

UNIVERSITETI I MJEKËSISË, TIRANË

REPUBLIKA E SHQIPËRISË
UNIVERSITETI I MJEKËSISË TIRANË
FAKULTETI I SHKENCAVE MJEKËSORE TEKNIKE

DISERTACION
PËR MBROTJEN E GRADËS SHKENCORE
“DOKTOR”

i paraqitur nga
Znj. BLERTA BRATI

PËR MARRJEN E GRADËS SHKENCORE
“DOKTOR”

Specialiteti: Mikrobiologji

TEMA: PREVALENCA E GRUPEVE TË NDRYSHME TË
***STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SIPAS SPECIFICITETIT AGR**
NDËRMJET SHTAMAVE TË IZOLUARA NGA MOSTRA TË
NDRYSHME KLINIKE

Disertanti
BLERTA BRATI

Udheheqës Shkencor:
Prof. Dr: ANDI KORAQI

Tiranë 2020



UNIVERSITETI I MJEKËSISË, TIRANË

REPUBLIKA E SHQIPËRISË
UNIVERSITETI I MJEKËSISË TIRANË
FAKULTETI I SHKENCAVE MJEKËSORE TEKNIKE

DISERTACION

I PARAQITUR NGA

Znj. BLERTA BRATI

PËR MARRJEN E GRADËS SHKENCORE

DOKTOR

Specialiteti: Mikrobiologji

**TEMA: PREVALENCA E GRUPEVE TË NDRYSHME TË
STAPHYLOCOCCUS AUREUS SIPAS SPECIFICITETIT AGR
NDËRMJET SHTAMAVE TË IZOLUARA NGA MOSTRA TË
NDRYSHME KLINIKE**

PASQYRA E LËNDËS	FAQE
Lista e Tabelave	iv
Lista e Figurave	v
Lista Grafikëve	vii
Lista e shkurtimeve	viii
Falenderimet	x
Deklaratë autenticiteti	xi
Abstrakti në Shqip	xii
Abstrakti në Anglisht	xiii
Parathënie	xiv
Qëllimi dhe Objektivat e studimit	xvi
Kapitulli I	1
1. Pjesa Teorike	1
1.1 Kolonizimi bakterial nga një prespektivë mikrobiologjike dhe epidemiologjike	1
1.2 Stafilokoku	3
1.2.1 Karakteristikat e përgjithshme dhe klasifikimi	3
1.3 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	4
1.4 Specifiteti dhe gama e bujtësve	7
1.5 Rëndësia klinike e <i>S. aureus</i>	8
1.5.1 Manifestimet klinike të <i>S. aureus</i> dhe çfarë ajo shkakton	10
1.6 Mënyrat e transmetimit	11
1.7 Epidemiologjia e <i>S. aureus</i>	13
1.8 Përmbajtja gjenomike e <i>S. aureus</i>	16

Kapitulli II	17
2. Pjesa Teorike	17
2.1 Grupet <i>agr</i> të <i>Staphylococcus aureus</i>	17
2.2 Sistemi regullator i gjeneve accessory	17
2.3 Lokusi <i>agr</i>	21
2.4 Sinjali i vetë-induktimit të peptideve	22
2.5 Interferenca e <i>agr</i>	23
2.6 Biosinteza e AIP	23
2.7 AgrD	24
2.8 AgrB	27
2.9 Mekanizmi i zhvillimit	29
2.10 Zhvillimi specifik i tipit	32
2.11 Ndjeshmëria e AIP-së	33
2.12 AgrC	33
2.13 AgrA	34
2.14 ARN III	35
2.15 Roli i <i>agr</i> në patogjenezë	36
Kapitulli III	37
3. Materiali dhe Metodat	37
3. 1 Materiali	37
3.1.1 Zona e studimit	37
3.1.2 Izolimi bakterial	38
3.1.3 Kultura për ekzaminimin e <i>S. aureus</i>	39

3.1.4 Identifikimi i <i>S. aureus</i> në kulturë	39
3.1.5 Përcaktimi i ndjeshmërisë së <i>S. aureus</i> ndaj antibiotikëve	50
3.1.6 Provat e diskut të difuzionit	51
3.1.7 Screening i MRSA	54
3.1.8 Protokoli i tipizimit të <i>agr</i>	57
Kapitulli IV	60
4.Rezultatet	60
4.1 Prevalenca dhe situata epidemiologjike e <i>Staphylococcus aureus</i> dhe MRSA	60
4.2 Prevalenca e <i>agr</i> system	73
Kapitulli V	80
5. Diskutime	80
5.1 <i>S. aureus</i> dhe MRSA	80
5.2 Prevalenca dhe të dhënat epidemiologjike të <i>agr</i> grup	86
PËRFUNDIME	90
REKOMANDIME	94
REFERENCA	96

LISTA E TABELAVE	FAQE
Tabela 1.1 Klasifikimi taksonomik i <i>S. aureus</i>	4
Tabela 2.1 Gjenet rregullatore të <i>agr</i>	20
Tabela 3.1 Karakteristikat dalluese të <i>S. aureus</i>	40
Tabela 3.2 Antibiotikët e përdurur për ndjeshmërinë e <i>S. aureus</i> bazuar në EUCAST	53
Tabela 3.3 Primer PCR për polimorfizmin e <i>agr</i>	59
Tabela 4.1.1 Shpërndarja e rasteve të analizuar për prani të bakterit <i>S. aureus</i> dhe MRSA pozitive	60
Tabela 4.1.2 Burimi i marrjes së mostrës	61
Tabela 4.1.3 Shpërndarja e rasteve sipas ndarjes gjinore femra/meshkuj	62
Tabela 4.1.4 Shpërndarja e rasteve dhe MRSA pozitiv sipas grupmoshave	63
Tabela 4.1.5 Shpërndarja e numrit të rasteve me <i>S. aureus</i> dhe MRSA pozitiv sipas llojit të mostrës së analizuar	65
Tabela 4.1.6 Vendi i marrjes së mostrave	67
Tabela 4.1.7 Të dhënat demografike të pacientëve MRSA positive	70
Tabela 4.1.8 Llojet e antibiotikëve të përdorur. Sensibiliteti dhe rezistenca e tyre	71
Tabela 4.2.1 Shpërndarja e grupeve <i>agr</i> sipas ndarjes gjinore	74
Tabela 4.2.2 Numri i rasteve me MRSA pozitiv dhe shpërndarja e grupeve <i>agr</i> sipas ndarjes së grup-moshave	75
Tabela 4.2.3. Shpërndarja e grupeve <i>agr</i> sipas shërbimeve	76
Tabela 4.2.4 Shpërndarja e grupeve <i>agr</i> sipas llojit të mostrave	78

LISTA E FIGURAVE	FAQE
Figura 1. 1 Ndërveprimet ndërmjet bujtësit-mikrobit-mjedisit	2
Figura 1.2 Stafilokok (1000X) në klaster	3
Figura 1.3 a) <i>S. aureus</i> në pjatë agar gjak	
b) Ngjyrimi i Gramit në mostër pozitive me <i>S. aureus</i> në gjak	5
Figura 1.4 a) Shpjegimi i emrit MRSA dhe	
b) Evolucionit të rezistencës së antibiotikëve në <i>S. aureus</i>	9
Figura 1.5 Manifestimet klinike të <i>S. aureus</i>	11
Figura 1.6 Rrugët e transmetimit të <i>S. aureus</i>	12
Figura 1.6 Sistemi i Survejancës Europiane të Antibiotiko-Rezistencës	15
Figura 2.1 Ilustrim hipotetik i historisë së evolucionit të <i>S. aureus</i>	18
Figura 2.2 Paraqitje skematike e sistemit agr të <i>S. aureus</i>	19
Figura 2.3 Molekulat AIP të prodhuara nga specie të ndryshme	25
Figura 2. 4 Shtrirja e sekuenca të AgrD	26
Figura 2.5 Harta topologjike e AgrB	28
Figura 2.6 Modeli i rrugës biosintetike të AIP-së	31
Figura 3.1 Pamje të kolonive <i>S. aureus</i> në laborator në terren agar gjak	41
Figura 3.2 a)Metoda e katalazës në provëz b)Metoda e katalazës në lamë	43
Figura 3.3 Kultura të <i>S. aureus</i> në fermentimin e manitit	44
Figura 3.4 Testi i Koagulazës	46
Figura 3.5 Testi koagulazës në Lamë	46
Figura 3.6 Flowchart i procedurave të provës së oksidazës	48
Figura 3.7 Pamje të oksidazës negative dhe pozitive me anë të: a) Letrën e filtrit të lagur;	

b) Metoda direkte e pjtës; c) Metoda e tamponit; d) Metoda ne tub	49
Figura 3.8 Pamje të Sistemit VITEK 2	51
Figura 3.9 Imazhe të ndjeshmërisë së disqeve	52
Figura 3.10 Kit MRSA-Screen Slide latex agglutination	54
Figura 4.2.1 Pamje e bandave të grupeve agr me elektroforezë	79

LISTA E GRAFIKËVE	FAQE
Grafiku 4.1.1 Prevalenca për <i>S. aureus</i> dhe MRSA	60
Grafiku 4.1.2 Shpërndarja e rasteve me <i>S. aureus</i> dhe pozitiviteti i MRSA për pacientët e hospitalizuar dhe jo të hospitalizuar	61
Grafiku 4.1.3 Prevalenca e MRSA sipas ndarjes gjinore femra/meshkuj	62
Grafiku 4.1.4 Prevalenca e MRSA sipas grupmoshave	64
Grafiku 4.1.5 Numri total i rasteve dhe pozitiviteti për <i>S. aureus</i> sipas llojit të mostrës	66
Grafiku 4.1.6 Pozitiviteti i <i>S. aureus</i> dhe MRSA sipas secilit shërbim	68
Grafiku 4.1.7 Sensitiviteti dhe rezistenca e rasteve MRSA	72
Grafiku 4.2.1. Shpërndarja e grupeve agr	73
Grafiku 4.2.2 Shpërndarja e grupeve agr sipas gjinisë	74
Grafiku 4.2.3 Shpërndarja e grupeve agr sipas grupmoshave të studimit	75
Grafiku 4.2.4 Prevalenca e grupeve agr sipas shërbimeve	77
Grafiku 4.2.5 Përqindjet e agr bazuar në mostrat patogjenike	79

LISTA E SHKURTIMEVE

MO	Mikroorganizmat
CoPS	Stafilokok koagulazë pozitive (CoPS, coagulase-positive staphylococci)
CoNS	Stafilokokët koagulazë negative (CoNS, coagulase-negative staphylococci)
MRSA	Meticilin Rezistente e <i>S. aureus</i>
MSSA	Meticilin ndjeshmëri e <i>S. aureus</i> (Methicillin-susceptible <i>S. aureus</i>)
P2	Promotori 2
<i>Agr</i>	Sistem kuorum të ndjeshmërisë
AIP	Të kuptuarit e vetënxitjes së peptideve Autoinducing peptide
ARN II	Acidi ribonukleik II
ARN III	Acidi ribonukleik II
ADN	Acidi deoksiribonukleik
Rot	Represor i toksinave, regulator transkriptimi
(Psm)	Phenol soluble modulins
RBS	Zona ngjitëse e ribosomeve
m-ARN	ARN mesenzhere
<i>agr</i>	Sistemi i gjeneve rregullatore
AIP	Autoinducing peptide
BME	Beta-mercaptoethanol
C-terminus	Carboxy-terminus
CA-MRSA	Community-acquired methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
EMSA	Electrophoresis mobility shift assay
GFP	Green fluorescent protein

His6	Histidine-6
HRP	Horseradish peroxidase
IPTG	Isopropyl beta-D-thiogalactopyranoside
Lys	Lysis
MPB	N α -(3-maleimidylpropionyl) biocytin
N-terminus	Amino-fundor
PCR	Reaksioni zinxhir i polimerazës (Polymerase chain reaction)
RBS	Zona ngjitëse e ribozimit (Ribosome binding site)

FALENDERIMET

Unë do të doja të falenderoja udhëheqësin tim, Z. Andi Koragi, Profesor në "Universitetin e Mjekësisë" Tiranë, i cili më dha idenë e kësaj pune, me mbikëqyri gjatë gjithë kësaj teze dhe u dha mendimet dhe idetë e tij të shkëlqyera me mua.

Faleminderit Dr. Andi për mirësinë tuaj, disponueshmërinë tënde të përhershme dhe për inkurajimet e shumta që më ke bërë.

Kjo tezë është rezultat i një pune të gjatë, më shumë se pesë vjeçare, e cila u mbështet gjithashtu nga koleqet e mija në Institutin e Shëndetit Publik, të cilat gjej rastin t'i falenderoj me zemer.

Faleminderit Dr. Erjona, Dr. Olta, Dr. Ela, Dr. Shpëtimi, Dr. Adela për mbështetjen dhe inkurajimin e treguar.

Një falenderim të veçantë kam, për Dr. Agim Shehin, përvoja e të cilit ishte e uyer për mua. Zetësia, durimi, eksperiencia e tij ishte gjithmonë e gatshme t'i përgjigjej pyetjeve të mija.

Faleminderit Doktor!

Një falenderim i veçantë shkon për Dr. Ramadan Jashari, (Drejtori Mjekësor, Banka Evropiane e Homografitit (EAB), Kirurg kardiak, Klinika St. Jean, Bruksel, Belgjikë).

Faleminderit Dr. Ramadani për ndihmën dhe idetë e dhëna.

Dhe në fund falenderim me zemer për familjen time. Bashkëshorti im Geron dhe dy vajzat tona Ajui dhe Lea, genë mbështetja ime më e madhe shpirtërore. Ju dua shumë!

Dhe falenderimi më special shkon për dy prindërit e mi të mrekullueshëm, Bardhyli dhe Eugjëllushja, edukata, mirërritja, kujdesi dhe mbështetja e tyre më kanë bërë të jem këtu që jam sot.

Faleminderit me zemer të gjithëve!

DEKLARATË AUTENTICITETI

Unë Blerta Brati, përmes deklaratës së autorësisë deklaroj se rastet e marra në studim dhe ky punim doktorature është punë origjinale e imja. Ky punim nuk është botuar apo prezantuar asnjëherë më parë, përpara një institucioni tjetër për vlerësim. Punimi nuk përmban material të shkruar nga ndonjë person tjetër, përveç rasteve të cituara apo të referuara.

Emri mbiemri: Blerta Brati

ABSTRAKT

Staphylococcus aureus, është anëtar i familjes Micrococcaceae. Ky bakter shpesh është një patogjen oportunist i zakonshëm human, por në disa rrethana, këto baktere mund të shkaktojnë infeksione më serioze në një gamë të gjerë që prekin lëkurën sipërfaqësore dhe indet e buta, si dhe infeksione invazive duke përfshirë pneumoni, infeksione të qarkullimit të gjakut, infeksione të kockave dhe nyjeve. *Staphylococcus aureus* rezistent ndaj metilicilinës (MRSA) Shkakton një gamë të gjerë sëmundjesh serioze tek njerëzit, por rregullatori i faktorëve virulentë në *S. aureus* orkestronhet nga sistemi i kuorumit të aksesorëve rregullator të gjeneve (agr). Objektivi i këtij studimi ishte të hetojë prevalencën e *S. aureus*, MRSA dhe frekuencën e gjeneve virulencë midis mostrave klinike të analizuar në Qendrën Spitalore “Nënë Tereza” në Tiranë.

Metoda

Për një periudhë 4 vjeçare janë analizuar në laboratorin e Mikrobiologjisë në QSUT 3859 mostra suspekt për *S. aureus*. Moshë minimale rezultoi 11 vjeç dhe ajo maksimale 83 vjeç me mesatë të moshës 54 ± 29 . Për të izoluar dhe identifikuar *S. aureus* janë përdorur testet standarte si testet e katalazës, koagulazës dhe rritja në mannitol salt agar. Për të zbuluar MRSA në mostrat e izoluar u përdor testi i aglutinimit latex për zbulimin e shpejtë të PBP2 dhe testin e ekranit të diskut cefoxitin. Metoda molekulare e PCR u përdor për të zbuluar përmbajtjen e gjeneve (grupet agr) në 158 izolime të mostrave klinike me anë të katër primer specifik për amplifikim për secilin grup të agr (agrI-IV).

Rezultatet

Mostrat janë marrë nga gjaku, urina, pështyma, tamponat e fytyrës, sputumit, hundës, plaga, abscesi, qelb/eksudatet, mostra nga lëkura dhe indet e buta dhe pajisjet mjekësore. Prevalenca e *S. aureus* rezultoi 11.2% ndërsa prevalenca e MRSA rezultoi 36.6% (158/432) raste. Nga izolimet e MRSA të identifikuar në këtë studim 36 (24%) ishin të ndjeshëm ndaj antibiotikëve 10 (7%) demonstuan rezistencë të ndërmjetme dhe 9 (6%) ishin rezistent ndaj shumë ilaçeve me rezistencë ndaj disa klasave të antibiotikëve. Përsa i përket grupeve agr më i izoluar i mostrave tona rezultoi agr I me 45%. agr II rezultoi në 28% të mostrave, agr III në 10%, dhe agr IV në 19%.

Përfundimi

Ky është studimi i parë i kryer në Shqipëri për prevalencën e grupeve agr midis llojeve të *S. aureus*. Shumica e izolimeve të *S. aureus* në këtë studim u klasifikuan si grupi agr I. Rezultatet e marra nuk na lejojnë të krijojmë një lidhje të drejtpërdrejtë midis grupit agr dhe disa prej faktorëve të infeksionit të *S. aureus*. Për të qenë më efektiv për kontrollin e infeksionit duhet të bëhen studime të thelluara në të ardhmen në mënyrë që të kuptohen marrëdhëniet e agr me faktorët e rrishtit.

Key words: *S. aureus*, MRSA, agr groups, patients

ABSTRACT

Introduction

Staphylococcus aureus, a member of the family Micrococcaceae. Often, he is a common human opportunistic pathogen, but, in some circumstances, this bacterium can cause more serious infections in a wide range which affecting the superficial skin and soft tissue as well as invasive infections including pneumonia, bloodstream infections, bone, and joint infections. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a major pathogen that causes a broad range of serious diseases in humans, but the regulator of virulence factors in *S. aureus* is orchestrated by accessory gene regulator (*agr*) quorum sensing system. The objective of this study was to investigate the prevalence of the *S. aureus*, MRSA and frequency of virulence genes among clinical samples hospitalized in tertiary hospital centre in Tirana, Albania.

Methods

About 3859 clinical suspected specimens were analyzed in laboratory of Microbiology in Hospital Centre “Mother Theresa” during four years. The min age of patients were 11 years and the max 83 years old and average 54±29. To detect the presence of *S. aureus* in samples we are used standard tests like catalase, coagulase and growth in mannitol salt agar. To detect MRSA in isolate samples, we have used a slide latex agglutination kit for the rapid detection of PBP2 and the cefoxitin disk screen test. PCR assays were used to detect gene's content (*agr* groups) in 158 clinical samples isolates. Four reverse primers specific for amplification were used for each single *agr* group (*agrI-IV*).

Results

All the samples are collected from blood, urine, sputum, throat swab, wound, abscess, pus/exudates, skin and soft tissue swab, and indwelling medical devices. The prevalence of *S. aureus* resulted 11.2% and MRSA prevalence was 36.6% (158/432) cases. Of the MRSA isolates identified in this study 36 (24%) were susceptible to antibiotics 10 (7%) demonstrated intermediate resistance and 9 (6%) were multi-drug resistant with resistance some six classes of antibiotics. *agr I* was the most isolates of our samples 45%. *agr II* resulted in 28% of samples, *agr III* in 10%, and *agr IV* in 19%.

Conclusion

This is the first study conducted in Albania about the evaluation of *agr* group's prevalence among *S. aureus* samples. In this study, the most predominant *agr* group among isolates of *S. aureus* is *agr* group I. The results obtained in our study do not allow us to establish a direct association between the *agr* group and some of the epidemiological factors of *S. aureus* infection. So future surveillance studies needed in order to understand distribution and relationship of *agr* in the way to be more effective for infection control.

Key words: *S. aureus*, MRSA, *agr* groups, patients

PARATHËNIE

Njerëzit gjithmonë e më tepër janë të rrethuar nga mikroorganizma dhe përballen me sëmundje të ndryshme që ata shkaktojnë.

Në varësi të problemeve që shkaktojnë në organizmat e gjallë ato ndahen në organizma: të padëmshëm, të dobishëm, të dëmshëm dhe të rrezikshëm.

Në kategorinë “mikroorganizma të rrezikshme” përfshihen organizmat që shkaktojnë sëmundshmëri dhe vdekshmëri në njerëz, madje edhe në ato me një sistem imunitar të fortë.

Një impakt të madh në shëndetin publik, të shoqëruar me një kosto të lartë ekonomike, janë edhe mikroorganizmat patogjenë të gjinisë *Staphylococci*. Specia kryesore e kësaj gjinie është *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* është një patogjen mjaft i vështirë dhe ka aftësi për të shkaktuar një gamë të gjerë të infeksionit. Këto mund të shkojnë nga infeksione jo-invazive, në lëkurë dhe indet e buta deri në ato aggressive apo desktruktive (1).

Për shkak të natyrës së tij specifike tek shumëkush nga ne lindin dyshime dhe pyetje të ndryshme lidhur mbi këtë bakter p.sh,

- Pse disa njerëz janë bartës të *Staphylococcus aureus*, ndërsa të tjerët nuk janë?
- A është patogjeneza e *S. aureus* vetëm një incident, apo është një performancë e mirë-rrregulluar e cila mund të na tregojë shkathtësinë e këtij bakteri mjaft të zakonshëm?

Po si arrijn *S. aureus* të ketë këtë jetë të dyfishtë komensale dhe patogjene? Për të balancuar jetesën e dyfishtë komensale dhe patogjene *S. aureus* duhet të rregullojë me mjaft kujdes shprehjen e gjeneve përgjegjëse për patogjenitetin. Kjo saktësi arrihet përmes reagimit të koordinuar të sistemeve të shumta rregullatore. Nga këto, ai me ndikimin më të madh në shprehjen e virulencës gjenit është sistemi rregullator i gjenit accessory (AGR) (sistemi i kuorumi të ndjesisë).

Dekadat e fundit janë bërë shumë studime lidhur mbi natyrën dhe efektet që ky bakter ka në popullatë, rezistencën që shfaq ndaj antibiotikëve si dhe virulencën e tij, por edhe pas gjithë këtyre viteve të hulumtimeve, nuk e dihet me siguri përgjigjja e saktë e këtyre pyetjeve.

Për këtë arsye lind nevoja e studimit dhe njohjes së njohurive të reja në mënyrë që të jepet një përgjigje e saktë lidhur kolonizimin dhe infektimin e *S. aureus* (2).

Në ditët e sotme, trajtimi i infeksioneve të shkaktuara nga bakteri *S. aureus* mund të jetë i vështirë dhe madje në shumë raste, ky trajtim mund të rezultojë në një dështim të plotë. Disa faktorë mund të ndikojnë në ecurinë e këtij infeksioni si p.sh, mosha, gjinia, hormonet, dieta, higjena, profesioni, kushtet e jetesës etj. Gjithashtu një faktor kyç është dhe fakti që ky bakter shfaq një nivel të lartë të antibiotiko-rezistencës. Duke marrë informacion mbi kolonizimet e *S. aureus* dhe ndërveprimet që ai krijon me bujtësit e vet, mund të jemi të aftë të sigurojmë mënyra të reja trajtimi gjë që mund të çonte në arritjen e një përfundimi më të mirë si pasojë e një ndërhyrje dhe trajtimi të synuar (2). Edhe pse mund të hasim në të tilla vështirësi në praktikën klinike dhe jo vetëm, është me shumë rëndësi mënyra për të parandaluar infeksionet dhe rrugët e marrjes së tyre. Është me lehtë të parandalosh sesa të luftosh. Për natyrën kaq specifike të *S. aureus* ne ndërmorrëm këtë studim.

QËLLIMI DHE OBJEKTIVAT E STUDIMIT

QËLLIMI I STUDIMIT

Ky studim është ndërmarrë bazuar në qëllimet e mëposhtme:

1. Të përshkruaj, në mënyrë prospektive, epidemiologjinë e *Stafilococcus aureus* dhe MRSA në pacientët e hospitalizuar pranë Qendres Spitalore Universitare “Nënë Tereza”, Tiranë, për periudhën Janar 2012 –Dhjetor 2016.
2. Të përcaktojë në pacientët e hospitalizuar antibiotikët të cilët shfaqin rezistencë ndaj infeksionit të shkaktuar nga *S. aureus*.
3. Të përcaktojë frekuencën e tipeve të Sistemit regullator të gjeneve accessory (AGR) në këtë popullatë popullatë.
4. Të ekzaminojë ndikimin e rregullatorit të virulencës në prezantimin e sëmundjes, për të karakterizuar dhe vlerësuar faktorët e rrishtit në mënyrë që të karakterizojë paraqitjen klinike të *S. aureus*.

Objektivat e studimit janë:

1. Konfirmimi i izolimeve klinike të *Staphylococcus aureus* të marra nga pacientët e hospitalizuar në pavionet e QSUT.
2. Përcaktimi i prevalencës së *Staphylococcus aureus* rezistent ndaj metilicilinës (MRSA) në pacientët e suspektuar.
3. Të përcaktojë llojet e antibiotikëve me rezistence të lartë të *Staphylococcus aureus* në studimin tonë.
4. Karakterizimi molekular i grupe virulente agr të *Staphylococcus aureus* nga izolatet e selektuara të MRSA me anë të teknikës së amplifikimit me PCR.

KAPITULLI I

1. PJESA TEORIKE

1.1 Kolonizimi Bakterial nga një prespektivë mikrobiologjike dhe epidemiologjike

Njerëzit gjithmonë e më tepër janë të rrethuar nga mikroorganizma (mo) të ndryshëm si viruset, bakteret, kërpudhat dhe parazitët. Në varësi të problemeve që shkaktojnë në organizmat e gjallë ne mund ti ndajmë këto organizma në katër kategori kryesore të cilat janë: 1) mo të padëmshëm, 2) të dobishëm, 3) të dëmshëm dhe 4) të rrezikshëm. Shumicën e kohës, mo nuk janë të dëmshëm dhe për këtë arsye ato referohen si jo-patogjene. Mo e specifikuar si të padëmshëm nuk shkaktojnë asnjë dëm në organizmat e tjerë, por ndërkohë ato nuk ofrojnë asnjë lloj përfitimi nga ana e tyre (1).

Mo e dobishëm arrijnë të sigurojnë një avantazh mjaft të rëndësishëm për njerëzit duke i ndihmuar ata gjatë tretjes së produkteve ushqimore ose bëjnë të mundur parandalimin e mikroorganizmave patogjene të shkaktojnë infeksion nëpërmjet rezistencës së kolonizimit. Duke kolonizuar traktin respirator dhe/ose atë gastro-intestinal, këto organizma parandalojnë mo patogjene për tu pozicionuar dhe për të shkaktuar probleme shëndetësore.

Në raste të caktuara, mikroorganizmat patogjene tek bujtësit e tyre shkaktojnë dëme, ndërsa, mikrobet që bëjnë pjesë në kategorinë “të rrezikshme” përfshijnë organizmat që shkaktojnë sëmundshmëri dhe vdekshmëri në njerëz madje edhe në ato me një sistem imunitar të paprekur më parë (3).

Një impakt të madh në shëndetin publik të shoqëruar dhe më një barrë të lartë ekonomike janë dhe organizmat patogjenë të gjinisë *Staphylococci*. Specia kryesore e kësaj gjinie është *Staphylococcus aureus*. Kjo specie patogjene oportuniste vend kryesor të shumimit të saj ka pjesën anterior nazale (4-10). Edhe pse në shumicën e kohës kolonizimi i këtij organizmi mund të jetë i padëmshëm, studime të ndryshme kanë treguar që ky bakter shërben për transmetimin horizontal të infeksionit në nivel popullate, gjë e cila rrit më tepër nga ana e saj rrezikun e infeksioneve endogjene (8, 11-23). Për këtë arsye ky bakter shpesh klasifikohet si një organizëm potencialisht i dëmshëm.

Shpesh herë ky organizëm klasifikohet dhe si "*I dobishëm*" pasi në rastet kur është i pranishëm tek një person bën të mundur parandalimin e shkaktarëve të tjerë të cilët duan të kolonizojnë hundën dhe zonat nasofaringeale, një fenomen i ashtuquajtur si ndërhyrje **bakteriale**, e cila përmendet edhe si ndërveprim midis llojeve të ndryshme të baktereve (24-27).

Disa prej faktorëve të cilët mund të përfshihen në statusin e kolonizimit të një individi janë:

1. Faktorët e bujtësisë të tillë si mosha, gjinia, hormonet, sistemi imunitar, dieta, higjena, veshjet, profesioni, kushtet e jetesës dhe struktura gjenetike.
2. Patogjenët duke përdorur truket e tyre arrijnë të strehohem poshtë hundës dhe kavitetin nazo-faringeal dhe ndërveprimet e tyre me njëri-tjetrin luajnë një rol në krijimin e florës bakteriale.
3. Faktorët mjedisorë luajnë një rol të rëndësishëm në përthitjen dhe transportin e mikroorganizmave bakteriale kjo dhe si pasojë e ndryshimeve klimaterike në dekadën e fundit.

Për këtë arsye është mjaft e rëndësishme të studjohen kolonizimet bakteriale në individë të ndryshëm brenda një popullate.



Figure 1. 1 Ndërveprimet ndërmjet bujtësisë-mikrobit-mjedisit

Ndërveprimi i propozuar për faktorët e riskut gjatë kolonizimit ndërmjet mo, bujtësisë dhe mjedisit që përfshihen në dhe infeksionit me *S. aureus* (28)

1.3 STAFILOKOKU

1.2.1 Karakteristikat e përgjithshme dhe klasifikimi

Stafilokokët janë bakterie Gram-pozitive me një diametër 0.8-1 mm, në formë sferike, jo të lëvizshme dhe që nuk formojnë spore. Ato rriten në çifte ose klastera të ngjashme më verigen e rrushit (figura 1.2). Koket në kulturat likide mund të gjenden gjithashtu, të vetme, të bashkuara në formë tetradi ose si zinxhirë.

Stafilokokët tek individë të ndryshëm shpesh shkaktojnë probleme madhore si: vatra me qelbëzim, formim të abscesëve, infeksion pyogjenik, osteomielit, septikemi, sindrom të shokut toksik (SST) si dhe helmime me ushqimet.

Stafilokokët paraqesin një përmbajtje të ulët të guaninë-citozinës. Këto organizma janë mezofile me një temperaturë optimale të rritjes 35-37°C, aerobe ose anaerobe fakultative. Ato paraqesin dhe një frymëmarrje dhe metabolizëm fermentativ.

Gjinia *Staphylococcus* i përket familjes *Staphylococcaceae* e cila përfshin 47 specie dhe 24 subspecie (1, 29).

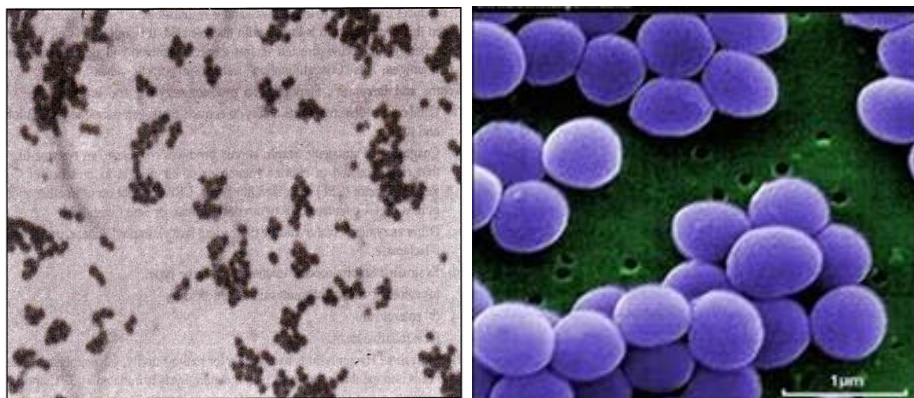


Figura 1.2 Stafilokok (1000X) në klaster Text&Photo CDC, Public Health Image Library (PHIL)

Stafilokokët ndahen në dy grupe të mëdha në varësi të aftësisë së tyre për të koagulluar serumin citrat, ku enzima koagulazë është më e rëndësishme. Speciet Stafilokok që prodhojnë këtë enzimë janë quajtur Stafilokok koagulazë pozitive (CoPS, coagulase-positive staphylococci) në të cilën bëjnë pjesë *S. aureus*; *S. pseudintermedius*; *S. intermedius*; *S. delphini*; *S. schleiferi* dhe subspeciet koagulazë *S. hyicus* dhe *S. lutrae*.

Pjesa tjetër e specieve të kësaj gjinie bëjnë pjesë në Stafilokokët koagulazë negative (CoNS, coagulase-negative staphylococci). Një pjesë e madhe e specieve të CoNS në varësi të bujtësit të tyre shpesh herë referohen si organizma komensal, megjithëse këto specie janë parë të janë shkaku më i zakonshëm i bakteremisë në lidhje me pajisjet invasive si dhe me sëmundje të tjera nozokomiale.

1.3 *Staphylococcus aureus*

S. aureus është një organizëm Gram pozitiv dhe anaerob fakultativ. Ky emër i referohet formës morfologjike të rumbullakët që ky organizëm ka (coccus: κόκκος) si dhe formimit të grupimeve si klastera në fromë rrushi (staphyle: σταφυλή) (tabela 1.1).

Këto organizma mund të shikohen me ndihmën e një mikroskopi dhe kolonitë e shndritshme (golden colonies) të formuara e kanë prejardhjen nga fjala Greke *aureus* që do të thotë flori. Këto organizma rriten në terrene të ngurta (30, 31) (figura 1.3).

Tabela 1.1 Klasifikimi Taksonomik *S. aureus*

Klasifikimi Taksonomik i <i>S. aureus</i>	
Domeni	Bacteria
Filumi	Firmicutes
Klasa	Bacilli
Rendi	Bacillales
Familia	Staphylococcaceae
Gjinia	Staphylococcus
Specia	<i>S. aureus</i> (29-31)

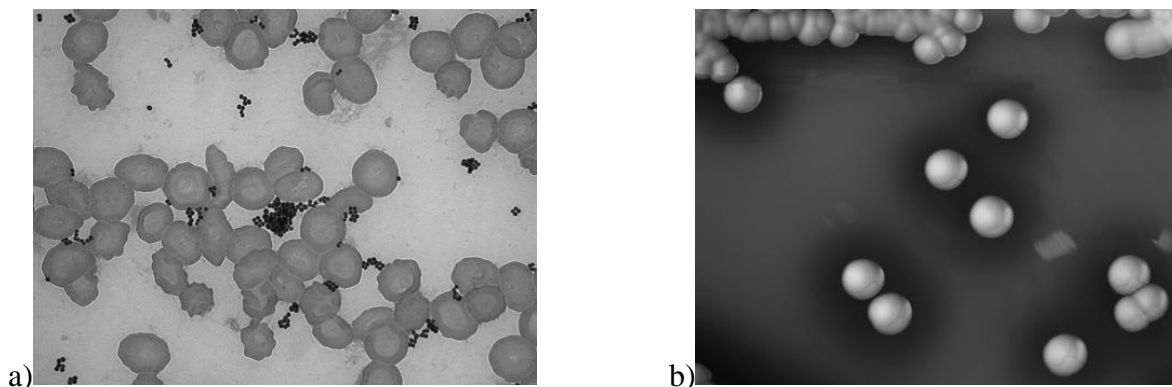


Figura 1.3 a) *S. aureus* në pjatë agar gjak

**b) Ngjyrimi i Gramit në mostër pozitive
me *S. aureus* në gjak**

S. aureus u zbulua për herë të parë në Skoci në vitin 1880 nga një kirurg i quajtur Ogston. Ai vëzhgoi me anë të mikroskopit mostrat me qelb të marra nga pacientët të cilët shfaqën infeksione post-operative (plagë dhe abscese) (32). Edhe pse ai ishte personi i parë i cili shpjegoi formën e bakterit si grumbuj rrushi, ai nuk mundi të izolojë dhe të rrisë vetë patogjenin.

Katër vjet më vonë në vitin 1884 një studjues tjetër i quajtur Rosenbach, e quajti këtë patogjen *Staphylococcus aureus* (33). Pjesa më e madhe e popullsisë së shëndoshë humane është e kolonizuar me bakterin *S. aureus*. Vendi më i zakonshëm ku *S. aureus* mund të kapet është pjesa anteriore e hundës (8, 34, 35). Në rreth 20-30% të personave të shëndetshëm, kolonizimi i *S. aureus* rezulton të jetë persistent (8, 34, 36). Po në të njëjtën përqindje ky bakter paraqet prani intermitente, ndërsa gjysma e popullsisë humane paraqitet jo-mbartëse (8, 37-39). Kohët e fundit është raportuar se grupet e individëve me kolonizim intermitent dhe ata jo-mbartës të vërtetë nuk kanë ndonjë ndryshim të dallueshëm ndërmjet tyre (40).

S. aureus është shkaktar mjaft i shpeshtë i infeksioneve të lëkurës të tilla si folliculitis, furunculosis, abscese dhe plagë në infeksionet post-operative, por ky bakter mund të shkaktojë gjithashtu dhe sëmundje invazive të tillë si pneumoni dhe sepsis (19, 20, 22, 34, 41-45).

Kolonizimi para hundës është një rrezik sinjifikant për marrjen e infeksioneve të *S. aureus* për të dy komunitet si dhe pacientët e hospitalizuar. Lidhja ndërmjet bartësve të hundës dhe infeksionit është raportuar për herë të parë në vitin 1931 prej Danbolt, por edhe shumë studime të tjera të viteve të fundit konfirmojnë këtë lidhje të fortë.

Kjo lidhje shkakësore është mbështetur gjithashtu nga zbulimi i llojit të bakterit i cili shkakton infeksionin shpesh herë është i padallueshëm gjenotipikisht me llojin që është mbartës tek individët. Mbartësit persistent kanë tendencë për të mbartur të njëjtin lloj bakteri me kalimin e kohës dhe janë një rrezik në rritje të shkaktimit të auto-infeksioneve (16, 48).

Studimet më të shpeshta të ketyre specieve, janë kryer tek moshat feminare. Shumica e studimeve sugjerojnë se përqindja e kolonizimit është më e lartë në fëmijëri dhe se mbartësit persistent vihen re më shpesh tek fëmijët dhe adoleshentët nën moshën 20 vjeç (5, 8, 34, 47). Nuk dihet në çfarë moshe mbartësi persistent inicohet saktësisht apo si kjo ekziston në foshnjëri.

Në mardhëniet ndërmjet bujtësit dhe patogjenit është e nevojshme një përshtatje e përsosur e cila mund të jetë keq përcaktuar në fëmijërinë e hershme. Janë raportuar disa faktorë të cilët influencojnë në trendin e mbartësve të *S. aureus* në fëmijët e shëndetshëm të cilët janë: 1) numri i vëllezërve dhe motrave më të mëdhenj, 2) madhësia e familjes, 3) ushqyerja me qumshtin e gjirit dhe 4) pirja e duhanit. Këta faktorë janë gjetur të kenë një lidhje mjaft pozitive me mbartësit e *S. aureus* (10, 24).

Struktura gjenetike e bujtësit dhe patogjenit mund të jetë mjaft e rëndësishme për kolonizimin e këtij bakteri (48, 49). Për më tepër, ndërveprimet mikrobiale dhe me patogjenë të tjerë, duke përfshirë këtu dhe *S. pneumoniae* mund të luajë një rol të madh në rritjen e kolonizimit të *S. aureus* (24, 25). Në ditët e sotme është në dispozicion një vaksinë për këtë specie bakteriale.

1.4 Specifiteti dhe gama e bujtësve

Pjesa anterioro nazale mendohet të shërbejë si habitat kryesor ekologjik i *S. aureus* tek njeriu, por nga kjo gjë nuk përjashtohen dhe shumë pjesë të tjera të trupit të cilat gjithashtu shërbejnë si vend strehim për këtë bakter (37). *S. aureus* është një banor i zakonshëm i lëkurës (50), perineum (51), mund të gjendet gjithashtu në sqetulla (50, 51), vaginë (52) dhe në traktin gastrointestinal (50). Disa studime kanë raportuar se kolonizimi i fytit është më i përhapur se kolonizimi i pjesës së përparme nazale (53-56).

S. aureus njihet gjithashtu si kolonizues dhe infektues i kafshëve shtëpiake dhe bagëtime ku përmendim qentë, macet, lepujt, kuajt, kafshët dhe derrat (57). Një shqetësim i madh është prezenca e Methicillin Rezistente të *S. aureus* (MRSA) në kafshët shtëpiake dhe ato blegtorale, pasi këto mund të shërbejnë si rezervuar për kolonizimin e njeriut e cila është ilustruar nga ST398 tek derrat (58).

Specia e *S. aureus* që prek njeriun zakonisht nuk gjendet tek kafshët dhe anasjelltas, kjo pasi ekzistojnë disa barriera ndërmjet bujtësve të shumtë. Një studim microarray raportoi që megjithëse specifiteti i bujtësit i përket një linjë specifike, linjat e kafshëve janë mjaft të përafërta me linjën e njeriut dhe ku specifiteti i bujtësve i atribuohet vetëm disa gjeneve ose një kombinim të gjeneve (59). Kjo ngjashmëri e habitshme është gjetur në mesin e ngjitjes dhe evazionit imun të gjeneve në kafshë të ndryshme bujtëse, në ekspozimin e proteinave të ndryshme target të cilat sugjerojnë se këto proteina nuk janë të domosdoshme për virulencën (60).

Në një studim tjetër (të izolimit të bakterit tek fermerët dhe gjedhët) u raportua një gjenotip i ri i përshtatur tek gjedhët i cili ishte si rezultat i ndryshimit të bujtësit nga njeriu tek gjedhët duke treguar se specifika e bujtësit është një tipar që mund të pësojë ndryshime (61).

1.5 Rëndësia klinike e *S. aureus*

S. aureus është një patogjen human me një impakt madhor në shëndetin publik. Ai është i aftë të infektojë çdo ind të trupit të njeriut duke shkaktuar një variacion të patogjenitetit duke filluar nga një infeksion të lëkurës deri në sëmundje të rrezikshme për jetën. Infeksioni i shkaktuar nga *S. aureus* në përgjithësi mund të ndahet në tre tipe: 1) lezione sipërfaqësore p.sh, në zonat ku janë kryer ndërhyrje kirurgjikale dhe infeksionet e plagëve; 2) infeksion sistemik dhe probleme kërcënuese për jetën si p.sh, endokardit, osteomielit, pneumoni, abscess të trurit dhe bakteraemia; 3) toksinat, p.sh, sindromi i shokut toksik, helmimet ushqimore dhe sindroma e lëkurës së djegur (62).

Shenja dalluese e infeksioneve stafilokoksike është abscesi, i cili përmban qelb, përmbajtja e të cilit konsiston në: neutrofile të vdekura, baktere të gjalla dhe të vdekura, inde nekrotike dhe përmban gjithashtu qeliza të bujtësit dhe bakteriale të lizuara (63).

Bujtësit imunokompetent në shumicën e rasteve arrijnë ta pastrojnë infeksionin në mënyrë të suksesshme duke e tharë abscessin, ndërsa në përgjithësi për bujtësit e imunokomprimuar dhe ndonjëherë ata të shëndetshëm, infeksioni mund të progresojë për në thellësi të indeve dhe të bëhet një infeksion potencial fatal invaziv (63).

Infeksionet e *S. aureus* zakonisht përfshijnë një mbartës ose mund të ndodh si pasojë e një autoinfeksioni - zhvillohet një infeksion me llojin e tyre mbartës ose shkaktohet një cros –reaksion – kur lloji i tyre është trasmetuar tek një individ dhe e infekton atë.

Globalisht *S. aureus* është shkaktari jo vetëm i shumë infeksioneve në gjak (22%) por edhe shumë infeksioneve të lëkurës dhe indeve të buta (39%) (39).

Në Norvegji *S. aureus* është bakteri i dytë më i zakonshëm i izoluar në kulturat e gjakut, duke zënë 14.5% të izolimeve (kontaminimi i lëkurës është përjashtuar në këtë përqindje) (64).

Methicillin rezistenca e *S. aureus* ka qënë një temë mjaft shqetësuese për shumë vjet duke krijuar një barrë mjaft të madhe për shumicën e institucioneve të kujdesit shëndetësor në mbarë botën. Kjo pasi është rritur numri i vdekshmërisë, sëmundshmërisë si dhe kostot financiare në krahasim me methicillin ndjeshmërinë *S. aureus* (methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) (65).

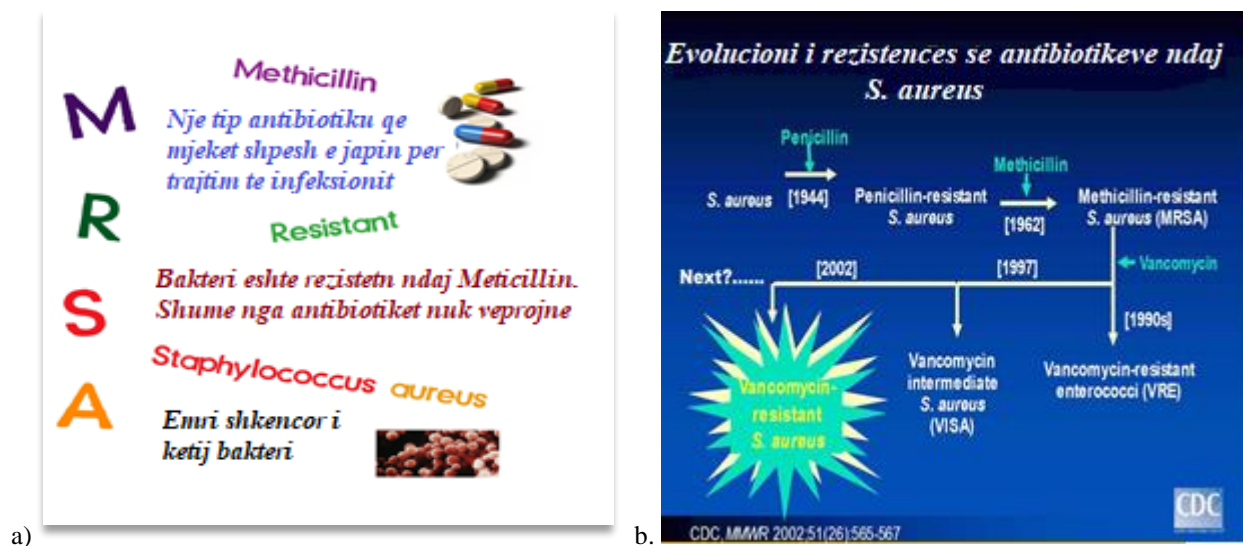


Figura 1.4 a) Shpjegimi i emrit MRSA dhe b) Evolucioni i rezistencës së antibiotikëve në *S. aureus*

Numri i rasteve me MRSA janë rritur me shpejtësi të lartë në mbarë botën gjatë dekadave të fundit (66), por të dhënat e përgjithshme nga Network i Survejancës së Rezistencës Antimikrobiale Evropiane (EARS-Net) për vendet pjesëmarrëse, tregojnë se ka një reduktim të ndjeshëm në përqindjen e rasteve të MRSA nga viti 2002 deri në 2009 (figura 1.4) (67).

Infeksionet MRSA mund të jenë një problem i lidhur me hospitalizimin (healthcare-acquired/associated (HA) MRSA), por kohët e fundit nuk përjashtohet dhe janë raportuar një rritje të infeksioneve MRSA edhe në komunitet (communityacquired/ associated (CA) MRSA) si dhe tek kafshët (kryesisht bagëtitë) (livestock-associated (LA) MRSA) (66).

Në përgjithësi, niveli i rezistencës antimikrobiale ndaj *S. aureus* është dukshëm më i lartë në mesin e të hospitalizuara krahasuar me ata të komunitetit, duke lënë të kuptohet që rastet spitalore të izoluara janë epidemiologjikisht të ndryshme nga rastet e izoluara nga komuniteti dhe se në ambientet spitalore po gjendet një mikroflorë rezidente (68).

1.5.1 Manifestimet klinike të *S. aureus* dhe çfarë ajo shkakton

Rreth 30% e popullatës së shëndetshme është mbartëse e këtij bakteri në hundë, faring dhe lëkurë. Në personat imunokompetentë *S. aureus* kolonizon lëkurën, traktin intestinal ose nazofaringun duke mos shfaqur asnjë simptomë ose sëmundje (1).

Kur *S. aureus* kolonizohet nga një abscess, ulçër apo lezion tjetër i lëkurës, zakonisht është si pasojë e një invazioni sekondar që ka ndodhur në plagën e shkaktuar nga infeksion primar. *S. aureus* në mënyrë të ngjashme mund të izohet nga absceset, absceset e gjirit ose mastitet, dermatitis ose infeksionet e lëkurës si dhe infeksionet e traktit gjenital (62).

S. aureus konsiderohet si një bakter oportunist klasik deri në çastin kur ato nuk kanë invaduar lëkurën ose vende të tjera hyrëse të organizmit dhe nuk kanë shkaktuar një infeksion (2).

Tek kafshët dhe tëk njerëzit me imunitet të kompromentuar apo imunodeficient, ky bakter mund të jetë kërcënues për jetën. Kjo mund të çojë në infeksione pyogjenike (pyogenic abscessing) të lëkurës, syve apo traktit gjenital.

S. aureus mund të shkaktojë:

- ✓ Infeksione te vogla të lëkurës
- ✓ Mund të shkaktojë ulçërizime, celulitis, folikulitis
- ✓ Mund të jetë shkaku i sindromës së lëkurës së zhveshur dhe absceseve
- ✓ Mund të çojë në infeksione të mushkërive apo pneumoni
- ✓ Mund të shkaktojë infeksionet e trurit apo meningit
- ✓ Mund të shkaktojë infeksionet e kockave apo osteomielit
- ✓ Mund të shkaktojë infeksione në zemër ose endokardit
- ✓ Mund të jetë shkaku i sëmundjeve kërcënuese për jetën si sindromi i shokut toksik (TSS), Bakteremi dhe septikemi (figura 1.5).

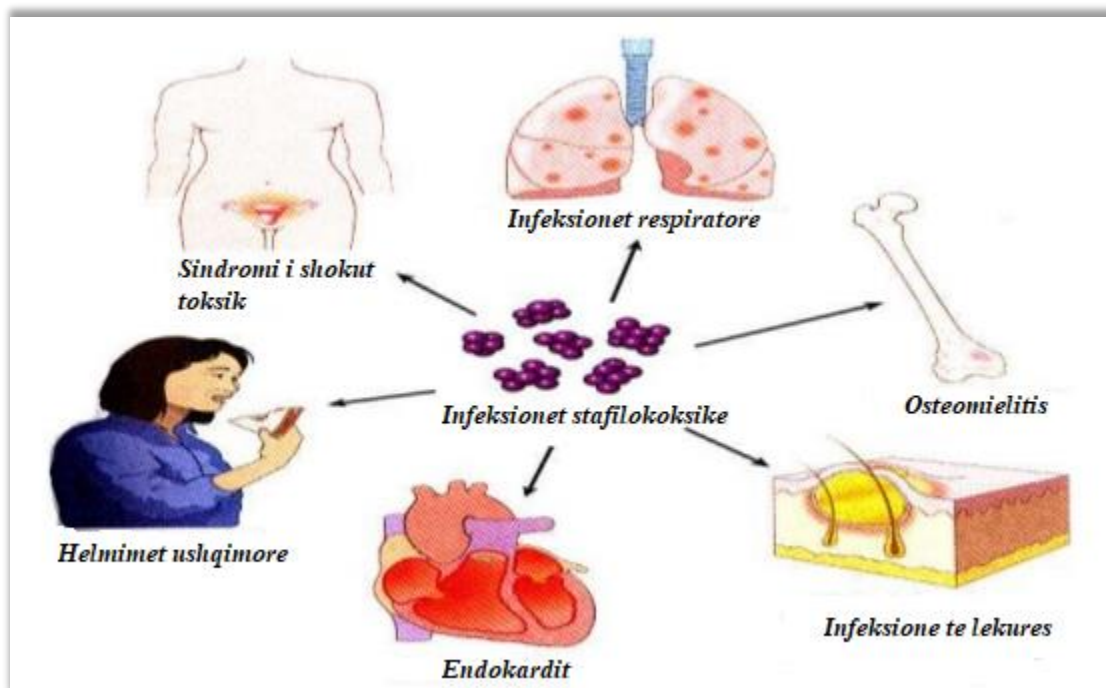


Figura 1.5 Manifestimet klinike të *S. aureus*

1.6 Mënyrat e Transmetimit

S. aureus zakonisht mund të gjendet në mjedis. Ky bakter transmetohet nëpërmjet piklave të ajrit ose aerosolit. Kur një person kollitet apo tështin ai/ajo lëshon pikla të vogla të shumta që mbeten pezull në ajër. Këto pikla shpesh herë përmbajnë baktere të cilat mund të infektojnë njerëzit e tjerë. Një rrugë tjetër e transmetimit të *S. aureus* është nëpërmjet kontaktit të drejtëpërdrejtë me objektet të cilat janë të kontaminuara me bakterin ose nga pickimi/kafshimi i një personi ose kafshe të infektuar. Rruga tipike e transmetimit të *S. aureus* është nga hunda – duart e një personi tek një sipërfaqe (p.sh tek një derë apo dorezë), dhe më pas tek duart – hunda e personit tjetër.

Për një transmetim të suksesshëm *S. aureus* duhet të përshtatet në ambjente të ndryshme dhe t`iu mbijetojë faktorëve të stresit si kufizimi i lëndëve ushqyese, tharjes, ndryshimeve të temperaturës, osmolaritetit, pH, ndërhyrjes së bakteve të ndryshme si dhe veprimin antimikrobiale të trupit të njeriut (69). Rreth 30% e njerëzve të shëndetshëm janë mbartës të *S. aureus* në hundë, faring ose në lëkurë. Transmetimi i *S. aureus* nga bujtësi tek bujtësi është më pak efikas krahasuar me transmetimin e kolonive të *Staphylococcus epidermidis* tek njeriu e ilustruar kjo në tre pika;

1) *S. epidermidis* qëndron vetëm në lëkurë dhe kërkon kontaktin e drejtëpërdrejtë ndërmjet dy bujtësve për tu transmetuar;

2) *S. epidermidis* kolonizon të gjithë njerëzit, kjo pasi tek ky organizëm nuk njihen barrierat të cilat parandalojnë kolonizimin e tij. Tek bakteri *S. aureus* ka një numër të limituar të bujtësve potencial për shkak të barrierave të njohura për të;

Bashkëveprimi ndërmjet grupeve *agr* gjenetikisht të ndryshme të shtameve të *S. aureus* mund të pengojë kolonizimin në shtamet e reja, ndërsa për *S. epidermidis* kjo gjë nuk është vërtetuar (69). Transmetimi kompleks i *S. aureus* është përdorur si hipotezë për shpjegimin e evolucionit dhe mbajtjen e virulencës (70).

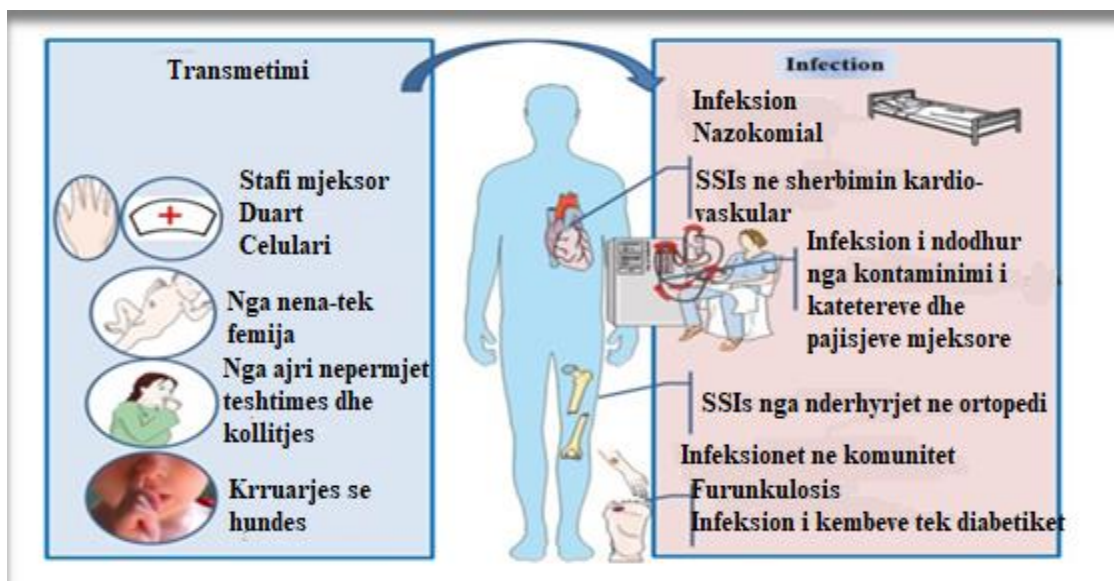


Figura 1.6 Rrugët e transmetimit të *S. aureus*

1.7 Epidemiologjia e *S. aureus*

Staphylococcus aureus është një patogjen me impakt të madh tek njeriu dhe ka një shpërndarje mjaft të gjerë në mbarë botën. Ai është një nga shkaqet më të zakonshme të infeksioneve të lëkurës, indeve të buta si edhe infeksionit nozo-komial (71). *S. aureus* gjendet tek njerëzit në hundë, plagë, axillae, zona perineale (tek meshkujt), mukozë, gojë, gjëndrat e qumështit, flokë, traktet e rrugëve të sipërme të frymëmarrjes, në zorrë dhe në rrugët uro- gjentare.

Bakteri S.aureus shkakton sëmundje si në komunitetet ashtu edhe në ambjentet e kujdesit shëndetësor. Në mjediset komunitare ku individët jetojnë në ambjente të përbashkëta prevalenca e këtij infeksioni është duke u rritur (71; 72). Shëmbull tipik komunitar mund të jenë azilet e pleqve. Këta individ shesh janë në një rrezik në rritje të shfaqjes së MRSA-së (72). Rreth 20% e individëve janë bartës të qëndrueshëm të *Staphylococcus aureus*, rreth 60% janë bartës të përhershëm, dhe rreth 20% e mbajnë atë rrallë (6). Fëmijët kanë më shumë gjasa të jenë bartës të vazhdueshëm të baktereve (6), ndërsa gratë e reja janë në një rrezik më të lartë për sindromën e shokut toksik (74).

Periudha e inkubimit: Fillimi i simptomave pas konsumimit të ushqimit të kontaminuar me *S. aureus* është zakonisht 30 minuta deri në 8 orë. Kolonitë e *S. aureus* tek disa individë mund të mbarten për një kohë të papërcaktuar, disa mund ta mbartin atë në mënyrë kronike, ndërsa disa mund ta mbartin me ndërprerje (6). Periudha e përhapjes vazhdon për aq kohë sa kemi prezencën e një lezioni purulent ose gjendja e mbartësit është presistente. Prezenca e të paktën 100.000 organizmave është përcaktuar si doza infektive e këtij infeksioni në njerëz (75).

Bujtësit e *S. aureus* janë të shumtë, ndër më kryesorët përmendim: njerëzit, kafshët e egra dhe kafshët shtëpiake, duke përfshirë bagëtitë (kryesisht lopën) (76). Shumë kafshë veprojnë si rezervuar, sidomos lopët. Infeksioni i shkaktuar nga *S. aureus* mund të quhet dhe sëmundje zoonotike, pasi ka raste të infektimit përmes kontaktit të drejtpërdrejtë ose të tërthortë me një kafshë të infektuar (77). Deri tani nuk është përcaktuar asnjë vektor i *S. aureus*.

Një nga mënyrat e transmetimit ashtu siç është theksuar edhe më pare është nga gëlltitja e ushqimit që përmban enterotoksina (78). Transmetimi vertikal gjatë lindjes normale është i pazakontë. Transmetimi nga personi në person ndodh përmes kontaktit me një plagë plagë ose me një bartës të infeksionit (6). Kushtet e papërshtatshme higjieno-sanitare dhe mjediset komunitare të mbipopulluara, rrisin ekspozimin ndaj *S. aureus*. Infeksioni mund të përhapet nga personi në person nëpërmjet punonjësve të kujdesit shëndetësor ose pacientëve (6). Kolonizimi i hundës mund të çojë në një auto-infeksion (79).

Prevalenca *S. aureus* ndryshon në popullata të ndryshme. Në një popullsi të përgjithshme, norma mesatare e transportit të këtij infeksioni është 37% (me interval nga 19 deri në 55%) (6). Kur krahasohen popullatat e moshave të ndryshme, shkalla e kolonizimit tek fëmijët është raportuar të jetë dukshëm më e lartë në krahasim me të rriturit (4, 45, 32, 80, 81). Në disa studime të tjera është vërejtur një ndryshim ndërmjet gjinive përta i përket shkallës së kolonizimit (82, 83) dhe pranisë të llojeve të ndryshme *spa* (84).

Gjithashtu, janë vërejtur dallime në prevalencë ndërmjet vendeve të ndryshme. Në një studim të kohëve të fundit në Evropë u gjet një ndryshim i madh në normat e transportit nazal, ku më i ulëti ka rezultuar në Hungari (12%) dhe më i larti në Suedi (29%) (85). Në një studim në Norvegji, është raportuar e njëjta normë (29%) si në popullatën e përgjithshme suedeze (83).

Në Kanadaja, incidenca e raportuar e infeksioneve invazive të *S. aureus* ishte 28.4 raste/100 000 individë dhe infeksionet ishin më të zakonshme tek personat mbi 65 vjeç dhe tek meshkujt (86). Në Shtetet e Bashkuara, 0.8% e të gjithë ambjenteve spitalore u diagnostikuan me infeksionin *S. aureus* gjë që u vu re dhe me ditë qëndrimin e gjatë të hospitalizimit të këtyre pacientëve. Këta pacientë paguan kosto më të larta hospitalizimi dhe trajtimi si dhe kishin një rrezik më të lartë vdekjeje krahasuar me pacientët pa infeksion *S. aureus* (87).

Në Evropë, niveli i bakterermisë të shkaktuar nga *S. aureus* (MSSA) me meticillin ndjeshëm është rritur në mënyrë të vazhdueshme ndërmjet viteve 2002-2008 (12125-15266) (88). Gjatë viteve, shumica e studimeve epidemiologjike të *S. aureus* janë përqendruar në *S. aureus* (MRSA) rezistent ndaj meticillineve dhe epidemiologjia e MSSA deri më tani është më pak e studiuar.

Gjatë dy dekadave të fundit, epidemiologjia e sëmundjes së *S. aureus* ka ndryshuar në mënyrë dramatike si pasojë e shfaqjes dhe përhapjes së kloneve të Methicillin Rezistencës së *S. aureus*.

Ky ndryshim epidemiologjik, sëbashku me lidhjen ndërmjet terapisë antimikrobiale të vonuar dhe vdekshmërisë së rritur të bakteremisë së *S. aureus* ka lehtësuar shumë përparimet që kanë ndodhur në diagnozën e shpejtë molekulare të këtij bakteri. Ky testim i shpejtë molekular ka ulur ndjeshëm kohën e kthim përgjigjes nga ana e laboratorit dhe në disa rrethana mund të çojë në përmirësim të rezultateve klinike. Përveç kësaj, përparimet në teknologjinë sekuenciale të ADN-së dhe analizat bioinformatike kanë hedhur dritë të re mbi epidemiologjinë molekulare dhe dinamikën e transmissioinit të *S. aureus* (89) (figura 1.6).

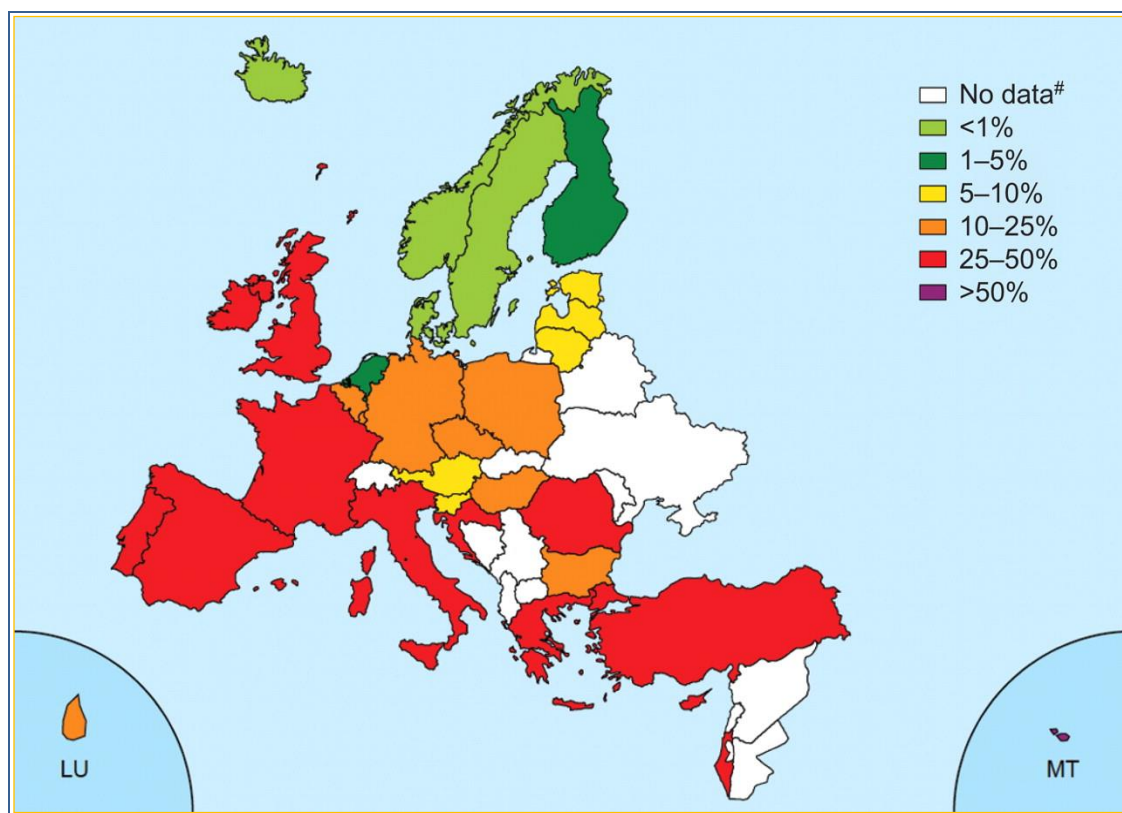


Figura 1.7 Sistemi i Survejancës Europiane të Antibiotiko-Rezistencës (90)

1.8 Përmbajtja gjenomike e *S. aureus* material i marre nga thesis

Madhësia e gjenomës së *S. aureus* zakonisht varion nga 2.5 tderi në 3.1 Mb, dhe përmban ~2,500 open reading frames. Në vitin 2001 janë publikuar dy sekuencat e para gjenomike të *S. aureus* N315 dhe Mu50 (91). Pas këtij viti filluan të publikoheshin shumë shpejt dhe sekuencat e tjera gjenomike MW2 (92), MRSA252 dhe MSSA476 (93), COL (94), USA300-FPR3737 (95), USA300-HOU-MR (96), NCTC8325 (97), ET3-1 (98), JH-1 dhe JH-9 (99), Newman (100) dhe TW20 (101). Në ditët e sotme, sekuencimi i plotë i gjenomës është bërë një rutinë, duke nxjerrë në pah një numër të konsiderueshëm draftesh gjenomike, ku vetëm disa prej tyre janë të pajisur me shënime bashkëshoqëruese ose të kompletuara plotësisht (102).

Gjenoma e *S. aureus* konsiston në; 1) gjenet e bërthamës, të ruajtura ndërmjet racave të ndryshme; 2) gjenet e ndryshueshme të bërthamës (core variable (CV) genes), gjene që ndryshojnë ndërmjet gjenomave ose mund të mos jenë të pranishme dhe 3) elementët gjenetik të lëvizshëm (mobile genetic elements (MGEs), fragmente të ADN koduese të toksinave, faktorët e virulencës dhe gjenet e përfshira në përshtatjen e bujtësit si dhe në funksionet mobilizuese (103,104).

Gjenomi i bërthamës përmban rreth 80% të gjeneve të *S. aureus*, ku përfshihen gjenet për proteinat sipërfaqësore të përfshira në adezion si dhe gjenet që kodojnë vetitë thelbësore metabolike dhe ato rregullatore (105, 106). Si pjesë e gjenomit së bërthamës, gjenet e variablave kryesore (CV) përbëjnë 10-12% të gjenomit të *S. aureus*. Këto shpesh kodojnë rregullatorët e gjeneve të virulencës ose proteinat sipërfaqësore të përfshira në ndërveprimet me bujtësin p.sh, gjatë kolonizimit nazal, siç është sipërfaqja proteinike stafilokokale A (spa) (104).

Gjenomi Accessory përbën rreth 20% të gjenomit të *S. aureus* të mbetur. Ai është i përbërë nga MGEs që përmbajnë 50% të faktorëve të njohur të virulencës së *S. aureus*. MGEs përfshijnë bakteriofagët, ishujt e patogjenicitetit, plazmidet dhe transpozonet, të cilët janë të aftë të transferohen horizontalisht ndërmjet shtameve (106). Si pasojë e shkëmbimeve të faktorëve të virulencës ndërmjet shtameve, kemi kombinime të ndryshme të faktorëve të virulencës, të cilët kontribuojnë në përshtatjen e kloneve të specializuara për infeksionin e bujtësve ose mjediseve të përzgjedhura (98, 101).

KAPITULLI II

2. PJESA TEORIKE

2.1 Grupet agr të *Staphylococcus aureus*

S. aureus është një patogjen mjaft i vështirë dhe ka aftësi për të shkaktuar një gamë të gjerë të infeksionit (39). Këto infeksione mund të shkojnë nga format jo-invazive të lëkurës dhe indeve të buta deri në format agresive apo destruktive të tilla si endokardit, pneumoni ose septikemi. Në thelb të aftësisë të këtij bakteri për të shkaktuar infeksione të tilla të rënda qëndrojnë faktorët e shumtë të virulencës që ky patogjen prodhon. Sekretimi i hemolizës, toksinat, enzimat jashtëqelizore, peptidet anti-inflamatore, përqsja si dhe mekanizmat imun të evazionit kontribuojnë të gjitha së bashku në patogjenitetin e *S. aureus*.

Po si arrijn *S. aureus* të ketë këtë një jetë të dyfishtë komensale dhe patogjene? Për të balancuar jetesën e dyfishtë komensale dhe patogjene *S. aureus* duhet të rregullojë me mjaft kujdes shprehjen e gjeneve të cilët janë përgjegjës për patogjenitetin. Ky rregull i saktë arrihet përmes reagimit të koordinuar të sistemeve të shumta rregullatore. Nga këto, ai me ndikimin më të madh në shprehjen e virulencës së gjenit është sistemi rregullator i gjenit i njohur si *agr* (accessory gene regulator apo sistemi i kuorumit të ndjesisë) (39).

2.2 Sistemi rregullator i gjeneve Accessory

agr është një sistem konvencional kuorum i ndjesisë ku rregullimi i gjenit ndodh si përgjigje e përqëndrimit të pragut të sinjalit ekstraqelizor i cili rritet kur popullata ose kuorumi i baktereve të pranishme janë të mjaftueshme. Sistemet kuorum të ndjesisë janë gjetur në një gamë të gjerë të specieve bakteriale. Figura 2.1 paraqet një ilustrim hipotetik të evolucionit të *S. aureus* (107). Bakteret Gram-negative zakonisht përdorin kimikate të vogla si sinjale të tyre si p.sh, acil-homoserin-lakton. E kundërta ndodh tek bakteret Gram-pozitive të cilat zakonisht përdorin peptidet e vogla si nxitëse të këtyre sistemeve (108).

Përbërjet e këtyre molekulave mund të shkojnë nga peptide të thjeshta lineare të prodhuara nga *Bacillus spp* deri tek ato të komplikuarat që i nënshtrohen modifikimeve post-translatore të cilat rezultojnë në ciklizimin e peptideve ose shtimin e grupeve funksionale më komplekse (108).

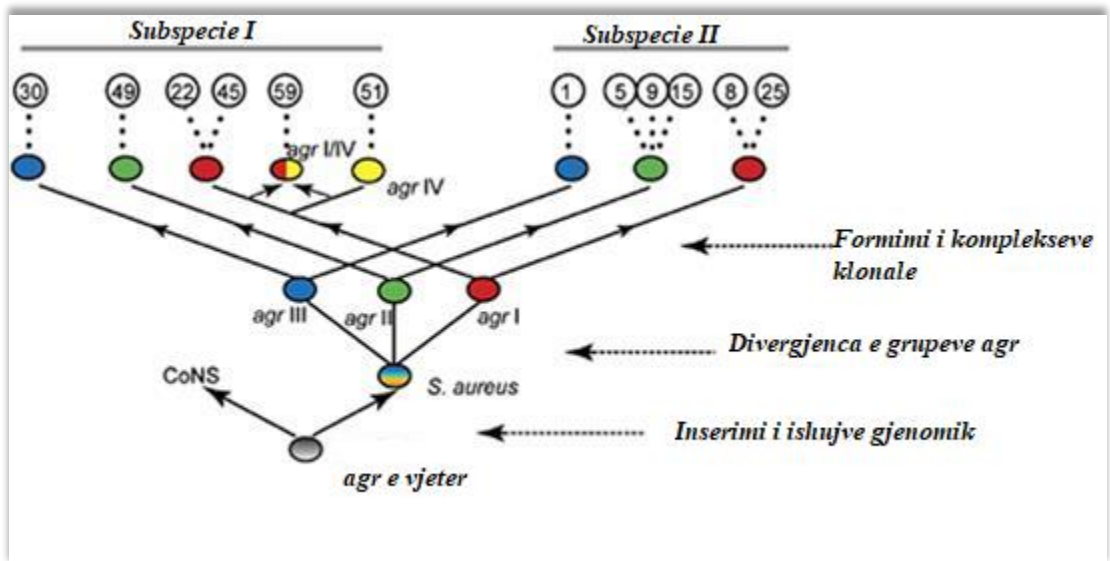


Figura 2.1 Ilustrim hipotetik i historisë së evolucionit të *S. aureus* (107, 108)

*Paraqitje e ilustruar hipotetike e historisë së evolucionit të *Staphylococcus aureus*. Speciet e *S. aureus* mund të ndahen në dy subspecie të supozuara (107). Rrathët me ngjyra të ndryshme përfaqësojnë grupe të ndryshme agr, ndërsa rrathët me numra në brendësi të tyre paraqesin komplekset klonike përkatëse. Shigjetat në anën e djathtë tregojnë fazat më të rëndësishme gjatë evolucionit të *S. aureus*.

Sistemi i *agr* i stafilokoksikëve përqëndrohet rreth prodhimit dhe të ndjerit të shtatë deri nëntë mbetjeve peptidike që janë modifikuar për të përmbajtur një unazë makrociklike të formuar nga një lidhje tiolaktone (figura 2.2) (109). Kur sinjali arrin një koncentrim të mjaftueshëm ai lidhet tek një receptor ekstraselular i cili është pjesë e një sistemi dy-komponentësh të sinjalizimit. Aktivizimi i *agr* çon në ndryshime gjithëpërfshirëse të rregullimit të gjeneve të virulencës me mbi rregullimin e sekretimit të faktorëve virulent dhe nën rregullimin e faktorëve sipërfaqësor të tilla si adezinat dhe proteina A (tabela 2.1) (110).

Duke pasur parasysh rolin e saj vendimtar në rregullimin e faktorëve virulent, mjaft përpjekje janë fokusuar në të kuptuarit se si ky sistem funksionon dhe cili është roli i saj në patogjenezën e sëmundjes.

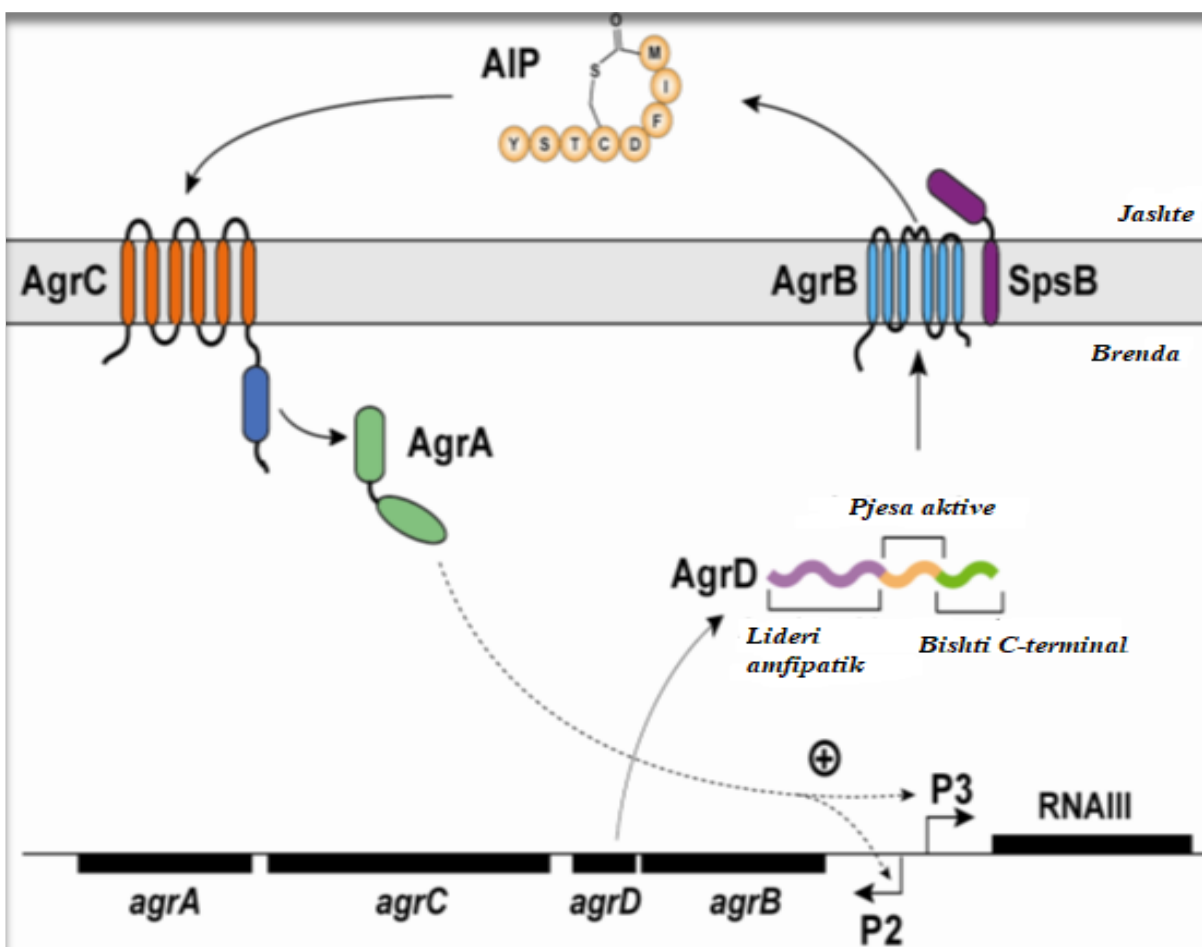


Figura 2.2 Paraqitje skematike e sistemit agr të *S. aureus* (111, 112)

Lokusi kromosomal *agr* është i përbërë nga dy transkripte të shprehura në mënyrë divergjente. Nxitësi apo (promotori) P2 drejton shprehjen e operonit *agrBDCA*. AgrD është peptidi pararendës (prekursor) i AIP (tipi 1 i treguar) i cili është i përbërë nga tre pjesë dhe përfshin, 1) një heliks amfipatik N-terminal, 2) një rajon i mesëm që bëhet AIP dhe 3) një bisht C-terminal me ngarkesë. AgrB është një membranë endopeptitazë mjaft e rëndësishme për prodhimin e AIP. AgrC është një membranë histidinë kinazë e cila ka receptor ekstraqelizor për lidhjen AIP. AgrA është një regullator reagimi dhe pjesë e një çifti dy komponentësh me AgrC. Aktivizimi i *agrA* nxit transkriptimin nga promotorët P2 dhe P3 dhe vetë promotori P3 nxit shprehjen e ARNIII që është efektori primar i sistemit *agr*. SpsB kompletion rrugën biosintetike të AIP.

Tabela 2.1 Gjenet rregullatore të *agr*

Gjeni	Produkti	Referenca*
Gjenet e rregulluara nga <i>agr</i>		
Enzimata e sekretuara		
<i>aur</i>	Aureolysin	113, 114
<i>splA-F</i>	Spl proteasa	115
<i>sspA</i>	V8 proteasa	116, 117
<i>sspBC</i>	Ssp proteasa	113
<i>scp</i>	Staphopain	113
<i>sak</i>	Staphylokinase	116
<i>lip</i>	Lipasa	112
<i>geh</i>	Glycerol ester hydrolase	112
ureA-G Urease		
<i>plc</i>	PI-Phospholipase C	117
<i>fme</i>	Enzima e modifikuar e acidit yndyror (Fatty acid modifying enzyme)	118
Toksinat		
<i>Hla</i>	Alpha-toxina	116, 119, 120
<i>hlb</i>	Beta-hemolysina	116
<i>hlgBC</i>	Gamma-hemolysina	121
<i>hld</i>	Delta-toxina	122, 116
<i>lukD/E</i>	Leukocidina	121
<i>lukS/F</i>	Panton-Valentine leukocidin	121
<i>lukG/H</i>	Leukocidina	
<i>seb</i>	Enterotoxina B	123, 124
<i>sec</i>	Enterotoxina C	125
<i>sed</i>	Enterotoxina D	126
<i>tst</i>	Shoku- Toksik syndrome toxin-1	116
<i>etaAB</i>	Toksinat Exfoliative	127, 128
Peptidet Immunomodulator		
<i>PSMa1-4</i>	Alfa PSMs	129
<i>PSMβ1-2</i>	Beta PSMs	129
Regullatorët		
<i>agrBDCA</i>	regullatori <i>agr</i>	131
<i>arcR</i>	Rregullatori Transcriptional	112
RNAs Regullator		
<i>RNAIII</i>	RNAIII	131
<i>rsaE</i>	RsaE sRNA	132
Faktorët e Sipërfaqes		
<i>cap5</i>	Kapsulë Polysaccharide tipi 5	133
<i>cap8</i>	Kapsulë Polysaccharide tipi 8	134
Gjenet e nënrregulluara nga <i>agr</i>		
Enzimata sekretuese		
<i>ssl5,8</i>	Staphylococcal superantigen si proteinë 5 dhe 8	135

Proteinat e sipërfaqes		
<i>fnbAB</i>	Proteinat lidhëse Fibronectin A/B	136
<i>spa</i>	Proteina A	116, 120, 138
<i>coa</i>	Koagulaza	137, 139,
<i>SA1000</i>	Proteinat e sipërfaqes	140
Regulators		
<i>rot</i>	Faktorët e transkriptimit Rot	140, 141

*Shënim: Për referenca shtesë për rregullimin e *agr* mund të shikohen dhe punimet me referencat (7, 12, 99-101)

2.3 Lokusi *agr*

Lokusi *agr* bën pjesë në kromozomin e *S. aureus* duke u konsideruar si pjesë e gjenomës bazë të saj dhe jo një ishull patogjeniteti. Ky lokus përmban dy transkripte të ndryshme, ARNII dhe ARNIII të kontrolluara nga promotorët (ose nxitësit) P2 dhe P3 (figura 2.1) (122, 130). Transkripti ARNII është një operon i katër gjeneve, *agr BDCA* që kodojnë faktorët e nevojshëm për sintetizimin dhe të kuptuarit e vetënxitjes së peptideve (AIP Autoinducing peptide).

AgrD është peptidi pararendës i AIP, ndërsa *AgrB* është një membranë integrale e enzimës endopeptidase e cila është thelbësore për biosintezën e AIP-së.

Agr C dhe *agr A* formojnë një çift dy-komponentësh, ku *agr C* është membrana histidinë kinazë dhe *agr A* është një regullator reagimi (142). Me lidhjen e AIP, *agrC* fosforilon *agrA* e cila në kthim aktivizon promotorët P2 dhe P3 për vetë aktivizimin e sistemin *agr* dhe mbirregullimin e transkriptimit të ARNIII. ARNIII është reagimi më i madh i drejtimit i sistemit *agr*, i cili pas transkriptimit rregullon shprehjen e faktorëve virulent dhe Rot (Repressor of toxins) regullatori transkripsional (123). *AgrA* gjithashtu mund të aktivizoj transkriptimin nga dy nxitës për shprehjen e fenolit të tretshëm (Psm) phenol soluble modulins (129).

2.4 Sinjali i vetë-induktimit të peptideve

Sistemi *agr* i përgjigjet përqendrimit ekstraqelizor të sinjalit AIP. Tipi I AIP i identifikuar fillimisht është një peptid me tetë-mbetje (YSTCDFIM) ku pesë mbetjet e tij të fundit kufizojnë unazën makrociklike tiolakton e cila formohet ndërmjet anës së zinxhirit cisteinë dhe karboksilatit fundor (figura 2.3) (143, 115). Ky fragment peptidik rrjedh nga rajoni i brendshëm i *agrD* nëpërmjet një serie të *agrB* dhe sinjalizojnë ngjarjet e zhvillimit të varësisë së peptidazës (110, 144). Pas vlerësimit të sinjalit AIP, është e qartë se diversifikimi ka ndodhur në të gjithë speciet streptokoksike. Madje brenda llojeve të *S. aureus* njihen shumë ndryshime të rëndësishme të *agr*. Këto ndryshime janë si rezultat i një rajoni hipervariabil që ndodhet brenda operonit *agrBDCA* (145). Në aspektin rendor të operonit, "rajoni hipervariabil" përbëhet nga fundi 3' *agrB*, gjeni *agrD*, dhe nga fundi 5' të *agrC*, ku me kalimin e kohës kanë ndodhur ndryshime të shumta të çifteve të bazave dhe nga ku janë krijuar grupe të ndryshme të *agr*-së.

Ndërmjet katër tipeve të *agr* së *S. aureus*, mbetja e parë 34 N-terminal e aminoacidit në llojet e ndryshme të sistemeve *agrB* ruhen plotësisht, ndërsa pjesa tjetër e proteinave paraqet dallime të konsiderueshme.

Ndryshimet që ndodhin në gjenin *agrD* më së shumti sjellin ndryshime të strukturave divergjente të AIP-së (figura 2.3) (143).

Në mënyrë të ngjashme paraqitet dhe segmenti N-terminal i *agrC* në të cilin është lokalizuar domeni i ndjeshmërisë së AIP-së. Kjo zonë paraqet variacione të konsiderueshme ndërsa domeni C-terminal kinaza është plotësisht i ruajtur.

Këto diferenca brenda operoneve *agrBDCA* në *S. aureus* kanë çuar në klasifikimin e katër sistemeve *agr* të referuara si *agr-I*, *agr-II*, *agr-III* dhe *agr-IV*. Çdo njeri nga sistemet *agr* njih një strukturë të ndryshme AIP dhe për ta ruajtur rendin e grupimit, këto sinjale janë quajtur AIP I-AIPII-AIPIII-AIPIV.

AIP-I, -II dhe -III janë identifikuar të parët (143) dhe disa vite më pas disa laboratore identifikuan edhe AIP-IV (146-148). Struktura e përgjithshme e katër sistemeve AIP të *S. aureus* është e ngjashme. Secila përmban një unazë tiolakton dhe pesë mbetje makrociklike ndërsa pjesët N-terminale janë të dryshueshme me 2-4 mbetje shtesë nga unaza.

2.5 Interferenca e agr

Molekulat AIP të tipeve të ndryshme të *agr* janë të afta për të penguar sinjalizimin e tipeve të tjera të *agr*, një fenomen që njihet si “*Interferenca agr*” (143). Fuqia e ndërveprimit është e rëndësishme, ashtu siç të tre grupet AIP lidhen tek receptorët aletrantivë të *agrC* me lidhje konstante në një range të ulët nanomolar (149, 150). Roli biologjik i interferencës së *agr* mbetet i paqartë, por ka propozime të ndryshme që ky fenomen jep një avantazh konkurrues në prodhimin e llojeve (strain) (151).

Ky vëzhgim ka çuar në dizenjimin e shtameve reporter (reporter strains) të cilat janë përdorur nga grupe të ndryshme studjuesish si një metodë për të matur prodhimin e AIP-së (144, 152). Duke matur aftësitë e supernatantit për të inhibuar aktivizimin e një lloji tjetër *agr*, mund të masim nëse janë të pranishëm apo jo AIP-të.

2.6 Biosinteza e AIP

Kryesore për funksionim e sistemit *agr* si një “sistem kuorum të ndjeshmërisë” është sinteza e feromonit AIP. Prekusori i AIP-së është *agrD*, që është një peptid i sintetizuar në ribozome. Për të bërë produktin final AIP ky propeptid pëson dy ngjarje copëzimi, ciklizimi dhe transporti jashtë qelizor (144, 153).

Shpjegimi i mekanizmit për mënyrën se si ndodhin këto hapa është parë si i vështirë nga ana e disa studimeve të kryera për këtë proces. Edhe pse më shumë vëmendje i është kushtuar të kuptuarit të AIP-së, efekteve rregullatore, rolit të *agr* në patogjenezë, mekanizmi i sintezës së AIP vazhdon të ngelet përsëri një fushë mjaft e rëndësishme studimi.

2.7 AgrD

Propeptidi *agrD* konsiston në 46 aminoacide (kur si model marrim *agr* Tip I të *S. aureus*) dhe mund të ndahet në tre regjione të përgjithshme: 1) 24 mbetjet N-terminal formojnë një spirale amfipatike që është e aftë të targetojë peptidin në membranën qelizore (152); 2) rajoni i mesëm i *agrD* kodon tetë mbetjet fundore të molekulës AIP-I (150) dhe 3) 14 mbetjet C-terminal arrijnë të formojnë një spirale dhe synojnë të kenë mbetje të shumta me ngarkesë negative (154).

Këto tre zona të përgjithshme janë ruajtur në mesin e të gjitha llojeve stafilokoksike, (figura 2.4) (155, 156). Spirali N-terminal mund të variojë ndjeshëm në sekuencat me vetëm një mbetje glicinë e cila ruhet absolutisht; megjithatë veçoritë amfipatike vazhdojnë të ruhen. Ky spiral është i aftë të targetojë propeptidin *agrD* në membranën qelizore, që mesa duket është e lidhur me *agrB* për procesin (157).

Shkurtimi i 12 mbetjeve të para mund të tolerohet në disa AIP-I të cilat janë duke u prodhuar, por këputja e 14 mbetjeve ndalon sintezën e AIP-I. Nëse seksioni i hequr zëvendësohet me një spirale amfipatike artificiale, prodhimi i AIP-I mund të shpëtohet, duke sugjeruar se funksioni i kësaj pjese është membrana e targetuar, por nga ana tjetër jo domosdoshmërisht mund të ndërmjetësojë ndonjë ndërveprim specifik me *agrB*.

Zëvendësimi i N-terminal me një spirale transmembrane orienton peptidin në anën citoplazmike të membranës që frenon prodhimin e AIP, duke treguar që drejtuesi N-terminal duhet të jetë amfipatik për të kryer funksionet e veta (152).

Rajoni AIP-kodues i *AgrD* paraqet divergjencë të konsiderueshme ndërmjet specieve edhe pse disa tipare ngelen të qëndrueshme. Mbetja më shumë e ruajtur është cisteina e cila është e nevojshme për të formuar strukturën unazore tiolakton të AIP-së. Por ndërmjet specieve streptokoksike vihen re disa përjashtime, si p.sh, speciet *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* dhe *S. delphini*, si dhe disa gram pozitive të tjera si *Clostridium difficile* dhe *Enterococcus faecalis*, në vend të cisteinës kanë serinën dhe prodhojnë një AIP që përmban një lidhje laktoni (figura 2.4).

Bishti C-terminal është pjesa më e ruajtur e *agrD*, sidomos nëntë mbetjet e para (145). Bishti gjithmonë fillon me aspartat dhe glutamat, ndërsa dy aminoacidet e para ndiqen nga dy mbetje të tjera absolutisht të konservuara të cilat janë prolina dhe glutamati të pozicionuara në pozicionin e gjashtë dhe të tetë. Pra si përfundim bishti C-terminal nuk ka një rol funksional.

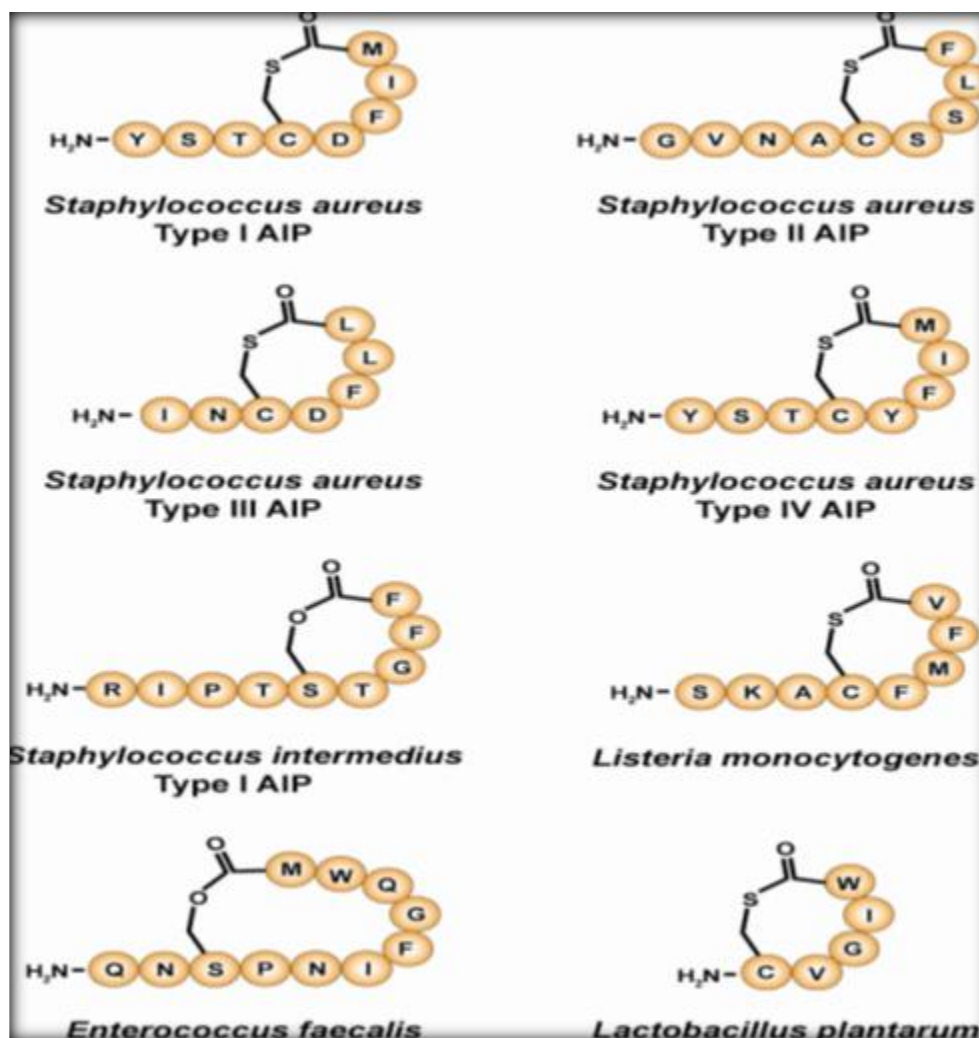


Figura 2.3 Molekulat AIP të prodhuara nga specie të ndryshme

Paraqitja strukturore e AIP nga specie të ndryshme, duke përfshirë katër lloje agr të *S. aureus*. Secili AIP përmban një unazë makrociklike e formuar nga çdo lidhje thioester ose ester, si dhe një bisht N-terminal (përveç *L. plantarum*) (112).

	<i>Lideri N-fundor</i>	<i>AIP</i>	<i>Bishti C-terminal</i>
<i>S. aureus</i> I	MNTLFLNLFDFDITGILKNIGNIAA	YSTCDFIM*	DEVEVPKELTQLHE
<i>S. aureus</i> II	MNTLVNMFDFDIKLAKAIGIVG	GVNACSSLF*	DEPKVPAELTNLYDK
<i>S. aureus</i> III	MKELLNKEVIELLVDFPNSIGYRAAY	INCDPLL*	DEAEVPKELTQLHE
<i>S. aureus</i> IV	MNTLYKSFFDFITGVLNIGNVAS	YSTCYFIM*	DEVEIKELTQLHE
<i>S. arlettae</i>	MNLLNSFFSFFAKFFELIGTVAG	VNPGGWF	DEVEVPKELTKLSE
<i>S. auricularis</i> I	MKLVNLLSSTTSFLQMVGNRQK	AKTCTVLY	DEVEVPKELTQELEK
<i>S. auricularis</i> II	MKLLLOLLSSTTSFLQMVGNRSK	TKTCTVLY	DEVEVPKELIQELEK
<i>S. capitis</i> I	MIMNSLFLNLIKFFFTVIFEFIGFVAG	ANPCQLYY	DEVEVPKELSKLYE
<i>S. capitis</i> II	MIMDALFNLVLKFTTIIFEFIFGVAG	ANPCALYY	DEVEVPKELSKLYE
<i>S. caprae</i> I	MNQIINLLFKVITAVFEKIGFIAG	YSTCSYFF	DEVEVPKELLEIYK
<i>S. caprae</i> II	MKMMQIFDOLLFKVISFIFEKIGFLAG	YRTCNTYF	DEVEVPKELFETVQK
<i>S. carnosus</i>	MDILNGIFEFFAFIFEQIGNIAK	YNPCVGYF	DEVEVPSELLDEQK
<i>S. cohnii cohnii</i>	MHIFESIINLFFVKFFSVLGAHSV	GKVC SAYF	DEVEVPKELTDLYK
<i>S. cohnii urealyticus</i>	MNIFESILTVFAKFFAFIGTISS	VKPGTGFA	DEVEIKELTDLYK
<i>S. epidermidis</i> I	MENIFNLFIKFFTTILEFIFIGTVAG	DSVCASYF*	DEVEVPKELTKLYE
<i>S. epidermidis</i> II	MNLLGGLLLKIFSNFMAVIGNASK	YNPCSNYL	DEPQVPELTKLDE
<i>S. epidermidis</i> III	MNLLGGLLLKIFSNFMAVIGNAAK	YNPCASYL	DEPQVPELTKLDE
<i>S. gallinarum</i>	MNILDSSLNLATKFFSALGASVG	ARPCGGFF	DEVEVPAEITELHK
<i>S. haemolyticus</i>	MTVLVDLIKLFLLQSIGTIAS	FTPCITYF	DEVEVPKELTNAK
<i>S. hominis</i>	MTFITDLFIKLFSLILETVGTLAS	QTVCSGYF	DEVEVPKELTNLKR
<i>S. intermedius</i>	MRILEVLNLIITNLFQSIGTFA	RIPSTGFF*	DEVEIPALLEEK
<i>S. lugdunensis</i> I	MNLLSGLFTKGISAIPEFIGNFSAQ	DICNAYF*	DEVEVQELIDLQRKQLIESV
<i>S. lugdunensis</i> II	MNLLSGLFTKGISVIFEFIGNFSAQ	DMCNGYF	DEVEVQELIDLHRN
<i>S. pseudintermedius</i> I	MRILEVLNLIITNLFQSIGTFA	RIPSTGFF	DEVEIPALLEEDK
<i>S. pseudintermedius</i> II	MRILEVLNLIITNLFQSIGTFA	RIPSTGFF	DEVEIPALLEEDK
<i>S. pseudintermedius</i> III	MRILEVLNLIITNLFQSIGTFA	KIPTSTGFF	DEVEIPALLEEDK
<i>S. pseudintermedius</i> IV	MRILEVLNLIITNLFQSIGTFA	KYPTSTGFF	DEVEIPALLEEDK
<i>S. saprophyticus</i>	MNVIKSISKSISKSISNYFAKVFASIGSIST	INPCFGYT	DESEIPKELTDLYE
<i>S. simulans</i> I	MDLLNGIFKLFPAFIFEKIGNLAK	YNPCLGFL	DEFTVPKELLEEDK
<i>S. simulans</i> II	MELNGIFKLFPAFIFEKIGNLAK	YYPFCGYF	DESEVPELLEDEDK
<i>S. xylosus</i>	MNIFESIINLFAKFFSVLGV MAG	AKPCGGFF	DEVEVPEITKLYE
<i>S. warneri</i>	MEFLVNLFFFFFTSIMEFVGFVAG	YSPCTNFF	DEVEVPELTKIYES
<i>B. cereus</i>	MKNMKKRLMDEVKHNVSALGYIAIKSGEAA	EKLCIGFG	YEPVPTTELLKLNKEKE
<i>B. halodurans</i>	MKRTARVISKATLGISKAF	VNASSPLI	YAFKIPNGLKKQK
<i>B. sphaericus</i>	MKKIQHMFAEGLTKLFFVVGGLSV	MNFCVLYS	FETIPEELKK
<i>C. acetobutylicum</i>	MNLEEQLNEVNDKFIKGLGKASMKIGEQA	GKCVLVTL	YEPKMPPELLKENIDE
<i>C. beijerincki</i>	LIENLLETSLQYLKELAVNIAESSAS	KCCFSGGL	YESKFPKELLELEE
<i>C. botulinum</i> I	MKKNKKVLMVATPTLLASIVA	SSACYWCV	YQFKEPKCLREE
<i>C. botulinum</i> II	MEKQKKEKCVKVTAKLLESVAYSAA	DSACVVGI	YQFKEPKSLRK
<i>C. difficile</i> I	MKEFIVRFMKFASSLALSTAILSA	NSTCPWII	HQFKVPKEISNLKKTN
<i>C. difficile</i> II	MKKIALNLLKNISALSFGI AVLSA	NSASSWA	HQAKEPQALQKLRK
<i>C. novyi</i>	MKIMNKLKSGIAKTISKISTOVAYTSTE	ACVSLNGL	EFPKMPKVLKKTK
<i>C. perfringens</i>	MKELNKNLLTLFAALTTVIATTVA	TSACIWF	HQFEEPKSLRDE
<i>E. faecalis</i>	MEFGKIIKNIKRVKAVSDGVGTEKPRLN	QNSPNIFGQNM*	GQTEKPKKNIK
<i>L. plantarum</i>	MKQKMYEAIHLFYVGAQLVMC	CVGIW*	FETKIPDELK
<i>L. innocua</i>	MKNMKS VGKFLSRKLEEQSMKVADSSM	SKACPMFV	YEPKSPFVKMQERNENK
<i>L. monocytogenes</i>	MKNMKS VGKFLSRKLEEQSMKVADSSM	SKACPMFV	YEPKSPFVKMQERNENK
<i>L. welshimeri</i>	MKNMKS VGKFLSRKLEEQSMKVADSSM	SKACPMFV	YEPKSPFVKMQERNENK

Figura 2.4 Shtirija e sekuencave të AgrD

Sekuencat AgrD të specieve stafilokoksike dhe jo vetëm. Sekuencat ndahen në tre rajone: udhëheqësi N-terminal, rajoni i kodimit AIP (me ngjyrë të theksuar) dhe bishti i C-terminalit. Asteriskët (*) tregojnë AIP-të për të cilat struktura e AIP është konfirmuar. Mbetjet janë të ngjyrosura me ngjyrë të kuq (112)

2.8 AgrB

AgrB është një proteinë me madhësi 22 kDa dhe e lokalizuar në membranën qelizore (158). *AgrB* është enzima kryesore përgjegjëse në procesin e *agrD* për të dhënë produktin final që është AIP (110). Shumë studime kanë paraqitur që *agrB* ka aktivitet endopeptidazë e cila mund të heqë bishtin C-terminal të *agrD* (153, 159). Dy mbetje janë identifikuar si thelbësore për aktivitetin proteolitik të *agrB*, histidinë-77 dhe cisteinë-84, duke sugjeruar që *agrB* vepron si proteazë (153). Këto dy mbetje janë absolutisht të ruajtura në të gjitha proteinat *agrB* të njohura duke theksuar rëndësinë e tyre në funksionin e *agrB*. Mutacionet shtesë në ruajtjen mjaft të mirë të serinës dhe histidinës nuk e inhibojnë prodhimin e AIP por implikojnë më tej dy mbetje të identifikuara duke formuar qendrën katalitike (153).

Në shumë aspekte *agrB* është tipari më i veçantë në sistemin *agr* të stafilokokëve bazuar në mungesën e sekuencave të ngjashme të proteinave të tjera kuorum të ndjeshmërisë.

AgrB nuk ndajnë homologji me proteazat cisteinë ose proteinat e tjera (130). Kur bëjmë krahasimin e sekuencave të ndryshme *agrB* në tipet *agr* të *S. aureus*, shpesh haset një sasi e konsiderueshme variacionesh ndërmjet shtameve. Vetitë e përgjithshme si seksioni hidrofobik të cilat përmbajnë seksione transmembranore janë të ruajtura edhe pse sekuencat e këtyre rajoneve janë të ndryshme (një tipar i përbashkët i proteinave integrale membranore homologe).

Interesante është që rajoni N-terminal i *agrB* është ruajtur mjaft mirë në llojet streptokoksike ku 34 mbetjet e para janë ruajtur absolutisht në katër tipet *agr* të *S. aureus*. Ky rajon është i nevojshëm për funksionin e *agrB*, megjithëse roli i saj në prodhimin e AIP është akoma i paqartë (153).

Zhang *et al*, në studimin e tyre u përpoqën të përcaktonin topologjinë e *agrB* brenda membranës citoplazmike (figura 2.5) (159). Duke përdorur fuzionin e fosfatazës alkaline u arrit të përcaktohej pozicioni i rajoneve transmembranore të përfshira në *E. coli*. Kjo metodë gjeneroi një hartë topologjike me gjashtë rajone transmembranore, në të cilën të dy mbetjet terminale N dhe C janë përcaktuar të jenë brenda qelizës ndërsa mbetja 27 si syth (loop) është e lokalizuar jashtë qelizës. Studimet topologjike kanë treguar që mbetjet katalitike janë të lokalizuara në pjesën citoplazmike të membranës (153).

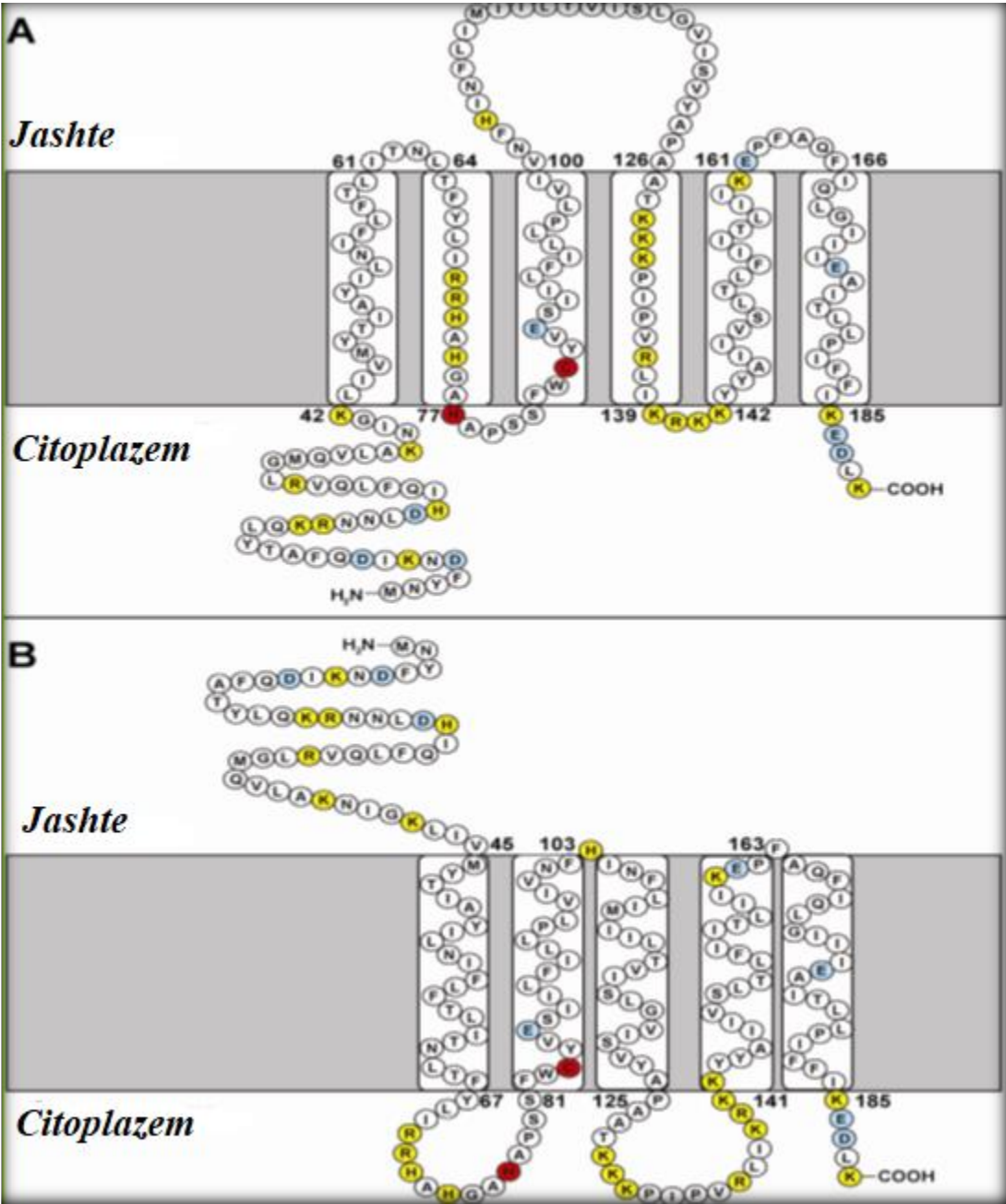


Figura 2.5 Harta topologjike e AgrB (112, 113)

Harta topologjike e AgrB bazuar në fuzionet e fosfatazës alkaline të raportuara nga Zhang, et al (159). (B) Topologjia e AgrB siç është parashikuar nga software TOPCONS topology analysis (157, 159, 160). Mbetjet e ngarkuara pozitivisht janë treguar në të verdhë, mbetjet negative janë në ngjyrë blu. Mbetjet e kuqe shënojnë mbetjet katalitike të proteazës.

2.9 Mekanizmi i zhvillimit

Që nga raportimi fillestar i prodhimit të AIP-së nga *agrB* dhe *agrD* në 1995 (150) ka pasur vetëm një numër të kufizuar të studimeve të cilat kanë analizuar mekanizmin e biosintezës e krahasuar kjo edhe me studimet e kryera në rregullimin e *agr* dhe në rolin e virulencës. Kjo mund të reflektojë natyrën e vështirë të kryerjes së studimeve biokimike në një proteinë membranore integrale e kombinuar me faktin se *agrB* nuk paraqet homologji me proteinat e tjera. Megjithatë ka pasur dhe disa përparime të cilat kanë dhënë dritë në të kuptuarit se si *agrD* jep si produkt final AIP.

Zhang *et al.*, ishin të parët që demonstruan që *agrB* vepron si një proteazë e lidhur ngushtë me *agrD* (159). Duke përdorur epitopet e etiketuara të *agrD* nëpërmjet imunoblot u demonstrua varësia copëtuese e *agrB* në *agrD*. Produkti i parë mbizotërues që shihet tek *agrD* paraqet mungesë të bishtit C-terminal, gjë që tregon se heqja e këtij bishti është një hap më i herët që ndodh në procesin e *agrD*. Ky aktivitet copëtimi eliminohet nga mbetjet katalitike si histidinë-77 apo cisteinë-84 (153).

AgrB mund të inhibohet gjithashtu nga disa inhibitorë proteazë. Është parë se disa inhibitorë serine-proteaza (AEBSF, VFK-CMK, dhe TPCK) janë shumë efektiv, ndërsa disa serina të tjera si (inhibitor frenues të trombinës, inhibitor sojë trypsin dhe aprotinin) si dhe cisteinë (E-64, E-64D, NCO-700 dhe Z-Phe-Gly-NHO-Bz) nuk janë inhibitor proteaz shumë të efektshëm.

Inhibitorët serine-proteaza të cilët ishin shumë efektiv kishin gjithashtu dhe specifitet për cisteinë-proteazën, megjithatë arsyeja pse inhibitorët cisteinë-proteazat nuk kanë një efekt ngelet akoma e paqartë.

Për të bërë molekulën finale AIP, lideri N-terminal duhet të hiqet nga *agrD*. Tipi I i sinjal peptidazës SpsB është identifikuar si një enzimë e aftë e cila arrin të copëtojë liderin N-terminal të *agrD*. Sinjal peptidazat janë proteaza membranore lidhëse, përgjegjëse për largimin e N-terminal sinjal peptidazës. Si proteina që janë, ato janë sekretuar nëpërmjet rrugës së sekretimit Sec ose Tat (161). Në mbështetje të këtij mendimi inhibitorët sinjal-peptidazë janë të aftë të pengojnë prodhimin e AIP dhe aktivizimin e *agr* në të dy llojet *agr* I dhe *agr* II sëbashku (151).

Megjithatë akoma ngelet e patestuar nëse sinjal peptidaza përfshihet në prodhimin e AIP në llojet e tjera të Stafilokokëve. Sinjal peptidaza është e aftë që të copëtojë në mënyrë tipike mbetjet e vogla të pa ngarkuara që gjenden në pozicionet 1 dhe 3 të anës që do të copëtohet (162).

Peptidet *agrD*-I, II, dhe IV të *S. aureus* i përshtaten këtij modeli ashtu si shumë *agrD* të tjera Stafilokoksike, por disa prej tyre përmbajnë mbetje të tilla si lizina ose tiroizina në pozicionin e parashikuar 1, në të cilin mund të ndërpritet aktiviteti i sinjal peptidazës. Studimi i mëtejshëm është i nevojshëm për të verifikuar kërkesën universale të sinjal peptidazës në biosintezën e AIP.

Duke përdorur të gjitha gjetjet eksperimentale të përshkruara më lart, në figurën e mëposhtme është paraqitur një model për biosintezën e AIP (figura 2.6) (114, 154). Hapi i parë është lidhja e *agrD* me membranën citoplazmike përmes liderit të saj N-terminal.

Në membranë, *agrB* katalizon cisteinën në varësi të mësymjes nukleofilike në *agrD* duke çuar kështu në heqjen e bisht C-terminal. Kjo ndodhi e copëtimit rezulton në formimin e një lidhje kovalente të ndërmjetme në të cilën *agrD* dhe *agrB* lidhen përmes një lidhje tioester. Për të krijuar një unazë tiolakton, cisteina e brendshme e *agrD* kryen një shkëmbim të tioester me lidhjen e ndërmjetme *agrD-agrB* duke hequr prekusorin e AIP. Në këtë pikë, prekusori transportohet nëpër membranë prej *agrB*, ndërsa sinjal peptidaza SpsB largon udhëheqësin N-terminal për të liruar AIP në mjedisin ekstraqelizor. Ndërsa disa nga hapat si p.sh targetimi i *agrD* në membranë, copëtim i *agrB* të ndërmjetësuar dhe copëtimi i SpsB të ndërmjetësuar janë të demonstruara, prova të tjera eksperimentale janë duke u mbështetur në zbulimin e hapave të tjerë që mungojnë.

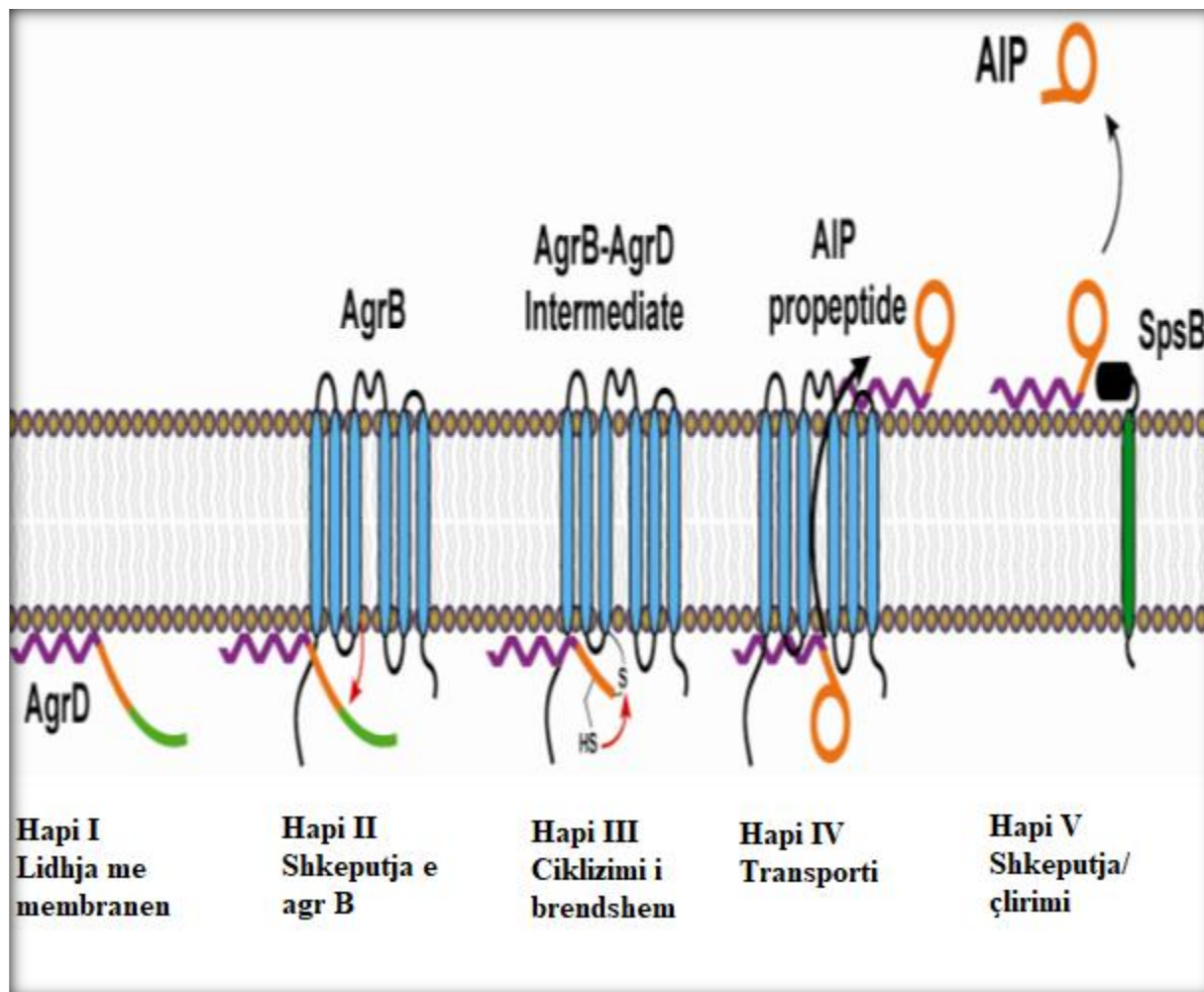


Figura 2.6 Modeli i rrugës biosintetike të AIP-së*

*Hapi 1, heliksi amfipatik N-terminal lidhet me membranën citoplazmike. Hapi 2, AgrB heq bishtin C terminal të AgrD. Hapi 3, Pjesa e mbetur e fragmentit peptidik AgrD (N-terminal dhe pjesën AIP) është lidhur tek AgrB si një tioester i AgrB në mbetje C84. Mbetjet cisteines AgrD mund të atakojë lidhjen e tioesterit duke zhvendosur peptidin dhe duke formuar unazen tiolaktone. Hapi 4, Prekusoro AIP (heliksi N-dhe tiolaktone AIP) transportohen në sipërfaqen e jashtme të membranës. Hapi 5, SpsB largon heliksin amfipatik, duke liruar AIP nga membrane (112).

2.10 Zhvillimi specifik i tipit

Në ngjashmëri të variabilitetit të sekuencave të *agrD* në tipe të ndryshme të *agr*, edhe vetë *agrB* është gjithashtu e përfshirë me secilën klasë të sinjalit AIP. Ky bashkë-evolucion rezulton në specifitetin e grupit që mundëson çdo *agrB* të proçesojë propeptidet *agrD* të të njëjtit tip *agr*.

Në këtë rast *agrB*-I ose *agrB*-III mund të prodhojnë AIP tip I ose tip III, por asnjëherë nuk mund të përdorin *agrD*-II si substrat për prodhimin e AIP (143). Në mënyrë të ngjashme dhe *agrB*-II mund të proçesojë vetëm *agrD* II.

Në përpjekje për të përcaktuar rajonet *agrB* përgjegjëse për specifitetin e grupit, kimerat janë prodhuar me seksione të ndryshme të *agrB*-I dhe *agrB*-II (163), ndërsa për të proçesuar *agrD*-I, *agrB* duhet të përmbajë një pjesë e cila përfshin segmentin e parë transmembranor të sekuencës të Tipit I, pikërisht mbetjet 43-66, ndërsa pjesa tjetër e proteinës mund të jetë e Tipit II.

Në të kundërt, *agrD*-II kërkon një nga dy segmentet e *agrB*, pikërisht mbetjet 67-75 ose 126-141 që janë të Tipit II. Këto rajone korrespondojnë si rajonet e dyta dhe të katërta transmembranore bazuar në hartën topologjike të publikuar (159) ose në dy seksionet e citoplazmës bazuar në modelet e parashikimit kompjuterik. Të dyja këto seksione janë ruajtur mjaft mirë në mesin e Tipeve I dhe II, me gjashtë nga nëntë mbetjet identike në segmentin e parë dhe 12 nga 16 të pjesës së dytë duke ngushtuar mbetjet e mundshme kritike në të diktuarit të specifitetit. Gjithësesi duhet pasur parasysh se produkti i AIP është matur si prodhim dhe është e paqartë nëse dallimet e specifitetit janë për shkak të njohjes së peptideve *agrD*, copëtimit, formimit të unazës thiolactone apo transportit të peptideve pas përpunimit.

2.11 Ndjeshmëria e AIP-së

Për të përfunduar rrethin kuorum-ndjesi është thelbësore që bakteret të jenë në gjendje të ndjejnë dhe tu përgjigjen sinjaleve të sekretuara. Në *S. aureus* ky rol kryhet nga sistemi rregullator dy-komponent *agrC* dhe *agrA*. Kur AIP akumulohet në një koncentrim të mjaftueshëm ai është në gjendje të lidhet dhe të aktivizojë receptorin *agrC* (EC50 afërsisht 10-30 nm.) (150, 133). AgrC autofosforilon vetveten dhe ndiqet nga transferimi i grupit fosfat në përgjigjen regullatore të *agrA* (164). Fosforilimi aktivizon *agrA*, kështu që ai mund të lidhet tek sekuencat promotore dhe te transkriptimi i mbirregulluar (upregulate transcription) (165). AgrA aktivizon promotorin *agr P2* që çon në rritjen e transkriptimit të operonit *agrBDCA* dhe autoamplifikimit të sistemit *agr* (135). Aktivizimi i promotorit *agr P3* nxit transkriptimin e ARNIII që është rregullatore për ARN dhe shërben si molekulë kryesore efektore që merr pjesë në rregullimin e prodhimit të faktorit virulent.

2.12 AgrC

Dimerët *agrC* shërbejnë si receptor për AIP (174). AgrC përbëhet nga dy domeneve të përgjithshme, domenin sensor i membranës integrale dhe domeni i histidine-kinazës citoplazmike. Domeni C-terminal i histidinë-kinazës ruhet mjaft mirë ndërmjet specieve streptokoksike ndërsa domeni N-terminal është diametralisht divergjent në sekuenca. Kjo reflekton diversifikimin që ka ndodhur në mesin e receptorit *agrC* duke j`u lejuar atyre të njohin sinjalet divergjente të AIP ndërsa ruajnë funksionin konservues të fosforilimit të *agrA* në njohjen e AIP-së.

Lidhja e AIP-së tek *agrC* ndodh jashtë qelizës nëpërmjet domenit sensor. Domeni sensor përbëhet nga gjashtë spirale transmembrane dhe tre sythe ekstraqelizore (145). Njohja e AIP-së mendohet se ndodh kryesisht nëpërmjet sythave unazorë 1 dhe 2.

Sythi 1 mendohet se bashkëvepron me pjesën e pasme të AIP ndërsa sythi 2 njih mbetjet e unazës makrociklike të AIP.

Në këto sythe mund të bëhen zëvendësime të cilat ndryshojnë specifikat e receptorëve për sistemet e ndryshme të AIP-së, duke theksuar rëndësinë e këtyre rajoneve në njohjen e AIP. Sythi 3 dhe spiralet transmembranore 5 dhe 6 mendohet se ndërmjetësojnë transferimin e sinjalit përmes membranës për të aktivizuar domenin histidinë-kinazë. Fosforilimi *agrC* ndodh nëpërmjet një mekanizmi trans-autofosforilimi (164). AIP lidh dimerin *agrC* dhe pasi lidhet tek një monomer ndodh një ndryshim strukturor i cili aktivizon të dy domenet histidinë-kinazë të autofosforilohen. Grupet fosfat më pas transferohen në *agrA*.

2.13 AgrA

AgrA është një rregullator transkriptimi që i përket familjes së rregullatorëve LytTR (166). Eksperimentet e EMSA me promotorin P2 të *agr* tregojnë se: *agrA* (Kd = 0,16 nM) lidhet si një dimer me afinitet të lartë, dhe ky afinitet është 24 herë më i lartë krahasuar me *agrA* e pafosforilizuar (Kd = 3.8 nM) (165).

Testet e gjurmimit të AND-se I në rajonet e promotorëve P2-P3 demonstrojnë dy rajone mbrojtëse, të cilat e mbështjellin direkt zonën *agr* pasi e kanë identifikuar më parë sekuencën LytTR.

AgrA ka afinitet lidhës më të lartë me promotorin P2 sesa me P3 (Kd 0.16 nM vs 1.7 nM). Ky ndryshim mund të shpjegojë pse promotori P2 inicohet përpara promotorit P3 kur aktivizohet sistemi *agr*.

2.14 ARNIII

ARN III është rregullatori i nukleotidit 514 të ARN. Ai është përgjegjës për pjesën më të madhe të rregullimit të gjeneve që ndodhin kur *agr* është aktivizuar. Transkribohet nga promotori P3 i cili është afër promotorit P2, por që ndodhet në drejtim të kundërt me të.

Brenda ARN III është gjeni hld që kodon delta-toksinën, një peptid amfipatik me 26 aminoacide i cili është i aftë për të formuar poret brenda membranave qelizore (167). Kur transkripti ARN III u zbulua për here të parë u besua se delta-toxina ishte ndërmjetësuese për shumicën e efekteve rregullatore, megjithatë analiza të mëtejshme zbuluan se përgjegjëse për këtë ishte vetë m-ARN (123).

Struktura sekondare e ARN III përbëhet nga 14 kthesa të plota në formë karfice (furqeta) (168). Pranë pjesës fundore të drejtimimit 5' është një rajon përgjegjës që nxit procesin e përkthimit të alfa-toksinave si dhe një rajon që përmban gjenin hld. Afërsisht në fund të rajonit 3' janë furqetat (pikërisht numrat 12-14) të përfshira në rregullimin negativ të procesit të përkthimit. Përmbajtja e lartë e strukturave si furqeta i mundëson ARN III të ketë një gjysmë jetë të pazakontë në kulturë deri në 45 minuta (143, 169).

ARN III rregullon shprehjen e gjeneve në nivelin e përkthimit duke u bazuar në m-ARN e gjeneve të shumta të virulencës si dhe rregullatorin e transkriptimit Rot.

ARN III mund të nxisë përkthimin nëpërmjet çlirimit të furqetave të ARN I dhe krijimit të një zone lidhëse ribozomale të mundshme (ribosome binding site RBS) si ato me alfa-toksina (124). Për dallim, ARN III gjithashtu pengon përkthimin duke u bazuar në rajonet 5' të paplotësuar të m-ARN, shpesh duke mbivendosur RBS dhe duke formuar struktura dyfish të m-ARN-së të panjohura nga kompleksi i inicimit të përkthimit (138-141). Formimi i ARN-ve të dyfishta ka efekt të dyfishtë në krijimin e një substrati për RNase III i cili do të bashkohet me m-ARN e targetuar për të hequr RBS dhe për të ulur gjysmën e jetës së ARN (140, 169). Ndalimi i përkthimit Rot çon në ndryshime të mëdha në rregullimin e gjeneve, duke rezultuar në rritjen e sekretimit të faktorëve të virulencës dhe nënregullimin e proteinave sipërfaqësore (170). Përmes këtyre mekanizmave ARN III rregullon pozitivisht ose negativisht shprehjen e faktorëve të shumta të virulencës në nivele të shumëfishta (tabela 2.1).

2.15 Roli i *agr* në Patogjenezë

S. aureus është një nga shkaqet më të zakonshme të infeksioneve bakteriale dhe ato nazokomiale në Amerikë. Ky patogjen mund të shkaktojë një spektër të larmishëm të infeksioneve të cilat mund të jenë akute, kronike ose toksina të ndërmjetësuar që prekin një pjesë të madhe të trupit të njeriut (39, 171). Rritja e prevalencës së MRSA së *S. aureus* dhe shfaqja e këtyre shtameve në komunitet janë kthyer tashmë në një problem madhor për shëndetin publik kudo në botë (172-177). Shumica e manifestimeve akute të sëmundshmërisë i janë atribuar arsenalit të faktorëve të virulencës së sekretuar të nxitur nga sistemi *agr*. Për këtë arsye nuk është e habitshme që sistemi *agr* luan një rol të rëndësishëm kur ekzaminohet patogjeneza e *S. aureus* (178).

KAPITULLI III

3. MATERIALI DHE METODAT

3.1 Materiali

3.1.1 Zona e studimit

Ky studim është kryer në Laboratorin e Mikrobiologjisë pranë Qendrës Spitalore Universitare “Nënë Tereza”, për një periudhë 4 vjeçare. Mostrat për ekzaminim janë marrë në pacientët e hospitalizuar pranë pavioneve të ndryshëm në QSUT si dhe pacientët ambulator.

Stafilokokët janë një grup mjaft rezistent në ambjentet e jashtme, për këtë arsye për ruajtjen e materialit të marrë për ekzaminim nuk kërkohen kushte të veçanta ruajtje dhe transportimi, por gjithësesi rekomandohet që kultivimi i mostrave të marra të kryhet sa më shpejt. Në raste pamundësie të një kultivimi brenda dy orëve nga moment i marrjes së mostrës, mostra është ruajtur në frigorifer, duke shmangur kështu mbritjen e bakteve të tjera. Është mjaft e rëndësishme që materiali për ekzaminim të merret përpara fillimit të mjekimit me antibiotikë, për këtë arsye kemi përjashtuar nga ky studim çdo rast që ka filluar trajtimin me antibiotik. Bazuar në sëmundjet që *S. aureus* shkakton, ai mund të kapet në materialet klinike dhe të japin kultura pozitive si mëposhtë (179).

1. Infeksionet ipogjenike të lëkurës (impetigo, forunkula, karbunkula etj)

Lëkura =>90% kultura pozitive

Gjaku =<10% kultura pozitive

2. Dermatiti eksfoliativ stafilokoksik

Nazofaringu =>90% kultura pozitive

Lëkura =<10% kultura pozitive

Gjaku =<10% kultura pozitive

3. Sindroma e shokut toksik

Vagina =>90% kultura pozitive

Lëkura =<10% kultura pozitive

Gjaku =<10% kultura pozitive

4. Endokarditi

Gjaku =>90% kultura pozitive (S. aureus)

Gjaku = 50-90% kultura pozitive (S. epidermidis)

5. Pneumonia

Sputuli = 50-90% kultura pozitive

Gjaku = 10-50% kultura pozitive

6. Helmime ushqimore

Ushqimi = 50-90% kultura pozitive

Fekale = <10% kultura pozitive

7. Artriti spetik

Lëngu synovial = 90% kultura pozitive

Gjaku = 50-90% kultura pozitive

3.1.2 Izolimi bakterial

Bazuar në çka më sipër, materiali që kemi marrë për detekimin e këtij infeksioni është nga: qelbi i plagëve të ndryshme, abseset ose fistulat, gjaku, urina, kultura vaginale dhe uretrale, infeksionet e lidhura me kateterin, sputum, lengu cerebrospinal, si dhe material nga sipërfaqet e trupit etj. Gjithashtu me ndihmën e një tamponi është marrë material nga hunda, gryka dhe veshi.

Për një periudhë 4 vjeçare të gjitha mostrat e ardhura pranë laboratorit janë analizuar me metodat konvecionale (cocci gram-pozitive, prova e katalazës-pozitive, prova e fermentimit të manitolit, prova e koagulazës dhe oksidazës). Të gjitha mostrat pozitive të izoluara janë ruajtur në -70°C për ripërdorim për testime të mëtejshme.

3.1.3 Kultura për ekzaminimin e *S. aureus*

Për të gjitha mostrat është përgatitur një preparat mikroskopik i ngjyrosur sipas Gramit për të evidentuar prezencën e baktereve. Mostrat (qelb, lëngjet me qelb, sputum, urinë, kulturat vaginale dhe uretrale etj) që paraqitën një prezencë bakteriale, u mbollën në terren me agar gjak dhe bujon tioglikolat për ekzaminimin e *S. aureus*. Fekalet dhe materialet e tjera shumë të kontaminuara janë mbjellë në agar gjak me 7.5% NaCl dhe në terre me kripë dhe manit. Përqindja e lartë e kripës bën të mundur frenimin e llojeve të tjera të baktereve sidomos atyre të gram-negative.

Për mostrat e ekzaminuara nga gjaku, sasia e nevojshme që kërkohen për tu mbjellë është 5-10 ml. Kjo sasi gjaku është mbjellë në 50-100 ml terren i lëngshëm (bujon i thjeshtë). Më pas të gjitha mostrat janë vendosur në thermostat për inkubim në 37°C për 18-24 orë.

3.1.4 Identifikimi i *S. aureus* në kulturë

Pas kohës së inkubimit 18-24 orë, kolonitë e *S. aureus* në terrenin me agar gjak janë të lëmuara, të rrumbullakta, opake, të njoma, të ndritshme dhe të grumbulluara si verige rrushi. Kanë përmasa të vogla 1-5mm në diametër (figura 3.1; tabela 3.1).

Për të gjitha kolonitë e dyshimta, është përzgjedhur materiali dhe me anë të një anse dhe janë kryer këto ekzaminime:

- a) është bërë mbjellja në agar gjak dhe në terren specifik për 24 orë për 37 C
- b) është bërë kalimi në një epruvetëm me plazëm të holluar për të bërë provën e koagulaës,
- c) është bërë kalimi në një epruvetë me bujon për të bërë antibiogramën,
- d) është bërë kalim në agar të pjerrët për të marrë njësubkulturë për prova të mëtejshme që do të përdoren për identifikimin e *S. aureus*.

* Duhet të theksojmë jo vetëm kolonitë me hemolizë dhe pigment të artë duhet t'iu nënshtrohen ekzaminimeve të mëtejshme, pasi tani më çdo koloni që rezulton me koke grampozitive, të vendosur në formë grumbujsh, mund të jenë *Stafilokok* patogjen potencial, panvarësisht nga mungesa e homolizës e pigmentit ose e të dyjave.

Tabela e mëposhtme paraqet në mënyrë të përmbledhur testet e ndryshme biokimike që përdoren për identifikimin e *Staphylococcus aureus*

Tabela 3.1 Karakteristikat dalluese të *S. aureus*

Karakteristikat bazë	Veçoritë e <i>Staphylococcus aureus</i>
Capsule	Non-Capsulated
Catalase	Positive (+ve)
Citrate	Positive (+ve)
Coagulase	Positive (+ve)
Gas	Negative (-ve)
Gelatin Hydrolysis	Positive (+ve)
Gram Staining	Positive (+ve)
H₂S	Negative (-ve)
Hemolysis	Positive (+ve)- Beta
Indole	Negative (-ve)
Motility	Negative (-ve)
MR (Methyl Red)	Positive (+ve)
Nitrate Reduction	Positive (+ve)
OF (Oxidative-Fermentative)	Fermentative
Oxidase	Negative (-ve)
Pigment	Mostly Positive (+ve)
PYR	Negative (-ve)
Shape	Cocci
Spore	Non-Sporing
Urease	Positive (+ve)
VP (Voges Proskauer)	Positive (+ve)
Fermentim i	
Arabinose	Negative (-ve)
Cellobiose	Negative (-ve)
DNase	Positive (+ve)
Fructose	Positive (+ve)
Galactose	Positive (+ve)
Glucose	Positive (+ve)
Lactose	Positive (+ve)
Maltose	Positive (+ve)
Mannitol	Positive (+ve)
Mannose	Positive (+ve)
Raffinose	Negative (-ve)
Ribose	Positive (+ve)
Salicin	Negative (-ve)
Sucrose	Positive (+ve)
Trehalose	Positive (+ve)
Xylose	Negative (-ve)
Reaksionet enzimatike	
Acetoin Production	Positive (+ve)
Alkaline Phosphatase	Positive (+ve)
Arginine Dehydrolase	Positive (+ve)
Hyalurodinase	Positive (+ve)
Lipase	Positive (+ve)
Ornithine Decarboxylase	Negative (-ve)

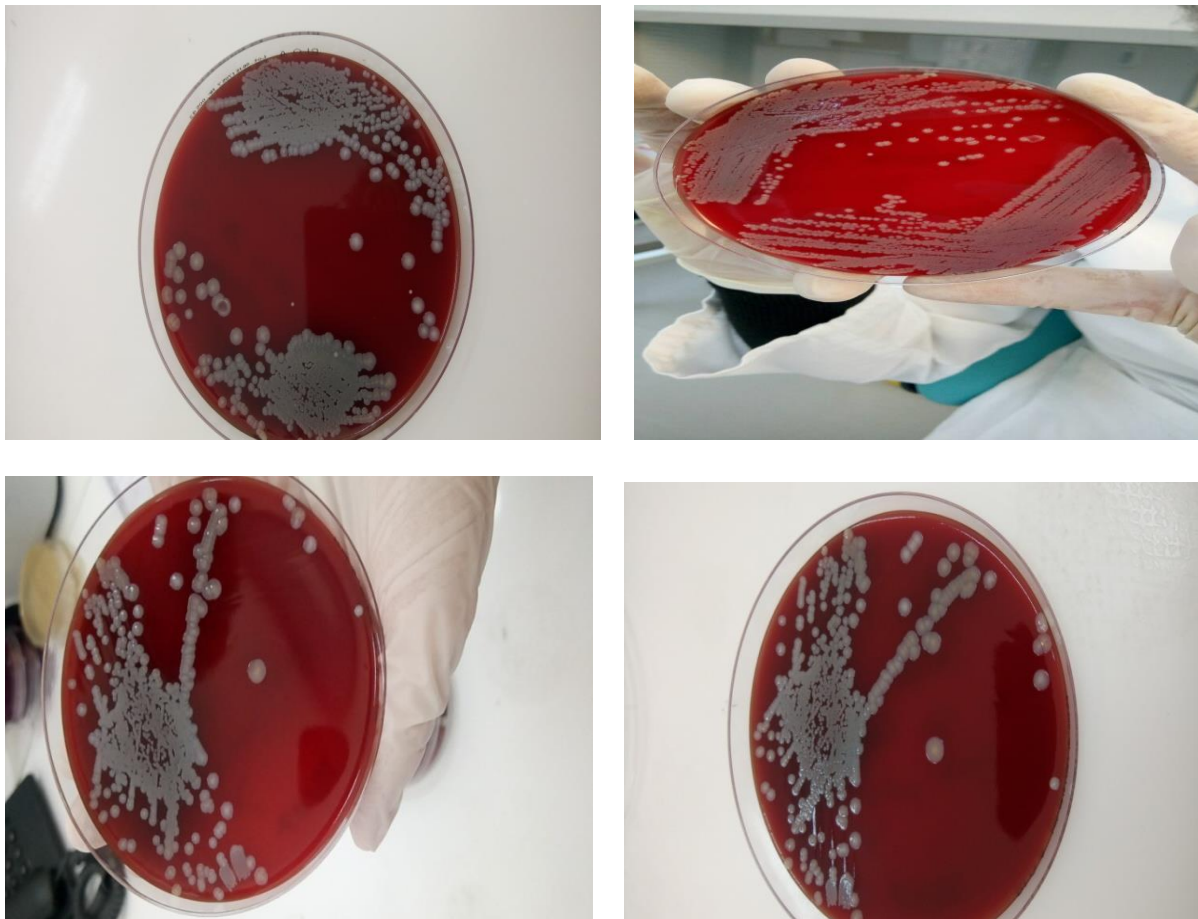


Figura 3.1 Pamje të kolonive *S. aureus* në laborator në terren agar gjak

a) Prova e katalazës

Ky test tregon praninë e katalazës, e cila është një enzimë që katalizon çlirimin e oksigjenit nga peroksidi i hidrogjenit (H_2O_2). Përdoret për të dalluar ato baktere që prodhojnë enzimën katalaze, si p.sh stafilokokët në ndryshim nga bakteriet që nuk prodhojnë katalase si streptokokët. Në kulturat rutinë zakonisht përdoret 3% H_2O_2 , ndërsa për zbulimin e katalazës tek anaerobët përdoret 15% H_2O_2 .

Parimi i testit të Katalazës

Enzima katalazë ndërmjetëson shpërbashkimin e peroksidit të hidrogjenit në oksigjen dhe ujë (formula e mëposhtme). Prania e enzimës në një izolat bakterial bëhet i dukshëm kur një inokulum i vogël futet në peroksid hidrogjeni dhe zhvillohet përpunimi i shpejtë i fluskave të oksigjenit. Mungesa e katalazës është e dukshme nga mungesa e prodhimit të dobët të fluskave. Kultura nuk duhet të jetë më shumë se 24 orë e vjetër.



Shpërbërja e peroksidit të Hidrogjenit me anë të enzimës Katalazë

Kjo provë bazohet në përcaktimin e pranisë së enzimave citokromoksidazë, të cilat janë të pranishme tek stafilokoket. Mbi një lamë mikroskopi është suspenduar kolonia që provohet më një pikë uji të oksigjenuar 30%. Kur kolonia është katalazë pozitive shfaqen bulëza të vogla si rezultat i zbërthimit të H_2O_2 në ujë me oksigjen. Gjatë kryerjes së kësaj prove duhet patur shumë kujdes gjatë marrjes së kolonisë me anë të ansës, kjo pasi gjatë manipulimit mund të merret dhe terren agar gjak duke na dhënë një rezultat falls pozitiv. Kjo gjë ndodh ngaqë eritricitet që gjenden në terren përmbajnë katalazë. Kjo provë edhe pse nuk ka ndonjë vlerë të veçantë në përcaktimin e stafilokokut *S. aureus* patogjen, na ndihmon në diferencimin e mikrokoqeve nga streptokoket.

Procedurat e testit Katalazë

Ky test mund të kryhet me anë të metodës në provëz ose më anë të metodës në lamë. Më poshtë po japim procedurën e punës për të dy metodat (figura 3.2).

Metoda në provës

1. Derdhet 1-2 ml solucion peroksid hidrogjeni në një provëz.
2. Me anë të një shkopi steril druri ose një shufër qelqi, merren disa koloni brenda 18 deri në 24 orëve të testimit dhe zhyten në tretësin e peroksidit të hidrogjenit.
3. Vëzhgohet me kujdes nëse do të kemi bulëzim brenda provëzës.

Metoda në lamë

1. Me anë të një anse ose shkopi druri steril transferohet një sasi e vogël e kolonisë në rritje në sipërfaqen e një lame.
2. Vendoset një pikë 3% H_2O_2 mbi lamë.
3. Vëzhgohet me kujdes për prezencën e flluskave të oksigjenit.

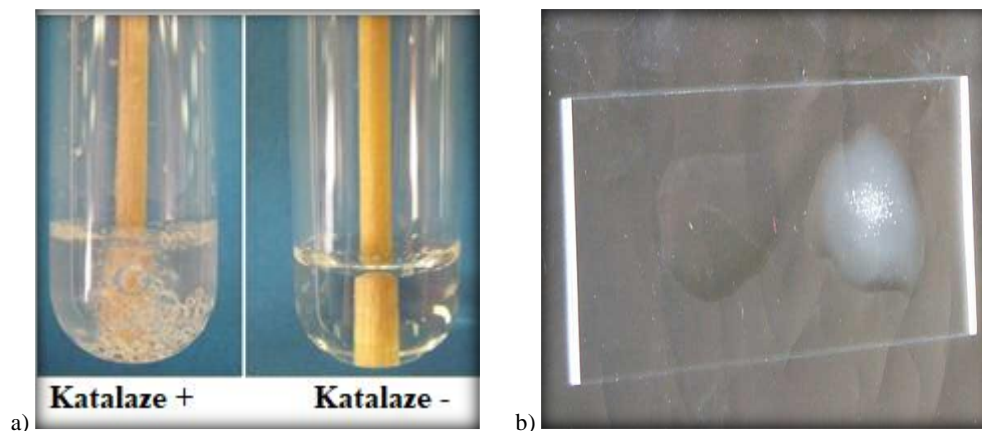


Figura 3.2 a)Metoda e katalazës në provëz

b)Metoda e katalazës në lamë

b) Prova e fermentimit të manitit

Në një epruvetë me bujon dhe fenol të kuq është mbjellë kolonia që do të provohet. Fermentimi i acidit të manitit ndërron ngjyrën e fenolit nga e kuqe në të verdhë në rastet të cilat janë pozitive (figura 3.3). Kjo provë është përdorur në studim si provë suplementare për *S. aureus* i cili rezulton pozitiv në krahasim me llojet e tjera të stafilokokëve si *S. epidermitis* dhe stafilokokët katalazë negative që janë negativ. Në rastet kur materiali i marrë për studim ka rezultuar me një florë bakteriale të përzier kemi përdorur fermentimin e manitit me terrenin e manitol salt agar i cili është mjaft selektiv për stafilokokët patogjen.

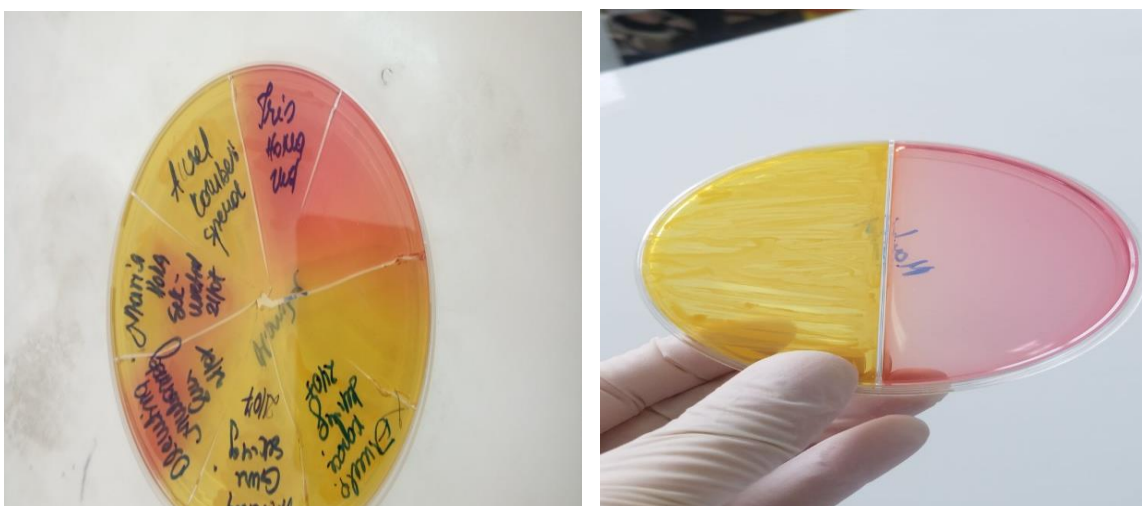


Figura 3.3 Kultura të *S. aureus* në fermentimin e manitit

c) Prova e koagulazës

Testi i koagulazës përdoret për të diferencuar speciet e stafilokokëve të cilët e prodhojnë ose jo enzimin koagulazë. *Staphylococcus aureus* (pozitiv) prodhon enzimin koagulazë, ndërsa *S. epidermis* dhe *S. saprophyticus* (negativ) nuk prodhojnë koagulazë, duke u klasifikuar si Coagulase Negative Staphylococcus (CONS).

Parimi i testit të koagulazës

Testi i Koagulazës përdoret për të diferencuar *Staphylococcus aureus* (pozitiv) nga ai negative [Coagulase Negative Staphylococcus (CONS)]. Koagulaza është një enzimë që prodhohet nga *S. aureus* që kthen fibrinogjenin në plazmë (soluble) në fibrin (insoluble). *S. aureus* prodhon dy forma të koagulazës: a) të lidhur dhe b) të lirë.

Koagulaza e lidhur (faktori clumping) kapet tek muri qelizor i qelizës bakteriale dhe vepron direkt me fibrinogjenin. Kjo sjell precipitim e fibrinogjenit në qelizën stafilokoksike e cila formon grumbuj kur bashkohen me plazmën. Ky proces nuk kërkon faktorë të tjerë të koagulazës.

Koagulaza e lirë përfshin në plazmë faktorin e aktivizimit të koagulazës [coagulase-reacting factor (CRP)], e cila është mund të jetë një molekulë e modifikuar ose derivat i trombinës e cila formon kompleksin Koagulazë-CRP. Është ky kompleks që vepron në kthimin e fibrinogjenit në grumbuj fibrine.

Procedura dhe Llojet e testit të koagulazës

Slide Test: Ky test shërben për të zbuluar koagulazën e lidhur në kolonitë e izoluara. Hapat që janë ndjekur në këtë test janë (figura 3.4):

Testi në epruvetë (për të zbuluar koagulazën e lirë)

1. Në një epruvetë qelqi hidhet 0.5 ml plazëm lepurit ose human në raportin 1:4 me tretësirën fiziologjike (ose mund të bëhet dhe hollimi në raportin 1: 10, përzierje 0.2 ml plazmë me 1.8 ml sol fiziologjik).
2. Merren 3 epruveta të vogla të cilat janë etiketuar si T (test), P (kontrolli pozitiv) dhe N (kontrolli negativ). Epruveta Test ka kulturë broth 18-24orë, Kontrolli pozitiv është kulturë broth i *S. aureus* 18-24 orë dhe Kontrolli negativ është kulturë broth sterile.
3. Pipetohet 0.5 ml e plazmës së holluar në secilin tub.
4. Shtohen 5 pika (0.1 ml) e organizmit test tek tubi i shënuar me “T”, 5 pika të kulturës së *S. aureus* tek tubi i shënuar me “P” dhe 5 pika të broth steril tek tubi i shënuar me “N”.
5. Pasi miksohen inkubohen të tre tubat në 35-37°C.

6. Ekzaminohet për mpiksjen pas 1 ore. Nëse mpiksja nuk ka ndodhur, atëherë mostrat janë parë çdo 30 minuta brenda një intervali prej 6 orësh.

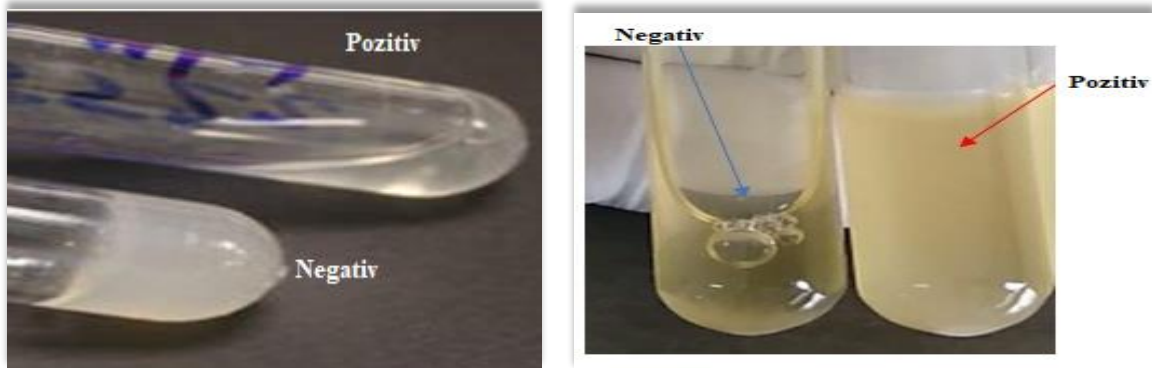


Figura 3.4 Testi i Koagulazës

Testi në lamë (zbulon koagulazën e lidhur)

1. Vendoset një pikë solucioni fiziologjik në secilin fund të slide, ose në dy slide të veçanta.
2. Me anë të një anse nje pjesë e kolonisë së izoluar dhe përzihet me çdo pikë solucioni fiziologjik për të bërë dy pezullime të trasha.
3. Shtohet një pikë plazmë humane ose lepurit në një nga suspensionet, dhe përzihet butësisht.
4. Pas 10 sekondave shikohet për mpiksjen e organizmave.
5. Në sunpesionin e dytë nuk shtohet plazmë. Kjo bëhet për të dalluar çdo paraqitje granulare të organizmit në ndryshim nga mpiksja e vërtetë e koagulazës (figura 3.5).



Figura 3.5 Testi koagulazës në Lamë

d) Prova e oksidazës

Prova e oksidazës përdoret për të parë prezencën e sistemit citokrom oksidazë i cili katalizon transportin e elektroneve ndërmjet dhuruesit të elektroneve të bakterieve dhe nje dioksid redoks tetrametil-p-fenilen-diamine. Ky test përdoret për të diferencuar llojet e ndryshme të bakterieve të cilat prodhojnë ose jo enzimën citokrom-oksidazë. Ato lloje të cilat e prodhojnë këtë enzimë janë llojet *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, *Vibrio*, *Brucella* dhe *Pasteurella*, karakteristikë e tyre është shfaqja e njollës në ngjyrë vjollce të thellë. Në këtë provë *S. aureus* konsiderohet si Oksidazë Negative pasi nuk e prodhon enzimën citokromoksidazë.

Procedura e testit të oksidazës

Ekzistojnë shumë metoda të ndryshme për testin e oksidazës si p.sh, testi i letrës së filtrit, metoda e drejtpërdrejtë e pllakave, metoda e mbështjelljes, metoda e shiritit të testimit të oksiduar të ngopur dhe metoda e tubit të provës. Flowchart i mëposhtëm paraqet testet e ndryshme të provës së oksidazës (figura 3.6).

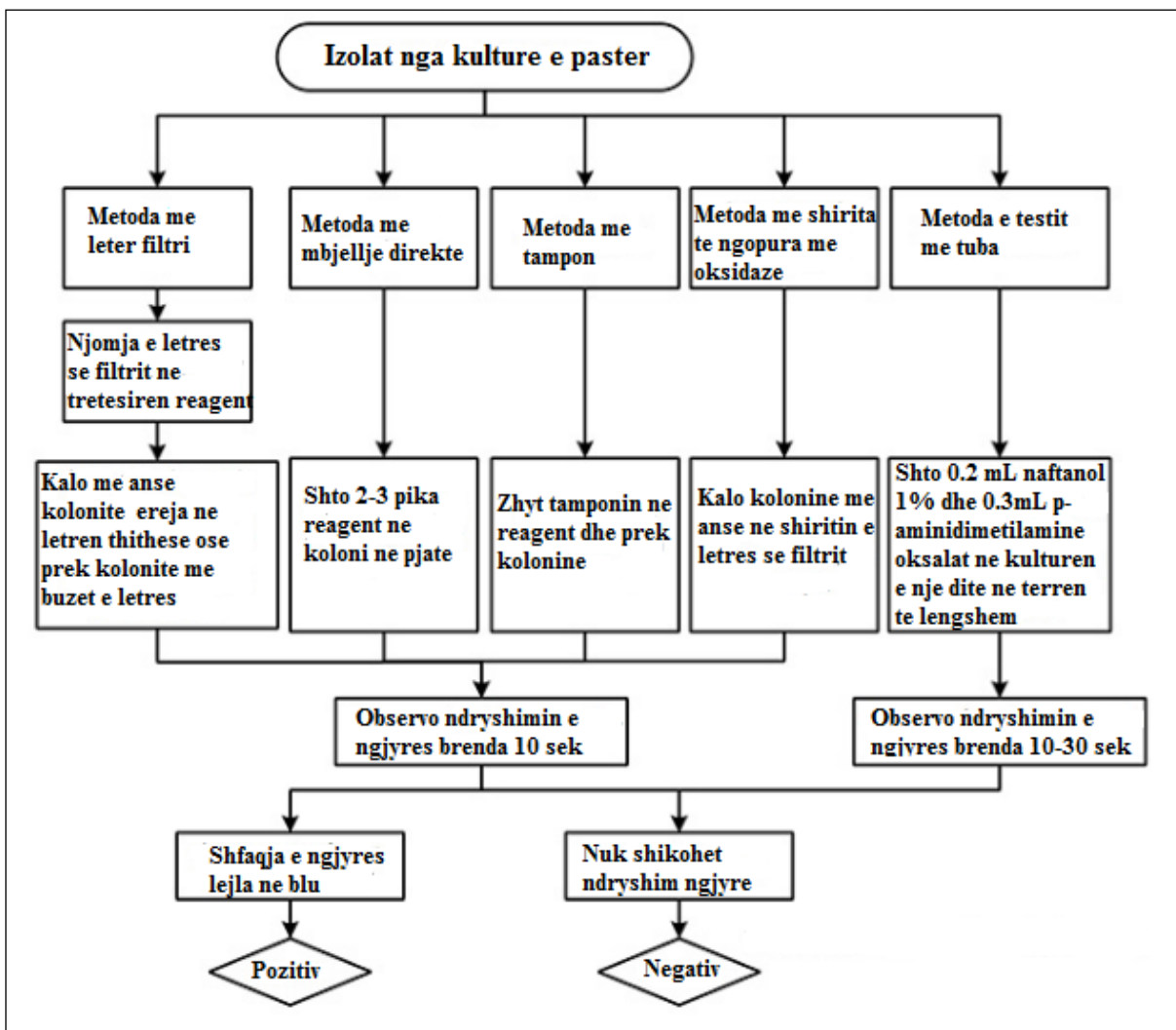


Figura 3.6 Flowchart i procedurave të provës së oksidazës

Interpretimi i rezultatit të provës së oksidazës është:

Në rastet **pozitive** do të shfaqet një ngjyrë lejla në blu të thellë/blu e cila tregon prodhimin e oksidazës Brenda 5-10 sekondave.

Në rastet **negative** nuk do kemi shfaqje të kësaj ngjyre. Figurat e mëposhtme demonstronë shfaqjen ose jo të kësaj ngjyre në metodat e ndryshme që aplikohen.

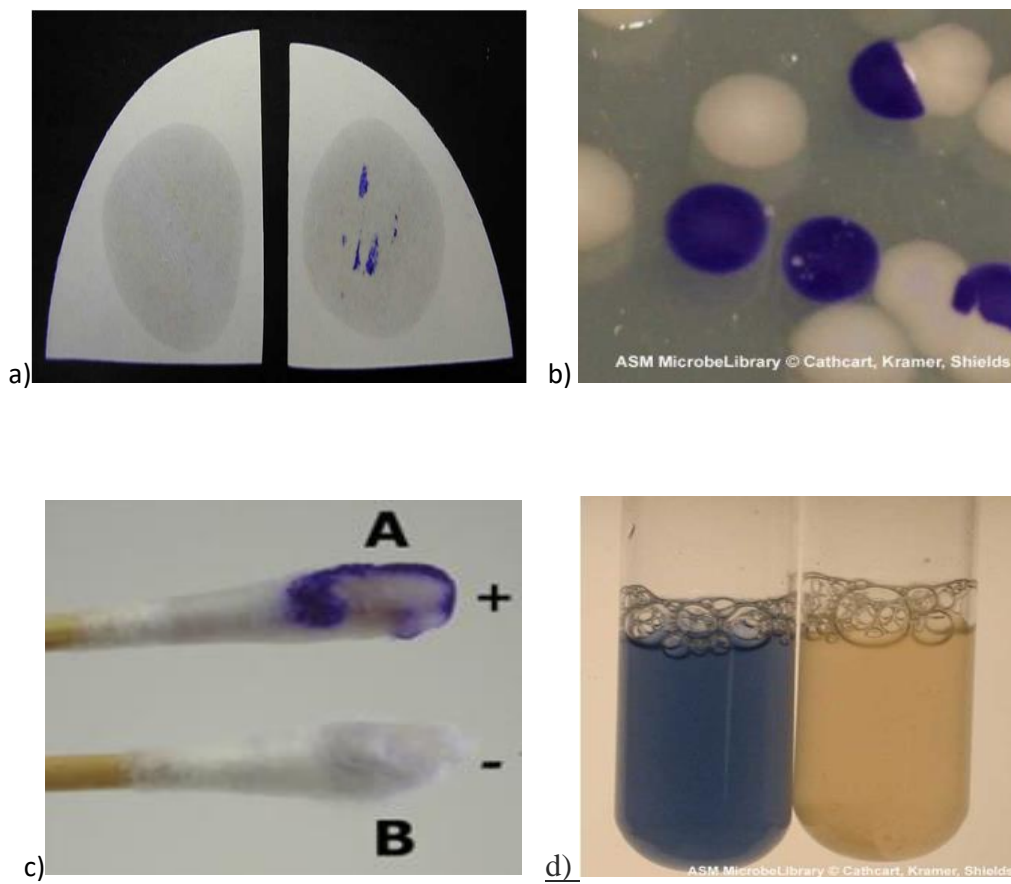


Figura 3.7 Pamje të oksidazës negative dhe pozitive me anë të: a) Letrën e filtrit të lagur;
 b) Metoda direkte e pjtës; c) Metoda e tamponit; d) Metoda ne tub

3.1.5 Përcaktimi i ndjeshmërisë së *S. aureus* ndaj Antibiotikëve

Përcaktimi i ndjeshmërisë së këtij bakteri ndaj antibiotikëve është mjaft i rëndësishëm pasi, ai është bakteri që më shpesh dhe më shpejt fiton antibioretencë. Sot gjithmonë e më tepër po vihet re një garë ndërmjet antibiotikëve të rinj që po zbulohen dhe stafilokokëve, kjo pasi shumë pak kohë pas futjes në përdorim të një antibiotiku të ri fillon dhe rezistenca e këtij bakteri ndaj këtij antibiotiku.

S. aureus, paraqet tre lloje rezistencash bazë ndaj antibiotikëve që frenojnë murin qelizor (pencilinave dhe cefalosporinave), të cilat përdoren më së shumti përkundër këtij bakteri. Këto lloje rezistencash janë: prodhimi i penicilinazës (beta laktamaze), rezistenca instrinsike heterogjene ose heterorezistenca dhe toleranca.

a) Beta laktamazat: Janë enzima ekstraqelizore që prodhohen nga stafilokoku dhe inaktivizojnë penicilinën G dhe ampicilinën. Më shumë se 90% e shtameve të *S. aureus* që veçohen nga të sëmurët në spitale prodhojnë beta laktamazë, pra ajo prodhohet në sasi të mëdha vetëm në prani të antibiotikëve beta laktam (penicilina).

b) Rezistenca intristike apo heterogjene: Ka të bëjë me mekanizma të tjera, dhe janë të ndryshme nga ato të inaktivizimit të antibiotikëve. Shembull tipik i kësaj është rezistenca e *S. aureus* ndaj meticolinës, oksacilinës dhe nafcilinës (MRSA- *S. aureus* meticolin rezistent).

Mekanizmi i kësaj rezistence është shumëfaktorësh si p.sh, ulje e aftësisë së proteinave të murit qelizor për të lidhur penicilinën, frenimi i enzimave autolitike që duhen për bakteriolizën nga penicilina etj. Kjo rezistencë bën të padobishme për mjekim dhe penicilinat penicilazë rezistente kështu që trajtimi i tyre drejtohet drejt vankomicinës që është më e shtrenjtë dhe potencialisht toksike.

c) Toleranca: Është aftësia e stafilokokut për tu frenuar por jo ngordhur nga një antibiotik që është baktericid. Shumica e shtameve të stafilokokut ngordhin nga i njëjti përqëndrim peniciline që duhet dhe për frenimin e rritjes. Në disa raste raporti ndërmjet përqëndrimit minimal frenues dhe përqëndrimit minimal baktericid është 2:1 dhe 4:1. Për shtamet më tolerante të *S. aureus* ky raport arrin deri në 32:1.

Antibiotikët që rekomandohen për të bërë përcaktimin e ndjeshmërisë si për *S. aureus* ashtu dhe stafilokokët në përgjithësi janë: penicilinë G, cefalotinë, tetraciklinë, klindamicinë, chloramphenicol, meticilinë (ose oxacilinë ose nafcilinë) eritromicinë, vankomicinë, gentamicinë (ose tobramicinë ose amikacinë), nitrofurantoinë e sulfometropinë etj. Këto dy antibiotikët e fundit janë përdorur vetëm kur *S. aureus* është veçuar në infeksionet urinare.



Sistemi VITEK 2 është një system ekspert i avancuar (Advanced Expert System AESTM), një software i cili interpreton rezultatet e sensibilitetit të testit, dhe detekton mekanizmat e rezistencës së antibiotikëve. Ky është sistemi software më i zhvilluar në këtë fushë dhe është i aftë të identifikojë edhe nivelin më të ulët të rezistencës.

Figura 3.8 Pamje të Sistemit VITEK 2

3.1.6 Provat e diskut të difuzionit

Testimi i ndjeshmërisë u krye me disqet e difuzuara, bazuar në udhëzimet e Komitetit Kombëtar për Standardet e Laboratorëve Klinik (Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]) (180).

Me anë të kësaj prove lehtësohet së tepërmi përcaktimi i rezistencës heterogjene të *S. aureus*. Si terren përdorer Mueller Hinton pa NaCl pasi kjo e fundit ndikon në rezultatet e anibiogramës. Inkubimi është bërë në 35°C. Shtamet me rezistencë heterogjene paraqesin një rritje uniforme rreth diskut ose rriten në koloni të vogla brenda një zone frenimi. Më pas inokulimi është përgatitur në turbiditet 0.5 të shkallës Mc Farlandit. Disqet vendosen menjëherë. Pjatat janë inkubuar për 24 orë përpara leximit.

Pjatat të cilat pas 24 orëve paraqesin në zonat e penicilinës, penicilazë rezistente mesatare, ose kanë paraqitur multirezistencë (p.sh, rezistencë ndaj klindamicinës, eritromicinës, tetraciklinës dhe ose gentamicinës) janë riinkubuar edhe për 24 orë të tjera. *S. aureus* rezistent ndaj një prej penicilinave penicilazë rezistente me provën e diskut të difuzionit janë konsideruar rezistente edhe ndaj cefalosporinave, panvarësisht madhësisë së zonës rreth diskut të cefalotinës (apo cefazolinës). Disqet antimikrobiale për testim përfshijnë; oxacilin (1 µg), ciprofloxacilin (5 µg), gentamicin (10 µg), amikacin (30 µg), tetracycline (30 µg), trimethoprim-sulfamethoxazole (1.25 + 23.75 µg), erythromycin (15 µg), vancomycin (10 µg), rifampin (5 µg), docycycline (30 µg) etj.

Në këtë studim antibiotikët e përdorur për ndjeshmërinë e *S. aureus* ATCC 29213 janë mbështetur tek EUCAST (tabela e mëposhtme) të cilët u përdorën për qëllime të kontrollit të cilësisë në testimin e ndjeshmërisë (181).



Figura 3.9 Imazhe të ndjeshmërisë së disqeve

Tabela 3.2 Antibiotikët e përdurur për ndjeshmërinë e *S. aureus* bazuar në EUCAST*S. aureus* ATCC 29213 (NCTC 12973, CIP 103429, DSM 2569, CCUG 15915, CECT 794)

Metoda e difuzionit të diskut: terren Mueller-Hinton agar, McFarland 0.5 inkubim 35±1°C, 18±2orë.					
Agjentët antimikrobiale	MIC mg/L		Përmbajtja e diskut (µg)	Diametri i zonës së inhibimit (mm)	
	Target	Range		Target	Range
Amikacin	2	1-4	30	21	18-24
Ampicillin	-	-	2	18	15-21
Azithromycin	1	0.5-2	-	-	-
Benzylpenicillin	0.5-1	0.25-2	Injësi	15	12-18
Cefoxitin	2	1-4	30	27	24-30
Ceftaroline	0.25	0.125-0.5	5	27	24-30
Ceftobiprole	0.25-0.5	0.125-1	IP	IP	IP
Chloramphenicol	4-8	2-16	30	24	20-28
Ciprofloxacin	0.25	0.125-0.5	5	24	21-27
Clarithromycin	0.25	0.125-0.5	-	-	-
Clindamycin	0.125	0.06-0.25	2	26	23-29
Daptomycin	0.25-0.5	0.125-1	-	-	-
Doxycycline	0.25	0.125-0.5	-	-	-
Erythromycin	0.5	0.25-1	15	26	23-29
Fosfomicin	1-2	0.5-4	-	-	-
Fusidic acid	0.125	0.06-0.25	10	29	26-32
Gentamycin	0.25-0.5	0.125-1	10	22	19-25
Levofloxacin	0.125-0.25	0.06-0.5	5	26	23-29
Linezolid	2	1-4	10	24	21-27
Minocycline	0.125-0.25	0.06-0.5	30	26	23-29
Moxifloxacin	0.03-0.06	0.016-0.125	5	28	25-31
Mupirocin	0.125	0.06—0.25	200	34	31-37
Netilmicin	≤0.25	-	10	23	20-26
Nitrofurantoin	16	8-32	100	20	17-23
Norfloxacin	1	0.5-2	10	21	18-24
Ofloxacin	0.25-0.5	0.12-1	5	24	21-27
Quinupristin-dalfopristin	0.5	0.25-1	15	24	21-27
Rifampicin	0.008	0.004-0.016	5	33	30-36
Teicoplanin	0.5	0.25-1	-	-	-
Telavancin	0.06	0.03-0.125	-	-	-
Tetracycline	0.25-0.5	0.125-1	30	27	23-31
Tigecycline	0.06-0.125	0.03-0.25	15	22	19-25
Tobramycin	0.25-0.5	0.125-1	10	23	20-26
Trimethoprim	2	1-4	5	25	22-28
Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤0.5	-	1.25-23.75	29	26-32
Vancomycin	1	0.5-2	-	-	-

3.1.7 Screening i MRSA

Kiti i përdorur për skrinimin e MRSA është një kit latex aglutinimi. Ky është një kit i shpejtë për të detektuar PBP2 (penicillin-binding protein 2' (2a), e njohur si PBP2' ose PBP2a), e cila gjendet në membranën qelizore të MRSA.



Figura 3.10 Kit MRSA-Screen Slide latex agglutination

Principet e testit

Skrinimi MRSA është i përbërë nga reagent latex i cili ka ndjeshmëri me antitrukat monoklonalë për PBP2, që sëbashku me reagentët (përbërës të tij) arrijnë të nxjerrin me shpejtësi PBP2' nga membranat bakteriale të MRSA. Ekstraktet janë përgatitur duke zier një suspendim të qelizave të *S. aureus* në kushte alkaline, e cila pasohet më pas nga një neutralizim dhe një hap centrifugimi. Supernatanti më pas përzihet me reagentin latex në një kartë testi dhe grumbullimi ose aglutinimi i dukshëm brenda tre minutave tregon praninë e prezumimeve të PBP2'.

Mbledhja dhe përgatitja e mostrës

Kolonitë mund të testohen prej secilit nga terrenet e mëposhtëm: Tryptone Soya Agar (Tryptic Soy Agar or TSA) me gjak dele 5%, Columbia Agar me gjak dele 5%, dhe Agar Mueller Hinton. Rekomandohet përdorimi i kulturave të freskëta (18-24 orë të rritura në 35°C).

Duhet të kihet parasysh që testimi duhet të kryhet në të njëjtën ditë pas nxjerrjes dhe përgatitjes së mostrës. Për një testim të shpejtë mostra mund të ruhet në frigorifer 2-10°C, ndërsa për një testim të më vonshëm mund të ruhet në -80°C për një ruajtje afatgjate.

Përgatitja e organizmit

Staphylococcus aureus

Nëse ka rritje të mjaftueshme, testi mund të kryhet nga kolonitë më të mira, të izoluara nga pjata e izolimit primar ose mund të kryhet nga një nënkulturë e izoluar. Organizma të tjerë që janë të pranishëm në pjatë nuk ndërhyjnë në analizë. Për procedurat e nxjerrjes/centrifugimit, tubat e mikrocentrifugës këshillohen të jenë me kapak të varur.

Procedurat e nxjerrjes së PBP2'

1. Shtohen katër pika nga reagent 1 i ekstraktimit në një tub mikrocentrifuge.
2. Numri i qelizave që duhet të testohen është afërsisht 1.5×10^9 (3-5ul) qeliza. Për të marrë rritjen e mjaftueshme të qelizave që kërkohen për testim, përdoret një ansë sterile 5ul (aq sa të mbushet diametri i brendshëm i ansës). Si alternativë mund të përdoret një tub steril 1ul për të lëvizur tre porcione (secila të mbush diametrin e brendshëm të ansës). Suspendohet kultura në një tub mikrocentrifuge.
3. Vendoset tubi në një banjë mari ose banjë e thatë (heating block) dhe ngrohet për 3 minuta.
4. Tubi i mikrocentrifugës lëvizet nga banjo maria dhe lihet të ftohet në temperaturë dhome.
5. Në një tub, shtohet një pikë nga Reagent i Dytë i Ekstraktimit dhe miksohet mirë.
6. Më pas centrifugohet me 1500xg për 5 minuta (p.sh, 3000rpm në një centrifugë me sipërfaqen e një rrotatori 15cm ose me 4500rpm në një sipërfaqe rrotatori 4.5cm). Për testin përdoret supernatanti.

Procedura e Latex aglutinimit

1. Për të testuar me Testin e Lateksit, për çdo mostër, shënohen dhe qarkohen dy rathë në kartën TEST, ku një rreth shërben për testimin e mostrës të marrë në analizë dhe rrethi tjetër për “Kontrollin” i cili shërben për të testuar kontrollin e vetë testit lateks.

2. Vendosen 50ul supernatant në rrethin e shenjuar “Test” dhe shtohet një pikë (ose 25uL tek Testi i Lateksit (Sensitized Latex). I miksojmë së bashku me një shkop përzierës.
3. Në mënyrë të ngjashme, vendoset 50ul supernatant në rrethin e shenjuar “Kontroll” dhe hidhet një pikë nga kontrolli me lateks. Me anë të shkopit përzierës i përziejme mirë së bashku reagentët.
4. Karta Test ngrihet me kujdes dhe rrotullohet për tre minuta dhe shikohet me kujdes nëse do të shfaqet aglutinim në kushte normale të ndriçimit.
5. Në fund, karta test hidhet në një enë të posaçme për hedhjen e mbeturinave ose vendoset në një enë ku kemi hedhur më parë dizifektant.

Interpretimi i rezultatit

PBP2' Pozitive (MRSA): Aglutinimi vihet re në Test Lateks Brenda 3 minutave. Aglutinimi nuk shfaqet tek Kontrolli Lateks.

PBP2' Negative (MSSA): Aglutinimi nuk shikohet as në Testin Lateks as në Kontrollin lateks.

Rezultat i ndërmjetëm (i papërcaktuar): Aglutinimi vihet re vetëm në Kontrollin lateks brenda 3 minutave.

Fortësia e reaksionit të aglutinimit

Negativ (-) = një pezullim homogjen i grimcave pa grumbullim të dukshëm

Pozitiv i lehtë (+) = grumbuj të vegjël por të përcaktuar kundër një sfondi të turbullt

Pozitiv i fortë (+) = grumbuj të mëdhenj dhe të vegjël kundër një sfondi të zbehur pak ose grumbuj të mëdhenj kundër një sfondi shumë të qartë.

3.1.8 Protokoli i tipizimit të *agr*

Ekstraktimi i AND-së

ADN bakteriale e lizuar u përgatit nga 1ml kulturë TBS e cila është inkubuar gjithë natën. Me pas pelleti i ADN bakteriale u risuspentua në 500 µL tampon TE (50 mM Tris-HCL [pH 8], 50 mM disodium EDTA) me 200 µg lysostaphin (Sigma). Pas inkubimit në 37°C për 30 min, mostrat u ekstraktuan duke përdorur metodën konvencionale me fenol-kloroform. Proçedurat e ekstraktimit të AND-së bakteriale janë si më poshtë:

1. Nga izolati i *S. aureus*, në terrenin e lëngshëm, bëhet kalimi në pjatë dhe inkubohet në 35 ° C gjithë natën.
2. Nëpërmjet centrifugimit, për 10 min me shpejtësi 10,000 RPM, bëhet grumbullimi i qelizave të 3ml të kulturës së inkubuar.
3. Pelletin qelizor risuspentohet në 200 uL të tamponit të Lizës (Lysis Buffer)
4. Tamponi i Lizës (Lysis Buffer): Hollohet Achromopeptidase 1 unit/uL në tamponin Tris-EDTA në raportin 10:1
5. Inkubohet në bllok heater në 37°C për 15 min
6. Tubat zhyten në ujë të vluar për 5 minuta
7. Centrifugohen me shpejtësi 10,000g për 1 min.
8. Transferohet supernatanti në një tub të ri
9. E ruajmë në -20°C

Amplifikimi i ADN-së

Grupet agr specifike u përcaktuan duke përdorur PCR duplex 2 sipas metodës Keriswirth, Shopsin dhe kolegët e tij (182). Primeri pan-*agr* (5'-ATGCACATGGTGCACATGC-3'), që korrespondon me sekuencat e konservuara nga gjeni i *agrB*, është përdorur në të gjitha reaksionet. Sekuencat specifike për secilin gjen agr u amplifikuan me 4 primer të kundërt (179). U zhvilluan 2 reaksione te njëpasnjëshme pasi madhësitë e grupeve I dhe II dhe grupit II dhe IV të agr-së janë të njëjta.

Primer i kundër I (me madhësi 441bp) dhe IV (me madhësi 659bp) u përdorën në reaksionin e parë ndërsa primeri II (me madhësi: 575bp) dhe III (me madhësi: 406bp) u përdorën në reaksionin e dytë.

Reaksioni i PCR u krye në 25 µL mastermiks që përmban 10 µL nga tampon 10 × PCR, 2.5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP, 2.5 unite të Taq Polimerazës, 20 pmol nga çdo primer, dhe 1 µL nga AND shenjë e holluar në raportin 1:100.

Mastermiksi u vendos në aparatit PCR (Thermal cycler (Eppendorf)).

Programimi i aparatit përfshiu një hap fillestar të denaturimit në 94°C për 5 min pasuar nga 30 cikle denaturimi në 94 °C për 1 min, lidhja e primerit në 57°C për 1 min dhe zgjatjen e primerit në 72°C për 1 min. Cikli u pasua nga një hap përfundimtar i zgjatjes në 72°C për 5 min. Mostrat e amplifikuara (10µL) u analizuan me elektroforezë në xhel agaroz 1% ngjyrosur me bromid etidium. Procedurat e amplifikimit të ADN-së bakteriale janë si më poshtë:

Reaksioni i polimerizimit zinxhir PCR

1. Marret 100 µM nga primeri
2. Përgatitet solucioni “pre-working” për çdo primer
 - a. Vendoset 10 µL nga çdo primer në 40 µL ujë (solucion 20 uM)
3. Përgatitet solucioni i punës 1 µM
 - a. Vendoset nga 15 µL të çdo solucioni “pre-working” së bashku në një tub të pastër

4. Kryhet reksioni i PCR në 25 μL të përzierjes që përmban:
- 12.5 μL AmpliTaq Gold 360 Master Mix
 - 2.5 μL ADN
 - 6.25 μL nga solucionet e punës “working” primer
 - 3.75 μL ujë.
5. Programimi i aparatit të PCR:
- Denatyrimi fillestar: 94° C për 6 min
 - 32 cikle:
 - Denatyrimi 95°C për 45s
 - lidhja e primerit: 56°C për 1min
 - Zgjatja e primerit: 72°C për 70s
 - Zgjatja 72°C për 8 min
6. Kryejmë xhel elektroforezën në 1.5% xhel agarozë duke përdorur etidium bromide.

Tabela 3.3 Primerat e PCR për polimorfizmin e agr

Grupet Agr	Praimerat	Madhësia e produktit (nr për çifte bazash)
	Pan F 5`-ATG CAC ATG GTG CAC ATG C-3`	
agr I	R 5` - GTC ACA AGT ACT ATA AGC TGC GAT – 3`	441 bp
agr II	R 5` – TAT TAC TAA TTG AAA AGT GGC CAT AGC – 3`	575 bp
agr III	R 5` - GTA ATG TAA TAG CTT GTA TAA TAA TAC CCA G – 3	406 bp
agr IV	R 5` - CGA TAA TGC CGT AAT ACC CG – 3	659 bp

KAPITULLI IV

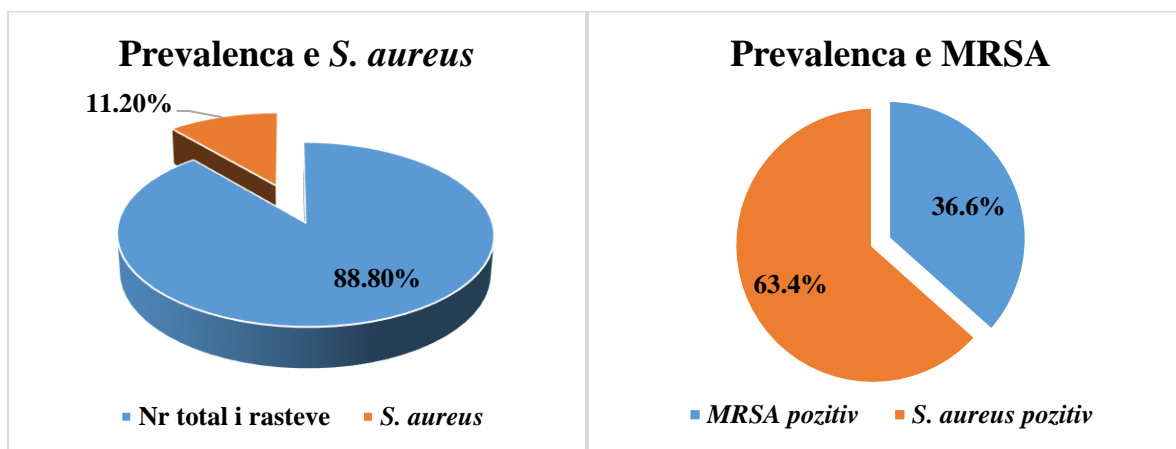
4. REZULTATET

4.1 Prevalenca dhe situata epidemiologjike e *Staphylococcus aureus* dhe MRSA

Në total për katër vite pranë laboratorit të Mikrobiologjisë në Qendrën Spitalore Universitare “Nënë Tereza” janë testuar 3859 raste si të suspektuara për prani të *Staphylococcus aureus*. Për rendësinë që ka ky bakter në ambientet e hospitalizuara dhe jo vetëm, në këtë studim janë marrë në studim vetëm 432 rastet të cilat kanë qenë të konfirmuar për bakterin *S. aureus* me një prevalencë bakteriale 11.2%. Nga 432 rastet totale me *S. aureus* si MRSA pozitive janë konfirmuar 36.6% (158/432) e raste.

Tabela 4.1.1 Shpërndarja e rasteve të analizuar për prani të bakterit *S. aureus* dhe MRSA pozitive

	Numri i rasteve	Përqindja
MRSA numri i rasteve	158	36.60%
<i>S. aureus</i> numri i rasteve	432	11.2%
Nr total i rasteve të analizuar për <i>S. aureus</i>	3859	100%



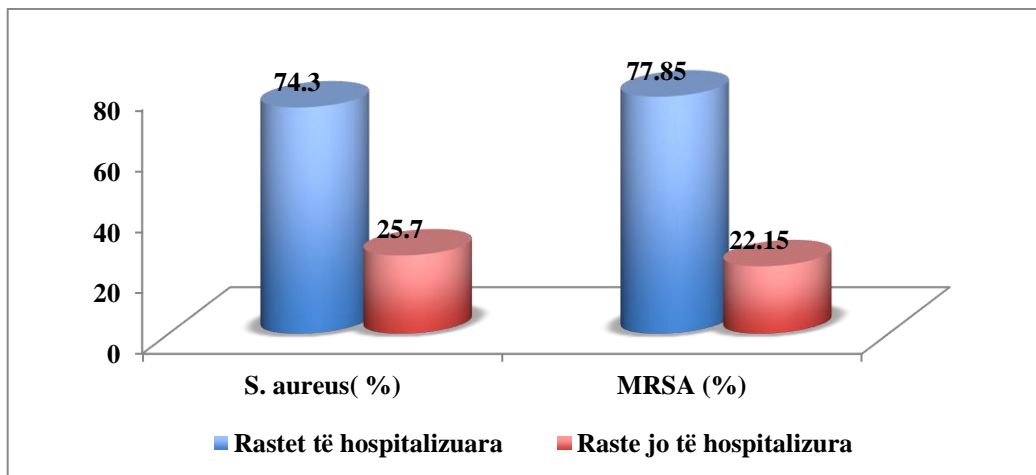
Grafiku 4.1.1 Prevalenca për *S. aureus* dhe MRSA

Mostrat e analizuar në këtë studim (432 raste), janë mbledhur si nga shërbimet e ndryshme shëndetësore që ofron Qendra Spitalore Universitare “Nënë Tereza” (rastet e hospitalizuara), ashtu dhe nga rastet e paraqitura pra Laboratorit Mikrobiologjik pranë QSUT (rastet ambulatorie apo jo të hospitalizuar). Ashtu siç vihet re nga tabela 4.2, numri më i lartë i rasteve i përkasin pacientëve të hospitalizuar pranë njësive të shërbimit në QSUT (74.3%) dhe pjesa tjetër i përket pacientëve të cilët nuk kanë qenë të hospitalizuar (25.7%).

Tabela 4.1.2 Burimi i marrjes së mostrës

Burimi i mostrës	<i>S. aureus</i>		MRSA pozitive	
	N	%	N	%
Rastet të hospitalizuara	321	74.3	123	77.85
Raste jo të hospitalizura	111	25.7	35	22.15
Total	432	100	158	100

Grafiku 4.2 tregon prevalencën e *S. aureus* dhe MRSA si për rastet e hospitalizuara ashtu dhe ato jo të hospitalizuara. Prevalenca për *S. aureus* dhe MRSA në rastet e hospitalizuar rezultoi shumë më e lartë (77.85%) krahasuar me rastet jo të hospitalizuara 22.15%. Pacientët e hospitalizuar ishin 1.34 herë më të riskur për tu infektuar për MRSA krahasuar me ata jo të hospitalizuar por pa ndryshime sinjifikante ndërmjet tyre CI 95% (0.85-2.13), vlera e $p=0.2$



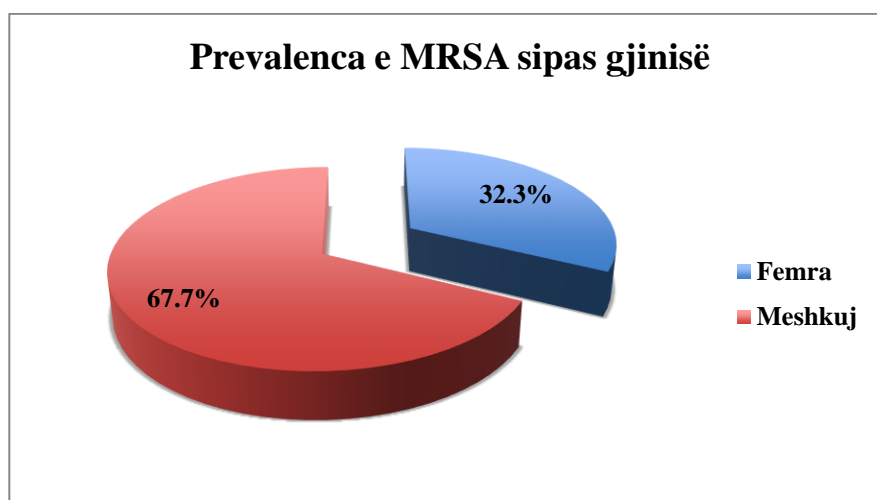
Grafiku 4.1.2 Shpërndarja e rasteve me *S. aureus* dhe pozitiviteti i MRSA për pacientët e hospitalizuar dhe jo të hospitalizuar

Përsa i përket ndarjes për pacientët me *S. aureus* dhe ndarjes sipas gjinisë, numri më i madh i rasteve i përkasin gjinisë mashkull me 57.2% (247/432) dhe 42.8% (185/432) femra. Tabela e mëposhtme paraqet të dhënat e numrit të rasteve si dhe pozitivitetin e MRSA sipas ndarjes gjinore. Femra pozitive për MRSA kanë rezultuar 51/185 e rasteve ndërsa 107/247 meshkuj si pozitive për MRSA. Meshkujt janë 2.0 herë më të riskuar për të patur MRSA krahasuar me femrat. U vu re një lidhje e fortë sinjifikante për praninë e MRSA në meshkujt e testuar për CI 95% [1.33-3.02] vlera e $p = 0.0008$.

Tabela 4.1.3 Shpërndarja e rasteve sipas ndarjes gjinore femra/meshkuj

Ndarja sipas gjinisë	Numri i rasteve të analizuara	Përqindja e rasteve	Prevalenca e MRSA (%)
Femra	185	42.8	32.3
Meshkuj	247	57.2	67.7
Total	432	100	100

Në grafikun 4.1.3 kemi paraqitur prevalencën e MRSA sipas gjinisë. Në këtë studim meshkujt kanë dhe prevalencën më të lartë.



Grafiku 4.1.3 Prevalenca e MRSA sipas ndarjes gjinore femra/meshkuj

Në 432 rastet e marra në këtë studim, mosha mesatare rezultoi 54 ± 29 vjeç, mosha minimale ishte 11 vjeç dhe mosha maksimale 83 vjeç. Përsa i përket ndarjes sipas grupmoshave, pacientët i kemi ndarë në 7 grupmosha.

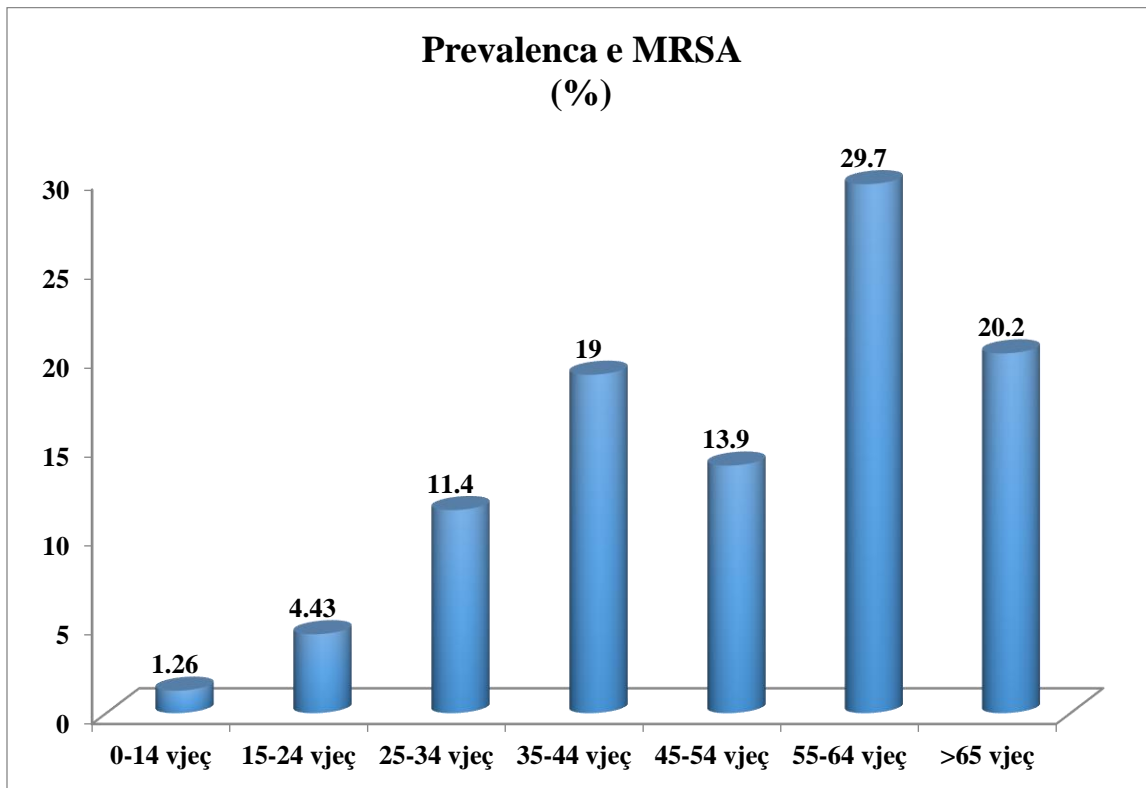
Grupmosha 0-14vjeç është grupmosha më e vogël e marrë në këtë studim dhe si grupmoshë më e lartë janë klasifikuar të gjithë ata pacient me moshë më të madhe se 65vjeç.

Grupmosha me numrin më të lartë të rasteve është 55-64vjeç e cila paraqet dhe prevalencën më të lartë të rasteve pozitive për MRSA (29.7%), ndërsa prevalencë më e ulët vihet re për grupmoshën 0-14 vjeç.

Nuk u vu re ndryshim sinjifikant ndërmjet pranisë së *S. aureus* dhe ndarjes sipas grupmoshë. Për secilën nga grupmoshat *p value* rezultoi >0.05 .

Tabela 4.1.4 Shpërndarja e rasteve dhe MRSA pozitiv sipas grupmoshave

Grupmosha	Numri total i rasteve	Përqindja (%)	Numri i rasteve MRSA pozitive	Prevalenca e MRSA (%)
0-14 vjeç	12	2.8	2	1.26
15-24 vjeç	31	7.2	7	4.43
25-34 vjeç	52	12	18	11.4
35-44 vjeç	79	18.3	30	19
45-54 vjeç	65	15.05	22	13.9
55-64 vjeç	115	26.6	47	29.7
>65 vjeç	78	18.05	32	20.2
Total	432	100	158	100

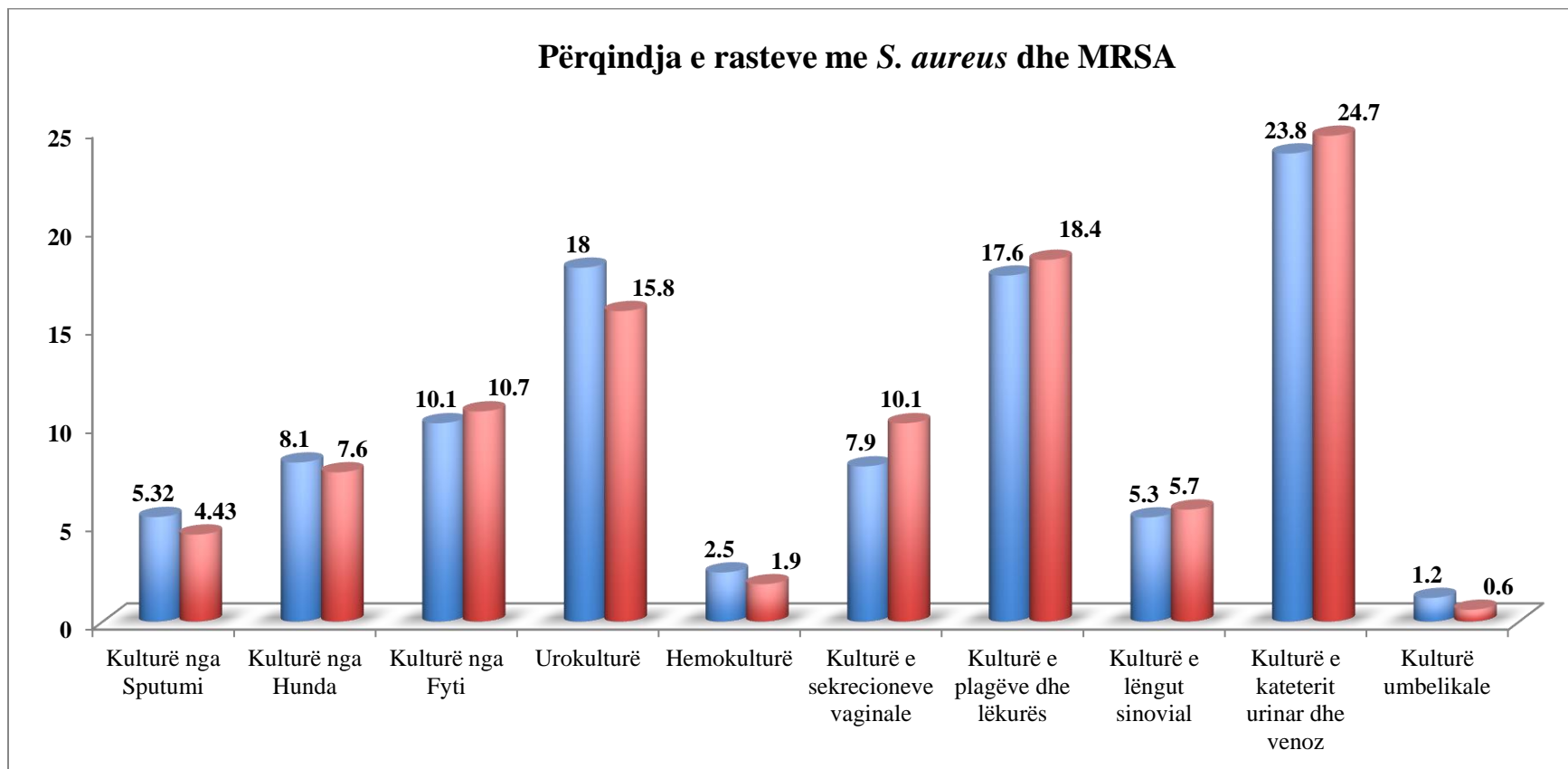


Grafiku 4.1.4 Prevalenca e MRSA sipas grupmoshave

Duke qenë se ky bakter kolonizon dhe shkakton infeksione në disa pjesë të trupit, mostrat e mbledhura në këtë studim paraqesin mjaft shumëllojshmëri. Tabela e mëposhtme paraqet numrin e mostrave dhe pozitivitetin e MRSA për secilën nga llojet e mostrave të analizuar.

Tabela 4.1.5 Shpërndarja e numrit të rasteve me *S. aureus* dhe MRSA pozitiv sipas llojit të mostrës së analizuar

		N	%	N	%
1	Kulturë nga Sputumi	23	5.32	7	4.43
	Kulturë nga Hunda	35	8.1	12	7.6
	Kulturë nga Fyti	44	10.1	17	10.7
2	Urokulturë	78	18	25	15.8
3	Hemokulturë	11	2.5	3	1.9
4	Kulturë e sekrecioneve vaginale	34	7.9	16	10.1
5	Kulturë e plagëve dhe lëkurës	76	17.6	29	18.4
6	Kulturë e lëngut sinovial	23	5.3	9	5.7
7	Kulturë e kateterit urinar dhe venoz	103	23.8	39	24.7
8	Kulturë umbelikale	5	1.2	1	0.6



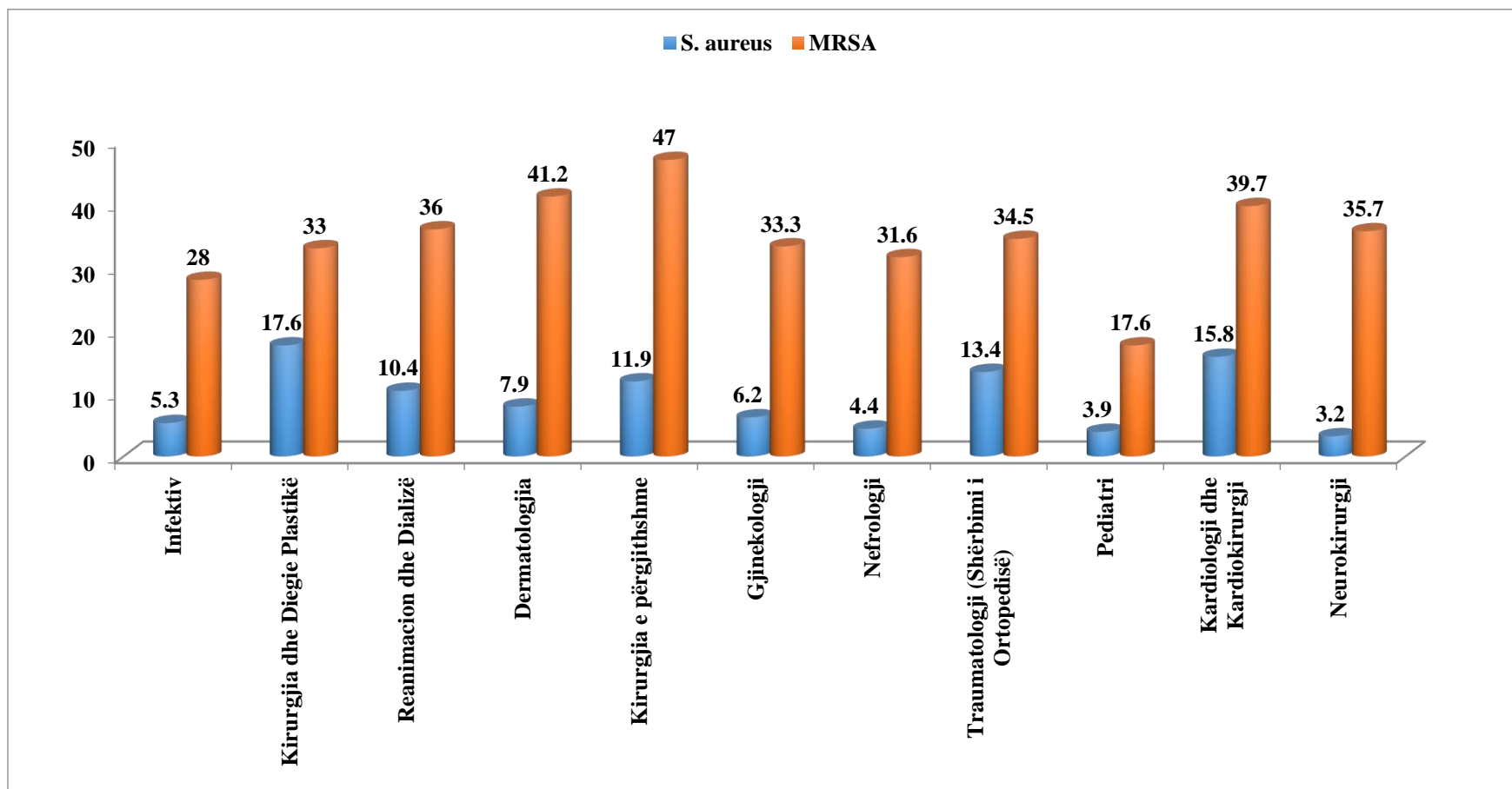
Grafiku 4.1.5 Numri total i rasteve dhe pozitiviteti për *S. aureus* sipas llojit të mostrës

Problematikat e këtij infeksioni janë të shumta të cilat lidhen si me mënyrën e përhapjes ashtu dhe për faktin se si mund të shkaktojë epidemi. Tabela 4.6 tregon shërbimet nga ku është marrë mostra, numrin e mostrave për secilin nga Shërbimet e ofruara pranë QSUT si dhe pozitivitetin për secilin prej shërbimeve. Numri më lartë Kirurgjia dhe Diegie Plastikë 17.6%; Kirurgjia e përgjithshme 11.9%; Traumatologji (Shërbimi i Ortopedisë) 13.4% dhe Kardiologji dhe Kardiokirurgji 15.8%.

Tabela 4.1.6 Vendi i marrjes së mostrave

	N	(%)	N	%
1 Infektiv	28	6.5	8	28.6
2 Kirurgjia dhe Diegie Plastikë	76	17.6	25	32.9%
3 Reanimacion dhe Dializë	45	10.4	18	40
4 Dermatologjia	34	7.9	14	41.2
5 Kirurgjia e përgjithshme	51	11.9	24	47
6 Gjinekologji	27	6.2	9	33.3
7 Nefrologji	19	4.4	6	31.6
8 Traumatologji (Shërbimi i Ortopedisë)	58	13.4	20	34.5
9 Pediatri	12	2.7	2	16.6
10 Kardiologji dhe Kardiokirurgji	68	15.8	27	39.7
11 Neurokirurgji	14	3.2	5	35.7

Grafiku 4.1.6 paraqet pozitivitetin për secilin nga shërbimet ku është bërë dhe marrja e mostrave. Ashtu siç vihet re dhe nga grafiku shërbimet e Kirurgjisë së përgjithshme, Dermatologjisë, Gjinekologjisë dhe Kardiologji dhe Kardiokirurgjisë, paraqesin pozitivitetin më të lartë (raporti ndërmjet numrit të rasteve të dala pozitive për MRSA përmbi numrin total të mostrave MRSA pozitiv sipas çdo shërbimi).



Grafiku 4.1.6 Pozitiviteti i *S.aureus* dhe MRSA sipas secilit shërbim (%)

Shtamet Meticilinë Rezistent të *S. aureus* janë shumë të rëndësishëm nga pikëpamja epidemiologjike. Duke qenë rezistent edhe ndaj antibiotikëve të tjerë këto shtame shkaktajnë infeksione që nuk mund të trajtohen lehtë dhe mund ta çojnë të sëmurin drejt humbjes fatale. Për këtë arsye është mjaft e rëndësishme të bëhet parandalimi i përhapjes së këtyre shtameve brenda pavioneve ku ata mund të krijojnë situata endemike. Shtame MRSA pozitive në studimin tonë rezultuan 158 raste. Në tabelën e mëposhtme janë paraqitur të dhënat demografike të pacientëve të hospitaluar pranë Qendrës Spitalore “Nënë Tereza” dhe pacientë ambulator të cilët kanë rezultuar MRSA pozitive.

Ashtu siç e kemi përmendur dhe më sipër meshkujt janë gjinia më dominante në këtë studim (57.2%) kundrejt femravë (42.8%). Si MRSA pozitive rezultuan 32.3% e rasteve femra dhe 67.7% e rasteve meshkuj me ndryshime sinjifikante. Meshkujt janë 2.0 herë më të riskuar për të zhvilluar *S. aureus* dhe MRSA pozitiv kundrejt femrave CI 95% [1.33-3.02] $p=0.0008$.

Përsa i përket grupmoshave të marra në këtë studim, nuk u vu re asnjë ndryshim sinjifikant. Për secilën grupmoshë për CI 95% vlera e rezultoi >0.05 .

Pacientët që jetonin në zonat rurale ishin më predominant kundrejt atyre që jetonin në zonat urbane me 40.5% dhe 59.5% respektivisht, ndërsa MRSA rezultoi 42.4% për zonën urbane dhe 57.6% për zonën urbane. Nuk u vunë re ndryshime sinjifikane ndërmjet tyre edhe pse pacientët nga zonat rurale ishin 1.1 herë më shumë të riskuar për të patur një rezultat pozitiv për *S. aureus* dhe MRSA, Odds ratio 1.1 CI 95% [0.59-1.3] p value =0.5.

Për të dhënat e ndryshme soci-demografike të marra në këtë studim dhe pranisë së MRSA pozitive mund të themi që u vu re një lidhje e fortë sinjifikane për personat e ve, ata me arsim fillor dhe 8 vjeçar, për invalidët dhe pensionistë. Për të gjitha rastet vlera e p rezultoi < 0.05 . për të dhënat e tjera vlera e p ishte më e madhe se 0.05 (tabela 4.1.7).

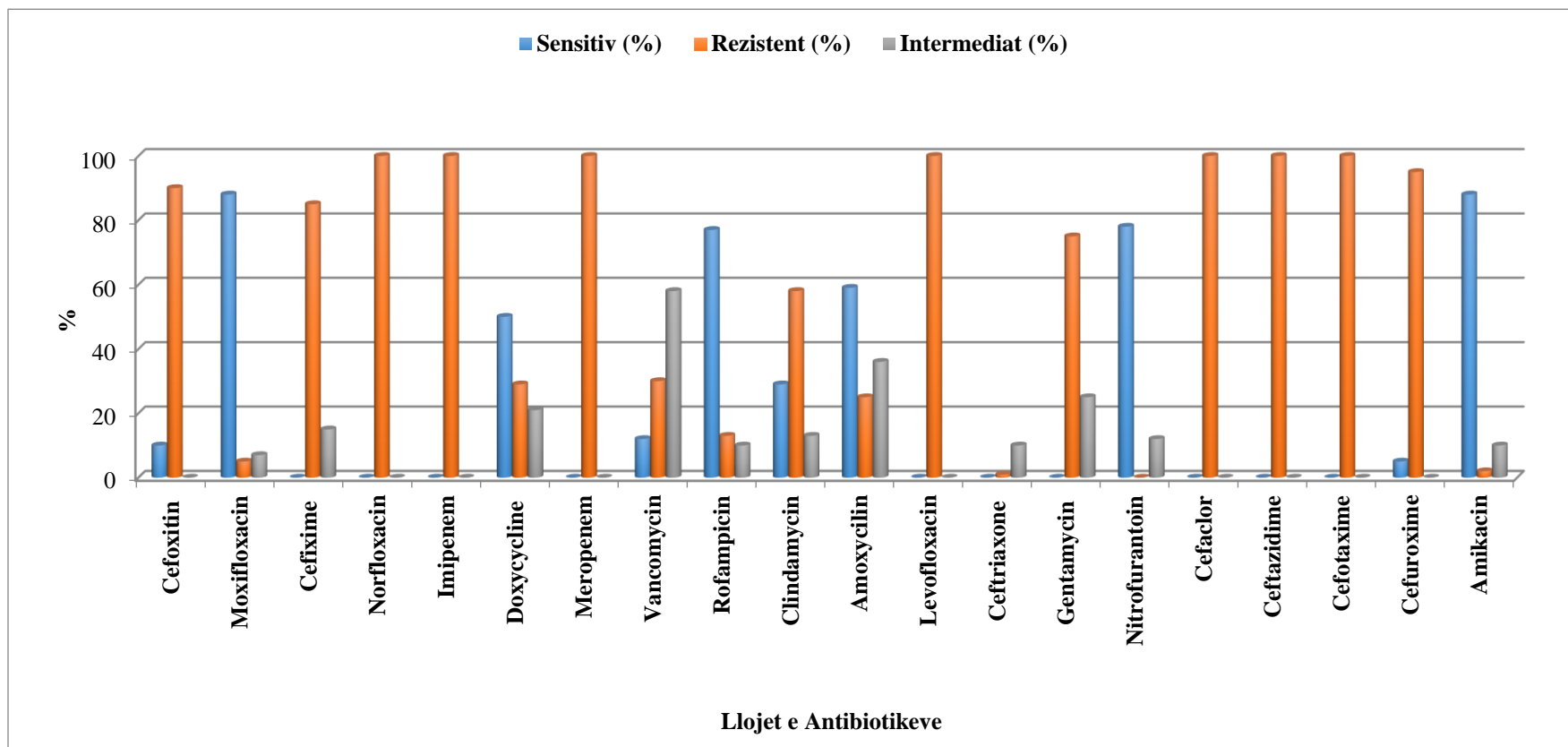
Tabela 4.1.7 Të dhënat demografike të pacientëve MRSA pozitive

Demographic data	Frekuenca e <i>S. aureus</i>	Përqindja	Prevalence of MRSA	Odds ratio CI 95% <i>p value</i>
<i>Gjinia</i>				
Femra	185	42.8%	32.3%	1
Meshkuj	247	57.2%	67.7%	2.0 [1.33-3.02] p=0.0008
<i>Vendbanimi</i>				
Urban	175	40.5%	42.4%	1
Rural	257	59.5%	57.6%	1.1 [0.59-1.3] p =0.5
<i>Mosha (në vite)</i>				
0-14	12	2.8%	1.26	1
18-24	31	7.2%	4.43	1.4 [0.2570-8.27] p=0.6
25-34	52	12%	11.4	2.64 [0. 52-13.4] p=0.2
35-44	79	18.3%	19	3.06 [0.6270- 14.9 p=0.16
45-54	65	15.05%	13.9	2.55 [0. 51-12.7] p=0.25
55-64	115	26.6%	29.7	3.45 [0. 72- 16.49] p=0.11
>65 +	78	18.05%	20.2	3.47 [0. 71 -16.9] p=0.29
<i>Statusi civil</i>				
Martuar	341	79%	72.8%	1
Beqar/Divorcuar	40	9.2%	9.5%	1.1 [0.5-2.3] p=0.6
I/e ve	51	11.8%	17.7%	2.39 [1.3-4.3] p=0.004
<i>Niveli arsimor (klasa)</i>				
Filllore	4	0.9%	1.26%	4.8 [0.8-17.9] p=0.03
8-vjeçar	112	25.9%	36.07%	2.5 [1.4-4.3] p=0.0008
E Mesme	196	45.4%	40.5%	1.1 [0.7-1.9] p=0.5
Universitet	120	27.7%	22.1%	1
<i>Niveli social</i>				
Nxënës/Student	27	6.25%	6.3%	1.4 [0.6-3.3] p=0.4
Invalid	34	7.9%	11.4%	2.7 [1.3-5.8] p=0.008
Pa punë	132	30.5%	24.7%	1.02 [0.7-1.6] p=0.9
I punësuar	169	39.1%	31%	1
Pension	96	22.2%	26.6%	1.9 [1.12-3.2] p=0.01

Në tabelën e mëposhtme ne kemi paraqitur llojet e antibiotikëve të përdorur në antibiogramën e rasteve pozitive për të parë sensibilitetin dhe rezistencën e secilit rast me *S. aureus*.

Tabela 4.1.8 LLojet e antibiotikëve të përdorur. Sensibiliteti dhe rezistenca e tyre

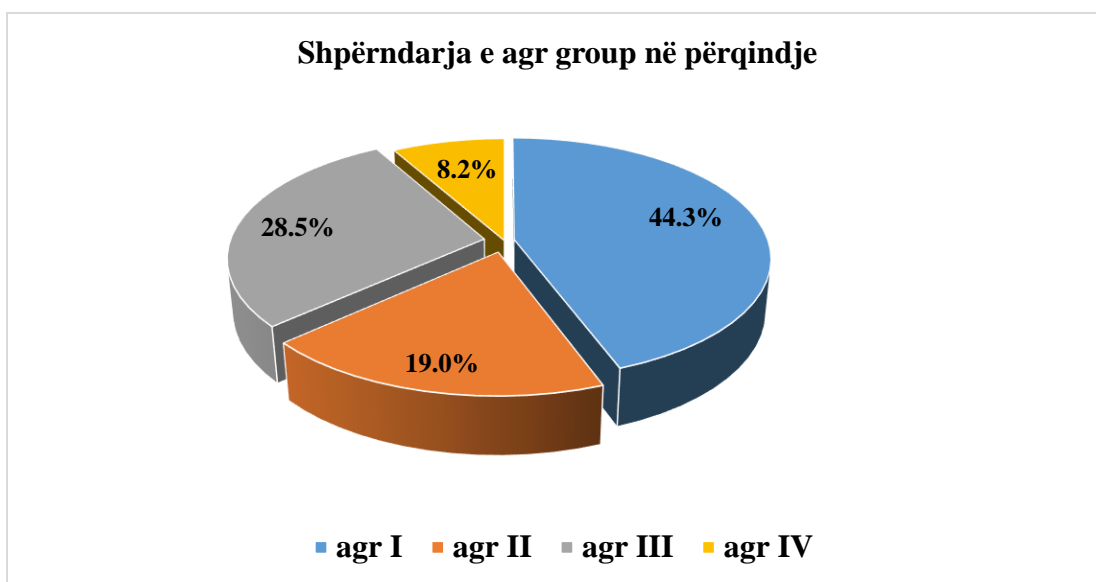
Llojet e antibiotikëve	Tipi i MRSA		
	Sensitiv (%)	Rezistent (%)	Intermediat (%)
Cefoxitin	10	90	0
Moxifloxacin	88	5	7
Cefixime	0	85	15
Norfloxacin	0	100	0
Imipenem	0	100	0
Doxycycline	50	29	21
Meropenem	0	100	0
Vancomycin	12	30	58
Rofampicin	77	13	10
Clindamycin	29	58	13
Amoxicilin	59	25	36
Levofloxacin	0	100	0
Ceftriaxone	0	90%	10
Gentamycin	0	75	25
Nitrofurantoin	78	0	12
Cefaclor	0	100	0
Ceftazidime	0	100	0
Cefotaxime	0	100	0
Cefuroxime	5	95	0
Amikacin	88	2	10



Grafiku 4.1.7 Sensitiviteti dhe rezistenca e rasteve MRSA

4.2 Prevalenca e sistemit agr

Ashtu siç e kemi përmendur edhe më parë, numri i rasteve MRSA pozitiv rezultoi 33.6% (158/432) e rasteve. Të gjitha rastet MRSA u analizuan për shpërndarjen e grupeve agr. Bazuar në të dhënat e përftuara nga metoda molekulare PCR, prevalenca e grupeve agr është si më poshtë. agr I është grupi agr më i përhapur duke zënë 44.3% të rasteve të testuar, në vend të dytë është grupi agr III me 28.5% të rasteve, në vend të tretë grupi agr II me 19% të rasteve dhe në vend të katërt agr IV me 8.2% të rasteve.



Grafiku 4.2.1. Shpërndarja e grupeve agr

Përsa i përket ndarjes gjinore, femrat paraqesin numrin më të vogël si për prani të *S. aureus* në mostrat e analizuara në këtë studim ashtu dhe për Meticilin Rezistencën e *S. aureus*. (MRSA). Në tabelën e mëposhtme kemi paraqitur shpërndarjen e grupeve agr sipas ndarjes gjinore. Prevalence e grupeve agr tek femrat është 32.3% kurse tek meshkujt është 67.7%. vihet re një lidhje e fortë sinjifikante ndërmjet agr grup dhe ndarjes gjinore, sipas Pearson Chi-Square=9.3, për CI 95% [2.9-14.3] vlera e p rezultoi 0.025.

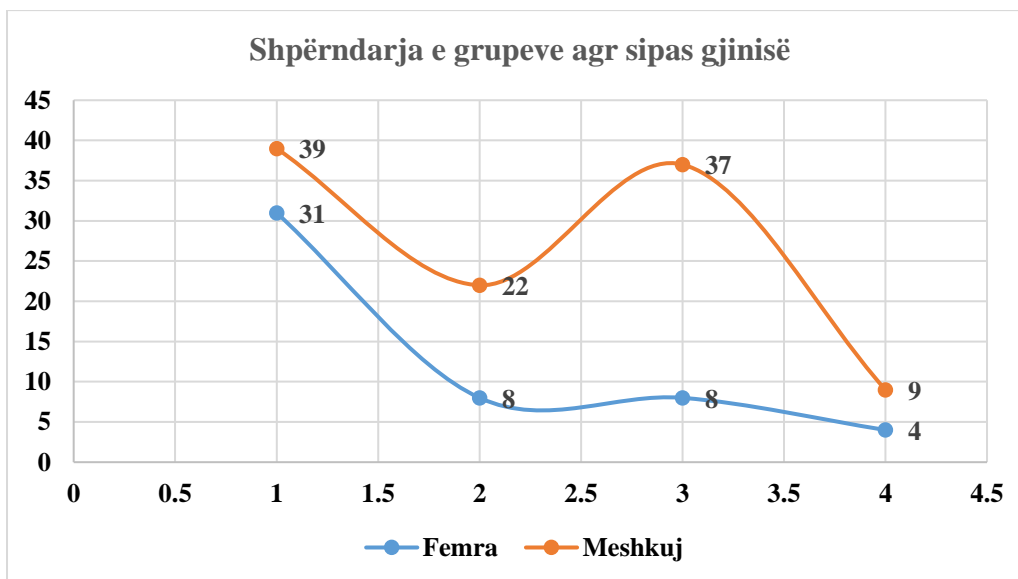
Grupi agr I është më i hasuri në këtë studim, për pasojë edhe në ndarjen gjinore ky grup mbizotron. Tek femrat ky grup zë peshën specifike 53.5% ndërsa tek meshkujt 36.4% me ndryshime të dukshme sinjifikante ndërmjet tyre.

Odds ratio 2.7 CI 95% [1.3-5.6], vlera e $p=0.0045$. Ndërmjet agr II dhe ndarjes gjinore nuk u vu re ndryshim sinjifikantë për CI 95% [0.57-3.4] vlera e p rezultoi 0.46. Ndërmjet agrIII dhe ndarjes gjinore ndryshimi sinjifikant ishte i forte për CI 95% vlera e p rezultoi 0.01, ndërsa për agr IV dhe ndarjen gjinore nuk u vu re ndryshim sinjifikant, vlera e p rezultoi 0.9 për CI 95% [0.3-3.6].

Tabela 4.2.1 Shpërndarja e grupeve agr sipas ndarjes gjinore

Gjinia	agr grup		agr I		agr II		agr III		agr IV	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Femra	51	32.3%	31	53.5%	8	15.8%	8	15.7%	4	7.8%
Meshkuj	107	67.7%	39	36.4%	22	20.6%	37	34.6%	9	8.4%

Grafiku i mëposhtëm parqet frekuencën e shpërndarjes së grupeve agr sipas ndarjes gjinore. Meshkujt kanë një numër më të lartë të rasteve për agr I dhe III ndërsa femrat për agr I.

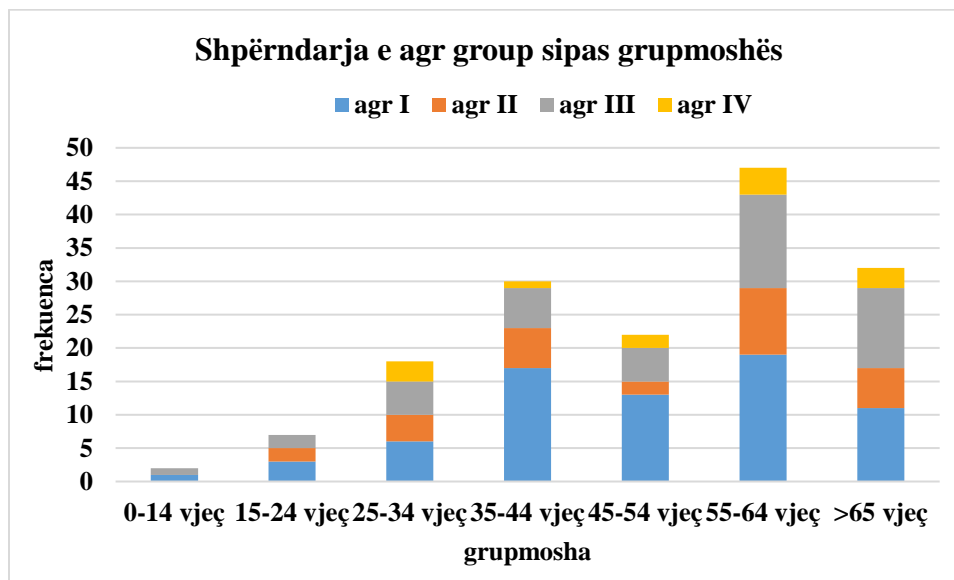


Grafiku 4.2.2 Shpërndarja e grupeve agr sipas gjinisë

Tabela 4.2.2 Numri i rasteve me MRSA pozitiv dhe shpërndarja e grupeve agr sipas ndarjes së grup-moshave

Grupmosha	Numri total i rasteve	Numri i rasteve MRSA pozitive	Agr grups	agr I	agr II	agr III	agr IV
0-14 vjeç	12	2	1.3%	1	0	1	0
15-24 vjeç	31	7	4.5%	3	2	2	0
25-34 vjeç	52	18	11.4%	6	4	5	3
35-44 vjeç	79	30	19.0%	17	6	6	1
45-54 vjeç	65	22	14.0%	13	2	5	2
55-64 vjeç	115	47	29.8%	19	10	14	4
>65 vjeç	78	32	20.0%	11	6	12	3
Total	432	158	100%	70	30	45	13

Grafiku 4.2.3 paraqet frekuencën e shpërndarjes së grupeve agr sipas grupmoshave të marra në studim. Ajo që të bien në sy është numri i lartë i agr I-IV për grupmoshën 55-64 vjeç.

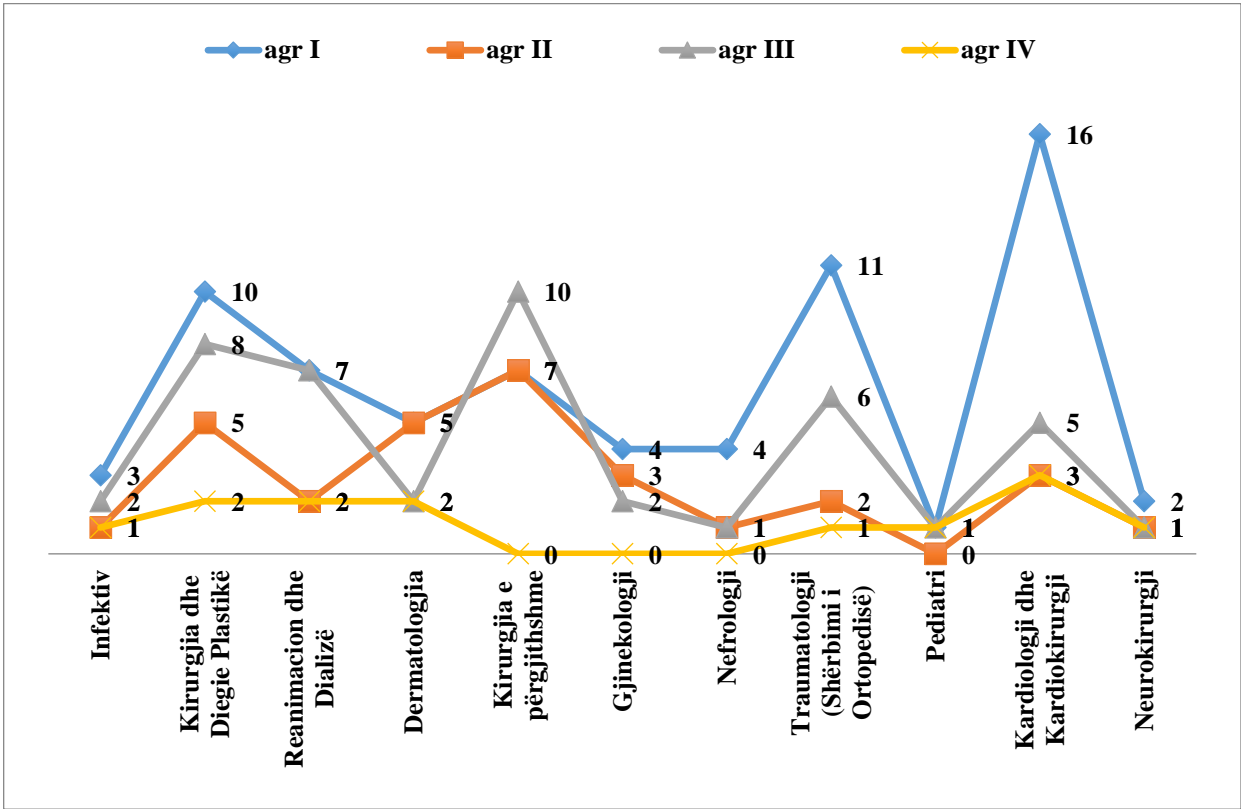


Grafiku 4.2.3 Shpërndarja e grupeve agr sipas grupmoshave të studimit

Tabela e mëposhtme paraqet shpërndarjen e grupeve agr sipas shërbimeve të qendrës Spitalore Universitare Nënë Tereza. Shërbimet e përfshira janë: kardiologji, dializë, kirurgji, dermatologji, nefrologji, kardio-kirurgji, neurologji, infektivi etj. Shpërndarja e numrit të rasteve sipas shërbimeve ku janë marrë mostrat të suspëktuara dhe grupeve agr është si më poshtë.

Tabela 4.2.3. Shpërndarja e grupeve agr sipas shërbimeve

Shërbimet	MRSA pozitive	agr I		agr II		agr III		agr IV	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Infektiv	7	3	4.3	1	3.3	2	4.4	1	7.7
Kirurgjia dhe Diegie Plastikë	25	10	14.3	5	16.6	8	17.7	2	15.4
Reanimacion dhe Dializë	18	7	10	2	6.6	7	15.5	2	15.4
Dermatologjia	14	5	7.1	5	16.6	2	4.4	2	15.4
Kirurgjia e përgjithshme	24	7	10	7	23.3	10		0	0
Gjinekologji	9	4	5.7	3	10	2	4.4	0	0
Nefrologji	6	4	5.7	1	3.3	1	2.2	0	0
Traumatologji (Shërbimi i Ortopedisë)	20	11	15.7	2	6.6	6	13.3	1	7.7
Pediatri	3	1	1.4	0	0	1	2.2	1	7.7
Kardiologji dhe Kardiokirurgji	27	16	22.8	3	10	5	11.1	3	23
Neurokirurgji	5	2	2.8	1	3.3	1	2.2	1	7.7

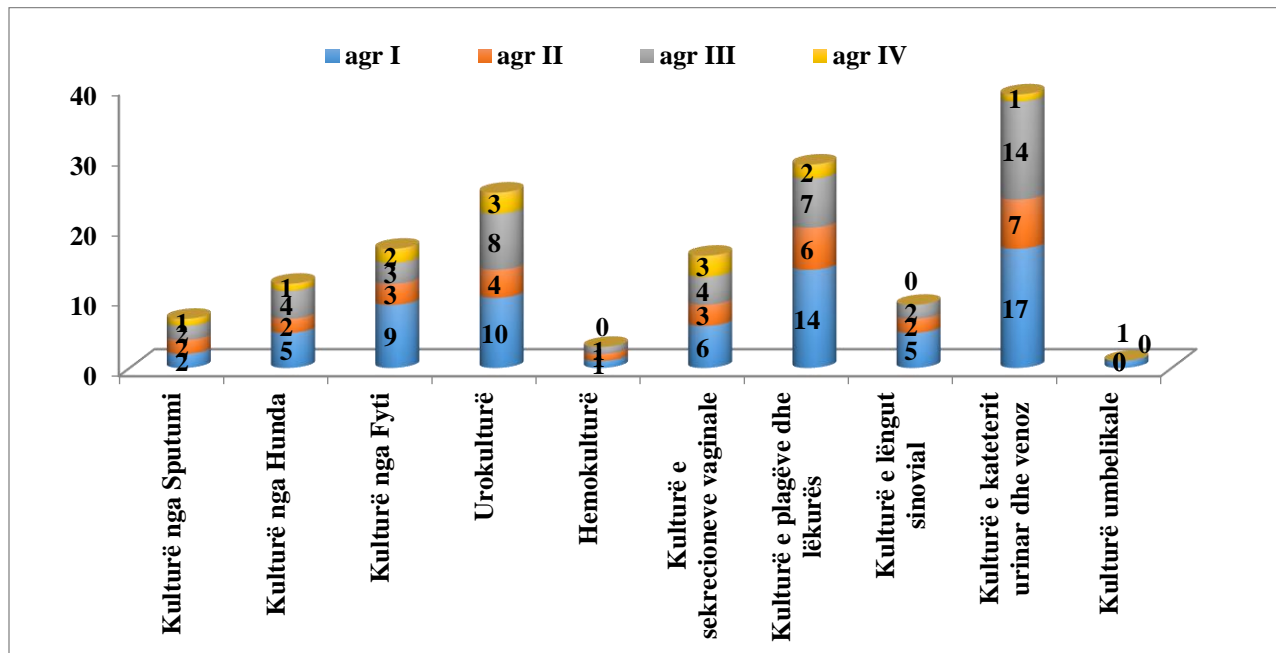


Grafiku 4.2.4 Prevalenca e grupeve agr sipas shërbimeve

Mostrat janë mbledhur nga gjaku, urina, sputum, tampon fyti, plagë, absces, pus/exudat, lëkurë dhe pjesë të indit të butë, pajisjet mjeksore. Tabela e mëposhtme paraqet shpërndarjen e grupeve agr sipas vendit të marrjes së mostrës.

Tabela 4.2.4 Shpërndarja e grupeve agr sipas llojit të mostrave

Nr	Llojet e mostrave	agr I	agr II	agr III	agr IV				
1	<i>Kulturë nga Sputumi</i>	2	2.8	2	6.6	2	4.4	1	7.7
	<i>Kulturë nga Hunda</i>	5	7.1	2	6.6	4	8.8	1	7.7
	<i>Kulturë nga Fyti</i>	9	12.8	3	10	3	6.6	2	15.4
2	<i>Urokulturë</i>	10	14.3	4	13.3	8		3	23
3	<i>Hemokulturë</i>	1	1.4	1	3.3	1	2.2	0	0
4	<i>Kulturë e sekrecioneve vaginale</i>	6	8.5	3	10	4	8.8	3	23
5	<i>Kulturë e plagëve dhe lëkurës</i>	14	20	6	20	7	15.5	2	15.4
6	<i>Kulturë e lëngut sinovial</i>	5	7.1	2	6.6	2	4.4	0	0
7	<i>Kulturë e kateterit urinar dhe venoz</i>	17	24.3	7	23.3	14	31.1	1	7.7
8	<i>Kulturë umbelikale</i>	1	1.4	0	0	0	0	0	0



Grafiku 4.2.5 Përqindjet e agr bazuar në mostrat patogjenike

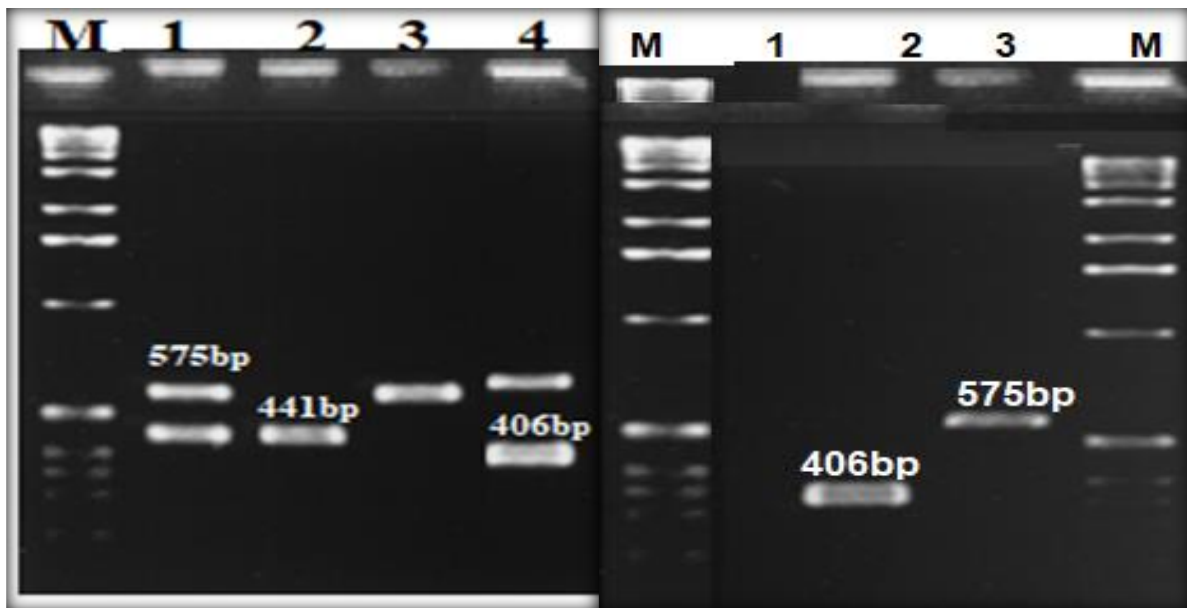


Figura 4.2.1 Pamje e bandave të grupeve agr me elektroforezë

KAPITULLI V

5. DISKUTIMET

5.1 *S. aureus* dhe MRSA

Staphylococcus aureus është një bakter patogjen mjaft i vështirë i cili ka aftësi për të shkaktuar një gamë të gjerë të infeksionit (183). *S. aureus* ka përshtashmëri të madhe për të kolonizuar lëkurën dhe trupin e njeriut. Sipas Sollid et al, në trupat tanë gjenden disa ambiente ekologjike të cilat luajnë një rol kryesor për atashimin e kësaj specie (184). Njerëzimi çdo ditë është i ekspozuar ndaj baktereve, por akoma vetëm disa njerëz janë bartës për periudha më të gjata kohore. Mbartësit e *S. aureus* kryesisht janë asimptomatik dhe në vetvete nuk janë të dëmshëm, madje në disa raste mund të jenë mbrojtës për bujtësin nëse infektohet nga ky bakter (185, 186). Në fakt këta mbartës janë një rrezik për autoinfeksion dhe kërkojnë vëmendje specifike në lidhje me shtrimin e tyre në spital dhe nëse kryejnë ndërhyrje kirurgjikale (8, 185, 187). Shpesh herë në mesin e stafit mjekësor lind pyetja:

Pse disa njerëz bartës të *Staphylococcus aureus*, ndërsa të tjerët nuk janë?

Edhe pas shumë vitesh hulumtimesh të ndryshme, akoma nuk ka një përgjigje lidhur me këtë pyetje. Pra ende nuk dihet me siguri nëse është patogjeneza e *S. aureus* vetëm një incident, apo është një performancë e mirë-rregulluar e cila na ka treguar shkathtësinë e këtij bakteri komensal për të kolonizuar trupin tonë. Për këtë arsye kërkohet gjithmonë e më tepër përfitimi i njohurive të reja t'iu përgjigjur kësaj dhe të tjera pyetjeve të lidhura me kolonizimin dhe infektimin e humanëve me *S. aureus*.

Për më tepër, shfaqja dhe përhapja e rezistencës antimikrobike, siç është *S. aureus* rezistent ndaj meticilinës (MRSA) kanë përkeqësuar situatën kudo në botë. Sipas ECDC, MRSA është bakteri më i përhapur antimikrobik rezistent i izoluar në spitalet e Europës, Amerikës, Afrikën e Veriut dhe në Lindjen e Mesme dhe të Largët (188).

Në ditët e sotme prevalenca e *Staphylococcus aureus* dhe Methicillin Resistance of *S. aureus* (MRSA) është mjaft e zakonshme në shumë vende.

Prevalenca e MRSA ndryshon nga një rajon gjeografik tek një tjetër si dhe ndërmjet institucioneve të ndryshme në një zonë të caktuar. Përhapja e infeksioneve dhe shpërthimeve të shkaktuara nga bakteri *S. aureus* dhe nga MRSA po paraqesin një rritje të vazhduar në shumë prej vendeve të botës (189-193). Një fakt i rëndësishëm është që *S. aureus* dhe MRSA paraqesin prevalenca të ndryshme nëpër botë dhe në disa nga vendet Europiane (192). Një Incidencë më të lartë të MRSA është hasur në pjesën jugore të Evropës (18). Bazuar në Garoy et al, MRSA shoqërohet me vdekshmëri dhe sëmundshmëri të konsiderueshme (qëndrime më të gjata në spital) dhe imponon një barrë serioze ekonomike në burimet e pakta të kujdesit shëndetësor në të gjithë botën (193). Köck et al në shkrimin e tyre prezantuan të dhëna për prevalencën e MRSA në infeksionet e qarkullimit të gjakut dhe tregojnë ndryshueshmëri të theksuar midis Shteteve Anëtare të BE-së në proporcionin e *S. aureus* që janë rezistent ndaj meticilinës, duke filluar nga më pak se 1% në më shumë se 50% (194). Raportet shtesë të marra nga sondazhet Pan-Evropiane sugjerojnë që MRSA prek më shumë se 150,000 pacientë në vit në Bashkimin Evropian (BE) dhe po këto raporte llogarisin 380 milion Euro në kosto shtesë në spitalet dhe sistemet e kujdesit shëndetësor të BE (191, 192). Gjithashtu kostot mesatare për pacientët MRSA pozitiv shkon nga 5,700 deri në 10,000 Euro (195).

Në vendin tonë janë kryer disa studime të cilët kanë vlerësuar prevalencën mbi infeksionin *S. aureus* dhe MRSA në pacientët e hospitalizuar në Qendrën Spitalore Universitare "Nënë Tereza" (196-198). Qëllimi i parë i këtij studimi ka qenë të përshkruaj, në mënyrë prospektive, epidemiologjinë e *Staphylococcus aureus* dhe MRSA në pacientët e hospitalizuar dhe jo vetëm për periudhën Janar 2012 –Dhjetor 2016.

Ky qëllim është realizuar nëpërmjet konfirmimit të izolimeve klinike të *Staphylococcus aureus* të marra nga pacientët e hospitalizuar në pavionet e Qendrës Spitalore Universitare "Nënë Tereza", Tiranë, dhe nga disa pacientë ambulator. Është bërë gjithashtu dhe përcaktimi i prevalencës së *Staphylococcus aureus* rezistent ndaj meticilinës (MRSA) në pacientët e konfirmuar si *S. aureus* pozitivë.

Në total për katër vite pranë shërbimit të laboratorit Mikrobiologjik të Qendrës Spitalore Universitare “Nënë Tereza”, në Tiranë janë testuar 3859 raste, nga të cilat me *S. aureus* pozitivë kanë rezultuar 432 (11.2%) raste. Kjo prevalencë rezultoi më e ulët se një studim i kryer nga Faria et. al në 2003 në pacientët e hospitalizuar në QSUT, në të cilin është raportuar një prevalencë për *Staphylococcus aureus* 18.2% (196). Nga ana tjetër në një studim të kryer në pacientët dhe punonjësit e kujdesit shëndetësor të pavionit ortopedik në Suedi, Nilsson dhe Ripa në 2006, raportuan një prevalencë të *S. aureus* 32% (199). Në dy studime të kryera nga Wertheim et al, 2004 në ambjentet spitalore në Holandë (44) si dhe nga Emont et al, 2008 në popullatën e përgjithshme, *S. aureus* rezultoi 24% dhe 18% respektivisht (48). Ndërsa në Norvegji Sangvjk et al, raportuan një prevalencë të *S. aureus* në popullatën e përgjithshme 27.6% (88). Në Zvicër kjo prevalencë ka rezultuar akoma më e lartë 36.4% (200)

Prevalenca e Methicillin-Resistant *S. aureus* (MRSA) në studimin tonë rezultoi 36.6% (158/432) e rasteve. Ndërsa në disa studime të kryera më parë në vendin tonë në pacientët e hospitalizuar, MRSA nga rezultoi 14.2% (198) në mbartësit nazal në një studim të kryer Falzon et. al në 2016, ndërsa në një studim tjetër të kryer nga Dako et. al, në 2017, MRSA-screening rezultoi 24 % (197).

Prevalenca e MRSA e gjetur në studimin tonë është shumë e lartë nëse e krahasojmë me prevalencën e MRSA të gjetur në disa studime të tjera të kryera në vendet ballkanike afër nesh. Kështu në një studim të kryer në, Greqi prevalenca e MRSA rezultoi 20% në një screenim të kryer në pacientët e hospitalizuar (201), kjo prevalencë ishte akoma më e ulët në një studim të kryer në Kroaci të cilët raportuan prevalencë të MRSA 5.2% (202), dhe në Serbi 11.8% (203).

Mostrat e analizuar në këtë studim, janë mbledhur nga shërbimet e ndryshme shëndetësore që ofron Qendra Spitalore Universitare “Nënë Tereza” (rastet e hospitalizuara), si edhe nga rastet e paraqitura pra Laboratorik Mikrobilogjik pranë QSUT (rastet jo të hospitalizuar). Numri më i lartë i rasteve me *S. aureus* i përkasin pacientëve të hospitalizuar pranë njësive të shërbimit në QSUT (74.3%) dhe pjesa tjetër i përket pacientëve të cilët nuk kanë qenë të hospitalizuar (25.7%). Ndërsa prevalenca e MRSA në rastet e hospitalizuar rezultoi shumë më e lartë (77.85%) krahasuar me rastet jo të hospitalizuara 22.15%. Pacientët e hospitalizuar ishin 1.3 herë më të riskur për MRSA krahasuar me ata jo të hospitalizuar pa ndryshime sinjifikante ndërmjet tyre CI 95% (0.9-2.13), vlera e p=0.2.

Studime të ndryshme kanë nxjerrë në pah ndryshimet midis gjinisë dhe MRSA. Hawkes et al dhe Liu et al, në studimet e tyre kanë nxjerrë në pah rolin e gjinisë meshkuj dhe moshat më të reja në pozitivitetin e MRSA (204,205). Ky ndryshim ndërmjet gjinisë dhe pozitivitetit të MRSA nuk ndodh për shkak të rritjes së ndjeshmërisë biologjike ndaj MRSA tek meshkujt, por përkundrazi ndodh si pasojë e ekspozimit të ndryshëm ndaj rreziqeve të transmetimit ndërmjet meshkujve dhe femrave për MRSA (205, 206).

Përsa i përket pranisë së *S. aureus* dhe ndarjes sipas gjinisë tek pacientët e analizuar, numri më i madh i rasteve i përket gjinisë mashkull me 57.2% (247/432) dhe femra 42.8% (185/432). Pozitiviteti për MRSA sipas ndarjes gjinore është femra 27.6% (51/185) dhe meshkuj 43.4% (107/247). Meshkujt janë 2.0 herë më të riskuar për të patur MRSA krahasuar me femrat. U vu re një lidhje e fortë sinjifikante për praninë e MRSA në meshkujt e testuar për CI 95% [1.33-3.02] vlera e $p = 0.0008$.

Në 432 rastet e marra në këtë studim, moshë mesatare rezultoi 53.54 vjeç, moshë minimale ishte 11 vjeç dhe moshë maksimale 83 vjeç. Përsa i përket ndarjes sipas grupmoshave, pacientët i kemi ndarë në 7 grupmosha. Grupmosha 0-14vjeç është grupmosha më e vogël e marrë në këtë studim dhe si grupmoshë më e lartë janë klasifikuar të gjithë ata pacient me moshë më të madhe se 65vjeç. Grupmosha me numrin më të lartë të rasteve është 55-64 vjeç e cila paraqet dhe prevalencën më të lartë të rasteve pozitive për MRSA (29.7%), ndërsa prevalencë më e ulët vihet re për grupmoshën 0-14 vjeç. Nuk u vu re ndryshim sinjifikant ndërmjet moshës dhe MRSA tek pacientët e analizuar. Sipas Faria et al., moshë >40 vjeç është një faktor rreziku i pavarur ndaj infeksionit të shkaktuar nga *S. aureus* (198). Po në studimin tonë nuk u vu re një lidhje sinjifikante ndërmjet pranisë së *S. aureus*-MRSA dhe ndarjes sipas grupmoshës. Për secilën nga grupmoshat p value rezultoi >0.05.

Shumë nga pacientët tanë me *S. aureus* jetonin në zonat rurale (64.9%) ndërsa pjesa tjetër jeton në zonat urbane (35.1%). Ndërkohë dhe prevalenca e MRSA për pacientët që jetonin në zonën rurale është më e lartë krahasuar me ata që jetojnë në zonën urbane (66.4% dhe 33.6% respektivisht). Një lidhje e fortë sinjifikante u gjent për zonat e banimit të pacientëve tanë me *S. aureus* dhe MRSA p value =0.003.

Pacientët të cilët kishin statusin e tyre si të martuar paraqitën 75.3% të rasteve të përgjithshme, dhe në këtë karakteristikë demografike nuk gjetëm ndonjë lidhje sinjifikante ndërmjet MRSA dhe statusit martesor të pacientëve (vlera e $p > 0.05$).

Por, nga ana tjetër, në pacientët e pranuar në Qendrën Spitalore “Nënë Tereza” ne kemi gjetur një lidhje të fortë midis pranisë së MRSA dhe nivelit arsimit (p vlera < 0.0001) si dhe nivelit shoqëror (për vlerën $p = 0.004$).

Duke qenë se ky bakter kolonizon dhe shkakton infeksione në disa pjesë të trupit, mostrat e mbledhura në këtë studim paraqesin mjaft shumëllojshmëri. Mostrat janë marrë nga kulturat e sputumit (5.32%), kulturë të hundës dhe fytit (18.2%), urokulturë (18%), hemokulturë (2.5%), kulturë e sekrecioneve vaginale (7.9%), kulturë e plagëve dhe lëkurës (17.6%), kulturë të lëngut sinovial (5.3%), kulturë e kateterit urinar dhe venoz si dhe pajisjet mjekësore (23.8%) dhe kulturë umilikale (1.2%).

Nga të gjitha 158 rastet e izoluar me MR *S. aureus*, mostrat e marra nga kulturë e kateterit urinar dhe venoz dhe pajisjeve mjekësore paraqesin dhe prevalencën më të lartë me 24.7% të rasteve, në vend të dytë ishin mostrat e marra nga kulturë e plagëve dhe lëkurës 18.4% të rasteve, nga urokultura ishin 15.8%, kulturë e fytit dhe e sekrecioneve vaginale ishin 10.7% dhe 10.1% respektivisht. Me prevalencë më të ulët të MRSA ishin mostrat e marra nga kulturë umbelikale me 0.6% të rasteve të analizuara.

Ashtu siç e kemi theksuar edhe më parë mostrat janë marrë nga shërbimet pranë QSUT dhe ambulatorët. Ne i kemi klasifikuar dhe mostrat ambulatore sipas shërbimeve që i kanë rekomanduar ato për tu ekzaminuar pranë laboratorit të Mikrobiologjisë si raste të suspektuara për *S. aureus*. Prevalenca e *S. aureus* në secilin nga pavionet e QSUT rezultoi si më poshtë; 6.5% shërbimi infektiv, Kirurgji dhe Diegie plastikë 17.6%, Reanimacion dhe Dializë 10.4%, Dermatologjia 7.9%, Kirurgji e përgjithshme 11.9% Gjinekologji 6.2%, Nefrologji 4.4%, Traumatologji (shërbimi i Ortopedisë) 13.4%, Pediatri 2.7%, Kardiologji dhe Kardiokirurgji 15.8% si dhe Neuro-Kirurgji 3.2%.

Ndërsa prevalenca e MRSA sipas shërbimeve është si më poshtë; Shërbimi infektiv 37.7% (8/28), Kirurgji dhe Diegie plastikë 32.9% (25/76), Reanimacion dhe Dializë 40% (18/45), Dermatologjia 41.2% (14/34), Kirurgji e përgjithshme 47% (24/51), Gjinekologji 33.3% (9/27), Nefrologji 31.6% (6/19), Traumatologji (shërbimi i Ortopedisë) 31.1% (20/58), Pediatri 16.6% (2/12), Kardiologji dhe Kardiokirurgji 39.7% (27/680) si dhe Neuro-Kirurgji 35.7% (5/14).

Prevalenca më e lartë e MRSA ishte për shërbimet infektiv, reanimacion dhe dializë, dermatologji, kirurgji e përgjithshme etj. Si prevalencë më e ulët për MRSA u vu re për pavionin e pediatri. Nuk u gjet lidhje sinjifikante ndërmjet shërbimeve të QSUT dhe rasteve me MRSA p value rezultoi > 0.05 .

MRSA për shkak të problemit klinik gjithnjë e më të rëndësishëm që shfaq në rezistenten e shumëfishtë ndaj antibiotikëve të gjeneratave të ndryshme të klasës së antibiotikëve, sjell shpesh opsione terapeutike të kufizuara për trajtimin e rasteve me *S. aureus*. Për shkak të kësaj rezistence këto shtame shkaktojnë infeksione që nuk mund të trajtohen lehtë dhe mund ta çojnë të sëmurin drejt humbjes fatale. Për këtë arsye është mjaft e rëndësishme të bëhet parandalimi i përhapjes së këtyre shtameve brenda pavioneve ku ata mund të krijojnë situata endemike (206, 207). Në këtë studim, të 158 rastet të izoluara të MRSA-së, të ndjeshëm ndaj antibiotikëve ishin 7 (28%), demonstruan rezistencë të ndërmjetme 6 (24%) dhe 12 (48%) ishin muti-rezistent ndaj antibiotikëve të përfshirë në këtë testim. Për më tepër, shtatë nga 25 rastet e MRSA treguan rezistencë 100% ndaj Norfloxacin, Imipenem, Meropenem, Levofloxacin, Cefaclo, Ceftiazidine dhe Cefatoxime.

5.2 Prevalenca dhe të dhënat epidemiologjike të agr Grup

S. aureus i cili konolizon shumë pjesë të trupit human në brendinë e tij shpreh shumë faktorë potencial të virulencës (207, 208). Për pasojë dhe patogjeneza në shumicën e sëmundjeve të shkaktuara nga *S. aureus*, është shumëfaktoriale. Për këtë arsye është mjaft e vështirë të përcaktohet saktësisht roli i ndonjë faktori të caktuar që shkakton sëmundjen. Stafilokokët në gjenomën e tyre kanë të zhvilluar sisteme specifike kuorumi të cilat mundësojnë komunikimin ndërqelizor si edhe rregullojnë faktorëve të shumtë të kolonizimit dhe virulencës. Kjo gjë ka çuar në përmirësimin e aftësinë së tyre për të shkaktuar shumëllojshmëri të sëmundjeve tek njeriu (207, 208). Grupi rregullues i aksesorëve të gjeneve (agr) mendohet se luan një rol të madh në patogjenitetin e infeksionit të shkaktuar nga *S. aureus*, sepse ky sistem është përgjegjës për kontrollin e shprehjes së shumë gjeneve që kodojnë për faktorët e virulencës (198, 209).

Ashtu siç e shpjeguam edhe më parë, MRSA po shfaq një interes gjithmonë e në rritje në mesin e mikrobiologëve dhe klinikistëve për shkak të rezistencës që ajo shfaq në klasat e ndryshme të antibiotikëve. E njëjta gjë po vihet re dhe për faktorët e ndryshëm të virulencës së agr, përgjithësisht për kourumin agr. Për këtë arsye një nga qëllimet e këtij punimi ka qenë që të studiojë kuorimin e grupeve agr në mostrat e marra në këtë studim.

Lokusi agr i *S. aureus* është mjaft polimorfik, kjo ndërmjet shtameve të *S. aureus* vihen re rajone shumë të konservuara dhe të hypervariable dhe për këtë arsye ai mund të ndahet në katër grupe të veçanta gjenetike. Në punimin tonë karakterizimi i sistemit operon agr në shtamet *S. aureus* rezistent ndaj Meticilinës është bërë me anë të metodës Polymerase Chain Reaction (PCR) multiplex duke përdorur primera specifik për secilin nga katër grupet kryesore specifike.

Bazuar në të dhënat e përfutuara nga izolimet e MRSA me anë të metodës PCR në studimin tonë kemi identifikuar katër lloje të ndryshme të grupeve agr (agrI-IV). Ndër izolatet tona, grupi agr I është mbizotërues ndaj grupeve të tjera agr II-IV. Prevalenca e grupit agr I rezultoi 44.3%, agr II 19%, agr III 28.5% dhe agr IV 8.2%.

Prevalenca më e lartë e agr I e gjetur në studimin tonë përputhet dhe me disa studime të kryera në vende të ndryshme të botës. Sipas Ben Ayed et al, në shumë rajone në mbarë botën është vërejtur që grupi kuorum agr më i shpeshtë është agr I (210).

Në një studim të kryer nga Van Leewen et al, 92.2% e izolateve të *S. aureus* i përkisnin grupit agr I (211), ndërsa në një spital të kujdesit mjekësor terciar në Kore, në izolatet e MRSA 49.3% i përkisnin grupit agr I, i ndjekur nga grupi agr II (44%) dhe III (6.7%) (212). Edhe Shopsisin et al kanë raportuar një prevalencë më të lartë të agr I në SHBA, (42%) e pasuar nga grupi III (34%) dhe grupi II (24%) (198). Rezultate të ngjashme u gjetën në studimet e kryera në disa vende të Europës si Belgjika dhe Gjermanisë (213-216).

Po sipas Van Leewen grupet agr I dhe III janë mjaft të lidhura ngushtë (pasi kanë një homologjia të sekuencës në masën 80%). Kjo gjë nxjerr në pah që shtamet *S. aureus* që qarkullojnë në të gjithë botën kanë një karakteristikë unike gjenetike (211).

Prevalenca e grupit agr II dhe IV është relativisht e ulët krahasuar me agr I dhe III në këtë studim. Sipas disa studimeve grupi agr II i shtamit të *S. aureus* është izoluar në disa vende të Europës, Amerikën e veriut si dhe në Japoni (212). Kjo ndarje e pa barabartë e prevalencës së grupeve agr nga njëri vend në tjetrin ndoshta është e lidhur strukturimin ekologjik dhe gjeografik të vendeve të ndryshme (210, 217, 218).

Përsa i përket ndarjes gjinore, femrat paraqesin numrin më të vogël si për prani të *S. aureus* në mostrat e analizuara në këtë studim ashtu dhe për Meticilin Rezistencën e *S. aureus*. (MRSA). Prevalenca e grupeve agr tek femrat është 32.3% kurse tek meshkujt është 67.7%. vihet re një lidhje e fortë sinjifikante ndërmjet agr grup dhe ndarjes gjinore, sipas Pearson Chi-Square=9.3, për CI 95% [2.9-14.3] vlera e p rezultoi 0.025.

Grupi agr I është më i hasuri në këtë studim, për pasojë edhe në ndarjen gjinore ky grup mbizotron. Tek femrat ky grup zë peshën specifike 53.5% ndërsa tek meshkujt 36.4% me ndryshime të dukshme sinjifikante ndërmjet tyre. Odds ratio 2.7 CI 95% [1.3-5.6], vlera e p=0.0045.

Ndërmjet agr II dhe ndarjes gjinore nuk u vu re ndonjë ndryshim sinjifikantë për CI 95% [0.57-3.4] vlera e p rezultoi 0.46. Ndërmjet agrIII dhe ndarjes gjinore kemi një ndryshim sinjifikant për CI 95% vlera e p rezultoi 0.01. Për agr IV dhe ndarjen gjinore nuk u vu re ndryshim sinjifikant, vlera e p rezultoi 0.9 për CI 95% [0.3-3.6].

Grupmosha me prevalencë më të lartë të grupeve agr janë 55-64 vjeç me 29.8% të rasteve të testuara me anë të metodës së PCR. Grupmosha >65 vjeç ka prevalencë 20%, më pas grupmosha 35-44 vjeç ka prevalencën 19%. Grupmosha me prevalencë më të ulët të grupeve agr është grupmosha me numrin më të vogël të rasteve të testuara që I përkasin 0-14 vjeç. Sipas grupeve agr, grupmoshat me numrin më të lartë të rasteve të agr I-agrIV janë grupmoshat 35 vjeç deri në >65 vjeç. Grupmosha 55-64 vjeç ka dhe numrin më të lartë të rasteve me agrI-agrIV me 19, 10, 14 dhe 4 raste respektivisht. Ndërsa grupmosha më nr më të ulët është 0-14 vjeç me nga 1 rast për agr I dhe agr III respektivisht por me 0 raste për agr II dhe agr IV.

Përsa i përket shpërndarjes së grupeve agr dhe shërbimeve pranë QSUT nga ku mostrat janë marrë, mund të themi që shërbimi infektiv paraqet një prevalencë të lartë për agr I 15.7% dhe agr III 15.5%, ndërsa për agr II kjo prevalencë është 10% de agrIV 7.7%. Prevalencë e lartë për grupin agr II është hasur dhe për kirurgjinë e përgjithshme, në dermatologji, traumatologji dhe kardiologji &kardio-kirurgji me nga 12.9% të rasteve të analizuara.

Shërbimi i Gjinekologjisë dhe Neurokirurgjisë paraqesin një prevalencë të ulët të rasteve me agr me 4.3% të rasteve të analizuara. Për agr II prevalencë më e lartë vihet re për shërbimin e kirurgji & diegie plastike, dermatologji, traumatologji dhe kardiologji &kardiolkirurgji me 13.3% të rasteve.

agr III ka prevalencë më të lartë për shërbimin nefrologji me 17.7% të rasteve dhe për shërbimet infektiv, kirurgji & diegie plastike, dhe kirurgji e përgjithshme me 15.5% të raste secili shërbim.

Edhe agrIV paraqet prevalencë të lartë për shërbimin kardiologji dhe kardiokirurgji 38% të rasteve si dhe për nefrologji 15.4%, ndërsa shërbimet infektiv, kirurgji&diegie plastike, kirurgji e përgjithshme dhe traumatologji me nga 7.7% të rasteve të analizuara.

Në fakt, shprehja e gjeneve të grupeve agr kontribuon në patogjenezën stafilokoksike në disa modele të infeksionit. Shprehja e agr gjithashtu duket të jetë e përfshirë gjithashtu dhe në abceset murine nënëlkurore, artritin, endokarditin si dhe në invazionin dhe apoptozën e qelizave epiteliale. Në të vërtetë grupe të ndryshme agr, bazuar në përcaktimin që bëhet nga prodhimi i tyre dhe njohja e sinjaleve të veçanta të sekretuara janë të lidhura kryesisht me sëmundje të caktuara (210).

Grupi agr I është më i shprehur në mostrat patogjenike të marra nga abscese dhe tamponët me 14.7% dhe 22.1% respektivisht; agr II është më prevalent në puse/exudate 23.4% dhe në tamponë të fyti 26.7%; agr III është në abscese 14% dhe në tamponë fyti 39.5%, ndërsa agr IV më prevalent në gjak 33.4%, lëkurë, indet e buta puse/exudate me prevalencë 22.2%.

PËRFUNDIMET

- ✓ Vlen të theksohet se ky është studimi i parë i cili ka analizuar si pozitive me *S.aureus* dhe MRSA ne nivel molekular duke përcaktuar systemin kuorum të agr-së.
- ✓ Prevalenca e 3859-mostrave-të suspektuara për bakterin *S. aureus* përgjatë viteve 2012 deri në 2016 rezultoi 11.2%.
- ✓ Nga 432 mostrat të cilat rezultuan si pozitive për *S. aureus*, prevalenca e MRSA rezultoi 36.6%.
- ✓ Pacientët e hospitalizuar përbenin dhe numrin më të lartë të rasteve 74.3%, kundrejt rasteve ambulatore 25.7% Prevalenca e MRSA në rastet e hospitalizuar rezultoi shumë më e lartë (77.85%) krahasuar me rastet jo të hospitalizuara 22.15%. Pacientët e hospitalizuar ishin 1.3 herë më të riskur për MRSA krahasuar me ata jo të hospitalizuar pa ndryshime sinjifikante ndërmjet tyre CI 95% (0.9-2.13), vlera e p=0.2.
- ✓ Sipas ndarjes gjinore numri më i madh i rasteve i përket gjinisë mashkull me 57.2% (247/432) dhe femra 42.8% (185/432). Pozitiviteti për MRSA sipas ndarjes gjinore është femra 27.6% (51/185) dhe meshkuj 43.4% (107/247). Meshkujt janë 2.0 herë më të riskuar për të patur MRSA krahasuar me femrat. U vu re një lidhje e fortë sinjifikante për praninë e MRSA në meshkujt e testuar për CI 95% [1.33-3.02] vlera e p =0.0008.
- ✓ Në 432 rastet e marra në këtë studim, moshë mesatare rezultoi 54 ± 29 , me moshë minimale dhe maksimale ishin 11 dhe 83 vjeç respektivisht. Nuk u vu re ndryshim sinjifikant ndërmjet moshës dhe MRSA tek pacientët e analizuar.
- ✓ Grupmosha me numrin më të lartë të rasteve është 55-64 vjeç e cila paraqet dhe prevalencën më të lartë të rasteve pozitive për MRSA (29.7%), ndërsa prevalencë më e ulët vihet re për grupmoshën 0-14 vjeç.
- ✓ Në zonat rurale jetonin 64.9% e rasteve ndërsa pjesa tjetër jetonte në zonat urbane 35.1% e rasteve. Prevalenca e MRSA për pacientët që jetonin në zonën rurale është më e lartë krahasuar me ata që jetojnë në zonën urbane (66.4% dhe 33.6% respektivisht). Një lidhje e fortë sinjifikante u gjent për zonat e banimit të pacientëve tanë me *S. aureus* dhe MRSA p value =0.003.

- ✓ Pacientët të cilët kishin statusin e tyre si të martuar paraqitën 75.3% të rasteve të përgjithshme, dhe në këtë karakteristikë demografike nuk gjetëm ndonjë lidhje sinjifikante ndërmjet MRSA dhe statusit martesor të pacientëve (vlera e $p > 0.05$).
- ✓ Por, nga ana tjetër, në pacientët e pranuar në Qendrën Spitalore “Nënë Tereza” ne kemi gjetur një lidhje të fortë midis pranisë së MRSA dhe nivelit arsimit (p vlere < 0.0001) si dhe nivelit shoqëror (për vlerën $p = 0.004$).
- ✓ Nga kulturat e sputumit janë marrë 5.32% mostra, nga kulturë të hundës dhe fytit 18.2% mostra, urokulturë 18% mostra, hemokulturë 2.5%, kulturë e sekrecioneve vaginale 7.9%, kulturë e plagëve dhe lëkurës 17.6%, kulturë të lëngut sinovial 5.3%, kulturë e kateterit urinar dhe venoz si dhe pajisjet mjekësore 23.8% dhe kulturë umilikale 1.2%.
- ✓ Mostrat e marra nga kulturë e kateterit urinar dhe venoz dhe pajisjeve mjekësore paraqesin prevalencën më të lartë me 24.7% të rasteve, në vend të dytë ishin mostrat e marra nga kulturë e plagëve dhe lëkurës 18.4% të rasteve, nga urokultura ishin 15.8%, kulturë e fytit dhe e sekrecioneve vaginale ishin 10.7% dhe 10.1% respektivisht. Me prevalencë më të ulët të MRSA ishin mostrat e marra nga kulturë umbelikele me 0.6% të rasteve të analizuara.
- ✓ Prevalenca e *S. aureus* sipas shërbimeve është; 6.5% shërbimi infektiv, Kirurgji dhe Diegie plastikë 17.6%, Reanimacion dhe Dializë 10.4%, Dermatologjia 7.9%, Kirurgji e përgjithshme 11.9% Gjinekologji 6.2%, Nefrologji 4.4%, Traumatologji (shërbimi i Ortopedisë) 13.4%, Pediatri 2.7%, Kardiologji dhe Kardiokirurgji 15.8% si dhe Neuro-Kirurgji 3.2%.
- ✓ Ndërsa prevalenca e MRSA është; Shërbimi infektiv 37.7% (8/28), Kirurgji dhe Diegie plastikë 32.9% (25/76), Reanimacion dhe Dializë 40% (18/45), Dermatologjia 41.2% (14/34), Kirurgji e përgjithshme 47% (24/51), Gjinekologji 33.3% (9/27), Nefrologji 31.6% (6/19), Traumatologji (shërbimi i Ortopedisë) 31.1% (20/58), Pediatri 16.6% (2/12), Kardiologji dhe Kardiokirurgji 39.7% (27/680) si dhe Neuro-Kirurgji 35.7% (5/14).
- ✓ Në këtë studim, të 158 rastet të izoluara të MRSA-së, të ndjeshëm ndaj antibiotikëve ishin 7 (28%), demonstruan rezistencë të ndërmjetme 6 (24%) dhe 12 (48%) ishin muti-rezistent ndaj antibiotikëve të përfshirë në këtë testim. Për më tepër, shtatë nga 25 rastet e MRSA treguan

rezistencë 100% ndaj Norfloxacin, Imipenem, Meropenem, Levofloxacin, Cefaclor, Ceftiazidina dhe Cefatoxime.

- ✓ Në studimin tonë kemi identifikuar katër lloje të ndryshme të grupeve agr (agrI-IV). Ndër izolatet tona, grupi agr I është mbizotërues ndaj grupeve të tjera agr II-IV. Prevalenca e grupit agr I rezultoi 44.3%, agr II 19%, agr III 28.5% dhe agr IV 8.2%.
- ✓ Prevalenca e grupeve agr tek femrat është 32.3% kurse tek meshkujt është 67.7%. Vihet re një lidhje e fortë sinjifikante ndërmjet agr grup dhe ndarjes gjinore, sipas Pearson Chi-Square=9.3, për CI 95% [2.9-14.3] vlera e p rezultoi 0.025.
- ✓ Grupi agr I është më i hasuri në këtë studim, për pasojë edhe në ndarjen gjinore ky grup mbizotron. Tek femrat ky grup zë peshën specifike 53.5% ndërsa tek meshkujt 36.4% me ndryshime të dukshme sinjifikante ndërmjet tyre. Odds ratio 2.7 CI 95% [1.3-5.6], vlera e p=0.0045.
- ✓ Ndërmjet agr II dhe ndarjes gjinore nuk u vu re ndonjë ndryshim sinjifikantë për CI 95% [0.57-3.4] vlera e p rezultoi 0.46.
- ✓ Ndërmjet agrIII dhe ndarjes gjinore ndryshimi sinjifikant ishte i 92orte për CI 95% vlera e p rezultoi 0.01. edhe për agr IV dhe ndarjes gjinore nuk u vu re ndryshim sinjifikant, vlera e p rezultoi 0.9 për CI 95% [0.3-3.6].
- ✓ Grupmosha me prevalencë më të lartë të grupeve agr janë 55-64 vjeç me 29.8% të rasteve të testuara me anë të metodës së PCR.
- ✓ Grupmosha >65 vjeç ka prevalencë 20%, më pas grupmosha 35-44 vjeç ka prevalencën 19%. Grupmosha me prevalencë më të ulët të grupeve agr është grupmosha me numrin më të vogël të rasteve të testuara që i përkasin 0-14 vjeç.
- ✓ Sipas grupeve agr, grupmoshat me numrin më të lartë të rasteve të agr I-agrIV janë grupmoshat 35 vjeç deri në >65 vjeç. Grupmosha 55-64 vjeç ka dhe numrin më të lartë të rasteve me agrI-agrIV me 19, 10, 14 dhe 4 raste respektivisht. Ndërsa grupmosha më nr më të ulët është 0-14 vjeç me nga 1 rast për agr I dhe agr III respektivisht por me 0 raste për agr II dhe agr IV.
- ✓ Shërbimi infektiv paraqet një prevalencë të lartë për agr I 15.7% dhe agr III 15.5%, ndërsa për agr II kjo prevalencë është 10% dhe agrIV 7.7%.

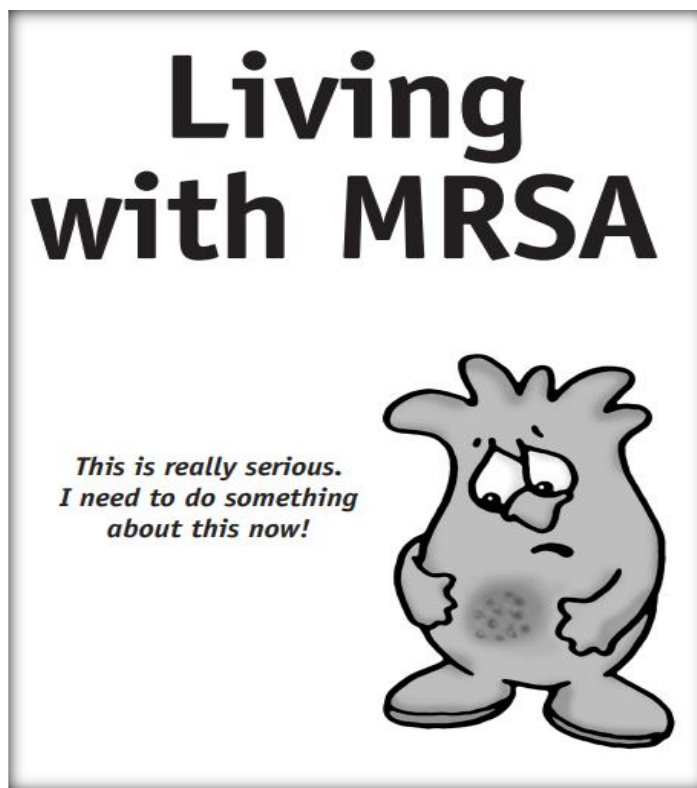
- ✓ Prevalencë e lartë për grupin agr II është hasur dhe për kirurgjinë e përgjithshme, në dermatologji, traumatologji dhe kardiologji & kardio-kirurgji me nga 12.9% të rasteve të analizuara.
- ✓ Shërbimi i Gjinekologjisë dhe Neurokirurgjisë paraqesin një prevalencë të ulët të rasteve me agr me 4.3% të rasteve të analizuara. Për agr II prevalencë më e lartë vihet re për shërbimin e kirurgji & diegie plastike, dermatologji, traumatologji dhe kardiologji & kardio-kirurgji me 13.3% të rasteve.
- ✓ agr III ka prevalencë më të lartë për shërbimin nefrologji me 17.7% të rasteve dhe për shërbimet infektiv, kirurgji & diegie plastike, dhe kirurgji e përgjithshme me 15.5% të rasteve secili shërbim.
- ✓ Edhe agrIV paraqet prevalencë të lartë për shërbimin kardiologji dhe kardiokirurgji 38% të rasteve si dhe për nefrologji 15.4%, ndërsa shërbimet infektiv, kirurgji&diegie plastike, kirurgji e përgjithshme dhe traumatologji me nga 7.7% të rasteve të analizuara.
- ✓ Grupi agr I është më i shprehur në mostrat patogjenike të marra nga abscese dhe tamponët me 14.7% dhe 22.1% respektivisht; agr II është më prevalent në puse/exudate 23.4% dhe në tamponë të fyti 26.7%; agr III është në abscese 14% dhe në tamponë fyti 39.5%, ndërsa agr IV më prevalent në gjak 33.4%, lëkurë, indet e buta puse/exudate me prevalencë 22.2%.
- ✓ Ne nuk vume re lidhje të forta sinjifikante midis faktorëve të rriskut dhe sistemit kuorum tëa gr. Për këtë arsë, kërkohen të kryhen në të ardhem studime Akoma më të thelluara me një numër më të madh të rasteve në mënyrë që të shikohet efekti virulencës së agr grup dhe faktorëve të rriskut të infeksionit të shkaktuar nga *S. aureus*.

REKOMANDIMET

MRSA është një infeksion serioz që mund të bëhet kërcënues për jetën nëse nuk trajtohet. Nëse ju ose dikush në familjen tuaj është diagnostikuar me MRSA, duhet të ndërmerrni hapa që të shmangni përhapjen e tij te familja dhe miqtë tuaj. Më poshtë po ju japim disa rekomandime lidhur me kujdesin personal dhe mënyrën si mund ta ndalojmë përhapjen e S. aureus dhe MRSA.

1. Rekomandohet një kujdes mjaft i mirë për lëkurën tuaj. MRSA jeton në lëkurën tuaj. Çdo thyerje ose çarje në lëkurën tuaj mund ta lejojë atë të hyjë dhe të shkaktojë një infeksion.
2. Kujdes shumë i madh ndaj higjienës personale kryesisht larje e shpeshtë e duarve dhe dusheve sa më të shpeshta pasi do të ndihmojë në zvogëlimin e sasisë së bakteve në lëkurën tuaj.
3. Në rast të mungesës së larjes së duarve me një sapon apo detergjent rekomandohet përdorimi i një xheli duarsh me bazë alkoli.
4. Çdo herë që kollitemi apo tështijmë pjesa e hundës apo gojës duhet të mbulohet me një shami.
5. Rekomandohet mbajtja e thonjve të shkurtër për të mbajtur bakteret të mos rriten nën dhe në thonjtë tuaj. Ky rekomandim është më specifik për personelin mjekësor. Në rast të mbajtjes së thonjve të gjatë higjiena duhet të jetë më e madhe e duarve.
6. Rekomandohet ndërrimi i çarçafëve dhe peshqirëve rregullisht. Nuk duhet të përdoren peshqirët e personave të tjerë.
7. Rrobat këshillohet të ndahen pothuajse çdo ditë dhe sa herë të vishen të jenë të lara dhe të hekurosur.
8. Mos ndani mjetet dhe pajisjet personale si p.sh, brisk, furçë dhëmbësh ose sende të tjera personale.
9. Në rast prerje ose gërvishtje të lëkurës së trupit tuaj, rekomandohet pastrimi i menjëhershëm me ujë dhe sapun dhe pastaj duhet të mbulohet me një garzë ose fashë sterile. Kjo do të sjellë izolimin dhe shmangien e kontaminimit të personave të tjerë.
10. Duhet të tregohet mjaft kujdes nëse vihen re shenjat e para të infeksionit në një prerje, të tilla si skuqje, ënjtje, dhimbje ose prani e qelbi.

11. Në rast se kemi rezultuar si MRSA pozitiv duhet të njoftohen stafi mjekësor që kujdeset për ju.
12. Nëse kemi rezultuar MRSA pozitiv rekomandohet një kujdes i veçantë nëse jeni pranë personave që kanë sistem të dobët imunitar, siç janë foshnjat e porsalindura, të moshuarit ose dikush me një sëmundje kronike.
13. Nëse MRSA është në urinën ose jashtëqitjen tuaj, rekomandohet një higjenë dhe pastrim i mirë për tualetin tuaj.
14. Rekomandohet most shkoni në aktivitete sportive apo aktivitetet të tjera kreative apo në një palestër publike, sauna, vaskë të nxehtë ose pishinë nëse keni plage (djersitja mund të shkaktojë lirim të një fashë dhe të çojë në kontakt me pajisjet dhe njerëzit e tjerë). Prisni derisa këto plagë të shërohen.
15. Mos bëni manikyr, masazhe ose prerje flokësh derisa plagët të shërohen.



REFERENCAT

1. World of Microbiology and Immunology. K. Lee Lerner and Brenda Wilmoth Lerner. 2003.
2. George Y. Liu. Molecular Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* Infection. *Pediatr Res*. 2009 May; 65(5 Pt 2): 71R–77R. PMC 2010 Aug 10. doi: [10.1203/PDR.0b013e31819dc44d](https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e31819dc44d).
3. Rijkers GT, Herbrink, P. Weefsels, cellen en moleculen: bouw en functie van het immuunsysteem. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk*. 2004; 29: 134-7.
4. Anwar MS, Jaffery G, Rehman Bhatti KU, Tayyib M, Bokhari SR. *Staphylococcus aureus* and MRSA nasal carriage in general population. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2004 Nov; 14 (11):661-4.
5. Armstrong-Esther CA. Carriage patterns of *Staphylococcus aureus* in a healthy non-hospital population of adults and children. *Ann Hum Biol*. 1976. 3(3):221-7.
6. Bischoff WE, Wallis ML, Tucker KB, Reboussin BA, Sherertz RJ. *Staphylococcus aureus* nasal carriage in a student community: prevalence, clonal relationships, and risk factors. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2004 Jun; 25(6):485-91.
7. Cole AM, Tahk S, Oren A, Yoshioka D, Kim YH, Park A, et al. Determinants of *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001 Nov;8(6):1064-9.
8. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10(3):505-20.
9. Peacock SJ, de Silva I, Lowy FD. What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus*? *Trends Microbiol*. 2001;9(12):605-10.
10. Peacock SJ, Justice A, Griffiths D, de Silva GD, Kantzanou MN, Crook D, et al. Determinants of acquisition and carriage of *Staphylococcus aureus* in infancy. *J Clin Microbiol*. 2003; 41(12):5718-25.
11. Bisgaard H, Hermansen MN, Buchvald F, Loland L, Halkjaer LB, Bonnelykke K, et al. Childhood asthma after bacterial colonisation of the airway in neonates. *N Engl J Med*. 2007;11; 357(15):1487-95.
12. Bogaert D, De Groot R, Hermans PW. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis*. 2004; 4(3):144-54.

13. Bruun JN. Post-operative wound infection. Predisposing factors and the effect of a reduction in the dissemination of staphylococci. *Acta Med Scand Suppl.* 1970; 514:3-89.
14. Calia FM, Wolinsky E, Mortimer EA, Jr., Abrams JS, Rammelkamp CH, Jr. Importance of the carrier state as a source of *Staphylococcus aureus* in wound sepsis. *J Hyg (Lond).* 1969; 67(1):49-57.
15. Faden H, Duff y L, Wasielewski R, Wolf J, Krystofi k D, Tung Y. Relationship between nasopharyngeal colonisation and the development of otitis media in children. Tonawanda/Williamsville Pediatrics. *J Infect Dis.* 1997; 175(6):1440-5.
16. Faden H, Harabuchi Y, Hong JJ. Epidemiology of *Moraxella catarrhalis* in children during the fi rst 2 years of life: relationship to otitis media. *J Infect Dis.* 1994 Jun; 169 (6):1312-7.
17. Gilani SJ, Gonzalez M, Hussain I, Finlay AY, Patel GK. *Staphylococcus aureus* re-colonisation in atopic dermatitis: beyond the skin. *Clin Exp Dermatol.* 2005 Jan; 30(1):10-3.
18. Harabuchi Y, Faden H, Yamanaka N, Duff y L, Wolf J, Krystofi k D. Nasopharyngeal colonisation with non-typeable *Haemophilus infl uenzae* and recurrent otitis media. Tonawanda/Williamsville Pediatrics. *J Infect Dis.* 1994 Oct;170(4):862-6.
19. Kluytmans JA, Wertheim HF. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and prevention of nosocomial infections. *Infection.* 2005 Feb;33(1):3-8.
20. Koning S, van Belkum A, Snijders S, van Leeuwen W, Verbrugh H, Nouwen J, et al. Severity of nonbullous *Staphylococcus aureus* impetigo in children is associated with strains harboring genetic markers for exfoliative toxin B, Panton-Valentine leukocidin, and the multidrug resistance plasmid pSK41. *J Clin Microbiol.* 2003 Jul;41(7):3017-21.
21. Kuint J, Barzilai A, Regev-Yochay G, Rubinstein E, Keller N, Maayan-Metzger A. Comparison of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Bacteraemia to other staphylococcal species in a neonatal intensive care unit. *Eur J Pediatr.* 2007 Apr;166(4):319-25.
22. Luzar MA, Coles GA, Faller B, Slingeneyer A, Dah GD, Briat C, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *N Engl J Med.* 1990 Feb 22;322(8):505-9.

23. Tulloch LG. Nasal carriage in staphylococcal skin infections. *Br Med J.* 1954 Oct 16;2(4893):912-3.
24. Bogaert D, van Belkum A, Sluijter M, Luijendijk A, de Groot R, Rumke HC, et al. Colonisation by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in healthy children. *Lancet.* 2004 Jun 5;363(9424):1871-2.
25. Regev-Yochay G, Dagan R, Raz M, Carmeli Y, Shainberg B, Derazne E, et al. Association between carriage of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in Children. *Jama.* 2004 Aug 11;292(6):716-20.
26. Murphy TF, Bakaletz LO, Smeesters PR. Microbial interactions in the respiratory tract. *Pediatr Infect Dis J.* 2009 Oct;28(10 Suppl): S121-6.
27. Pettigrew MM, Gent JF, Revai K, Patel JA, Chonmaitree T. Microbial interactions during upper respiratory tract infections. *Emerg Infect Dis.* 2008 Oct;14(10):1584-91.
28. Olsen, K., G. S. Simonsen, A. Sundsfjord, H. H. Haukland, J. E. Sollid, K. Danielsen, B. Haldorsen, A. E. Eggen, and A.-S. Furberg. 2009. The epidemiology of *Staphylococcus aureus* nasal and throat carriage in a large community-based population in North Norway. The Tromsø Staph and Skin Study, abstr. 1678. Abstr. 19th Eur. Congr. Clin. Microbiol. Infect. Dis.
29. <http://www.bacterio.net>
30. Lapage SP, Sneath, P.H.A., Lessel, E.F., Skerman, V.B.D., Seeliger, H.P.R., and Clark, W.A. International code of nomenclature of bacteria (1990 revision). American Society for Microbiology Washington, DC 1992.
31. Skerman VBD, McGowan, V., and Sneath, P.H.A. Approved lists of bacterial names. *Int J Syst Bacteriol.* 1980; 30:225-420.
32. Ogston A. Micrococcus Poisoning. *J Anat Physiol.* 1882 Oct;17(Pt 1):24-58.
33. Van Belkum A, Melles DC, Nouwen J, van Leeuwen WB, van Wamel W, Vos MC, et al. Co-evolutionary aspects of human colonisation and infection by *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol.* 2009 Jan; 9 (1): 32-47.
34. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis.* 2005 Dec;5(12):751-62.

35. Williams RE. Skin and nose carriage of bacteriophage types of *Staphylococcus aureus*. J Pathol Bacteriol. 1946; 58:259-68.

36. Moss B, Squire, J.R., Topley, E. Nose and skin carriage of *Staphylococcus aureus* in patients receiving penicillin. Lancet. 1948; 251:320-5.

37. Eriksen NH, Espersen F, Rosdahl VT, Jensen K. Carriage of *Staphylococcus aureus* among 104 healthy persons during a 19-month period. Epidemiol Infect. 1995 Aug;115(1):51-60.

38. Nouwen JL, Ott A, Kluytmans-Vandenbergh MF, Boelens HA, Hofman A, van Belkum A, et al. Predicting the *Staphylococcus aureus* nasal carrier state: derivation and validation of a “culture rule”. Clin Infect Dis. 2004 Sep 15;39(6):806-11.

39. VandenBergh MF, Yzerman EP, van Belkum A, Boelens HA, Sijmons M, Verbrugh HA. Follow-up of *Staphylococcus aureus* nasal carriage after 8 years: redefining the persistent carrier state. J Clin Microbiol. 1999 Oct;37(10):3133-40.

40. van Belkum A, Verkaik NJ, de Vogel CP, Boelens HA, Verveer J, Nouwen JL, et al. Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. J Infect Dis. 2009 Jun 15; 199 (12):1820-6.

41. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med. 1998 Aug 20; 339 (8):520-32.

42. Nguyen MH, Kauffman CA, Goodman RP, Squier C, Arbeit RD, Singh N, et al. Nasal carriage of and infection with *Staphylococcus aureus* in HIV-infected patients. Ann Intern Med. 1999 Feb 2;130 (3):221-5.

43. Eiff Von C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* Bacteraemia. Study Group. N Engl J Med. 2001 Jan 4; 344 (1):11-6.

44. Wertheim HF, Vos MC, Ott A, van Belkum A, Voss A, Kluytmans JA, et al. Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. Lancet. 2004 Aug 21-27;364(9435):703-5.

45. Yu VL, Goetz A, Wagener M, Smith PB, Rihs JD, Hanchett J, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in patients on hemodialysis. Efficacy of antibiotic prophylaxis. N Engl J Med. 1986 Jul 10;315(2):91-6.

46. White A. Increased Infection Rates in Heavy Nasal Carriers of Coagulase-Positive Staphylococci. Antimicrobial Agents Chemother (Bethesda). 1963; 161: 667-70.

47. Cunliffe AC. Incidence of *Staphylococcus aureus* in the anterior nares of healthy children. Lancet. 1949 Sep 3;2(6575):411-4.

48. Emonts M, Uitterlinden AG, Nouwen JL, Kardys I, Maat MP, Melles DC, et al. Host polymorphisms in interleukin 4, complement factor H, and C-reactive protein associated with nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and occurrence of boils. J Infect Dis. 2008 May 1; 197 (9):1244-53.

49. van den Akker EL, Nouwen JL, Melles DC, van Rossum EF, Koper JW, Uitterlinden AG, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage is associated with glucocorticoid receptor gene polymorphisms. J Infect Dis. 2006 Sep 15;194 (6):814-8.

50. Williams, R. E. 1963. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. Bacteriol. Rev. 27:56-71.

51. Ridley, M. 1959. Perineal carriage of *Staph. aureus*. Br. Med. J. 1:270-273.

52. Guinan, M. E., B. B. Dan, R. J. Guidotti, A. L. Reingold, G. P. Schmid, E. J. Bettoli, J. G. Lossick, K. N. Shands, M. A. Kramer, N. T. Hargrett, R. L. Anderson, and C.V. Broome. 1982. Vaginal colonization with *Staphylococcus aureus* in healthy women: a review of four studies. Ann. Intern. Med. 96:944-947.

53. Hamdan-Partida, A., T. Sainz-Espunes, and J. Bustos-Martinez. 2010. Characterization and persistence of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the anterior nares and throats of healthy carriers in a Mexican community. J. Clin. Microbiol. 48:1701-1705.

54. Lee, C. J., S. Sankaran, D. V. Mukherjee, Z. L. Apa, C. A. Hafer, L. Wright, E. L. Larson, and F. D. Lowy. 2011. *Staphylococcus aureus* oropharyngeal carriage in a prison population. Clin. Infect. Dis. 52:775-778.

55. Marshall, C., and D. Spelman. 2007. Re: is throat screening necessary to detect methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in patients upon admission to an intensive care unit? J. Clin. Microbiol. 45:3855.

56. Nilsson, P., and T. Ripa. 2006. *Staphylococcus aureus* throat colonization is more frequent than colonization in the anterior nares. J. Clin. Microbiol. 44:3334-3339.

57. Morgan, M. 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis? J. Antimicrob. Chemother. 62:1181-1187.
58. Weese, J. S. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals. ILAR J. 51:233-244.
59. Sung, J. M., D. H. Lloyd, and J. A. Lindsay. 2008. *Staphylococcus aureus* host specificity: comparative genomics of human versus animal isolates by multistrain microarray. Microbiology 154:1949-1959.
60. McCarthy, A. J., and J. A. Lindsay. 2010. Genetic variation in *Staphylococcus aureus* surface and immune evasion genes is lineage associated: implications for vaccine design and host-pathogen interactions. BMC Microbiol. 10:173.
61. Sakwinska, O., M. Giddey, M. Moreillon, D. Morisset, A. Waldvogel, and P. Moreillon. 2011. *Staphylococcus aureus* host range and human-bovine host shift. Appl. Environ. Microbiol. 77:5908-5915.
62. Aires de Sousa, M., and H. de Lencastre. 2004. Bridges from hospitals to the laboratory: genetic portraits of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 40:101-111.
63. Novick, R. P. 2006. Staphylococcal pathogenesis and pathogenicity factors: Genetics and regulation, p. 496-516. In V. A. N. Fischetti, R.P.; Ferretti, J.J; Portnoy, D.A.; Rood, J.I. (ed.), Gram-Positive Pathogens. ASM Press, Washington, D.C.
64. ORM/NORM-VET. 2010. Usage of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in Norway. Tromsø/Oslo 2011. ISSN:1502-2307 (print)/1890-9965 (electronic).
65. Gould, I. M. 2006. Costs of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and its control. Int. J. Antimicrob. Agents. 28:379-384.
66. Stefani, S., D. R. Chung, J. A. Lindsay, A. W. Friedrich, A. M. Kearns, H. Westh, and F. M. Mackenzie. 2012. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. Int. J. Antimicrob. Agents 39:273-282.

67. Gagliotti, C., A. Balode, F. Baquero, J. Degener, H. Grundmann, D. Gur, V. Jarlier, G. Kahlmeter, J. Monen, D. L. Monnet, G. M. Rossolini, C. Suetens, K. Weist, and O. Heuer. 2011. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: bad news and good news from the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net, formerly EARSS), 2002 to 2009. *Euro. Surveill.* 16.

68. Projan, S. J., Ruzin, A. 2006. Antibiotic Resistance in the Staphylococci, p. 587-597. *In* V. A. N. Fischetti, R.P; Ferretti, J.J; Portnoy, D.A.; Rood, J.I. (ed.), *Gram-Positive Pathogens*. ASM Press, Washington, D.C.

69. Horsburgh, M. J. 2008. The response of *S. aureus* to environmental stimuli. *In* J.A. Lindsay (ed.), *Staphylococcus - Molecular genetics*. Caister Academic Press, Norfolk, UK.

70. Massey, R. C., M. J. Horsburgh, G. Lina, M. Hook, and M. Recker. 2006. The evolution and maintenance of virulence in *Staphylococcus aureus*: a role for host-to-host transmission? *Nat. Rev. Microbiol.* 4:953-958.

71. Fridkin, S. K., Hageman, J. C., Morrison, M., Sanza, L. T., Como-Sabetti, K., Jernigan, J. A., Harriman, K., Harrison, L. H., Lynfield, R., & Farley, M. M. (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. *The New England Journal of Medicine*, 352(14), 1436.

72. David, M. D., Kearns, A. M., Gossain, S., Ganner, M., & Holmes, A. (2006). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: nosocomial transmission in a neonatal unit. *The Journal of Hospital Infection*, 64(3), 244-250.

73. Hughes, C. M., Smith, M. B., & Tunney, M. M. (2008). Infection control strategies for preventing the transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in nursing homes for older people. *Cochrane Database of Systematic Reviews (Online)*, (1)(1), CD006354.

74. Parsonnet, J., Hansmann, M. A., Delaney, M. L., Modern, P. A., DuBois, A. M., Wieland-Alter, W., Wissemann, K. W., Wild, J. E., Jones, M. B., & Seymour, J. L. (2005). Prevalence of toxic shock syndrome toxin 1-producing *Staphylococcus aureus* and the presence of antibodies to this superantigen in menstruating women. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(9), 4628.

75. Schmid-Hempel, P., & Frank, S. A. (2007). Pathogenesis, virulence, and infective dose. *PLoS Pathogens*, 3(10).
76. Fitzgerald, J. R., Sturdevant, D. E., Mackie, S. M., Gill, S. R., & Musser, J. M. (2001). Evolutionary genomics of *Staphylococcus aureus*: insights into the origin of methicillin-resistant strains and the toxic shock syndrome epidemic. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(15), 8821-8826. doi:10.1073/pnas.161098098
77. Goldstein, E. J., Citron, D. M., Wield, B., Blachman, U., Sutter, V. L., Miller, T. A., & Finegold, S. M. (1978). Bacteriology of human and animal bite wounds. *Journal of Clinical Microbiology*, 8(6), 667.
78. Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 2(1), 63-76.
79. van Belkum, A., Emonts, M., Wertheim, H., de Jongh, C., Nouwen, J., Bartels, H., Cole, A., Cole, A., Hermans, P., Boelens, H., Toom, N. L., Snijders, S., Verbrugh, H., & van Leeuwen, W. (2007). The role of human innate immune factors in nasal colonization by *Staphylococcus aureus*. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, 9(12-13), 1471-1477.
80. Melles, D.C., Gorkink, R.F., Boelens, H.A., Snijders, S.V., Peeters, J.K., Moorhouse, M.J., van der Spek, P.J., van Leeuwen, W.B., Simons, G., Verbrugh, H.A., van Belkum, A., 2004. Natural population dynamics and expansion of pathogenic clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 114, 1732-1740.
81. Noble, W.C., Valkenburg, H.A., Wolters, C.H., 1967. Carriage of *Staphylococcus aureus* in random samples of a normal population. *J Hyg (Lond)* 65, 567-573.
82. Mernelius, S., Lofgren, S., Lindgren, P.E., Blomberg, M., Olhager, E., Gunnervik, C., Lenrick, R., Thrane, M.T., Isaksson, B., Matussek, A., 2013a. The effect of improved compliance with hygiene guidelines on transmission of *Staphylococcus aureus* to newborn infants: The Swedish Hygiene Intervention and Transmission of *S aureus* study. *Am J Infect Control*.
83. Olsen, K., Danielsen, K., Wilsgaard, T., Sangvik, M., Sollid, J.U., Thune, I., Eggen, A.E., Simonsen, G.S., Furberg, A.S., 2013. Obesity and *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization among Women and Men in a General Population. *PLoS One* 8, e63716.

-
84. Sangvik, M., Olsen, R.S., Olsen, K., Simonsen, G.S., Furberg, A.S., Sollid, J.U., 2011. Age- and gender associated *Staphylococcus aureus* spa types found among nasal carriers in a general population: the Tromso Staph and Skin Study. *J Clin Microbiol* 49, 4213-4218.
85. den Heijer, C.D., van Bijnen, E.M., Paget, W.J., Pringle, M., Goossens, H., Bruggeman, C.A., Schellevis, F.G., Stobberingh, E.E., Team, A.S., 2013. Prevalence and resistance of commensal *Staphylococcus aureus*, including meticillin-resistant *S aureus*, in nine European countries: a cross-sectional study. *Lancet Infect Dis* 13, 409-415.
86. Laupland, K.B., Church, D.L., Mucenski, M., Sutherland, L.R., Davies, H.D., 2003. Population-based study of the epidemiology of and the risk factors for invasive *Staphylococcus aureus* infections. *J Infect Dis* 187, 1452-1459.
87. Noskin, G.A., Rubin, R.J., Schentag, J.J., Kluytmans, J., Hedblom, E.C., Smulders, M., Lapetina, E., Gemmen, E., 2005. The burden of *Staphylococcus aureus* infections on hospitals in the United States: an analysis of the 2000 and 2001 Nationwide Inpatient Sample Database. *Arch Intern Med* 165, 1756-1761.
88. de Kraker, M.E., Jarlier, V., Monen, J.C., Heuer, O.E., van de Sande, N., Grundmann, H., 2012. The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clin Microbiol Infect*.
89. Deborah A. Williamson, Helen Heffernan; Graeme Nimmo. Contemporary genomic approaches in the diagnosis and typing of *Staphylococcus aureus*. *Pathology journal*, © 2015 Royal College of Pathologists of Australasia. April 2015 Volume 47, Issue 3, Pages 270–275.
90. European Antimicrobial Resistance Surveillance System. EARSS Annual Report 2007. Available from: www.rivm.nl/earss/Images/EARSS%202007_FINAL_tcm61-55933.pdf.
91. Kuroda, M., T. Ohta, I. Uchiyama, T. Baba, H. Yuzawa, I. Kobayashi, L. Cui, A. et. al. Whole genome sequencing of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 2001.357:1225-1240.

92. Baba, T., F. Takeuchi, M. Kuroda, H. Yuzawa, K. Aoki, A. Oguchi, Y. Nagai, N. Iwama, K. Asano, T. Naimi, H. Kuroda, L. Cui, K. Yamamoto, and K. Hiramatsu. 2002. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet* 359:1819-1827.
93. Holden, M. T., Feil, E. J., Lindsay, J. A., Peacock, S. J., et al. Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004. 101:9786-9791.
94. Gill, S. R., Fouts, D. E., Archer, G. L., Mongodin, E. F., et. al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain. *J. Bacteriol.* 2005.187:2426- 2438.
95. Diep, B. A., S. R. Gill, R. F. Chang, T. H. Phan, J. H. Chen, M. G. Davidson, F. Lin, J. Lin, H. A. Carleton, E. F. Mongodin, G. F. Sensabaugh, and F. Perdreau- Remington. 2006. Complete genome sequence of USA300, an epidemic clone of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 367:731-739.
96. Highlander, S. K., K. G. Hulten, X. Qin, H. Jiang, S. Yerrapragada, E. O. Mason, Jr., et.al. 2007. Subtle genetic changes enhance virulence of methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus*. *BMC Microbiol.* 7: 99.
97. Gillaspay, A. F. W., V.; Orvis, J.; Roe, B.A.; Dyer, D.W; Iandolo, J.J. 2006. The *Staphylococcus aureus* NCTC 8325 Genome. In V. A. N. Fischetti, R.P; Ferretti, J.J; Portnoy, D.A.; Rood, J.I. (ed.), *Gram-Positive Pathogens*, Second ed. ASM Press, Washington, DC.
98. Herron-Olson, L., J. R. Fitzgerald, J. M. Musser, and V. Kapur. 2007. Molecular correlates of host specialization in *Staphylococcus aureus*. *Plos One* 2:e1120.
99. Mwangi, M. M., S. W. Wu, Y. Zhou, K. Sieradzki, H. de Lencastre, P. Richardson, D. Bruce, E. Rubin, E. Myers, E. D. Siggia, and A. Tomasz. 2007. Tracking the in vivo evolution of multidrug resistance in *Staphylococcus aureus* by whole-genome sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104:9451-9456.

100. Baba, T., T. Bae, O. Schneewind, F. Takeuchi, and K. Hiramatsu. 2008. Genome sequence of *Staphylococcus aureus* strain Newman and comparative analysis of staphylococcal genomes: polymorphism and evolution of two major pathogenicity islands. *J. Bacteriol.* 190:300-310.
101. Holden, M. T., J. A. Lindsay, C. Corton, M. A. Quail, J. D. Cockfield, S. Pathak, R. Batra, J. Parkhill, S. D. Bentley, and J. D. Edgeworth. 2010. Genome sequence of a recently emerged, highly transmissible, multi-antibiotic- and antiseptic-resistant variant of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, sequence type 239 (TW). *J. Bacteriol.* 192:888-892.
102. Chain, P. S., Grafham, D. V., Fulton, R. S., Fitzgerald, M. G., et. al. Genomics. Genome project standards in a new era of sequencing. *Science*, 2009. 326:236-237.
103. Lindsay, J. A. 2010. Genomic variation and evolution of *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Med. Microbiol.* 300:98-103.
104. Lindsay, J. A., C. E. Moore, N. P. Day, S. J. Peacock, A. A. Witney, R. A. Stabler, S. E. Husain, P. D. Butcher, and J. Hinds. 2006. Microarrays reveal that each of the ten dominant lineages of *Staphylococcus aureus* has a unique combination of surface-associated and regulatory genes. *J. Bacteriol.* 188:669-676.
105. Malachowa, N., and F. R. DeLeo. 2010. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cell Mol. Life Sci.* 67:3057-3071.
106. Gill, S. R. 2009. Genomics of the Staphylococci. *In* K. B. J. Crossley, K.K.; Archer, G.L.; Fowler, V.G. (ed.), *Staphylococci in Human Disease*. Wiley-Blackwell, Chichester, UK.
107. Robinson DA Monk AB Cooper JE Feil EJ Enright MC (2005a). Evolutionary genetics of the accessory gene regulator (*agr*) locus in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 187: 8312–8321.
108. Ye Feng; Chih-Jung Chen; Lin-Hui Su; Songnian Hu; Jun Yu; Cheng-Hsun Chiu. (2008). Evolution and pathogenesis of *Staphylococcus aureus*: lessons learned from genotyping and comparative genomics. *FEMS Microbiol Rev* (2008) 32 (1): 23-37. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00086.x>
109. Thoendel, M.; Horswill, A. R., Biosynthesis of peptide signals in gram-positive bacteria. *Adv Appl Microbiol* 2010, 71, 91-112.

110. Ji, G; Beavis, R. C; Novick, R. P, Cell density control of staphylococcal virulence mediated by an octapeptide pheromone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995, 92 (26), 12055-9.
111. Dunman, P. M.; Murphy, E.; Haney, S.; Palacios, D.; Tucker-Kellogg, G.; Wu, S.; Brown, E. L.; Zagursky, R. J.; Shlaes, D.; Projan, S. J., Transcription profiling based identification of *Staphylococcus aureus* genes regulated by the *agr* and/or *sarA* loci. *J. Bacteriol.* 2001, 183 (24), 7341-53.
112. Thoendel, Matthew James. "Synthesis of the accessory gene regulator autoinducing peptide in *Staphylococcus aureus*." PhD (Doctor of Philosophy) thesis, University of Iowa, 2012.
113. Shaw, L.; Golonka, E.; Potempa, J.; Foster, S. J., The role and regulation of the extracellular proteases of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology* 2004, 150 (Pt 1), 217-28.
114. Oscarsson, J.; Tegmark-Wisell, K.; Arvidson, S., Coordinated and differential control of aureolysin (*aur*) and serine protease (*sspA*) transcription in *Staphylococcus aureus* by *sarA*, *rot* and *agr* (RNAIII). *Int J Med Microbiol* 2006, 296 (6), 365-80.
115. Reed, S. B.; Wesson, C. A.; Liou, L. E.; Trumble, W. R.; Schlievert, P. M.; Bohach, G. A.; Bayles, K. W., Molecular characterization of a novel *Staphylococcus aureus* serine protease operon. *Infect Immun* 2001, 69 (3), 1521-7.
116. Recsei, P.; Kreiswirth, B.; O'Reilly, M.; Schlievert, P.; Gruss, A.; Novick, R. P., Regulation of exoprotein gene expression in *Staphylococcus aureus* by *agr*. *Mol. Gen. Genet.* 1986, 202 (1), 58-61.
117. Daugherty, S.; Low, M. G., Cloning, expression, and mutagenesis of phosphatidylinositol-specific phospholipase C from *Staphylococcus aureus*: a potential staphylococcal virulence factor. *Infect. Immun.* 1993, 61 (12), 5078-89.
118. Chamberlain, N. R.; Imanoel, B., Genetic regulation of fatty acid modifying enzyme from *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 1996, 44 (2), 125-9.
119. Morfeldt, E.; Taylor, D.; von Gabain, A.; Arvidson, S., Activation of alpha-toxin translation in *Staphylococcus aureus* by the trans-encoded antisense RNA, RNAIII. *EMBO J.* 1995, 14 (18), 4569-77.

120. Novick, R. P.; Ross, H. F.; Projan, S. J.; Kornblum, J.; Kreiswirth, B.; Moghazeh, S., Synthesis of staphylococcal virulence factors is controlled by a regulatory RNA molecule. *Embo J* 1993, *12* (10), 3967-75.
121. Bronner, S.; Stoessel, P.; Gravet, A.; Monteil, H.; Prevost, G., Variable expressions of *Staphylococcus aureus* bicomponent leucotoxins semiquantified by competitive reverse transcription-PCR. *Appl Environ Microbiol* 2000, *66* (9), 3931-8.
122. Janzon, L.; Lofdahl, S.; Arvidson, S., Identification and nucleotide sequence of the delta-lysin gene, *hld*, adjacent to the accessory gene regulator (*agr*) of *Staphylococcus aureus*. *Mol. Gen. Genet.* 1989, *219* (3), 480-5.
123. Gaskill, M. E.; Khan, S. A., Regulation of the enterotoxin B gene in *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem* 1988, *263* (13), 6276-80.
124. Tseng, C. W.; Stewart, G. C., Rot repression of enterotoxin B expression in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 2005, *187* (15), 5301-9.
125. Regassa, L. B.; Couch, J. L.; Betley, M. J., Steady-state staphylococcal enterotoxin type C mRNA is affected by a product of the accessory gene regulator (*agr*) and by glucose. *Infect Immun* 1991, *59* (3), 955-62.
126. Bayles, K. W.; Iandolo, J. J., Genetic and molecular analyses of the gene encoding staphylococcal enterotoxin D. *J Bacteriol* 1989, *171* (9), 4799-806.
127. O'Toole, P. W.; Foster, T. J., Molecular cloning and expression of the epidermolytic toxin A gene of *Staphylococcus aureus*. *Microb Pathog* 1986, *1* (6), 583-94.
128. Sheehan, B. J.; Foster, T. J.; Dorman, C. J.; Park, S.; Stewart, G. S., Osmotic and growth-phase dependent regulation of the eta gene of *Staphylococcus aureus*: a role for DNA supercoiling. *Mol Gen Genet* 1992, *232* (1), 49-57.
129. Queck, S. Y.; Jameson-Lee, M.; Villaruz, A. E.; Bach, T. H.; Khan, B. A.; Sturdevant, D. E.; Ricklefs, S. M.; Li, M.; Otto, M., RNAIII-independent target gene control by the *agr* quorum-sensing system: insight into the evolution of virulence regulation in *Staphylococcus aureus*. *Mol. Cell* 2008, *32* (1), 150-8.

130. Novick, R. P.; Projan, S. J.; Kornblum, J.; Ross, H. F.; Ji, G.; Kreiswirth, B.; Vandenesch, F.; Moghazeh, S., The *agr* P2 operon: an autocatalytic sensory transduction system in *Staphylococcus aureus*. *Mol. Gen. Genet.* 1995, 248 (4), 446-58.
131. Kuehnert, M. J.; Kruszon-Moran, D.; Hill, H. A.; McQuillan, G.; McAllister, S. K.; Fosheim, G.; McDougal, L. K.; Chaitram, J.; Jensen, B.; Fridkin, S. K.; Killgore, G.; Tenover, F. C., Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. *J Infect Dis* 2006, 193 (2), 172-9.
132. Geissmann, T.; Chevalier, C.; Cros, M. J.; Boisset, S.; Fechter, P.; Noirot, C.; Schrenzel, J.; Francois, P.; Vandenesch, F.; Gaspin, C.; Romby, P., A search for small noncoding RNAs in *Staphylococcus aureus* reveals a conserved sequence motif for regulation. *Nucleic Acids Res.* 2009, 37 (21), 7239-57.
133. Dassy, B.; Hogan, T.; Foster, T. J.; Fournier, J. M., Involvement of the accessory gene regulator (*agr*) in expression of type 5 capsular polysaccharide by *Staphylococcus aureus*. *J Gen Microbiol* 1993, 139 Pt 6, 1301-6.
134. Luong, T.; Sau, S.; Gomez, M.; Lee, J. C.; Lee, C. Y., Regulation of *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide expression by *agr* and *sarA*. *Infect Immun* 2002, 70 (2), 444-50. 140
135. Pantrangi, M.; Singh, V. K.; Wolz, C.; Shukla, S. K., Staphylococcal superantigen-like genes, *ssl5* and *ssl8*, are positively regulated by *Sae* and negatively by *Agr* in the Newman strain. *FEMS Microbiol Lett* 2010.
136. Saravia-Otten, P.; Muller, H. P.; Arvidson, S., Transcription of *Staphylococcus aureus* fibronectin binding protein genes is negatively regulated by *agr* and an *agr*-independent mechanism. *J Bacteriol* 1997, 179 (17), 5259-63.
137. Lebeau, C.; Vandenesch, F.; Greenland, T.; Novick, R. P.; Etienne, J., Coagulase expression in *Staphylococcus aureus* is positively and negatively modulated by an *agr*-dependent mechanism. *J Bacteriol* 1994, 176 (17), 5534-6.
138. Huntzinger, E.; Boisset, S.; Saveanu, C.; Benito, Y.; Geissmann, T.; Namane, A.; Lina, G.; Etienne, J.; Ehresmann, B.; Ehresmann, C.; Jacquier, A.; Vandenesch, F.; Romby, P., *Staphylococcus*

aureus RNAIII and the endoribonuclease III coordinately regulate *spa* gene expression. *EMBO J.* 2005, 24 (4), 824-35.

139. Chevalier, C.; Boisset, S.; Romilly, C.; Masquida, B.; Fechter, P.; Geissmann, T.; Vandenesch, F.; Romby, P., *Staphylococcus aureus* RNAIII binds to two distant regions of *coa* mRNA to arrest translation and promote mRNA degradation. *PLoS Pathogens* 2010, 6 (3), e1000809.

140. Boisset, S.; Geissmann, T.; Huntzinger, E.; Fechter, P.; Bendridi, N.; Possedko, M.; Chevalier, C.; Helfer, A. C.; Benito, Y.; Jacquier, A.; Gaspin, C.; Vandenesch, F.; Romby, P., *Staphylococcus aureus* RNAIII coordinately represses the synthesis of virulence factors and the transcription regulator Rot by an antisense mechanism. *Genes Dev.* 2007, 21 (11), 1353-66.

141. Geisinger, E.; Adhikari, R. P.; Jin, R.; Ross, H. F.; Novick, R. P., Inhibition of rot translation by RNAIII, a key feature of *agr* function. *Mol. Microbiol.* 2006, 61 (4), 1038-48.

142. Lina, G.; Jarraud, S.; Ji, G.; Greenland, T.; Pedraza, A.; Etienne, J.; Novick, R. P.; Vandenesch, F., Transmembrane topology and histidine protein kinase activity of AgrC, the *agr* signal receptor in *Staphylococcus aureus*. *Mol. Microbiol.* 1998, 28 (3), 655-62.

143. Ji, G.; Beavis, R.; Novick, R. P., Bacterial interference caused by autoinducing peptide variants. *Science* 1997, 276 (5321), 2027-30.

144. Kavanaugh, J. S.; Thoendel, M.; Horswill, A. R., A role for type I signal peptidase in *Staphylococcus aureus* quorum sensing. *Mol Microbiol* 2007, 65 (3), 780-98.

145. Dufour, P.; Jarraud, S.; Vandenesch, F.; Greenland, T.; Novick, R. P.; Bes, M.; Etienne, J.; Lina, G., High genetic variability of the *agr* locus in *Staphylococcus* species. *J. Bacteriol.* 2002, 184 (4), 1180-6.

146. McDowell, P.; Affas, Z.; Reynolds, C.; Holden, M. T.; Wood, S. J.; Saint, S.; Cockayne, A.; Hill, P. J.; Dodd, C. E.; Bycroft, B. W.; Chan, W. C.; Williams, P., Structure, activity and evolution of the group I thiolactone peptide quorumsensing system of *Staphylococcus aureus*. *Mol. Microbiol.* 2001, 41 (2), 503-12.

147. Jarraud, S.; Lyon, G. J.; Figueiredo, A. M.; Gerard, L.; Vandenesch, F.; Etienne, J.; Muir, T. W.; Novick, R. P., Exfoliatin-producing strains define a fourth agr specificity group in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 2000, *182* (22), 6517-22.
148. Otto, M.; Echner, H.; Voelter, W.; Gotz, F., Pheromone cross-inhibition between *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Infect. Immun.* 2001, *69* (3), 1957-60.
149. Mayville, P.; Ji, G.; Beavis, R.; Yang, H.; Goger, M.; Novick, R. P.; Muir, T. W., Structure-activity analysis of synthetic autoinducing thiolactone peptides from *Staphylococcus aureus* responsible for virulence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1999, *96* (4), 1218-23.
150. Lyon, G. J.; Wright, J. S.; Muir, T. W.; Novick, R. P., Key determinants of receptor activation in the agr autoinducing peptides of *Staphylococcus aureus*. *Biochemistry* 2002, *41* (31), 10095-104.
151. Fleming, V.; Feil, E.; Sewell, A. K.; Day, N.; Buckling, A.; Massey, R. C., Agr interference between clinical *Staphylococcus aureus* strains in an insect model of virulence. *J. Bacteriol.* 2006, *188* (21), 7686-8.
152. Zhang, L.; Lin, J.; Ji, G., Membrane anchoring of the AgrD N-terminal amphipathic region is required for its processing to produce a quorum-sensing pheromone in *Staphylococcus aureus*. *J. Biol. Chem.* 2004, *279* (19), 19448-56.
153. Qiu, R.; Pei, W.; Zhang, L.; Lin, J.; Ji, G., Identification of the putative staphylococcal AgrB catalytic residues involving the proteolytic cleavage of AgrD to generate autoinducing peptide. *J. Biol. Chem.* 2005, *280* (17), 16695- 704.
154. Thoendel, M.; Horswill, A. R., Identification of *Staphylococcus aureus* AgrD residues required for autoinducing peptide biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 2009, *284* (33), 21828-38.
155. Novick, R. P., Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. *Mol. Microbiol.* 2003, *48* (6), 1429-49.
156. Novick, R. P.; Geisinger, E., Quorum sensing in staphylococci. *Annu. Rev. Genet.* 2008, *42*, 541-64.

157. Zhang, L.; Lin, J.; Ji, G., Membrane anchoring of the AgrD N-terminal amphipathic region is required for its processing to produce a quorum-sensing pheromone in *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem* 2004, 279 (19), 19448-56.
158. Saenz, H. L.; Augsburger, V.; Vuong, C.; Jack, R. W.; Gotz, F.; Otto, M., Inducible expression and cellular location of AgrB, a protein involved in the maturation of the staphylococcal quorum-sensing pheromone. *Arch. Microbiol.* 2000, 174 (6), 452-5.
159. Zhang, L.; Gray, L.; Novick, R. P.; Ji, G., Transmembrane topology of AgrB, the protein involved in the post-translational modification of AgrD in *Staphylococcus aureus*. *J. Biol. Chem.* 2002, 277 (38), 34736-42.
160. Bernsel, A.; Viklund, H.; Hennerdal, A.; Elofsson, A., TOPCONS: consensus prediction of membrane protein topology. *Nucleic Acids Res* 2009, 37 (Web Server issue), W465-8.
161. Paetzel, M.; Karla, A.; Strynadka, N. C.; Dalbey, R. E., Signal peptidases. *Chem Rev* 2002, 102 (12), 4549-80.
162. Barkocy-Gallagher, G. A.; Bassford, P. J., Jr., Synthesis of precursor maltosebinding protein with proline in the +1 position of the cleavage site interferes with the activity of *Escherichia coli* signal peptidase I in vivo. *J. Biol. Chem.* 1992, 267 (2), 1231-8.
163. Zhang, L.; Ji, G., Identification of a staphylococcal AgrB segment(s) responsible for group-specific processing of AgrD by gene swapping. *J. Bacteriol.* 2004, 186 (20), 6706-13.
164. George Cisar, E. A.; Geisinger, E.; Muir, T. W.; Novick, R. P., Symmetric signalling within asymmetric dimers of the *Staphylococcus aureus* receptor histidine kinase AgrC. *Mol Microbiol* 2009, 74 (1), 44-57.
165. Koenig, R. L.; Ray, J. L.; Maleki, S. J.; Smeltzer, M. S.; Hurlburt, B. K., *Staphylococcus aureus* AgrA binding to the RNAIII-agr regulatory region. *J Bacteriol* 2004, 186 (22), 7549-55.
166. Sidote, D. J.; Barbieri, C. M.; Wu, T.; Stock, A. M., Structure of the *Staphylococcus aureus* AgrA LytTR domain bound to DNA reveals a beta fold with an unusual mode of binding. *Structure* 2008, 16 (5), 727-35.

167. Verdon, J.; Girardin, N.; Lacombe, C.; Berjeaud, J. M.; Hechard, Y., delta-hemolysin, an update on a membrane-interacting peptide. *Peptides* 2009, 30 (4), 817-23.
168. Benito, Y.; Kolb, F. A.; Romby, P.; Lina, G.; Etienne, J.; Vandenesch, F., Probing the structure of RNAIII, the *Staphylococcus aureus* agr regulatory RNA, and identification of the RNA domain involved in repression of protein A expression. *RNA* 2000, 6 (5), 668-79.
169. Janson, L.; Arvidson, S., The role of the delta-lysin gene (hld) in the regulation of virulence genes by the accessory gene regulator (agr) in *Staphylococcus aureus*. *EMBO J* 1990, 9 (5), 1391-9.
170. Said-Salim, B.; Dunman, P. M.; McAleese, F. M.; Macapagal, D.; Murphy, E.; McNamara, P. J.; Arvidson, S.; Foster, T. J.; Projan, S. J.; Kreiswirth, B. N., Global regulation of *Staphylococcus aureus* genes by Rot. *J Bacteriol* 2003, 185 (2), 610-9.
171. Gordon, R. J.; Lowy, F. D., Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin. Infect. Dis.* 2008, 46 Suppl 5, S350-9.
172. Chambers, H. F.; Deleo, F. R., Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009, 7 (9), 629-41.
173. De Leo, F. R.; Chambers, H. F., Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. *J. Clin. Invest.* 2009, 119 (9), 2464-74.
174. Moran, G. J.; Krishnadasan, A.; Gorwitz, R. J.; Fosheim, G. E.; McDougal, L. K.; Carey, R. B.; Talan, D. A., Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N. Engl. J. Med.* 2006, 355 (7), 666-74.
175. Seybold, U.; Kourbatova, E. V.; Johnson, J. G.; Halvosa, S. J.; Wang, Y. F.; King, M. D.; Ray, S. M.; Blumberg, H. M., Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 genotype as a major cause of health care-associated blood stream infections. *Clin. Infect. Dis.* 2006, 42 (5), 647-56.
176. Montgomery, C. P.; Boyle-Vavra, S.; Adem, P. V.; Lee, J. C.; Husain, A. N.; Clasen, J.; Daum, R. S., Comparison of virulence in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pulsotypes USA300 and USA400 in a rat model of pneumonia. *J. Infect. Dis.* 2008, 198 (4), 561-70.

177. Li, M.; Diep, B. A.; Villaruz, A. E.; Braughton, K. R.; Jiang, X.; DeLeo, F. R.; Chambers, H. F.; Lu, Y.; Otto, M., Evolution of virulence in epidemic community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009, *106* (14), 5883-8.

178. Bibalan MH, Shakeri F, Javid N, Ghaemi A, Ghaemi EA. Accessory gene regulator types of *Staphylococcus aureus* isolated in Gorgan, north of Iran. *J Clin Diagn Res* 2014 Apr; 8 (4): DC07-9.

179. Robert Andoni, Mustafa Ibro. 2004. *Bakteriologjia Klinike*.

180. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 7th ed. Approved standard M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA. 2000.

181. EUCAST

182. Shopsin B, Mathema B, Alcabes P, et al. Prevalence of agr specificity groups among *Staphylococcus aureus* strains colonizing children and their guardians. *J Clin Microbiol.* 2003; 1:456–459.

183. Chambers, H.F. 1997. *Clin. Microbiol. Rev.*; 10:781-791

184. Sollid J. U. E, Furberg A. S; Hanssen A. M; Johannessen M. S. *aureus*: Determinants of human carriage. *Infection, Genetics and Evolution.* Vol 21. 2014. Pg 531-541.

185. Verkaik N.J., deVogel C.P., H.A. Boelens, D. Grumann, T. Hoogenboezem, C. Vink, H. Hooijkaas, T.J. Foster, H.A. Verbrugh, A. van Belkum, E.J. van Wamel. Anti-staphylococcal humoral immune response in persistent nasal carriers and noncarriers of *Staphylococcus aureus*. *J. Infect. Dis.*, 199 (2009), pp. 625-632.

186. von Eiff C, K. Becker, K. Machka, H. Stammer, G. Peters. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study group. *N. Engl. J. Med.*, 344 (2001), pp. 11-16.

187. ECDC, 2012. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. European Centre for Disease Prevention and Control. ISBN 978-92-9193-398-3.

188. Fluit AC, Wielders CL, Verhoef J, Schmitz FJ. Epidemiology and susceptibility of 3,051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 university hospitals participating in the European sentry study. *J Clin Microbiol.* 2001;39(10):3727-32. <https://doi.org/10.1128/jcm.39.10.3727->

3732.2001

189. Marshall SA, Wilke WW, Pfaller MA, Jones RN. *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from blood stream infections: Frequency and occurrence, antimicrobial susceptibility, and molecular (*mecA*) characterization of oxacillin resistance in the SCOPE program. *Diagn Microbial Infect Dis.* 1998;30(3):205-14. [https://doi.org/10.1016/s0732-8893\(97\)00212-5](https://doi.org/10.1016/s0732-8893(97)00212-5).

190. Panlilio AL, Culver DH, Gaynes RP, Banerjee S, Henderson TS, Tolson JS, *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1992;3(10):582-6. <https://doi.org/10.1086/646432>.

191. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Kugler K; SENTRY Participants Group. Bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infection: Frequencies of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY Antimicrobial surveillance Program (United States and Canada, 1997). *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42(7):1762-70. <https://doi.org/10.1128/aac.42.7.1762>

192. Voss A, Milatovic D, Wallrauch-Schwarz C, Rosdahl VT, Braveny I. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1994 ;13(1): 50-5.

193. Eyob Yohannes Garoy, Yacob Berhane Gebreab, Oliver Okoth Achila, Daniel Goitom Tekeste, Robel Kesete, Robel Ghirmay, Ruta Kiflay, Thomas Tesfu. Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA): Prevalence and Antimicrobial Sensitivity Pattern among Patients-A Multicenter Study in Asmara, Eritrea. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2019: 8321834.

194. Köck R, Becker K, Cookson B, *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe [published correction appears in *Euro Surveill.* 2010;15(42). pii: 19694]. *Euro Surveill.* 2010;15(41):19688. Published 2010 Oct 14. doi:10.2807/ese.15.41.19688-en.

195. Kanerva M., Blom M., Tuominen U., Kolho E., Anttila V. J., *et al.* Costs of an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection.* 2011; 66(1):22–28.

196. Parascandalo FA, Zarb P, Tartari E, Lacey D, Bitincka S, Manastirliu O, *et al.* Carriage of multidrug-resistant organisms in a tertiary university hospital in Albania a point prevalence

survey. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2016; 5:29. <https://doi.org/10.1186/s13756-016-0128-1>

197. Daka A, Oltiana P, Mucaj S, Puca E. Detection of *Staphylococcus aureus* and Confirmation of Methicillin- resistant *S. aureus* in the American Hospital Tirane. 27th Congress of ECCMID. Session: EV005 Bacterial Susceptibility and Resistance; 2017.

198. Faria S, Sodano L, Gjata A, Dauri M, Sabato AF, Bilaj AA, *et al*. The first prevalence survey of nosocomial infections in the University Hospital Centre “Mother Teresa” of Tirana. *Albania J Hosp Infect*. 2007;65(3):244-50. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2006.11.007>

199. Nilsson P., T. Ripa. *Staphylococcus aureus* throat colonization is more frequent than colonization in the anterior nares. *J. Clin. Microbiol.*, 44 (2006), pp. 3334-3339.

200. Mertz D., R. Frei, N. Periat, M. Zimmerli, M. Battegay, U. Fluckiger, A.F. Widmer Exclusive *Staphylococcus aureus* throat carriage: at-risk populations. *Arch. Intern. Med.*, 169 (2009), pp.172-178.

201. Pan A, Lee A, Cooper B, Chalfine A, Daikos GL, Garilli S, *et al*. Risk factors for previously unknown methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage on admission to 13 surgical wards in Europe. SURF study group (MRSA colonisation on admission to surgical wards in Europe: Identification of risk factors, in collaboration with the MOSAR-04 study team. *J Hosp Infect*. 2013;83(2):107-13. <https://doi.org/10.1186/1753-6561-5-s6-o85>

202. Cirkovic I, Stepanovic S, Skov R, Trajkovic J, Grgurevic A, Larsen AR. Carriage and genetic diversity of methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* among patients and healthcare workers in a Serbian university hospital. *PLoS One*. 2015;10(5): e0127347.

203. Fiolic Z, Bosnjak Z, Snajdar I, Gregorek AC, Kalenic S, Budimir A. The screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in vascular surgery patients: A comparison of molecular testing and broth-enriched culture. *Chemotherapy*. 2012;58(4):330-6. <https://doi.org/10.1159/000343454> PMID:23147252

204. Hawkes M, Barton M, Conly J, Nicolle L, Barry C, Ford-Jones EL. Community-associated MRSA: superbug at our doorstep. *CMAJ*. 2007; 176:54–6.

205. Liu C, Graber CJ, Karr M, Diep BA, Basuino L, Schwartz BS, et al. A population-based study of the incidence and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in San Francisco, 2004–2005. *Clin Infect Dis.* 2008; 46:1637–46.
206. Bratu S, Landman D, Gupta J, Trehan M, Panwar M, Quale J. A population-based study examining the emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 in New York City. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2006; 5:29.
207. Arvidson S. et K. Tegmark (2001). Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Med. Microbiol.*, 291, 159-170.
208. Bronner S., H. Monteil et G. Prevost (2004). Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *Fems. Microbiol. Rev.*, 28, 183-200.
209. Meysam Hasannejad Bibalan, Fatemeh Shakeri, Naeme Javid, Amir Ghaemi, Ezzat Allah Ghaemi. Accessory Gene Regulator Types of *S. aureus* Isolated in Gorgan, North of Iran. *J Clin Diagn Res.* 2014 Apr; 8(4): DC07–DC09.
210. Ben Ayed S, Boutiba-Ben Boubaker I, Ennigrou S, Ben Redjeb S. Accessory gene regulator (*agr*) typing of *Staphylococcus aureus* isolated from human infections. *Arch Inst Pasteur Tunis.* 2008;85(1-4):3-8. PMID: 19469411.
211. Van Leeuwen W., C. Van Nieuwenhuizen, H. Gijzen, H. Verbrugh et A. Van Belkum (2000). Population studies of methicillin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* strains reveal a lack of variability in the *agrD* gene, encoding a staphylococcal autoinducer peptide. *J. Bacteriol.*, 182, 5721-5772.
212. Yoon H.J., J.Y. Choi, K. Lee, D. Yong, J.M. Kim et Y.G. Song (2007). Accessory gene regulator group polymorphisms in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An association with clinical significance. *J. Clin. Invest.*, 48, 176-183.
213. Goerke C., M. Kimmel, K. Ietz et C. Wolz (2003). Evaluation of intraspecific interference polymorphism in *Staphylococcus aureus* during infection and colonization. *J. Infect. Dis.*, 6, 188-250.
214. Hallin M., O. Denis, A. Deplano, R. De Mendonça, R. De Ryck, S. Rottiers et M.J. Struelens (2007). Genetic relatedness between methicillin-susceptible and methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: results of a national survey. *J. Antimicrob. Chemother.*, 59, 455- 472.

215. Kahl B.C., K. Becker, A.W. Friedrich, J. Clasen, B. Sinha, C. Von Eiff et G. Peters (2003). agrDependent bacterial interference has no impact on long-term colonization of Staphylococcus aureus during persistent airway infection of cystis fibrosis patients. J. Clin. Microbiol., 41, 5199-5201.

216. Vandenesch F., N. Timothy, M.C Enright, G. Lina, G.R Nimmo, H. Hefferman et al. (2003). Community-acquired methicillin resistant Staphylococcus aureus carrying PantonValentine Leucocidin genes: worldwide emergence. Emerg. Infect. Immun, 9, 978-984.

217. Ben Ayed S., I. Boutiba-Ben Boubaker, S. Ennigou et S. Ben Redjeb (2006). Prevalence of methicillin resistant Staphylococcus aureus agr groups at Charles Nicolle Hospital of Tunis. Patho. Biol., 54, 435-438.

218. Gilot P. et W. Van. Leeuwen (2004). Comparative analysis of agr locus diversification and overall genetic variability among bovine and human Staphylococcus aureus isolates. J. Clin. Microbiol., 42, 1265-1269.