

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
MEDICINOS AKADEMIJA
MEDICINOS FAKULTETAS
LABORATORINĖS MEDICINOS BIOLOGIJA
ANTROSIOS PAKOPOS STUDIJOS

GRETA MIKUČIONYTĖ

***PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ATSPARUMO ANTIBIOTIKAMS DINAMIKA
PRIKLAUSOMAI NUO ININFEKCIJOS ŽIDINIO IR KLINIKINIO SKYRIAUS**

BAIGIAMASIS MAGISTRO DARBAS

Darbo vadovė:
Prof. Dr. Astra Vitkauskienė

Kaunas, 2023 m.

TURINYS

SANTRAUKA	4
ABSTRACT	6
PADĖKA.....	8
INTERESŲ KONLIKTAS.....	8
ETIKOS KOMITETO LEIDIMAS	8
SANTRUMPOS	9
ĮVADAS.....	11
DARBO TIKSLAI IR UŽDAVINIAI.....	12
1. LITERATŪROS APŽVALGA	13
1.1 <i>P. aeruginosa</i> morfologija ir biologinės savybės.....	13
1.2 <i>P. aeruginosa</i> patogeniškumo veiksniai	14
1.2.1 Lipopolisacharidas	14
1.2.2 Išorinės membranos pūslelės	15
1.2.3 Sekretinė sistema.....	16
1.2.4 Kvorumo jautimas ir bioplėvelių formavimas.....	17
1.3 <i>P. aeruginosa</i> sukeltos infekcijos	18
1.4 <i>P. aeruginosa</i> atsparumo antimikrobinėms medžiagoms mechanizmai.....	19
1.5 <i>P. aeruginosa</i> epidemiologija.....	22
2. TYRIMO METODIKA IR METODAI	25
2.1 Tyrimo planavimas ir organizavimas.....	25
2.2 Tyrimo objektas	25
2.3 Tiriamųjų atranka (populiacija, imtis)	25
2.4 Tyrimo metodai.....	25
2.5 Mikrobiologinis klinikinių medžiagų tyrimas Pasėlio metodu.....	25
2.6 <i>P. aeruginosa</i> padermių identifikavimas	26
2.7 Mikroorganizmų jautrumo antimikrobinėms medžiagoms nustatymas – diskų difuzijos metodu	26
2.8 Duomenų analizės metodai	27
3. REZULTATAI.....	28
3.1 Išskirtų <i>P. aeruginosa</i> izoliatų pasiskirstymas pagal skyrius ir tiriamąją klinikinę medžiagą dinamika.....	28
3.2 <i>P. aeruginosa</i> atsparumo antibiotikams dinamika 2013m. - 2015 m. ir.....	35

2020 m. - 2022 m. pagal tiriamuosius skyrius	35
3.3 <i>P. aeruginosa</i> atsparumo antibiotikams dinamika 2013 m. - 2015 m. ir 2020 m. - 2022 m. pagal tiriamąją klinikinę medžiagą.....	43
IŠVADOS.....	52
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	53

SANTRAUKA

Magistro darbo autorius: Greta Mikučionytė

Magistro darbo pavadinimas: *Pseudomonas aeruginosa* atsparumo antibiotikams dinamika priklausomai nuo infekcijos židinio ir klinikinio skyriaus.

Darbo tikslas: Įvertinti klinikinių *P. aeruginosa* padermių atsparumo antibiotikams ypatumus, 2013 m. – 2015 m. ir 2020 m. – 2022 m.

Darbo uždaviniai:

1. Įvertinti *P. aeruginosa* išskyrimo dažnio dinamiką priklausomai nuo infekcijos židinio ir klinikinio skyriaus, 2013 m. – 2015m. ir 2020 m. – 2022m.
2. Įvertinti *P. aeruginosa* atsparumo antibiotikams dinamiką Intensyvios terapijos (ITS), Chirurgijos (CHS), Terapiniuose skyriuose (TS), 2013 m. – 2015 m. ir 2020 m. – 2022 m.
3. Įvertinti *P. aeruginosa* atsparumą antibiotikams priklausoma nuo infekcijos židinio, 2013 m. – 2015m. ir 2020 m. – 2022m.

Tyrimo metodai: tyrimo metu buvo atlikta 2013 m. – 2015 m. ir 2020 m. – 2022 m. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Kauno klinikų (LSMU KK) ITS, CHS ir TS gydytų pacientų ėminių iš: žaizdų ir opų, kraujo, šlapimo bei kvėpavimo takų sekreto mikrobiologinės diagnostikos duomenų retrospektyvinė analizė. Buvo vertinti iš tiriamosios klinikinės medžiagos išaugę *P. aeruginosa* mikroorganizmai bei analizuotas jų atsparumas antibiotikams, pasirinktais periodais.

Rezultatai : tyrimo metu nustatyta, kad didžioji dalis, 2013 m. – 2015 m., išaugintų *P. aeruginosa* mikroorganizmų buvo iš ITS gydomų pacientų klinikinės medžiagos (43.3 proc.), tačiau 2020 m. – 2022 m. nustatytas reikšmingai didėjantis *P. aeruginosa* padermių išskyrimas iš CHS gydytų pacientų klinikinės medžiagos (46.4 proc.).

ITS profilio pacientams *P. aeruginosa* patikimai didesnė dalis buvo išskirta iš kvėpavimo takų sekreto (84.4 proc., $P=0.000$). TS profilio pacientams *P. aeruginosa* dažniau buvo išskirta iš kvėpavimo

bei šlapimo takų ėminių, CHS – šlapimo takų bei žaizdų ir opų sekreto, tačiau reikšmingų skirtumų lyginant su kitomis klinikinėmis medžiagomis nustatyta nebuvo.

2020 m. – 2022 m. nustatytas atsparių *P. aeruginosa* padermių skaičius augimas. Gautas reikšmingai didėjantis ($P=0.05$) ceftazidimui (CAZ) atsparių padermių augimas, 2020 m. – 2022 m. Tyrimo nustatyta, kad daugiausia padermių buvo atsparios imipenemui (IMP) – 22.9 proc., meropenemui (MEM) – 21.2 proc., ciprofloksacinui (CIP) – 21.4 proc. Mažiausias atsparumas registruotas aminoglikozidų klasės atstovui- amikacinui (AMK) - 5.3 proc.

Nagrinėjant *P. aeruginosa* padermių atsparumą pagal klinikinę medžiagą, nustatyta kad CEP ir CAZ atsparių padermių didžiausias augimo pokytis buvo registruotas padermėse išaugintose iš kvėpavimo takų (7 proc. didėjimas) bei žaizdų ir opų (13 proc. ir 11 proc. didėjimas); CIP – iš kraujo ėminių (13 proc. didėjimas); GEN – iš kraujo (12 proc. didėjimas) ir kvėpavimo takų sekreto (4 proc. didėjimas); MEM – iš kvėpavimo takų (12 proc. didėjimas), žaizdų ir opų (5 proc. didėjimas), TZP – kraujo (12 proc. didėjimas) bei žaizdų ir opų (8 proc. didėjimas) klinikinės medžiagos, analizuojant du nagrinėjamus laikotarpius.

Išvados:

1. Nustatytas reikšmingai didėjantis *P. aeruginosa* padermių išskyrimo dažnis CHS, analizuojant šešių metų tyrimo duomenis ($P=0.001$). ITS profilio pacientams *P. aeruginosa* patikimai dažniau buvo išskirta iš kvėpavimo takų (82.6 proc., $P=0.000$) lyginant su kitomis klinikinėmis medžiagomis.

2. Nustatytas reikšmingai didėjantis CAZ atsparių padermių augimas visų profilių klinikiniuose skyriuose ($P=0.05$). Lyginant du analizuojamus laikotarpius reikšmingas *P. aeruginosa* atsparumas kitų klasių antimikrobinėms medžiagoms nustatytas nebuvo.

3. Didžiausias iš kvėpavimo takų išaugintų atsparių *P. aeruginosa* padermių skaičiaus augimas buvo stebimas cefalosporinų, aminoglikozidų ir karbapenemų klasės antibiotikams; iš žaizdų ir opų – cefalosporinų ir karbapenemų klasės antibiotikams; iš kraujo ėminių – fluorochinolonų, aminoglikozidų ir penicilinų klasės antibiotikams.

Raktiniai žodžiai: *P. aeruginosa*, atsparumas antibiotikams, intensyvios terapijos skyrius, chirurgijos skyrius, terapijos skyrius, klinikinės medžiagos.

ABSTRACT

Author of Master Thesis: Greta Mikučionytė

Full title of Master Thesis: Dynamic of antimicrobial resistance pattern in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from different clinical specimens and hospital settings.

The goal: to evaluate the frequency and antimicrobial resistance patterns of *P. aeruginosa* strains isolated from different hospital settings and clinical sources at the Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos (LSMU KK).

The objectives:

1. To evaluate the dynamics of *P. aeruginosa* isolation frequency from different hospital settings and clinical sources in 2013 - 2015 and 2020 - 2022.
2. To evaluate the dynamics of antibiotic resistance patterns of *P. aeruginosa* strains isolated from Intensive care unit (ICU), Surgery unit (SU) and Pediatric unit (PU) in 2013 - 2015 and 2020 - 2022.
3. To evaluate the antibiotic resistance patterns of *P. aeruginosa* strains isolated from clinical sources in 2013 - 2015 and 2020 - 2022.

Test methods: the study was carried out by retrospectively examining microbiological samples of respiratory tract secretions, burn, wounds/ulcers, urinary and blood samples from patients who were treated in LSMU KC ICU, SU and PU during periods of 2013 - 2015 and 2020 - 2022. Microorganisms that colonised above mentioned clinical sources were identified and their antibiotic resistance was determined.

Results: during the study, it was determined that the majority of the *P. aeruginosa* microorganism was isolated from the ICU during the 2013 - 2015 period, respectively 43.3%. Meanwhile in 2020 – 2022, a significant increase in the isolation of *P. aeruginosa* strains from SU was determined (46.4%). There was a significant association between *P. aeruginosa* in respiratory samples from patients treated in the ICU (84.4 %, $P=0.000$). Patients whose were treated in PU was more often isolated with *P. aeruginosa* from respiratory and urinary tract samples, in CU - from urinary tract and wound and ulcer secretions, but no significant differences were found compared to other clinical specimens by two analyzed periods data.

An increase in the percentage of resistant *P. aeruginosa* bacteria was observed in 2020 – 2022 compared to 2013- 2015. Significant increase in the growth of Ceftazidime-resistant strains (CAZ) in 2020- 2022, ($P=0.05$). In our study most of the strains were resistant to imipenem (IMP) - 22.9%, meropenem (MEM) - 21.2% and ciprofloxacin (CIP)- 21.4%. The lowest resistance was registered to amikacin (AMK) at - 5.3 percent.

When investigating the resistance of *P. aeruginosa* strains based on clinical specimens it was determined that that the biggest differences in growth of CEP and CAZ was registered in strains grown from the respiratory tract (7% increase) and wounds/ulcers (13% and 11% increase), CIP – blood samples (13 % increase); GEN – blood (12 % increase) and respiratory tracts samples (4 % increase); MEM - respiratory tracts (12 % increase) and wounds/ulcers samples (5 % increase); TZP - blood (12 % increase) and wounds/ulcers samples (8% increase).

Conclusions:

1. A significant increase in the frequency of isolation of *P. aeruginosa* strains was found in SU analyzing the data of the six-year study ($P=0.001$). *P. aeruginosa* strains significantly more often isolated from the respiratory tract of ICU patients (82.6 proc., $P=0.000$), compared to other clinical specimens.

2. Significant increase in the growth of (CAZ) in 2020 - 2022, ($P=0.05$) was determined in this study, meanwhile no significant resistance of *P. aeruginosa* to other classes of antimicrobial substances was found, by comparing the two analyzed periods of data.

3. The biggest differences in the increase of *P. aeruginosa* strains isolated from the respiratory tract was observed of cephalosporin, aminoglycoside and carbapenem class of antibiotics; wounds and ulcers - for cephalosporins and carbapenem class antibiotics; blood samples - for fluoroquinolones, aminoglycosides and penicillin class antibiotics.

Key words: *P. aeruginosa* , resistance to antibiotics, Intensive care unit, Surgery Unit, Pediatric Unit, clinical specimens.

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju savo darbo vadovei LSMU KK Laboratorinės medicinos klinikos vadovei – Prof. Dr. Astrai Vitkauskienei už skirtą laiką ir pagalbą rengiant magistrinį darbą.

INTERESŲ KONLIKTAS

Autoriui intereso konflikto nebuvo.

ETIKOS KOMITETO LEIDIMAS

Tyrimui atlikti 2022 m. birželio 29 d. buvo gautas Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Bioetikos centro leidimas Nr. BEC-LMB(M)-510 (1 priedas). Tyrimo metu užtikrintas tiriamųjų anonimiškumas ir gautų duomenų konfidencialumas – neįmanoma identifikuoti atskirų ligonių, patekusių į ITS, CHS, TS infekcijų registracijos duomenų bazę.

SANTRUMPOS

AMK	Amikacinas
CAZ	Ceftazidimas
CEP	Cecefimas
CF	Cistinė fibrozė
CHS	Chirurgijos skyrius (angl. CU)
CIP	Ciprofloksacinas
COL	Kolistinas
DAA	Dauginis atsparumas antibiotikams
DFD	Diskų difuzijos metodas
DPV	Dirbtinė plaučių ventiliacija
PDVSP	Dirbinės plaučių ventiliacijos sukelta pneumonija
ES	Europos Sąjungos šalys
ESAC-Net	Europos antimikrobinų medžiagų vartojimo stebėjimo tinklas
ESBL	Išplėsto spektro beta laktamazės
EUCAST	Europos antibiotikų jautrumo tyrimų komiteto standartas
EARSS	Europos antimikrobinio atsparumo stebėsenos tinklas
GEN	Gentamicinas
HI	Hospitalinė infekcija
IFN- γ	Gama interferonas
IL-1 β	Interleukinas 1-beta
IL-8	Interleukinas 8
IMP	Imipenemas
IMS	Išorinės membranos pūslelės
ITS	Intensyvios terapijos skyrius (angl. ICU)
KJ	Kvorumo jutimo sistema
LOPL	Lėtinė obstrukcinė plaučių liga
LPS	Lipopolisacharidas
LSMU KK	Lietuvos sveikatos mokslų universitetas Kauno klinikos
MEM	Meropenemas

MIC	Minimali slopinimo koncentracija
MH	Miulerio – Hiltono
OprD	D kanalo porinas
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBP	Peniciliną surišantys baltymai
PIP	Piperacilinas
PSO	Pasaulinė sveikatos organizacija
T1SS – T6SS	Pirmo – šešto tipo sekrecinė sistema
TNF- α	Naviko nekrozės faktorius alfa
TNR	Techniškai neapibrėžtos ribos
TOB	Tobramicinas
TS	Terapijos skyrius (angl. PU)
TZP	Piperacilinas-tazobaktamas

IVADAS

Hospitalinės endogeninės ar egzogeninės (nozokomialinės) kilmės infekcijos (HI) - tai vienos aktualiausių gydymo įstaigų problemų, reikšmingai pabloginančių paciento pagrindinės ligos prognozę bei gyvenimo kokybę, ilginančių hospitalizavimo laiką bei didinančių neplanuotas gydymo išlaidas (1). Nors sergančiųjų mirtingumo rodiklis HI atveju priklauso nuo daugelio priežasčių bei rizikos veiksnių, tyrimais nustatyta, kad ligos baigtį lemia ne tik sunki ligonio būklė, gretutinės ligos, bet ir uždelstas arba netinkamas plataus spektro antimikrobinų preparatų naudojimas, kuris skatina dauginį mikroorganizmų atsparumo vystymosi didėjimą.

Dažniausiai HI yra veikiami ITS gydomi pacientai (2). *P. aeruginosa* čia išlieka kliniškai ir epidemiologiškai reikšmingiausiu oportunistiniu patogenu, sukeliančiu iki 11 proc. visų registruojamų HI atvejų (1,2). Labiausiai pažeidžiami yra imunosupresinės būklės pacientai, sergantys cistine fibroze (CF) (3), lėtiniu obstrukciniu plaučių (LOPL) uždegimu, onkologinėmis ligomis ar sunkios infekcinės eigos atveju, kuomet reikalinga dirbtinė plaučių ventiliacija (DPV), pavyzdžiui COVID-19 ligos (koronaviruso infekcijos) su sunkia ūmine pneumonija metu (4).

P. aeruginosa sukeltų infekcijų farmakologinis gydymas dažnai yra neefektyvus dėl šio mikroorganizmo didelio įgimto ir įgyto atsparumo antimikrobinėms medžiagoms, sudėtingų virulentiškumo veiksnių, (5–7) bei gebėjimo prisitaikyti ir daugintis skirtingomis aplinkos sąlygomis, pavyzdžiui, vandenyje, kuriame yra labai mažai maistinių medžiagų (8).

Įgimtas (natūralus) *P. aeruginosa* atsparumas susijęs su mikroorganizmo gebėjimu apsisaugoti nuo antibiotiko skverbimosi per mažai laidžią išorinę ląstelės membraną, intensyvios beta laktamazių (β - laktamazių) gamybos ar daugiavaisčių išmetimo siurblių sistemos buvimo (9). Tačiau vis didesnę problemą kelia *P. aeruginosa* įgytas – genetinių pokyčių nulemtas ir genetiniu lygmeniu perduodamas atsparumas antimikrobinėms medžiagoms (10). Dėl šios priežasties vis didesniu atsparumu pasižyminčios *P. aeruginosa* padermės tampa nevaldoma infekcinių ligų kontrolės dalimi, kaip atsakas į netinkamą antibiotikų parinkimą, perteklinį jų vartojimą, netinkamą vartojimo trukmę bei savigydą.

Taigi, norint sustabdyti šio mikroorganizmo vis didėjantį antimikrobinio atsparumo plitimą, reikia teikti didelę reikšmę antimikrobinio atsparumo tyrimams bei *P. aeruginosa* sukeltų infekcinių ligų gydymui skirti antibiotikus tik atlikus išsamų atsparumo antibiotikams įvertinimą.

DARBO TIKSLAI IR UŽDAVINIAI

Tyrimo tikslas: Įvertinti klinikinių *P. aeruginosa* padermių atsparumo antibiotikams ypatumus.

Tyrimo uždaviniai:

1. Įvertinti *P. aeruginosa* išskyrimo dažnio dinamiką priklausomai nuo infekcijos židinio ir klinikinio skyriaus, 2013 m. – 2015m. ir 2020 m. – 2022m.
2. Įvertinti *P. aeruginosa* atsparumo antibiotikams dinamiką Intensyvios terapijos (ITS), Chirurgijos (CHS), Terapiniuose skyriuose (TS), 2013 m. – 2015 m. ir 2020 m. – 2022 m.
3. Įvertinti *P. aeruginosa* atsparumą antibiotikams priklausoma nuo infekcijos židinio, 2013 m. – 2015m. ir 2020 m. – 2022m.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 *P. aeruginosa* morfologija ir biologinės savybės

P. aeruginosa, lietuviškai vadinamos žaliamelemis pseudomonomis, tai *Pseudomonadaceae* šeimai priklausanti gramneigiama, vidutinio dydžio 0,5-1,0 x 1,5-4,0 μm, judrios, tiesios arba truputį lenktos lazdelės formos, saprofitinės bakterijos. Priskiriamos griežtiems, sporų neformuojantiems aerobams, energiją gaunantiems oksidacinių reakcijų metu, todėl dažniausiai aptinkamos aplinkoje, kurioje yra ribotas kiekis angliavandenių (11).

Mitybinėms terpėms nereiklūs. Auga esant 25 ° C – 37 ° C temperatūrai, tačiau puikiai sugeba išgyventi esant aukštesnei ar žemesnei temperatūrai. Gebėjimas lėtai augti ar bent išgyventi 42 ° C temperatūroje, padeda mikroorganizmus atskirti nuo daugelio kitų *Pseudomonas* rūšių (12,13). Be mitybos universalumo, *P. aeruginosa* pasižymi atsparumu didelei druskos koncentracijai, dažikliams, silpniems antiseptikams ir daugeliui dažniausiai naudojamų antibiotikų. Šios savybės padeda paaiškinti šio mikroorganizmo paplitimą visur ir taip prisidedant prie, kaip HI priežasties, svarbos.

Mitybinėse terpėse, morfologiškai, bakterijos atpažįstamos iš didesnių, apvalių, su banguotu kraštu ir šiurkščiu paviršiumi kolonijų. Dauguma yra netaisyklingos formos, perlo ar metalinio atspindžio spalvos mikroorganizmai. Augdamos išskiria hemolizinus (fosfolipazę ir lecitinazę), kurie vykdo β- hemolizę. Dėl šios priežasties, terpėje, aplink kolonijas suformuoja skaidrę hemolizės zoną. Hemoliziniai citotoksiškai paveikia neutrofilus, limfocitus bei kitas organizmo ląsteles, todėl yra svarbūs pseudomonų invazijai į šeimininko organizmą bei imuninės sistemos grandinės silpninimui.

Išskirtinai gamina keturių tipų tirpius vandenyje pigmentus : piocianiną (mėlynas), pioveridiną (geltonai žalias), piorubiną (raudonas) ir piomelaniną (rudas) (14,15). Be savybės pasklisti į terpę ir taip suteikti jai būdingą spalvą, šie pigmentai taip pat dalyvauja kvorumo jutime (KJ), bei prisideda prie bakterijos virulentiškumo didėjimo (15). Didžioji dauguma padermių išskiria specifinį jazminų, vaisių ar muilo kvapą, dėl susidariusio trimetilamino junginio. Tuo tarpu *P. aeruginosa* izoliuota iš CF sergančių asmenų tiriamosios medžiagos ar žaizdų, yra atpažįstama iš susidariusio VOC 2-aminoacetofenono (2-AA) junginio, kuris kultūrai suteikia saldų vynuogių ar kukurūzų kvapą (16).

Pseudomonas yra judrios bakterijos, dėka vienintelio polinio žiuželio. Šios ataugėlės ne tik atlieka sukamąjį judesį, bet ir padeda bakterijai prisitvirtinti prie kvėpavimo takų epitelio. Pagrindinę žiuželio masę sudaro baltymas flagelinas, kuris geba atpažinti imuninės sistemos gaminamus antikūnus ir taip nulemti greitesnę bakterijos kolonizaciją bei plitimą (17). *P. aeruginosa* padermės gali sudaryti

egzopolisacharidinę kapsulę, sudarytą iš alginato, PEL (angl. pellicle polysaccharide) ir PSL (angl. polysaccharide synthesis locus) polisacharidų, kurie yra susiję su bioplėvelių formavimu (18).

1.2 *P. aeruginosa* patogeniškumo veiksniai

P. aeruginosa bakterijoms būdinga didelė patogeniškumo mechanizmų įvairovė. Bakterijos toksinis poveikis pasireiškia gebėjimu stipriai bakterijai prisitvirtinti prie šeimininko ląstelės, suardyti šeimininko audinių bei imuninės sistemos vientisumą ir taip sukelti uždegiminiuosius procesus (7). Todėl sėkmingam antibakteriniam gydymui reikia visapusiškai suprasti šių bakterijų virulentiškumo veiksnius ir jų patogeninius mechanizmus, kad būtų galima suvaldyti vis didėjantį šio mikroorganizmo atsparumą antimikrobinėms medžiagoms bei padermių transformacijas į labai virulentiškas. *P. aeruginosa* virulentiškumo veiksniai, įvairiuose literatūros šaltiniuose, klasifikuojami skirtingai, tačiau pagrinde sudaro trys svarbiausios grupės – bakterijų paviršinės struktūros (lipopolisacharidas (LPS), paviršinės pūslelės), viduląstelinė komunikacijos -kvorumo jutimo (KJ) bei sekretinė sistemos, įskaitant nuo žiuželių priklausanti (T6SS), pilių (T4SS) ar daugelio toksinų komponentų 3 tipo sekrecijos sistemos (T3SS).

1.2.1 Lipopolisacharidas

LPS yra daugelio gramneigiamų bakterijų, taip pat ir *P. aeruginosa*, išorinės membranos pagrindinis struktūrinis komponentas, apsaugantis bakteriją nuo jai nepalankių sąlygų (19). Jis susideda iš trijų dalių – domenų - lipido A (endotoksino), vidinio ir išorinio šerdinio oligosacharido, sudaryto iš angliavandenių, bei distalinio O galo - polisacharido, kitaip žinomo kaip O – antigeno, dalies. O antigeno – polisacharido struktūra, savo angliavandenių monomerų skaičiumi, tarp skirtingų gramneigiamų padermių gali skirtis ir lempti kitokį bakterijos patogeniškumo laipsnį (20). LPS, kurie turi visus tris, ankščiau minėtus regionus, vadinami glotnios formos LPS, o LPS, kuriame yra O antigeno trūkumas – šiurkščios formos (LOS).

Pagal specifinio O antigeno (OSA, B fragmento), fenotipavimo metu gautus duomenis, *P. aeruginosa* šiuo metu klasifikuojama į 14 serograpių (A-N serogrupes), kurios pilnai atitinka ankstyvąją Tarptautinę antigeninę sistemą, sudarytą iš 20 skirtingų *P. aeruginosa* O antigenų serograpių (21–23). Reiktų paminėti, kad šioje vietoje nėra jokio esminio skirtumo lyginant G ir O6 serogrupes, išskyrus naujai suteiktą identifikavimo sistemą (24). Remiantis ja G serogrupė yra laikoma pagrindine nudegimų ir žaizdų infekcijos atsiradimo priežastimi, todėl yra viena iš vyraujančių *P. aeruginosa* serotipų tarp

klinikinių izoliatų (25) .

P. aeruginosa serogrupė G, priklausanti ST3449 klonui pasižymi išskirtinai dideliu atsparumu daugeliui klasių antibiotikų ir yra gana dažnai išskiriama CF sergantiems pacientams (24,26). Todėl greitas G serogrupės padermės identifikavimas yra būtinas ankstyvajai diagnozei nustatyti. Nors daugelis mokslininkų vis ieško sąsajų tarp *P. aeruginosa* priklausomybės nuo O antigeno serogrupės ir dauginio atsparumo antibiotikams, tikslu sukurti vakcinas nukreiptas į LPS molekules, daugeliu atveju šios paieškos lieka be rezultatų (20,27).

Su patogenų susijusios struktūros (PAMP) (angl. pathogen-associated molecular patterns) molekulinio lygmeniu įvardijamos kaip molekulės randamos prokariotose. Šias molekulinės struktūras (PAMP) gali atpažinti šeimininko ląstelėse ekspresuojami receptoriai (Toll/TLR (angl. Toll-like receptors), PRR (angl. pattern recognition receptors), NOD)), kurių dėka sukeliamas nespecifinis imuninis atsakas, apsaugantis šeimininko ląsteles (28). LPS-PRR/NOD molekulės aktyvina šeimininko uždegiminiuosius procesus, kurių metu išsiskiria uždegiminiai citokinai, tokie kaip navikų nekrozės faktorius (angl. TNF) Interleukinas 1-beta (IL-1 β), bet tuo pačiu ir Interleukinas 8 (IL-8) ir branduolio faktorius kapa B -NF- κ B (angl. nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells), kurie yra labai svarbūs reguliuojant ląstelių augimą ir apoptozę (29).

1.2.2 Išorinės membranos pūslelės

Išorinės membranos pūslelės (IMS), kurias išskiria gramneigiamos bakterijos, yra proteoliposominės nanodalelės, atliekančios svarbų vaidmenį bakterijų fiziologijoje, patogenezėje. Šios pūslelės padeda bakterijai palapsniui prisitaikyti ir išgyventi prie supančios aplinkos (30). Vykstant šeimininko ir mikroorganizmo sąveikai, infekcijos metu, IMS tarpininkauja sustiprinamos bakterijų sukibimo su paviršiumi galimybes, bioplėvelės formavimosi (31) procesus, sužadina uždegimo ir apoptozės kaskadą bei slopina (inhibuoja) šeimininko imuninį atsaką. Tai tarsi nauja sekretinė sistema bakterijose, kurios pagrindinė funkcija yra pristatyti baltymus ir lipidus į šeimininko ląsteles be tiesioginio kontakto su šeimininko ląstelėmis. *P. aeruginosa* IMS sistema susijusi su daugybe virulentiškumą lemiančių veiksnių, prisidedančių prie atsparumo antibiotikams masto didėjimo. Šie proteolipidai taip pat gali reguliuoti KJ sistemą (ląstelių populiacijos tankio reguliavimą), o tai suteikia geresnes *P. aeruginosa* kolonizacijos galimybes bei apsisaugoti nuo šeimininko imuninės sistemos atakų. Įdomu tai, kad kelios studijos įvardija IMS kaip adjuvantus, kuriuos pritaikius biotechnologinės inžinerijos įrankiais galima panaudoti kaip alternatyvius vaistų nešiklius ar net pačiai vakcinacijai (32).

1.2.3 Sekretinė sistema

Šiuo metu yra žinomos šešios *P. aeruginosa* baltymų sekrecijos sistemos – T1SS, T2SS, T3SS, T4SS, T5SS ir T6SS.

Pirmo tipo sekretinę sistemą (T1SS) turi daugelis gramneigiamų bakterijų, tačiau su šia sistema susiję surinkti moksliniai duomenys yra labai riboti ir jos funkcija patogenezėje bei reikšmė bakterijų fiziologijai iš esmės dar nėra gerai ištyrinėta. Antrojo tipo sekretinė sistema (T2SS) išskiria pagrindinius ekstraląstelinis toksinus, kurie pasižymi įvairia veikla, susijusia su galimomis kvėpavimo takų ligomis sergančių pacientų infekcijomis (33). Trečiojo tipo (T3SS) sekretinė sistema *P. aeruginosa* bakterijose yra viena iš svarbiausių ir atlieka pagrindinį virulentiškumo vaidmenį KJ bei siejama su ūmiomis infekcijos formomis, lemiančios sunkias ligos komplikacijas ar net letalines baigtis (34). Struktūriškai T3SS sistema primena “molekulinį švirškštą“, kurio pagalba šeimnininko ląstelei yra sušvirškščiami sekretiniai toksinai, tokie kaip - ExoS, ExoT, ExoY ir ExoU, kurie sutrikdo tarpląstelinio signalo perdavimą ir taip sukelia ląstelės mirtį (35). Ketvirtojo tipo (T4SS) sistema tarpininkauja horizontalioje genų pernašoje, todėl *P. aeruginosa* gali lengvai įgyti naujos genetinės informacijos, taip pakeisti savo genomo struktūrą ir pasižymėti vis didesniu atsparumu antimikrobinėms medžiagoms (36). Penktojo tipo sekretinė sistema (T5SS) pati paprasčiausia. Ši sistema išskiria įvairius baltymus, susijusius su bakterijų virulentiškumu ir adhezija, įskaitant EstA, TpsA ir TpsB (37). Šešto tipo (T6SS) sekretinė sistema, tai naujai atrasta galinga sekretinė sistema, susijusi su bakterijų tarpusavio sąveikia ir konkurenciją su aplinkos mikroorganizmais (38).

Beveik visos pseudomonų padermės sintetina egzopolisacharidus, sideroforinius junginius, proteazes bei toksinus. Egzopolisacharidai, tai ekstraląstelinės molekulės, kurių pagrindinė funkcija padidinti bakterijos toleranciją išgyventi nepalankiomis aplinkos sąlygomis. Nustatyta, kad *P. aeruginosa* gamina mažiausiai tris egzopolisacharidus: alginatą, Psl ir Pel, kur kiekvienas iš jų dalyvauja bioplėvelės formavimo procese (39). Kai kurios Pseudomonų rūšys trūkstant geležies sintetina sideroforinius junginius: pioverdiną (geltonas/žalias ar geltonai rudas pigmentas) ir piocianiną (mėlynai žalias pigmentas), kurie fluorescuoja ultravioletinėje šviesoje ir nudažo bakterijų augimui skirtą mitybinę terpę. Šie junginiai reikšmingi ne tik mikroorganizmų identifikacijai bet ekstraląstelinio geležies įsisavinimui(15).

P. aeruginosa patogenezėje dalyvauja ir keletas išorinių ląstelių patogenų, pagrinde įskaitant šarminę proteazę (angl. AprA) bei elastazę A ir B (dar kitaip pseudolizinas) (angl. LasA ir LasB). Šarminė proteazė pasižymi tuo, kad suardo imuninę komplemento sistemą, taip pat ir IFN- γ ir TNF- α bei citokinus (40). Elastazė A ir B ardo jungiamojo audinio fibrilinį baltymą (elastiną), kuris įeina į elastinių

savybių turinčių plaučių audinio ir kraujagyslių sudėtį, taigi tokiu būdu yra pažeidžiama plaučių funkcija ir sukiamas vidinis kraujavimas (41).

Kita šioms bakterijoms būdinga patogeniškumo savybė yra toksinų – efektorinių baltymų ekspresija. Šiuo metu yra identifikuoti keturi pagrindiniai baltymai - ExoS, ExoT, ExoU, ir ExoY, ekspresuojami T3SS sistemos. ExoS and ExoT tai du dažniausiai ekspresuojami *P. aeruginosa* baltymai, net 80 proc. turintys panašias bazių sekas. Šie du ekspresuojami toksinai pasižymi gebėjimu ardyti citoskeleto aktino gijas ir sukelti ląstelių apoptozę. ExoU yra stipri fosfolipazė ir pats virulentiškiausias T3SS efektorius, sukeliantis greitą nekrozinę ląstelių mirtį. Nors ExoS ekspresuojančios padermės yra glaudžiai susijusios su bloga infekuotų pacientų prognoze, ExoU ekspresuojančios padermės paprastai yra atsparesnės antibiotikams (42). Be šių baltymų, *Pseudomonas* spp. taip pat ekspresuoja ne mažiau virulentiškus faktorius kaip egzoliziną (ExlA), egzotoksiną A, lipazę A (LipA), fosfolipazę C (PLC), lipoksigenazę (LoxA), leukocidiną ir piocianiną (PCN).

1.2.4 Kvorumo jutimas ir bioplėvelių formavimas

P. aeruginosa, kaip ir daugelis bakterijų, bendrauja per vadinamą KJ mechanizmą (angl. quorum sensing/QS). Tai viduląstelinė komunikacijos sistema, leidžianti bakterijoms atpažinti kitų bakterijų išskiriamas mažas signalines molekules. Šių molekulių pagalba tiesiogiai ar netiesiogiai reguliuojant savo genų ekspresijos veiklą bakterijos gali tarpusavyje sąveikauti ir veikti koordinuotai. Šiuo metu žinomos keturios tarpusavyje sąveikaujančios KJ sistemos, LAS, RHL, PQS ir IQS, *P. aeruginosa* bakterijose . Daugelis mokslininkų pripažįsta, kad šios keturios sistemos, gali būti laikomos viena iš svarbiausių *P. aeruginosa* patogeniškumo veiksnių, atsakingų už proteazių išskyrimą, daugiavaisčių išmetimo siurblių veiklą, bioplėvelės formavimosi ir atsako į šeimininko imunitetą reguliacijos centru (43).

Nepaisant didelių mokslinių laimėjimų, virulentinių padermių identifikacijoje, šiuo metu dar yra jaučiamas trūkumas mokslinių duomenų, įrodančių sėkmingą vaistinių preparatų poveikį nukreiptą prieš šias signalines molekules (44). Todėl norint sustabdyti didėjančią *P. aeruginosa* atsparumo antibiotikams mastą būtina, toliau tęsti paieškas analizuojant KJ sistemos vaidmenį bakterijų patogenezėje ir atsparumo antibiotikams sąsajoje.

Vienas iš gerai išnagrinėtų *Pseudomonas* adaptacinių mechanizmų yra bioplėvelės (angl. Biofilms) formavimasis. Bioplėvelės tai daugialąstelinė bakterijų struktūra, susidariusi ant abiotinių ir biotinių paviršių, ir padengta pačių mikroorganizmų išskiriama ekstraląsteline polimerų matrica (45). *P. aeruginosa* padermės, gebančios sudaryti bioplėveles pasižymi didesniu atsparumu šeimininko imuninei sistemai, todėl dažnai yra siejamos su terapijos antibiotikais nesėkme (46) ir dauginiu atsparumu

antibiotikams (47). Nustatyta, jog bioplėvelės sudarančios bakterijos geba išgyventi ypač nepalankias sąlygas (įskaitant hipoksiją), todėl dažnai kolonizuoja tokius invazinių prietaisų paviršius kaip kateteriai, inkubaciniai vamzdeliai, stimulatoriai ir kt.(48). Toks spartus bakterijų prisitaikymas dažnai yra laikomas vienas iš pagrindinių bakterijų išlikimo strategijų. Bioplėvelės formavimosi etapas yra sudėtingas daugiavfunkcinis procesas, kurį sudaro keturi etapai. Tačiau kvorumo jutimo sistema, bei su ja susiję virulentiškumo veiksniai (LipA ir LipC) čia atlieka pagrindinį vaidmenį, lemiantį bioplėvelės storį ir tvirtumą (45).

1.3 *P. aeruginosa* sukeltos infekcijos

P. aeruginosa yra kliniškai reikšmingas oportunistinis patogenas, dažnai sukeliantis HI imunosupresinė būklės žmonėms, taip pat sergantiems sunkiomis gretutinėmis ligomis, onkologinėmis ligomis, patyrusiems sunkias nudegimo traumas ir gydomiems ITS. Gyvybingų šių bakterijų atsiradimas kraujyje dažnai sietinas su prasidėjusia ar besitęsiančia neutropenija, piktybinėmis kraujo ligomis ar DPV (49).

P. aeruginosa bakterija dažnai sukelia lengviausios formos paviršinių plaukų folikulų uždegimą. Įprastai pseudomoninių folikulitų, išsivysčiusių po maudymosi užterštose sūkurinėse voniose, kubiluose ar baseinuose, eiga būna lengva. Pacientai skundžiasi ne sunkiu kūno bėrimu ar niežėjimu (50). Šios bakterijos taip pat pasižymi gebėjimu sukelti pseudomononines rankų ir kojų nagų infekcijas. Ligos metu bakterijos pažeidžia nago plokštelę, dėl to nagas auga nelygus, gruoblėtas, bei įgauna žalios spalvos atspalvį. Pseudomoninė rankų ir kojų nagų infekcija labai mėgsta šiltą ir drėgną terpę, todėl neretai lydima žmonių, mėgstančių dažną baseinų, pirčių, sporto klubo lankymą taip pat nuolatinės nagų gražinimo procedūras (50). *P. aeruginosa* yra pagrindinis išorinės ausies uždegimo, dar kitaip vadinamo „plaukiko ausies“ (otitas externa) sukėlėjas. Ši bakterija taip pat gali sukelti ūmų ragenos uždegimą - keratitą. Svarbu pabrėžti tai, kad besivystančiose šalyse akies trauma gali būti vyraujantis rizikos veiksnys, o išsivysčiusiose šalyse kontaktinių lęšių nešiojimas, lazerinės akių operacijos dažnai yra svarbiausi rizikos veiksniai, lemiantis bakterinio keratito atsiradimą (51).

Be minėtų infekcijų *P. aeruginosa* lieka be ne svarbiausiu sukėlėju šlapimo takų infekcijų, chirurginių infekcijų, ir nudegusių pacientų žaizdų infekcijų atvejais. Pacientams, sirgusiems *P. aeruginosa* sukelta šlapimo takų infekcija, efektyvus empirinis antibakterinis gydymas dažnu atveju yra nesėkmingas ir tai yra susiję su dideliu vyresnio amžiaus pacientų sergamumu ir mirštamumu šioje grupėje (52). Šlapimo pūslės kateterizacija yra laikoma pagrindiniu šlapimo takų infekcijos rizikos veiksniumi. Verta paminėti, kad šlapimo takuose esantis šlapimas tai yra sudėtinga terpė, nuolat kintanti

savo osmoliariškumu, pH, jonų, geležies, taip pat ir uždegiminio aktyvumo baltymo -THP (angl. Tamm-Horsfall baltymas) kiekiu (53). Šio uropatogeno gebėjimas iš šeimininko pasisavinti geležį bei lanksčiai adaptuotis prie vis didėjančio šlapimo osmoliariškumo ir THP tampa reikšmingais faktoriais, lemiančiais *Pseudomonas* augimą, bei virulentiškumą lemiančių veiksnių ekspresiją (53). Dabartiniai moksliniai tyrimai įrodo, kad pacientai, kenčiantys nuo *P. aeruginosa* sukeltos šlapimo takų infekcijos dažniausiai turi tą patį bakterijos kloną o ne kelias keletą skirtingų bakterijų padermių. Todėl tinkama diagnostika yra būtina efektyviam ir sėkmingam šlapimo takų infekcinių susirgimų gydymui pasiekti (54).

Gerai žinoma, kad bakterijų dauginimasis atsivėrusiose ir atvirose žaizdose prisideda prie infekcijos ir lėtina žaizdų gijimą. Tai yra puiki mikroaplinka gyvų, skirtingų bakterinių rūšių (bioburdenas) apraiškai. Tačiau tarp dažniausiai sutinkamų mikroorganizmų, išskirtų iš žaizdų, *P. aeruginosa* lieka vieni dominuojančių (55). Veninės kojų opos dažnai tampa pagrindiniais bakterinės infekcijos patekimo vartais (56). Tuo tarpu *Pseudomonas* spp. išskyrimas iš atsivėrusių nudegimo žaizdų sietinas su blogesne gydymo eiga bei sepsio, dažnai pasibaigiančio paciento mirtimi, tikimybe (57).

Pseudomonas yra vienas iš pagrindinių visuomenėje ir ligoninėje įgytos pneumonijos sukėlėjų. Su DPV susijusi *P. aeruginosa* sukelta ventiliacinė pneumonija (toliau – DPVSP) lydima blogiausiu prognozių. Trachėjos intubacija ir DPV išlieka pagrindinėmis invazinėmis priemonėmis, kurios lemia šių mikroorganizmų patekimą iš pacientų burnos, ryklės ir viršutinių kvėpavimo takų į apatinius kvėpavimo takus (58).

1. 4 *P. aeruginosa* atsparumo antimikrobinėms medžiagoms mechanizmai

Atsparumo antibiotikams vystymasis tai natūrali bakterijų prisitaikymo ypatybė. Visgi literatūroje minimi du bakterijų atsparumo antibiotikams mechanizmai - įgimti ir įgyti. Įgimti dar kitaip vadinami prigimtiniai yra būdingi tik specifiniai bakterijų rūšiai. Tuo tarpu įgytas bakterijų atsparumo antibiotikams didėjimas yra susijęs su genetinėmis priežastimis. Bakterijos pasižymi tuo, kad turi labai plastišką genomą, o tai lemia dažną ir greitą naujų atsparumo genų ir jų kombinacijų, taip pat atsitiktinių genų mutacijų, koduojančių atsparumo mechanizmus, įgijimą. Šiais atsparumą antibiotikams lemiančiais veiksniais bakterijos gali lengvai dalintis tarpusavyje arba perduoti konjugacijos, transformacijos ar transdukcijos būdais net ir genetiškai nutolusios bakterijų rūšims. Akivaizdu, kad neracionalus antibiotikų vartojimas tiek medicinoje, tiek žemės ūkyje ar augalininkystėje, bet ir unikali bakterijų savybė prisitaikyti ir išlikti kintančioje aplinkoje lemia vis didėjančią atsparumą ir dauginiu atsparumu pasižyminčių bakterijų padermių atsiradimą ir plitimą.

P. aeruginosa atsparumą įvairių klasių antibiotikams lemia keli detalieji literatūroje išnagrinėti

molekuliniai mechanizmai:

1. Apribotas antibiotikų patekimas į ląstelės vidų per sunkiai laidžią ląstelės membraną;
2. Aktyvus antibiotikų šalinimas per daugiavaisčius antibiotikų išmetimo siurblius;
3. Antibiotikų suardymas fermentais.

Dauguma *P. aeruginosa* sukeltoms infekcijoms gydyti vartojamų antibiotikų, turi sugebėti prasiskverbti pro sunkiai laidžią bakterijų ląstelės membraną. Šiai grupei priklauso aminoglikozidų klasės atstovai - tobramicinas (TOB), GEN, AMK; kvinolonai - CIP; β laktaminiai antibiotikai – penicilinas, cefalosporinas, karbapenemai ir monobaktamai. Šių antibiotikų klasės atstovai pasižymi savybe prisijungti prie peniciliną surišančių baltymų (angl. PBP) ir taip blokuoti bakterijų ląstelės sienelės (peptidoglikano) biosintezę. Polimiksinas B ir E, dar kitaip žinomas kaip kolistinas (COL), dažnu atveju naudojamas kaip paskutinio pasirinkimo antimikrobinis vaistas, kuris jungiasi su išorinėje membranoje esančiu LPS. COL konkurenciniu būdu geba išstumti divalenčius kalcio (Ca^{2+}) ir magnio (Mg^{2+}) katijonus, pablogindamas LPS trimatę struktūrą. Tokiu būdu yra prarandama vientisa ir stabili išorinės membranos struktūra, kuri lemia ląstelės žūtį (59). Kad patektų į bakterijų ląstelę, β -laktamai ir kvinolonai turi prasiskverbti pro ląstelių membranose esančius baltymo porino kanalus. Taigi išorinis membranos pralaidumas vaidina svarbų vaidmenį atsparumo antibiotikams vystyme.

Tyrimais nustatyta, kad skirtingos bakterijų rūšys turi skirtingą išorinės membranos pralaidumą. *P. aeruginosa*, kuri daugeliu atveju yra atspari visiems prieinamiems antibiotikams, turi iki 100 kartų mažesnę išorinę membranos pralaidumą lyginant su *Eserichia coli* bakterija (60). Tokias žemas išorinės membranos laidumo savybes lemia membranoje išsidėstę transmembraniniai baltymai – porinai. Šie porinai suformavę kanalus beveik be atrankos praleidžia mažas hidrofilies molekules. Nors *P. aeruginosa* gamina keletą skirtingų porinų, vis dėlto OprD (D kanalas) yra laikomas svarbiausiu porinu, susijusiu su reikšmingu karbapenemų klasės atstovo, IMP, jautrumo sumažėjimu. Moksliniais tyrimais įrodyta, kad mutacijos įvykusios OprD gene gali ženkliai sumažinti arba sukelti OprD baltymo gamybos praradimą (61). Padermės turinčios, sumažėjusį OprD baltymo pralaidumą pasižymi didesne minimalia slopinimo koncentracija (MSK) (angl. MIC) karbapenemų klasės antibiotikams.

Nors OprD baltymo praradimas yra veiksminga kliūtis vaistui nepatekti į bakterijų ląstelės vidų, tačiau antimikrobinių medžiagų įsisavinimo sumažėjimas glaudžiai susijęs su antruoju *P. aeruginosa* atsparumo antimikrobiniams preparatams mechanizmu – daugiavaisčiais išmetimo siurbliais. Daugiavaisčiai išmetimo siurbliai, tai membranos baltymai, kurie iš ląstelės šalina daugelį klasių antibiotikų. Ši sistema dažnu atveju veikia kartu su OprD baltyminiu kanalu, taip prisidedant prie dauginio atsparumo antibiotikams (DAA) fenotipo formavimosi (62). Dauguma išmetimo siurblių skirstomi į penkias dideles šeimas : RND (atsparumo-pumpuravimosi - ląstelės dalijimosi, angl. „Resistance

Nodulation-CellDivision“), MFS (didžioji nukreipiamoji, angl. Major Facilitator“), MATE (dauginio vaistų ir toksinių junginių išmetimo, angl. „Multidrug and Toxic Compound Extrusion), SMR (mažoji dauginio atsparumo vaistams, angl. „Small Multidrug Resistance“) ir ABC (ATF surišanti kasetė angl. ATP-Binding Cassette) (62). Nors *P. aeruginosa* naudoja visas penkias antibiotikų šalinimo iš ląstelės sistemas, visgi daugiausia, netgi dvylika išmetimo siurblių rūšių priklauso RND tipo šeimai. Keturios RND šeimos siurblių rūšys (MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN ir MexXY-OprM), plačiausiai aprašytos literatūroje ir yra siejamos su *P. aeruginosa* DAA vystymusi (63). Iš jų MexAB-OprM tipo išmetimo siurbliai užima svarbiausią vietą, kadangi yra atsakingi už pseudomonų atsparumą fluorokinolonų ir β - laktamų klasės antibiotikams (64). Taip pat MexAB-OprM tipo siurbliai išstumia iš ląstelės ir karbapenemų klasės antibiotikus tokius kaip MEM. MexCD-OprJ siurblys pašalina β - laktamus, MexEF-OprN – chinolonus, o MexXY-OprM - aminoglikozidus.

Kristalografinė MexAB-OprM struktūros analizė parodė, kad ši išmetimo sistema sudaryta iš trijų transportuojamų baltymų - MexA, MexB, and OprM, kurie geba eksportuoti iš ląstelės įvairių klasių antibiotikus. Genai koduojantys RND šeimos siurblių ekspresiją išsidėstę operonuose. MexAB-OprM baltymo ekspresija daugiausia stebima laukinio tipo *P. aeruginosa* padermėse, kur išmetimo siurblių veikla yra gerai slopinama mexR , nalC ir nalD represinių genų veiklos. Tokiose padermėse dažniausiai stebimi maži MexAB-OprM baltymo ekspresijos kiekiai. Tačiau mutacijos įvykusios reguliaciniuose genuose dažnai lemia padidėjusią MexAB-OprM baltymo raišką bei vis didesnę atsparumo antibiotikams atsiradimo mastą (62).

Trečiasis *P. aeruginosa* atsparumo antibiotikams mechanizmas yra labai specifiškas. Bakterijos paprastai gamina alternatyvius fermentus, dar kitaip vadinamus enzimus, gebančius skaidyti/suardyti antibiotikų struktūras. Nors daugelis antibiotikų turi hidrolitiškai imlius cheminius junginius, tokius kaip esteriai ar amidai, tačiau Pseudomonos pasižymi savybe hidrolizuoti šiuos cheminius ryšius, taip suardant antibiotiko veiksmingumą (65) .

Šiuo metu didžiausia ir plačiausiai vartojamų antibiotikų klasė yra β -laktaminiai antibiotikai. Tai plataus veikimo spektro antimikrobinės medžiagos savo molekuliniėje struktūroje turintys β -laktamo žiedą. Šiai antibiotikų klasei priskiriamos penkios antibiotikų rūšys tai yra: penicilinai ir modifikuoti jų dariniai, I ir IV kartos cefalosporinai, monobaktamai, karbapenemai bei β -laktamazių slopikliai/inhibitoriai (66).

β -laktaminių antibiotikų veikimo principas paremtas bakterijų ląstelės sienelės- mureino (peptidoglikano) sintezės inhibicija. Bakterijų mureino sintezėje dalyvauja fermentai (transpeptidazės) turintys katalizinius transpeptidazės domenų. Šie domenai gerai žinomi, kaip PBP dėl savo prigimtinių savybių prisijungti penicilinus ir kitus β -laktaminius antibiotikus. Taigi baktericidinis šių antibiotikų poveikis pagrįstas tuo, kad jie geba konkurenciniu būdu blokuoti transpeptidazės veikimą ir taip sutrikdyti

gramneigiamų bakterijų mureino (peptidoglikano) sintezę (67).

Atsparumas šios klasės antibiotikams siejamas su intensyvia β - laktamazių gamyba. β -laktamazės, tai bakterijų gaminami fermentai, kurie hidrolizuoja antibiotikų beta laktaminį žiedą, kuris įprastai jungiasi prie PBP ir išaktyvuoja antibiotikus. Remiantis amino rūgščių sekos analize, β laktamazės skirstomos į A, C ir D klases arba dar kitaip aktyvios serino β laktamazės bei B klasės β laktamazės dar geriau žinomos, kaip metalo- β -laktamazės, kurių aktyvumui reikalingas divalenčio metalo jonas, paprastai Zn^{2+} , kuris geba hidrolizuoti karbapenemų klasės antibiotikus (68). C klasės β laktamazės pasižymi gebėjimu išaktyvuoti cefalosporinų grupės antibiotikus. Nustatyta, kad kai kurios *P. aeruginosa* padermės gamina išplėsto spektro β -laktamazės (angl. extended spectrum beta lactamases, ESBL). Šie fermentai suteikia bakterijoms atsparumą ne tik daugeliu β - laktaminių antibiotikų, įskaitant penicilinus, cefalosporinus ir aztreonamą (69).

1.5 *P. aeruginosa* epidemiologija

Ryšys taip antibiotikų vartojimo ir bakterijų įgyjamo antimikrobinio atsparumo yra sudėtingas procesas, tačiau pagrindiniai veiksniai lemiantys atsparių bakterijų plitimą yra įvardijami kaip neracionalus antibiotikų vartojimas įskaitant virusinių viršutinių kvėpavimo takų gydymą. Remiantis atliktų tyrimų ir analizių duomenimis, kasmet pasaulyje miršta apie 700 000 žmonių nuo antibiotikams atsparių bakterijų sukeltų infekcijų. Pasaulinė sveikatos organizacija (PSO) prognozuoja, kad 2050 m. šis skaičius gali pasiekti net 10 mln. žmonių per metus(70). Situacija blogina tai, kad atsparumą antibakterinėms medžiagoms koduojančių genų paplitimas yra daug spartesnis procesas nei naujų antimikrobinų vaistų kūrimo tempai. Tokia palaipsniui didėjanti atsparumo antibiotikams grėsmė veda žmoniją prie „antibiotikų eros“ pabaigos. Šioje vietoje ypatingo dėmesio sulaukia ir *P. aeruginosa* bakterijos.

Remiantis 2020 m. Europos antimikrobinų medžiagų vartojimo stebėjimo tinklo (ESAC-Net) surinktais duomenimis net dvidešimt devynios Europos Sąjungos (ES) šalys buvo pateikusios klinikinių *P. aeruginosa* izoliatų skaičių, išskirtų iš įvairių gydymo įstaigų. Statistinė duomenų analizė parodė, kad einamuoju laikotarpiu buvo išskirti 20 675 *P. aeruginosa* izoliatai, iš kurių 30.1 proc. padermių pasižymėjo atsparumu bent vienai stebimų antimikrobinų medžiagų grupei. Didžiausias antimikrobinis atsparumas buvo stebimas šiems antibiotikams – fluorochinolonams (19.6 proc), TZP (18.8 proc), karbapenemams (17.8 proc), CAZ, (15.5 proc) ir aminoglikozidams (9.4 proc). Analizuojant, 2016 m.–2020 m. ES (išskyrus Jungtinę Karalystę) šalių ataskaitoje pateiktus atsparumo antibiotikams duomenis stebimos mažėjančios atsparumo antibiotikams tendencijos visose antibiotikų grupėse, išskyrus

dvi TZP ir CAZ (71). Visgi nepaisant šių viltį keliančių prognozių suvaldyti ar bent jau pristabdyti *P. aeruginosa* atsparumo antibiotikams nevaldomą plitimą išlieka didelis uždavinys. Didžiausias dėmesys nukrypsta į *Pseudomonas* atsparumą karbapenemų klasės antibiotikams (IMP ir MEM). *P. aeruginosa* padermių atsparumas karbapenemams (IMP ir MEM) 2016 m. – 2020 m. ESAC-Net duomenimis buvo nepastovus, bet neviršijo 30 proc. ribos. Tačiau Lietuva, kaip ir kitos Europos šalys tokios kaip Graikija, Rumunija, Bulgarija, Vengrija, Slovakija ir Lenkija vis dar fiksuoja gan aukštą atsparumą šios klasės antibiotikams, kuris atitinkamai svyruoja nuo 30 proc. iki 50 proc.

P. aeruginosa atsparumo karbapenemų klasės antibiotikams dažnis visame pasaulyje skiriasi. Pagal 2018 m. Pfizer vykdomą antimikrobinių medžiagų tyrimų lyderystės ir priežiūros programą (paskutinį kartą atnaujinta 2020 m. rugsėjo 14 d.) (Pfizer, 2020 m.), atsparių klinikinių *P. aeruginosa* padermių rodiklis pagal žemyną buvo mažiausias Okeanijoje (IMP – 7.1 proc. ir MEM – 5.1 proc.) o didžiausias Vidurio Rytų valstijose (IMP – 27.9 proc. ir MEM – 19.5 proc.). Mažėjančia tvarka vidutinis atsparumo rodiklis, kuris sudarė 30.7% buvo nustatytas Pietų Amerikoje (mažiausias IMP ir MEM atsparių padermių, kur sudarė 12.5proc. nustatyta Dominikos Respublikoje), o didžiausias (IMP – 49.3 proc., o MEM – 75.3 proc.) net 75 proc. izoliatų išskirta Čilėje. 28 proc. atsparumas karbapenemams buvo registruotas Europos šalyse, iš kurių mažiausias nustatytas Suomijoje 0 proc. Rusijoje atsparumas karbapenemų klasės antibiotikams svyravo atitinkamai nuo 44.8 proc. (MEM) iki 48.5 proc. (IMP). Atsparumas Šiaurės Amerikoje šios klasės antibiotikams neviršijo 30 proc. ribos (sieki 24.4 proc. (IMP- 21.4 proc. ir MEM - 18.3 proc.) Kanadoje ir IMP – 27.4 proc. ir MEM- 15.5 proc. JAV). Afrikoje taip pat stebima įprastinė atsparumo IMP bei MEM dinamika, kas sudaro 22.8 proc. (mažiausias atsparumas IMP – 13.2 proc. ir MEM – 15.8 proc. iš Nigerijos ir didžiausias atsparumas IMP – 21.4 proc., o MEM – 19.4 proc. iš Pietų Afrikos). Azijoje atsparumo rodikliai sudarė 18.1 proc. (mažiausias atsparumas IMP ir MEM - 8.0 proc. nustatytas Japonijoje ir didžiausias atsparumas IMP- 33.2 proc. ir MEM - 25.1 proc., Kinijoje) (72).

Kai kurie mokslininkai teigia, kad ITS izoliuotos *P. aeruginosa* padermės pasižymi didžiausiu atsparumu karbapenemų klasės antibiotikams (73). Šios hipotezės dažnai yra patvirtinamos išsamiais retrospektyvinėmis analizėmis. 2023 m. publikuotame straipsnyje, kuriame buvo analizuotos klinikinės *P. aeruginosa* padermės išskirtos iš 44 ligoninių (10 šalių duomenys) pateikia keletą reikšmingų išvalgų. Pirma – mokslininkai patvirtino, jog 30 dienų laikotarpyje mirtingumas nuo karbapenemams atsparių *P. aeruginosa* bakterijos sukeltų infekcijų buvo didžiausias sergant kraujo infekcijomis (30 proc.), po to sekė kvėpavimo takų (19 proc.), žaizdų (14 proc.) ir šlapimo takų infekcijos (7 proc.). Antra, 30 dienų laikotarpyje mirtingumas skyrėsi įvairiuose geografiniuose regionuose, tačiau didžiausias buvo stebimas Vidurio Rytuose (29 proc.) ir Pietų bei Centrinėje Amerikoje (27 proc.), o mažiausias – Kinijoje (6 proc.).

Trečia, pacientams, kuriems buvo išskirta *P. aeruginosa* padermė gaminanti karbapenemazės fermentus mirštamumas 30 dienų laikotarpyje buvo didesnis, palyginti su karbapenemazę negaminančiomis bet karbapenemų klasės antibiotikams atspariomis *P. aeruginosa* bakterijoms, atitinkamai (22 proc. ir 12 proc.). Pastarasis mirtingumo skirtumas išliko ganėtinai nepakitęs net pakoregavus skirtumus pagal amžių, gretutines ligas, geografinį regioną, paciento vietą prieš hospitalizavimą, susilpnėjusio imuniteto būklę ir anatomicinį infekcijos šaltinį (74). Šie nauji atradimai išryškina *P. aeruginosa* atsparumo karbapenemų klasės antibiotikams klinikinį vaizdą ir tuo pačiu parodo, kad tik suvienodinant antibiotikų vartojimo reikalavimus, bei atliekant išsamius laboratorinius tyrimus galime suvaldyti DAA pasižyminčias *P. aeruginosa* atsiradimo ir plitimo galimybes.

2. TYRIMO METODIKA IR METODAI

2.1 Tyrimo planavimas ir organizavimas

Į retrospektyvų tyrimą įtraukti pacientai, kuriems 2013 m. - 2015 m. ir 2020 m. - 2022 m. LSMUL KK Laboratorinės medicinos klinikos mikrobiologijos laboratorijoje buvo identifikuotos *P. aeruginosa* padermės. Analizuojamu laikotarpiu visoms išskirtoms *P. aeruginosa* padermėms nustatytas atsparumas antimikrobinėms medžiagoms.

2022 06 29 gautas LSMU Bioetikos centro leidimas (Nr. BEC-LMB(M)-510).

2023 m. atlikta statistinė duomenų analizė, aprašomi gauti rezultatai.

2.2 Tyrimo objektas

LSMUL KK Laboratorinės medicinos klinikoje tirti pacientai dėl *P. aeruginosa* sukeltos infekcijos.

2.3 Tiriamųjų atranka (populiacija, imtis)

Į tyrimą įtraukiami pacientai, kuriems 2013 m. - 2015 m. ir 2020 m. - 2022 m buvo diagnozuota *P. aeruginosa* sukelta infekcija. Informacija reikalinga retrospektyviam tyrimui atlikti buvo renkama iš laboratorinių tyrimų duomenų.

2.4 Tyrimo metodai

Atlikta retrospektyvinė pacientų, kuriems buvo nustatyta *P. aeruginosa* sukelta infekcija laboratorinių tyrimų duomenų analizė. Buvo surinkti duomenys apie taikytą antimikrobinį gydymą.

2.5 Mikrobiologinis klinikinių medžiagų tyrimas Pasėlio metodu

P. aeruginosa padermės atrinktos identifikuojant standartiniais mikrobiologiniais metodais. Mėginiai iš tiriamosios medžiagos (pūliai, skrepliai, šlapimas, sekretas iš žaizdų) buvo sėjami į Petri

lėkšteles su 0,5 proc. kraujo agaru bei selektyvias šokoladinio agaro (BBL, JAV), MacConkey (Oxoid, Anglija) ar Cleido (esant spec. indikacijos ir Sabūro) terpes. Tiriamieji mėginiai buvo kultivuojami 24 – 48 val. 35 oC temp. CO₂ inkubatoriuje (0,5 proc. kraujo agaras ir šokoladinis agaras, bei Cleido agaras). MacConkey agaras inkubuojamas 18 – 24 val. 35 oC temperatūroje. Sabūro agaras inkubuojamas (+22-+24) oC temperatūroje. 4 paros termostate. Galiausiai įvertinama mikroorganizmų kultūrinės ir morfologinės savybės.

Kraujo mėginiai buvo inokuliuoti į aerobines ir anaerobines terpes „Bactec“ (Bactec, JAV) terpes, kurios inkubuojamos „Bactec“ (Bactec, JAV) automatiname termostate. Prasidėjus bakterijų augimui, iš Bactec terpės kultūra išsėta ant 0,5 proc. kraujo (BBL, JAV) ir MacConkey (Oxoid, Anglija) agarų.

2.6 *P. aeruginosa* padermių identifikavimas

Galutiniam identifikavimui atrinktos *P. aeruginosa* padermės galutinai patvirtintos naudojant MALDI TOF (Bruker, Vokietija) biotipavimo sistemą. Tyrimo metu ant išvalytos MALDI identifikavimo plokštelės šulinėlio plonu sluoksniu buvo užnešama tiriamoji mikroorganizmų kolonija paimta nuo mitybinio agaro paviršiaus. Lengvu judesiu ant mėginio užpilama 1 µl 70 proc. skruzdžių rūgšties vandeninio tirpalo ir leidžiama tirpalui išdžiūti kambario temperatūroje. Išdžiūvus tirpalui ant mėginio, esančio šulinėlyje, užpilama 1 µl matricos, kuri džiovinama kambario temperatūroje. Išdžiūvus kristalizuotoms molekulėms, kurios sudaro matricą, mėginys nuskaitymas MALDI-TOF masių spektrometro pagalba, nustatant bakterijų peptidų modelį.

2.7 Mikroorganizmų jautrumo antimikrobinėms medžiagoms nustatymas – diskų difuzijos metodu

Pirmoje tyrimų dalyje visoms išskirtoms *P. aeruginosa* padermėms atsparumas antibiotikams nustatytas Kirby Bauer diskų difuzijos metodu (DDF) Muller-Hinton agare (Becton, Dickinson, JAV) bei naudojant standartinę vertinimo metodiką- Europos antibiotikų jautrumo tyrimų komiteto standartą (EUCAST angl. European committee on antimicrobial susceptibility testing). Naudojamas tiesioginis kolonijų praskiedimo metodas, kuomet sterilia kilpele nuo neselektyvaus agaro (dažniausiai kraujo) paimamos trys–penkios *P. aeruginosa* kolonijos ir perkeliamos į mėgintuvėlį, kuriame yra sterilus fiziologinis tirpalas. 0,5 MacFarland drumstumo bakterinė suspensija ($1-2 \times 10^8$

KSV/ml), išmatuota naudojant fotometrinių prietaisų ar įvertinta vizualiai pagal 0,5 McFarland drumstumo standartą, steriliu vatos tamponėliu pasėjama į sterilų Miulero – Hiltono (MH) (Oxoid, Anglija) agarą. Vatos tamponėliu inokuliuojamas braukiamas per MH agaro paviršių trimis kryptimis. Petri lėkštelė sukama 60° kampu, kad suspensija tolygiai pasiskirstytų lėkštelėje. Antibiotikų diskeliai, (Becton, Dickinson, JAV), ne ilgesniu nei 15 min laikotarpiu steriliu pincetu prispaudžiami prie MH agaro paviršiaus, ant kurio užsėta bakterinė suspensija. Paruoštos Petri lėkštelės inkubuojamos 18–24 val. +35°C temperatūroje. *P. aeruginosa* padermių augimas apie antibiotiko diskelį, pagal EUCAST rekomendacijas, vertinamas nustatant slopinamosios ribos diametrą išmatuojant sterilią inhibicinę zoną. Pagal išmatuotos zonos milimetrų skaičių nustatoma ar mikroorganizmas jautrus, ar atsparus testuojamiems antibiotikams.

Lentelė nr 1. *P. aeruginosa* padermių atsparumas pagal patvirtintas atsparumo antibiotikams ribas pagal EUCAST standartą atliekant diskų difuzijos metodu

Tiriamoji antimikrobinė medžiaga	Inhibicijos zonos, mm (DD)		
	J ≥	A <	TNR
Piperacilinas	50	18	18-19
Piperacilinas/Tazobaktamas	50	18	18-19
Cefepimas	50	21	-
Ceftazidimas	50	17	-
Imipenemas	50	20	-
Meropenemas	20	14	-
Aztreonamas	50	18	-
Ciprofloksacimas	50	26	-
Amikacinas	15	15	-
Gentamicinas	-	-	-
Tobramicinas	18	18	-

2.8 Duomenų analizės metodai

Surinkti duomenys buvo vedami į Microsoft Excel 16.0 programą. Statistinė analizė buvo atlikta su SPSS 25.0 programa. Statistinei kiekybinių duomenų analizei naudota aprašomoji statistika: apskaičiuoti vidurkiai (X), o kokybiniais požymiais – dažnių analizė: apskaičiuoti dažniai vienetais (N) ir procentais (proc.).

Kintamųjų ryšiams nustatyti naudota Spearman koreliacija. Kokybinių duomenų statistiniai ryšiai ir skirtumai tarp kategorijų buvo įvertinti naudojant Stjudento (t) kriterijų. Statistiškai reikšmingas skirtumas tarp grupių apibrėžtas, jei reikšmingumo lygmuo $p \leq 0,05$.

3. REZULTATAI

3.1 Išskirtų *P. aeruginosa* izoliatų pasiskirstymas pagal skyrius ir tiriamąją klinikinę medžiagą dinamika

Į tyrimą įtrauktos 3879 *P. aeruginosa* padermės, išskirtos 2013 m. - 2015 m. ir 2020 m. - 2022 m., LSMUL KK CHS - 1492 (38.5 proc.), ITS - 1267 (32.7 proc.) ir TS - 1120 (28.9 proc.). Analizuojamu šešių metų (2013 m. - 2015 m. ir 2020 m. - 2022 m.) laikotarpiu, nepriklausomai nuo medicininio padalinio kasmet vidutiniškai buvo išskirtos ir identifikuotos $n=500$ *P. aeruginosa* padermės.

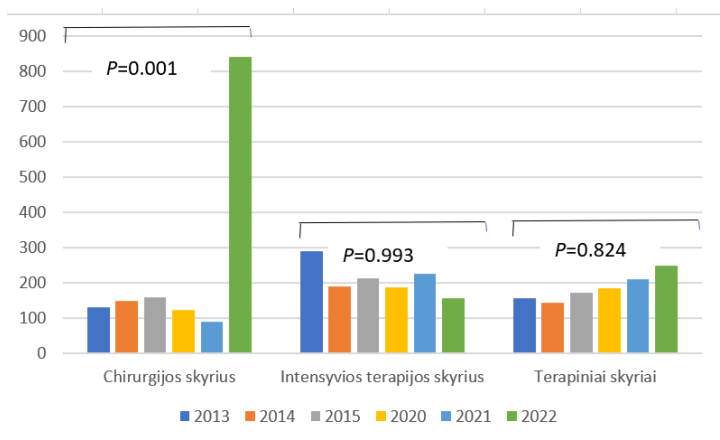
Bendras didžiausias visų išskiriamų *P. aeruginosa* padermių skaičius, kuris svyravo tarp 50.2 proc. ir 43.0 proc. buvo fiksuotas ITS, išskyrus 2022 m. (12.7 proc.). Tuo tarpu analizuojant išskyrimo dinamiką CHS nustatytas bendras visų išskirtų *P. aeruginosa* padermių skaičiaus didėjimas ($n=840$), 2022 metais. Tai sudarė 50 proc. daugiau išskirtų padermių, lyginant su ankstesniais 2021 metais ($n=91$, 17.2 proc.), detaliau žr. 1 lentelę.

Iš 1-je lentelėje pateiktos informacijos matoma, kad daugiausiai *P. aeruginosa* padermių 2013 m. – 2015 m. buvo išskirta iš ITS gydomų pacientų klinikinės medžiagos, atitinkamai 43.3 proc. Tuo tarpu 2020 m. - 2022 m. *P. aeruginosa* išskyrimo dažnis ITS perpus sumažėjo (25.3 proc.), lyginant su CHS ir TS pateiktais duomenimis. Iš jų CHS ir TS, 2013 m. – 2015 m. buvo nustatytos 27.2 proc. ir 29.5 proc. padermės, lyginant su 2020 m. - 2022 m., išskyrimo dažnio duomenimis, kur *P. aeruginosa* padermių buvo identifikuota 20.0 proc. daugiau.

Tyrimo metu nustatytas reikšmingai didėjantis *P. aeruginosa* išskyrimo dažnis CHS ($P=0.001$), lyginant su ITS ($P=0.993$) ir TS ($P=0.824$), detaliau žr. 1 pav.

Lentelė nr 2. Išskirtų P. aeruginosa pasiskirstymas pagal skyrius analizuojamu laikotarpiu

Skyriai	Chirurgijos skyrius (CH)	Intensyvios terapijos skyrius (ITS)	Terapiniai skyriai (TS)	Viso
2013 m.	130 (22.5%)	290 (50.2%)	158 (27.3%)	578 (100.0%)
2014 m.	148 (30.7%)	190 (39.4%)	144 (29.9%)	482 (100.0%)
2015 m.	159 (29.2%)	214 (39.3%)	172 (31.5%)	545 (100.00%)
2013 m. – 2015 m.	437 (27.2%)	694 (43.3%)	474 (29.5%)	1605 (100.0%)
2020 m.	124 (24.8%)	188 (37.6%)	188 (37.6%)	500 (100.0%)
2021 m.	91 (17.2%)	227 (43.0%)	210 (39.8%)	528 (100.0%)
2022 m.	840 (67.4%)	158 (12.7%)	248 (19.9%)	1246 (100.0%)
2020 m. – 2022 m.	1055 (46.4%)	573 (25.3%)	646 (40.3%)	2274 (100.0%)
Viso	1492 (100.0%)	1267 (100.0%)	1120 (100.0%)	3879 (100.0%)



1 Pav. P. aeruginosa išskyrimo dažnio pokyčiai pagal skyrius analizuojamu laikotarpiu

Darbo metu analizuojami mėginiai, buvo išskirti pagal klinikinę tiriamąją medžiagą. *P. aeruginosa* padermės buvo išskirtos iš žaizdų/opų – 21.2 proc. (n=824), kraujo - 7.0 proc. (n=274), šlapimo takų – 26.8 proc. (n=1040) bei kvėpavimo takų – 44.9 proc. (n=174), įvertinant šešių metų duomenis. Daugiausia *P. aeruginosa* padermių buvo išskirta iš kvėpavimo takų, vidutiniškai kasmet po n=290 padermes, tuo tarpu mažiausias išskiriamų *P. aeruginosa* padermių skaičius buvo fiksuotas kraujyje, atitinkamai

vidutiniškai mažiau nei n=46 izoliatai kiekvienais analizuojamais metais.

Iš 3-je lentelėje pateiktos informacijos matoma, kad daugiausiai *P. aeruginosa* padermių 2013 m. – 2015 m. ir 2020 m. - 2022 m. laikotarpiu buvo išskirta iš kvėpavimo takų, atitinkamai 55.5 proc., ir 37.4 proc. Mažiausiai *P. aeruginosa* padermių 2013 m. – 2015 m. ir 2020 m. - 2022 m. laikotarpiu buvo išskirta iš kraujo, atitinkamai 5.4 proc., ir 8.2 proc., detaliau žr. 3 lentelę.

Lentelė nr 3. Išskirtų P. aeruginosa pasiskirstymas pagal tiriamąją klinikinę medžiagą ir skyrius

	Skyriai	Kvėpavimo takai (%*; %**)	Šlapimo takai (%*; %**)	Žaizdos/opos (%*; %**)	Kraujas (%*; %**)	Viso
2013m.	CHS	28 (7.9;21.5)	34 (37.0;26.2)	56 (60.9; 43.1)	12 (31.6; 9.2)	130 (100.0)
	ITS	252 (70.8;96.9)	16 (17.4; 5.5)	12 (13.0;4.1)	10 (26.3;3.4)	290 (100.0)
	TS	76 (21.4; 48.1)	42 (45.7;26.6)	24 (26.9;15.2)	16 (42.1;10.1%)	158 (100.0)
Viso		356 (100.0;61.6)	92 (100.0;15.9)	92 (100.0;16.0)	38 (100.0;6.6)	578 (100.0)
2014m.	CHS	37 (15.0; 25.0)	34 (39.1; 23.0)	73 (57.5;49.3)	4 (18.2; 2.7)	148 (100.0)
	ITS	159 (64.6; 83.7)	9 (10.3; 4.7)	14 (11.0; 7.4)	8 (36.4; 4.2)	190 (100.0)
	TS	50 (20.3; 34.7)	44 (50.6;30.6)	40 (31.5; 2.8)	10 (45.4; 6.9)	144 (100.0)
Viso		246 (100.0;51.0)	87 (100.0;18.1)	127 (100.0;26.3)	22 (100.0;4.6)	482 (100.0)
2015m.	CHS	42 (14.6;26.4)	41 (45.6; 25.8)	72 (54.5;45.3)	4 (14.8; 2.5)	159 (100.0)
	ITS	179 (62.2;83.6)	10 (10.2; 4.7)	17 (12.9; 8.0)	8 (29.6; 3.7)	214 (100.0)
	TS	67 (23.3; 39.0)	47 (48.0;27.3)	43 (32.8; 25.0)	15 (55.6; 8.7)	172 (100.0)
Viso		288 (100.0;34.5)	98 (100.0;18.0)	132 (100.0;24.2)	27 (100.0;5.0)	545 (100.0)
2013 m. – 2015 m.		890 (55.5)	277 (17.3)	351 (21.9)	87 (5.4)	1605 (100.0)
2020m.	CHS	18 (7.7; 14.5)	37 (30.3; 29.8)	66 (64.1;53.2)	3 (7.1; 2.4)	124 (100.0)
	ITS	160 (68.7; 85.1)	15 (12.3; 8.0)	11 (10.7; 5.9)	2 (4.8; 1.1)	188 (100.0)
	TS	55 (23.6; 29.3)	70 (57.4; 37.2)	26 (25.2; 13.8)	37 (88.1; 19.7)	188 (100.0)
Viso		233 (100.0;56.6)	122 (100.0;24.4)	103 (100.0;20.6)	42 (100.0; 8.4;)	500 (100.0)
2021m.	CHS	18 (6.9; 19.8)	34 (23.3; 37.4)	38 (33.3; 41.8)	1 (2.6%; 1.1)	91 (100.0)
	ITS	180 (69.2; 79.3)	25 (17.1; 11.0)	13 (15.5; 5.7)	9 (23.7;4.0)	227 (100.0)
	TS	62 (23.1; 29.5)	87 (59.6; 51.4)	33 (39.3;15.7)	28 (73.7; 13.3)	210 (100.0)
Viso		260 (100.0;49.2)	146 (100.0;27.7)	84 (100.0;15.9)	38 (100.0;7.2)	528 (100.0)
2022m.	CHS	120 (33.5; 14.3)	403 (81.4; 48.0)	240 (83.9; 28.5)	77 (72.0; 9.2)	840 (100.0)
	ITS	140 (39.1; 88.6)	0 (-;-)	11 (4.0; 7.0)	7 (6.5;4.4)	158 (100.0)
	TS	98 (27.4; 39.5)	92 (18.6; 37.1)	35 (12.2;14.1)	23 (21.5;9.3)	248 (100.0)
Viso		358 (100.0;28.7)	495 (100.0;39.7)	286 (100.0;23.0)	107 (100.0; 8.6)	1246 (100.0)
2020 m. – 2022 m.		851 (37.4)	763 (33.6)	473 (20.8)	187 (8.2)	2274 (100.0)
Viso bendrai:		1741 (44.9)	1040 (26.8)	824 (21.2)	274 (7.0)	3879 (100.00)

%* - procentinė dalis nuo visų tiriamų skyrių (CHS, ITS, TS); %** - procentinė dalis nuo visų tiriamų klinikinių medžiagų.

Analizuojamais laikotarpiais nebuvo nustatyta pastovi (didėjanti arba mažėjanti) *P. aeruginosa* išskyrimo iš kvėpavimo takų skaičiaus dinamika : 2013 m. - 61.6 proc. ; 2014m. - 51.0 proc.; 2015 m. – 34.5 proc.; 2020 m. - 56.6 proc.; 2021 m. – 49.2 proc. 2022 m. – 28.7 proc., detaliau žr. 3 lentelę.

Nagrinėjant *P. aeruginosa* išskyrimo iš kraujo dažnius taip pat nebuvo nustatyti stabilūs augimo ir/ar mažėjimo pokyčiai, išskyrus 2022 m., kur registruotas didžiausias išskyrimų skaičius lyginant su visais ankstesniais metais – 8.6 proc. (n=107). 2013m. buvo išskirta 6.6 proc. *P. aeruginosa* padermių iš kraujo, tuo tarpu 2014 m. buvo pastebimas išskyrimo dažnio mažėjimas – 4.6 proc. Iš pateiktų duomenų matomas nežymus išskyrimo dažnio augimas, siekęs 5.0 proc. – 2015 m., 8.4 proc. - 2020 m. ir 8.6 proc. – 2022 m. 2021m. nustatytas mažėjantis – 7.2 proc. išskyrimo dažnio pokytis, detaliau žr. 3 lentelė.

Palyginus 2013 m. – 2015 m. ir 2020 m. – 2022m. išskyrimo iš žaizdų ir opų dažnius, galime teigti, kad pokyčiai taip pat nėra tendencingi. 2013m. buvo išskirta 16.0 proc. *P. aeruginosa* padermių iš žaizdų ir opų. 2014 m. buvo stebima nežymi išskyrimo dažnio augimo dinamika, siekianti 26.3 proc. ir atitinkamai – 24.2 proc., 2015m. 2020m. ir 2021 m. matomas išskyrimo dažnio mažėjimas, atitinkamai – 20.6 proc. ir 15.9 proc. 2022m. *P. aeruginosa* išskyrimo iš žaizdų/opų dažnis išaugo iki 23.0 proc., detaliau žr. 3. lentelę.

Atlikus retrospektyvinę analizę pastebėta, kad šlapimas yra vienintelė analizuota klinikinė medžiaga, kurioje matomas stabilus *P. aeruginosa* išskyrimo dažnio augimas kiekvienais metais. Atitinkamai, 2013 m. – 15.9 proc.; 2014 m. – 18.1 proc.; 2015 m. - 18 proc.; 2020 m. - 24.4 proc.; 2021 m. – 27.7 proc. ir 2022 m. – 39.7 proc., detaliau žr. 3 lentelę.

Apibendrinant du analizuojamus laikotarpius – 2013 m. – 2015 m. ir 2020 m. – 2022 m. pastebėta, kad 2013 m. – 2015 m. daugiausia *P. aeruginosa* buvo išskirta iš kvėpavimo takų ir žaizdų/opų, atitinkamai 55.5 proc. ir 21.9 proc. Tačiau 2020 m. – 2022 m. *P. aeruginosa* išskyrimo dažnis iš ankščiau minėtų klinikinių medžiagų nukrito iki 37.4 proc. ir 20.8 proc. Ir priešingai mažiausi išskyrimo dažniai 2013 m. – 2015 m. buvo nustatyti kraujyje – 5.4 proc. ir šlapime – 17.3 proc., kur analizuojant 2020 m. – 2022 m. duomenimis stebimas ženklus išskyrimo dažnio augimas šlapime – 33.6 ir nežymus kraujyje 8.2 proc., detaliau žr. 3 lentelę.

CHS profilio pacientams *P. aeruginosa* išskyrimo dažnio pokyčiai buvo neženkliūs, išskyrus 2022 m. (n=840). 2013m. buvo išskirtos ir teigiamai identifikuotos n=130 (8.7 proc.) *P. aeruginosa* padermės, 2014 m. ir 2015 m. išskyrimo dažnis padidėjo iki 9.9 proc. ir 10.7 proc.

2022 m. buvo registruotas didžiausias *P. aeruginosa* išskyrimo dažnio augimas, tai sudarė 56.3 proc. ir tai net devynis kartus viršijantis 2021 m. išskyrimo rodiklius (6.1 proc.), žr. lentelė nr 4.

Tyrimo metu pastebėta, kad CHS profilio pacientams *P. aeruginosa* buvo dažniausiai išskirta iš

šlapimo – 39.1 proc. (n=583) ir žaizdų ir/ar opų – 36.5 proc. (n=545) ėminių, tačiau nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingo ryšio ($P>0.4$), detaliau žr. 4 lentelę.

Apibendrinant du analizuojamus laikotarpius pastebėta, kad *P. aeruginosa* išskyrimo dažnis, 2020 m. – 2022m, išaugo du kartus, lyginant su 2013m. – 2015m.

Lentelė nr 4. Išskirtų *P. aeruginosa* pasiskirstymas pagal klinikinę tiriamąją medžiagą, Chirurgijos skyriuje

Skyriai	Kvėpavimo takai (%*;))	Šlapimo takai (%*;))	Žaizdos/opos (%*;))	Kraujas (%*;))	Viso (%*;) %**)
2013 m.	28 (21.5)	34 (26.2)	56 (43.1)	12 (9.2)	130 (100.0; 8.7)
2014 m.	37 (25.0)	34 (23.0)	73 (49.3)	4 (2.7)	148 (100.0; 9.9)
2015 m.	42 (26.4)	41(25.8)	72 (45.3)	4 (2.5)	159 (100.0; 10.7)
2013 m. – 2015 m.	107 (24.5)	109 (25.0)	201(46.0)	20 (4.5)	437 (100.0)
2020 m.	18 (14.5)	37 (29.9)	66 (53.2)	3 (2.4)	124 (100.0; 8.3)
2021 m.	18 (19.8)	34 (37.4)	38 (41.7)	1 (1.1)	91 (100.0; 6.1)
2022 m.	120 (14.3)	403 (48.0)	240 (28.6)	77 (9.1)	840 (100.0; 56.3)
2020 m. – 2022 m.	156 (14.8)	474 (45.0)	344 (32.5)	81 (7.7)	1055 (100.0)
Viso	263 (17.6)	583 (39.1)	545 (36.5)	101 (6.8)	1492 (100.0)

%* - procentinė dalis nuo visų tiriamų klinikinį medžiagų. %** - procentinė dalis nuo visos imties.

ITS profilio pacientams buvo stebimi nežymūs, tačiau tendencingai mažėjantys *P. aeruginosa* išskyrimo dažnio pokyčiai, išskyrus 2015 m. ir 2021 m.

2013m. pacientams gydytiems ITS buvo identifikuotos n=290 *P. aeruginosa* padermės, visa tai sudarė 22.9 proc. skaičiuojant nuo bendros *P. aeruginosa* išskirtų padermių imties (n=1265) per šešis analizuojamus metus. Atitinkamai šis išskyrimo skaičius tolygiai mažėjo, 2014 m. siekė 15.0 proc. (n=190); 2020 m. - 14.9 proc. (n=188); 2022 m. – 12.5 proc. (n=158) skaičiuojant pokytį nuo 2013 m. žr. lentelė nr 5.

Tyrimo metu pastebėta, kad ITS profilio pacientams *P. aeruginosa* statistiškai dažniau buvo išskirta iš kvėpavimo takų– 84.4 proc. (n=1068) lyginant su kitomis tirtomis klinikinėmis medžiagomis, ($P=0.00$).

Lentelė nr 5. Išskirtų *P. aeruginosa* pasiskirstymas pagal klinikinę tiriamąją medžiagą, Intensyvios terapijos skyriuje

Skyriai	Kvėpavimo takai (%*;))	Šlapimo takai (%*;))	Žaizdos/opos (%*;))	Kraujas (%*;))	Viso (%*;%**)
2013 m.	252(87.0)	16 (5.5)	12 (4.1)	10 (3.4)	290 (100.0; 22.9)
2014 m.	159 (83.7)	9 (4.7)	14 (7.4)	8 (4.2)	190 (100.0; 15.0)
2015 m.	179 (83.6)	10 (4.7)	17 (7.9)	8 (3.8)	214 (100.0; 16.9)
2013 m. – 2015 m.	590 (85.0)	35 (5.0)	43 (6.2)	26 (3.8)	694 (100.0)
2020 m.	160 (85.1)	15 (8.0)	11 (5.9)	2 (1.0)	188 (100.0; 14.9)
2021 m.	178 (79.2)	25 (11.1)	13 (5.7)	9 (4.0)	225 (100.0; 17.8)
2022 m.	140 (88.6)	0 (-)	11 (7.0)	7 (4.4)	158 (100.0 (12.5)
2020 m. – 2022 m.	478 (83.7)	40 (7.0)	35 (6.1)	18 (3.2)	571 (100.0)
Viso	1068 (84.4)	75 (5.9)	78 (6.2)	44 (3.5)	1265 (100.0)

%* - procentinė dalis nuo visų tiriamų klinikinių medžiagų. %** - procentinė dalis nuo visos imties

TS gydytiems pacientams buvo stebimi nežymiai, tačiau tendencingai didėjantys *P. aeruginosa* išskyrimo dažnio pokyčiai, išskyrus 2014 m.

2013m. pacientams gydytiems TS buvo identifikuotos n=158 *P. aeruginosa* padermės, visa tai sudarė 14.1 proc.; atitinkamai šis išskyrimo skaičius tolygiai didėjo, 2015 m. iki 15.4 proc. (n=172); 2022m. buvo stebimas padidėjimas, kuris siekė 22.2 proc., žr. lentelė nr 6.

Tyrimo metu pastebėta, kad TS profilio pacientams *P. aeruginosa* buvo dažniausiai išskirta iš kvėpavimo takų – 36.3 proc. (n=405) ir šlapimo takų – 34.2 proc. (n=382) ėminių, tačiau nebuvo nustatyta statistiškai reikšmingo ryšio ($P>0.6$), detaliau žr. 6 lentelę.

Lentelė nr 6. Išskirtų *P. aeruginosa* pasiskirstymas pagal klinikinę tiriamąją medžiagą, Terapiniuose skyriuose

Skyriai	Kvėpavimo takai (%*;))	Šlapimo takai (%*;))	Žaizdos/opos (%*;))	Kraujas (%*;))	Viso (%*;%**)
2013 m.	76 (48.1)	42 (26.6)	24 (15.2)	16 (10.1)	158 (100.0; 14.1)
2014 m.	50 (34.7)	44 (30.6)	40 (27.8)	10 (6.9)	144 (100.0; 12.9)
2015 m.	67 (39.0)	47 (27.3)	43 (25.0)	15 (8.7)	172 (100.0; 15.4)
2013 m. – 2015 m.	193 (40.7)	133 (28.1)	107 (22.6)	41 (8.6)	474 (100.0)
2020 m.	52 (28.1)	70 (37.8)	26 (14.1)	37 (20.0)	185 (100.0; 16.6)

Lentelė nr 6. Tęsinys

2021 m.	62 (29.5)	87 (41.5)	33 (15.7)	28 (13.3)	210 (100.0; 18.8)
2022 m.	98 (39.5)	92 (37.1)	35 (14.1)	23 (9.3)	248 (100.0; 22.2)
2020 m. – 2022 m.	212 (33.0)	249 (38.7)	94 (14.6)	88 (13.7)	643 (100.0)
Viso	405 (36.3)	382 (34.2)	201 (18.0)	129 (11.5)	1117 (100.0)

* - procentinė dalis nuo visų tiriamų klinikinų medžiagų. ** - procentinė dalis nuo visos imties

3.2 *P. aeruginosa* atsparumo antibiotikams dinamika 2013m. - 2015 m. ir 2020 m. - 2022 m. pagal tiriamuosius skyrius

Apžvelgus *P. aeruginosa* sukėlėjų suminį antimikrobinį atsparumą šešių metų laikotarpyje pastebėta, kad daugiausiai bakterijų yra atsparios IMP– 22.9 proc., MEM – 21.2 proc. , CIP – 21.4 proc. Beveik dvigubai mažiau bakterijų buvo atsparios TOB -10.1 proc., ir CEP– 9.1 proc. Mažiausias atsparumas registruotas AMK -5.3 proc. Tyrimo metu nustatyta, kad statistiškai reikšmingai daugiau buvo nustatyta jautrių padermių visose tirtose antimikrobinėse medžiagose lyginant su atspariomis padermėmis. *P. aeruginosa* bakterijų atsparumo duomenys pateikti 7 lentelėje.

Lentelė nr 7. *P. aeruginosa* padermių atsparumas įvairiems antibiotikams, 2013 m. – 2022 m.

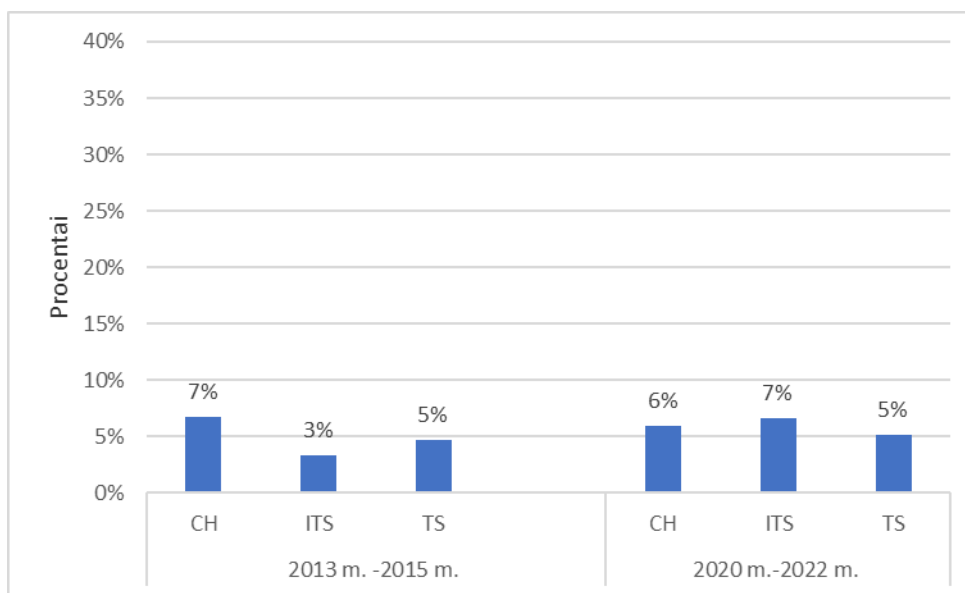
Antibiotikų klasė	Antimikrobinė medžiaga	Viso	Atsparios, n (%)	Jautrios, n(%)	P reikšmė
Aminoglikozidai	Amikacinas	3528	187 (5.3)	3341 (94.7)	<0.001
	Tobramicinas	3048	308 (10.1)	2740 (89.9)	<0.001
	Gentamicinas	3766	522 (13.9)	3244 (86.1)	<0.001
Cefalosporinai	Cefepimas	3119	283 (9.1)	2836 (90.9)	<0.001
	Cefoperazonas-sulbaktamas	3443	399 (11.6)	3044 (88.4)	<0.001
	Ceftazidimas	0	484 (15.2)	2699 (84.8)	<0.001
Fluorochinolonai	Ciprofloksacinas	3878	829 (21.4)	3049 (78.6)	0.002
Karbapenemai	Imipenemas	3492	800 (22.9)	2692 (77.1)	<0.001
	Meropenemas	3533	748 (21.2)	2785 (78.8)	<0.001
Penicilinai	Piperacilinas	1596	290 (18.2)	1306 (81.8)	<0.001
	Piperacilinas-tazobaktamas	3525	646 (18.3)	2879 (81.7)	<0.001

2013 m. - 2015 m. *P. aeruginosa* sukėlėjai buvo labiausiai atsparūs šioms antimikrobinėms medžiagoms: IMP – 22.9 proc., MEM – 18.8 proc., CIP– 18.7 proc. ir piperacilinui (PIP) – 18.2 proc. Mažiausias atsparumas buvo stebimas AMK – 4.6 proc. ir CAZ – 1.7 proc. Lyginant *P. aeruginosa* atsparumo antibiotikams dinamiką pagal konkrečią antimikrobinę medžiagą - 2020-2022 m. stebimas bakterijų atsparumo didėjimas, anksčiau minėtoms antimikrobinėms medžiagoms, tačiau šie dydžiai nėra statistiškai patikimi, išskyrus atsparumą CAZ, kur atsparių *P. aeruginosa* padermių skaičius 2020 m. - 2022 m. išaugo 10 kartų lyginant su 2013 m. -2015 m. ($P<0.05$), žr. lentelė nr 8.

Lentelė nr 8. *P. aeruginosa* padermių atsparumas įvairiems antibiotikams, 2013 m. -2015 m. ir 2020 m. -2022 m.

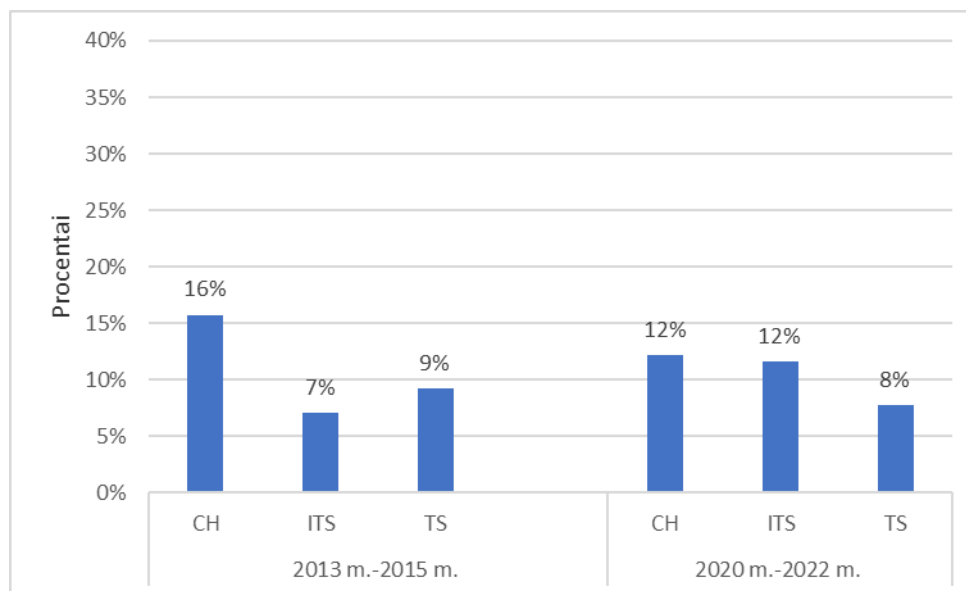
Antibiotikų klasė	Antimikrobinė medžiaga	Atsparios <i>P. aeruginosa</i> padermės, n (%)		
		2013 m. – 2015 m.	2020 m. - 2022 m.	<i>P</i> reikšmė
Aminoglikozidai	Amikacinas	74 (4.6)	113 (5.8)	0.47
	Tobramicinas	151 (10.1)	157 (10.1)	0.84
	Gentamicinas	208 (12.9)	314 (14.5)	0.51
Cefalosporinai	Cefepimas	90 (5.8)	193 (12.3)	0.06
	Cefoperazonas-Sulbaktamas	152 (9.9)	247 (12.9)	0.13
	Ceftazidimas	188 (1.7)	296 (18.8)	0.05
Fluorochinolonai	Ciprofloksacinas	300 (18.7)	529 (23.3)	0.48
Karbapenemai	Imipenemas	367 (22.9)	433 (23.5)	0.21
	Meropenemas	301 (18.8)	447 (23.2)	0.12
Penicilinai	Piperacilinas	290 (18.2)	NT	NT
	Piperacilinas-Tazobaktamas	235 (14.7)	411 (21.4)	0.22
Viso:		2356 (100%)	3154 (100%)	NT

Išanalizavus šešių metų *P. aeruginosa* jautrumą antimikrobinėms medžiagoms duomenis nustatyta, kad atsparumas AMK lyginant 2013 m. - 2015 m. ir 2020 m. – 2022 m. svyravo nuo 3 iki 7 proc. Analizuojamu laikotarpiu didžiausias iki 4 proc. atsparumo AMK *P. aeruginosa* didėjimo pokytis registruotas ITS.



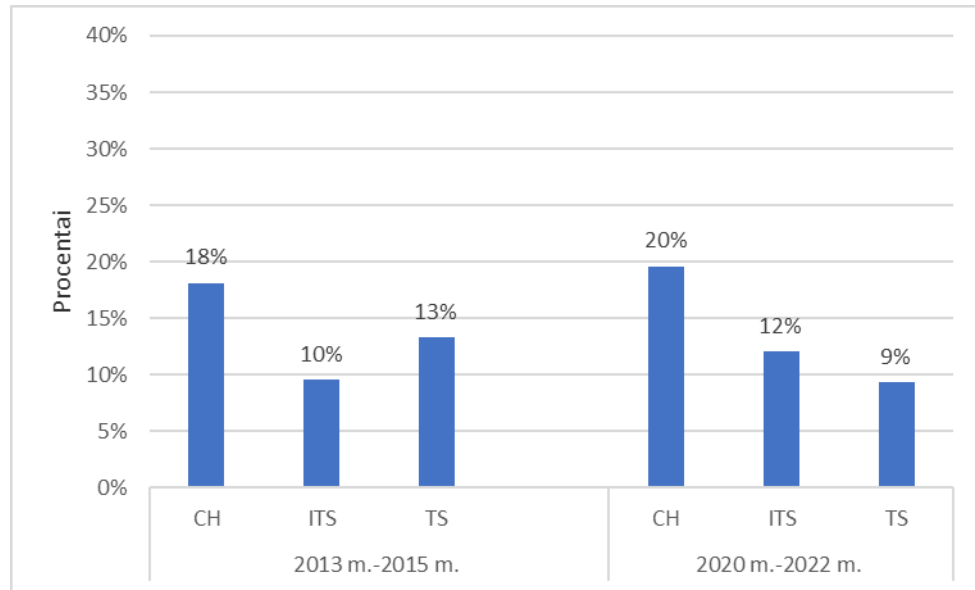
2 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Amikacinui pagal skyrius

Atsparumas TOB analizuojamais laikotarpiais svyravo nuo 7 proc. iki 12 proc. 2013m. - 2015m., didžiausias atsparumas TOB, atitinkamai 16 proc. buvo registruotas CHS , tuo tarpu 2020 m. - 2022m. nukrito per 4 proc. vienetus ir sudarė 12 proc. TOB atsparių *P. aeruginosa* padermių. ITS *P. aeruginosa* atsparumas TOB 2013 m. – 2015 m. buvo registruotas mažiausias, atitinkamai 7 proc. tačiau fiksuotas 5 proc. išaugęs *P. aeruginosa* padermių atsparumas šiam antibiotikui, 2020 m. – 2022 m., žr. Pav. 3.



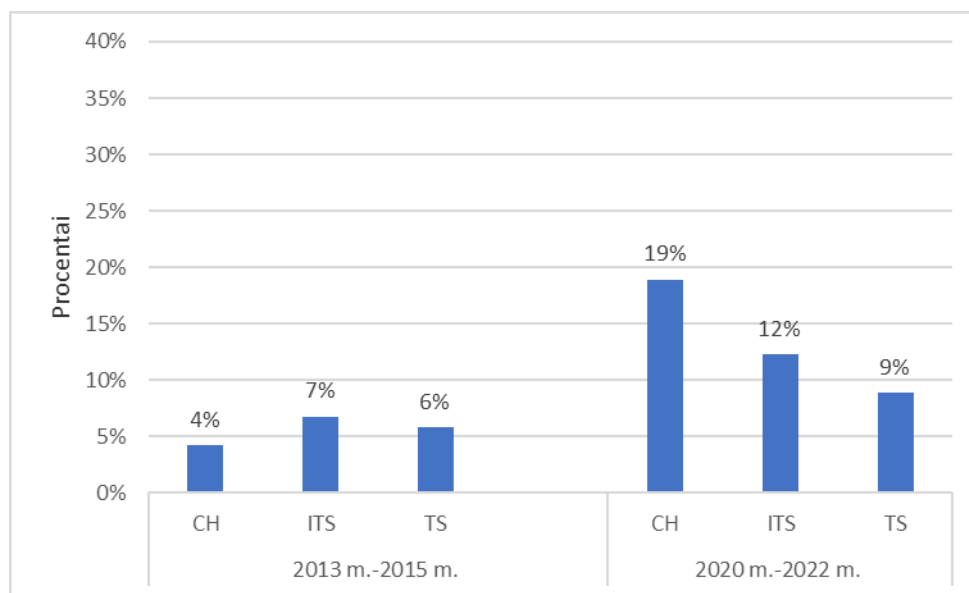
3 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Tobramicinui pagal skyrius

Atsparumas GEN svyravo nuo 10 proc. iki 20 proc. Didžiausias *P. aeruginosa* padermių atsparumo minėtam antibiotikui mažėjimo pokytis, atitinkami 4 proc., buvo registruotas TS lyginant 2020 m. - 2022 m su 2013 m. - 2015 m. duomenimis. CHS ir ITS lyginant du analizuojamus laiko periodus registruotas išaugęs iki 2 proc. *P. aeruginosa* atsparumo GEN padermių procentinis skaičius, žr. Pav. 4.



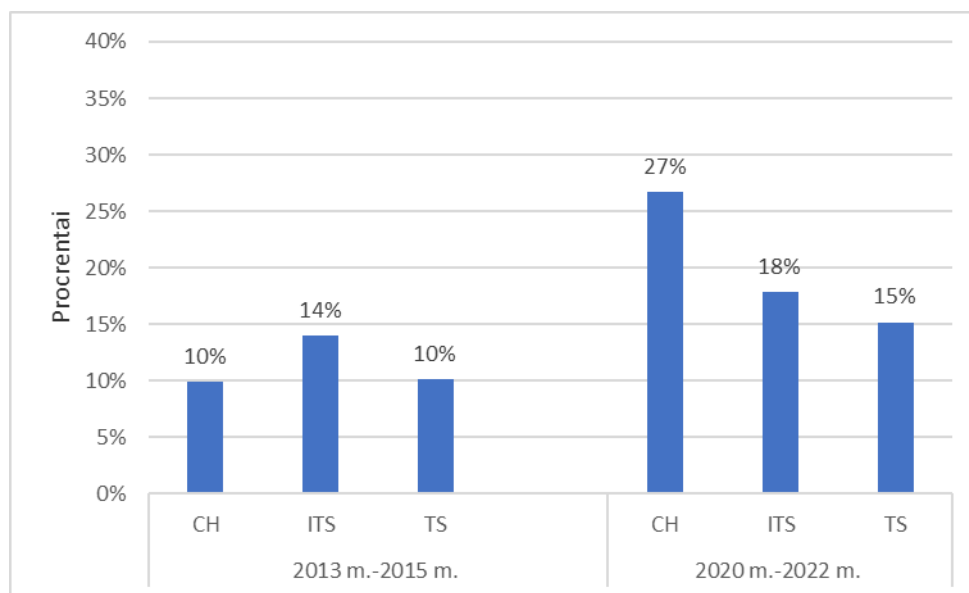
4 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Gentamicinui pagal skyrius

Atsparumas CEP svyravo nuo 4 proc. iki 19 proc. 2013 m. – 2015 m., didžiausias atsparumas CEP, atitinkamai 7 proc., buvo registruotas ITS, tuo tarpu 2020 m. - 2022 m. šis skaičius pakilo iki 12 proc. Mažiausias atsparumas CEP, kuris siekė tik 4 proc., buvo registruotas CHS, 2013 m.- 2015 m., tačiau 2020 m. – 2022 m. *P. aeruginosa* atsparumo CEP procentinis skaičius šiame skyriuje išaugo net iki 19 proc., žr. Pav. 5.



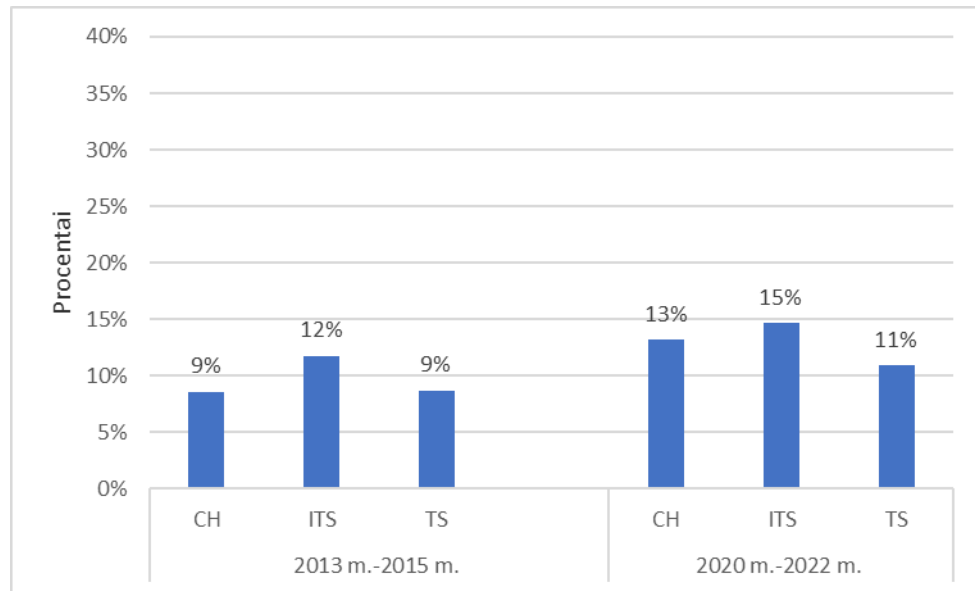
5 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Cefepimui pagal skyrius

Atsparumas CAZ svyravo nuo 10 proc. iki 27 proc. 2013 m.- 2015 m., mažiausias atsparumas CAZ, atitinkamai 10 proc. buvo registruotas CHS, tuo tarpu 2020 m. – 2022 m. šis skaičius pakito 2.7 karto ir 2020 m. – 2022 m. *P. aeruginosa* atsparumas CAZ CHS sudarė net 27 proc. ITS ir TS *P. aeruginosa* padermės taip pat 5 proc. tapo daugiau atsparesnės 2020 m. – 2022 m. lyginant su 2013 m. – 2015 m. bakterijų atsparumo duomenimis, žr. Pav. 6.



6 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Cefazidimui pagal skyrius

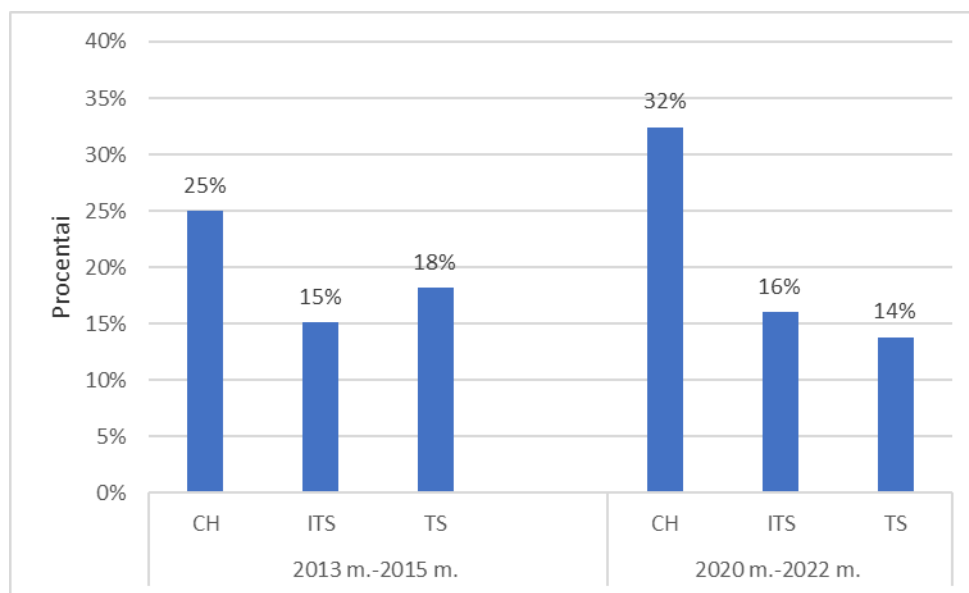
Atsparumas Cefoperazonui-sulbaktamui svyravo nuo 9 proc. iki 15 proc. Lyginant 2013 m. - 2015 m. ir 2020 m. – 2022 m. bakterijų atsparumo Cefoperazonui-sulbaktamui dinamiką – buvo stebimas nuo 2 iki 3 proc. atsparesnių padermių augimas visose nagrinėtuose klinikiniuose skyriuose, 2020 m. - 2022 m. laikotarpiu, žr. Pav. 7.



7 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Cefoperazonui-sulbaktamui pagal skyrius

Atsparumas CIP svyravo nuo 15 proc. iki 32 proc. 2013 m.- 2015 m., ir 2020 m. - 2022 m. Didžiausi atsparumo procentiniai skaičiai buvo registruoti CHS atitinkamai 25 proc., ir 32 proc.

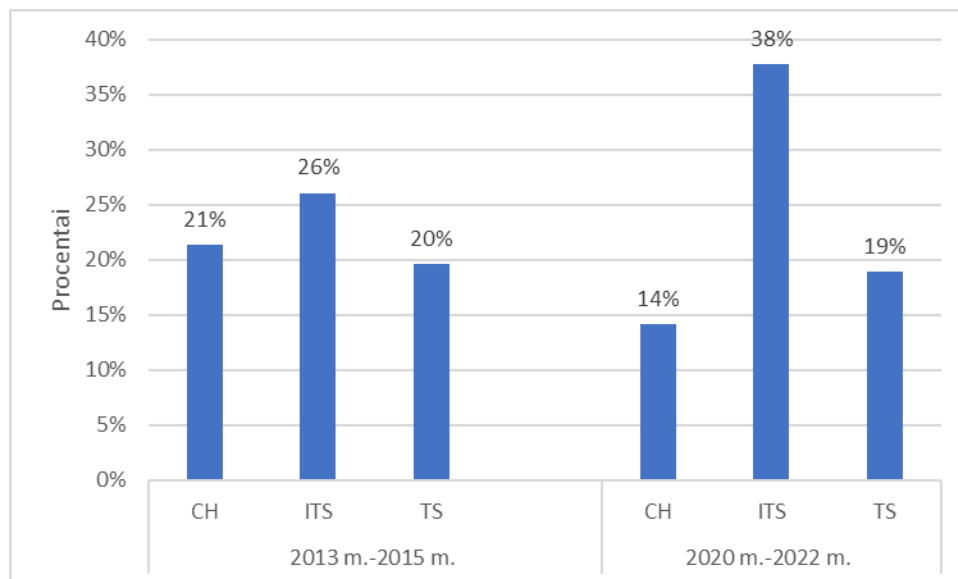
ITS ir TS *P. aeruginosa* atsparumo CIP procentinis reikšmės kito nežymiai lyginant du analizuojamus laikotarpius, žr. Pav. 8.



8 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Ciprofloksacinui pagal skyrius

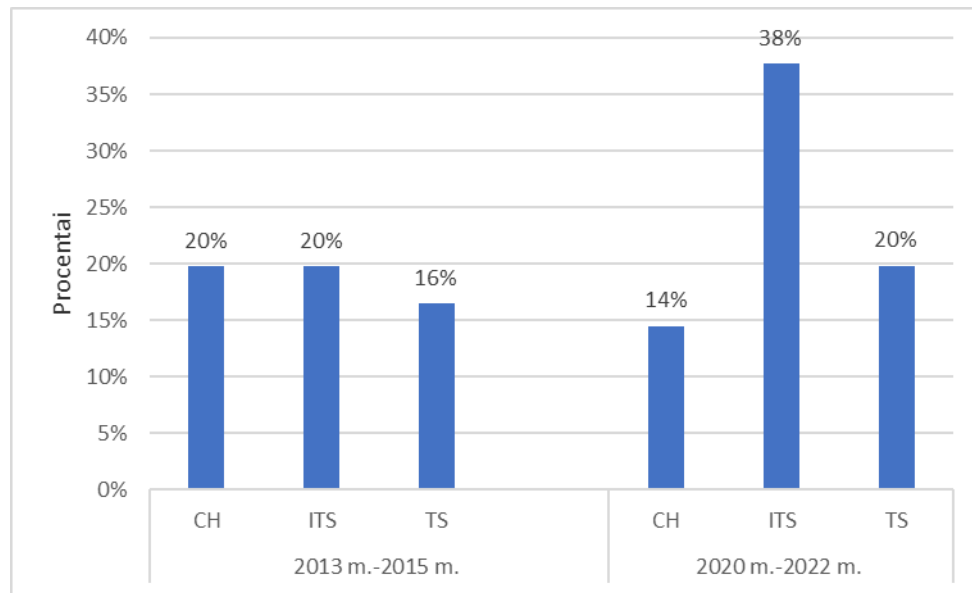
Atsparumas IMP svyravo nuo 20 proc. iki 38 proc. 2013 m. – 2015 m., mažiausios *P. aeruginosa* atsparumo procentinės reikšmės buvo registruotos CHS ir TS, atitinkamai 21 proc. ir 20 proc.

2020 m. – 2022 m. CHS išskirtos *P. aeruginosa* padermės pasižymėjo iki 6 proc. žemesniu atsparumu IMP, lyginant su 2013 m. – 2015m. duomenimis. ITS *P. aeruginosa* atsparumo IMP procentinės reikšmės pakilo per 12 proc. (1.5 karto daugiau) lyginant su 2013m. – 2015 m. duomenimis, žr. Pav. 9.



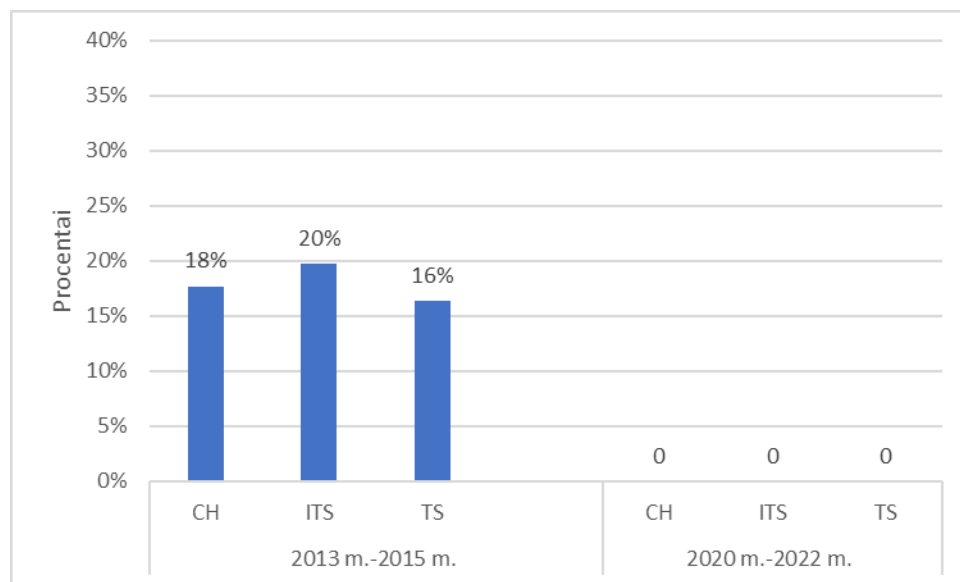
9 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Imipenemui pagal skyrius

Atsparumas MEM svyravo nuo 16 proc. iki 38 proc. 2013 m. – 2015 m., mažiausi *P. aeruginosa* padermių atsparumo MEM procentiniai skaičiai buvo registruoti TS, atitinkamai 16 proc. atsparių padermių, lyginant su CHS ir ITS - 20 proc. 2020 m. – 2022 m. atsparumo karbapenemų klasės antibiotikui augimo dinamika labiausiai buvo stebima ITS, kur atsparių padermių skaičius MEM išaugo iki 38 proc., žr. Pav. 10.



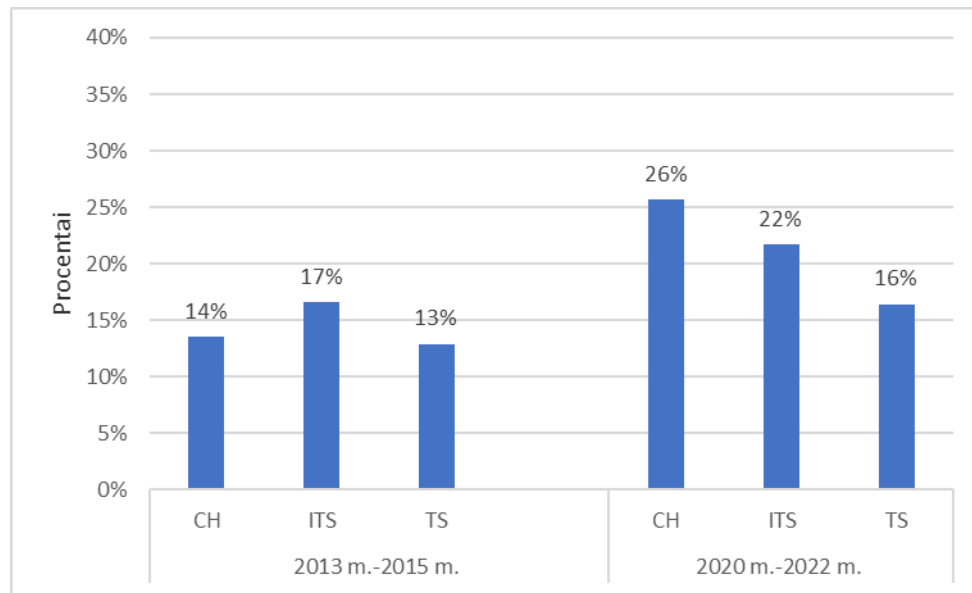
10 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Meropenemui pagal skyrius

Atsparumas PIP buvo registruotas tik 2013m. – 2015 m. ir svyravo nuo 16 proc., TS, iki 20 proc., ITS., žr. Pav. 11.



11 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Piperacilinui pagal skyrius

Atsparumas TZP svyravo nuo 13 proc. iki 26 proc. 2013 m. – 2015 m., CHS *P. aeruginosa* padermės atsparios minėtam antibiotikui sudarė 14 proc., tačiau 2020 m. – 2022 m. *P. aeruginosa* padermių atsparumo TZP skaičius išaugo iki 26 proc. (pakilo per 12 proc. vienetų). ITS ir TS atsparių *P. aeruginosa* padermių augimas sudarė 3-5 proc., 2020 m. – 2022 m.. žr. Pav. 12.

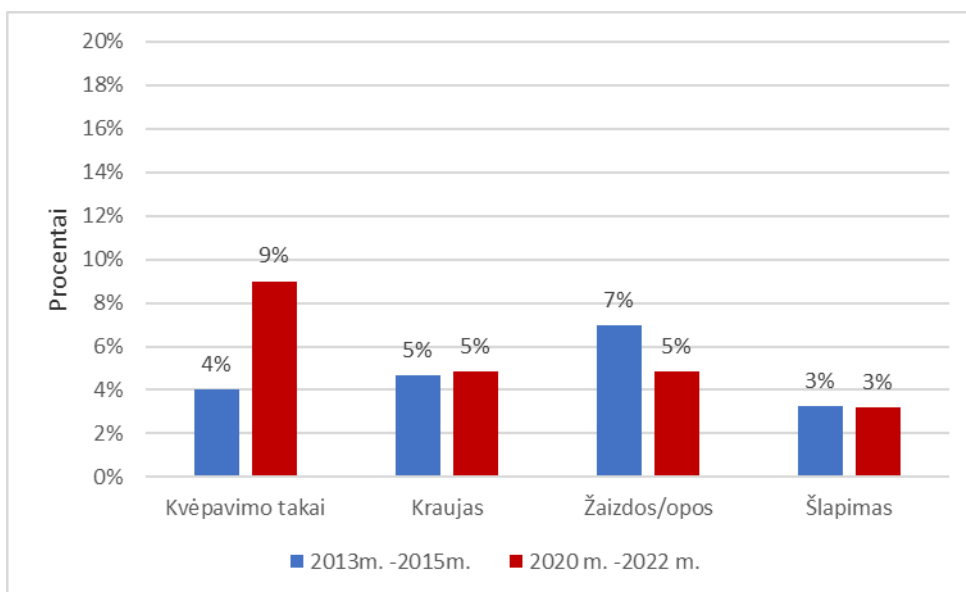


12 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Piperacilinui/tazobaktamui pagal skyrius

3.3 *P. aeruginosa* atsparumo antibiotikams dinamika 2013 m. - 2015 m. ir 2020 m. - 2022 m. pagal tiriamąją klinikinę medžiagą

Lyginant *P. aeruginosa* atsparumo antibiotikams ypatumus priklausomai nuo infekcijos židinio 2020 m. - 2022 m. buvo stebimas bakterijų atsparumo didėjimas visuose tirtose klinikinėse medžiagose, atitinkamai: kvėpavimo takai n=1256 (2013 m. - 2015 m.) ir n=1511 (2020 m. - 2022 m.), šlapimas n=405 (2013 m. - 2015 m.) ir n=808 (2020 m. -2022 m.), žaizdos ir opos n=472 (2013 m. - 2015 m.) ir n=534 (2020 m. -2022 m.), kraujas n=71 (2013 m. - 2015 m.) ir n=194 (2020 m. - 2022 m.).

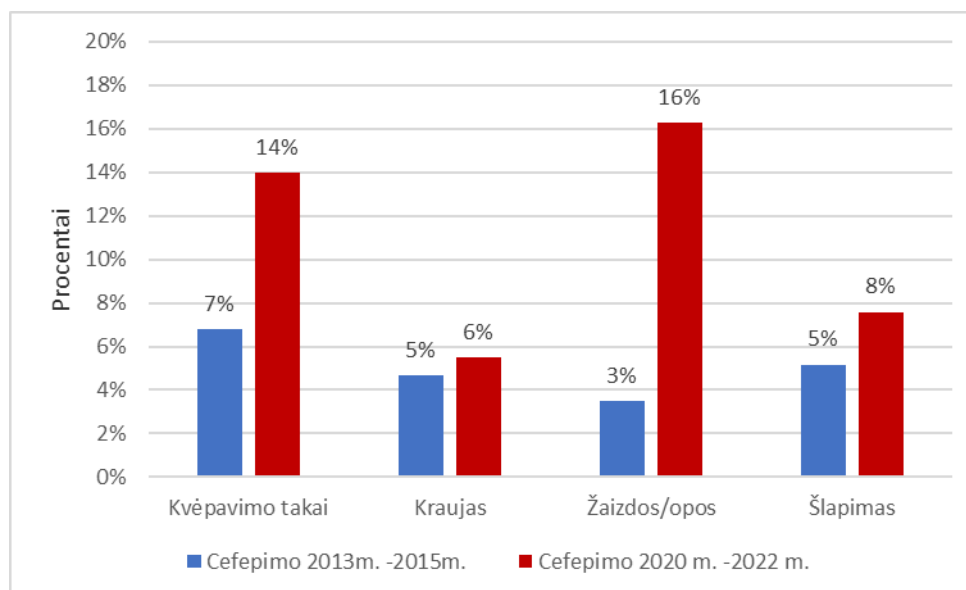
Iš duomenų pateiktų 13 pav. matome, kad didžiausias *P. aeruginosa* atsparumo AMK didėjimas, kuris siekia 5 proc., buvo nustatytas padermėse, išskirtose iš kvėpavimo takų, lyginant du analizuojamus laikotarpius. Tuo tarpu padermių, išskirtų iš kraujo ar šlapimo takų atsparumo AMK procentiniai skaičiai nekito analizuojamais laikotarpiais.



13 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Amikacinui pagal klinikinę tiriamąją medžiagą

Tiriant *P. aeruginosa* padermių atsparumą CEP nustatyta, kad didžiausias pokytis analizuojamais laikotarpiais buvo registruotas padermėse išaugintose iš kvėpavimo takų (7 proc. padidėjimas) bei žaizdų ir opų (13 proc. padidėjimas), lyginant su 2013 m. – 2015 m. duomenimis, žr. Pav. 14.

P. aeruginosa padermių išskirtų iš kraujo ir šlapimo atsparumas CEP kito nežymiai, žr. Pav. 14.

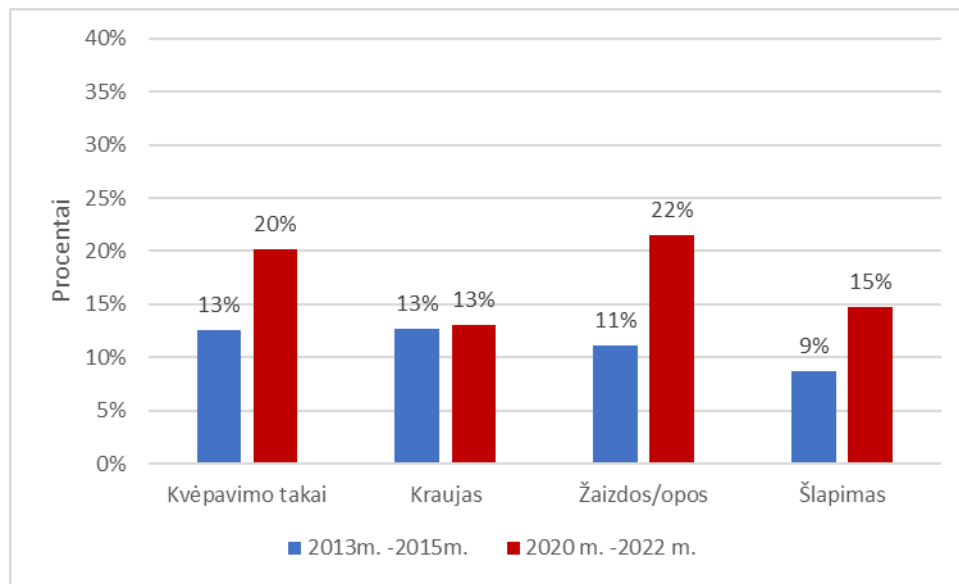


14 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Cefepimui pagal klinikinę tiriamąją medžiagą

Palyginus dviejų analizuojamų laikotarpių (2013 m. - 2015 m. ir 2020 m. - 2022 m.) duomenis, nustatyta, kad *P. aeruginosa*, išaugintų iš klinikinių mėginių atsparumo CAZ struktūra nepasikeitė.

Daugiausia atsparių CAZ padermių išauginama iš kvėpavimo takų, šlapimo ir žaizdų bei opų, kur procentiniai skaičiai minėtose klinikinėse medžiagose padidėjo daugiau nei 5 procentiniai vienetais, lyginant su 2013 m. – 2015 m. duomenimis, žr. Pav. 15.

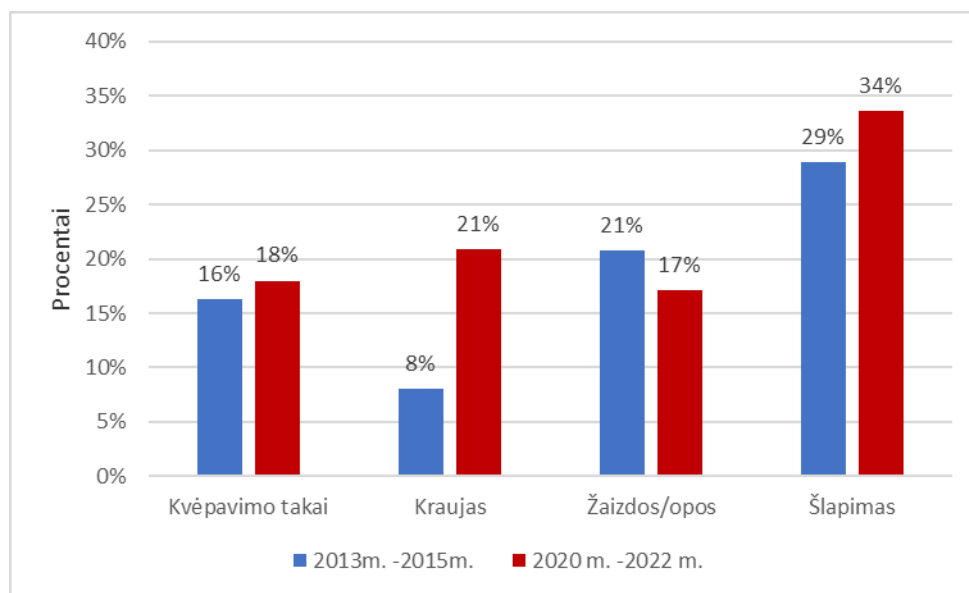
P. aeruginosa padermių išskirtų iš kraujo atsparumas CAZ nekito, žr. Pav. 15.



15 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Ceflazidimui pagal klinikinę tiriamąją medžiagą

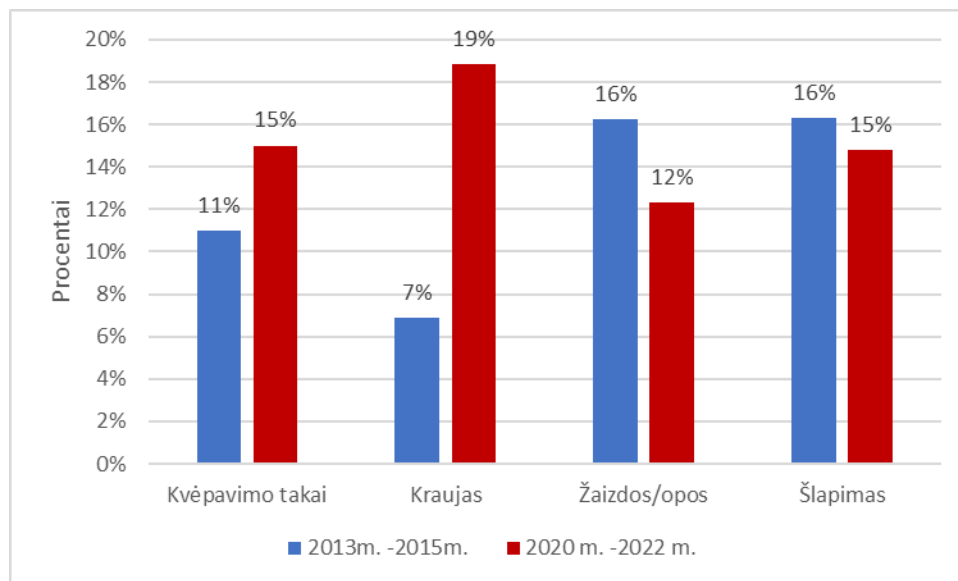
Nepaisant *Pseudomonas spp.* atsparumo cefalosporinų klasės antibiotikams didėjimo nepriklausomai nuo tirtos klinikinės medžiagos, 2020 m. – 2022 m. duomenimis *P. aeruginosa* mikroorganizmų, išaugintų iš kraujo ir šlapimo mėginių, atsparumo CIP pokyčiai buvo didžiausi. Užregistruota 13 proc. daugiau CIP atsparių padermių iš kraujo ir 5 proc. daugiau padermių iš šlapimo lyginant su 2013 m. – 2015 m. duomenimis, žr. Pav. 16.

P. aeruginosa padermių išskirtų iš žaizdų atsparumas CIP sumažėjo per 4 procentinius skaičius, žr. Pav. 16.



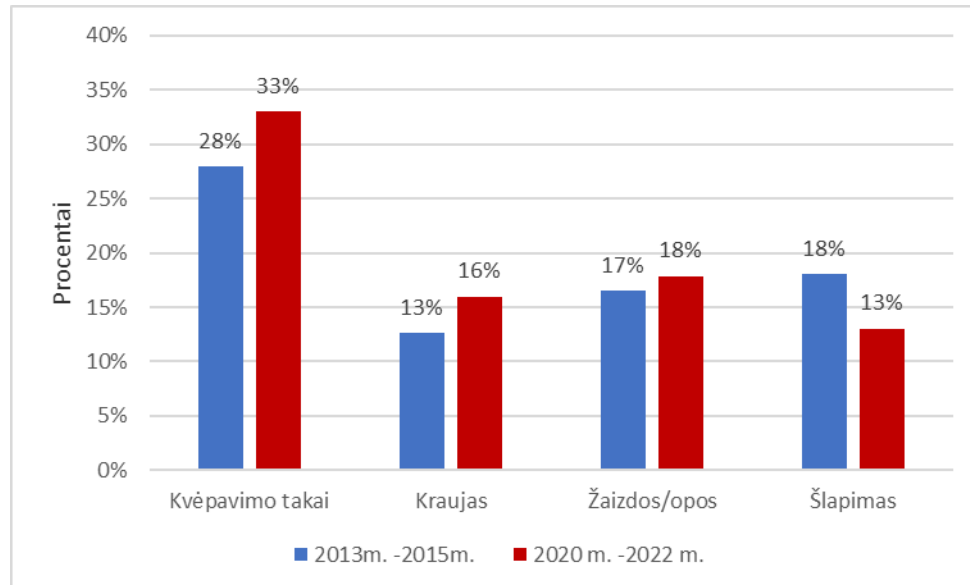
16 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Ciprofloksacinui pagal klinikinę tiriamąją medžiagą

Išanalizavus dviejų nagrinėjamų laikotarpių *P. aeruginosa* atsparumą GEN, nustatyti didžiausi atsparumo aminoglikozidų klasės antibiotiko augimo pokyčiai padermėse išaugintose iš kraujo ir kvėpavimo takų. 2020 m. – 2022 m. buvo registruotas 12 proc. didesnis *P. aeruginosa* atsparumas GEN iš kraujo išaugintose *P. aeruginosa* padermėse ir 4 proc. padidėjimas iš kvėpavimo takų išaugintose padermėse., lyginant su 2013 m. – 2015 m. duomenimis. Nustatytas nežymus (1 proc.) *P. aeruginosa* padermių atsparumo mažėjimas šlapimo takuose ir 4 proc. atsparumo sumažėjimas žaizdose ir opose, žr. Pav. 17.



17 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Gentamicinui pagal klinikinę tiriamąją medžiagą

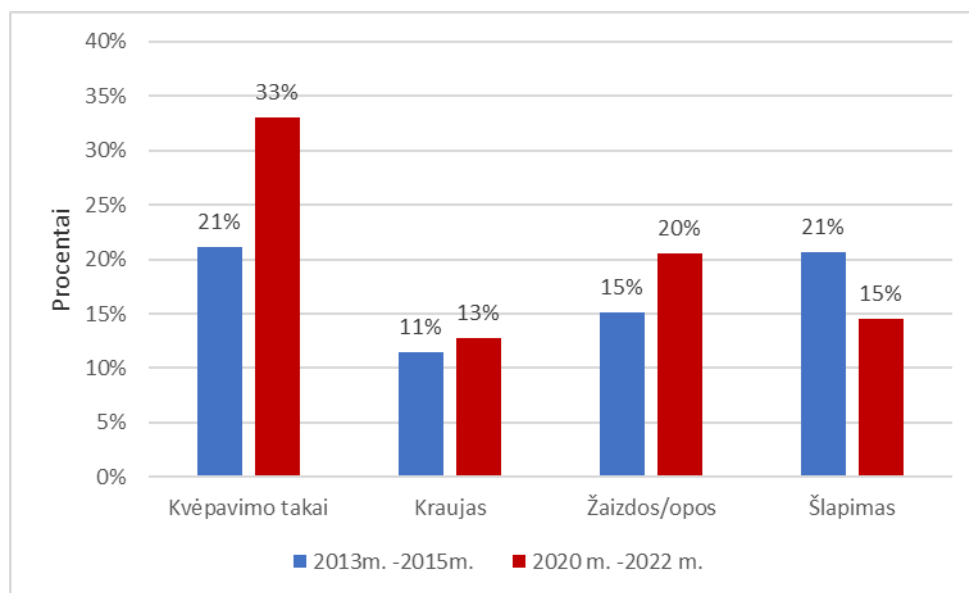
Tyrimo metu nustatyta, kada 2020 m. – 2022 m. atsparumas karbapenemų klasės antibiotikui IMP augo visose klinikinėse tiriamuosose medžiagose, išskyrus šlapimą, kur 2020 m. – 2022m. stebimas 5 proc., atsparių IMP *P. aeruginosa* padermių, sumažėjimas, žr. Pav. 18.



18 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Imipenemui pagal klinikinę tiriamąją medžiagą

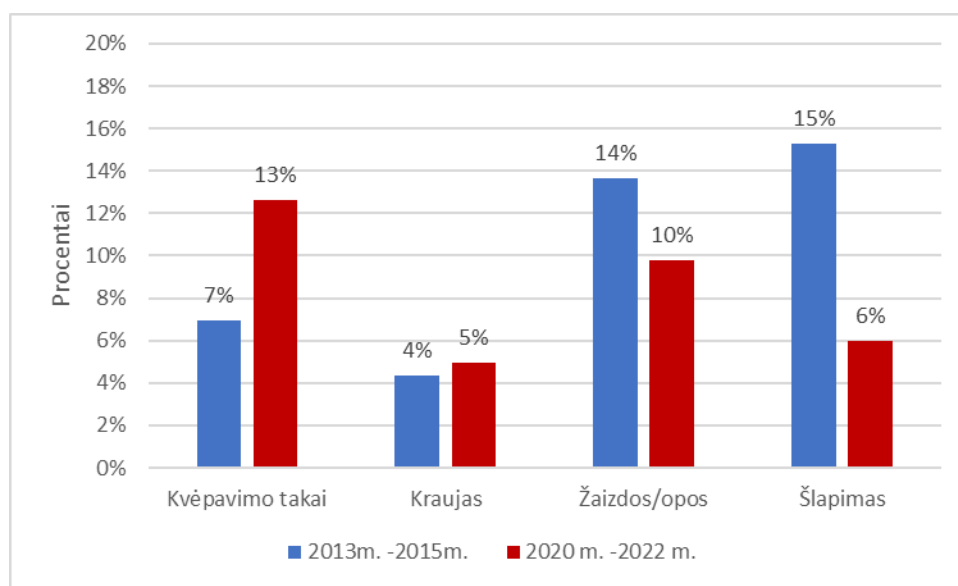
Tiriant *P. aeruginosa* padermių atsparumą MEM, nustatyta, kad didžiausi atsparumo MEM augimo pokyčiai buvo registruoti padermėse išaugintose iš kvėpavimo takų bei žaizdų ir opų. 2020 m. – 2022m. buvo registruotas 12 proc. didesnis *P. aeruginosa* atsparumas MEM iš kvėpavimo takų

išaugintose *P. aeruginosa* padermėse ir 5 proc. padidėjimas iš žaizdų ir opų išaugintose padermėse., lyginant su 2013 m. – 2015 m. duomenimis. Nustatytas 6 proc. *P. aeruginosa* padermių išskirtų iš šlapimo takų atsparumo mažėjimas, žr. Pav. 19.



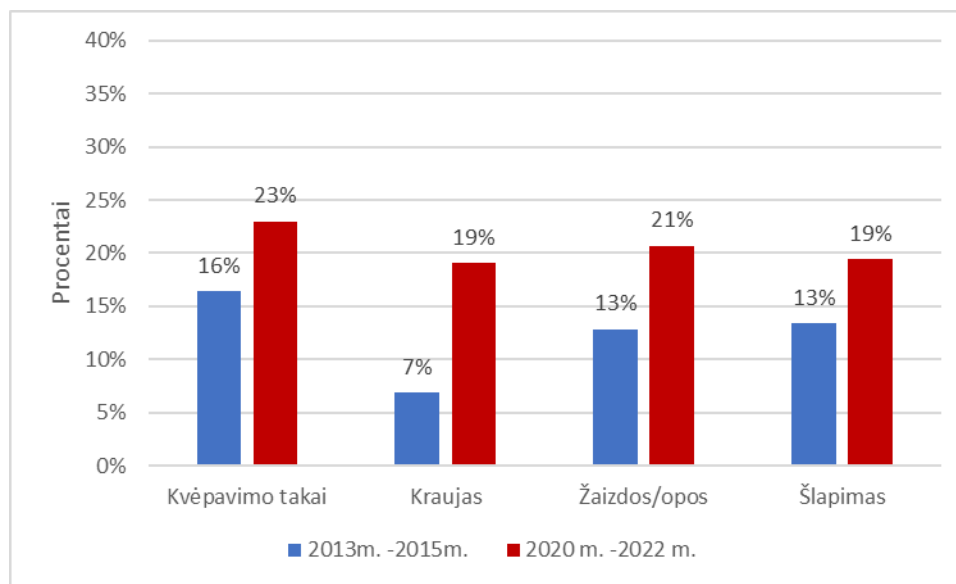
19 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Meropenemui pagal klinikinę tiriamąją medžiagą

Pagal 20 pav. pateiktus duomenis didžiausias atsparumo TOB pokytis, kuris sudarė net 6 proc.-registruotas padermėse, išaugintose iš kvėpavimo takų. Tai vienintelė tirta antimikrobinė medžiaga, kurioje nustatytas didžiausias net 9 procentinių vienetų *P. aeruginosa* padermių atsparumo TOB mažėjimas, įskaitant ir žaizdas ir opas (4 proc. sumažėjimas), žr. Pav. 20.



20 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Tobramicinui pagal klinikinę tiriamąją medžiagą

Palyginus dviejų analizuojamų laikotarpių (2013 m. - 2015 m. ir 2020 m. - 2022 m.) duomenis, nustatyta, kad *P. aeruginosa*, išaugintų iš visų tirtų klinikinių mėginių, atsparumas TZP augo labiausiai. Didžiausi atsparumo antibiotikui pokyčiai fiksuoti padermėse išaugintose iš kraujo – 12 proc. padidėjimas, vėliau atitinkamai iš žaizdų ir opų – 8 proc. padidėjimas, kvėpavimo takų – 7 proc. padidėjimas ir šlapimo – 6 proc. padidėjimas, žr. Pav. 21.



21 Pav. *P. aeruginosa* padermių atsparumas Piperacilinui/Tazobaktamui pagal klinikinę tiriamąją medžiagą

4. REZULTATŲ APITARIMAS

P. aeruginosa yra vienas iš labiausiai atsparių gramneigiamų bakterijų, keliančių iššūkį dabartinei sveikatos priežiūros sistemai. Daugeliu atveju *P. aeruginosa* gydymas yra apsunkintas dėl įvykusių atsitiktinių mutacijų genome. Tai mikroorganizmas pasižymintis dauginiu atsparumu daugiau nei 3 klasių antimikrobinėms medžiagoms. Todėl norint suvaldyti vis didėjanti šio mikroorganizmo atsparumą yra labai svarbu sukurti antimikrobinio jautrumo stebėjimo programas, kuriose būtų apžvelgiama vietinė epidemiologinė situacija, leidžianti medicinai gauti rezultatų duomenis parinkti tinkamą empirinį gydymą.

Mūsų atliktame retrospektyvinės analizės tyrime iš 2013 m. – 2015 m. ir 2020 m. – 2022 m. surinktų duomenų apie *P. aeruginosa* išskyrimo dinamiką, nustatyta, kad didžioji dalis šio mikroorganizmo buvo išauginta iš ITS gydytų pacientų klinikinės medžiagos, 2013 m. – 2015 m. laikotarpiu, atitinkamai 43.3 proc. Tuo tarpu 2020 m. – 2022 m. didžiausias *P. aeruginosa* išskyrimo dažnis buvo fiksuotas CHS gydomų pacientų klinikinėse medžiagose ir tai sudarė 46.4 proc. ITS *P. aeruginosa* išskyrimo dažnis 2020 m. – 2022 m. sumažėjo 18 proc. ir sudarė tik 25.3 proc., lyginant su ankstesniais tyrimo duomenimis. Mūsų gauti rezultatai sutampa su kitų autorių atliktomis studijomis. Gupta ir bendraautoriai nustatė, kad *P. aeruginosa* išskyrimo dažnis ITS siekia 28 proc. (75). Mokslininkų iš Kinijos atliktoje retrospektyvinėje kohortinėje studijoje vykusioje 2007 m. – 2016 m. nustatyta, kad *P. aeruginosa* izoliatai buvo taip pat dažniausiai išskirti iš ITS gydomų pacientų klinikinės medžiagos ir sudarė net 39.8 proc. (76). Europos antimikrobinio atsparumo stebėsenos (EARSS) duomenimis, *P. aeruginosa* pasireiškimo dažnis (įskaitant bakterijų sukeltą ventiliacinę pneumoniją, bakteriemiją ar šlapimo takų infekcijas) ITS gali siekti net 30 proc. ribą (77). Remiantis šiais duomenimis, galime daryti prielaidą, kad daugelio studijų gauti aukšti *P. aeruginosa* išskyrimo dažnio rodikliai ITS yra galimai susiję su didesne šiame skyriuje gydomų pacientų bakterinės infekcijos užsikrėtimo rizika, sąlygotą ilgo ligonių hospitalizavimo, invazinių medicininių procedūrų ar ilgalaikio antibiotikų vartojimo. Nors mūsų atliktame tyrime *P. aeruginosa* išskyrimo dažnis yra kur kas didesnis nei kaimyninės šalies Lenkijos publikuotame straipsnyje, kur *P. aeruginosa* išskyrimo dažnis ITS siekė tik 13.6 proc. analizuojant trijų metų duomenis (2016 m. – 2019 m.). Tačiau Litwin ir bendraautorių atliktoje studijoje buvo stebima vis auganti *P. aeruginosa* išskyrimo dažnio tendencija (78).

Mūsų tyrimo metu nustatyta, kad kvėpavimo takai, nepriklausomai nuo gydymo skyriaus, išlieka viena dažniausių tiriamųjų medžiagų iš kurių buvo išaugintos *P. aeruginosa* padermės, atitinkamai 44.9 proc. Kita vertus ši tiriamoji medžiaga buvo taip pat dažniausias *P. aeruginosa* infekcijos židinytis ITS

gydomiems pacientams, 84.4 proc.

Kula ir bendraautorių tyrimas parodė, kad net 66 proc. *P. aeruginosa* padermių, išskirtų iš kvėpavimo takų (66 proc.) yra atkeliavusios iš ITS gydytų pacientų klinikinės medžiagos (79). Kitų autorių duomenimis, gauti panašūs, tačiau šiek tiek žemesni rezultatai, atitinkamai 59.6 proc. bei 58.3 proc. (76,80). 2013 m. – 2015 m. Jungtinių Amerikos Valstijų atliktoje epidemiologinio stebėjimo studijoje nustatyta, kad *P. aeruginosa* (36.2 proc.) yra labiausiai paplitęs gramneigiamas organizmas, išskirtas iš pacientų, sergančių kvėpavimo takų infekcijomis (apatinių), įgytomis buvimo ITS metu (81). Mūsų ir ankstesnių mokslininkų tyrimų duomenys parodo, egzistuojantį ryšį tarp kvėpavimo takų kolonizacijos *P. aeruginosa* mikroorganizmais ir pacientų hospitalizacijos ITS.

Vertinant dviejų analizuojamų laikotarpių (2013 m. – 2015 m. ir 2020 m. – 2022 m.) *P. aeruginosa* atsparumo antibakterinėms medžiagoms duomenis gauti rezultatai leidžia daryti išvadą, jog *P. aeruginosa* labiausiai yra atspari IMP (22.9 proc. ir 23.5 proc.), MEM (18.8 proc. ir 23.2 proc.), bei CIP (18.7 proc. ir 23.3 proc.). Nors mūsų tyrimo metu įvertinus 2013 m. – 2015 m. padermių atsparumo CAZ duomenis (1.7 proc.) nustatytas didžiausias izoliatų jautrumas minėtam antibiotikui (98.3 proc.), tačiau 2020 m. – 2022 m. stebimas ženklus atsparių padermių CAZ skaičiaus didėjimas (18.8 proc.). Šie duomenys neprieštaruoja Europos ligų prevencijos ir kontrolės centro (ECDC) (EARS-Net) 2018 m. Europos antimikrobinio atsparumo stebėsenos tinkle publikuotam pranešime, teigiančiam, kad 32.1 proc. *P. aeruginosa* izoliatų Europos ekonominėje erdvėje yra atsparūs bent vienam iš šių antimikrobinų medžiagų grupių, kurios yra reguliariai stebimos (TZP, fluorokinolonai, CAZ aminoglikozidai ir karbapenemai). Nors stebimi nemaži skirtumai tarp šalių visose antimikrobinų medžiagų grupėse, tačiau Pietų ir Rytų Europoje nustatytas didesnis *P. aeruginosa* atsparumo procentas nei Šiaurės Europoje. Atsparumas karbapenemams invaziniuose *P. aeruginosa* padermėse ES/EEE 2018 m. vidutiniškai siekė 17.2 proc. ir tai sutampa su mūsų gautais duomenimis (71).

Tyrimo metu nustatėme, kad CHS *P. aeruginosa* padermės labiausiai buvo atsparios cefalosporinų ir penicilinų bei fluorochinolonų klasės antibiotikams, lyginant su ITS ir TS kur didžiausias atsparumas buvo registruotas karbapenemų klasės antibiotikams.

Mūsų duomenimis taip pat buvo pastabėta *P. aeruginosa* padermių, išskirtų iš kvėpavimo takų bei žaizdų atsparumo CEP (7 proc. ir 14 proc.; 3 proc. ir 16 proc.) ir CAZ (13 proc. ir 20 proc.; 11 proc. ir 22 proc.) augimo dinamika. Taip pat stebima auganti padermių, išskirtų iš kraujo atsparumo CIP (8 proc. ir 21 proc.) ir GEN (7 proc. ir 19 proc.) augimo dinamika.

IŠVADOS

1. Nustatytas reikšmingai didėjantis *P. aeruginosa* padermių išskyrimo dažnis CHS, analizuojant šešių metų tyrimo duomenis ($P=0.001$). ITS profilio pacientams *P. aeruginosa* patikimai dažniau buvo išskirta iš kvėpavimo takų (82.6 proc., $P=0.000$), lyginant su kitomis klinikinėmis medžiagomis.
2. Nustatytas reikšmingai didėjantis CAZ atsparių padermių augimas visų profilių klinikiuose skyriuose ($P=0.05$). Lyginant du analizuojamus laikotarpius reikšmingas *P. aeruginosa* atsparumas kitų klasių antimikrobinėms medžiagoms nustatytas nebuvo.
3. Didžiausias iš kvėpavimo takų išaugintų atsparių *P. aeruginosa* padermių skaičiaus augimas buvo stebimas cefalosporinų, aminoglikozidų ir karbapenemų klasės antibiotikams; iš žaizdų ir opų – cefalosporinų ir karbapenemų klasės antibiotikams; iš kraujo ėminių – fluorochinolonų, aminoglikozidų ir penicilinų klasės antibiotikams.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Labovská S. *Pseudomonas aeruginosa* as a Cause of Nosocomial Infections [Internet]. Available from: www.intechopen.com
2. Pachori P, Gothwal R, Gandhi P. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes Dis* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2023 May 2];6(2):109–19. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31194018/>
3. Parkins MD, Somayaji R, Waters VJ. Epidemiology, Biology, and Impact of Clonal *Pseudomonas aeruginosa* Infections in Cystic Fibrosis. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2018 [cited 2023 May 2];31(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30158299/>
4. Qin S, Xiao W, Zhou C, Pu Q, Deng X, Lan L, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2022 7:1 [Internet]. 2022 Jun 25 [cited 2023 May 2];7(1):1–27. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41392-022-01056-1>
5. Alvarez-Ortega C, Wiegand I, Olivares J, Hancock REW, Martínez JL. The intrinsic resistome of *Pseudomonas aeruginosa* to β -lactams. *Virulence* [Internet]. 2011 [cited 2023 May 2];2(2):144–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21304266/>
6. Ratajczak M, Kamińska D, Nowak-Malczyńska DM, Schneider A, Długaszewska J. Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, genes coding virulence factors and source of origin of *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* [Internet]. 2021 Jun 14 [cited 2023 May 2];28(2):306–13. Available from: <https://www.aaem.pl/Relationship-between-antibiotic-resistance-biofilm-formation-genes-coding-virulence,122682,0,2.html>
7. Diggle SP, Whiteley M. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology (Reading)* [Internet]. 2020 [cited 2023 May 2];166(1):30–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31597590/>
8. Mao G, Song Y, Bartlam M, Wang Y. Long-term effects of residual chlorine on *Pseudomonas aeruginosa* in simulated drinking water fed with low AOC medium. *Front Microbiol* [Internet]. 2018 May 3 [cited 2023 May 2];9(MAY). Available from: [/pmc/articles/PMC5943633/](https://pmc/articles/PMC5943633/)
9. Horcajada JP, Montero M, Oliver A, Sorlí L, Luque S, Gómez-Zorrilla S, et al. Epidemiology and Treatment of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2019 [cited 2023 May 3];32(4). Available from:

/pmc/articles/PMC6730496/

10. Poole K. *Pseudomonas Aeruginosa: Resistance to the Max*. *Front Microbiol* [Internet]. 2011 [cited 2023 May 3];2(APR). Available from: /pmc/articles/PMC3128976/
11. Udaondo Z, Ramos JL, Segura A, Krell T, Daddaoua A. Regulation of carbohydrate degradation pathways in *Pseudomonas* involves a versatile set of transcriptional regulators. *Microb Biotechnol* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2023 May 3];11(3):442–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29607620/>
12. Markey BK (Bryan K). *Clinical veterinary microbiology*. 2013 [cited 2023 May 3];901. Available from: https://books.google.com/books/about/Clinical_Veterinary_Microbiology_E_Book.html?id=FUJY AQAQBAJ
13. Martinez AJ. *Medical Microbiology*. *Medical Microbiology*, 4th Edition [Internet]. 1996 [cited 2023 May 3];1–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7627/>
14. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. 2010;
15. Little AS, Okkotsu Y, Reinhart AA, Damron FH, Barbier M, Barrett B, et al. *Pseudomonas aeruginosa* algr phosphorylation status differentially regulates pyocyanin and pyoverdine production. *mBio* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2023 May 3];9(1). Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.02318-17>
16. Kothari A, Kumar SK, Singh V, Kumar P, Kaushal K, Pandey A, et al. Association of multidrug resistance behavior of clinical *Pseudomonas aeruginosa* to pigment coloration. *Eur J Med Res* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2023 May 3];27(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35842687/>
17. Campodónico VL, Llosa NJ, Grout M, Döring G, Maira-Litrán T, Pier GB. Evaluation of flagella and flagellin of *Pseudomonas aeruginosa* as vaccines. *Infect Immun* [Internet]. 2010 Feb [cited 2023 May 3];78(2):746–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19995892/>
18. Ozer E, Yaniv K, Chetrit E, Boyarski A, Meijler MM, Berkovich R, et al. An inside look at a biofilm: *Pseudomonas aeruginosa* flagella biotracking. *Sci Adv*. 2021 Jun 1;7(24).
19. Gerald B Pier. *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide: a major virulence factor, initiator of inflammation and target for effective immunity. *Int J Med Microbiol* 2007 Sep;297(5):277-95 doi: 101016/j.ijmm200703012 Epub 2007 Apr 27.
20. Maldonado RF, Sá-Correia I, Valvano MA. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection. *FEMS Microbiol Rev* [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2023 May

- 3];40(4):480–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27075488/>
21. Knirel YA, Bystrova O V., Kocharova NA, Zähringer U, Pier GB. Review: Conserved and variable structural features in the lipopolysaccharide of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Endotoxin Res* [Internet]. 2006 Dec [cited 2023 May 3];12(6):324–36. Available from: https://www.researchgate.net/publication/6550274_Conserved_and_variable_structural_features_in_the_lipopolysaccharide_of_Pseudomonas_aeruginosa_J_Endotoxin_Res_12324-336_Corrigendum_in_Innate_Immun_16_274_2010
 22. Lam JS, Taylor VL, Islam ST, Hao Y, Kocíncová D. Genetic and functional diversity of *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide. *Front Microbiol*. 2011 Jun 1;2(JUNE):118.
 23. Thrane SW, Taylor VL, Lund O, Lam JS, Jelsbak L. Application of Whole-Genome Sequencing Data for O-Specific Antigen Analysis and In Silico Serotyping of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2023 May 3];54(7):1782–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27098958/>
 24. Nasrin S, Hegerle N, Sen S, Nkeze J, Sen S, Permala-Booth J, et al. Distribution of serotypes and antibiotic resistance of invasive *Pseudomonas aeruginosa* in a multi-country collection. *BMC Microbiol* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2023 May 3];22(1):1–12. Available from: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-021-02427-4>
 25. Wang C, Ye Q, Ding Y, Zhang J, Gu Q, Pang R, et al. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* Serogroup G Using Real-Time PCR for Novel Target Genes Identified Through Comparative Genomics. *Front Microbiol*. 2022 Jun 24;13.
 26. Díaz-Ríos C, Hernández M, Abad D, Álvarez-Montes L, Varsaki A, Iturbe D, et al. New Sequence Type ST3449 in Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from a Cystic Fibrosis Patient. *Antibiotics (Basel)* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2023 May 3];10(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33922748/>
 27. Cross AS. Anti-endotoxin vaccines: Back to the future. *Virulence*. 2014;5(1):219–25.
 28. Amarante-Mendes GP, Adjemian S, Branco LM, Zanetti LC, Weinlich R, Bortoluci KR. Pattern recognition receptors and the host cell death molecular machinery. *Front Immunol*. 2018 Oct 16;9(OCT):2379.
 29. Stephens M, von der Weid PY. Lipopolysaccharides modulate intestinal epithelial permeability and inflammation in a species-specific manner. *Gut Microbes* [Internet]. 2020 May 3 [cited 2023 May 3];11(3):421–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31203717/>
 30. Cecil JD, Sirisaengtaksin N, O’Brien-Simpson NM, Krachler AM. Outer Membrane Vesicle—Host Cell Interactions. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2019 Feb 8 [cited 2023 May 3];7(1). Available from:

/pmc/articles/PMC6352913/

31. Metruccio MME, Evans DJ, Gabriel MM, Kadurugamuwa JL, Fleiszig SMJ. *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane vesicles triggered by human mucosal fluid and lysozyme can prime host tissue surfaces for bacterial adhesion. *Front Microbiol*. 2016 Jun 3;7(JUN):871.
32. Wang S, Gao J, Wang Z. Outer membrane vesicles for vaccination and targeted drug delivery. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2018 Apr 26;11(2).
33. Jyot J, Balloy V, Jouvion G, Verma A, Touqui L, Huerre M, et al. Type II Secretion System of *Pseudomonas aeruginosa*: In Vivo Evidence of a Significant Role in Death Due to Lung Infection. *J Infect Dis* [Internet]. 2011 May 5 [cited 2023 May 3];203(10):1369. Available from: /pmc/articles/PMC3080898/
34. Horna G, Ruiz J. Type 3 secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Res* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2023 May 3];246. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33582609/>
35. Galle M, Carpentier I, Beyaert R. Structure and function of the Type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Protein Pept Sci* [Internet]. 2012 Jan 21 [cited 2023 May 3];13(8):831–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23305368/>
36. Juhas M. Type IV secretion systems and genomic islands-mediated horizontal gene transfer in *Pseudomonas* and *Haemophilus*. *Microbiol Res* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2023 May 3];170:10–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25183653/>
37. Meuskens I, Saragliadis A, Leo JC, Linke D. Type V secretion systems: An overview of passenger domain functions. *Front Microbiol*. 2019 May 31;10(MAY):1163.
38. Gallique M, Bouteiller M, Merieau A. The Type VI Secretion System: A Dynamic System for Bacterial Communication? *Front Microbiol* [Internet]. 2017 Jul 28 [cited 2023 May 3];8(JUL):1454. Available from: /pmc/articles/PMC5532429/
39. Ghafoor A, Hay ID, Rehm BHA. Role of exopolysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and architecture. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2011 Aug [cited 2023 May 3];77(15):5238–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21666010/>
40. Laarman AJ, Bardoel BW, Ruyken M, Fernie J, Milder FJ, van Strijp JAG, et al. *Pseudomonas aeruginosa* alkaline protease blocks complement activation via the classical and lectin pathways. *J Immunol* [Internet]. 2012 Jan 1 [cited 2023 May 3];188(1):386–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22131330/>
41. Everett MJ, Davies DT, Leiris S, Sprynski N, Llanos A, Castandet JM, et al. Chemical Optimization of Selective *Pseudomonas aeruginosa* LasB Elastase Inhibitors and Their Impact on LasB-Mediated Activation of IL-1 β in Cellular and Animal Infection Models. *ACS Infect Dis*

- [Internet]. 2023 Feb 10 [cited 2023 May 3];9(2):270–82. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsinfecdis.2c00418>
42. Sawa T, Shimizu M, Moriyama K, Wiener-Kronish JP. Association between *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion, antibiotic resistance, and clinical outcome: a review. *Crit Care* [Internet]. 2014 Dec 13 [cited 2023 May 3];6(18):1–12. Available from: https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.springer-doi-10_1186-S13054-014-0668-9
 43. Moradali MF, Ghods S, Rehm BHA. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017 Feb 15;7(FEB):39.
 44. Piewngam P, Chiou J, Chatterjee P, Otto M. Alternative approaches to treat bacterial infections: targeting quorum-sensing. *Expert Rev Anti Infect Ther* [Internet]. 2020 Apr 13 [cited 2023 May 3];18(6):499–510. Available from: <https://europepmc.org/article/med/32243194>
 45. Thi MTT, Wibowo D, Rehm BHA. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 Nov 2 [cited 2023 May 3];21(22):1–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33212950/>
 46. Yekani M, Memar MY, Alizadeh N, Safaei N, Ghotaslou R. Antibiotic Resistance Patterns of Biofilm-Forming *Pseudomonas Aeruginosa* Isolates from Mechanically Ventilated Patients. 2017;
 47. Kamali E, Jamali A, Ardebili A, Ezadi F, Mohebbi A. Evaluation of antimicrobial resistance, biofilm forming potential, and the presence of biofilm-related genes among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Res Notes* [Internet]. 2020 Jan 10 [cited 2023 May 3];13(1):1–6. Available from: <https://bmcrenotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13104-020-4890-z>
 48. Ghafoor A, Hay ID, Rehm BHA. Role of exopolysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and architecture. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2011 Aug [cited 2023 May 3];77(15):5238–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21666010/>
 49. Albasanz-Puig A, Gudiol C, Parody R, Tebe C, Akova M, Araos R, et al. Impact of antibiotic resistance on outcomes of neutropenic cancer patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia (IRONIC study): study protocol of a retrospective multicentre international study. *BMJ Open* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2023 May 3];9(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31129580/>
 50. Chiriac A, Brzezinski P, Foia L, Marincu I. Chloronychia: green nail syndrome caused by *Pseudomonas aeruginosa* in elderly persons. *Clin Interv Aging* [Internet]. 2015 Jan 14 [cited 2023 May 3];10:265–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25609938/>
 51. Willcox MDP. Management and treatment of contact lens-related *Pseudomonas* keratitis. *Clin Ophthalmol* [Internet]. 2012 Jun 16 [cited 2023 May 3];6(1):919. Available from:

/pmc/articles/PMC3392919/

52. Ferreiro JLL, Otero JÁ, González LG, Lamazares LN, Blanco AA, Sanjurjo JRB, et al. *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections in hospitalized patients: Mortality and prognostic factors. *PLoS One* [Internet]. 2017 May 1 [cited 2023 May 3];12(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28552972/>
53. Mittal R, Aggarwal S, Sharma S, Chhibber S, Harjai K. Urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*: a minireview. *J Infect Public Health* [Internet]. 2009 [cited 2023 May 3];2(3):101–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20701869/>
54. Cottalorda A, Leoz M, Dahyot S, Gravey F, Grand M, Froidure T, et al. Within-Host Microevolution of *Pseudomonas aeruginosa* Urinary Isolates: A Seven-Patient Longitudinal Genomic and Phenotypic Study. *Front Microbiol*. 2021 Jan 14;11.
55. Rahim K, Saleha S, Zhu X, Liang Huo &, Basit A, Luiz Franco O. Bacterial Contribution in Chronicity of Wounds.
56. Jockenhöfer F, Gollnick H, Herberger K, Isbary G, Renner R, Stücker M, et al. Bacteriological pathogen spectrum of chronic leg ulcers: Results of a multicenter trial in dermatologic wound care centers differentiated by regions. *JDDG - Journal of the German Society of Dermatology* [Internet]. 2013 [cited 2023 May 3];11(11):1057–63. Available from: https://www.researchgate.net/publication/255954626_Bacteriological_pathogen_spectrum_of_chronic_leg_ulcers_Results_of_a_multicenter_trial_in_dermatologic_wound_care_centers_differentiated_by_regions
57. Manning J. Sepsis in the Burn Patient. *Crit Care Nurs Clin North Am* [Internet]. 2018 Jun 28 [cited 2023 May 3];30(3):423–30. Available from: <https://europepmc.org/article/med/30098746>
58. Wu D, Wu C, Zhang S, Zhong Y. Risk Factors of Ventilator-Associated Pneumonia in Critically Ill Patients. *Front Pharmacol* [Internet]. 2019 [cited 2023 May 3];10(MAY). Available from: </pmc/articles/PMC6521332/>
59. Andrade FF, Silva D, Rodrigues A, Pina-Vaz C. Colistin Update on Its Mechanism of Action and Resistance, Present and Future Challenges. *Microorganisms* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2023 May 3];8(11):1–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33147701/>
60. Hancock REW. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1998 [cited 2023 May 3];27 Suppl 1(SUPPL.1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9710677/>
61. Bocharova Y, Savinova T, Shagin DA, Shelonkov AA, Mayanskiy NA, Chebotar I V. Inactivation of the *oprD* porin gene by a novel insertion sequence ISPa195 associated with large deletion in a

- carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *J Glob Antimicrob Resist* [Internet]. 2019 Jan 23 [cited 2023 May 3];17:309–11. Available from: <https://europepmc.org/article/med/30684654>
62. Carrara JB; A, Barroso CDN, Tuon FF, Faoro H, Lorusso AB, Carrara JA, et al. Role of Efflux Pumps on Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Molecular Sciences* 2022, Vol 23, Page 15779 [Internet]. 2022 Dec 13 [cited 2023 May 3];23(24):15779. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/24/15779/htm>
 63. Dreier J, Ruggerone P. Interaction of antibacterial compounds with RND efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol* [Internet]. 2015 [cited 2023 May 3];6(JUL):660. Available from: [/pmc/articles/PMC4495556/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26111111/)
 64. Zhao L, Wang S, Li X, He X, Jian L. Development of in vitro resistance to fluoroquinolones in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Resist Infect Control* [Internet]. 2020 Aug 5 [cited 2023 May 3];9(1):1–8. Available from: <https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-020-00793-8>
 65. Glen KA, Lamont IL. β -lactam Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Current Status, Future Prospects. *Pathogens* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2023 May 3];10(12). Available from: [/pmc/articles/PMC8706265/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35811111/)
 66. Bush K, Bradford PA. β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2023 May 3];6(8). Available from: [/pmc/articles/PMC4968164/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27111111/)
 67. Zeng X, Lin J. Beta-lactamase induction and cell wall metabolism in Gram-negative bacteria. *Front Microbiol* [Internet]. 2013 [cited 2023 May 3];4(MAY). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23734147/>
 68. Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2010 Mar [cited 2023 May 3];54(3):969. Available from: [/pmc/articles/PMC2825993/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20111111/)
 69. Sawa T, Kooguchi K, Moriyama K. Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *J Intensive Care* [Internet]. 2020 Jan 28 [cited 2023 May 3];8(1):1–13. Available from: <https://jintensivecare.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40560-020-0429-6>
 70. de Kraker MEA, Stewardson AJ, Harbarth S. Will 10 Million People Die a Year due to Antimicrobial Resistance by 2050? *PLoS Med* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2023 May 3];13(11):1002184. Available from: [/pmc/articles/PMC5127510/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27111111/)

71. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) Annual Epidemiological Report for 2020. 2020;
72. Yoon EJ, Jeong SH. Mobile Carbapenemase Genes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol* [Internet]. 2021 Feb 18 [cited 2023 May 4];12. Available from: [/pmc/articles/PMC7930500/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36769837/)
73. Haque M, Sartelli M, McKimm J, Bakar MA. Health care-associated infections - an overview. *Infect Drug Resist* [Internet]. 2018 [cited 2023 May 4];11:2321–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30532565/>
74. Reyes J, Komarow L, Chen L, Ge L, Hanson BM, Cober E, et al. Global epidemiology and clinical outcomes of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and associated carbapenemases (POP): a prospective cohort study. *Lancet Microbe* [Internet]. 2023 Mar 1 [cited 2023 May 4];4(3):e159–70. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S2666524722003299/fulltext>
75. Gupta R, Malik A, Rizvi M, Ahmed SM. Incidence of Multidrug-Resistant *Pseudomonas* Spp. in ICU Patients with Special Reference to ESBL, AMPC, MBL and Biofilm Production. *J Glob Infect Dis* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2023 May 4];8(1):25–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27013841/>
76. Lyu J, Chen H, Bao J, Liu S, Chen Y, Cui X, et al. Clinical Distribution and Drug Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in Guangzhou, China from 2017 to 2021. *J Clin Med* [Internet]. 2023 Feb 1 [cited 2023 May 4];12(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36769837/>
77. Healthcare-associated infections acquired in intensive care units Reporting on data retrieved from TESSy* on 22 May 2017 Key facts. [cited 2023 May 4]; Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/healthcare-associated-infections-acquired-intensive-care-units-annual>
78. Litwin A, Rojek S, Gozdzik W, Duszyńska W. *Pseudomonas aeruginosa* device associated – healthcare associated infections and its multidrug resistance at intensive care unit of University Hospital: polish, 8.5-year, prospective, single-centre study. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2023 May 4];21(1):1–8. Available from: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-021-05883-5>
79. Kula BE, Hudson D, Sligl WI. *Pseudomonas aeruginosa* infection in intensive care: Epidemiology, outcomes, and antimicrobial susceptibilities. *J Assoc Med Microbiol Infect Dis Can* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2023 May 4];5(3):130–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36341317/>
80. Valero A, Rodríguez-Gascón A, Isla A, Barrasa H, Del Barrio-Tofiño E, Oliver A, et al. *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility in Spain: Antimicrobial activity and resistance suppression

evaluation by pk/pd analysis. *Pharmaceutics* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2023 May 4];13(11). Available from: [/pmc/articles/PMC8620410/](#)

81. Claeyes KC, Zasowski EJ, Trinh TD, Lagnf AM, Davis SL, Rybak MJ. Antimicrobial Stewardship Opportunities in Critically Ill Patients with Gram-Negative Lower Respiratory Tract Infections: A Multicenter Cross-Sectional Analysis. *Infect Dis Ther* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2023 May 4];7(1):135–46. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29164489/>



LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS

BIOETIKOS CENTRAS

Kodas 302536989, Tilžės g. 18, LT-47181, Kaunas, tel.: (8 37) 327233, www.lsmuni.lt, el.p.: bec.registracija@lsmuni.lt

Medicinos akademija (MA)
Magistrantūros studijų programa –
Laboratorinės medicinos biologija
I k. magistrantei Gretai Mikučionytei
Darbo vadovė prof. Astra Vitkauskienė
LSMUL KK Laboratorinės medicinos
klinika

1022.06.29 Nr. BEC-LMB(M)-510

DĖL PRITARIMO TYRIMUI

LSMU Bioetikos centras, įvertinęs Gretos Mikučionytės pateiktus dokumentus, magistrantės tiriamajam darbui tema „*Pseudomonas aeruginosa* atsparumas antibiotikams, priklausomai nuo infekcijos židinio ir paciento rizikos veiksnių“ pritaria*.



dr. Eimantas Pečiūnas

* Pastaba: šis pritarimas neatleidžia tiriamąjį mokslinį darbą vykdančių asmenų nuo prievolės laikytis Bendrojo duomenų apsaugos reglamento nuostatų ir nuo atsakomybės gauti nacionalinio arba regioninio bioetikos komiteto leidimą, jei toks leidimas būtinas pagal LR Biomedicininį tyrimų etikos įstatyme numatytus reikalavimus.