

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Agnė Kirkliauskienė

***STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NEŠIOJIMO PAPLITIMAS IR RIZIKOS
VEIKSNIAI, ATSPARUMO ANTIMIKROBINĖMS MEDŽIAGOMS IR
VIRULENTIŠKUMO VEIKSNIŲ ANALIZĖ**

Daktaro disertacijos santrauka
Biomedicinos mokslai, medicina (07B)

Vilnius, 2011

Disertacija rengta 2004–2011 metais Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Infekcinių ligų, dermatovenerologijos ir mikrobiologijos klinikoje bei Danijos Valstybinio serumų instituto Nacionaliniame antibiotikų atsparumo ir infekcijų kontrolės centre.

Mokslinis vadovas

Prof. habil. dr. Arvydas Ambrozaitis (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 07B)

Konsultantas

Prof. dr. Niels Frimodt-Møller (Danijos Valstybinio serumų instituto Nacionalinis antibiotikų atsparumo ir infekcijų kontrolės centras, medicina – 07B)

Disertacija ginama Vilniaus universiteto Medicinos mokslo krypties taryboje

Pirmininkas

Prof. habil. dr. Alvydas Pranas Laiškonis (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Biomedicinos mokslai, medicina – 07B)

Nariai:

Doc. dr. Auksė Mickienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 07B)

Doc. dr. Raimonda Matulionytė (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 07B)

Doc. dr. Matilda Bylaitė (Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, biomedicinos mokslai, medicina – 07B)

Prof. habil. dr. Jurgis Algirdas Juozulynas (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, visuomenės sveikata – 10B)

Oponentai:

Prof. dr. Alvydas Pavilonis (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 07B)

Prof. dr. Donaldas Jonas Čitavičius (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, biologija – 01B)

Disertacija bus ginama viešame Medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje 2011 m. liepos 1 d. 13 val. Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Didžiojoje auditorijoje.

Adresas: M. K. Čiurlionio 21, LT-03101 Vilnius, Lietuva

Disertacijos santrauka išsiuntinėta 2011 m. birželio 1 d.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje.

VILNIUS UNIVERSITY

Agnė Kirkliauskienė

**THE PREVALENCE AND RISK FACTORS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
CARRIAGE, ANALYSIS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE AND VIRULENCE
FACTORS**

Summary of the Doctoral Dissertation
Biomedical Sciences, Medicine (07B)

Vilnius, 2011

The Doctoral Dissertation was prepared at the Department of Infectious Diseases, Dermatovenereology and Microbiology of Vilnius University, Lithuania and National Centre for Antimicrobials and Infection Control, Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark in 2004–2011.

Scientific Supervisor

Prof. Habil. Dr. Arvydas Ambrozaitis (Department of Infectious Diseases, Dermatovenereology and Microbiology, Vilnius University, Lithuania, Medicine – 07B)

Scientific Consultant

Prof. Dr. Niels Frimodt-Møller MD, DMSc (National Centre for Antimicrobials and Infection Control, Statens Serum Institute, Denmark, Medicine – 07B)

The Doctoral Dissertation will be defended at the meeting of Vilnius University Council of the Medical Sciences

Chairman

Prof. Habil. Dr. Alvydas Pranas Laiškonis (Lithuanian University of Health Sciences, Biomedical Sciences, Medicine – 07 B)

Members:

Assoc. Prof. Dr. Auksė Mickienė (Kaunas University of Medicine, Biomedical Sciences, Medicine – 07 B)

Assoc. Prof. Dr. Raimonda Matulionytė (Vilnius University, Biomedical Sciences, Medicine – 07 B)

Assoc. Prof. Dr. Matilda Bylaitė (Vilnius University, Biomedical Sciences, Medicine – 07 B)

Prof. Habil. Dr. Jurgis Algirdas Juozulynas (Vilnius University, Biomedical Sciences, Public Health – 10 B)

Opponents:

Prof. Dr. Alvydas Pavilionis (Lithuanian University of Health Sciences, Biomedical Sciences, Medicine – 07 B)

Prof. Dr. Donaldas Jonas Čitavičius (Vilnius University, Biomedical Sciences, Biology – 01B)

The Dissertation will be defended at the public meeting of Vilnius University Council of Medical Sciences on July 1, 2011 at 1.00 p.m. in the Grand Hall of Vilnius University Faculty of Medicine.

Address: M. K. Čiurlionio str. 21, LT-03101 Vilnius, Lithuania

The mailing date of the Dissertation summary: June 1, 2011.

The Doctoral Dissertation is available at the Library of Vilnius University.

Santrumpos

Ils	– laisvės laipsnių skaičius
KLSI	– klinikinių laboratorinių standartų institutas
LĮ-MASA	– ligoninėje įgytas meticilinui atsparus <i>S. aureus</i>
MASA	– meticilinui atsparus <i>Staphylococcus aureus</i>
MJSA	– meticilinui jautrus <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>p</i>	– statistinio reikšmingumo lygmuo
PGR	– polimerazės grandininė reakcija
PI	– 95 proc. pasikliautiniai intervalai
PVL	– Panton-Valentine leukocidinas
<i>S. aureus</i>	– <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>spa</i>	– stafilokokų A baltymą koduojantis genas
ŠS	– šansų santykis
UG	– užimtumo grupė
VĮ-MASA	– visuomenėje įgytas meticilinui atsparus <i>S. aureus</i>
VMUL	– Vilniaus miesto universitetinė ligoninė
VULSK	– Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikos

1. ĮVADAS

S. aureus yra žmogaus normalios bakterinės mikrofloros atstovas, kuris gali būti aptinkamas ir tarp žinduolių bei paukščių. Visais laikais šis mikroorganizmas buvo svarbus žmonių infekcijų sukėlėjas.

Pradėjus vartoti antibiotikus, penktajame dešimtmetyje nustatytos penicilinui atsparios *S. aureus* padermės, kurios tapo vienomis dažniausių stafilokokinių hospitalinių infekcijų priežastimis šeštajame dešimtmetyje. Atradus cefalosporinus, o vėliau ir pusiau sintetinius beta laktaminius antibiotikus (meticiliną, oksaciliną ir nafciliną) situacija pagerėjo 10-15 metų.

Tačiau netrukus po to, kai 1960 metais buvo pradėta gydyti meticilinu, pasirodė pirmieji pranešimai apie tai, kad buvo išskirta meticilinui atsparių *S. aureus* (MASA) padermių. Pirmoji MASA padermė jau 1961 metais buvo nustatyta Jungtinės Karalystės ligoninėje. Per 20-30 metų apie MASA sukeltas infekcijas pranešta iš kai kurių Europos regionų, Jungtinių Valstijų, Japonijos, Vakarų Ramiojo vandenyno regionų. MASA padermės tapo vienomis dažniausių ligoninėse įgytų infekcijų sukėlėjų.

Per pastaruosius 20 metų MASA lėmė stafilokokinių infekcijų išsivystymą ne tik klinikoje, bet ir visuomenėje. Devintajame dešimtmetyje, išaugus MASA infekcijų skaičiui, daugiau dėmesio pradėta skirti stafilokokinėms infekcijoms ir viršutinių kvėpavimo takų kolonizacijai.

Įvairių autorių duomenimis, *S. aureus* nešiojimas yra pagrindinis visuomenėje ir ligoninėje įgytų infekcijų patogenezės veiksnys. *S. aureus* nešiotųjų pooperacinių žaizdų infekcijų rizika buvo gerokai didesnė nei šiuo mikroorganizmu nekolonizuotų žmonių.

Lietuvoje iki šiol nėra iki galo įdiegta stafilokokinių ligų nacionalinė priežiūros sistema. Nepakanka *S. aureus* nešiotųjų paplitimo tyrimų. Kaune atlikti ikimokyklinio ir mokyklinio amžiaus vaikų grupių, taip pat hospitalizuotų ligonių grupės *S. aureus* nešiotųjų nustatymo tyrimai. Tačiau nėra duomenų, kiek tarp sveikų suaugusių Lietuvos populiacijos žmonių yra *S. aureus* nešiotųjų.

Lietuvoje nepakanka duomenų lyginančių visuomenėje ir ligoninėje įgytų *S. aureus* ir MASA atvejus. Be to, trūksta visuomenėje ir ligoninėje išskirtų padermių atsparumą ir virulentiškumą koduojančių genų (pvz.: Panton-Valentine leukocidino geno, *spa* tipų) lyginimų. Tokia genetinė informacija galėtų padėti geriau suprasti skirtingų stafilokokų patogenezę. Lietuvoje nebuvo tirti rizikos veiksniai, galintys turėti įtakos viršutinių kvėpavimo takų *S. aureus* kolonizacijai. Šiuo tyrimu bandoma nustatyti visuomenės ir hospitalizuotų ligonių grupėse išskirtų stafilokokų genetinį giminingumą ir įvertinti rizikos veiksnius, lemiančius *S. aureus* kolonizaciją.

Mokslinio darbo tikslas

Šio darbo tikslas – nustatyti *S. aureus* nešiojimo mastą pasirinktoje suaugusiųjų populiacijoje visuomenės bei hospitalizuotų ligonių grupėse Vilniaus mieste ir įvertinti *S. aureus* nešiojimo potencialius rizikos veiksnius, taip pat išskirtų padermių atsparumą kai kurioms antimikrobinėms medžiagoms, pagrindinius atsparumo ir virulentiškumo genetinius elementus.

Mokslinio darbo uždaviniai:

1. Nustatyti *S. aureus* nešiotojus pasirinktose visuomenės ir hospitalizuotų ligonių grupėse kai kuriuose chirurginio profilio skyriuose Vilniaus mieste.
2. Įvertinti rizikos veiksnius, kuriems esant visuomenės ir hospitalizuotų ligonių grupių atstovai gali tapti *S. aureus* nešiotojais.
3. Nustatyti iš visuomenės ir hospitalizuotų ligonių grupių išskirtų *S. aureus* padermių atsparumo antimikrobinėms medžiagoms skirtumus ir dominuojančius, atsparumą kai kurioms antimikrobinėms medžiagoms koduojančius genus.
4. Nustatyti virulentiškumą koduojančio geno (PVL) paplitimą ir iš visuomenės bei hospitalizuotų ligonių grupių išskirtų *S. aureus* padermių *spa* tipus.

1.1. Mokslinio darbo naujumas

Šiame darbe pirmą kartą Lietuvoje ištirti *S. aureus* nešiojimo atvejai visuomenės grupėje, kurios atstovai nesusidūrė su rizikos veiksniais, susijusiais su ligonine. Nustatyti *S. aureus* nešiotojai hospitalizacijos ir išrašymo dieną.

Siekiant įvertinti pagrindinius *S. aureus* nešiojimą lemiančius veiksnius, šiame darbe, pirmą kartą Lietuvoje, atlikta rizikos veiksnių analizė. Remiantis išsamia tyrimo dalyvių apklausa ir ligos istorijų duomenimis, nustatyti visuomenės bei hospitalizuotų ligonių grupių *S. aureus* nešiojimui daugiausia įtakos turintys rizikos veiksniai.

Taikant išplėstinę antibiotikogramą, buvo ištirtas visų išskirtų *S. aureus* padermių atsparumas antimikrobinėms medžiagoms. Palyginti atsparumo duomenys, gauti tiriant visuomenės ir hospitalizuotų ligonių grupes. Taikant molekulinis tyrimo metodus nustatyti ir palyginti atsparumą meticilinui, eritromicinui ir tetraciklinui koduojantys ir dažniausiai pasitaikantys genai.

Nors Panton-Valentine leukocidino vaidmuo *S. aureus* sukeltamų infekcijų patogenezėje yra labai svarbus, iki šiol Lietuvoje nenagrinėtas ir netirtas šio geno paplitimas. Mūsų atlikti molekuliniai tyrimai leido nustatyti jo dažnį tarp išskirtų *S. aureus* padermių tiek visuomenės, tiek hospitalizuotų ligonių grupių.

S. aureus tipavimas padeda nustatyti giminingas *S. aureus* padermes, jų kilmę, plitimo kelius. Šiame darbe pirmą kartą Lietuvoje, taikant molekulinis tipavimo metodus, atliktas *spa* tipavimas. Gauti duomenys palyginti tarp tiriamųjų grupių.

1.2. Mokslinio darbo praktinė reikšmė

Per tyrimą nustatyta sąlyginai didelė *S. aureus* nešiotųjų dalis Lietuvos suaugusiųjų populiacijoje. Šio mikroorganizmo nešiotojams kyla didesnė įvairių žaizdų susidarymo ir kitų infekcijų išsivystymo grėsmė. Pagal šiuos tyrimo rezultatus galima papildyti pooperacinių žaizdų infekcijų prevencijos priemones.

Nustačius rizikos veiksnius, galinčius turėti įtakos *S. aureus* nešiojimui, galima nukreipti epidemiologinės priežiūros ir infekcijos valdymo priemones šiems veiksniams kontroliuoti ir *S. aureus* ir MASA plitimui išvengti.

Darbe pateiktus duomenis apie išskirtų *S. aureus* atsparumą antimikrobinėms medžiagoms galima panaudoti vykdant antimikrobinis preparatams atsparių mikroorganizmų plitimo prevencijos 2008–2014 m. programą, kurios vieni iš tikslų –

sumažinti antimikrobiniais preparatais atsparių mikroorganizmų atsiradimo ir plitimo galimybes, tobulinti mikroorganizmų atsparumo antimikrobiniais preparatais stebėjimo sistemą, moksliniuose tyrimuose nagrinėti antimikrobinų preparatų vartojimo ir mikroorganizmų atsparumo didėjimo problemas.

1.3. Ginamieji disertacijos teiginiai

- Daugiau kaip pusė tirtų suaugusiųjų Vilniaus mieste yra *S. aureus* nešiotojai.
- Dauguma išskirtų *S. aureus* padermių atsparios penicilinui, tik maža jų dalis atsparios meticilinui.
- Panton-Valentine leukocidino toksino genas nustatomas tiriant kliniškes VĮ-MASA padermes. Meticilinui jautrios *S. aureus* padermės retai turi šį toksino gamybą koduojantį geną.
- Viršutinių kvėpavimo takų kolonizacijai *S. aureus* yra svarbūs tokie rizikos veiksniai kaip gydymas ligoninėje, glaudus ryšys su asmenimis, neseniai gulėjusiais ligoninėje, ar antimikrobinų vaistų vartojimas.

2. TYRIMO METODIKA IR TIRIAMOJI MEDŽIAGA

2.1. Tyrimo subjektai ir atranka

S. aureus nešiojimo atvejai buvo tirti pasirinkus dvi skirtingas suaugusiųjų tiriamųjų grupes: visuomenės grupę ir hospitalizuotų ligonių grupę. Tyrimo imtis nustatyta naudojant statistinę programą „WinPepi“.

Visuomenės grupės apskaičiuota imtis – 539 respondentai. Respondentų atrankos kriterijai:

- asmenys, pastaruoju metu gyvenantys Vilniuje;
- 18 metų ir vyresni;
- 3 metų laikotarpiu negulėję ligoninėje;
- nedirbantys sveikatos priežiūros įstaigose.

Visuomenės grupę sudaro jaunų suaugusiųjų ir subrendusių suaugusiųjų grupės.

- *Jaunų suaugusiųjų grupę* sudarė studentai iš Vilniaus universiteto Fizikos ir Gamtos mokslų fakultetų, Vilniaus kolegijos ir Žemės ūkio mokyklos. Į tyrimą įtrauktų studentų specialybės pasirinktos atsitiktinai. Gauti akademiniai reikalavimai prodekanų leidimais vykdyti tyrimą. Medicinos fakulteto studentai į atranką nebuvo įtraukti, nes paskaitos ir darbas ligoninėse yra vienas iš rizikos veiksnių, lemiančių *S. aureus* kolonizaciją. Tyrimas buvo atliekamas nuo 2006 m. kovo 2 d. iki 2007 m. lapkričio 30 d.

Atvykus į mokymo įstaigą, atsitiktinai pasirinktos auditorijos, kuriose tuo metu vyko paskaitos. Studentams išaiškintas tyrimo tikslas, įtraukimo į tyrimą kriterijai ir procedūros esmė. Atitikę kriterijus studentai užpildė anketą, paimti jų mėginiai iš nosies ir ryklės.

- *Subrendusių suaugusiųjų grupę* sudarė sveiki Nacionaliniame kraujo centre apsilankę donorai, taip pat įvairių ne medicininės krypties privačių ir valstybinių įstaigų darbuotojai, atitinkantys amžiaus kriterijų.

Nacionaliniame kraujo centre nuo 2008 m. kovo 27 d. iki 2008 m. rugsėjo 2 d. ištirti respondentai, atitikę tyrimo kriterijus ir sutikę dalyvauti tyrime. Anketą tiriamieji pildė patys. Paskui buvo paimti mėginiai iš nosies ir ryklės *S. aureus* nešiojimo atvejams nustatyti.

Privačios ir valstybinės nemedicininės krypties įstaigos pasirinktos atsitiktinai. Sutikusiose tyrime dalyvauti įstaigose surengti tyrimo pristatymai, per kuriuos išaiškintas jo tikslas, įtraukimo į tyrimą kriterijai ir procedūra. Sutikę tyrime dalyvauti ir atitinkantys keliamus atrankos kriterijus respondentai buvo ištirti. Tyrimas vykdytas nuo 2007 m. sausio 15 d. iki 2008 m. kovo 20 d.

Visi respondentai pagal standartinę užimtumo klasifikaciją (SOC 2000) buvo suskirstyti į užimtumo grupes. Dirbantys tyrimo dalyviai apjungti į panašias grupes:

- Užimtumo grupė 1 (UG-1) – užimantys vadovaujančias pareigas;
- Užimtumo grupė 2 (UG-2) – kvalifikuotas atsakingas, administracinis ar techninis darbas;
- Užimtumo grupė 3 (UG-3) – kvalifikuotas darbas prekyboje, paslaugų srityje, darbas su įranga ir pan;
- Užimtumo grupė 4 (UG-4) – nekvalifikuotas darbas.

Nedirbantys tyrimo dalyviai papildomai sugrupuoti į keturias grupes:

- Užimtumo grupė 5 (UG-5) – moksleiviai, studentai;
- Užimtumo grupė 6 (UG-6) – pensininkai (įskaitant ir invalidumo grupę turinčius respondentes);
- Užimtumo grupė 7 (UG-7) – bedarbiai, namų šeimininkės (-ai).

Hospitalizuotų ligonių grupės rekomenduojama imtis – 261 tyrimo dalyviai. Kadangi meticilinui atsparių *S. aureus* nešiojimo atvejų yra santykinai mažai, tiriamųjų kiekis patrigubintas siekiant sumažinti paklaidą.

Dalyvauti tyrime buvo pakviestos vienos didžiausių Lietuvoje, daugiaprofilinės, teikiančios būtinąsias ir planines sveikatos priežiūros paslaugas Vilniaus universiteto ligoninė Santariškių klinikos bei Vilniaus miesto universitetinė ligoninė.

Atrankos į tyrimą kriterijai:

- respondentai nuo 18 metų;
- planuojamas hospitalizacijos laikas ne mažiau kaip 2 dienos;
- respondentai guldomi į pilvo chirurgijos, angiochirurgijos bei urologijos ir nefrologijos skyrius.

Paguldymo dieną respondentams buvo paaiškintas tyrimo tikslas, pristatyta procedūra ir, jiems sutikus dalyvauti tyrime ir užpildžius anketą, buvo paimti mėginiai iš nosies ir ryklės *S. aureus* nešiojimo atvejams ištirti. Mėginiai iš nosies ir ryklės taip pat buvo paimti tam pačiam tiriamajam išsirašant iš ligoninės.

Ištisinis tyrimas Vilniaus universiteto ligoninėje Santariškių klinikos buvo atliekamas nuo 2007 m. spalio 22 d. iki 2008 m. rugsėjo 10 d., o Vilniaus miesto universitetinėje ligoninėje – nuo 2008 m. sausio 15 d. iki 2008 m. rugsėjo 5 d.

2.2. *S. aureus* nešiojimui įtakos turinčių rizikos veiksnių tyrimas

S. aureus nešiojimo rizikos veiksniams įvertinti buvo apklausti tiek visuomenės, tiek hospitalizuotų ligonių grupėms priklausantys tyrimo dalyviai. Panaudota kiekvienai grupei pritaikyta anoniminė anketa apie rizikos veiksnius, kuriems esant tampama *S. aureus* nešiotojais.

Sudarant visuomenės ir hospitalizuotų ligonių grupėms rizikos veiksnių vertinimo anketas buvo remiamasi Danijos Valstybinio serumo instituto sukurtais ir naudojamais rizikos veiksnių vertinimo klausimynais gavus jų leidimą. Klausimynai buvo papildyti mūsų tyrimui reikalingais klausimais ir, siekiant įvertinti jų tinkamumą, buvo patikrinti (1 pav.).

Visuomenės grupei pritaikyta anketa buvo pildoma pačių tiriamųjų, dalyvaujant tyrėjui, kuris, esant reikalui, paaiškino nesuprantamus klausimus, prieš imant mėginius iš nosies ir ryklės.

Anketą sudarė dvi dalys. Pirmosios anketos dalies klausimai apėmė bendrus demografinius (lytis, amžius, gyvenamasis miestas) ir socioekonominius (išsilavinimas, darbovietė, pareigos, užimtumo grupė) aspektus.

Antrąją anketos dalį sudarė klausimai apie rizikos veiksnius, veikiančius patį tiriamąjį ir jo artimuosius. Šioje anketos dalyje pateikti klausimai apie odos ar kitų stafilokokinių ir lėtinių ligų buvimą, antibiotikų vartojimą per paskutinius dvejus metus, būtinosios medicininės pagalbos suteikimą, kontaktą su neįgaliaisiais, senelių namuose ar įkalinimo įstaigose esančiais asmenimis, darbą vaikų darželyje, sporto šakos kultivavimą, naminių gyvūnėlių auginimą, išvykas iš Lietuvos ir t.t.

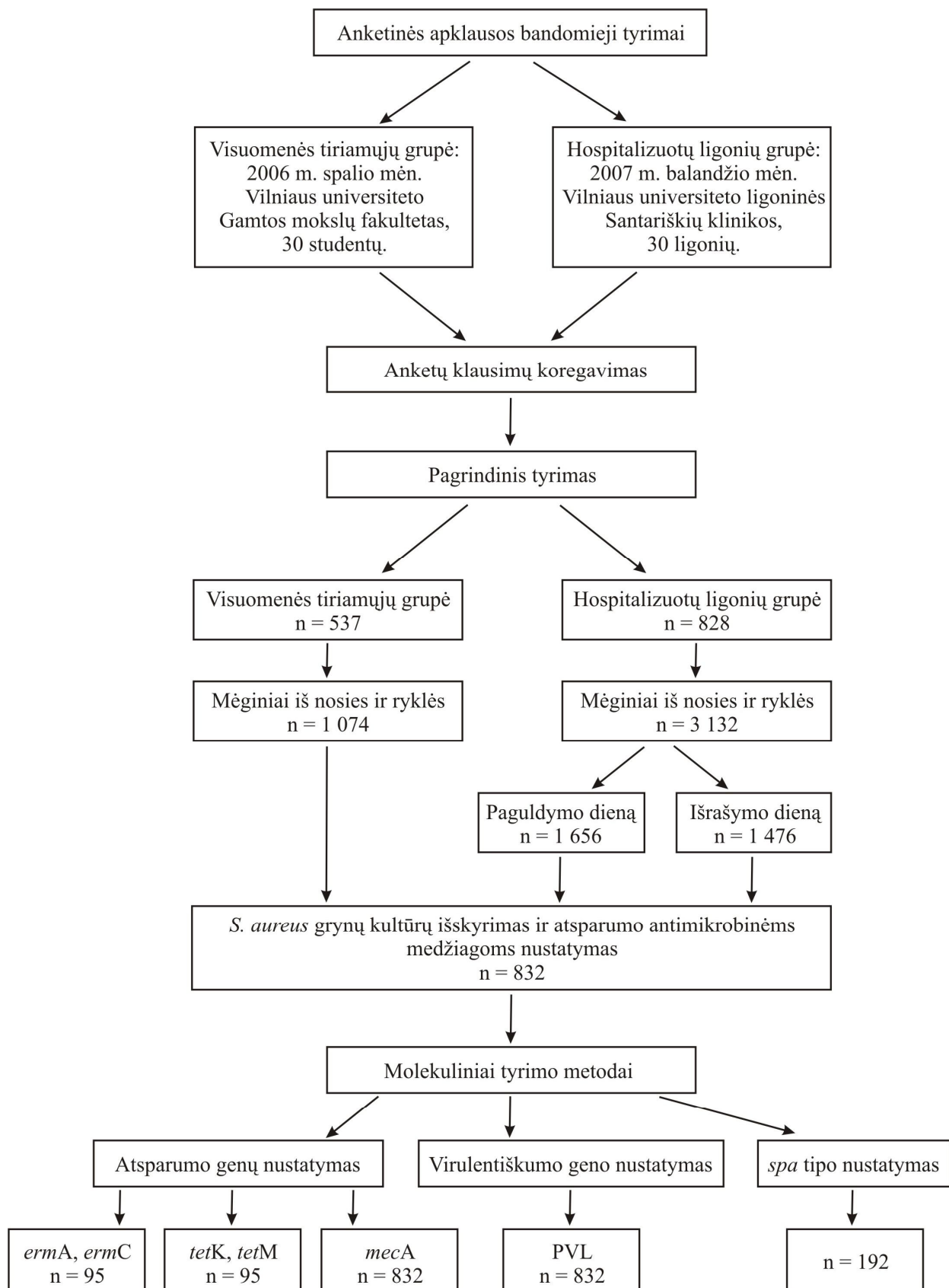
Hospitalizuotiems ligoniams pritaikytos dvi anketos. Pirmoji anketa buvo pildoma paguldymo dieną. Antrosios anketos duomenys buvo renkami iš asmens ligos istorijų, tiriamajam išsirašius.

Šiai ligonių grupei skirta anketa taip pat sudaryta iš dviejų dalių. Pirmąją dalį sudarė klausimai apie amžių, lytį, antibiotikų vartojimą, hospitalizaciją metų laikotarpiu ir lėtines ligas.

Antruoju klausimynu siekta iširti rizikos veiksnius, kurie hospitalizacijos metu lemia *S. aureus* kolonizaciją. Šį klausimyną sudarė klausimai apie chirurginės operacijos buvimą, antibiotikų terapiją prieš ir po operacijos, pooperacines žaizdų infekcijas ir jų sukėlėjus, kateterių įvedimą, mechaninės ventiliacijos ar parenterinio maitinimo taikymą ir hospitalizacijos trukmę.

Vertinant rizikos veiksnius visuomenės grupėje, tikslingą tiriamųjų populiaciją sudarė asmenys pastaruoju metu gyvenantys Vilniuje, 18 m. ir vyresni, trijų metų laikotarpiu negulėję ligoninėje ir nedirbantys sveikatos priežiūros įstaigose. Tiriamieji buvo suskirstyti į atvejų ir kontrolinę grupes. Visuomenės grupėje atvejų grupei priskirti dalyviai, iš kurių viršutinių kvėpavimo takų buvo išskirta *S. aureus*. Kontrolinei grupei priskirti respondentai iš tos pačios tiriamųjų populiacijos, kurių viršutiniuose kvėpavimo takuose *S. aureus* nebuvo aptikta.

Hospitalizuotų ligonių grupės atvejams priskirti respondentai, kurių mėginius ištyrus paguldymo dieną *S. aureus* nebuvo išskirta, o išrašant – jau išskirta, ir respondentai, kurių mėginius ištyrus *S. aureus* išskirta paguldymo dieną, o išrašant aptikta fenotipiškai skirtingų *S. aureus*. Kontrolinę grupę sudarė ligoniai, kurių mėginius ištyrus *S. aureus* nebuvo išskirta nei paguldymo, nei išrašymo dienomis. Kiekvienam atvejui buvo priskirta kontrolė, atsižvelgiant į ligoninę, lytį ir amžių (± 5 metai).



1 paveikslas. Duomenų rinkimo algoritmas, atliekant *S. aureus* nešiojimo, atsparumo antimikrobinėms medžiagoms ir molekulinis tyrimus.

2.3. *S. aureus* išskyrimas ir identifikavimas

Visuomenės grupei priklausantiems tyrimo dalyviams sutikus dalyvauti tyrime, *S. aureus* nešiotojams nustatyti mėginiai imti iš nosies ir ryklės. Į ligoninę paguldytų ir į tyrimą įtrauktų respondentų mėginiai iš nosies ir ryklės paimti paguldymo bei išrašymo dienomis (1 pav.).

Šiame darbe *S. aureus* nešiotojams priskirti tiriamieji, kai šių bakterijų vienkartinio tyrimo metu išskirta bent iš vienos tiriamos vietos (nosis, ryklė).

Mėginiai, paimti steriliu tamponu iš nosies ir ryklės, perkelti į transportinę Stiuarto terpę. Ne vėliau kaip per 2 val. laboratorijoje išsėti į manito druskos ir 5 % avino kraujo agarą. Kultivuoti 35 °C (24 val.) ir vieną parą kambario temperatūroje tamsoje.

Identifikuojant išskirtus mikroorganizmus buvo remtasi augimu manito druskos agare, kolonijų morfologija kraujo agare, plazmokoagulazės, DNazės ir latekso agliutinacijos testais ir mikroskopija.

2.4. Išskirtų padermių atsparumo kai kurioms antimikrobinėms medžiagoms tyrimas

Išskirtų padermių atsparumas kai kurioms antimikrobinėms medžiagoms buvo ištirtas taikant diskų difuzijos metodą, laikantis Klinikinių laboratorinių standartų instituto (KLSI) rekomendacijų. Buvo nustatytas visų išskirtų padermių jautrumas oksacilinui/cefoksitinui, rifampinui, kanamicinui, klindamicinui, eritromicinui, streptomycinui, norfloksacinui, fuzidino rūgščiai, penicilinui, ciprofloksacinui, tetraciklinui ir gentamicinui. Tyrimas atliktas Vilniaus universitete Mikrobiologijos skyriuje.

Išskirtų *S. aureus* padermių atsparumui antibiotikams patvirtinti naudotos „Neo-Sensitabs“ antimikrobinės tabletės. Minėtomis tabletėmis buvo nustatytas 263 atsitiktinai pasirinktų *S. aureus* padermių atsparumas cefoksitinui, rifampinui, kanamicinui, klindamicinui, eritromicinui, streptomycinui, norfloksacinui, fuzidino rūgščiai, penicilinui, tetraciklinui ir mupirocinui. β laktamazijų gamyba nustatyta mecilinamo tabletėmis.

Diskų difuzijos metodu išaiškintų MASA padermių atsparumas vankomicinui nustatytas E testais. E testu buvo patvirtintas atsparumas ir *S. aureus* padermių, vidutiniškai atsparių ciprofloksacinui bei gentamicinui.

Iš tiriamojo asmens išskirtos kelios *S. aureus* padermės, kurių jautrumo spektras išplėstinėje antibiotikogramoje buvo skirtingas, vertintos kaip fenotipiškai skirtingos.

2.5. Atsparumo genų kai kurioms antimikrobinėms medžiagoms nustatymas

Danijos Valstybiniame serumų institute buvo atlikta *S. aureus* padermių, atsparių eritromicinui ar tetraciklinui, dauginė (angl. *multiplex*) PGR *ermA*, *ermC*, *tetK*, *tetM* genams nustatyti.

Polimerazės grandininei reakcijai naudoti pradmenys

- *ermC*

Tiesioginės krypties (angl. *forward primer*) 5'-AAT CGT CAA TTC CTG CAT GT-3'

Atvirkštinės krypties (angl. *reverse primer*) 5'-TAA TCG TGG AAT ACG GGT TTG-3'

- *ermA*

Tiesioginės krypties 5'-AAG CGG TAA ACC CCT CTG A-3'

Atvirkštinės krypties 5'-TTC GCA AAT CCC TTC TCA AC-3'

- *tetK*

Tiesioginės krypties 5'-GTA GCG ACA ATA GGT AATAGT-3'

Atvirkštinės krypties 5'-GTA GTG ACA ATA AAC CTC CTA-3'

- *tetM*

Tiesioginės krypties 5'-AGT GGA GCG ATT ACA GAA-3'

Atvirkštinės krypties 5'-CAT ATG TCC TGG CGT GTC TA-3'

2.6. *mecA*, *spa* ir *pvl* genų nustatymas molekuliniais metodais

Danijoje Valstybiniame serumų institute atlikti visų per tyrimą išskirtų padermių tyrimai *mecA*, *spa* ir *pvl* genams nustatyti. Atliktas 192 *S. aureus* padermių *spa* tipavimas. 65 tipuotos padermės pasirinktos iš visuomenės grupės, 64 – iš VULSK ir 63 padermės – iš VMUL.

Visuomenės grupei priklausantys ir į šį tyrimą įtraukti stafilokokai atrinkti atsitiktinai. Hospitalizuotų ligonių grupėje tirtos: 1) visos paguldymo ir išrašymo dienomis išskirtos MASA padermės; 2) atsitiktinai atrinkti išrašymo dieną išskirti *S. aureus* iš ligonių, neturėjusių jų paguldymo dieną; 3) atsitiktinai atrinkti paguldymo ir išrašymo dieną to paties ligonio mėginyje išskirti *S. aureus*.

Polimerazės grandinei reakcijai naudoti pradmenys

- *mecA*

Tiesioginės krypties 5'-TCC AGA TTA CAA CTT CAC CAG G-3'

Atvirkštinės krypties 5'-CCA CTT CAT ATC TTG TAA CG-3'

- *spa-1113*, *spa-1514*

Tiesioginės krypties 5'-TAA AGA CGA TCC TTC GGT GAG C-3'

Atvirkštinės krypties 5'-CAG CAG TAG TGC CGT TTG CTT-3'

- *pvl*

Tiesioginės krypties 5'-GCT GGA CAA AAC TTC TTG GAA TAT-3'

Atvirkštinės krypties 5'-GAT AGG ACA CCA ATA AAT TCT GGA TTG-3'

2.7. Statistinė analizė

Duomenų analizė atlikta naudojantis SPSS 13.0 ir „WinPepi“ statistiniais paketais.

Naudoti standartiniai aprašomosios statistikos rodikliai: parametų aritmetinis vidurkis, standartinis nuokrypis, mediana, moda, minimali ir maksimali reikšmės. Tolydaus dydžio atitiktis normaliam pasiskirstymo dėsniai matuota Kolmogorovo-Smirnovo testu.

Įverčiai pateikti su 95 proc. pasiklovimo lygmeniu. Kategorinių duomenų analizei naudotas χ^2 ir Fišerio tikslusis testai.

Rizikos veiksniams įvertinti buvo skaičiuotas šansų santykis ir 95 proc. pasiklovimo intervalai. Taikytas atgalinės laiptinės logistinės regresijos metodas.

Kintamosioms atrinkti atlikta vienmatė analizė. Kintamosios į modelį buvo atrinktos, kai gauta p reikšmė buvo mažesnė kaip 0,25. Tačiau modelyje taip pat buvo panaudotos kintamosios, kurios buvo epidemiologiškai svarbios, nežiūrint statistinio reikšmingumo. Taip buvo siekiama užtikrinti iškraipiančiųjų veiksnių kontrolę. Modelio atitikties duomenims įvertinti naudotas modelio suderinamumo χ^2 kriterijus, Hosmer-Lemshovo testas, klasifikacinė lentelė. Koeficiento β reikšmingumas vertintas Waldo testu.

Statistinio reikšmingumo lygmuo buvo pasirinktas $\alpha = 0,05$, rezultatai buvo vertinami kaip statistiškai reikšmingi, kai p buvo mažesnis arba lygus 0,05

Atliekant *spa* tipų analizę pagal Simpsons formulę apskaičiuotas įvairovės indeksas (angl. *diversity index*).

3. TYRIMO REZULTATAI

3.1. Respondentų charakteristika

3.1.1. Visuomenės tiriamųjų grupės charakteristika

Tyrime sutiko dalyvauti 537 respondentai. Tiriamųjų grupę sudarė 212 (39,5 proc.) jauni suaugę ir 325 (60,5 proc.) subrendę suaugę tyrimo dalyviai.

Pirmąją grupę sudarė 81 (38,2 proc.) Vilniaus universiteto Fizikos fakulteto, 96 (45,3 proc.) Vilniaus universiteto Gamtos mokslų fakulteto, 15 (7,1 proc.) Vilniaus kolegijos ir 20 (9,4 proc.) Žemės ūkio mokyklos studentai.

Antrąją tiriamųjų grupę sudarė 179 (55,1 proc.) Nacionaliniame kraujo centre apsilankę kraujo donoriai ir 102 (31,4 proc.) valstybinėse ir 44 (13,5 proc.) privačiose nemedicininėse įstaigose dirbantys asmenys.

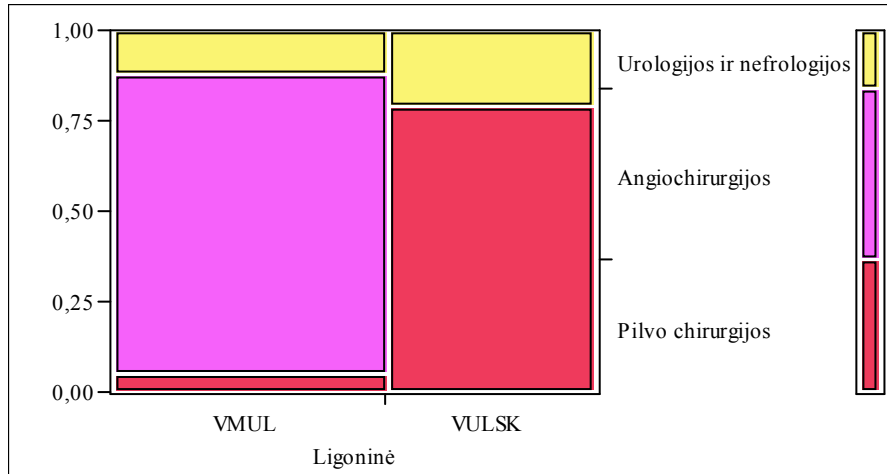
Tyrime dalyvavo 250 (46,6 proc.) moterų ir 287 (53,4 proc.) vyrai. Bendras respondentų amžiaus vidurkis buvo 32,2 metų, (mediana – 30,0), standartinis nuokrypis – 13,3. Jauniausias tyrimo dalyvis buvo 18 metų, vyriausias – 72 metų.

Iš visų užimtumo grupių didžiausią dalį sudarė UG-5 (moksleiviai, studentai) ir maždaug šeštadalis tirtųjų dalyvių buvo iš UG-2 (kvalifikuotas atsakingas, administracinis ar techninis darbas) ir UG-3 (kvalifikuotas darbas prekyboje, paslaugų srityje, darbas su įranga) grupių.

3.1.2. Hospitalizuotų ligonių grupės charakteristika

S. aureus nešiojimo atvejų tyrime tirti visi ligoniai, tyrimo metu guldyti į Vilniaus miesto universitetinę ligoninę (VMUL) ir Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikas (VULSK). Iš viso ištirti 828 ligoniai. Šiek tiek daugiau nei pusę – 474 (57,2 proc.) – sudarė VMUL ir mažiau kaip pusę – 354 (42,8 proc.) – VULSK pacientai.

Ištirtų ligonių skaičiaus pasiskirstymas paguldymo dieną kiekvienoje ligoninėje ir jų skyriuose pateiktas mozaikiniame grafike (2 pav.).

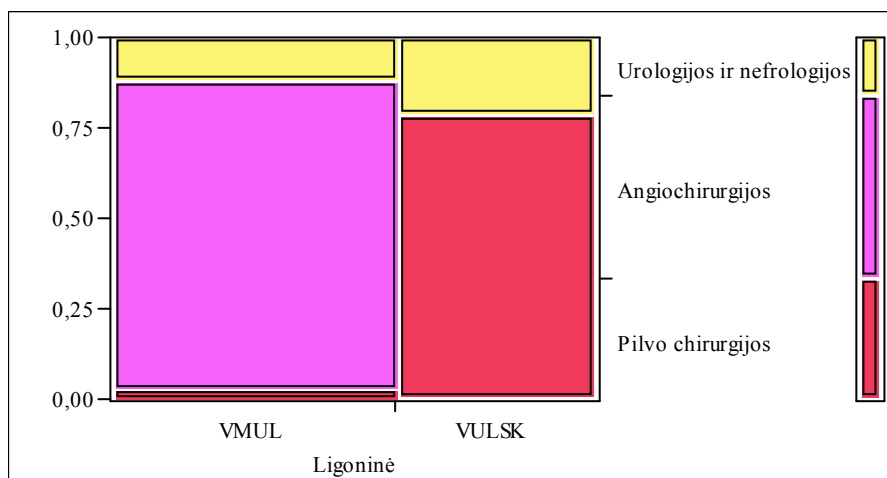


$$\chi^2 = 601,3; p = 0,0001$$

2 paveikslas. Ištirtų ligonių skaičiaus pasiskirstymas paguldymo dieną.

47,2 proc. (n = 391) hospitalizuotų ligonių sudarė moterys, 52,8 proc. (n = 437) – vyrai. Jauniausias į ligoninę paguldytas ir tyrime dalyvavęs asmuo buvo 19 metų, o vyriausias – 95 metų. Respondentų amžiaus vidurkis buvo 61,9 metų (mediana – 63 metai). Dažniausias tiriamųjų amžius – 74 metai.

Išrašymo dieną iš 828 ligonių, paguldymo dieną ištirtų, siekiant nustatyti, ar jie nėra *S. aureus* nešiotojai, paimti 738 (89,1 proc.) tyrimo dalyvių mėginiai. VMUL ligoninėje ištirti ligoniai sudarė 59,3 proc. (n = 438), VULSK ligoninėje – 40,7 proc. (n = 300) visų išrašymo dieną tirtų respondentų. Iš viso išrašant į tyrimą nepateko 90 (10,9 proc.) paguldymo dieną ištirtų respondentų dėl per trumpo hospitalizacijos laiko ar mirties. Ligonių praradimo dažnis VMUL ligoninėje buvo 7,6 proc. (n = 36), o VULSK – 15,3 proc. (n = 54). Ištirtų ligonių skaičiaus pasiskirstymas išrašymo dieną kiekvienoje ligoninėje ir jų skyriuose pateiktas 3 paveiksle.



$$\chi^2 = 575,5; p = 0,0001$$

3 paveikslas. Ištirtų ligonių skaičiaus pasiskirstymas išrašymo dieną.

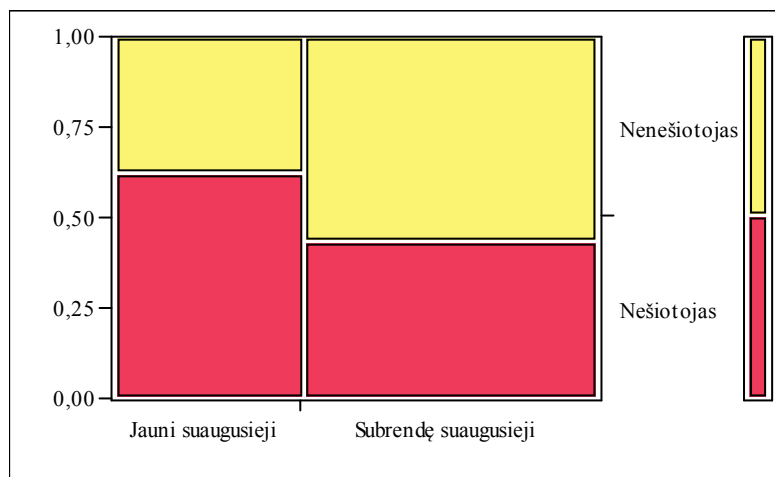
3.2. *S. aureus* nešiotojų nustatymas tiriant visuomenės ir hospitalizuotų ligonių grupes

3.2.1. *S. aureus* nešiotojai visuomenės grupėje

S. aureus nešiotojų mastas pasirinktoje Vilniaus miesto suaugusiųjų populiacijoje buvo 50,8 proc. (273/537).

35,9 proc. (193/537) respondentų *S. aureus* išskirta iš nosies arba ryklės mėginio, o 14,9 proc. (80/537) *S. aureus* išskirta iš abiejų mėginių. Iš 273 nešiotojų 107 (39,1 proc.) dalyviams *S. aureus* išskirta iš nosies, 86 (31,5 proc.) – iš ryklės, o 80 (29,3 proc.) asmenų – iš nosies ir ryklės. Jei nosis būtų vienintelė tiriama vieta, nustatytume tik 34,8 proc. (187/537) *S. aureus* nešiotojų. Jei būtų tiriama tik ryklė, nustatytume 30,9 proc. (166/537) nešiotojų vietoj 50,8 proc. (273/537).

Jaunų suaugusiųjų grupėje *S. aureus* nešiotojų nustatyta daugiau (n = 132, 62,3 proc.) nei subrendusių suaugusiųjų asmenų grupėje (n = 141, 43,4 proc.). Tarp šių amžiaus kategorijų *S. aureus* nešiojimas statistiškai reikšmingai skyrėsi (p = 0,0001) (4 pav.).

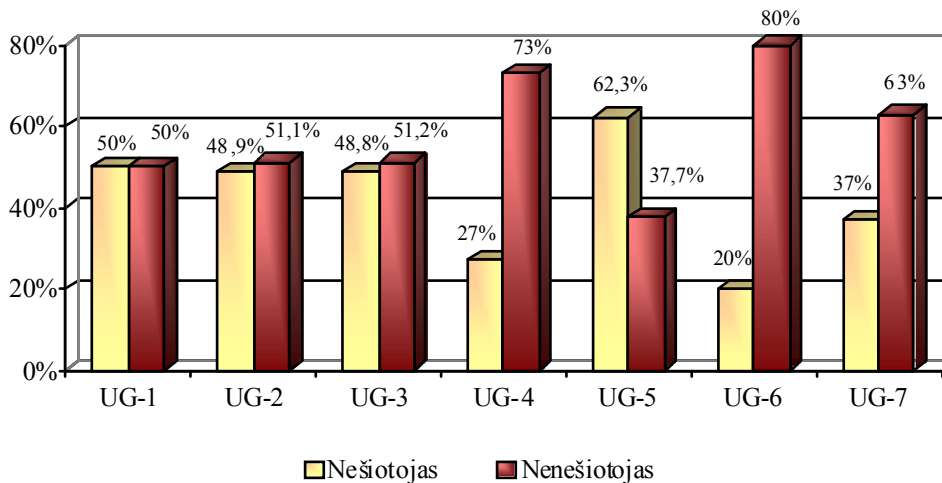


$$\chi^2 = 18,3; p = 0,0001$$

4 paveikslas. *S. aureus* nešiotojų pasiskirstymas tirtose amžiaus grupėse.

Analizuojant *S. aureus* nešiojimo ypatumus pagal lytį, nustatyta, kad tarp vyrų (54,0 proc.) nešiotojų lyginamasis svoris buvo didesnis negu tarp moterų (47,2 proc.), bet tai buvo statistiškai nereikšminga ($\chi^2 = 2,447$, IIs = 1, p = 0,068).

Nešiotojų pasiskirstymas tarp užimtumo grupių skyrėsi statistiškai reikšmingai (p_F = 0,0001). Tai apsprendė didesnis lyginamasis svoris tarp UG-5 ir gerokai mažesnis lyginamasis svoris tarp UG-4, UG-6 ir UG-7. Tarp UG-1, UG-2 ir UG-3 nešiotojai ir *S. aureus* neturintys asmenys pasiskirstė lygiomis dalimis (5 pav.).



5 paveikslas. *S. aureus* nešiotojų pasiskirstymo priklausomybė nuo užimtumo grupių.

3.2.2. *S. aureus* nešiotojai hospitalizuotų ligonių grupėje

S. aureus nešiojimo atvejų tyrimai paguldymo dieną

Ištyrus 828 respondentus paguldymo dieną, nustatyta, kad 29,7 proc. ($n = 246$) iširtųjų buvo *S. aureus* nešiotojai. Labai nedaug didesnė *S. aureus* nešiotojų dalis nustatyta tarp respondentų, guldomų į VULSK, t. y. 30,8 proc. (109/354), o į VMUL – 28,9 proc. (137/474). *S. aureus* nešiotojų dažnio tarp gydymo įstaigų respondentų statistiškai reikšmingo skirtumo nėra ($\chi^2 = 0,346$, $lfs = 1$, $p = 0,556$).

Analizuojant *S. aureus* nešiojimo atvejus pagal lytį, nustatyta (priešingai nei visuomenės tiriamųjų grupėje), kad moterys nedaug dažniau buvo *S. aureus* nešiotojos (31,5 proc. ir 28,1 proc. atitinkamai), bet tai buvo statistiškai nereikšminga ($\chi^2 = 1,084$, $lfs = 1$, $p = 0,298$).

Dažniausiai *S. aureus* išskirta iš nosies (59,8 proc.), o iš ryklės tik 15,9 proc. nešiotojų. 24,4 proc. respondentų *S. aureus* išskirta iš abiejų tirtų vietų.

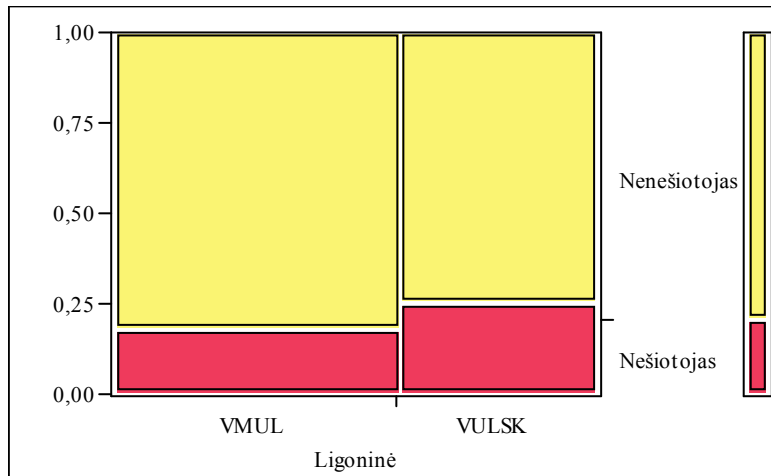
S. aureus nešiojimo atvejų tyrimai išrašymo dieną

Išrašymo dieną ištyrus 738 respondentus, nustatyta, kad 20,7 proc. jų buvo *S. aureus* nešiotojai. Lyginant paguldymo ir išrašymo dienomis nustatytų *S. aureus* nešiotojų skaičių, buvo analizuota 438 VMUL ir 300 VULSK respondentų. Į analizę neįtraukti tiriamieji ($n = 90$), kurių mėginių išrašymo dieną nebuvo paimta dėl sutrumpinto hospitalizacijos laiko ar mirties.

VULSK ligoninėje nustatyta statistiškai reikšmingai didesnė *S. aureus* nešiotojų dalis išrašymo dieną nei VMUL (6 pav.).

Šio tyrimo metu nustatyta, kad moterys, kaip ir paguldymo dieną, buvo dažniau kolonizuotos nei vyrai (atitinkamai 24,4 proc., 85/263, ir 17,4 proc., 68/322). Šis skirtumas statistikai reikšmingas ($\chi^2 = 5,467$; $lfs = 1$; $p = 0,019$).

Tarp išrašomų respondentų aptikta ta pati tendencija – *S. aureus* dažniau išskiriama iš nosies – 79,1 proc., rečiau iš kitų tirtų vietų.



$$\chi^2 = 5,604; p = 0,018$$

6 paveikslas. *S. aureus* nešiotųjų pasiskirstymas ligoninėse išrašymo dieną.

VMUL ligoninėje 19 (6,1 proc.) respondentų *S. aureus* išskirta išrašymo dieną, nors paguldant nebuvo jų nustatyta. Daugiau kaip pusei (68,4 proc., n = 13) naujai kolonizuotų ligonių *S. aureus* išskirta iš nosies.

VULSK ligoninėje po hospitalizacijos didesnė respondentų dalis (8,2 proc., n = 17) buvo kolonizuota naujos *S. aureus* padermės. Šioje tiriamųjų grupėje dažnesnė naujai nustatyta kolonizacijos lokalizacija taip pat buvo nosis (76,5 proc., n = 13).

Šio tyrimo metu nustatyta, kad daugiausia *S. aureus* nešiojimo atvejų aptikta visuomenės grupėje (daugiau nei pusė). Hospitalizuotų ligonių grupėje tiek paguldymo, tiek išrašymo dienomis nustatyta beveik du kartus mažiau *S. aureus* nešiojimo atvejų.

3.3. Išskirtų *S. aureus* atsparumas tirtiems antibiotikams

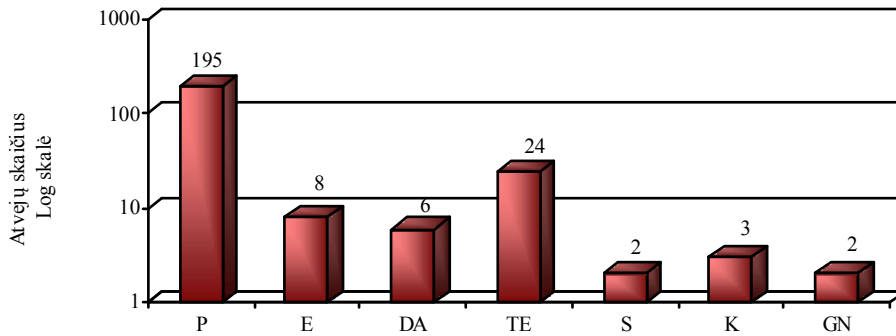
3.3.1. Visuomenės tiriamųjų grupėje išskirtų *S. aureus* atsparumas tirtiems antibiotikams

Iš viso buvo išskirta 357, iš jų, remiantis išplėstine antibiotikograma, nustatytos 298 fenotipiškai skirtingos *S. aureus* padermės. 21 tyrimo dalyviui skirtingi *S. aureus* buvo išskirti iš nosies ir ryklės, keturiems respondentams dvi *S. aureus* padermės nustatytos toje pačioje vietoje.

Nustatyta, kad 65,4 proc. (n = 195) išskirtų padermių atsparios penicilinui. Mažesnis atsparumas nustatytas tetraciklinui (8,1 proc.), kanamicinui (1,0 proc.), gentamicinui (0,7 proc.), eritromicinui (2,7 proc.), klindamicinui (2,0 proc.) ir streptomycinui (0,7 proc.). Jautrumo tirtiems antibiotikams atvejų skaičiai pateikti 7 paveiksle su logaritmine skale.

Visos *S. aureus* padermės buvo jautrios oksacilinui/cefoksitinui, rifampinui, norfloksacinui, ciprofloksacinui ir fuzidino rūgščiai. 33,2 proc. izoliatų buvo jautrūs visiems tirtiems antibiotikams. Visos 122 atsitiktinai pasirinktos *S. aureus* padermės buvo jautrios mupirocinui.

Visų penicilinui atsparių *S. aureus* padermių β laktamazės testas buvo teigiamas.



Antibiotikų santrumpos: P – penicilinas, E – eritromicinas, DA – klindamicinas, TE – tetraciklinas, S – streptomocinas, K – kanamicinas, GN – gentamicinas.

7 paveikslas. Visuomenės grupėje išskirtų *S. aureus* atsparumas antibiotikams.

3.3.2. Hospitalizuotų ligonių grupėje išskirtų *S. aureus* atsparumas tirtiems antibiotikams

Paguldymo dieną išskirtų S. aureus padermių atsparumas antibiotikams

Ištyrus ligonius paguldymo dieną iš viso buvo išskirtos 306 *S. aureus* padermės. Pagal išplėstinę antibiotikogramą, nustatytos 254 fenotipiškai skirtingos *S. aureus* padermės.

Išanalizavus išskirtų padermių atsparumą antibiotikams nustatyta, kad 77,2 proc. buvo atsparios penicilinui, 8,7 proc. – tetraciklinui. Nedidelis atsparumas būdingas oksacilinui/cefoksitinui bei ciprofloksacinui (po 2,8 proc.), eritromicinui, klindamicinui ir gentamicinui – po 3,2 proc., mažiau nei 1 proc. *S. aureus* padermių buvo atsparios fuzidino rūgščiai ir streptomocinui (8 pav.).

Visos 254 *S. aureus* padermės buvo jautrios rifampinui, o 22,1 proc. jų jautrios visiems tirtiems antimikrobiniais vaistams. 98,5 proc. (196/193) penicilinui atsparių padermių buvo teigiamas β laktamazės testas.

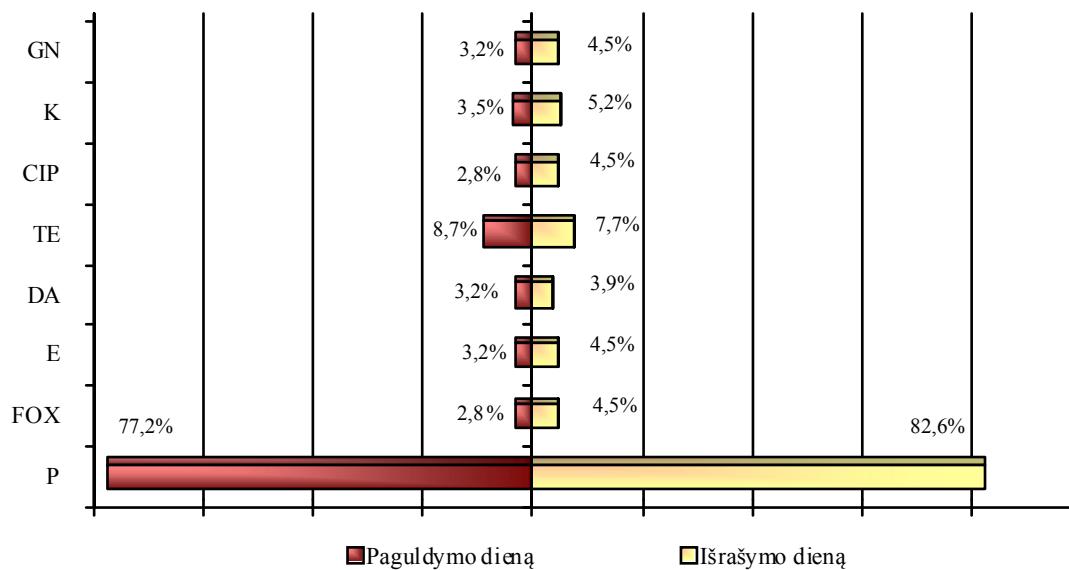
Išrašymo dieną išskirtų S. aureus padermių atsparumas antibiotikams

Ištyrus ligonius išrašymo dieną iš viso buvo išskirta 169 *S. aureus*. Pagal išplėstinę antibiotikogramą nustatytos 155 fenotipiškai skirtingos *S. aureus* padermės.

82,6 proc. *S. aureus* padermių atsparios penicilinui, 7,7 proc. ir 5,2 proc. – tetraciklinui ir kanamicinui. Atsparumo tyrimai taip pat atskleidė, kad 4,5 proc. *S. aureus* padermių atsparios cefoksitinui, eritromicinui, norfloksacinui, ciprofloksacinui ir gentamicinui. Atsparumas oksacilinui ir klindamicinui buvo mažesnis – 3,9 proc (8 pav.).

Visos 155 išskirtos padermės buvo jautrios rifampinui, 16,8 proc. – jautrios visiems tirtiems antibiotikams. 141 *S. aureus* padermė, išskirta hospitalizuotų ligonių grupėje tiek paguldymo, tiek išrašymo dienomis, buvo jautri mupirocinui. 98,4 proc. (128/126) penicilinui atsparių padermių buvo teigiamas β laktamazės testas.

Tyrimo metu nustatyta, kad 43 (5,8 proc.) išrašomi respondentai buvo kolonizuoti naujos *S. aureus* padermės. Iš jų 9,0 proc. (4/43) buvo kolonizuoti MASA padermės.



Antibiotikų santrumpos: P – penicilinas, OX – oksacilinas, FOX – cefoksitinas, E – eritromicinas, DA – klindamicinas, TE – tetraciklinas, NOR – norfloksacinas, CIP – ciprofloksacinas, S – streptomicinas, K – kanamicinas, GN – gentamicinas, FA – fuzidino rūgštis.

8 paveikslas. Hospitalizuotų ligonių grupėje išskirtų *S. aureus* atsparumas tirtiems antibiotikams.

Mūsų darbo duomenimis didesnis *S. aureus* padermių atsparumas tirtiems antibiotikams buvo hospitalizuotų ligonių grupėje. Visuomenės grupėje meticilinui atsparių *S. aureus* neišskirta, o atsparumas penicilinui buvo mažesnis nei hospitalizuotų ligonių grupėje. Didesnė *S. aureus* dalis, išskirta visuomenės grupėje, buvo jautri visiems tirtiems antimikrobiniais vaistams.

3.4. *erm* ir *tet* genų pasiskirstymas tarp išskirtų *S. aureus* padermių

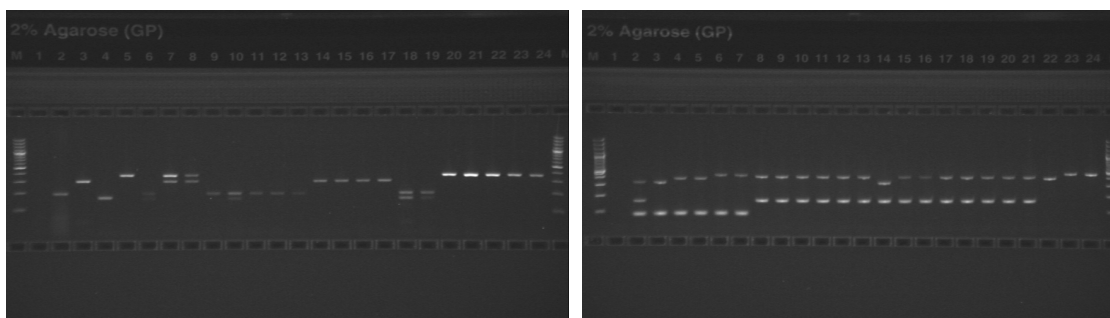
Visuomenės grupėje 30 fenotipiškai skirtingų *S. aureus* padermių daugine PGR buvo nustatyti *ermA*, *ermC*, *tetK* ir *tetM* genai (9 pav.). Aštuonios (26,7 proc.) iš 30 *S. aureus* padermių buvo atsparios eritromicinui ir (arba) klindamicinui. Dviem (25,0 proc.) *S. aureus* padermėms nustatytas *ermA* genas, penkioms (62,5 proc.) – *ermC*. Vienai eritromicinui atspariai padermei *erm* genas nebuvo nustatytas.

24 iš 30 tirtų *S. aureus* padermių buvo atsparios tetraciklinui. 91,7 proc. šių padermių nustatytas *tetK* genas, 8,3 proc. *tet* genas neaptiktas. Vienai *S. aureus* padermei buvo nustatytas indukcinis eritromicino/klindamicino atsparumas ir *ermA* genas, ji nebuvo atspari tetraciklinui, bet *tetM* genas nustatytas.

Hospitalizuotų ligonių grupėje 297 fenotipiškai skirtingoms *S. aureus* padermėms buvo nustatomas *mecA* genas. Šis genas nustatytas 3,7 proc. (n = 11) padermių, kurias tiriant ir diskų difuzijos metodu buvo nustatytas jų atsparumas meticilinui (9 pav.).

31 MJSA ir 4 MASA padermės iširtos atliekant dauginę PGR, siekiant nustatyti *ermA*, *ermC*, *tetK* ir *tetM* genus. 10 fenotipiškai skirtingų MJSA ir viena MASA padermė buvo atsparios tirtiems makrolidams. Nustatyta, kad 54,5 proc. MJSA padermių ir MASA atsparumą šiems antibiotikams kodavo *ermA* genas, o 36,4 proc. – *ermC*. Vienos MJSA padermės šių genų nebuvo nustatyta.

tetK ir *tetM* genai buvo nustatomi 23 MJSA ir 3 MASA tetraciklinui atspariose padermėse. Visose MASA padermėse nustatytas *tetK* genas. 95,7 proc. MJSA padermių atsparumą tetraciklinui kodavo taip pat *tetK* genas. Vienoje tetraciklinui atsparioje MJSA padermėje *tet* genas nenustatytas. Vienos MASA ir vienos MJSA padermių nustatyti *ermA* ir *tetM* genai, nors diskų difuzijos metodu atsparumas tetraciklinui nebuvo nustatytas.



Stulpeliai: M–molekulinis žymuo; 1–*ermA*, *ermC*, *tetK* ir *tetM* neigiama kontrolinė padermė; 2–kontrolinė *ermA* padermė, 3–kontrolinė *ermC* padermė, 4–kontrolinė *tetM* padermė, 5–kontrolinė *tetK* padermė.
6–24 tirtos *S. aureus* padermės: 6, 9, 11–13–teigiamas *ermA*, 7, 8–*ermC*, *tetK*, 10, 18, 19–*ermA*, *tetM*, 14–17–*ermC*, 20–24–*tetK*

Stulpeliai: M–molekulinis žymuo; 1–*mecA*, PVL, ir *spa* neigiama kontrolinė padermė; 2–kontrolinė *mecA*, PVL, *spa* padermė;
3–24 tirtos *S. aureus* padermės: 3–7–teigiamas PVL, *spa*, 8–21–*mecA*, *spa*, 3–24–*spa*.

9 paveikslas. Dauginiu PGR testu 2 proc. agarozės gelyje nustatytų *ermA*, *ermC*, *tetK*, *tetM*, *mecA*, PVL ir *spa* genų vaizdas.

Tyrimo duomenimis atsparumą eritromicinui ir klindamicinui tirtose grupėse kodavo skirtingi genai: visuomenės grupėje vyravo *ermC*, hospitalizuotų ligonių grupėje – *ermA*. Atsparumą tetraciklinui koduojantis *tetK* genas vyravo abiejose tirtose grupėse.

3.5. Panton-Valentine leukocidino geno paplitimas

Pasitelkus dauginę PGR buvo tirtos 832 *S. aureus* padermės PVL geno paplitimui nustatyti (9 pav.). Tyrimo metu 2,5 proc. (15/595) fenotipiškai skirtingų MJSA nustatytas šis virulentiškumą koduojantis genas. Šio geno nebuvo nustatyta ištyrus visas MASA padermes.

14 PVL teigiamų *S. aureus* padermių išskirta iš nosies paimtų mėginių, o iš ryklės išskirtos tik 4 PVL teigiamos *S. aureus* padermės. 15 PVL teigiamų *S. aureus* padermių atsparumas, pasiskirstymas tarp lyčių ir amžiaus pateiktas 1 lentelėje.

1 lentelė. PVL teigiamų *S. aureus* padermių ryšys su respondentų charakteristika, mėginių ėmimo vieta ir mikrobo fenotipinėmis savybėmis

Mėginio Nr.	Grupė	Mėginio ėmimo vieta	Lytis	Amžius (m.)	Atsparumas antibiotikams
31	Visuomenės	Nosis ir ryklė	V	19	P
34		Nosis	V	19	P
43		Nosis	M	19	P
58		Nosis ir ryklė	V	19	P
130		Nosis	V	19	P
172		Nosis	M	19	P
215		Ryklė	V	33	P
441		Nosis	V	34	P
499		Nosis	M	38	P
1107		Hospitalizuotų ligonių	Nosis	M	48
1141	Nosis		M	63	P, TE
1167	Nosis		M	45	P
2072	Nosis		V	55	P
2360	Nosis		V	73	P
2408	Nosis ir ryklė		M	72	P

Antibiotikų santrumpos: P – penicilinas, TE – tetraciklinas.

Taigi, visuomenės grupėje nustatyta daugiau PVL teigiamų *S. aureus* padermių nei hospitalizuotų ligonių grupėje. Dauguma PVL teigiamų *S. aureus* padermių buvo atsparios tik penicilinui. Nenustatytas ryšys tarp lyties, odos ligų ir PVL teigiamų *S. aureus* padermių nešiojimo.

3.6. Išskirtų *S. aureus* padermių *spa* tipavimas

Buvo atliktas 192 *S. aureus* padermių *spa* tipavimas. 33,9 proc. padermių buvo iš visuomenės, 33,3 proc. – iš VULSK, o 32,8 proc. – iš VMUL grupės. Iš 192 *S. aureus* padermių 152 buvo fenotipiškai skirtingos.

Tyrimo metu iš 152 *S. aureus* padermių buvo nustatyta 80 skirtingų *spa* tipų. Jų įvairovės indeksas – 0,978. Svyravimo intervalai yra nuo 95,8 proc. iki 99,8 proc. su 95 proc. PI.

Dvi *S. aureus* padermės buvo netipuojamos. Viena *S. aureus* padermė buvo nežinomo *spa* tipo, nors sekų eiliškumas nustatytas. t002, t015, t056, t127, t346 *spa* tipai buvo nustatyti tiek visuomenės, tiek VMUL ir VULSK grupėse. Dažniausiai tarp MASA padermių aptiktas t008 *spa* tipas (80,0 proc.) (2 lentelė).

2 lentelė. Dažniausiai pasitaikantys *spa* tipai

Tiriamoji grupė	Mikroorganizmo grupė	<i>spa</i> tipai*	Padermių skaičius (%)
Visuomenės grupė	MJSA	t084	9 (13,8)
		t056	5 (7,7)
		t015	4 (6,1)
		t002	3 (4,6)
		t359	3 (4,6)
		t050	2 (3,1)
		t127	2 (3,1)
		t156	2 (3,1)
		t159	2 (3,1)
		t803	2 (3,1)
	MASA	t008	1 (2,3)
VULSK	MJSA	t002	2 (4,7)
		t012	3 (7,0)
		t015	4 (9,3)
		t056	6 (14,0)
		t065	2 (4,7)
		t127	2 (4,7)
		t589	2 (4,7)
	MASA	t008	8 (18,2)
		t190	1 (2,3)
		t002	1 (2,3)
VMUL	MJSA	t056	2 (4,5)
		t127	2 (4,5)
		t148	2 (4,5)
		t330	2 (4,5)
		t647	1 (2,3)
		t002	1 (2,3)
		t008	1 (2,3)

* – *spa* tipai nustatyti, visuomenės ir hospitalizuotų ligonių grupėse, pateikti paryškintuoju šriftu

Galima teigti, kad abiejose tirtose grupėse buvo nustatyta didelė *spa* tipų įvairovė. Septintadalis nustatytų *spa* tipų cirkuliuoja tiek visuomenės, tiek hospitalizuotų ligonių grupėse. Šio tyrimo metu *spa* tipai t4995 – t4999, t5001 – t5005 nustatyti tik Lietuvoje ir įtraukti į Ridom StaphType™ duomenų bazę.

3.7. Rizikos veiksniai, turintys įtakos kvėpavimo takų kolonizacijai *S. aureus*

3.7.1. Rizikos veiksniai, turintys įtakos kvėpavimo takų kolonizacijai *S. aureus* visuomenės grupėje

Siekiant įvertinti, kaip amžius susijęs su *S. aureus* nešiojimui, dvi ištirtos suaugusiųjų grupės palygintos tarpusavyje. Daugiau *S. aureus* nešiotųjų buvo jaunų suaugusiųjų grupėje (4 pav.) (ŠS = 2,15, CI 1,49–3,12). Kiekvieną tirtą suaugusiųjų grupę suskirsčius į 5 amžiaus pogrupius, nustatyta, kad, didėjant amžiui, rizika tapti *S. aureus* nešiotaju tolygiai mažėja, išskyrus paskutinę amžiaus grupę, bet tai nėra statistiškai reikšminga (3 ir 4 lentelės).

3 lentelė. Amžiaus įtaka tapti *S. aureus* nešiotaju jaunų suaugusiųjų grupėje

Jaunų suaugusiųjų grupė	<i>S. aureus</i> nešiotojas		ŠS
	Taip	Ne	
	Abs. sk. (%)	Abs. sk. (%)	
18	18 (64,3)	10 (35,7)	1,000
19	40 (62,5)	24 (37,5)	0,926
20	34 (60,7)	22 (39,3)	0,859
21	29 (59,2)	20 (40,8)	0,806
22	11 (73,3)	4 (26,7)	1,528

$$\chi^2_{MH} = 0,004; \text{ IIs} = 1; p = 0,948$$

4 lentelė. Amžiaus įtaka tapti *S. aureus* nešiotaju subrendusių suaugusiųjų grupėje

Subrendusių suaugusiųjų grupė	<i>S. aureus</i> nešiotojas		ŠS
	Taip	Ne	
	Abs. sk. (%)	Abs. sk. (%)	
< 31	35 (49,3)	36 (50,7)	1,000
32–37	30 (44,1)	38 (55,9)	0,812
38–43	30 (46,9)	34 (53,1)	0,908
44–51	22 (35,5)	40 (64,5)	0,566
52 >	24 (40,0)	36 (60,0)	0,686

$$\chi^2_{MH} = 1,985; \text{ IIs} = 1; p = 0,159$$

Jaunų suaugusiųjų grupėje *S. aureus* nešiotųjų buvo daugiau tarp vyrų (69,0 proc.) nei tarp moterų (54,4 proc.). Šis rizikos veiksnys buvo nustatytas kaip turintis statistiškai patikimą įtaką *S. aureus* kolonizacijai (ŠS = 1,86, CI 1,02–3,39, p = 0,034).

Iš visų visuomenės grupei priklausančių respondentų 41,2 proc. (221/537) nurodė, kad per paskutinius dvejus metus vartojo antimikrobinius vaistus. Nustatyta, kad antimikrobinių vaistų vartojimas statistiškai reikšmingai didina riziką tapti *S. aureus* nešiotaju (p = 0,029) (5 lentelė).

5 lentelė. Rizikos veiksniai, galintys turėti įtakos *S. aureus* nešiojimui

Rizikos veiksniai	<i>S. aureus</i> nešiotojas		ŠS (95 % PI)	p	
	Taip	Ne			
	Abs. sk. (%)	Abs. sk. (%)			
Neinfekcinės odos ligos	Taip	41 (15,0)	30 (11,4)	1,38 (0,81–2,37)	0,252
	Ne	232 (85,0)	234 (88,6)		
Odos stafilokokinė infekcija	Taip	8 (2,9)	3 (1,1)	2,63 (0,62–15,51)	0,222
	Ne	265 (97,1)	261 (98,9)		
Kitos stafilokokinės infekcijos	Taip	2 (0,7)	1 (0,4)	1,94 (0,10–114,94)	1,000
	Ne	271 (99,3)	263 (99,6)		
Antibiotikų vartojimas	Taip	125 (45,8)	96 (36,4)	1,48 (1,03–2,12)	0,029
	Ne	148 (54,2)	168 (63,6)		
Lankymasis poliklinikoje	Taip	131 (48,0)	98 (37,1)	1,56 (1,09–2,24)	0,012
	Ne	142 (52,0)	166 (62,9)		
Kraujo ėmimas iš venos	Taip	18 (6,6)	17 (6,4)	1,03 (0,49–2,17)	1,000
	Ne	255 (93,4)	247 (93,6)		
Hormonų vartojimas	Taip	16 (5,9)	10 (3,8)	1,58 (0,66–3,97)	0,317
	Ne	257 (94,1)	254 (96,2)		
Kontaktas su turinčiu odos ligų asmeniu	Taip	35 (12,8)	29 (11,0)	1,19 (0,68–2,09)	0,594
	Ne	238 (87,2)	235 (89,0)		
Kontaktas su sveikatos priežiūros sektoriaus darbuotoju	Taip	101 (37,0)	78 (29,5)	1,40 (0,96–2,04)	0,068
	Ne	172 (63,0)	186 (70,5)		
Sporto šakos kultivavimas	Taip	65 (23,8)	53 (20,1)	1,24 (0,81–1,91)	0,348
	Ne	209 (76,2)	211 (79,9)		
Bendro sporto inventoriaus naudojimas	Taip	51 (78,5)	43 (81,1)	0,85 (0,30–2,30)	0,820
	Ne	14 (21,5)	10 (18,9)		
Naminių gyvūnėlių laikymas	Taip	148 (54,2)	130 (49,2)	1,22 (0,86–1,74)	0,262
	Ne	125 (45,8)	134 (50,8)		
Išvykos už Lietuvos ribų	Taip	111 (40,7)	99 (37,5)	1,14 (0,80–1,64)	0,480
	Ne	162 (59,3)	165 (62,5)		

Nustatyta, kad apsilankymai poliklinikoje (per paskutinius 2 metus) statistiškai reikšmingai didina kolonizacijos *S. aureus* riziką (ŠS = 1,56, CI 1,09–2,24) (5 lentelė). Nagrinėjant jaunų suaugusiųjų ir subrendusių suaugusiųjų grupes atskirai, nustatyta, kad pastarojoje grupėje hormoninių vaistų vartojimas yra svarbus tiriamų mikroorganizmų kolonizacijos rizikos veiksnys (ŠS = 5,47, CI 1,06–53,47, p = 0,023).

Tyrimo duomenimis, subrendusių suaugusiųjų grupės narių kontaktas su odos ligomis sergančiais asmenimis didina respondentų *S. aureus* kolonizacijos riziką (ŠS = 2,62, CI 1,00–7,34, p = 0,047). Tačiau jaunų suaugusiųjų grupėje šis galimas rizikos veiksnys neturėjo įtakos tapti *S. aureus* nešiotaju (ŠS = 0,50, CI 0,24–1,06, p = 0,051).

Tokie rizikos veiksniai kaip šeimos narių lėtinės ligos (ŠS = 1,65), šeimos narių hospitalizacija dviejų metų laikotarpiu (ŠS = 1,49) nustatyti kaip didinantys riziką kontaktuojantiems su jais asmenims tapti *S. aureus* nešiotojais. Respondentams, kurie

gyveno su sergančiais ar hospitalizuotais šeimos nariais, dažniau buvo išskirta *S. aureus* iš viršutinių kvėpavimo takų nei su tokiais asmenimis negyvenusiesiems (6 lentelė).

6 lentelė. Rizikos veiksniai, susiję su šeimos nariais, galintys turėti įtakos *S. aureus* kolonizacijai

Rizikos veiksniai		<i>S. aureus</i> nešiotojas		ŠS (95 % PI)	P
		Taip	Ne		
		Abs. sk. (%)	Abs. sk. (%)		
Ar šeimos nariai sirgo stafilokokinėmis infekcijomis	Taip	14 (5,2)	6 (2,3)	2,33 (0,83–7,52)	0,109
	Ne	253 (94,8)	253 (97,7)		
Šeimos narių lėtinės ligos	Taip	59 (22,1)	38 (14,7)	1,65 (1,03–2,66)	0,033
	Ne	208 (77,9)	221 (85,3)		
Šeimos narių hormoninių vaistų vartojimas	Taip	10 (3,7)	15 (5,8)	0,63 (0,25–1,54)	0,309
	Ne	257 (96,3)	244 (94,2)		
Šeimos narių hospitalizacija	Taip	95 (35,6)	70 (27,0)	1,49 (1,01–2,20)	0,039
	Ne	172 (64,4)	189 (73,0)		
Šeimos narių apsilankymas poliklinikoje	Taip	110 (41,2)	90 (34,7)	1,32 (0,91–1,90)	0,151
	Ne	157 (58,8)	169 (65,3)		
Šeimos narių darbas vaikų darželyje	Taip	10 (3,7)	11 (4,2)	0,88 (0,33–2,32)	0,826
	Ne	257 (96,3)	248 (95,8)		
Šeimos narių kontaktas su esančiais įkalnimo įstaigoje asmenimis	Taip	11 (4,1)	10 (3,9)	1,07 (0,40–2,86)	1,000
	Ne	256 (95,9)	249 (96,1)		
Šeimos narių kontaktas su neįgaliais asmenimis	Taip	17 (6,4)	16 (6,2)	1,03 (0,48–2,24)	1,000
	Ne	250 (93,6)	243 (93,8)		

Apibendrinus gautus rezultatus, rizikos veiksniai buvo grupuojami į atskiras grupes, kad būtų nustatyti reikšmingiausi.

Nustatyta statistiškai reikšminga asociacija tarp viršutinių kvėpavimo takų *S. aureus* kolonizacijos ir rizikos veiksnių grupės, kuri apima lytį, lankymąsi poliklinikoje ir gyvenimą su šeimos nariais, sergančiais lėtinėmis ligomis. (7 lentelė)

7 lentelė. Asociacija tarp rizikos veiksnių ir viršutinių kvėpavimo takų *S. aureus* kolonizacijos

Rizikos veiksnys	Bendras ŠS	95 % PI	ŠS _p	95 % PI
Lytis (vyras)	1,31	0,92–1,87	1,59	1,11–2,28
Lankymasis poliklinikoje	1,56	1,09–2,24	1,71	1,19–2,47
Gyvenimas su šeimos nariais, sergančiais lėtinėmis ligomis	1,65	1,03–2,66	1,60	1,01–2,55

ŠS_p – pakoreguotas ŠS

3.7.2. Rizikos veiksniai, turintys įtakos kvėpavimo takų *S. aureus* kolonizacijai hospitalizuotų ligonių grupėje

20,7 proc. (153/738) išrašomų respondentų buvo *S. aureus* nešiotojai. Iš jų 28,1 proc. (n = 43) respondentų buvo kolonizuoti naujos *S. aureus* padermės.

Įvertinta lėtinių ligų įtaka kvėpavimo takų *S. aureus* kolonizacijai. Nustatyta, kad lėtinėmis ligomis sergančio ir hospitalizuoto asmens rizika tapti *S. aureus* nešiotaju (ŠS = 1,60) yra didesnė, tačiau dėl mažo šių rizikos veiksnių masto tiriamųjų grupėse, gauti rezultatai statistiškai nereikšmingi.

Siekta nustatyti kai kurių dažnai taikomų medicininių procedūrų – venos, šlapimo takų kateterių įvedimo, mechaninės ventiliacijos bei parenterinio maitinimo – sąsają su viršutinių kvėpavimo takų kolonizacija naujos *S. aureus* padermės. Atlikus šių galimų rizikos veiksnių analizę, nustatyta, kad kateteriai, įvedami į šlapimo takus, didina kolonizacijos riziką, bet statistiškai patikimos sąsajos su *S. aureus* kolonizacija nenustatyta (ŠS = 1,63, CI 0,46–6,17, p = 0,571).

Chirurginė operacija (ŠS = 1,41), antibiotikų vartojimas prieš (ŠS = 1,21) ir po (ŠS = 1,53) operacijos statistiškai patikimos įtakos *S. aureus* kolonizacijai neturėjo.

Siekta įvertinti ir po operacijos skirtų antimikrobinių medžiagų vartojimo trukmės įtaką naujos *S. aureus* padermės kolonizacijai. Suskirsčius vaistų vartojimo trukmę į 3 laiko grupes, nustatyta tendencija, kad, ilgėjant vartojamų antimikrobinių vaistų laikui, statistiškai reikšmingai mažėja rizika tapti *S. aureus* nešiotaju (8 lentelė).

8 lentelė. Antimikrobinių medžiagų vartojimo trukmės po operacijos įtaka naujos *S. aureus* padermės kolonizacijai

Antimikrobinių medžiagų vartojimo trukmė (d.) po operacijos	Tiriamųjų grupė	Kontrolinė grupė	ŠS
	Abs. sk. (%)	Abs. sk. (%)	
2–3	6 (75,0)	2 (25,0)	1,000
4–5	9 (64,3)	5 (35,7)	0,600
6–9	1 (16,7)	5 (83,3)	0,067

$\chi^2_{MH} = 4,227$; IIs = 1; p = 0,040

Hospitalizuotų ligonių grupė buvo sudaryta iš mažo stebėjimų skaičiaus. Galbūt dėl to tiriant negauta statistiškai patikimų rezultatų analizuojant juos tiek 95 proc., tiek 90 proc. pasikliautinųjų intervalų ribose. Tikėtina, kad gerokai padidinus tiek atvejų, tiek kontrolės grupes, būtų gauti statistiškai reikšmingi rezultatai.

Taip pat dėl mažo stebėjimų skaičiaus tiriamųjų ir kontrolinėje grupėje ir dėl to, kad koreliacijos koeficientas (R^2) tarp išbandytų modelių nebuvo statistiškai reikšmingai didesnis už nulį, logistinė regresija nebuvo atlikta.

4. IŠVADOS

1. Vilniaus mieste visuomenės grupėje nustatyta daug (50,8 proc.) *S. aureus* nešiojimo viršutiniuose kvėpavimo takuose atvejų. Hospitalizacijos dieną 29,7 proc. ligonių kolonizuoti *S. aureus*, o išrašymo dieną – 20,7 proc. Naujos *S. aureus* padermės kolonizuoti išrašomi respondentai sudarė 5,8 proc.

2. Nustatyta, kad viršutinių kvėpavimo takų *S. aureus* kolonizacijai įtakos turintys reikšmingiausi rizikos veiksniai visuomenės grupėje yra jaunas amžius, antimikrobinių vaistų vartojimas dvejų metų laikotarpiu, lankymasis poliklinikoje, gyvenimas su sergančiais lėtine liga ar neseniai hospitalizuotais šeimos nariais, vyriškoji lytis, hormonų vartojimas ir kontaktas su odos pažeidimų turinčiais asmenimis. Nustatyta statistiškai reikšminga asociacija tarp viršutinių kvėpavimo takų *S. aureus* kolonizacijos ir rizikos veiksnių grupės, apimančios lytį, lankymąsi poliklinikoje ir gyvenimą su lėtinėmis ligomis sergančiais šeimos nariais. Ištyrus hospitalizuotų ligonių grupę, nustatyta atvirkštinė priklausomybė tarp antimikrobinių vaistų skyrimo ir *S. aureus* kolonizacijos.

3. Visuomenės grupėje *S. aureus* atsparumas penicilinui buvo mažesnis nei iš hospitalizuotų ligonių išskirtų padermių. Meticilinui atsparios *S. aureus* padermės nustatytos tik hospitalizuotų ligonių grupėje. Atsparių rifampinui ir mupirocinui *S. aureus* padermių nenustatyta. Visuomenės grupėje dominavo atsparumą eritromicinui koduojantis *ermC* genas (62,5 proc.), o hospitalizuotų ligonių grupėje – *ermA* (54,5 proc.). Visuomenės ir hospitalizuotų ligonių grupėse atsparumą tetraciklinui dažniausiai kodavo *tetK* genas (91,7 proc. ir 96,2 proc. atitinkamai).

4. Panton–Valentine leukocidino genas nustatytas 2,5 proc. tirtų fenotipiškai skirtingų *S. aureus* padermių. Didesnė PVL teigiamų padermių nustatyta visuomenės grupėje – 3,0 proc. Tarp *S. aureus* padermių išskirtų hospitalizuotų ligonių grupėje PVL teigiamos padermės sudarė 2,0 proc. Visuomenės grupėje labiausiai paplitę t084 ir t056 *spa* tipai, hospitalizuotų ligonių grupėje – t008 ir t056 *spa* tipai. Didžiausia dalis ištirtų MASA padermių priklausė t008 ir t002 *spa* tipams. 15 proc. visų nustatytų *spa* tipų cirkuliavo abiejose tirtose grupėse.

PUBLIKACIJOS IR PRANEŠIMAI DISERTACIJOS TEMA

PUBLIKACIJOS

- **Agnė Kirkliauskienė**, Niels Frimodt-Møller, Arvydas Ambrozaitis. Epidemiological aspects of community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Medicinos teorija ir praktika* 2009; 15(4): 349–355.
- **Agnė Kirkliauskienė**, Arvydas Ambrozaitis, Robert L. Skov, Niels Frimodt-Møller. The prevalence of *Staphylococcus aureus* nose and throat carriage by healthy adults. *Visuomenės sveikata* 2010; 2(49): 124–131.

PRANEŠIMAI

Žodiniai pranešimai:

- **A. Kirkliauskienė**. *Staphylococcus aureus* padermių, išskirtų iš klinikinės medžiagos, atsparumas antibiotikams. Pranešimas VU Medicinos ir Gamtos mokslų fakultetų konferencijoje tema: Lietuvoje paplitusių žmogui ir naminiams gyvūnams patogeniškų bakterijų atsparumo antibiotikams molekulinė epidemiologija. 2006 m. spalio 28 d., Vilnius.
- **A. Kirkliauskienė**, A. Ambrozaitis. Hospitalinės infekcijos ir *Staphylococcus aureus*: istorija ir dabartis. Pranešimas Higienos instituto ir Hospitalinių infekcijų valdymo asociacijos seminare tema: Meticilinui atsparaus *Staphylococcus aureus* infekcijos valdymas. 2008 vasario 8d., Vilnius.

Stendinis pranešimas

- **Agnė Kirkliauskienė**, Arvydas Ambrozaitis, Robert L. Skov, Niels Frimodt-Møller. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the community in Lithuania. Poster presentation in the 8th Nordic-Baltic Congress on Infectious Diseases “Well-known infections – the hottest features of diagnostics and treatment”. Saint Petersburg, Russia, September 23-26, 2009.

PADĖKA

Norėčiau išreikšti nuoširdžią padėką

Vilniaus universiteto Infekcinių ligų, dermatovenerologijos ir mikrobiologijos klinikos vadovui, kartu ir savo darbo vadovui prof. habil. dr. **Arvydui Ambrozaičiui**, sudariusiam man sąlygas pradėti studijas ir atlikti šį darbą, ypač už vertingas diskusijas, konstruktyvią kritiką, paramą, kantrybę ir paskatinimus per visus studijų metus.

Danijos Valstybinio serumų instituto Nacionalinio antibiotikų atsparumo ir infekcijų kontrolės centro prof. dr. **Nielsui Frimodt-Mølleriui** už naujas žinias ir galimybę atlikti dalį mokslinių tyrimų šiame institute, jo neįkainojamą paramą plėtojant mokslinių tyrimų idėjas ir įdomias mokslines diskusijas.

Danijos Valstybinio serumų instituto Nacionalinio antibiotikų atsparumo ir infekcijų kontrolės centro Stafilokokų laboratorijos vedėjui MD **Robertui Leo Skovui** už galimybę atlikti tyrimus jo vadovaujamoje laboratorijoje, naudingas diskusijas ir komentarus ruošiant straipsnį.

Valstybinio serumų instituto Stafilokokų laboratorijos darbuotojams, ypač **Karen Leth Nielsen, Marcuį Steggeriui, Sidsel Bocher, Marit Sorum, Frankui Hansenui, Jette Mondrup, Jette Olsen** ir **Lone Ryste Hansen** už supažindinimą su bendraisiais laboratorinių darbų principais, pagalbą atliekant PGR tyrimus ir šiltą priėmimą bei jaukią atmosferą svečiuojantis Danijoje.

Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų ir VšĮ Vilniaus miesto universitetinės ligoninės Infekcijų kontrolės skyrių vedėjoms, gydytojoms epidemiologėms **Aušrai Macijauskienei** ir **Sarmai Rečinskaitei** už galimybę tyrimus atlikti šiose ligoninėse, patarimus, tyrimų organizaciją, supratingumą ir geranoriškumą. Dėkoju ir ligoninės personalui už atsakingumą, sąžiningumą renkant mėginius.

Vilniaus universiteto Infekcinių ligų, dermatovenerologijos ir mikrobiologijos klinikos lektoriui **Pranui Žlabiui** už diskusijas, komentarus ir pasiūlymus šio darbo tematika.

Nacionalinės visuomenės sveikatos priežiūros laboratorijos medicinos gydytojai **Jolantai Miciulevičienei**, gydytojoms mikrobiologėms **Snieguolei Daukšienei** ir **Violetai Vedlūgienei** už naudingas diskusijas ir techninę informaciją apie mikrobiologinius tyrimus.

Vilniaus universiteto Infekcinių ligų, dermatovenerologijos ir mikrobiologijos klinikos mikrobiologijos specialistei **Halinai Butkevič** už kvalifikuotą techninę pagalbą.

Tyrimo dalyviams už geranoriškumą, supratingumą dalyvaujant tyrime ir domėjimąsi rezultatais.

INFORMACIJA APIE AUTORE

Agnė Kirkliauskienė

GIMIMO DATA 1978 m. sausio 12 d.
TAUTYBĖ Lietuvė
ŠEIMYNINĖ PADĖTIS Ištekėjusi, (dukra Augustė, gimusi 2004 m. spalio 7 d.)
ELEKTRONINIS PAŠTAS agne.kirkliauskiene@mf.vu.lt

IŠSILAVINIMAS

1996–2000 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, visuomenės sveikatos bakalauro diplomas
2000–2002 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, visuomenės sveikatos magistro kvalifikacinis laipsnis
2004–2011 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, Infekcinių ligų, dermatovenerologijos ir mikrobiologijos klinika, doktorantė

DARBINĖ VEIKLA

2000–2002 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, Farmakologijos ir mikrobiologijos katedra, inžinierė
2002–2005 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, Infekcinių ligų ir mikrobiologijos klinika, asistentė
2003–2007 Vilniaus Visuomenės sveikatos centras, visuomenės sveikatos specialistė
Nuo 2006 Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, Infekcinių ligų, dermatovenerologijos ir mikrobiologijos klinika, asistentė

DALYVAVIMAS PROJEKTUOSE

2005–2006 „Lietuvoje paplitusių žmogui ir naminiams gyvūnams patogeniškų bakterijų atsparumo antibiotikams molekulinė epidemiologija“. Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, Gamtos mokslų fakultetas. Jaunesnysis mokslo darbuotojas.

STAŽUOTĖS UŽSIENIO MOKSLO INSTITUCIJOSE

2005 11 07–2005 11 26 Valstybinis serumų institutas, Kopenhaga, Danija
2008 11 02–2009 02 02 Valstybinis serumų institutas, Kopenhaga, Danija

NARYSTĖ

Nuo 2009 Lietuvos infektologų draugijos narė

SUMMARY

Introduction. *S. aureus* is part of the usual bacterial flora of humans and can also be found in other mammals as well as birds. Nevertheless, throughout the recorded history this microorganism has been a significant cause of infections in humans.

Following the introduction of antibiotics, *S. aureus* developed resistance to penicillin in the 1940s, and then emerged as an important cause of severe nosocomial infections in the 1950s. The discovery of beta-lactamase-resistant cephalosporins and later the semisynthetic beta-lactam antibiotics (methicillin, oxacillin, and nafcillin) saved the situation for the next 10 to 15 years.

Still, as early as the 1970s, sporadic reports of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) began to appear. The first MRSA strain was found in the UK hospital in 1961 shortly after the introduction of methicillin in 1960. The widespread emergence of MRSA infections have been observed over the subsequent 20 to 30 years, in certain regions of Europe, throughout the United States, as well as in Japan and the Western Pacific. Until very recently, these MRSA strains have largely been associated with hospital-acquired infections.

During last 20 years, MRSA was reported in infections originating in the community. In the 1980s, however, epidemic strains of MRSA emerged and attention shifted back to staphylococcal colonization and infection.

Carriage of *S. aureus* appears to play a key role in the epidemiology and pathogenesis of community and health acquired infections. Patients with nasally colonized *S. aureus* have a significantly higher risk of developing staphylococcal wound infection after a surgical procedure than those who are not colonized.

In Lithuania, so far, a national surveillance system of staphylococcal disease is not in place. Studies of the carriage rate of *S. aureus* in Lithuania are lacking. The prevalence of *S. aureus* among pre-school and school-aged children and *S. aureus* carriage prevalence among hospitalized patients were performed in a city of Kaunas. As far as we know there is no data about the prevalence of *S. aureus* in healthy adult population in Lithuania.

There is limited data comparing community-acquired with health care-acquired *S. aureus* and MRSA cases in Lithuania. Furthermore, there has been no systematic comparison of the molecular characteristics (e.g., Panton-Valentine leukocidin gene profiles, *spa* types) of community and health care isolates. Such genetic information could improve understanding of the pathogenesis of different staphylococcal strains. The researches on *S. aureus* carriage in Lithuania up to the present day were never aimed at evaluation of the risk factors which may influence the *S. aureus* colonization. This study will investigate the genetic relatedness and comparison between *S. aureus* in the community and hospital, and evaluate important risk factors for *S. aureus* colonization.

Aim of the study - to determine the extent of *S. aureus* carriage of selected adult population and hospitalized patients in Vilnius and evaluate potential risk factors of its carriage as well as antimicrobial resistance of isolated strains and, prevailing genetic elements of the resistance and virulence.

Objectives of the study

1. To assess *S. aureus* carriage in an adult community population and in hospitalized patients of some surgical departments in Vilnius;

2. To evaluate possible risk factors of *S. aureus* carriage in the community and in hospitalized patient groups;
3. To determine antibiotic resistance differences and prevailing resistance genes of *S. aureus* strains isolated from selected community groups and hospitalized patients;
4. To define the prevalence of virulence gene and *spa* types of *S. aureus* strains isolated from community and hospitalized patients.

Scientific novelty of the study

The study of *S. aureus* carriage in adult community population outside hospital and in no connection to hospital risk factors was carried out for the first time. Hospitalized patients were also examined in order to determine *S. aureus* carriers on admission to and upon discharge from hospital.

In this study, for the first time in Lithuania, the analysis of risk factors was carried out to evaluate the prevailing factors of *S. aureus* carriage. According to the thorough survey of the participants of the study and their clinical record, the prevailing risk factors of *S. aureus* carriage in population and hospitalized patients were identified.

All the isolated *S. aureus* strains were tested according to the extended antibiogram for the resistance to antimicrobials. The results of resistance determination were compared among the community population group and the hospitalized patients group. The applied molecular testing enabled to determine and compare the prevailing genetic elements coding resistance to methicillin, erythromycin and tetracycline.

Although Panton-Valentine leukocidin is very important in the pathogenesis of *S. aureus* infections, the prevalence of this gene was never studied in Lithuania. The applied molecular testing, in this study, enabled us to determine its prevalence among the isolated *S. aureus* strains in the community population and hospitalized patients.

S. aureus typing helps to determine congenerical *S. aureus* strains, their origin and spread. According to the molecular testing methods, for the first time in Lithuania, *spa* types were identified in this study. The data obtained was compared between the studied groups.

Practical value of the study

During the study, a relatively high carrier rate was found for *S. aureus* in Lithuanian individuals. The carriage of this microorganism may cause wound and development of other infections. According to the results of the study, post-operative wound infection prevention measures may be implemented.

The detection of the risk factors influencing *S. aureus* carriage helps direct epidemiological surveillance and infection control measures towards the control of the factors and prevent *S. aureus* and MRSA from spreading.

The data obtained, on the resistance of *S. aureus* strains to antimicrobials, in this study may be used for implementing the Antimicrobial resistant microorganism spread prevention program (2008 – 2014). One of the aims of this program is to minimize the occurrence and spread of antimicrobial resistant microorganisms; to develop the antimicrobial resistant microorganism monitoring system; to perform research in connection with antimicrobial-drug therapy and the growing resistance levels of microorganisms.

Defensive statements of the dissertation

- More than half of the Vilnius adult population under the study are *S. aureus* carriers;
- Most of the isolated *S. aureus* strains are resistant to penicillin, and only a small part are resistant to methicillin;
- Panton - Valentine leukocidin toxin gene is identified in clinical CA-MRSA strains; methicillin susceptible *S. aureus* strains rarely have this toxin coding gene;
- When cases of *S. aureus* carriage have been identified, a thorough investigation usually revealed a history of recent hospitalization; close contact with a person who has been hospitalized; or other risk factors, such as previous antimicrobial-drug therapy.

Materials and methods

Patients. A *S. aureus* carriage study was performed in two different respondent groups: community group and hospitalized patient group.

The community study group included two different groups: young adults, and older adults. Criteria for inclusion were: currently Vilnius city residents, ≥ 18 years of age, not hospitalized within the previous 3 years, and not employed in health care service.

Hospitalized patient group were from Abdominal surgery, Angiosurgery, Urology and Nephrology departments of Vilnius University Hospital Santariškių klinikos and Vilnius City University Hospital.

The study of risk factors influencing *S. aureus* carriage. Community group and hospitalized patient group respondents were interviewed to evaluate *S. aureus* carriage risk factors. Each group respondents filled in the specially adapted anonymous questionnaire on the risk factors determining *S. aureus* carriage.

Samples and culturing. To identify *S. aureus* carriers in the community group, samples were taken from nose and throat with sterile cotton-wool swabs. From hospitalized study respondents samples from nose and throat were taken on the admission and discharge days. Samples were cultured on mannitol-salt agar and Columbia 5% sheep blood agar.

Identification of *S. aureus*. Identification of *S. aureus* was based upon the growth and mannitol fermentation on phenol red-mannitol-salt agar, colony morphology on blood agar, the tube coagulase test results with rabbit plasma, DNase and latex agglutination tests, and microscopy.

Antimicrobial susceptibility testing. All *S. aureus* isolates were tested against oxacillin, cefoxitin, rifampin, kanamycin, clindamycin, erythromycin, streptomycin, norfloxacin, fusidic acid, penicillin, ciprofloxacin, tetracycline and gentamicin by discs diffusion method. Inducible clindamycin resistance was examined by using the double-disk method.

Antimicrobial tablets Neo-Sensitabs were used to confirm 263 randomly selected *S. aureus* strains resistance to cefoxitin, rifampin, kanamycin, clindamycin, erythromycin, streptomycin, norfloxacin, fucidic acid, penicillin, tetracycline and mupirocin. Mecillinam tablets were used for confirmation of β -lactamase production.

The E test was used to detect the resistance to vancomycin, ciprofloxacin and gentamicin of *S. aureus* strains, which by the disc diffusion method were identified to have the resistance to oxacillin/cefoxitin and intermediate resistance to ciprofloxacin and gentamicin.

The identification of the resistance to some antimicrobials and virulence gene detection by molecular methods. *S. aureus* strains resistant to erythromycin and tetracycline had a multiplex PGR performed to detect *ermA*, *ermC*, *tetK*, *tetM* genes. All of the isolated strains during this study were tested for *mecA*, *spa* and *pvl* genes.

Statistical analysis. Statistical analysis was performed by using SPSS 13.0 program and WinPepi package.

The Diversity index was calculated by analyzing *spa* types.

For the graphical presentation of the categorical data from the contingency tables, the special mosaic graph was used.

Results

Characteristics of community group respondents'. A total of 537 individuals were recruited for this study from community group. The study participants included 212 (39.5%) young adults and 325 (60.5%) older adults. There were 250 (46.6%) female and 287 (53.4%) male participants. The mean age of the participants was 32.2 years (median – 30). The youngest participant of the study was 18, the oldest – 72 years of age.

Characteristics of hospitalized patients' group. All of the patients hospitalized during the study were examined, including a total of 828 patients. 57.2% of the patients were from VCUH, 42.8% – VUHSK. 47.2% of hospitalized patients were women, 52.8% – men. The youngest patient and study participant was 19 years old, the eldest – 95. The mean age of the respondents was 61.9 years (median – 63). On the discharge day from hospital, samples for *S. aureus* carriage identification were taken from 738 respondents.

S. aureus carriage in the community groups. The extent of *S. aureus* carriage in the Vilnius selected adult population was 50.8%. There were more *S. aureus* carriers in younger adult group (62.3%) than in older adult group (43.4%) ($p=0.0001$). Out of 273 carriers, 39.2% participants had *S. aureus* detected in nose, 31.5% – in throat, and 29.3% participants in both – nose and throat.

S. aureus carriage in the hospitalized patients' group on the day of admission to hospital. It was found that 29.7% of the respondents were *S. aureus* carriers. A slightly higher number of *S. aureus* carriers were found among the respondents admitted to VUHSK – 30.8% than to VCUH – 28.9%. In analysis of *S. aureus* site location, it was found that only the nares were the most prevalent site of *S. aureus* colonization (59.8% compared to 15.9% in the throat). In both swabbed sites colonization was found in 24.4% of colonized respondents.

S. aureus carriage in the hospitalized patients' group on the day of discharge from hospital. It was found that 20.7% of discharged respondents were *S. aureus* carriers. 79.0% participants had *S. aureus* detected in nose, 10.5% – in throat, and 10.5% participants in both – nose and throat.

On the discharge day 5.8% of the respondents were colonized with the new *S. aureus* strain. A greater number of respondents discharged from Abdominal surgery departments had new *S. aureus* isolates (48.8%, $n=21$).

The resistance of *S. aureus* isolates to antibiotics analysed in the community group. Based on the resistance pattern, 298 different *S. aureus* strains of 357 were isolated. Sixty-five percent of the isolates were resistant to penicillin. Low resistance rates to other antibiotics were detected: 8.1% were resistant to tetracycline and <3% of the

isolates were resistant to kanamycin (1.0%), gentamicin (0.7%), erythromycin (2.7%), clindamycin (2.0%) and streptomycin (0.7%).

All isolates were sensitive to oxacillin/cefoxitin, rifampin, norfloxacin, ciprofloxacin fusidic acid and. Ninety-nine (33.2%) of the isolated *S. aureus* strains were sensitive to all antibiotics used in this study. All 122 randomly selected *S. aureus* strains were sensitive to mupirocin.

The resistance of *S. aureus* isolates to antibiotics analyzed in the hospitalized patients' group. After patients were examined on the day of their admission to hospital, 254 phenotypically different *S. aureus* were isolated. Antimicrobial resistance study of *S. aureus* isolates from hospitalized patients showed that 77.2% (n=196) of isolates were resistant to penicillin. A total of 8.7% (n=22) of the isolates were resistant to tetracycline. Resistance testing also revealed low resistance rates to oxacillin/cefoxitin and ciprofloxacin (2.8%), to erythromycin, clindamycin and gentamicin (3.2%), to kanamycin and norfloxacin (3.5%). Less than 1% of the *S. aureus* isolates were resistant to fusidic acid and streptomycin. All 254 isolates were sensitive to rifampin. Fifty-six (22.1%) of the isolated *S. aureus* strains were sensitive to all used antibiotics in this investigation.

The resistance to antibiotics of *S. aureus* isolated on the day of discharge from hospital. After patients were examined on the day of their discharge from hospital, 155 phenotypically different *S. aureus* were isolated. 82.6% of *S. aureus* isolates were resistant to penicillin. A total of 7.7% and 5.2% of the isolates were resistant to tetracycline and kanamycin, respectively. Antimicrobial resistance study of *S. aureus* isolates revealed that 4.5% of strains were resistant to cefoxitin, erythromycin, norfloxacin, ciprofloxacin and gentamicin. Resistance to oxacillin and clindamycin was 3.9%. All 155 isolates were sensitive to rifampin. Twenty-six (16.8%) of the isolated *S. aureus* strains were sensitive to all antibiotics used in our study. 141 *S. aureus* strains randomly selected in hospitalized patients group on admission and discharge days were sensitive to mupirocin.

The presence of resistance genes of *S. aureus* isolated in the community group. A total of 30 phenotypically different *S. aureus* strains, were tested for *ermA*, *ermC*, *tetK* and *tetM* by multiplex PCR. 25% of erythromycin and/or clindamycin resistant strains contained *ermA*, and 62.5% contained *ermC*. No *erm* gene was found in one strain (12.5%).

The *tetK* gene was detected in 91.7% and in 8.3% of tetracycline resistant *S. aureus* strains the *tet* gene was not detected. One *S. aureus* strain had inducible MLS resistance and *ermA* gene, and it was sensitive to tetracycline, but positive for *tetM*.

The presence of resistance genes of *S. aureus* isolated in the hospital group. Analyzing 297 phenotypically different *S. aureus* strains, it was found that 3.7% (n=11) of them had *mecA* gene. All eleven phenotypically different strains were oxacillin/cefoxitin resistant, which was determined by disc diffusion method.

The prevalence of *ermA*, *ermC*, *tetK*, *tetM* genes were analyzed using PCR in 31 phenotypically different MSSA and 4 MRSA strains. A total of 10 MSSA and one MRSA strains were resistant to erythromycin and clindamycin. Among erythromycin resistance methylase genes, more prevalent was *ermA* (54.5%), including erythromycin-resistant MRSA strain, whilst *ermC* occurred in 36.4%. In one (9.1%) erythromycin resistant *S. aureus* strains the *erm* gene was not detected.

The distribution of tetracycline resistance genes in 23 tetracycline-resistant MSSA, three MRSA isolates and nine tetracycline-susceptible strains were determined. All three tetracycline-resistant MRSA isolates displayed *tetK* gene. One MRSA strain had inducible lincosamide resistance and *ermA* gene, also it was sensitive to tetracycline, but positive for *tetM*.

The *tetK* gene was detected in 95.7% MSSA isolates. One MSSA strain contained *ermA* and *tetM* although it was sensitive to tetracycline. No tetracycline resistance gene was encountered in one (4.4%) isolate.

The presence of Panton-Valentine leukocidin gene. 595 phenotypically different *S. aureus* strains were analyzed for the PVL genes by multiplex PCR.

PVL genes were detected in 2.5% *S. aureus* isolates, all of them were MSSA. All tested MRSA strains were PVL-negative.

spa types in the analysed *S. aureus* strains. A total of 192 *S. aureus* isolates were typed by *spa* typing. 80 different *spa* types were identified among the 152 phenotypically different *S. aureus* isolates. *spa* types t084 and t056 are mostly spread in community group, t008 and t056 *spa* types – in hospitalized patient group. The greatest part of the examined MRSA strains belonged to t008 and t002 *spa* types. 15% of all the determined *spa* types circulate in community and hospitalized patient groups.

The risk factors influencing the colonization of *S. aureus* in upper respiratory tract in the community group. The analysis was conducted on 273 *S. aureus* carriers and 264 respondents without *S. aureus* at the same time period. Two examined adult groups were compared to evaluate the age influence on *S. aureus* carriage. The young adult group had a higher rate of *S. aureus* carriage (OR=2.15; CI 1.49-3.12). The number of *S. aureus* carriers in the young adult group was higher among men (69.0%) than women (54.4%). This risk factor was determined as having a statistically significant influence on *S. aureus* colonization (OR=1.86; CI 1.02-3.39).

41.2% of all community group respondents indicated that in the last two years they used antimicrobial medications. It was determined that antimicrobial medication usage significantly increases the risk of becoming *S. aureus* carrier (OR=1.48; CI 1.03-2.12).

It was found that visits to outpatient clinics (in the last 2 years) statistically significantly increase *S. aureus* colonization risk (OR=1.56; CI 1.09-2.24). Such risk factors as the blood sampling from a vein, hormone consumption, and intravenous drug use were not statistically significant for *S. aureus* colonization in the community group. By analyzing young adult group and older adult group separately, it was found that in the latter group hormone consumption is an important risk factor for colonization of the microorganism under study (OR=5.47, CI 1.06-53.47).

According to the study, the contact of the respondents in older adult group with the people having dermal problems increased the risk of *S. aureus* colonization (OR=2.62, CI 1.00-7.34). Meanwhile, this possible risk factor in the young adult group did not have any influence on becoming *S. aureus* carrier (OR=0.50, CI 0.24-1.06).

It was found that such risk factors as family members' chronic diseases (OR=1.65, CI 1.03-2.66) and hospitalization in the two-year period (OR=1.49, CI 1.01-2.20) increase the risk for the people in contact to become *S. aureus* carriers. The respondents who share the same living space with sick or hospitalized family members more often had *S. aureus* isolated from their upper respiratory tract than those who did not share the same living space.

After summarizing the results, risk factors were grouped into separate groups to identify the most significant *S. aureus* carriage related risk factors.

A statistically significant association was found between the *S. aureus* colonization in the upper respiratory tract and the group of risk factors, which included male gender (OR_p=1,59, CI 1,11 – 2,28), visits to outpatients' clinics (OR_p=1,71, CI 1,19 – 2,47) and living with family members who have chronic diseases (OR_p=1,60, CI 1,01 – 2,55).

The risk factors influencing the colonization of *S. aureus* in upper respiratory tract in the hospitalized patient group. The questionnaire data analysis showed that 86.0% of the case group respondents and 81.4% of the control group respondents had surgery performed. Surgical intervention may influence colonization with *S. aureus* (OR=1.41, CI 0.38-5.45), yet the results obtained are not statistically significant. It was analyzed whether antimicrobials' prescription before and after the surgical operation had any influence on the upper respiratory tract colonization with *S. aureus* strain; it was found that the factors mentioned increased the risk of colonization with this microorganism, but statistical significance was not observed (OR=1.21, CI 0.47-3.12 and OR=1.53, CI 0.56-4.22, respectively).

It was also determined the influence of the time span of after-surgery prescribed antimicrobials' use on colonization with a new *S. aureus* strain. When the time span was grouped into 3 time periods, there was a significant tendency towards that the longer the time span of antimicrobials' use, the risk of becoming new *S. aureus* carrier significantly decreased ($\chi^2_{MH}=4.227$; df=1; p=0.040).

Due to relatively small number of respondents in the case and control groups, and because of the coefficient of determination (R²) of the models tested were not significantly exceeding zero, logistic regression was not performed.

Conclusions

1. It has been found that individuals in the community in Vilnius city have a high carriage rate of *S. aureus* (50.8%) in the upper respiratory tract. Total of 29.7% of patients were colonized with *S. aureus* on the admission day to the hospital and 20.7% – on the discharge day. Total of 5.8% of the respondents were colonized with a new *S. aureus* strain.

2. The most significant risk factors influencing the colonization of the upper respiratory tract with *S. aureus* in the community group were young age, consumption of antimicrobials in a two-year period, attending outpatient clinic, having family members with chronic diseases or recently hospitalized, male gender, hormone consumption and contact with those who have skin disorders. A statistically significant association was found between the *S. aureus* colonization and the group of several risk factors, which included male gender, attending outpatients' clinics and having family members suffering from chronic diseases. Inverse relationship between antibiotics prescribed and *S. aureus* colonization was found in the hospitalized patient group.

3. *S. aureus* resistance to penicillin in community group was lower than of the strains isolated from hospitalized patients on the admission and discharge days. *S. aureus* strains resistant to methicillin were detected only in the hospitalized patient group. There were no *S. aureus* strains resistant to rifampin and mupirocin. *ermC* gene coding the

resistance to erythromycin was predominant (62.5%) in the community group; *ermA* (54.5%) – in the hospitalized patient group. Among *S. aureus* strains resistant to tetracycline *tetK* gene was predominant in community and hospitalized patients' groups (91.7% and 96.2%, respectively).

4. The Panton–Valentine leukocidin gene was found in 2.5% of the phenotypically different *S. aureus* strains. A higher proportion of PVL-positive isolates were found among the community group, i.e. 3.0%. The proportion of PVL-positive isolates among *S. aureus* strains isolated from hospital respondents was 2.0%. *spa* types t084 and t056 were mostly prevalent in the community group, t008 and t056 *spa* types in the hospitalized patient group. The highest proportion of the examined MRSA strains belonged to t008 and t002 *spa* types. A total of 15% of all the determined *spa* types circulated in community and hospitalized patient groups.