*. 2020 May 22;12(05):295.
45. Pannu MK, Hudman DA, Sargentini NJ, Singh VK. Role of SigB and Staphyloxanthin in Radiation Survival of *Staphylococcus aureus*. *Curr Microbiol*. 2019 Jan 1;76(1):70–7.
46. Zhang J, Suo Y, Zhang D, Jin F, Zhao H, Shi C. Genetic and Virulent Difference Between Pigmented and Non-pigmented *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2018 [cited 2023 Jan 17];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.00598>
47. Tam K, Torres VJ. *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. *Microbiology Spectrum*. 2019 Mar 15;7(2):7.2.16.
48. Oliveira D, Borges A, Simões M. *Staphylococcus aureus* Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. *Toxins (Basel)*. 2018 Jun 19;10(6):252.
49. Kailasan S, Kant R, Noonan-Shueh M, Kanipakala T, Liao G, Shulenin S, et al. Antigenic landscapes on *Staphylococcus aureus* pore-forming toxins reveal insights into specificity and cross-neutralization. *mAbs*. 2022 Dec 31;14(1):2083467.
50. Shettigar K, Murali TS. Virulence factors and clonal diversity of *Staphylococcus aureus* in colonization and wound infection with emphasis on diabetic foot infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020 Dec;39(12):2235–46.
51. Mazzoleni V, Zimmermann K, Smirnova A, Tarassov I, Prévost G. *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine Leukocidin triggers an alternative NETosis process targeting mitochondria. *FASEB J*. 2021 Feb;35(2):e21167.
52. Qu MD, Kausar H, Smith S, Lazar PG, Kroll-Desrosiers AR, Iii CH, et al. Epidemiological and clinical features of Pantone-Valentine Leukocidin positive *Staphylococcus aureus* bacteremia: A case-control study. *PLOS ONE*. 2022 Mar 18;17(3):e0265476.
53. Rimoldi SG, Pileri P, Mazzocco MI, Romeri F, Bestetti G, Calvagna N, et al. The Role of *Staphylococcus aureus* in Mastitis : A Multidisciplinary Working Group Experience. *J Hum Lact*. 2020 Aug;36(3):503–9.



54. Galia L, Ligozzi M, Bertoncetti A, Mazzariol A. Real-time PCR assay for detection of *Staphylococcus aureus*, Panton-Valentine Leucocidin and Methicillin Resistance directly from clinical samples. *AIMS Microbiol.* 2019 May 21;5(2):138–46.
55. Kaur H, Purwar S, Saini A, Kaur H, Karadesai SG, Kholkute SD, et al. Status of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Infections and Evaluation of PVL Producing Strains in Belgaum, South India. 2012;1(2).
56. Petraitiene B, Conejo PR, Jankauskaite L, Kevalas R, Trumpulyte G, Snipaitiene A, et al. Prevalence, clinical expression, invasiveness and outcome of *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine leukocidin in children treated in a university hospital of Lithuania. *Infectious Diseases.* 2020 Jul 2;52(7):464–72.
57. Giormezis N, Doudoulakakis A, Tsilipounidaki K, Militsopoulou M, Kalogeras G, Stamouli V, et al. Emergence of a mupirocin-resistant, methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* clone associated with skin and soft tissue infections in Greece. *BMC Microbiology.* 2021 Jul 3;21(1):203.
58. Spaulding AR, Salgado-Pabón W, Kohler PL, Horswill AR, Leung DYM, Schlievert PM. Staphylococcal and Streptococcal Superantigen Exotoxins. *Clinical Microbiology Reviews.* 2013 Jul;26(3):422–47.
59. Miethke T, Duschek K, Wahl C, Heeg K, Wagner H. Pathogenesis of the toxic shock syndrome: T cell mediated lethal shock caused by the superantigen TSST-1. *Eur J Immunol.* 1993 Jul;23(7):1494–500.
60. Shi M, Willing SE, Kim HK, Schneewind O, Missiakas D. Peptidoglycan Contribution to the B Cell Superantigen Activity of Staphylococcal Protein A. *mBio.* 2021 Apr 20;12(2):e00039-21.
61. Kong C, Neoh H min, Nathan S. Targeting *Staphylococcus aureus* Toxins: A Potential form of Anti-Virulence Therapy. *Toxins.* 2016 Mar;8(3):72.
62. I-1553 Lietuvos Respublikos žmonių užkrečiamųjų ligų profilaktikos ir kontrolės įstatymas [Internet]. [cited 2023 Jan 17]. Available from: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.32088>
63. Hanssen AM, Kindlund B, Stenklev NC, Furberg AS, Fismen S, Olsen RS, et al. Localization of *Staphylococcus aureus* in tissue from the nasal vestibule in healthy carriers. *BMC Microbiol.* 2017 Apr 5;17(1):89.

64. Sakr A, Brégeon F, Mège JL, Rolain JM, Blin O. Staphylococcus aureus Nasal Colonization: An Update on Mechanisms, Epidemiology, Risk Factors, and Subsequent Infections. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2018 [cited 2023 Jan 17];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.02419>
65. Kirkliauskienė A, Ambrozaitis A, Skov RL, Frimodt-Møller N. The prevalence of Staphylococcus aureus nose and throat carriage by healthy adults. *Visuomenės sveikata*.
66. da Silva AC, Rodrigues MX, Silva NCC. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in food and the prevalence in Brazil: a review. *Braz J Microbiol*. 2020 Mar 1;51(1):347–56.
67. Matuszewska M, Murray GGR, Harrison EM, Holmes MA, Weinert LA. The Evolutionary Genomics of Host Specificity in Staphylococcus aureus. *Trends in Microbiology*. 2020 Jun 1;28(6):465–77.
68. Rahman MM, Amin KB, Rahman SMM, Khair A, Rahman M, Hossain A, et al. Investigation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus among clinical isolates from humans and animals by culture methods and multiplex PCR. *BMC Vet Res*. 2018 Oct 3;14(1):300.
69. Maayan-Metzger A, Strauss T, Rubin C, Jaber H, Dulitzky M, Reiss-Mandel A, et al. Clinical evaluation of early acquisition of Staphylococcus aureus carriage by newborns. *International Journal of Infectious Diseases*. 2017 Nov 1;64:9–14.
70. RITS\_2022\_m\_ataskaita.pdf [Internet]. [cited 2023 May 3]. Available from: [https://www.hi.lt/uploads/pdf/padaliniai/VSTC%20IS/RITS/RITS\\_2022\\_m\\_ataskaita.pdf](https://www.hi.lt/uploads/pdf/padaliniai/VSTC%20IS/RITS/RITS_2022_m_ataskaita.pdf)
71. Meyer TC, Michalik S, Holtfreter S, Weiss S, Friedrich N, Völzke H, et al. A Comprehensive View on the Human Antibody Repertoire Against Staphylococcus aureus Antigens in the General Population. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jan 17];12. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.651619>
72. Vanegas JM, Salazar-Ospina L, Gallego MA, Jiménez JN. A longitudinal study shows intermittent colonization by Staphylococcus aureus with a high genetic diversity in hemodialysis patients. *International Journal of Medical Microbiology*. 2021 Jan 1;311(1):151471.
73. Kirkliauskienė A, Vitkauskaitė M, Žvinytė K, Leilionaitė V, Mušauskaitė G, Butikis M, et al. Vilniaus miesto suaugusiųjų populiacijoje paplitusių Staphylococcus aureus padermių jautrumo antimikrobiniams vaistams analizė. *Visuomenės sveikata*.
74. Kourtis AP, Hatfield K, Baggs J, Mu Y, See I, Epton E, et al. Vital Signs: Epidemiology and Recent Trends in Methicillin-Resistant and in Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus

- Bloodstream Infections — United States. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2019 Mar 8;68(9):214–9.
75. Kirby WM. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant Staphylococci. *Science*. 1944 Jun 2;99(2579):452–3.
  76. Foster TJ. Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. Current status and future prospects. *FEMS Microbiology Reviews*. 2017 May 1;41(3):430–49.
  77. Gootz TD. Discovery and development of new antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*. 1990 Jan;3(1):13–31.
  78. Mendem SK, Alasthimannahalli Gangadhara T, Shivannavar CT, Gaddad SM. Antibiotic resistance patterns of Staphylococcus aureus: A multi center study from India. *Microbial Pathogenesis*. 2016 Sep 1;98:167–70.
  79. Hagstrand Aldman M, Skovby A, I. Pählman L. Penicillin-susceptible Staphylococcus aureus: susceptibility testing, resistance rates and outcome of infection. *Infectious Diseases*. 2017 Jun 3;49(6):454–60.
  80. Gajdács M. The Continuing Threat of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. *Antibiotics*. 2019 Jun;8(2):52.
  81. Kirkliauskienė A, Kaplerienė L, Strumskienė V, Miciulevičienė J, Markevičius N, Sinkevič R. Iš klinikinės medžiagos išskirtų Staphylococcus aureus atsparumas antimikrobinėms medžiagoms | *Laboratorinė medicina*. 2021, t. 23, Nr. 2, p. 67-73.
  82. Fergestad ME, Stamsås GA, Morales Angeles D, Salehian Z, Wasteson Y, Kjos M. Penicillin-binding protein PBP2a provides variable levels of protection toward different  $\beta$ -lactams in Staphylococcus aureus RN4220. *MicrobiologyOpen*. 2020;9(8):e1057.
  83. Illustrated Glossary of Organic Chemistry - Beta-lactam [Internet]. [cited 2023 Jan 17]. Available from: [https://www.chem.ucla.edu/~harding/IGOC/B/beta\\_lactam.html](https://www.chem.ucla.edu/~harding/IGOC/B/beta_lactam.html)
  84. M. Craft K, M. Nguyen J, J. Berg L, D. Townsend S. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. *MedChemComm*. 2019;10(8):1231–41.
  85. Turner NA, Sharma-Kuinkel BK, Maskarinec SA, Eichenberger EM, Shah PP, Carugati M, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol*. 2019 Apr;17(4):203–18.

86. Lobanovska M, Pilla G. Penicillin's Discovery and Antibiotic Resistance: Lessons for the Future? *Yale J Biol Med*. 2017 Mar 29;90(1):135–45.
87. Surveillance Atlas of Infectious Diseases [Internet]. [cited 2022 Nov 5]. Available from: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=4>
88. Aribisala JO, Sabiu S. Cheminformatics Identification of Phenolics as Modulators of Penicillin-Binding Protein 2a of *Staphylococcus aureus*: A Structure–Activity-Relationship-Based Study. *Pharmaceutics*. 2022 Sep;14(9):1818.
89. Lee AS, de Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers*. 2018 May 31;4(1):1–23.
90. Giulieri SG, Guérillot R, Kwong JC, Monk IR, Hayes AS, Daniel D, et al. Comprehensive Genomic Investigation of Adaptive Mutations Driving the Low-Level Oxacillin Resistance Phenotype in *Staphylococcus aureus*. *mBio*. 2020 Dec 8;11(6):e02882-20.
91. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother*. 1997 Jul;40(1):135–6.
92. Shariati A, Dadashi M, Moghadam MT, van Belkum A, Yaslianifard S, Darban-Sarokhalil D. Global prevalence and distribution of vancomycin resistant, vancomycin intermediate and heterogeneously vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* clinical isolates: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2020 Jul 29;10(1):12689.
93. Wu Q, Sabokroo N, Wang Y, Hashemian M, Karamollahi S, Kouhsari E. Systematic review and meta-analysis of the epidemiology of vancomycin-resistance *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2021 Jun 30;10(1):101.
94. Cookson BD. The emergence of mupirocin resistance: a challenge to infection control and antibiotic prescribing practice. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1998 Jan 1;41(1):11–8.
95. Sutherland R, Boon RJ, Griffin KE, Masters PJ, Slocombe B, White AR. Antibacterial activity of mupirocin (pseudomonic acid), a new antibiotic for topical use. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1985 Apr;27(4):495–8.
96. Samanta S, Prakash V, Nayak J, Kumar D. Prevalence of High and Low -level Mupirocin, resistance against MRSA from a tertiary care hospital in eastern UP. 2018 Oct 10;5:212–5.

97. Labrecque S, Shah S, Fergus D, Parry MF. Mupirocin susceptibility of staphylococci 2022: Is it time for a change in MRSA decolonization protocols? *American Journal of Infection Control* [Internet]. 2022 Sep 15 [cited 2023 Jan 18]; Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655322006575>
98. Chauhan S, Singh S, Rappai T. Mupirocin Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolated from Nasal Swabs of ICU and OT Staff- A Study from A Tertiary Care Hospital. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2021 Sep 29;15.
99. Bisht D, Faujdar SS. Incidence of Mupirocin Resistance in *Staphylococcus Aureus* Isolated from Rural Population: A New Emerging Challenge. *International Journal of Current Research and Review*. 2020 Nov 24;12.
100. Simor AE, Stuart TL, Louie L, Watt C, Ofner-Agostini M, Gravel D, et al. Mupirocin-Resistant, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains in Canadian Hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 Nov;51(11):3880–6.
101. Rossney A, O’Connell S. Emerging high-level mupirocin resistance among MRSA isolates in Ireland. *Euro Surveill*. 2008 Apr 3;13(14):8084.
102. Desroches M, Potier J, Laurent F, Bourrel AS, Doucet-Populaire F, Decousser JW, et al. Prevalence of mupirocin resistance among invasive coagulase-negative staphylococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in France: emergence of a mupirocin-resistant MRSA clone harbouring mupA. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Aug;68(8):1714–7.
103. Monecke S, Ruppelt-Lorz A, Müller E, Reissig A, Thürmer A, Shore AC, et al. Dissemination of high-level mupirocin-resistant CC22-MRSA-IV in Saxony. *GMS Hyg Infect Control*. 2017 Nov 20;12:Doc19.
104. Zamani S, Mohammadi A, Hajikhani B, Abiri P, Fazeli M, Nasiri MJ, et al. Mupirocin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Iran: A Biofilm Production and Genetic Characteristics. *BioMed Research International*. 2022 Jan 15;2022:e7408029.
105. Taha S, Kamel N, Metwally L. Detection of Mupirocin Resistance in Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates in an Egyptian Hospital. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*. 2022 Jul 1;31(3):51–5.
106. Tahmasebi H, Dehbashi S, Arabestani MR. Identification of Gene Mutation Patterns Obtained from Resistance to Mupirocin in Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*

- Clinical Strains, Using High-Resolution Melting (HRM) Method. *Journal of Isfahan Medical School*. 2018 May 22;36(476):403–10.
107. Septimus EJ. Nasal decolonization: What antimicrobials are most effective prior to surgery? *American Journal of Infection Control*. 2019 Jun 1;47:A53–7.
108. Broccoli MC, Pigoga JL, Nyirenda M, Wallis LA, Calvello Hynes EJ. Essential medicines for emergency care in Africa. *African Journal of Emergency Medicine*. 2018 Sep 1;8(3):110–7.
109. Wu PP, He H, Hong WD, Wu TR, Huang GY, Zhong YY, et al. The biological evaluation of fusidic acid and its hydrogenation derivative as antimicrobial and anti-inflammatory agents. *Infect Drug Resist*. 2018 Oct 24;11:1945–57.
110. Hajikhani B, Goudarzi M, Kakavandi S, Amini S, Zamani S, van Belkum A, et al. The global prevalence of fusidic acid resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2021 May 1;10(1):75.
111. Fernandes P. Fusidic Acid: A Bacterial Elongation Factor Inhibitor for the Oral Treatment of Acute and Chronic Staphylococcal Infections. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016 Jan;6(1):a025437.
112. Garcia Chavez M, Garcia A, Lee HY, Lau GW, Parker EN, Komnick KE, et al. Synthesis of Fusidic Acid Derivatives Yields a Potent Antibiotic with an Improved Resistance Profile. *ACS Infect Dis*. 2021 Feb 12;7(2):493–505.
113. Cao Z, Li S, Lv J, Gao H, Chen G, Awakawa T, et al. Biosynthesis of clinically used antibiotic fusidic acid and identification of two short-chain dehydrogenase/reductases with converse stereoselectivity. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2019 Mar 1;9(2):433–42.
114. Romaru J, Limelette A, Lebrun D, Bonnet M, Garnier VV, N’Guyen Y. Fusidic acid in a tertiary hospital: an observational study focusing on prescriptions, tolerance and susceptibility of *Staphylococcus* and *Cutibacterium* spp. strains from bone samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2022 Aug 1;41(8):1107–13.
115. Edslev SM, Clausen ML, Agner T, Stegger M, Andersen PS. Genomic analysis reveals different mechanisms of fusidic acid resistance in *Staphylococcus aureus* from Danish atopic dermatitis patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018 Apr 1;73(4):856–61.

116. Gupta SK, Pfeltz RF, Wilkinson BJ, Gustafson JE. Transcriptomic and Metabolomic Analysis of a Fusidic Acid-Selected fusA Mutant of *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*. 2022 Aug;11(8):1051.
117. VVKT - Vaistai [Internet]. [cited 2023 Feb 6]. Available from: <https://vapris.vvkt.lt/vvkt-web/public/medications?showData=true&mainSearchField=fuzido+r%C5%ABg%C5%A1tis&fullName=&substance=&strength=&pharmaceuticalForm=&medicationState=3&medicationState=2&atcCode=&rtt=&rttNumber=&procedureNumber>
118. Williamson DA, Carter GP, Howden BP. Current and Emerging Topical Antibacterials and Antiseptics: Agents, Action, and Resistance Patterns. *Clinical Microbiology Reviews*. 2017 Jul;30(3):827–60.
119. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. v\_12.0 [Internet]. [cited 2023 Jan 18]. Available from: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/v\\_12.0\\_Breakpoint\\_Tables.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_12.0_Breakpoint_Tables.pdf)
120. Bhavana MV, Joshi S, Adhikary R, Beena HB. Mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus* in a tertiary care hospital of South India. A prospective study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2019 Jan 7;98–100.
121. La Vecchia A, Ippolito G, Taccani V, Gatti E, Bono P, Bettocchi S, et al. Epidemiology and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* in children in a tertiary care pediatric hospital in Milan, Italy, 2017—2021. *Ital J Pediatr*. 2022 May 7;48(1):67.
122. Klein S, Menz MD, Zanger P, Heeg K, Nurjadi D. Increase in the prevalence of Pantone–Valentine leukocidin and clonal shift in community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing skin and soft-tissue infections in the Rhine-Neckar Region, Germany, 2012–2016. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2019 Mar 1;53(3):261–7.
123. Shah S, Labrecque S, Fergus D, Parry MF. 1232. Mupirocin Susceptibility of *Staphylococcus aureus* (SA), 2022: Is It Time for Change in MRSA Decolonization? *Open Forum Infectious Diseases*. 2022 Dec 1;9(Supplement\_2):ofac492.1064.
124. Bes TM, Perdigão-Neto L, Martins RR, Heijden I, Trindade P de A, Camilo G, et al. Susceptibility to chlorhexidine and mupirocin among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates from a teaching hospital. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 63:e27.

125. Arora HS, Khan H, Ailumerab H, Natarajan G, Meert K, Salimnia H, et al. A tale of two intensive care units (ICUs): Baseline *Staphylococcus aureus* colonization and mupirocin susceptibility in neonatal and pediatric patients requiring intensive care. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2022 Apr 22;1–6.
126. Guo Y, Xu L, Wang B, Rao L, Xu Y, Wang X, et al. Dissemination of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Sequence Type 764 Isolates with Mupirocin Resistance in China. *Microbiology Spectrum*. 2023 Jan 9;0(0):e03794-22.
127. Ahmadi E, Khojasteh M, Mortazavi SM, Khan-Mohammadi F, Kazemnia A, Beheshtipour J, et al. Prevalence of and risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage in the West of Iran: a population-based cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases*. 2019 Oct 28;19(1):899.
128. Bali N, Peer M, Kour R, Ahmad S, Koul P. Mupirocin resistance in clinical isolates of methicillin sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary care centre of North India. *JMS SKIMS*. 2019 Nov 28;22(3):4–11.
129. Mama OM, Aspiroz C, Lozano C, Ruiz-Ripa L, Azcona JM, Seral C, et al. Penicillin susceptibility among invasive MSSA infections: a multicentre study in 16 Spanish hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2021 Oct 1;76(10):2519–27.
130. Conceição T, Martins H, Rodrigues S, de Lencastre H, Aires-de-Sousa M. *Staphylococcus aureus* nasal carriage among homeless population in Lisbon, Portugal. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019 Nov 1;38(11):2037–44.
131. Pichler G, Pux C, Babeluk R, Hermann B, Stoiser E, De Campo A, et al. MRSA prevalence rates detected in a tertiary care hospital in Austria and successful treatment of MRSA positive patients applying a decontamination regime with octenidine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018 Jan 1;37(1):21–7.
132. Allport J, Choudhury R, Bruce-Wootton P, Reed M, Tate D, Malviya A. Efficacy of mupirocin, neomycin and octenidine for nasal *Staphylococcus aureus* decolonisation: a retrospective cohort study. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 2022 Jan 10;11(1):5.
133. Rekomendacijos\_Operaciniu\_zaisdu\_infekciju\_prevencija\_WEB.pdf [Internet]. [cited 2023 Feb 6]. Available from: [https://www.hi.lt/uploads/pdf/leidiniai/Rekomendacijos/2022/Rekomendacijos\\_Operaciniu\\_zaisdu\\_infekciju\\_prevencija\\_WEB.pdf](https://www.hi.lt/uploads/pdf/leidiniai/Rekomendacijos/2022/Rekomendacijos_Operaciniu_zaisdu_infekciju_prevencija_WEB.pdf)



134. Shittu AO, Kaba M, Abdulgader SM, Ajao YO, Abiola MO, Olatimehin AO. Mupirocin-resistant *Staphylococcus aureus* in Africa: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2018;7:101.
135. Yoo YJ, Kwak EJ, Jeong KM, Baek SH, Baek YS. Knowledge, attitudes and practices regarding methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection control and nasal MRSA carriage rate among dental health-care professionals. *International Dental Journal*. 2018 Oct 1;68(5):359–66.
136. Budri PE, Shore AC, Coleman DC, Kinnevey PM, Humpreys H, Fitzgerald-Hughes D. Observational cross-sectional study of nasal staphylococcal species of medical students of diverse geographical origin, prior to healthcare exposure: prevalence of SCCmec, fusC, fusB and the arginine catabolite mobile element (ACME) in the absence of selective antibiotic pressure. *BMJ Open*. 2018 Apr 1;8(4):e020391.