

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
MEDICĪNAS FAKULTĀTE

**NO ĶIRURĢISKĀ MATERIĀLA
IZDALĪTO *KLEBSIELLA SPP.* BAKTĒRIJU
 β -LAKTAMĀŽU PRODUCĒŠANAS NOTEIKŠANA**

MAGISTRA DARBS

Autors: **Mareks Kleina**

Studenta apliecības Nr.: mk16087

Darba vadītāja: Dr. med. Iveta Līduma

RĪGA 2021

ANOTĀCIJA

Klebsiella pneumoniae un *Klebsiella oxytoca* ir Gram-negatīvas nosacīti patogēnas baktērijas, kas izraisa urīnceļu, plaušu u.c. orgānu infekcijas. *Klebsiella spp.* raksturo plaša rezistence pret β -laktāmu antibakteriālajiem līdzekļiem, kur klīniski nozīmīgāka ir paplašināta darbības spektra β -laktamāze (ESBL).

Darbā apkopota literatūra par *Klebsiella spp.* morfoloģiju, infekcijām, antibakteriālu terapiju un tās rezistences mehānismiem. Praktiskajā daļā tika iegūti *Klebsiella spp.* antibakteriālas jutības dati, pamatojoties uz disku difūzijas testiem (DDT), E-testiem, un arī lietojot molekulārbioloģiskās izmeklēšanas metodes: *DNA STRIP*® tehnoloģiju. Pētījums tika veikts Rīgas Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcā no izolātiem, kas iegūti no ķirurģiskā materiāla - pēc operāciju brūču un arī ar protēzēm/implantiem saistīto infekciju gadījumos.

Kopumā, vidējais rezistences līmenis Eiropā ir zemāks nekā Latvijā – izņemot rezistenci pret karbapenēmiem. Latvijā ir augsts cefalosporīnu, aminoglikozīdu un fluorhinolonu rezistences līmenis. Rezultāti, kas iegūti Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcā Rīgā, ir zemāki nekā Latvijas rezistences radītāji, kas norāda uz vadlīniju ievērošanu un korektu antibakteriālas terapijas izvēli.

No veiktajiem testiem (n – 214) procentuāli lielāku rezistenci konstatēja pret cefalosporīniem, (n – 24) 11.21% (ceftazidīms un ceftriaksons), kas norāda uz ESBL, savukārt, karbapenēmiem netika notekits neviens rezistents izolāts.

Atslēgas vārdi: *Klebsiella spp.*, bakteriāla rezistence, β -laktamāzes, ESBL, disku difūzijas tests, E-tests.

ANNOTATION

Klebsiella pneumoniae and *Klebsiella oxytoca* are Gram-negative bacterium and opportunistic pathogens. They can cause urinary tract infections, pneumoniae and other conditions. *Klebsiella spp.* pathogens are often resistant to β -lactam antibiotics. Clinically important are strains producing extended spectrum β -lactamases (ESBL).

In this research summary of *Klebsiella spp.* morphology, infections, antibacterial therapy and resistance mechanisms was made. In practical part of the research, disc diffusion, E-test, and molecularbiological test *DNA STRIP*® methods were used to achieve bacterial susceptibility data (n – 214). Analysis was made in Hospital of traumatology and orthopedy in Riga, bacterial material was acquired from surgical material – post-surgical and implant/prosthesis related infections.

Overall, *Klebsiella spp.* resistance data in European Union is better than Latvian, except for carbapenems. In Latvia there is high level of resistance to cephalosporins, aminoglycosides and fluroquinolones. Results acquired in Hospital of traumatology and orthopedy in Riga were better than average Latvian result. It shows complying of guidelines and right medical treatment are in use.

Most detected resistance was to cephalosporin antibiotics (n – 24) 11.21% – ceftriaxone and ceftazidime, that indicates activity of ESBL. Conversely, not a single isolate was resistant to carbapenem antibiotics.

Keywords: *Klebsiella spp.*, bacterial resistance, β -lactamase, ESBL, disc diffusion test, E-test.

ANOTACJA

Klebsiella pneumoniae (pałeczka zapalenia płuc) i *Klebsiella oxytoca* to Gram-ujemne bakterie, potencjalnie oportunistyczne patogeny. Zazwyczaj powodują choroby układu moczowego, zapalenie płuc i zakażenia innych organów. Cechą charakterystyczną *Klebsiella* jest wysoki poziom oporności na antybiotyki β -laktamowe, szczególne znaczenie kliniczne mają szczepy produkujące β -laktamazy o rozszerzonym spektrum działania (ESBL).

W owej pracy zostało wykonane streszczenie literatury naukowej dotyczącej *Klebsiella spp.*, morfologii bakterii, zakażeń, terapii antybakteryjnej, a także mechanizmów oporności. W części praktycznej, w celu uzyskania danych o oporności *Klebsiella spp.*, zostały wykorzystane testy dyfuzyjno-krażkowe i E-test, a także molekularno-biologiczna technologia DNA STRIP®. Badania przeprowadzono w Szpitalu Traumatologii i Ortopedii w Rydze, materiał mikrobiologiczny został uzyskany z materiału chirurgicznego – po operacjach oraz infekcjach implantów i protez.

Ogólnie, poziom oporności *Klebsiella spp.* na Łotwie jest gorszy niż średnia w Unii Europejskiej, z wyjątkiem oporności na karbapenemy. Na Łotwie obecny jest wysoki poziom oporności na cefalosporyny, aminoglikozydy i fluorochinolony. Wyniki uzyskane w Szpitalu Traumatologii i Ortopedii w Rydze (n – 214) są wyraźnie lepsze niż średnie wyniki na Łotwie, co wskazuje na wykorzystywanie poprawnych sposobów leczenia.

Największą liczbę opornych izolatów zidentyfikowano na cefalosporyny (n – 24) 11.21% – ceftriakson i ceftazydim, co, z kolei, wskazuje na aktywność ESBL. Badania na karbapenemy nie wykazały ani jednego opornego izolatu.

Słowa kluczowe: *Klebsiella spp.*, oporność bakteryjna, β -laktamazy, ESBL, test dyfuzyjno-krażkowy, E-test.

ANOTĀCIJA	2
ANNOTATION	3
ANOTACJA.....	4
APZIMĒJUMU SARAKSTS	7
IEVADS	9
1 LITERATŪRAS APSKATS	10
1.1 Klīniski nozīmīgu <i>Klebsiella spp.</i> raksturojums.....	10
1.1.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	10
1.1.2 <i>Klebsiella oxytoca</i>	11
1.1.3 <i>K. pneumoniae</i> un <i>K. oxytoca</i> diferencēšana.....	12
1.1.4 Virulence.....	14
1.1.5 <i>Klebsiella spp.</i> ģints infekcijas un organisma imūnā atbilde	16
1.1.6 Preventīvie pasākumi	18
1.2 <i>Klebsiella spp.</i> infekciju antibakteriāla terapija	20
1.2.1 <i>Klebsiella spp.</i> antibakteriāla terapija	21
1.2.1.1 β-laktāmi	21
1.2.1.2 Aminoglikozīdi	23
1.2.1.3 Hinoloni un fluorhinoloni	25
1.2.1.4 Polimiksīni	26
1.2.1.5 Tigeciklīns.....	28
1.2.1.6 Sulfametaksozols/trimetoprīms (SMX/TMP).....	29
1.2.1.7 Bakteriofāgu terapija	30
1.3 <i>Klebsiella spp.</i> antibakteriālas rezistences mehānismi	31
1.3.1 β-laktamāzes	31
1.3.1.1 A grupas β-laktamāzes	32
1.3.1.2 C grupas β-laktamāzes	33
1.3.1.3 D grupas β-laktamāzes	34
1.3.1.4 B grupas jeb metālo-β-laktamāzes.....	35

1.3.2	Aminoglikozīdu rezistence	35
1.3.2.1	Aminoglikozīdu-modificējošie enzīmi (AAC)	36
1.3.2.2	Aminoglikozīdu eflukss mehānismi	37
1.3.3	Hinolonu, fluorhinolonu rezistence	38
1.3.4	Polimiksīnu rezistence	38
1.3.5	Tigeciklīna rezistence	39
1.4	Statistikas dati par Eiropu/Eiropas Savienību	40
1.5	Statistikas dati par Latviju	49
2	MATERIĀLI UN METODEDES	54
2.1	Barotnes	54
2.2	Inokulāti	55
2.3	Fenotipiska izmeklēšana	55
2.3.1	Disku difūzijas tests (DDT)	55
2.3.2	Dubuldisku tests	56
2.3.3	E- tests	57
2.4	Molekulāri bioloģiskā izmeklēšana	58
2.4.1	DNS izdalīšana	58
2.4.2	Amplifikācija	59
2.4.3	Hibridizācija	60
2.4.4	<i>GenoType BC Gramnegative</i> tests	61
2.5	Ķirurģiskā materiāla iegūšana	62
3	REZULTĀTI UN DISKUSIJA	66
	SECINĀJUMI	78
	LITERATŪRAS SARAKSTS	80

APZIMĒJUMU SARAKSTS

AAC - aminoglikozīdu N-acetiltransferāzes

ADH - arginīna dihidrolāze

AEB - aerobaktīns

AME - aminoglikozīdu-modificējošie enzīmi

APH - aminoglikozīdu O-fosfotransferāzes

cAMP - cikliskais adenozīna monofosfāts

DNS – dezoksiribonukleīnskābe

eDNS – vides DNS

ENT - enterobaktīns

EPS - ekstracelulārie polimēru savienojumi

ESBL - paplašināta spektra β -laktamāzes

HVKp - hipervirulenta *K. pneumoniae*

YRB - jersiniabaktīns

LDC - lizīna dekarboksilāze

MAPK - mitogēn-aktivēta proteīnkināze

MBL - Metālo- β -laktamāzes

MDR-KP - multirezistenta *K. pneumoniae*

MIK - Minimāla inhibējoša koncentrācija

MPV - mākslīga plaušu ventilācija

NDM - New Dehli metālo- β -laktamāze

ODC - ornitīna dekarboksilāze

OXA - oksaciklīnu grupa

PABA - p-aminobenzoiskābes

PBP - penicilīn-saistošais proteīns

PPR - paternu atpazīšanas receptori

RNS – ribonukleīnskābe

SBL - serīna β-laktamāzes

SLH - salmoheīns

SMX/TMP - Sulfametaksozols/trimetoprīms

TNFR1 - tumor nekrozes faktora alfa receptori

VIM - Veronas iminepenāze

VP - Voges-Proskauer tests

VRE - vankomicīn-rezistentais *Enterococcus*

WHO - Pasauls Veselības Organizācija

XDR - izteikta multirezistence

IEVADS

Klebsiella pneumoniae un *Klebsiella oxytoca* ir bieži sastopami patogēni ambulatorajā un stacionārajā praksē, kas izraisa virkni iespējamu slimību, sākot ar urīnceļu infekcijām, pneimoniju līdz dziļu audu iekaisumiem. Neskatoties uz antibakteriālu līdzekļu attīstību un pieejamību, *Klebsiella spp.* turpina draudēt cilvēcei izteiktās rezistences dēļ. Situācija 1970-80. gados ir bijusi tik kritiska, kā praksē tika atkārtoti pielietotās polimiksīnu antibiotikas, kurās izteikto blakusparādību dēļ ir toksiskas cilvēka organismam.

Šobrīd tiek ziņots par multirezistentām *Klebsiella pneumoniae* un *Klebsiella oxytoca*. Rezistence konstatēta pret III paaudzes cefalosporīniem, karbapenēmiem un citiem β -laktāmiem, kas ir pamatlīdzekļi cīņā ar *Klebsiella spp.*. Vēlāk atklāja arī rezistenci pret aminoglikozīdiem, polimiksīniem u.c. līdzekļiem. Pārmērīga un nekorekta antibakteriālu līdzekļu lietošana noveda līdz multirezistences gadījumiem, kad izolētais patogēns ir bijis rezistents pret vairāku grupu antibakteriālajiem līdzekļiem. Šādos gadījumos ārstēšanas iespējas ir kritiski ierobežotas un bieži vien arī kaitīgas cilvēku veselībai.

Problēmas aktualitāte: Nekorekta antibakteriālu līdzekļu pielietošana, kā arī izvairīšanās no baktēriju diagnosticēšanas pasākumiem, noved līdz *Klebsiella spp.* rezistencei, kas ir aktuāla problēma gan Eiropas Savienība, gan Latvijā.

Darba mērķis: Apkopot Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcas laboratorijā iegūtos datus par *Klebsiella pneumoniae* un *Klebsiella oxytoca* rezistences gadījumiem, kā arī salīdzināt iegūtos rezultātus ar Latvijas un ES statistikas datiem. Apgūt *Klebsiella spp.* fenotipiskās un molekulāri bioloģiskās noteikšanas metodes.

Darba uzdevumi:

- Veikt zinātniskas literatūras apkopojumu par *Klebsiella pneumoniae* un *Klebsiella oxytoca* – to morfoloģiju, virulenci, rezistences mehānismiem un ārstēšanas iespējam.
- Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcas, Latvijas un ES *Klebsiella spp.* antibakteriālās rezistences gadījumu statistisku datu salīdzinājums.
- Apgūt un lietot zāļu jutības testus – disku difūzijas testu, E-testu un arī molekulāri bioloģisko *Genotype BC Gramnegative* testu.
- Apkopot un analizēt rezultātus par TOS rezistences gadījumiem *Klebsiella spp.*, kas iegūtas no ķirurģiska materiāla. Veikt datu apstrādi un vizualizāciju ar *Microsoft Excel* palīdzību.

1 LITERATŪRAS APSKATS

1.1 Klīniski nozīmīgu *Klebsiella spp.* raksturojums

1.1.1 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae pirmo reizi aprakstīja 1882. gadā vācu patologs Kārls Frīdlanders, kurš izolēja tās no mirušo pneimonijas slimnieku plaušām. Frīdlanders aprakstīja baktēriju, kā iekapsulētu nūjiņu. 1886. gadā par godu citām vācu mikrobiologam – Edvinām Klebsam – baktērija tika nosaukta – *Klebsiella pneumoniae*.

Šodien ir zināms, kā *K. pneumoniae* ir gram negatīva, aeroba vai fakultatīvi anaeroba, iekapsulēta, nekustīga nūjiņa, kas ir biežākais slimnīcas pneimonijas iemesls un sastāda 3-8% no visam nosokomialam infekcijām (Jondle *et al*, 2018). Baktēriju izmēri svārstās 1-2 μm uz 0,5 – 0,8 μm, lielākai daļai pārstāvju ir fimbrijas – garie matveidīgi veidojumi dažu nanometru garuma, kas ļauj baktērijai adhezīvi saistīties ar šūnām vai citām virsmām.

Baktērijai nav nepieciešami īpaši apstākļi, tās aug uz parastas agara barotnes vai MacConkey barotnes, pie optimālas temperatūras 37°C un pH 7.2-7.4 (Nagoba 2016).

Klebsiella ģints baktērijas ir atradamas dabā – ūdeņos, augsnē, dzīvniekos, bet, kas ir nozīmīgāks, tās spēj kolonizēt slimnīcas vidi, medicīnas ierīces u.c (Podschun *et al*, 1998)

Klebsiella pneumoniae pieder pie *Enterobacteriaceae* ģimenes. Baktērija izmanto vairākus virulences faktoros/mehānismus, kas izraisa infekcijas un arī antibiotiku rezistenci. Viens no būtiskākajiem baktērijas virulences faktoriem ir polisaharīdu kapsula, kas ļauj izvairīties no opsonizācijas un fagocitozes.

Šobrīd ir ziņots par 77 dažāda veida *K. pneumoniae* kapsulu veidiem un ir novērots, ka baktērijai, kurai nav kapsulas ir mazāk virulenta.

Vēl viens nozīmīgs virulences faktors ir baktērijas ārējais apvalks, kas sastāv no lipopolisaharīdiem, kas piedalās *K. pneumoniae* izraisītā sepsē (Ronnings *et al*, 2019).

Klebsiella pneumoniae šobrīd ir viena no vairākām baktērijām, kuram ir noteikta pretmikrobu līdzekļu rezistence. Rezistenci pret β-laktāmu līdzekļiem noteica Aleksandrs Flemings 1929. gadā. Vēlāk tika atklāts, ka *K. pneumoniae* izdala specifiskus enzīmus, ko nosauca par β -laktamāzem; enzīmi, kas ir spējīgi saistīties ar β-laktāmu līdzekļiem un inaktivēt tos, izjaucot to ķīmisku struktūru (Ashurst, Dawson, 2020).

Klebsiella pneumoniae ir atradama cilvēku fēcēs, deguna un rīkles gļotādā. Galvenokārt, baktērija dzīvojas gastrointestinālajā traktā un uz slimnīcas darbinieku rokām, kas ir viens no nosokomiālo infekciju iemesliem.

Statistiski baktērijas biežāk kolonizē Austrumāzijas izcelsmes cilvēkus un hroniskus alkoholiķus (Esposito *et al*, 2018)

Bez pneimonijas, zināms ka *K. pneumoniae* ir spējīga izraisīt arī urīnceļu, žultceļu un pēcoperāciju brūču infekcijas, ka arī tromboflebītu, holecistītu, caureju, meningītu u.c.

Atšķirība no *K. oxytoca*, *K. pneumoniae* nav spējīga sintetēt indolu no triptofāna – t.s. Indola tests.



1.1. att. *Klebsiella spp.* ģints laktozes fermentējošas gļotainas kolonijas uz MacConkey barotnes

Attēls no Microbiology and Parasitology PMFU. Nagoba B.S. Elsevier Health Sciences, 2016, 338 lpp.

1.1.2 *Klebsiella oxytoca*

Klebsiella oxytoca ir gram negatīva nūjiņa, *Enterobacteriaceae* ģimenes pārstāvis – tuvs *K. pneumoniae* radnieks. Līdzīgi *K. pneumoniae* to var atrast uz elpceļu gļotādas, ādas un gastrointestinālā traktā ka dzīvnieku, tā arī cilvēku.

Baktēriju aprakstīja vācu bakteriologs un higiēnists – Karls Flugge 1886. gadā, nosaucot to par *Bacterium oxytocum*.

K. oxytoca uzskata par oportūnistisku patogēnu, atbildīgu par daļu nosokomiālo infekciju, kā arī ir pamatotas aizdomas par tas lomu antibiotiku-saistīta hemorāģiskā kolītā (Hoffmann *et al*, 2010).

K. oxytoca ir spējīga producēt citotoksīnus, bet šobrīd nav zināms, kāds to sintēzes ceļš vai darbības mehānisms – ir zināms ka *in vitro* tie noved pie šūnu bojāejas (Minami *et al*, 1992).

1.1.3 *K. pneumoniae* un *K. oxytoca* diferencēšana

Klebsiella ģints baktērijas ir grūti nosākamā un bieži vien ir identificētas nepareizi. Fenotipiski, izmantojot klasiskas metodes, nav iespējams atšķirt baktērijas (Brisse *et al*, 2001), bet ir iespējams noteikt sugu izmantojot baktēriju genotipu.

Baktēriju atšķiršanai no citiem mikroorganismiem izmanto virkni bioķīmisko testu. Gram negatīvas baktērijas, kas aug uz MacConkey barotnes (veidojas rozā, gļotainas kolonijas) un ir oksidāzes negatīvas tiek uzskatītas par *Enterobacteriaceae*, tālākai noteikšanai izmanto detalizētus testus. Visas enterobaktērijas fermentē glikozi, bet tiek noteikta arī baktērijas spēja fermentēt citus ogļhidrātus: sukrozi, mannozi, sorbitolu, mannitolu, ksilozi, adonitolu, cellobiozi, dulcitolu u.c. Lielāka daļa enterobaktēriju producē ūdeņradi un oglekļa (IV) oksīdu – *Klebsiella* ģints pārstāvji producē salīdzinoši vairāk gāzes.

Laktozes fermentējošas *Enterobacteriaceae* tiek diferencētas pēc indola, metilsarkana (MR), Voges-Proskauer (VP) un citrāta reakcijām.

Indola reakcijas pamatā ir baktērijas spēja sintezēt indolu ar triptofanāzes palīdzību no triptofāna substrāta, veidojas arī blakusprodukti – piruvāts un amonjaks.

Glikozes fermentācija notiek ar organisku skābju starpniecību. Enterobaktērijas, kas ir MR pozitīvas, glikozes fermentācijas rezultātā parasti producē lielos daudzumos laktātu, acetātu, formiātu un sukcinātu. Notiek vides skābuma izmaiņas un jā pH samazinās līdz 4.4 un zemāk MR izmaina krāsu uz sarkanu.

Voges-Proskauer (VP) testa pozitīvas baktērijas producē neitrālu acetoīnu, kā starpproduktu glikozes fermentācijā. Skābekļa un koncentrēta kālija hidroksīda klātbūtnē, acetoīns tiek pārveidots par diacetil formu, kas savukārt, alfa-naftola klātbūtnē krāsojas sarkanā krāsā.

Citrāta reakciju izmanto, lai noskaidrotu vai baktērija spēj izmantot citrātu, kā vienīgu oglekļa avotu. Testā tiek izmantots nātrija citrāts un indikators bromtimola zilais. Rezultāts ir pozitīvs, ja tiek novērota baktēriju augšana, kā arī parasti notiek indikatora krāsas maiņa no zaļa uz zilu.

Laktozi fermentējošu *Enterobacteriaceae* indola, MR, VP un citrāta testu reakcijas

	Indola tests	MR	VP	Citrāta tests
<i>Klebsiella</i>	Negatīvs – izņemot <i>K. oxytoca</i> !	Negatīvs	Pozitīvs	Pozitīvs
<i>E. coli</i>	Pozitīvs	Pozitīvs	Negatīvs	Negatīvs
<i>Enterobacter</i>	Negatīvs	Negatīvs	Pozitīvs	Pozitīvs

Tabula adaptēta no *Introduction to Diagnostic Microbiology for the Laboratory Sciences*, Maria Dannessa Delost, 2020, Jones & Bartlett Learning, 213 lpp.

Klebsiella un *Enterobacter* var atšķirt pēc baktēriju kustīguma – *Klebsiellas* ģints pārstāvi ir nekustīgi, savukārt *Enterobacter* – kustīgi.

Noderīgs ir arī trīs cukuru un dzelzs agars (TSI), kurā pamatā ir glikoze, laktoze un sukroze; dzelzs sulfāts – lai noteiktu ūdeņraža sulfīda veidošanos un indikators fenola sarkanais. Atkarībā no baktēriju spējām fermentēt cukurus mēģenē veidojas bāziski vai skābi slāņi, piem., *E. coli*, *Enterobacter* un *Klebsiella spp.* veido divus skābes slāņus ar gāzi, bet neveido ūdeņraža sulfīdu.

Sīkāka noteikšana notiek izmantojot dekarboksilāžu testus. Dekarboksilāzes ir enzīmi, kas saistās ar aminoskābju karboksilgrupām, veidojot bāziskus amīnus, ka rezultātā mainās pH un arī indikatora krāsa. Testā izmanto glikozi, kā ogļhidrātu, bromkresola violetu un kresola sarkanu, kā indikatorus, kas bāziskā vidē ir violeti, savukārt, skābā – dzeltenī. Reakcijā pārbauda trīs aminoskābes – lizīnu, arginīnu un ornitīnu, kurās pievieno pie Moellera dekarboksilāžu pamatā. Lizīnu dekarboksilē lizīna dekarboksilāze (LDC), rezultātā veidojas kadaverīns, arginīnu – arginīna dihidrolāze (ADH), veidojas citrulīns, ornitīnu – ornitīna dekarboksilāze (ODC), veidojas putrescīns. Rezultātus salīdzina ar kontroles mēģeni, kur atrodas glikoze, Moellera pamats, bet nav aminoskābju.

Dekarboksilāžu reakcijas palīdz diferencēt *Klebsiella*, *Enterobacter* un *Pantoea* pārstāvjus.

Dekarboksilāžu testu rezultāti *Enterobacteriaceae* pārstāvjiem

	LDC	ADH	ODC
<i>K. pneumoniae</i>	Pozitīvs	Negatīvs	Negatīvs
<i>K. oxytoca</i>	Pozitīvs	Negatīvs	Negatīvs
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Pozitīvs	Negatīvs	Pozitīvs
<i>E. cloacae</i>	Negatīvs	Pozitīvs	Pozitīvs
<i>Pantoea agglomerans</i>	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs

Tabula adaptēta no *Introduction to Diagnostic Microbiology for the Laboratory Sciences*, Maria Dannessa Delost, 2020, Jones & Bartlett Learning, 213 lpp.

Dekarboksilāžu testi nedod iespēju atšķirt savā starpā *K. pneumoniae* un *K. oxytoca*, ko var redzēt 2. tabulā. Būtiski vienīgas bioķīmiskas reakcijas, kas ļauj diferencēt *K. pneumoniae* un *K. oxytoca* ir indola tests (*K. pneumoniae* - negatīvs, *K. oxytoca* – pozitīvs) un malonskābes tests (*K. pneumoniae* - pozitīvs, *K. oxytoca* – negatīvs) (Delost, 2020).

1.1.4 Virulence

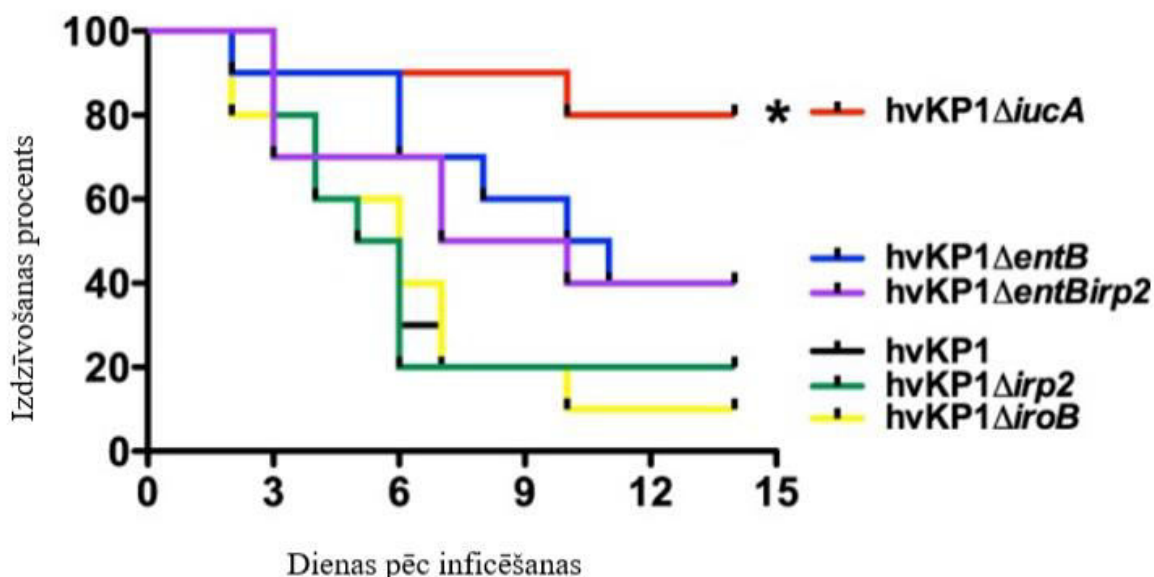
Klebsiella pneumoniae ir vairāki virulences faktori: kapsula, lipopolisaharīdi, siderofori (dzelzs transportproteīni), bioplēves veidošana un fimbrijas. Šobrīd, kā virulences faktors visvairāk tiek pētīta baktērijas kapsula, ko sintēze *cps* lokusa gēni. Kapsula nodrošina baktērijai spēju aizsargāties pret antibakteriālajiem peptīdiem, komplementiem un fagocītiem (Paczova *et al*, 2016). *K. pneumoniae* bez kapsulas pētījumos uz pelēm ir daudz mazāk inficēt spējīga nekā iekapsulētas baktērijas. Atkarībā no *K. pneumoniae* kapsulas serotipa mainās arī baktērijas inficēšanas spējas; organismi ar K1 un K2, ka arī K5, K16, K20, K54, K57 kapsulāro serotipu ir spējīgi izraisīt aknu abscesu un tos pieskaita pie hipervirulentiem *K. pneumoniae* (HVKp) (Shorn *et al*, 2013). Ir zināms, kā konkrēti kapsulu serotipi palielina *K. pneumoniae* virulences spējas, bet šobrīd nav iespējas norādīt atsevišķus faktoros, kas būtu atbildīgi par baktērijas palielināto virulenci.

Aktīvi pētīti ir arī *K. pneumoniae* gēnu mutāciju ietekme uz virulences spējam. Tika noskaidrots, kā gēnu *galF* un *acidPPC* delēcijas, ko nosaka P1 promotēris izraisa nenozīmīgas izmaiņas baktērijas virulencē, savukārt, P2 promotēra noteiktas delēcijas *wzi*, *wza*, *wzb*, *wzc* gēnos pastiprina *K. pneumoniae* inficēt spēju. Gēni piedalās baktērijas virsmas

sintēzē, polisaharīdu polimerizācijā. Tika secināts, kā gēni, kas atbild par kapsulas biosintēzi dažādos *K. pneumoniae* serotipos nedarbojās tādā pašā veidā pēc gēnu izmaiņām (Lin *et al*, 2010).

Siderofori ir mazmolekulārie helātu savienojumi ar augstu afinitāti pret dzelzs joniem. Tie spēle nozīmīgu lomu gram negatīvu baktēriju virulences un augšanas spējās, jo dzelzs ir būtisks mikroelements baktērijas dzīves ciklā, bet cilvēka ķermenī brīvajā formā dzelzs atrodams neliela daudzuma. *Klebsiella* ģints pārstāvji producē vairāku veidu sideroforus: katehola tipa – enterobaktīns (ENT), hidroksamāta tipa – aerobaktīns (AEB), ka arī jersiniabaktīns (YRB) un salmohelīns (SLH). Lielāka daļa *E. coli* un *Salmonella* producē ENT un daudz mazāk AEB (Podschun, Fisher, 1992).

Viens no HVKp definīcijās faktoriem ir baktērijas spēja pastiprināti producēt sideroforus lielākos daudzumos – īpaši aerobaktīnu, kas veido vidēji 90% no visas sideroforu produkcijas. Nesen veiktajos pētījumos tika pierādīts, kā tieši aerobaktīnam ir būtiska loma HVKp augšanas un inficēšanas procesā (Russo *et al*, 2019). Problēma tika izpētīta dzīvnieku modeļos (peles) ar vairākām pētāmām grupām. Izmantojot polimerāzes ķēdes reakciju tika izveidoti vairāki HVKp genotipi: 1) AEB deficīts, 2) SLH deficīts, 3) YRB deficīts, 4) ENT un SLH deficīts un 5) ENT, SLH, YRB deficīts, kā kontroles grupu izmantoja *wild-type* HVKp. Lielākas izdzīvošanas spējas bija trešajai grupai (attēls 2.), kas norāda uz AEB siderofora būtisku lomu (Russo *et al*, 2015).



1.2. att. Peļu izdzīvošana pēc inficēšanas ar HVKp1, HVKp1ΔiucA (AEB deficīts), HVKp1ΔiroB (SLH deficīts), HVKp1Δirp2 (YRB deficīts), HVKp1ΔentB (ENT, SLH deficīts) un HVKp1ΔentBirp2 (ENT, SLH, YRB deficīts)

Attēls adaptēts no Russo *et al*, 2015, Aerobactin, but Not Yersiniabactin, Salmochelin, or Enterobactin, Enables the Growth/Survival of Hypervirulent

(Hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* Ex Vivo and In Vivo. *Infect Immun.* 2015 Aug; 83(8): 3325–3333.

Klebsiella ģints pārstāvjiem ir tendence veidot bioplēves uz medicīnas inventāra – t.i., implanti, katetri u.c., kas būtiski samazina to efektivitāti un ekspluatācijas laiku (Ward *et al*, 1992). Bioplēves pasarga mikroorganismus no opsonizācijas, fagocitozes un samazina antibakteriālas terapijas efektivitāti. Ar tas palīdzību, mikroorganismi pārslēdzas no “individuālas” darbības uz “grupas” darbību, kas atvieglo izdzīvošanu dažādos apstākļos; tiek aktivizēti virsmas proteīnu ekspresija, barības vielu izmantošana un virulences faktori, ka arī mikroorganismi atrodas cieša kontakta sava starpā, kas ļauj uz informācijas apmaiņu. Bioplēves matrica sastāv no ekstracelulārajiem polimēru savienojumiem (EPS) – pārsvarā polisaharīdi -, kā arī oglehidrātus saistošie proteīni, vicas un ekstracelulāra DNS (eDNS), kas kopumā stabilizē bioplēves 3D struktūru. Bioplēves matricā tiek aizturētas barības vielas, ko izmanto baktērijas; ūdens tiek nodrošināts ar polisaharīdu un ūdeņražu saišu mijiedarbību. Baktērijas izdala enzīmus, kas regulē bioplēves formu attiecīgi barības vielu pieejamībai un vides apstākļiem (Kostakioti *et al*, 2013).

Baktērijas fimbrijas spēle nozīmīgu lomu bioplēves veidošanā un organisma šūnu kolonizācijā caur implantiem un katetriem. Tiek aprakstītas divu veidu *K. pneumoniae* fimbrijas: 1. tipa un 3. tipa (Livrelli *et al*, 1996). 1. tipa fimbrijas ir bieži sastopamas *Enterobacteriaceae* pārstāvjos, tās sastāv no strukturālas subvienības FimA un adhezīna molekulas FimH, kas spēj aizķerties uz glikozes konjugātiem uz saimniekšūnas virsmas (Struve *et al*, 2008). 3. tipa fimbriju īpatnība ir eritrocītu aglutinācija. Tās arī piedalās baktēriju piestiprināšanā pie endotēlija un epitēlija un bioplēves veidošanā. 3. tipa fimbriju adhezīns MrkD var saistīties ar IV un V tipa kolagēnu. Katetru un implantu ievadīšana dod baktērijām iespēju un vietu, kur izveidot bioplēvi, kā arī inhibē dažās saimniekšūnu aizsargreakcijas un fiziskus šūnu bojājumus (Sebghati *et al*, 1998).

1.1.5 *Klebsiella spp.* ģints infekcijas un organisma imūnā atbilde

Klebsiella spp. tiek uzskatītas par oportūnistiskiem patogēniem, kas kolonizē gļotādas virsmu neizraisot patoloģiskas reakcijas. Caur gļotādu baktērija ir spējīga izplatīties uz citiem orgāniem, kas galvenokārt attiecas uz gados vecākiem cilvēkiem, jaundzimušajiem bērniem un imūnsupresētajiem pacientiem, kā rezultātā attīstās pneimonijas, urīnceļu infekcijas,

asinsvadu infekcijas un, smagākos gadījumos, sepse (Paczosa *et al*, 2016). *Klebsiella spp.* infekcijas asociējas lielākoties ar hospitalizāciju – t.s. nosokomiālas infekcijas, ko biežāk izraisa *K. pneumoniae* un retāk – *K. oxytoca*. Infekcijas smagums abos gadījumos ir vienāds (Podschun, Ullmann, 1998). *Klebsiella spp.* izraisītas pneimonijas var iedalīt divās grupās: sabiedrībā iegūta un nosokomiāla pneimonija. Kaut arī sabiedrībā iegūta pneimonija ir samēra bieža diagnoze, statistiski, *Klebsiella spp.* izraisīto pneimoniju ārpus slimnīcas īpatsvars ir neliels – tas svārstās no 3% līdz 5%. Kopumā *Klebsiella pneumoniae* atbild par vidēji 11.8% no visām nosokomiālam pneimonijām. Starp pacientiem, kuriem veikta mākslīga plaušu ventilācija (MPV) un attīstās pneimonija, *K. pneumoniae* atbild par 8-12% gadījumu, savukārt, pacientiem, kam nav veikta MPV *K. pneumoniae* infekcijas biežums ir mazāks – vidēji 7%. Pacientiem ar hroniskam alkoholisma problēmām un septicēmiju mirstība svārstās no 50% līdz 100% (Ashurst, Dawson 2020).

Vairāki pētījumi norāda, kā iekaisumu faktoru kaskāde un reakcijas *K. pneumoniae* infekcijas gadījumos noved pie baktērijas izvadīšanas/iznīcināšanas no organisma. Kā pirmo pierādījumu var norādīt, kā pelēm, kuram trūkst tumor nekrozes faktora alfa receptori (TNFR1) ir viegli inficējamas ar *K. pneumoniae* (Laichalk *et al*, 1996,1998; Moore *et al*, 2005). Vēlāk veiktie pētījumi atklāja, kā pelēm, kam ģenētiski trūkst CXCL15 (Chen *et al*, 2001) un CCL3 (Lindell *et al*, 2001) hemokīni, nevar sintezēt arī leikotriēnus un slāpekļa oksīdu, kā rezultāta ir izteikti jutīgas pret *K. pneumoniae* infekcijām (Mancuso *et al*, 1998; Tsai *et al*, 1997).

Tika pierādīts, kā T limfocīti – tieši *gamma delta* T limfocīti, un dabīgas galētājšūnas spēle būtisku lomu *K. pneumoniae* infekcijas gadījumos, kontrolējot iekaisumu veicinošu citokīnu izdali (Xu *et al*, 2014). Nozīmīga loma ir arī interleikīniem IL23; IL17; IL12, kā arī interferonam IFN *gamma* (Happel *et al*, 2005).

Ir zināms, kā *K. pneumoniae* ir spējīga izvairīties no nespecifiskas imunitātes reakciju aktivizēšanas – tas aizsargājas no paternu atpazīšanas receptoriem (PPR), kas atrodas uz dendrocītu, makrofāgu, monocītu, neitrofilu un epitēlija šūnām, kā arī izvairās no kontakta ar hematopoētiskām un ne-hematopoētiskām šūnām, kā rezultātā tiek bremsēta saimniekšūnu antibakteriāla atbilde. Līdz galam nav zināms kāda cita veida *Klebsiella* nomāc imūno atbildi, bet ir vairākas pamatotas teorijas:

- Komplementu kaskādes baktericīdas darbības un opsonizācijas nomākšana caur aktivizēta komplementa C3b ierobežošanu. Procesā iesaistās *K. pneumoniae* kapsulas polisaharīdi (CPS) un lipopolisaharīdi (LPS) (de Astorza *et al*, 2004)
- Ierobežo kolektīnu antibakteriālu darbību. Kolektīni ir kolagēnu saturošie C – tipa lektīni, tos uzskata par PPR, tie saistās ar lipīdiem un polisaharīdiem uz

mikroorganisma virsmas. *Klebsiella spp.* kapsulas polisaharīdi ir spējīgi apmānīt surfaktanta proteīnus (SP) A un D tipa (Kostina *et al*, 2005).

- Nomāc cikliska adenozīna monofosfāta (cAMP) darbību caur aktīvu efluksu, kā arī izvairīšanās no kontakta saimniekšūnām (Mills *et al*, 2017; Campos *et al*, 2004).
- Ar kapsulas polisaharīdu palīdzību *Klebsiella spp.* ir spējīga izvairīties no neitrofilu un makrofāgu fagocitozes (March *et al*, 2013; Pan *et al*, 2011).
- Šūnu imunitātes un dzīves cikla manipulēšana caur PI3K/AKT/Rab14 ceļu. Veicina makrofāgu apoptozi un epitēlijšūnu citotoksicitāti. Nav zināms kādi proteīni vai struktūrvienības ir iesaistītas (Cano *et al*, 2015, 2009).
- Izjauc transkripcijas faktora NF-κB aktivitāti un mitogēn-aktivētu proteīnkināzi (MAPK) (Reguiero *et al*, 2011).
- Sideroforu producēšana nelabvēlīgos apstākļos – *yersiniabactin*, *salmochelin*, *aerobactin*, kas nodrošina baktērijai nepieciešamus dzelzs daudzumus (Bachman *et al*, 2011).

1.1.6 Preventīvie pasākumi

Asimtomātiskie nēsātāji šobrīd tiek uzskatīti par galveno multirezistentu *K. pneumoniae/oxytoca* avotu stacionāros. Tā dēļ, ES vadlīnijas iesaka veikt regulāru kultūru skrīningu, kas balstās uz lokāliem epidemioloģiskiem faktoriem. Iesaka veikt iztriepju izmeklēšanu iestājoties slimnīca augsta-riska pacientiem, t.i., onkoloģiskiem, hematoloģiskiem un intensīvas aprūpes. Katru nedēļu veikt skrīningu pacientiem, kas ilgstoši atrodas stacionāros un ir pakļauti multirezistentas *K. pneumoniae* inficēšanas riskiem, pacientiem, kam nozīmēta ilgstoša antibakteriāla terapija, kā arī pacientiem ar ķirurģiskiem implantiem, katetriem, ķīmijterapiju, MPV un pēcoperāciju gadījumos. Novēroja arī paaugstinātu inficēšanas risku pacientiem ar iepriekšēju vankomicīn-rezistentu *Enterococcus* (VRE) kolonizāciju un gados vecākiem pacientiem (Bassetti *et al*, 2018).

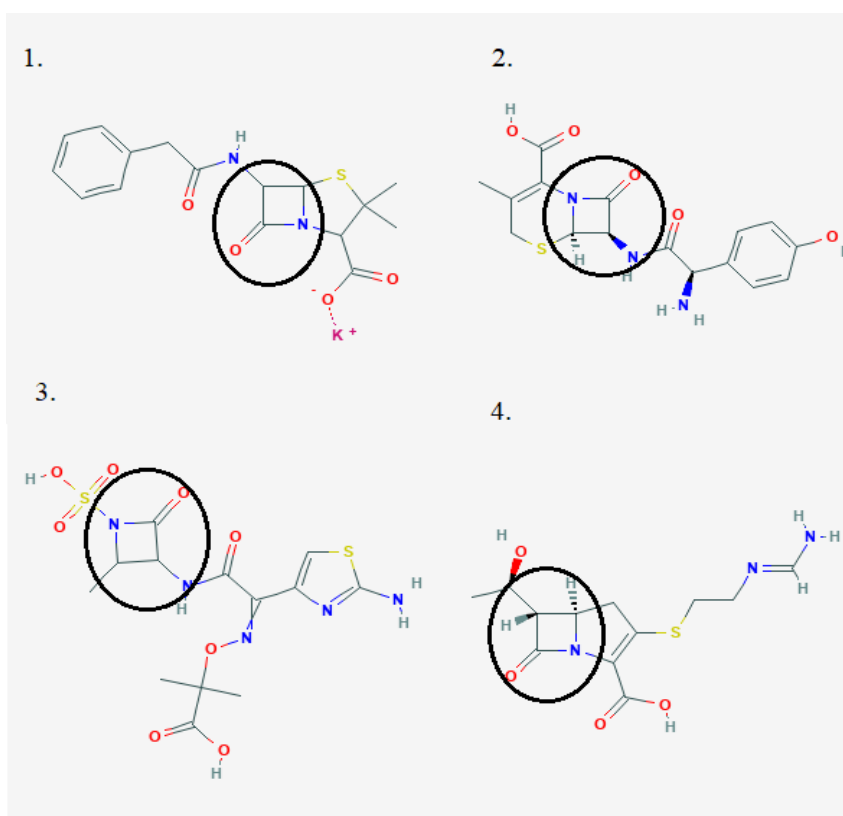
2006. gadā Pasaules Veselības Organizācija (WHO) publicēja dokumentu, kura aprakstīti galvenie multirezistentas *K. pneumoniae* (MDR-KP) transmisijas ceļi: 1) baktēriju esamība uz pacienta ādas/vai slimnīcas vidē; 2) baktēriju nokļūšana uz slimnīcas darbinieku rokām; 3) baktēriju izdzīvošana uz rokām; 4) nepareiza roku mazgāšana; 5) baktēriju nokļūšana uz citiem pacientiem (WHO, 2006).

Ir izstrādātas vadlīnijas, kas balstās uz WHO rekomendācijām: 1) roku higiēna un slimnīcas darbinieku apmācība; 2) cimdu, masku un citu aizsardzības līdzekļu izmantošana un maiņa pēc katra pacienta, kam seko roku mazgāšana; 3) atsevišķas telpas pacientiem ar konstatētu MDR-KP; 4) vides tīrība (Tacconelli *et al*, 2014).

1.2 *Klebsiella* spp. infekciju antibakteriāla terapija

Penicilīna atklāšana 1929. gadā ir bijis nozīmīgs brīdis medicīnā, kas mainīja cilvēces iespējas ārstēt bakteriālas infekcijas. Bet, neskatoties uz pētījumiem, tālāko β -laktāmu līdzekļu attīstību – paplašinot spektru, panesamību, efektivitāti; tika ziņots par β -laktāmu antibiotiku efektivitātes trūkumu, bakteriālas rezistences dēļ (Neu *et al*, 1986).

Šobrīd praksē pielietojamas četras β -laktāmu grupas (3. att.), trīs no kurām pēc struktūras ir bicikliskas. Penicilīnu grupa (1), kur β -laktāma gredzens ir apvienots ar tiazolidīnu gredzenu, cefalosporīnu grupa (2), kur β -laktāma gredzens apvienots ar dihidrotiazīnu un karbapenēmi (3), kur biciklisku sistēmu veido β -laktāma gredzens ar pirofīnu. Ceturtā grupa – monobaktāmi (4) – ir monocikliskas struktūras.



1.3. att. β -laktāmu antibakteriālo līdzekļu pārstāvji: 1. penicilīns, 2. cefadroksils, 3. imipenēms, 4. azatreonāms ar atzīmētajiem β -laktāma gredzeniem Attēls adaptēts no PubChem materiāliem.

[<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Penicillin>]

[<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cefadroxil>]

[<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Imipenem>]

β -laktāmu antibakteriāla darbība balstās uz peptidoglikāna saišu inhibēšanas baktērijas sienīnā. Tas notiek β -laktāma gredzenam reaģējot ar nukleofīlu serīnu penicilīn-saistoša proteīnā (PBP), ka rezultāta β -laktāma gredzens tiek attaisīts un notiek neatgriezeniska PBP acilēšana, kas novērš peptidoglikāna saišu veidošanu (Sauvage *et al*, 2008).

β -laktāmiem ir iespējams veikt strukturālas modifikācijas, kas maina to antibakteriālu spektru, panesamību, farmakokinētiku u.c. Penicilīniem izmaiņas veic pie C6 atoma, cefalosporīniem - C7 un C3, karbapenēmiem - C2 un monobaktāmiem pie C3 atoma. Modifikāciju rezultāta tika atklāti: aminopenicilīni, kas paplašināja iedarbības spektru uz Gram negatīvajiem mikroorganismiem, meticilīns – uz penicilīnu rezidenta *S. aureus* apkarošanai un oksiminocefalosporīni (cefotaksims, ceftazidims), kā līdzeklis β -laktamāžu producējošu Gram negatīvo baktēriju infekciju ārstēšanai (Tooke *et al*, 2019).

1.2.1 *Klebsiella spp.* antibakteriāla terapija

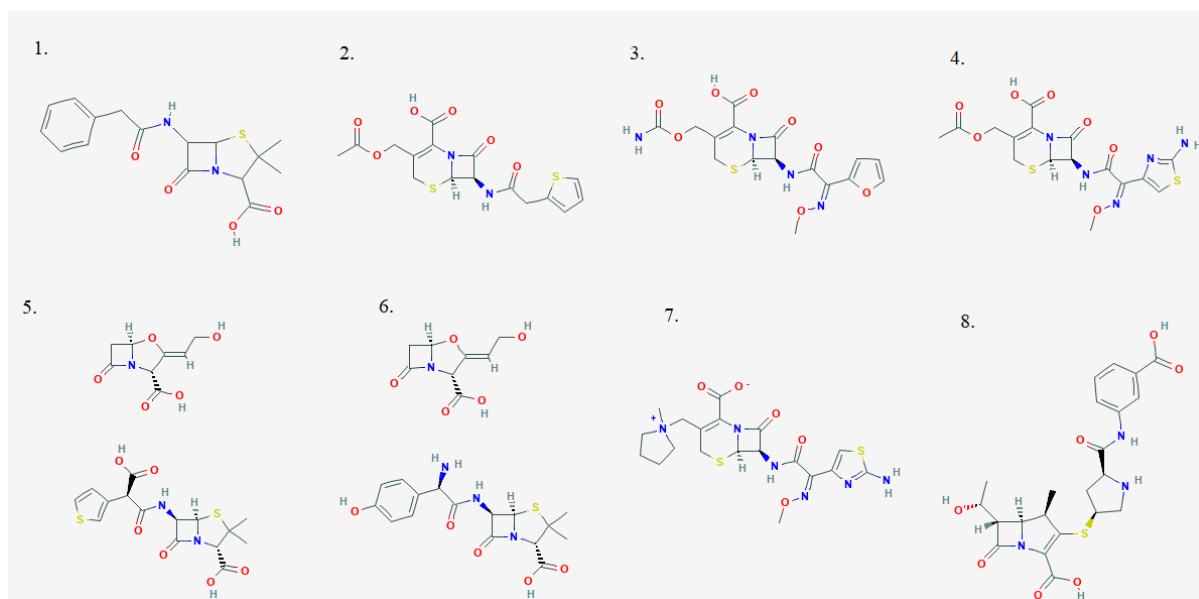
Klebsiella ģints baktēriju infekciju ārstēšanai, atkarība no rezistences, izmanto dažādas antibakteriālu līdzekļu grupas. Praksē izmanto penicilīnu analogus ar β -laktamāzes inhibitoriem, cefalosporīnus (III paaudzes), aminoglikozīdus, fluorhinolonus, polimiksīnus, ka arī sulfametaksozolu/trimetoprīmu.

1.2.1.1 β -laktāmi

β -laktāmi pieder pie baktericīdiem antibakteriāliem līdzekļiem. To darbība balstās uz peptidoglikāna sintezēs inhibēšanas, kā rezultātā tiek izjaukta baktērijas šūnas sienas. Inhibēšana notiek caur PBP, ar kuru neatgriezeniski saistās β -laktāmi. Sākuma β -laktāmu aktivitāte attiecās galvenokārt uz Gram-pozitīvajām baktērijām, bet ar laiku tika attīstīti plaša spektra β -laktamāzes, kas darbojas arī pret vairākām Gram-negatīvajām baktērijām. Lai uzlabotu β -laktāmu efektivitāti un paplašināt darbības spektru, tos bieži lieto kombinācijas ar β -laktamāžu inhibitoriem – klavulānskābi, sulbaktamu, tazobaktamu u.c. (Pandey *et al*, 2020).

β -laktāmi ir pārsvarā labi panesami. Biežākas blakusparādības ir caureja, slikta duša, nātrene, dažreiz sastopama kandidoze. Pie dzīvības bīstamajam blakusparādībām jāpiemin hipersensitivitātes reakcijas, kas smagākos gadījumos var beigties ar anafilaktisku šoku.

Pirmo β -laktāma antibiotiku – penicilīnu ieguva no sēņu valsts pārstāvja – *Penicillium notatum* jeb *Penicillium chrysogenum* (Macfarlane, 1984). Vēsturiski β -laktāmu lietošana *K. pneumoniae* ārstēšanā sākusies ap 1947. gadā, kopā ar penicilīna ieviešanu klīniskā praksē. 1960. gadā tika ziņots par pirmajiem penicilīna rezistences gadījumiem. Drīzumā sāka izmantot I paaudzes cefalosporīnus, bet jau 1965. gadā paziņots par rezistenci pret cefalofīnu, tālāk sekoja II paaudzes cefalosporīns – cefuroksīms un III – cefotaksīms. 1985. gadā apstiprināti rezistences gadījumi pret monobaktāmu – imipenēmu un karbapenēmu – azatreonāmu. Ap šo pašu laiku saka novērot paplašināta spektra β -laktamāžu (ESBL) aktivitāti. Kopš 1990. gadā ziņots arī par tikarciklīna-klavulanāta kombinācijas efektivitātes trūkumu, IV paaudzes cefalosporīna – cefepīma rezistenci un karbapenemāžu attīstību (Navon-Venezia *et al*, 2017).



1.4. att. *K. pneumoniae* ārstēšanā izmantoti β -laktāmi. 1. penicilīns, 2. cefalofīns (I paaudzes cefalosporīns), 3. cefuroksīms (II p. ceflsp.), 4. cefotaksīms (III p. ceflsp.), 5. tikarcilīns/klavulanāts (β -laktāms un β -laktamāzes inhibitors), 6. amoksicilīns/klavulanāts (β -laktāms un β -laktamāzes inhibitors), 7. cefepīms (IV p. ceflsp.), 8. ertapenēms (karbapenēmu β -laktāms) Materiāli adaptēti un iegūti no pubchem.ncbi.nlm.nih.gov [tiešsaistē 04.02.2021].

KARMS pētījuma, kas veikts Dienvidkorejā 2013.-2015. gados tika noskaidrota *K. pneumoniae* procentuāla jutība pret antibakteriāliem līdzekļiem. Kopumā pēc pētījuma rezultātiem var konstatēt, ka *K. pneumoniae* rezistence pret β -laktāmiem palika nemainīga, bet, kas ir būtiski, stabili ir pieaudzis rezistences skaits pret karbapenēmu β -laktāmiem – meropenēmu un imipenēmu no <1% līdz 1%.

1.3. Tabula

KARMS pētījuma *K. pneumoniae* β -laktāmu rezistences rezultāti (%) 2013-2015 gadā

β -laktāms	2013 (n-10 548)	2014 (n-7 867)	2015 (n-6 571)
Piperacilīns-tazobaktāms	22	20	21
Cefotaksīms	40	41	38
Ceftazidīms	40	41	36
Cefepīms	38	41	33
Azatreonāms	39	38	35
Cefoksitīns	17	12	14
Imipenēms	<0.1	1	1
Meropenēms	<0.1	1	1

Tabula adaptēta no Kim *et al*, 2017. Increasing Resistance to Extended-Spectrum Cephalosporins, Fluoroquinolone, and Carbapenem in Gram-Negative Bacilli and the Emergence of Carbapenem Non-Susceptibility in *Klebsiella pneumoniae*: Analysis of Korean Antimicrobial Resistance Monitoring System (KARMS) Data From 2013 to 2015.

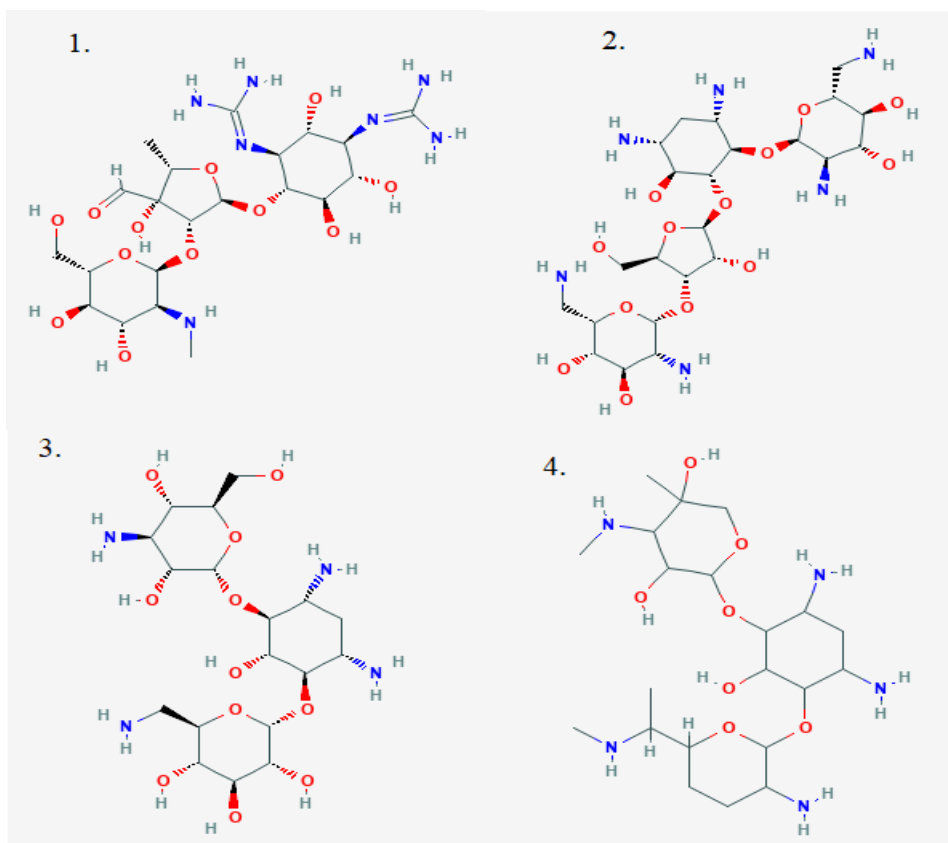
1.2.1.2 Aminoglikozīdi

Aminoglikozīdu antibakteriāla (baktericīda) darbība balstās uz baktēriju proteīnu sintēzes nomākšanas – pārsvarā tie saistās ar baktēriju ribosomu 30S subvienību, kā rezultātā tiek izjaukta mRNS translācija un proteīnu biosintēze tiek inhibēta vai notiek nekorekti. Pēc savas būtības, aminoglikozīdu antibiotikas ir glikozes ķēdes ar amino grupu modifikācijām (Mingeot-Leclercq *et al*, 1999). Aminoglikozīdu darbības spektrs ietver sevī Gram-negatīvas baktērijas.

Aminoglikozīdi pārsvarā tiek ievadīti parenterāli – intramuskulāri vai intravenozi, jo tie netiek absorbēti caur gastrointestinālu traktu. Praksē izmanto arī aminoglikozīdus lokālai lietošanai, t.i., krēmu, ziežu, acu gēlu sastāvā. Reti aminoglikozīdi tiek nozīmēti perorālai lietošanai – pārsvarā aknu encefalopātijas gadījumos, lai ierobežotu zarnu trakta mikro populāciju.

Aminoglikozīdiem raksturīgākas blakusparādības ir nefrotoksicitāte un ototoksicitāte, kā arī vestibulārie traucējumi.

Par pirmo aminoglikozīdu grupas pārstāvi tiek uzskatīts streptomīcīns, kuru izolēja no *Streptomyces griseus* baktērijām 1943. gadā (Torok *et al*, 2009). Laikā periodā no 1940. – 1980. aminoglikozīdu līdzekļi tika plaši izmantoti un, neskatoties uz jaunāku pārstāvju atklāšanu – 1949. gadā – neomicīns (Fisher, 2006), 1957. – kanamicīns (Sneider, 2005), 1962. – gentamicīns (Fisher, 2006) u.c., jau 1968. gadā tika ziņots par *Klebsiella pneumoniae* rezistenci pret kanamicīnu, streptomīcīnu un neomicīnu. Drīzumā novēroja arī baktēriju gentamicīn-acetiltranserāzes aktivitāti, kas padarīja gentamicīnu par maz efektīvu līdzekli (Navon-Venezia *et al*, 2017).



1.5. att. *K. pneumoniae* ārstēšanā izmantojamie aminoglikozīdu līdzekļi. 1. streptomīcīns, 2. neomicīns, 3. kanamicīns, 4. gentamicīns Materiāli adaptēti un iegūti no pubchem.ncbi.nlm.nih.gov [tiešsaistē 04.02.2021].

1.2.1.3 Hinoloni un fluorhinoloni

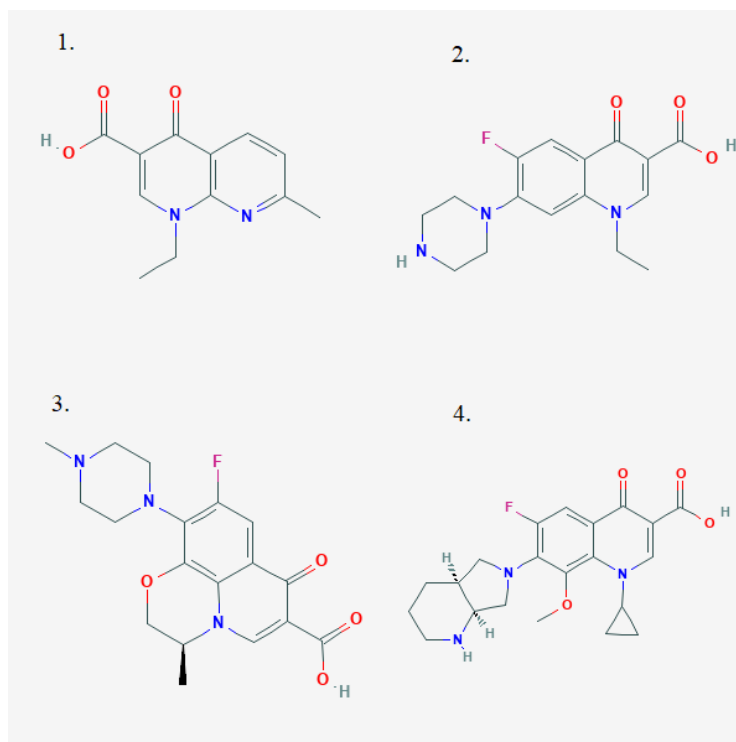
Hinolonu antibakteriālie līdzekļi pēc savas darbības ir plaša spektra baktericīdi aģenti. Strukturāli tie balstās uz bicikliska savienojuma – 4-hinolona, kas sevī ietver slāpekļa atomu un keto-grupu.

Hinolonu/fluorhinolonu darbības mehānisms balstās uz baktērijas DNS girāzes (topoizomerāžu ģimene) inhibēšanas. DNS girāze atbild par pareizu DNS replikāciju, transkripciju, labošanu un rekombināciju. Saistoties ar DNS girāzi, hinoloni izjauc DNS skeletu, bet ir aizdomas par citiem iespējamajiem baktericīdiem mehānismiem (Diver, 1989).

Par pirmo hinolonu līdzekli tiek uzskatīta nalidiksīnskābe (1960. gads), kaut arī strukturāli tas ir naftiridīns nevis hinolons. Klīnikā tas netika plaši izmantots vājas baktericīdas darbības dēļ, līdzīgi kā citi pirmās paaudzes hinoloni – oksolīnskābe, cinoxacīns, piromīdskābe un pipemīdskābe (Oliphant, Green, 2002). Savukārt, otras paaudzes hinoloni, kurus sauc par fluorhinoloniem ir strukturāli modificēti analogi ar fluora atomu, kas saistīts ar biciklisku savienojumu. Tas un papildus blakus ķēžu modifikācijas paplašināja fluorhinolonu darbības spektru, kā arī pastiprināja baktericīdu darbību. Fluorhinoli iedarbojas uz *Enterobacteriaceae*, bet arī citas Gram-negatīvas baktērijas ir jutīgas – *Haemophilus*, *Brucella*, *Legionella*, *Neisseria* u.c. Fluorhinolonu spektrs ietver sevī arī Gram-pozitīvas baktērijas, t.s., *Mycobacterium tuberculosis* (Walker *et al*, 1991).

Hinolonus, konkrēti nalidiksīnskābi, *K. pneumoniae* ārstēšanā saka izmantot 1963. gadā, bet drīzumā – ap 1967 gadu – tika ziņots par to efektivitātes trūkumu rezistences dēļ. Samēra ilgu laiku hinolonu izmantošana *K. pneumoniae* ārstēšanā netika ņemta vērā, līdz fluorihinolonu – tieši norfloksacīna – ieviešanu klīniskajā lietošanā 1983. gadā, bet arī tam dažus gadus vēlāk tika ziņots par pirmajiem rezistences gadījumiem (Navon-Venezia *et al*, 2017).

Hinolonus iedala četrās paaudzēs. I paaudzes līdzekļus (nalidiksīnskābe, oksolīnskābi) klīniskajā praksē šobrīd neizmanto. II-IV paaudzi sauc par fluorhinoloniem, tos pielieto praksē. Katrai paaudzei ir savas darbības un efektivitātes nianses. II paaudzē tika ieviests fluora atoms (ciprofloksacīns, norfloksacīns, ofloksacīns), III paaudzei ir aktivitāte pret streptokokiem (levofloksacīns) (Oliphant, Green, 2002) un IV paaudze darbojas gan uz DNS girāzi, gan uz baktēriju topoizomerāzi IV (moksifloksacīns), kas bremzē rezistences attīstību (Gupta, 2009).



1.6. att. *K. pneumoniae* ārstēšanā izmantojamie hinoloni un fluorhinoloni. 1. nalidiksīnskābe (I paudze), 2. norfloksacīns (II), 3. levofloksacīns (III), 4. moksifloksacīns (IV) Materiāli adaptēti un iegūti no pubchem.ncbi.nlm.nih.gov [tiešsaistē 09.02.2021].

1.2.1.4 Polimiksīni

Polimiksīni pieder pie peptīdu antibakteriāliem līdzekļiem. To struktūras ietver sevī gan peptīda daļu, gan taukskābes atlieku, kas nodrošina hidrofilas un hidrofobas īpašības. Pastāv vairāki polimiksīnu pārstāvji ar dažādam aminoskābju sekvencēm – polimiksīni A, B, C, D un E, savukārt praksē izmanto tikai B un E, ko sauc arī par kolistīnu.

Polimiksīni, savu hidrofobu/hidrofilu īpašību dēļ, saistās ar baktēriju sienas lipopolisaharīdiem un izjauc gan iekšēju, gan ārēju membrānas pusi. To darbību bieži salīdzina ar virsmas aktīvam vielām (Velkov *et al*, 2013), jo hidrofobais gals izraisa membrānas bojājumus, savukārt, hidrofila aste dezorganizē integritāti un padara jutīgāku pret citiem antibakteriāliem līdzekļiem (Tsubery *et al*, 2000).

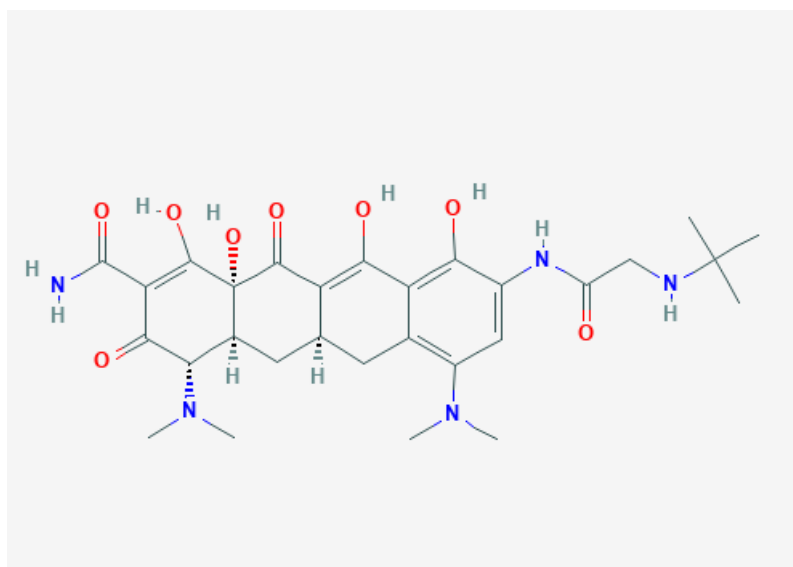
Polimiksīnus izdalīja 1947. gadā no Gram-pozitīvas baktērijas *Paenibacillus polymyxa* fermentācijas procesā (Dzierzanowska, 2009). Praksē to izmanto kā pēdējās izvēles līdzekli izteiktās toksicitātes dēļ. Par pirmo *Klebsiella pneumoniae* kolistīna (polimiksīna E)

1.2.1.5 Tigeciklīns

Tigeciklīns ir jaunas paaudzes tetraciklīnu antibiotiku pārstāvis. To mēdz saukt arī par pirmo glicilociklīnu antibakteriālu līdzekļu pārstāvi (Peterson, 2008). Strukturāli tas ir tetraciklīns ar *N,N*-dimetilglicilamīda asti pie tetraciklīnu D gredzena devītajā pozīcijā, kas paplašināja to darbības spektru un samazināja nepieciešamas minimālas inhibējošas koncentrācijas. Tigeciklīns, līdzīgi kā tetraciklīni, darbojas inhibējot baktēriju proteīnu sintēzi, saistoties ar ribosomu 30S subvienību un novēršot tRNS darbību (Christine *et al*, 2007).

Tigeciklīnu sāka izmantot praksē ap 2005. gadu, bet tajā pat gadā tika ziņots par gēnu mutācijām, kas samazināja tigeciklīna efektivitāti. Šobrīd tigeciklīnu joprojām uzskata par efektīvu un tiek runāts par vidējo *K. pneumoniae* rezistenci (Navon-Venezia *et al*, 2017).

Tigeciklīnam ir plašs darbības spektrs, kas ietver sevī gan Gram-pozitīvas, t.s., MRSA, gan Gram-negatīvas baktērijas, t.s., *Enterobacteriaceae* – *K. pneumoniae* un *K. oxytoca*. Tigeciklīnu ievada intravenozi. Blakusparādības ir līdzīgas tetraciklīnu grupas pārstāvjiem; visbiežākās ir slikta duša un vemšana. To uzskata par nosacīti drošu, bet ir ziņojumi par tigeciklīna izraisītu akūtu pankreatītu pacientiem ar cistisku fibrozi, ka arī paaugstinātu nāves risku pacientiem ar nozokomiālu pneimoniju (Gilson *et al*, 2008).



1.8. att. **Tigeciklīns** – **glicilociklīns** Materiāli adaptēti un iegūti no pubchem.ncbi.nlm.nih.gov [tiešsaistē 09.02.2021].

1.2.1.6 Sulfametaksozols/trimetoprīms (SMX/TMP)

SMX/TMP kombinācijai ir plašs darbības spektrs. Parasti to izmanto proporcijās 5:1 un kombinētai lietošanai ir lielāka efektivitāte nekā monoterapijā.

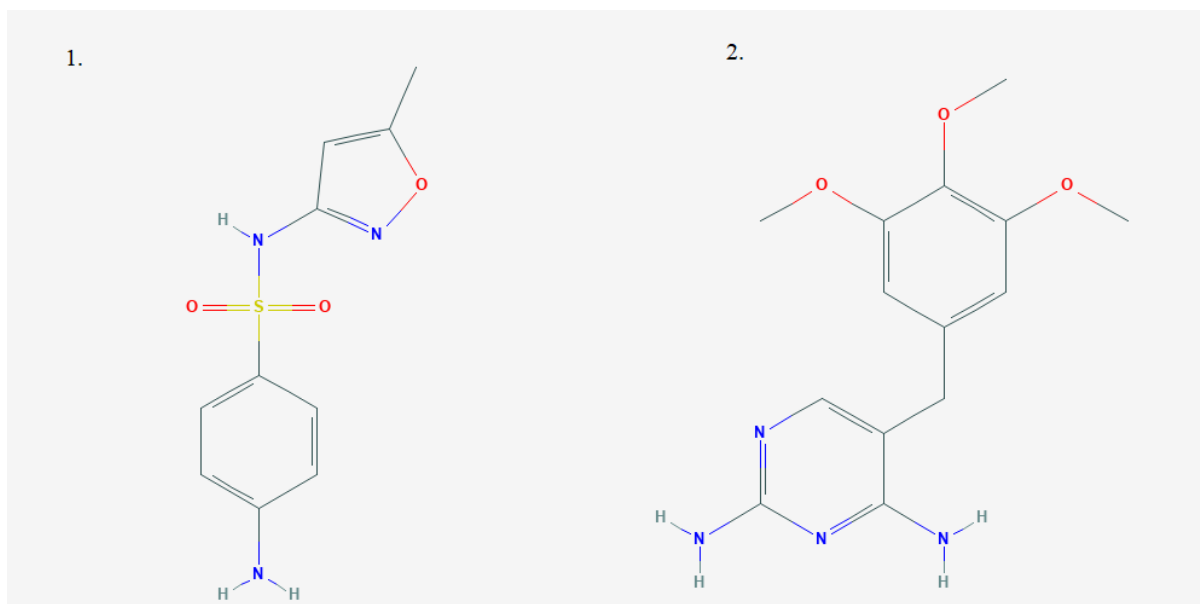
Sulfametaksozols (SMX) ir sulfonilamīda antibakteriālais līdzeklis ar bakteriostatisku darbību, kas darbojas gan pret Gram-negatīvam, gan Gram-pozitīvam baktērijām. SMX darbības mehānisms balstās folātu sintēzes inhibēšanas baktērijās – SMX ir *p*-aminobenzoiskābes (PABA) strukturālais analogs, kas konkurē ar PABA par saistīšanos pie dihidropteroāta sintēzes un novērš PABA pārvēršanos par dihidrofolātu. Parasti, baktērijas sintēze folskābi, nevis uzņem no apkārtējās vides un SMX darbības rezultātā tiek traucēta baktēriju folskābes sintēze. Folskābe spēle būtisku lomu baktēriju vairošanas un augšanas procesā – tas tiek izmantota timidīna un purīna biosintēzē, kā arī serīna, glicīna un metionīna sintēzē (Kemnic, Coleman, 2020). Tā dēļ, ka SMX bremsē baktēriju vairošanas spējas, tas tiek uzskatīts par bakteriostatisku antibiotiku.

Trimetoprīmu (TMP) pielietošana praksē sākas 1960-tajos gados, kad to izmantoja urīnceļu infekciju ārstēšanai (Huovinen, 2001). Trimetoprīms, līdzīgi kā SMX, darbojas uz folātu ceļiem baktērijās. Tas saistās ar dihidrofolātu reduktāzi, kas novērš dihidrofolskābes pārvēršanos par tetrahidrofolskābi, kas tiek izmantota kā izejviela timidīna biosintēzē (Brogden *et al*, 1982).

SMX/TMP kombinēta lietošana ir sinerģiska, kas uzlabo antibakteriālu darbību, kā arī samazina nepieciešamu terapeitisku devu, kā rezultātā samazinās iespējamās blakusparādības – kas gan SMX, gan TMP ir biežas. Tiek runāts arī par rezistences iespējas samazināšanas lietojot abus līdzekļus kopā, bet tas nav viennozīmīgi pierādīts (Wormser *et al*, 2012).

SMX/TMP mēdz izmantot karbapenemāžu producejošu *K. pneumoniae* infekciju gadījumos, kur efektivitāte tika pierādīta pētījumos (Murri *et al*, 2017).

Diemžēl ir arī ziņots par *K. pneumoniae* gēnu mutācijām, kuru rezultātā veidojas rezistence pret SMX/TMP kombinētu terapiju (Jiahui *et al*, 2020).



1.9.att. **Sulfometoksazola (1) un trimetoprīma (2) struktūrformulas** Materiāli adaptēti un iegūti no pubchem.ncbi.nlm.nih.gov [tiešsaistē 11.02.2021].

1.2.1.7 Bakteriofāgu terapija

Bakteriofāgi, arī fāgi, ir vīrusi, kas inficē un vairojas tikai baktēriju šūnās. Tie ir plaši sastopami apkārtējā vidē un tiek uzskatīti par vienu no biežāk sastopamu bioloģisku aģentu. Tie mēdz būt atšķirties pēc izmēra, morfoloģijas un genoma struktūras. Savukārt, visi satur nukleīnskābes genomu specifiskā fāgu kapsīdā, kas pasarga ģenētisku materiālu un nosaka tā iekļūšanu saimniekšūnās. Ar elektronmikroskopa palīdzību, tika noskaidroti vairāki simpti bakteiofāgu tipu, daļai ir “kājas”, “galvas” un “astes”. Neskatoties uz morfoloģiju, bakteriofāgi ir nekustīgi un to iekļūšana saimniekšūnā balstās uz haotiskas Brauna kustības (Kasman, Porter, 2020).

Bakteriofāgus var iedalīt pēc divām replikācijas stratēģijām: lītiska un līzogēniska. Lītiskas replikācijas gadījumā, bakteriofāgs ievada savu genomu baktērijas citoplazmā un izmanto ribosomas, lai panāktu jaunu bakteriofāgu ražošanu. Lītiska replikācija noved pie baktērijas šūnas nāves, izdalot apkārtējā vidē jaunus bakteriofāgus. Savukārt, līzogēniskas replikācijas bakteriofāgi iesaista savu genomu baktērijas hromosomās, ka rezultāta nākamajām baktēriju paaudzēm tiek nodota spēja ražot baktēriofāgus, saglabājot baktēriju dzīves. Izmainoties apstākļiem, līzogēniskie bakteriofāgi ir spējīgi pārslēgties uz lītisku replikāciju (Kasman, Porter, 2020).

Ir vairāki ziņojumi par *K. pneumoniae* bakteriofāgiem un to iespējamu izmantošanu klīniskajā praksē. Nesen ziņots par četriem jauniem izolātiem no Spānijas - $\pi VLC1$ - $\pi VLC4$, kas uzrāda efektivitāti *in vitro* (Domingo-Calap *et al*, 2020).

Kopumā aktivitāti pret *K. pneumoniae* uzrāda *Ackermannviridae*, *Myoviridae*, *Podoviridae* un *Siphoviridae* ģimeņu pārstāvji (Herridge *et al*, 2020).

1.3 *Klebsiella* spp. antibakteriālas rezistences mehānismi

Klebsiella ģints baktērijām piemīt izteikta antibakteriāla rezistence, kā dēļ rodas grūtības nozokomiālo infekciju ārstēšanā ar šobrīd esošiem līdzekļiem. Tiek uzskatīts, kā bieža plaša spektra antibakteriālu līdzekļu, ka cefalosporīni un fluorhinoloni, lietošana, ir paātrinājusi *K. pneumoniae* un *E. coli* fluorhinolonu rezistences un paplašināta spektra β -laktamāzes (ESBL) producēšanas attīstību, kas šobrīd ir sastopams daudzās slimnīcas un veselības aprūpes centros (Munoz-Price *et al*, 2013).

Savukārt, samazinoties fluorhinolonu un trešās paaudzes cefalosporīnu efektivitātei, lielāks uzsvars tika likts uz karbapenēmu izmantošanu. Rezultātā parādījusies ziņojumi no dažādiem pasaules galiem par uz karbapenēmu rezistentam enterobaktērijām (CRE), īpaši par karbapenēmāzes producējošām *K. pneumoniae* (KPC) (Braykov *et al*, 2013).

Praksē, *K. pneumoniae* ārstēšanas līdzekļu izvēle notiek pamatojoties uz laboratoriskiem izmeklējumiem – baktēriju jutības testiem. Ārstēšanā no β -laktāmiem izmanto: karbapenēmus un cefalosporīnus, tad fluorhinolonus (ciprofloksacīnu), aminoglikozīdus (amikacinu u.c.), ka arī β -laktāmus kombinācijās ar β -laktamāzes inhibitoriem – klavulānskābi, tazobaktamu – ar dažādu efektivitāti (Paterson *et al*, 2004).

1.3.1 β -laktamāzes

Gram negatīvam baktērijām piemīt β -laktamāžu producēšana, kā rezultāta antibakteriālie līdzekļi, kas savā struktūrā ietver β -laktāma gredzenu tiek inaktivēti caur amīdu saites hidrolīzi. β -laktamāzes var iedalīt četras grupās: serīna β -laktamāzes (SBL) (A, C un D grupas) un metālo- β -laktamāzes (B grupa), kuras savā enzīma centrā satur metālu – cinku, kas aktivē hidrolītiskas reakcijas.

SBL grupu pārstāvji atšķiras pēc aminoskābju sekvencēm, kopēju enzīma formu un struktūru. Savukārt, SBL darbības mehānisms visām grupām balstās uz acilēšanas-deacilēšanas; nukleofīlais serīns “uzbrūk” β-laktāma gredzena karbonil grupai, kas veido saiti ar amīdu, notiek elektronu pārnese un ar acilenzīma un bāzes starpniecību β-laktāma gredzens tiek hidrolizēts.

1.3.1.1 A grupas β-laktamāzes

Visbiežāk sastopamas un vissmalkāk izpētītas ir A grupas β-laktamāzes, piemēram, PC1, kas atbild par *S. aureus* penicilīna rezistenci. TEM – pirmā β-laktamāze, sintezēta Gram-negatīvu baktēriju plazmīdos, kas novērš aminopenicilīnu un pirmo paaudžu cefalosporīnu darbību, SHV – TEM-sulfhidrīla analogs, kas atradāms *K. pneumoniae* plazmīdos (Chaves *et al*, 2001). CTX-M – cefotaksimāze, enzīms ar izteiktu aktivitāti pret oksiminocefalosporīnu (III paaudze) – cefotaksīmu (Bauernfeind, *et al* 1990) un KPC – *K. pneumoniae* karpabenemāze. TEM, SHV un CTX-M efektivitāti un strauju izplatīšanos varētu skaidrot ar plazmīdiem, kas ir bieži sastopami Gram-negatīvam baktērijām, īpaši *Enterobacteriaceae*. Gēnu mutācijas, kuru rezultāta ir parādījušas TEM un SHV, ir atbildīgas par paplašināta spektra β-laktamāžu (ESBL) fenotipu attīstību. Līdzīga situācija ir ar CTX-M enzīmiem, kas arī paplašina savu darbības spektru mutāciju un biežas ekspozīcijas dēļ (Chong *et al*, 2018).

Šobrīd pastāv divas teorijas par A grupas β-laktamāžu acilēšanas mehānismu. Pirmajā, par bāzi, kas piedalās reakcijā, tiek uzskatīts Lys73, otrajā – Glu166. Abas teorijas ir eksperimentāli pamatotas. Glu166 bāzes aktivitāte tika pierādīta CTX-M augstās izšķirtspējas rentgenstaru analizē un neitronu difrakciju pētījumos (Chen *et al*, 2007; Tomanicek *et al*, 2011). Arī TEM kvantu mehānikas/molekulāras mehānikas aprēķini apstiprina Glu166 bāzes teoriju (Hermann *et al*, 2009).

Savukārt, CTX-M Lys73 variācija arī tika apstiprināta augstās izšķirtspējas rentgenstaros (Pan *et al*, 2017) un neitronu difrakcijā (Vandavasi *et al*, 2017).

1985. gadā klīniskā praksē sāka izmantot karbapenēmu klases pārstāvi – imipenēmu, kam ir izteikta antibakteriāla aktivitāte un rezistence pret lielāku daļu β-laktamāžu (Kropp *et al*, 1985). Sakarā ar karbapenēmu līdzekļu biežāku lietošanu, drīzumā paradījās pirmie ziņojumi par karbapenēmāzem, kuru svarīgākais pārstāvis ir KPC, galvenokārt sastopams *K. pneumoniae* (Yigit *et al*, 2001).

Lielbritānijā veiktajos pētījumos, kopš 2015. gada maija līdz 2019. gada martam, ziņots par 12,656 aizdomām par karbapenemāžu aktivitāti. Pētījumā tika iekļauti 6857 gadījumi, no kuriem lielāka daļa – 87.3% bija pacienti stacionāros. Karbapenemāzes visbiežāk tika konstatētas *Klebsiella pneumoniae* (39.1%) un *Escherichia coli* (30.3%). 26.4% no tam bija KPC (Freeman *et al*, 2020).

K. pneumoniae gadījumā klīniski nozīmīgu lomu spēle ESBL – paplašināta spektra β-laktamāze, kas bieži noved pie baktēriju multirezistences. ESBL piemīt klasisku β-laktamāžu īpašības – tās darbojas pret penicilīniem un cefalosporīniem, bet par izšķirošu pazīmi var uzskatīt tās aktivitāti pret paplašināta spektra cefalosporīniem ar oksimino blakusķēdi (ceftazidīms, ceftriaksons, cefepīms), kā arī pret monobaktāmu – azatreonāmu. Tiek uzskatīts kā par ESBL attīstību ir atbildīgas A grupas β-laktamāzes – TEM-3, TEM-4, SHV-1 (Bradford, 2001). Šobrīd, kaut arī *K. pneumoniae* ir spējīga producēt vairāku veidu β-laktamāzes, veselības aprūpei vislielāko izaicinājumu veido *K. pneumoniae* producētas karbapenemāzes, kas ir rezistentas pret kolicistīnu, polimiksīnu grupas antibakteriālu līdzekli, ko izmanto, kā pēdējās izvēlēs preparātu (Hudson *et al*, 2014).

Pēdējos gados tika noskaidrots, kā ESBL veidošanas un attīstība ir atkarīga ne tikai no pārmērīgas antibakteriālu līdzekļu lietošanas klīnikā, bet arī lauksaimniecībā – dzīvniekiem ir biežs kontakts ar antibakteriāliem preparātiem, kurus pievieno barībai (Madec *et al*, 2017).

1.3.1.2 C grupas β-laktamāzes

β-laktamāzes, kuras pieskaita pie C grupas, ir sastopamas daudzās Gram-negatīvu baktēriju hromosomās. Vairāki oportūnistiskie patogēni satur C grupas β-laktāmu producējošus gēnus, kurus pieņemts saukt par *ampC*. Normālos apstākļos *ampC* gēns ir neaktīvs, bet mutāciju dēļ vai specifisku β-laktāmu klātbūtnes rezultātā, gēns var tikt aktivēts un tā darbība pastiprinās palielinoties β-laktāma koncentrācijai. Minimāla inhibējoša koncentrācija (MIK) β-laktāmiem palielinās un efektivitāte zūd (Juan *et al*, 2017).

Daži C β-laktamāžu pārstāvji – CMY, FOX, DHA ir sastopami gan *Enterobacteriaceae*, gan ne-fermentējošās baktērijās, kā *Pseudomonas aeruginosa* (Jacoby *et al*, 2009).

C grupas β-laktāmu darbības mehānisms paliek neskaidrs. Ir vairākas teorijas par faktoriem, kas atšķir tos no A grupas β-laktāmiem. Kristālografiskie pētījumi norāda uz iespējamu Tyr150 iesaisti acilēšanas un deacilēšanas procesā, līdzīgi kā A grupas

Lys73/Glu166 (Oefner *et al*, 1990). Tas nozīme, kā enzīms pastāv tirosināta formā, kas, savukārt, netika apstiprināts tālāk veiktajos pētījumos (Kato-Toma *et al*, 2003).

Alternatīva hipotēze paredz, kā acilēšanas procesā ir iesaistīts Lys67. Atšķirība no A grupas β -laktamāzem, deacilēšana notiek no pretējas karbonilgrupas puses – nevis no α , bet no β puses (Lobkovsky *et al*, 1993).

Pētījumi ar monobaktāmu – azatreonamu apstiprināja Lys67 ka acilēšanas bāzi (Diaz, *et al*, 2006), kā arī tika pieņemts ka Tyr150 ir iesaistīts β -laktāma gredzena slāpekļa atoma protonēšana.

C grupas β -laktāmazes parasti netiek uzskatītas par atbildīgajam karbapenēmu rezistencē. Karbapenemāzes aktivitāte ir sporādiska – mutāciju dēļ C β -laktamāžu ekspresija palielinās un rezultāta karbapenēmi tiek saistīti un nespēj sasniegt PBP (Goessens *et al*, 2013).

Ir ziņojumi par konkrētiem β -laktamāžu apakštipiem, kas ir spējīgi hidrolizēt karbapenēmus un cefalosporīnus. Tiek minēti divi enzīmi: CMY-10 un ADC-68, kuru gēnu sekvencē novērojama 3 aminoskābju delēcija R2 cilpā, kas paplašina aktīvo saiti un palielina mijiedarbību risku starp karbapenēmu C2 ķēdēm (Jeon *et al*, 2014).

1.3.1.3 D grupas β -laktamāzes

β -laktamāžu β -grupas pārstāvjus – oksaciklīnu grupa (OXA) – raksturo vislielākā dažādība un nosacīti neliela izprašana. OXA enzīmiem ir afinitāte gan pret penicilīniem, gan cefalosporīniem, gan karbapenēmiem ar dažādu jutību pret β -laktamāžu inhibitoriem (Poirel *et al*, 2012). OXA enzīmi ir sastopami Gram-negatīvās baktērijās *P. aeruginosa*, *A. baumannii* un *K. pneumoniae*, bet ir arī ziņojumi par to aktivitāti Gram-pozitīvajos pārstāvjos (Toth *et al*, 2016).

D grupas OXA enzīmiem raksturīgāka īpašība ir aktīvas saites lizīna (analogiski A grupas Lys73) spēja atgriezeniski reaģēt ar vides oglekļa dioksīdu – veicot karboksilācijas reakciju. Praksē, tas nozīme, karboksilētais lizīns darbojas ka acilēšanas un deacilēšanas reakciju bāze (Golemi *et al*, 2001).

No D grupas β -laktamāžu pārstāvjiem, pieci tiek uzskatīti par karbapenēmāzēm – četri ir sastopami *A. baumannii* (OXA-23, OXA-24, OXA-51, OXA-58) un piektais – OXA-48 enterobaktēriju plazmīdos (Poirel *et al*, 2012).

1.3.1.4 B grupas jeb metālo-β-laktamāzes

Metālo-β-laktamāzes (MBL) atšķiras no citām β-laktamāžu grupām ar to, kā savā enzimatiskajā centrā satur metālu – cinku. Tās uzskata par vecākajām un plaši izplatītām metālohidrolāžu ģimeni. Metālo-β-laktamāzes enzīmi ir sastopami prokariotos, kur tās reaģē ar daudzveidīgiem substrātiem – sākot ar mazmolekulārajiem savienojumiem, kā tiolesteri un fosfonāti līdz nukleīnskābēm (Baier *et al*, 2014), kā arī tos iespējams atrast eikariotos, kur tie piedalās dezoksiribonukleīnskābes (DNS) labošanā un ribonukleīnskābes (RNS) apstrādē (Pettinati *et al*, 2016).

Metāla centrs atrodas starp enzīma divām β-plāksnēm, veidojot proteīna kodolu. Metālo-β-laktamāzes var iedalīt trīs grupās, kurām ir atšķirīga stehiometrija un struktūra – B1, B2 un B3. B1 un B3 enzīmu kodolus veido divi cinka atomi – Zn1 un Zn2; B1 gadījumā Zn1 veido saites ar trim histidīna aminoskābēm, savukārt Zn2 – cisteīnu, histidīnu un asparagīnskābi un B3 gadījumā – Zn1 – līdzīgi ar His-His-His, Zn2 – His-His-Asp. B2 kodolu veido mononukleārs centrs (Palzkill, 2013).

MBL raksturo plašs darbības spektrs, īpaši B1 un B3, kas darbojas pret penicilīniem, cefalosporīniem un karbapenēmiem, savukārt, uzrāda nelielu aktivitāti pret monobaktēriem (Lohans *et al*, 2017).

Vairākus gadus kopš MBL atklāšanas 1966. gadā (Sabath *et al*, 1966), tos pētīja vairāk no bioķīmiskas puses nekā faktoros ar klīnisku nozīmi. Situācija mainījās, kad parādījās ziņojumi par B1 klases pārstāvjiem, īpaši *New Delhi* metālo-β-laktamāzi (NDM) - sastopama *Enterobacteriaceae* (Kumarasamy *et al*, 2010) un Veronas iminepenāzi (VIM), kuru sintezē nefermentējošas baktērijas, piem., *P. aeruginosa* (Edelstein *et al*, 2013), kas ātri un efektīvi izplatījās, kā arī atbild par karbapenēmu terapijas efektivitātes trūkumu rezistentu *Enterobacteriaceae* ārstēšanā.

1.3.2 Aminoglikozīdu rezistence

Klebsiella pneumoniae rezistence pret aminoglikozīdu antibakteriāliem līdzekļiem veidojas, galvenokārt, gēnu mutāciju dēļ, kā rezultātā mainās konkrētu enzīmu

(aminoglikozīdu-modificējošie enzīmi (AME)) struktūra vai konformācija, ka arī samazināta baktērijas membrānas caurlaidība, effluks mehānismi, ribosomālas alterācijas u.c.

1.3.2.1 Aminoglikozīdu-modificējošie enzīmi (AAC)

Būtiska nozīme ir AME – tie katalizē izmaiņas pie aminoglikozīdu hidroksil un amīno grupām. Tie veidojas gēnu mutāciju dēļ, caur plazmīdiem u.c. Tos var sadalīt divās grupās: aminoglikozīdu *N*-acetiltransferāzes (AAC) un aminoglikozīdu *O*-fosfotransferāzes (APH). AAC gadījumos aminoglikozīdu acetilēšana notiek 1. (AAC1), 2.(AAC2), 3.(AAC3) un 6. (AAC6) pozīcijā (Wright *et al*, 2007).

AAC1 enzīmi ir sastopami *E. coli*, *Campylobacter spp.*, *Actinobacterium* (Gmoez-Luis *et al*, 1999; Sunada *et al*, 1999). Enzīmiem ir vairākas apakšklases, kuras atšķiras tikai ar acetilēšanas vietu. AAC1 enzīmu ekspresija nemainījās atkarīgi no aminoglikozīdu lietošanas, tādēļ ir aizdomas, ka AAC1 gēni ir baktēriju hromosomās.

AAC3 enzīmus šobrīd iedala deviņās apakšgrupās un visas ir sastopamas Gram-negatīvās baktērijās. AAC3-I ir enzīmi, kas atbild par rezistenci pret gentamicīnu, sisomicīnu un astromicīnu. Tie ir bieži sastopami *Enterobacteriaceae* pārstāvjos (Ramirez *et al*, 2010), tai skaitā arī *K. pneumoniae* un *K. oxytoca*. AAC3-II enzīmi atbild par rezistenci pret gentamicīnu, netilmicīnu, trobramicīnu un dibekacīnu (Shaw *et al*, 1993), tie sastopami *E. coli*, *Alcaligenes faecalis*, *S. marcescens* un *P. aeruginosa* (Dubois *et al*, 2008). AAC3-III ir sastopams vienīgi *P. aeruginosa* (Vliegenthart *et al*, 1991). AAC3-IV – klīniskos *E. coli*, *Campylobacter jejuni* un vides *Pseudomonas stutzeri* izolātos (Heuer *et al*, 2002). Parējās apakšklases sastopams aktinobaktērijās.

AAC2 enzīmi sastopami Gram-negatīvās baktērijās (*Providencia stuartii*, *A. baumannii*) un *Mycobacterium* (*tuberculosis*, *fortuitum*, *bovis*, *smegmatis*). Tie piedalās gentamicīna, tobramicīna, dibekacīna, kanamicīna un netimicīna modifikācijās. Aminoskābju sekvenču analīzes norāda, ka AAC2 enzīmiem nav savā starpā 100% homologijas (Ramirez *et al*, 2010).

AAC6 enzīmi ir līdz šīm visbiežāk sastopami gan Gram-negatīvās baktērijās, gan Gram-pozitīvās. Tos gēnus var atrast plazmīdos un hromosomās. AAC6 iedala divas grupas: I izteikta aktivitāte pret amikacīnu un gentamicīnu, bet II – aktivitāte tikai pret gentamicīnu

(Tolmasky *et al*, 2007). AAC6 I ir ļoti daudzveidīga enzīmu grupa, kas atšķiras strukturāli – aminoskābju sekvences, ka arī pēc aktivitātes.

Japānā tika novērota *aac6-Ia* gēna saistība ar metālo-β-laktamāzes gēnu – *bla[IMP]* un *ant(3)''* (Kitao *et al*, 2010).

AAC6 – Ib subvienībai ir vislielākā klīniska nozīme – acetiltransferāzes aktivitāte atbild par rezistenci pret amikacīnu un citiem aminoglikozīdiem. Tā ir sastopama Gram-negatīvās baktērijās *Acinetobacter*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Vibrionaceae* (Tolmasky *et al*, 2007). Tos gēnu aktivitāti saista arī ar β-laktāmu gēnu aktivitāti: *bla*(CTX-M-1), *bla*(CTX-M-14), *bla*(CTX-M-15), *bla*(CTX-M-24), *bla*(DHA-1), *bla*(SHV-12), *bla*(KPC-2) un hinolonu rezistences gēniem: *qnrA1*, *qnrB2*, *qnrB4*, *qnrB6*, *qnrB10*, *qnrS1*, *qnrS2*, *qepA* (Strahilevitz *et al*, 2009).

APH enzīmi katalizē fosfogrupas pārvešanu uz aminoglikozīda molekulas. Tie iedalās vairākas grupās. APH4 grupā ir divi enzīmi – APH4-Ia un APH4-Ib, kurus kodē *hph* un *hyg* gēni. Abi enzīmi atbild par rezistenci pret higromicīnu un tiem nav būtiskas klīniskas nozīmes (Ramirez *et al*, 2010).

Ir četri aprakstīti APH6 enzīmi, kuri atbild par rezistenci pret streptomicīnu. APH6-Ia atklāts *Streptomyces griseus*, APH6-Ib – *Streptomyces glaucescens*, APH6-Ic – Gram-negatīvas baktērijās un APH6-Id – gan Gram-negatīvās, gan Gram pozitīvas baktērijās (Ramirez *et al*, 2010). APH9-Ia pirmo reizi izdalīts no *Legionella pneumophila*, pētījumi norāda, kā tas atbild par rezistenci tikai un vienīgi pret spektinomicīnu (Thompson *et al*, 1998).

APH3 enzīmi uzrāda aktivitāti pret kanamicīnu, neomicīnu, paramomicīnu, ribostamicīnu un lividomicīnu. Tie ir sastopami Gram-negatīvās baktēriju plazmīdos (Ramirez *et al*, 2010). APH2 enzīmi sastopami Gram-pozitīvos mikroorganismos un tie uzrāda aktivitāti pret gentamicīnu (Toth *et al*, 2009).

1.3.2.2 Aminoglikozīdu eflukss mehānismi

Efluksa sūkņi ir viens no bakteriālas rezistences iemesliem – tie ir spējīgi pasargāt baktēriju no daudziem nelabvēlīgajiem apstākļiem, antibiotikām, deterģentiem, antiseptiķiem u.c. Līdz šim *K. pneumoniae* tika atklāti sekojoši eflukss sūkņi: AcrAB, OqxAB, EefAB, KexD, KmrA, KdeA un CepA, no kuriem pirmie četri pieder pie RND eflukss sūkņu ģimenes, kas tiek uzskatīta par būtisku faktoru Gram-negatīvu baktēriju rezistencē. RND sūkņi sastāv

no trijām komponentēm: iekšējais membrānas proteīns, periplasmiskais proteīns un ārējais membrānas proteīns (Nikaido *et al*, 2009). Iekšējais membrānas proteīns ir spējīgs atpazīt ķīmiskas vielas un saistīt tas kā savu substrātu. RND sūkņa komponentes attiecīgi atbild par vielas atpazīšanu - saisti un izvadīšanu (Zwama *et al*, 2018). Visbiežāk sastopams un vairāk pētīts *K. pneumoniae* RND sūknis ir AcrAB.

1.3.3 Hinolonu, fluorhinolonu rezistence

Bakteriāla rezistence pret hinolonu antibiotikām var izveidoties vairākos veidos: 1) mutācijas DNS girāzes un topoizomerāzes IV kodējošos gēnos; 2) efluks sūkņu aktivitāte; 3) plazmīdu rezistences gēni (Jacoby, 2005).

Plazmīdu rezistences gēni noved pie qnr proteīnu sintēzes, kas fiziski pasarga hinolonu terapeitiskus mērķus – DNS girāzi un topoizomerāzi IV, ka arī AAC6 enzīmi paplašina savu darbības spektru arī uz fluorhinoloniem.

Vairāki veikti pētījumi un analīzes norāda uz korelāciju starp qnr pozitīvajiem un ESBL pozitīvajiem izolātiem. Qnr/ESBL izolāti konstatēti Eiropā, ASV, Āzijā un Āfrikā. *K. pneumoniae* ESBL produkciju saista ar augstu rezistenci pret fluorhinoloniem (Diagbouga *et al*, 2016).

Hinolonu darbības mērķproteīnu mutācijas parasti notiek DNS girāzes *gyrA-gyrB* subvienībās un topoizomerāzes IV *parC-parE* subvienībās (Navon-Venezia *et al*, 2017). Efluks sūkņu aktivitātei arī ir būtiska loma hinolonu rezistencē – rezistentiem izolātiem konstatēta paaugstināta *acrAB* un *OqxAB* gēna ekspresija. Ar šiem gēniem *K. pneumoniae* ir spējīga dalīties ar citām baktērijām caur plazmīdam (Wong *et al*, 2015).

1.3.4 Polimikssīnu rezistence

Sakarā ar biežāku izteiktas aktivitātes karbapenemāžu aktivitāti, *K. pneumoniae* terapija bieži balstījās uz polimikssīniem, kas tiek uzskatīti par pēdējās izvēles preparātiem. Par pirmo MDR kolistīn-nejūtīgu *K. pneumoniae* paziņots 2004. gadā Grieķijā (Antoniadou *et al*, 2007) un kopš tā laika ziņojumu skaits palielinājās.

Galvenais polimiksīnu rezistences mehānisms ir mērķa izmaiņas, par kuram atbild hromosomālie mehānismi – lipopolisaharīdu modifikācijas sistēma. Polimiksīn-rezistentas baktērijas izmaina lipopolisaharīdu (LPS) struktūru, rezultātā samazinās anionu lādiņš un polimiksīnu-LPS saites ir vajākās. LPS izmaiņas nodrošina mutācijas *lpxM* un *ramA* gēnos, kas atbild par A lipīda nobriešanu, papildus saite ar arabinozi (*pbgP*, *pmrE*), fosfoetanolamīnu (*pmrC*) vai palmitātu (*pagP*) (Navon-Venezia *et al*, 2017). Ir ziņots arī par kolistīna rezistenci polisaharīdu kapsulu dēļ - tie neitralizē polimiksīnu pie ārējās membrānas. Ir ziņojumi par AcrAB-TolC un KpnEF efluks sūkņu lomu polimiksīnu rezistencē (Srinivasan, Rajamohan, 2013). Par polimiksīnu plazmīdu rezistenci tika ziņots tikai vienu reizi Ķīnā, kur atrasts *mcr-1* gēns. *mcr-1* gēns ļauj sintezēt fosfoetanolamīna transferāzi, līdzīgi ka *PmrC* gēns (Liu *et al*, 2016). Kolistīn-rezistentā *K. pneumoniae* ir salīdzinoši biežāka polimiksīn-rezistentā baktērija no visam *Enterobacteriaceae*. 2016. gadā veiktajā pētījumā noskaidrots, kā starp karbapenemāžu producējošām baktērijām 12% bija kolistīn-rezistentas, savukārt, 95% no tam bija *K. pneumoniae* (Bradford *et al*, 2016).

Kolistīna rezistence novērota arī ESBL producējošos *K. pneumoniae* pēc plaša spektra cefalosporīnu terapijas, *mgrB* gēna mutāciju dēļ (Jayol *et al*, 2016).

1.3.5 Tigeciklīna rezistence

Tigeciklīns pierādīja savu efektivitāti, izvairoties no visiem pazīstamajiem tetraciklīnu rezistences mehānismiem, kā arī aktivitāti pret ESBL (Golan *et al*, 2015). Šobrīd tiek runāts par vidējo tigeciklīna rezistenci – tas paliek efektīvs, bet ir ziņots par samazinātu bakteriālu jutību. Zināms, ka izmaiņas notiek mērķproteīna – 30S un 16S ribosomāla subvienībā, kā arī ribosomāla proteīnā 10S. Ziņots arī par paaugstinātu efluks sūkņu AcrAB-TolC aktivitāti (Osei Sekyere *et al*, 2016). Neskatoties uz veiktajiem pētījumiem, konkrēti iemesli, faktori un rezistences mehānismi tigeciklīna gadījumā nav zināmi (Ahn *et al*, 2016).

1.4 Statistikas dati par Eiropu/Eiropas Savienību

Saskaņā ar Eiropas Slimību profilakses un kontroles centra datiem, 2018. gadā no visiem paziņotiem *K. pneumoniae* izolātiem 37.2% bija rezistenti vismaz pret vienu antibakteriālu līdzekli. 2018. gadā ES procentuāli vislielākā rezistence ir bijusi pret III paaudzes cefalosporīniem (31.7%), kam sekoja fluorhinoloni (31.6%), aminoglikozīdi (22.7%) un karbapenēmi (7.5%). Laikā periodā no 2015. gada līdz 2018. gadam novēroja izteiktu pieaugumu fluorhinolonu un karbapenēmu rezistences gadījumu. Savukārt, tajā pat laikā, ievērojami samazinājās rezistence pret aminoglikozīdiem.

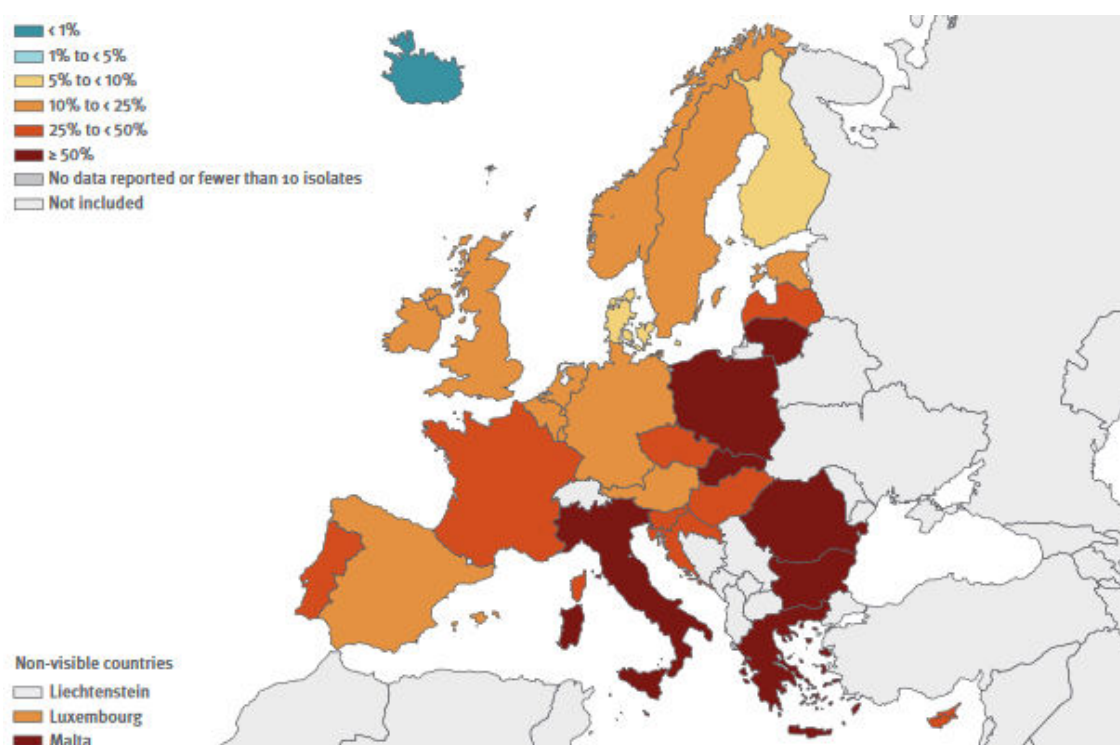
1.4. tabula

***Klebsiella pneumoniae* – kopējais izolātu skaits un procentuāla fluorhinolonu rezistences attiecība Eiropas valstīs, laikā periodā 2015-2018. Drošības intervāls 95% ņemts vērā**

Country	2015			2016			2017			2018			Trend 2015-2018*
	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	
Iceland	35	2.9	(0-15)	21	0.0	(0-16)	16	6.3	(0-30)	16	0.0	(0-21)	N/A
Finland	658	3.3	(2-5)	769	2.7	(2-4)	756	7.9	(6-10)	808	6.3	(5-8)	↑
Denmark	935	5.3	(4-7)	1152	5.3	(4-7)	1183	9.1	(8-11)	1279	8.5	(7-10)	↑
Sweden	907	4.5	(3-6)	1533	5.4	(4-7)	1034	9.8	(8-12)	1087	10.1	(8-12)	N/A
Netherlands	908	6.8	(5-9)	1134	6.9	(5-9)	1190	11.9	(10-14)	1296	12.2	(10-14)	↑
Norway	700	5.0	(4-7)	808	4.3	(3-6)	781	10.2	(8-13)	735	13.1	(11-16)	↑
United Kingdom	1011	13.3	(11-16)	4065	7.5	(7-8)	5293	9.3	(9-10)	5600	13.1	(12-14)	↑ #
Austria	1029	11.7	(10-14)	1246	9.8	(8-12)	1147	14.2	(12-16)	1221	13.2	(11-15)	↑
Germany	1580	9.6	(8-11)	3068	12.6	(11-14)	3857	15.3	(14-16)	3881	13.3	(12-14)	↑
Ireland	388	17.0	(13-21)	453	11.3	(8-15)	478	14.9	(12-18)	483	18.0	(15-22)	
Estonia	62	33.9	(22-47)	183	29.5	(23-37)	161	24.8	(18-32)	205	21.0	(16-27)	↓
Belgium	379	22.7	(19-27)	669	23.6	(20-27)	803	23.7	(21-27)	932	22.6	(20-25)	
Spain	1508	21.6	(20-24)	1676	22.7	(21-25)	1486	22.5	(20-25)	1927	23.8	(22-26)	
Luxembourg	60	20.0	(11-32)	78	35.9	(25-48)	99	28.3	(20-38)	85	24.7	(16-35)	
Slovenia	237	24.5	(19-30)	267	29.6	(24-35)	306	30.4	(25-36)	289	27.3	(22-33)	
France	2332	30.7	(29-33)	2589	27.7	(26-29)	2886	26.8	(25-28)	2997	30.4	(29-32)	
EJ/EEA (population-weighted mean)	22417	30.1	(30-31)	30583	30.3	(30-31)	32784	31.5	(31-32)	38456	31.6	(31-32)	↑
Hungary	700	36.7	(33-40)	713	35.2	(32-39)	685	41.5	(38-45)	842	38.0	(35-41)	
Latvia	112	42.0	(33-52)	91	41.8	(32-53)	116	32.8	(24-42)	200	38.5	(32-46)	
Portugal	2094	38.6	(36-41)	2350	41.7	(40-44)	2736	45.7	(44-48)	2592	43.8	(42-46)	↑
Czech Republic	1416	48.9	(46-52)	1384	50.5	(48-53)	1329	49.2	(46-52)	1482	47.2	(45-50)	
Croatia	380	48.7	(44-54)	318	43.4	(38-49)	309	40.8	(35-46)	327	48.6	(43-54)	
Cyprus	62	37.1	(25-50)	75	32.0	(22-44)	71	35.2	(24-47)	87	49.4	(39-60)	
Italy	2000	53.7	(51-56)	2248	56.0	(54-58)	2562	55.7	(54-58)	5752	52.7	(51-54)	
Malta	88	26.1	(17-37)	102	33.3	(24-43)	117	39.3	(30-49)	137	55.5	(47-64)	↑
Lithuania	179	45.8	(38-53)	324	54.6	(49-60)	326	64.7	(59-70)	370	56.8	(52-62)	↑
Romania	267	61.4	(55-67)	342	60.8	(55-66)	337	64.1	(59-69)	441	57.4	(53-62)	
Slovakia	474	70.0	(66-74)	466	66.3	(62-71)	466	66.7	(62-71)	497	61.0	(57-65)	↓
Bulgaria	96	37.5	(28-48)	160	55.6	(48-63)	169	59.8	(52-67)	193	62.7	(55-70)	↑
Greece	1161	66.4	(64-69)	1180	68.6	(66-71)	1346	66.9	(64-69)	1488	68.1	(66-70)	
Poland	659	63.9	(60-68)	1119	66.8	(64-70)	739	66.3	(63-70)	1207	68.2	(65-71)	

Materiāli iegūti no ECDC Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Pieejams:<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> [tiešsaistē: 18.02.2021]

Laikā periodā 2015-2018 fluorhinolonu rezistences tendences palielinājās Somijā, Dānijā, Nīderlandes, Norvēģijā, Lielbritānijā, Austrijā, Vācijā, Portugālē, Maltā, Bulgārijā un kaimiņvalstī – Lietuvā. Savukārt, samazinājums novērojams Igaunijā un Slovākijā. Kopumā Eiropā novērojams fluorhinolonu rezistences gadījumu skaita pieaugums.



1.10. att. *K. pneumoniae*. Fluorhinolonu rezistentu izolātu procentuāla attiecība pret kopēju izolātu skaitu Eiropas valstīs

Materiāli iegūti no ECDC Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Pieejams:<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> [tiešsaistē: 18.02.2021].

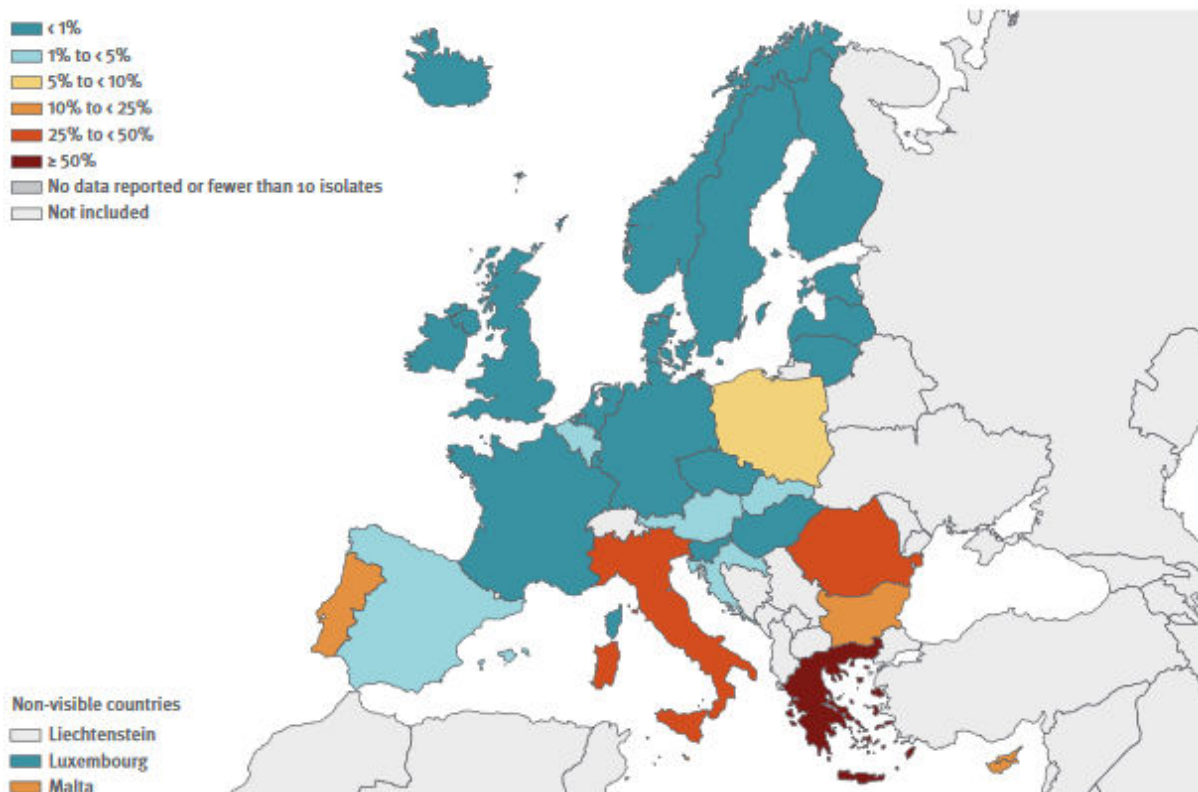
Procentuāli vislielākais fluorhinolonu rezistences izolātu skaits novērots Lietuvā, Polijā, Rumānijā, Bulgārijā, Grieķijā, Itālijā un Slovākijā – kur rezistences attiecība ir lielāka par 50%. Savukārt, mazāku attiecību novēro Islandē (<1%), Somijā un Dānijā (5-10%).

***Klebsiella pneumoniae* – kopējais izolātu skaits un procentuāla karbapenēmu rezistences attiecība Eiropas valstīs, laikā periodā 2015-2018. Drošības intervāls 95% ņemts vērā**

Country	2015			2016			2017			2018			Trend 2015-2018*
	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	
Iceland	35	0.0	(0-12)	21	0.0	(0-12)	12	0.0	(0-21)	16	0.0	(0-21)	N/A
Luxembourg	60	0.0	(0-6)	78	0.0	(0-5)	99	0.0	(0-4)	85	0.0	(0-4)	
Norway	700	0.1	(0-1)	810	0.0	(0-0)	781	0.0	(0-0)	736	0.1	(0-1)	
Hungary	687	0.1	(0-1)	703	0.4	(0-1)	681	0.3	(0-1)	827	0.2	(0-1)	
Sweden	900	0.0	(0-0)	1531	0.1	(0-0)	1033	0.1	(0-1)	1088	0.2	(0-1)	N/A
Lithuania	177	0.0	(0-2)	325	0.0	(0-1)	325	0.6	(0-2)	371	0.3	(0-1)	
Czech Republic	1100	0.3	(0-1)	1096	0.0	(0-0)	1051	0.4	(0-1)	1194	0.3	(0-1)	
Germany	1583	0.1	(0-0)	3068	0.5	(0-1)	3857	0.5	(0-1)	3879	0.4	(0-1)	
Latvia	112	0.0	(0-3)	90	2.2	(0-8)	116	1.7	(0-6)	204	0.5	(0-3)	
France	2244	0.5	(0-1)	2528	0.4	(0-1)	2807	0.7	(0-1)	2998	0.5	(0-1)	
Denmark	846	0.0	(0-0)	1119	0.3	(0-1)	1185	0.3	(0-1)	1109	0.5	(0-1)	↑
Netherlands	907	0.1	(0-1)	1131	0.1	(0-0)	1190	0.5	(0-1)	1295	0.5	(0-1)	↑ #
Estonia	56	0.0	(0-6)	168	0.0	(0-2)	143	0.0	(0-3)	179	0.6	(0-3)	
Finland	658	0.0	(0-1)	770	0.3	(0-1)	758	0.3	(0-1)	810	0.6	(0-1)	↑
Ireland	389	0.5	(0-2)	453	0.7	(0-2)	478	0.2	(0-1)	482	0.6	(0-2)	
Slovenia	237	1.3	(0-4)	267	0.0	(0-1)	312	0.0	(0-1)	289	0.7	(0-2)	
United Kingdom	962	0.4	(0-1)	4068	0.3	(0-0)	5274	0.6	(0-1)	5592	0.7	(0-1)	↑ #
Austria	1022	0.8	(0-2)	1198	0.7	(0-1)	1109	1.0	(0-2)	1184	1.0	(1-2)	
Belgium	389	0.5	(0-2)	669	2.4	(1-4)	791	1.1	(1-2)	935	1.4	(1-2)	
Croatia	380	2.4	(1-4)	323	0.0	(0-1)	302	0.0	(0-1)	325	2.2	(1-4)	
Slovakia	436	0.9	(0-2)	435	2.5	(1-4)	450	4.4	(3-7)	488	3.5	(2-6)	↑
Spain	1483	2.2	(1-3)	1677	2.1	(1-3)	1510	2.8	(2-4)	1995	3.8	(3-5)	↑ #
EU/EEA (population-weighted mean)	21773	6.8	(6-7)	30127	7.4	(7-8)	32821	7.2	(7-7)	37824	7.5	(7-8)	↑
Poland	660	0.5	(0-1)	1123	2.1	(1-3)	1161	6.4	(5-8)	1183	8.1	(7-10)	↑
Portugal	2085	3.4	(3-4)	2340	5.2	(4-6)	2720	8.6	(8-10)	2563	11.7	(10-13)	↑
Malta	88	4.5	(1-11)	102	5.9	(2-12)	117	10.3	(5-17)	136	15.4	(10-23)	↑
Bulgaria	95	3.2	(1-9)	159	4.4	(2-9)	169	12.4	(8-18)	193	21.2	(16-28)	↑
Cyprus	62	12.9	(6-24)	75	10.7	(5-20)	71	15.5	(8-26)	87	21.8	(14-32)	
Italy	1999	33.5	(31-36)	2307	33.9	(32-36)	2634	29.7	(28-31)	5660	26.8	(26-28)	↓
Romania	271	24.7	(20-30)	334	31.4	(26-37)	334	22.5	(18-27)	441	29.5	(25-34)	
Greece	1185	61.9	(59-65)	1180	66.9	(64-70)	1363	64.7	(62-67)	1498	63.9	(61-66)	
Iceland	2		(-)	1		(-)	0		(-)	1		(-)	N/A

Materiāli iegūti no ECDC Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Pieejams:<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> [tiešsaistē: 18.02.2021]

Karbapenēmu rezistentu izolātu skaits, laikā periodā 2015-2018, ir pieaudzis Dānijā, Nīderlandes, Somijā, Lielbritānijā, Slovākija, Spānijā, Polijā, Portugālē, Maltā un Bulgārijā. Savukārt, samazinājums novērojams tikai Rumānijā. Kopumā Eiropā pieaug karbapenēmu rezistences gadījumu skaits.



1.11. att. *K. pneumoniae*. karbapenēmu rezistentu izolātu procentuāla attiecība pret kopēju izolātu skaitu Eiropas valstīs

Materiāli iegūti no ECDC Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Pieejams: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> [tiešsaistē: 18.02.2021].

Vislielākā karbapenēmu rezistence novērojama Grieķijā (>50%). Tai seko Rumānija, Itālija (25-50%), Portugāle, Polija, Bulgārija (5-25%). Pārējās Eiropas valstīs situācija ir nosacīti labāka.

Kopumā procentuāli nemainīga paliek rezistence pret III paaudzes cefalosporīniem, kas 2015. gadā sasniedza 31%, 2016. – 31.4%, 2017. – 31.2%, 2018. – 31.7%.

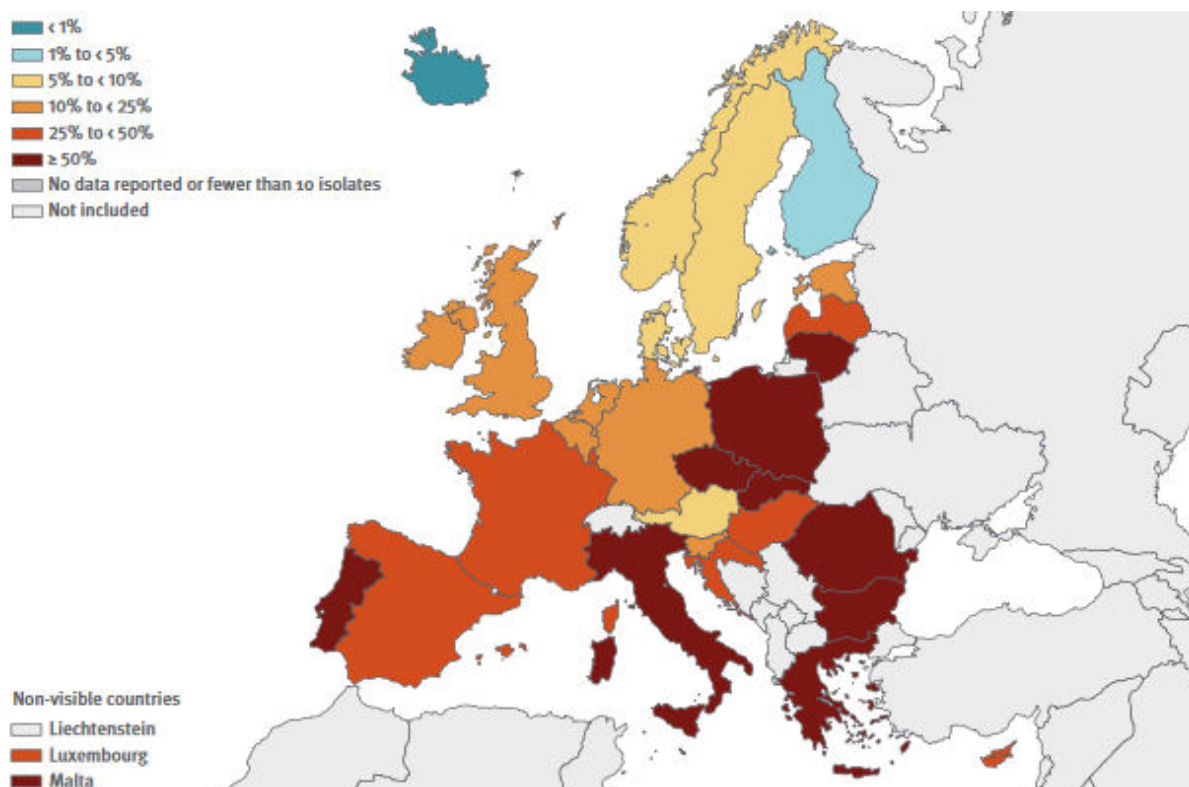
***Klebsiella pneumoniae* – kopējais izolātu skaits un procentuāla III paaudzes cefalosporīnu rezistences attiecība Eiropas valstīs, laikā periodā 2015-2018. Drošības intervāls 95% ņemts vērā**

Country	2015			2016			2017			2018			Trend 2015-2018*
	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	
Iceland	36	0.0	(0-10)	25	0.0	(0-14)	17	5.9	(0-29)	16	0.0	(0-21)	N/A
Finland	644	3.0	(2-5)	760	4.1	(3-6)	744	4.6	(3-6)	805	4.5	(3-6)	
Sweden	1001	3.3	(2-5)	1537	4.9	(4-6)	1034	5.6	(4-7)	1089	5.5	(4-7)	N/A
Denmark	929	7.8	(6-10)	1118	7.5	(6-9)	1125	7.3	(6-9)	1159	6.5	(5-8)	
Norway	701	5.0	(4-7)	811	5.8	(4-8)	781	5.8	(4-8)	737	7.5	(6-10)	
Austria	1050	8.4	(7-10)	1245	9.6	(8-11)	1072	8.6	(7-10)	1221	8.4	(7-10)	
Netherlands	908	8.6	(7-11)	1134	10.3	(9-12)	1189	10.9	(9-13)	1295	11.1	(9-13)	
Germany	1581	10.2	(9-12)	3068	13.6	(12-15)	3854	14.6	(14-16)	3884	12.9	(12-14)	
United Kingdom	916	10.5	(9-13)	3914	8.9	(8-10)	4973	11.4	(10-12)	5181	13.0	(12-14)	↑ #
Estonia	93	23.7	(15-34)	183	32.8	(26-40)	161	21.1	(15-28)	206	13.6	(9-19)	↓
Ireland	387	14.7	(11-19)	452	13.5	(10-17)	478	14.6	(12-18)	483	14.5	(11-18)	
Slovenia	237	22.8	(18-29)	267	22.8	(18-28)	312	23.7	(19-29)	289	14.9	(11-20)	↓
Belgium	406	19.7	(16-24)	669	22.9	(20-26)	803	19.3	(17-22)	935	21.4	(19-24)	
Spain	1491	20.3	(18-22)	1677	22.4	(20-24)	1513	21.3	(19-23)	1994	25.5	(24-27)	↑ #
Luxembourg	60	28.3	(17-41)	78	35.9	(25-48)	99	27.3	(19-37)	85	29.4	(20-40)	
France	2338	30.5	(29-32)	2597	28.9	(27-31)	2892	28.8	(27-31)	3033	30.8	(29-32)	
EU/EEA (population-weighted mean)	22511	31.0	(30-32)	30447	31.4	(31-32)	32829	31.2	(31-32)	38122	31.7	(31-32)	
Latvia	115	47.0	(38-56)	95	47.4	(37-58)	116	33.6	(25-43)	204	37.7	(31-45)	↓
Hungary	704	37.2	(34-41)	722	37.5	(34-41)	693	41.1	(37-45)	848	40.2	(37-44)	
Croatia	380	46.8	(42-52)	321	48.6	(43-54)	309	41.7	(36-47)	318	44.3	(39-50)	
Cyprus	62	43.5	(31-57)	75	30.7	(21-42)	71	46.5	(35-59)	87	48.3	(37-59)	
Portugal	2094	40.4	(38-43)	2349	46.7	(45-49)	2743	44.9	(43-47)	2579	50.0	(48-52)	↑
Czech Republic	1417	54.1	(51-57)	1384	51.8	(49-54)	1329	53.2	(50-56)	1482	50.1	(47-53)	
Malta	88	15.9	(9-25)	102	21.6	(14-31)	117	35.0	(26-44)	137	53.3	(45-62)	↑
Italy	1999	55.9	(54-58)	2246	55.8	(54-58)	2546	54.6	(53-57)	5832	53.6	(52-55)	↓ #
Lithuania	178	51.7	(44-59)	326	56.7	(51-62)	326	63.2	(58-68)	371	55.8	(51-61)	
Slovakia	469	67.2	(63-71)	465	61.3	(57-66)	459	63.2	(59-68)	497	55.9	(51-60)	↓
Romania	270	70.7	(65-76)	344	68.0	(63-73)	339	62.5	(57-68)	443	61.4	(57-66)	↓
Poland	676	64.2	(60-68)	1142	64.4	(62-67)	1203	63.0	(60-66)	1219	64.6	(62-67)	
Greece	1185	69.5	(67-72)	1181	72.5	(70-75)	1362	69.2	(67-72)	1500	70.7	(68-73)	
Bulgaria	96	75.0	(65-83)	160	72.5	(65-79)	169	76.3	(69-83)	193	77.7	(71-83)	

Materiāli iegūti no ECDC Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018.

Pieejams:<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> [tiešsaistē: 18.02.2021]

III paaudzes cefalosporīnu rezistences pieaugums novērojams Lielbritānijā, Spānijā, Portugālē un Maltā. Savukārt, daudzās valstīs konstatēts arī rezistences samazinājums – Igaunijā, Slovēnijā, Latvijā, Itālijā, Slovākijā un Rumānijā.



1.12. att. *K. pneumoniae*. III cefalosporīnu paaudzes rezistento izolātu procentuāla attiecība pret kopēju izolātu skaitu Eiropas valstīs

Materiāli iegūti no ECDC Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Pieejams: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> [tiešsaistē: 18.02.2021].

III paaudzes cefalosporīnu gadījumā, kritiska situācija ir vairākās Eiropas valstīs. Procentuāls rezistences biežums virs 50% ir Lietuvā, Polijā, Čehijā, Slovākijā, Rumānijā, Bulgārijā, Grieķijā, Itālijā, Portugālē un Maltā. Rezistence zem 50% novērojama Latvijā, Francijā, Spānijā, Horvātijā, Ungārijā, Luksemburgā, savukārt, minimāla rezistence konstatēta tika Somijā un Islandē. Skandināvu valstīs situācija ir labāka nekā pārējā Eiropā.

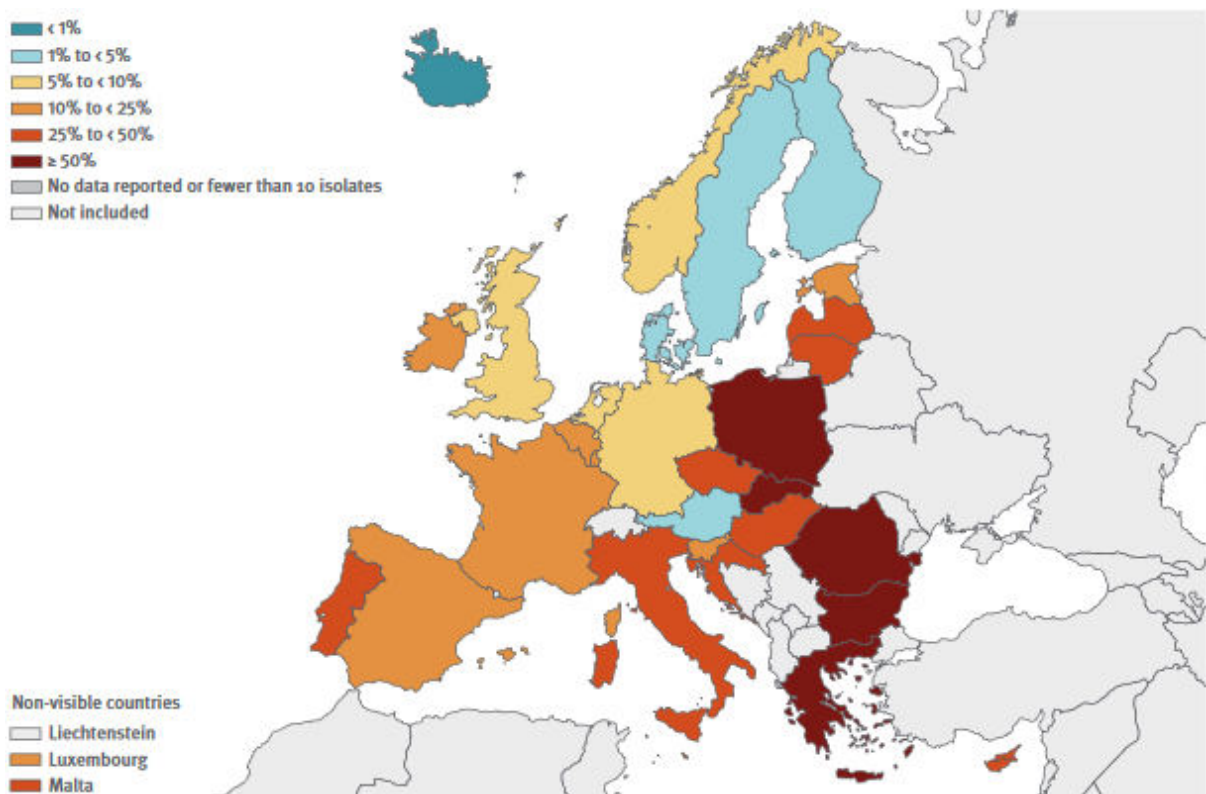
Aminoglikozīdu rezistence Eiropā 2018. gadā būtiski samazinājās, salīdzinot ar 2015-2017 gadiem. Novērojams kritiens no 24.1-24.4% līdz 22.7%, neskatoties uz kopēja izolātu skaita pieaugumu no 22 tūkstošiem līdz 38 tūkstošiem.

***Klebsiella pneumoniae* – kopējais izolātu skaits un procentuāla aminoglikozīdu rezistences attiecība Eiropas valstīs, laikā periodā 2015-2018. Drošības intervāls 95% ņemts vērā**

Country	2015			2016			2017			2018			Trend 2015-2018*
	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	N	%R	(95%CI)	
Iceland	36	0.0	(0-10)	25	0.0	(0-14)	17	11.8	(1-36)	16	0.0	(0-21)	N/A
Finland	625	1.9	(1-3)	727	2.3	(1-4)	721	2.9	(2-4)	774	2.6	(2-4)	
Sweden	943	3.2	(2-5)	1141	3.4	(2-5)	1033	4.7	(4-6)	1087	3.0	(2-4)	N/A
Denmark	938	2.6	(2-4)	1154	3.2	(2-4)	1186	3.2	(2-4)	1278	3.3	(2-4)	
Austria	959	4.8	(4-6)	1157	4.8	(4-6)	1141	4.8	(4-6)	1214	4.8	(4-6)	
Norway	700	3.6	(2-5)	809	3.3	(2-5)	781	4.2	(3-6)	737	5.3	(4-7)	
Germany	1582	5.6	(5-7)	3042	7.7	(7-9)	3776	8.2	(7-9)	3878	6.2	(5-7)	
Netherlands	908	5.7	(4-7)	1134	6.1	(5-8)	1190	7.6	(6-9)	1296	7.3	(6-9)	
United Kingdom	1070	9.3	(8-11)	4135	6.7	(6-7)	5363	7.9	(7-9)	5709	9.1	(8-10)	↑ #
Estonia	61	21.3	(12-34)	183	21.3	(16-28)	161	12.4	(8-19)	205	10.2	(6-15)	↓
Belgium	354	11.6	(8-15)	637	13.8	(11-17)	633	12.5	(10-15)	747	12.4	(10-15)	
Slovenia	237	19.0	(14-25)	267	16.5	(12-21)	312	16.0	(12-21)	289	12.8	(9-17)	
Ireland	389	15.9	(12-20)	453	11.5	(9-15)	479	11.9	(9-15)	483	13.0	(10-16)	
Spain	1509	16.0	(14-18)	1678	15.5	(14-17)	1513	17.4	(16-19)	1995	19.3	(18-21)	↑ #
Luxembourg	60	15.0	(7-27)	78	26.9	(18-38)	99	18.2	(11-27)	85	20.0	(12-30)	
EU/EEA (population-weighted mean)	22360	24.2	(24-25)	30023	24.4	(24-25)	32996	24.1	(24-25)	38290	22.7	(22-23)	↓
France	2337	26.3	(25-28)	2569	26.2	(25-28)	2857	23.8	(22-25)	2990	24.8	(23-26)	
Italy	1956	34.0	(32-36)	2300	36.1	(34-38)	2571	34.5	(33-36)	5693	27.0	(26-28)	↓ #
Latvia	113	43.4	(34-53)	91	38.5	(28-49)	115	29.6	(21-39)	203	31.0	(25-38)	↓
Hungary	706	34.6	(31-38)	720	34.7	(31-38)	693	37.8	(34-42)	845	32.7	(30-36)	
Portugal	2090	32.6	(31-35)	2337	35.0	(33-37)	2717	33.5	(32-35)	2572	34.4	(33-36)	
Croatia	380	43.2	(38-48)	316	36.1	(31-42)	311	30.9	(26-36)	330	36.4	(31-42)	↓
Cyprus	62	37.1	(25-50)	75	22.7	(14-34)	71	26.8	(17-39)	87	36.8	(27-48)	
Malta	88	22.7	(14-33)	102	22.5	(15-32)	117	31.6	(23-41)	137	46.7	(38-55)	↑
Lithuania	179	46.4	(39-54)	325	49.2	(44-55)	322	53.7	(48-59)	369	48.5	(43-54)	
Czech Republic	1417	51.9	(49-55)	1385	47.1	(44-50)	1330	49.6	(47-52)	1483	48.6	(46-51)	
Romania	266	54.1	(48-60)	336	61.9	(56-67)	338	58.6	(53-64)	436	50.9	(46-56)	
Poland	666	58.6	(55-62)	1075	56.7	(54-60)	1165	55.5	(53-58)	1178	54.2	(51-57)	
Greece	1170	50.7	(48-54)	1171	52.9	(50-56)	1348	53.2	(50-56)	1487	54.4	(52-57)	
Slovakia	475	66.5	(62-71)	466	62.4	(58-67)	468	61.1	(57-66)	496	54.8	(50-59)	↓
Bulgaria	84	59.5	(48-70)	135	64.4	(56-72)	168	63.1	(55-70)	191	59.2	(52-66)	

Materiāli iegūti no ECDC Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Pieejams: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> [tiešsaistē: 18.02.2021].

Aminoglikozīdu rezistences biežums ir pieaudzis Lielbritānijā, Spānijā un Maltā, bet daudzās valstīs novērojams būtisks samazinājums – Igaunijā, Itālijā, Latvijā, Horvātijā un Slovākijā.



1.13. att. *K. pneumoniae*. aminoglikozīdu rezistentu izolātu procentuāla attiecība pret kopēju izolātu skaitu Eiropas valstīs

Materiāli iegūti no ECDC Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Pieejams: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> [tiešsaistē: 18.02.2021].

Kritiska situācija – virs 25-50% ir novērojama Rietumeiropā. Latvijā un Lietuvā rezistence pārsniedz 25%, kas ir sliktāk nekā kaimiņvalstī – Igaunijā. Daudz labāka situācija ir Vācijā, Lielbritānijā, Austrijā, kā arī Skandināvu valstīs un Somijā, kur aminoglikozīdu rezistences procentuāla attiecība ir mazāka par 5%.

Par rezistenci pret vienu antibakteriālu līdzekli tika ziņots retāk, nekā pret diviem vai vairākiem līdzekļiem. Visbiežāk ziņotais fenotips bija rezistents pret trim antibakteriālām grupām - fluorhinoloniem, III paaudzes cefalosporīniem un aminoglikozīdiem. 2018. gadā kombinētas rezistences gadījumu skaits pret pētītu populāciju bija sasniedzis 19.6%, kas nemainījās kopš 2015. gada.

2018. gadā par kombinētu rezistenci vairāk ziņots Dienvidēiropā un Rietumeiropā. Valstīs, kas ziņoja par augstu *K. pneumoniae* karbapenēmu rezistences gadījumu skaitu, reģistrēja arī augstu procentuālu rezistences attiecību pret citiem antibakteriālajiem līdzekļiem.

***K. pneumoniae*. Kopējais testētu izolātu skaits un rezistences attiecība katrām fenotipam, 2018. gads.**

Rezistences veids	Izolātu skaits	Daļa no kopēja (%)
Pilnība jutīgie	22 732	62.8
Rezistentie pret vienu antib. līdz.	2 624	7.2
III paaudzes cefalosporīni	1 354	3.7
Fluorhinoloni	1 064	2.9
Citas grupas	206	0.6
Rezistentie pret divām antib. grupām	2 772	7.7
III p. cefalosporīni+fluorhinoloni	1 750	4.8
III p. cefalosporīni+aminoglikozīdi	525	1.5
Fluorhinoloni+aminoglikozīdi	401	1.1
Citas grupu kombinācijas	96	0.3
Rezistentie pret trijām antib. grupām	6 279	17.3
III p. cef.+fluorhinoloni+aminoglikozīdi	4 978	13.7
III p. cef.+fluorhinoloni+karbapenēmi	1 185	3.3
Citas grupu kombinācijas	116	0.3
Rezistentie pret četrām antib. grupām		
III p. cef., fluorhi., aminogliko., karbape.	1 799	5.0

Materiāli adaptēti no ECDC Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018 ziņojuma. Pieejams:<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> [tiešsaistē: 22.02.2021].

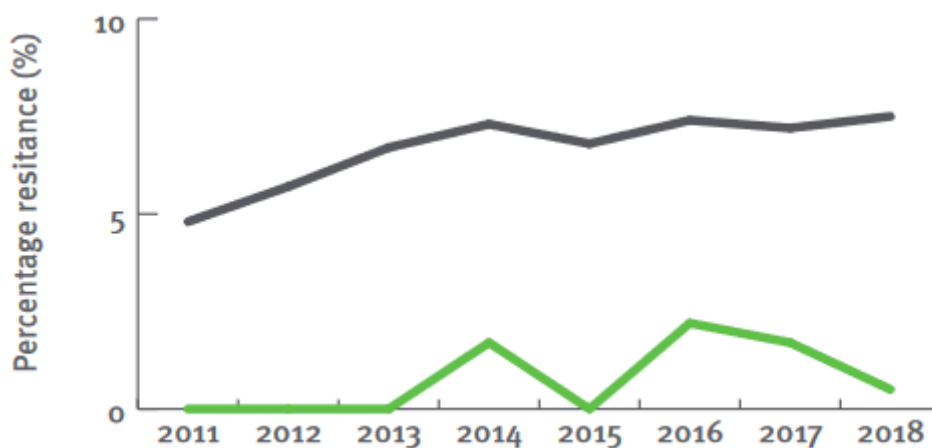
K. pneumoniae rezistence Eiropā paliek problemātiska un ir nepieciešama pastāvīga situācijas novērošana. Kaut arī, salīdzinot ar iepriekšēju periodu, ir konstatēts ka karbapenēmu rezistence paliek nosacīti nemainīga. Statistikas dati liecina, ka karbapenēmu rezistence gandrīz vienmēr ir sastopama kombinācijās ar citu līdzekļu rezistenci.

Monorezistencē (7.2%) pārsvarā novēro III paaudzes cefalosporīnus un fluorhinolonus. Izolāti, kas rezistenti pret diviem līdzekļiem, veido 7.7% no kopēja izolātu skaita, kur lielāku daļu veido kombinētas rezistences (III p. cefalosporīni un fluorhinoloni) izolāti. Tomēr biežāk novērojama ir rezistence pret trijiem antibakteriālajiem līdzekļiem, kas

kopumā ir 17.3% no visiem izolātiem. 13.7% no visu izolātu skaita ir bijuši rezistenti pret III p. cefalosporīniem/fluorhinoloniem/aminoglikozīdiem. Karbapenēmu rezistence sastopama retāk, bet tā parādās kombinācijā ar III p. cefalosporīniem un fluorhinoloniem, ka arī gadījumos ar rezistenci pret četriem antibakteriālajiem līdzekļiem III p. cefalosporīniem/fluorhinoloniem/aminoglikozīdiem/karbapenēmiem, kas sastāda 5.0% no kopēja izolātu skaita. Lielāka karbapenēmu rezistence novērojama Dienvidēiropā un Dienvidrietumeiropā (ECDC 2018).

1.5 Statistikas dati par Latviju

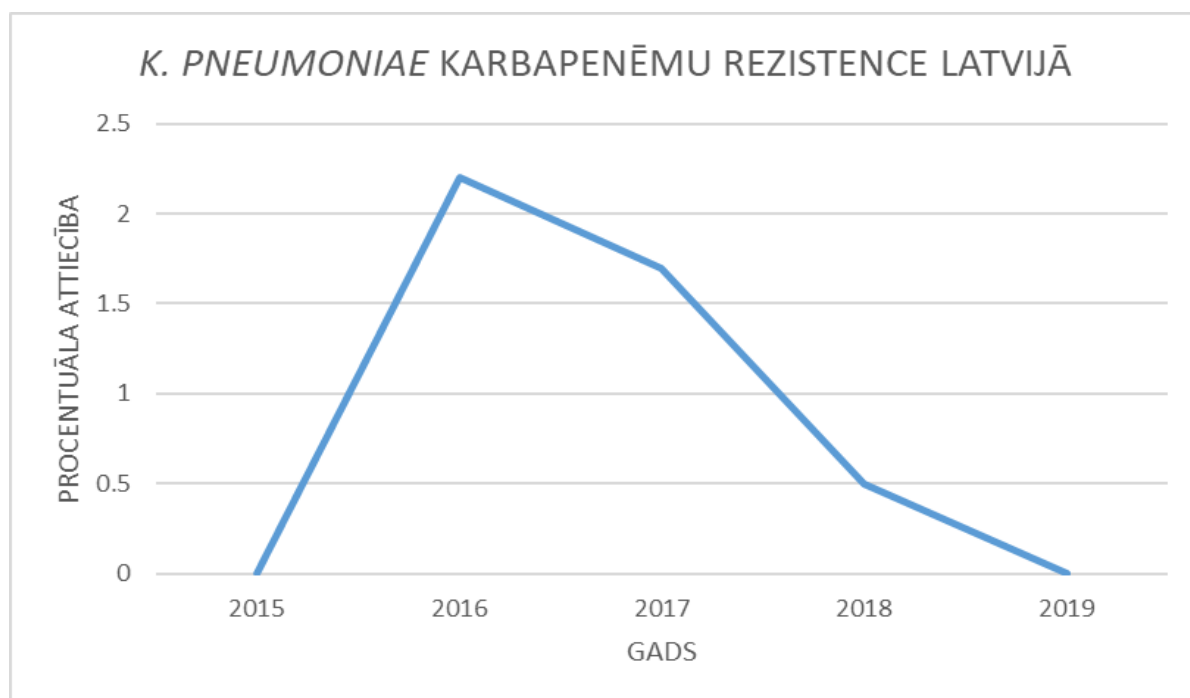
Pēc ECDC datiem, *K. pneumoniae* izolātu skaits palielinās kopš 2015. gadā. 2015. gadā reģistrēti 115 *K. pneumoniae* gadījumi, no kuriem 51% tika iegūti no intensīvas aprūpes nodaļām (IAN). 2016. gadā novērots izolātu skaita samazinājums līdz 95, no kuriem 33% no IAN. 2017. gadā izolātu skaits saka palielināties – 116 (41% IAN), 2018. gadā – 204 izolāti, no kuriem 36% IAN (ECDC 2018).



1.14. att. *Klebsiella pneumoniae*. Procentuāla attiecība karbapenēmu-rezistentu izolātu skaits Latvijā (zaļš) un Eiropā (melns) laikā periodā 2011-2018

Materiāli adaptēti no ECDC Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018 ziņojuma. Pieejams:<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> [tiešsaistē: 22.02.2021].

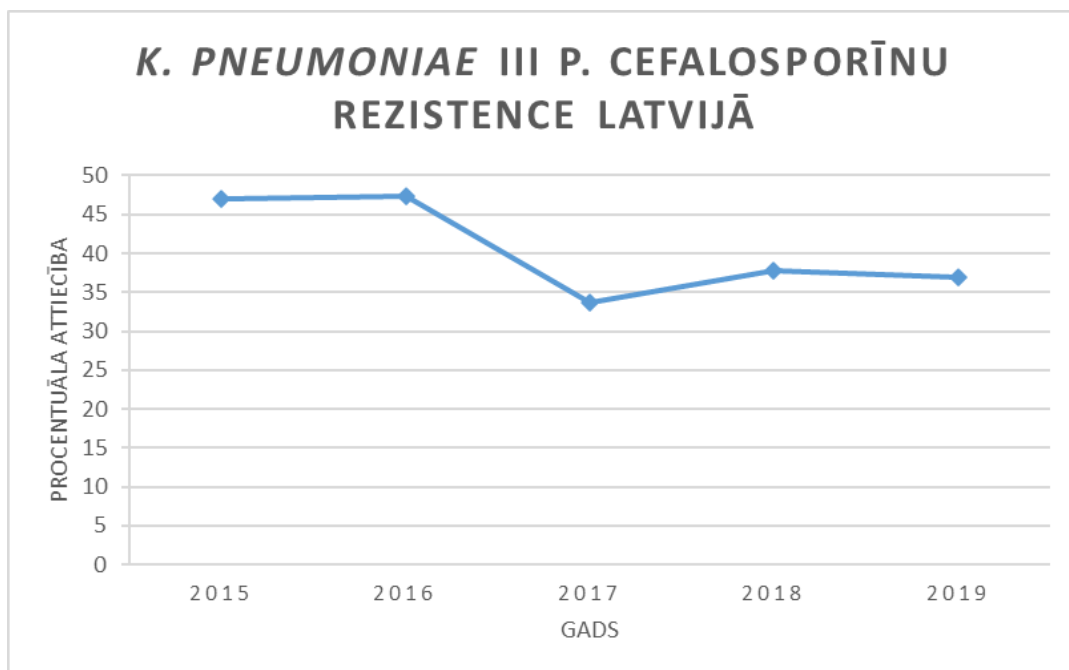
Laikā periodā 2011-2013 gados, Latvijā netika konstatēti karbapenēmu rezistenti *K. pneumoniae* izolāti. Tad 2014. gadā novērojams izolātu skaita pieaugums, kas tika samazināts līdz nullei 2015. gadā. Kopš 2016. gada atkārtoti novērojams karbapenēm-rezistentu (imipenēms, meropenēms) izolātu skaits līdz 2.2%, kas pakāpeniski samazinās ar katru gadu, kas norāda uz pareizo vadlīniju pielietošanu. 2019. gadā netika konstatēts neviens izolāts ar karbapenēmu rezistenci.



1.15. att. *K. pneumoniae* karbapenēmu rezistence Latvijā 2015.-2019. gadā

Dati no SPKC, ANTIBIOTIKU PATĒRIŅŠ UN REZISTENCE CILVĒKIEM UN DZĪVNIEKIEM LATVIJĀ 2015. – 2019. gadā. Pieejams: https://www.spkc.gov.lv/sites/spkc/files/data_content/v10_antibiotiku-paterins-un-rezistence-cilvekiem-un-dzivniekiem_2020.pdf [tiešsaistē: 22.02.2021].

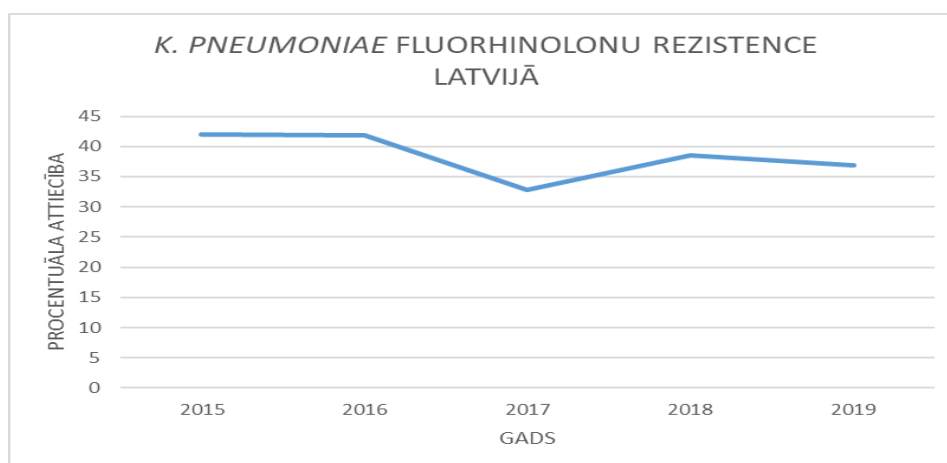
Latvijā, līdzīgi, kā Eiropā novērojama augsta rezistence pret III paaudzes cefalosporīniem un fluorhinoloniem. Savukārt, rezistence pret aminoglikozīdiem – konkrēti, gentamicīnu un tobramicīnu -, salīdzinot ar Eiropas valstīm arī ir nosacīti augsta.



1.16. att. *K. pneumoniae* III paaudzes cefalosporīnu rezistence Latvijā 2015.-2019. gadā

Dati no SPKC, ANTIBIOTIKU PATĒRIŅŠ UN REZISTENCE CILVĒKIEM UN DZĪVNIEKIEM LATVIJĀ 2015. – 2019. gadā. Pieejams: https://www.spkc.gov.lv/sites/spkc/files/data_content/v10_antibiotiku-paterins-un-rezistence-cilvekiem-un-dzivniekiem_2020.pdf [tiešsaistē: 22.02.2021].

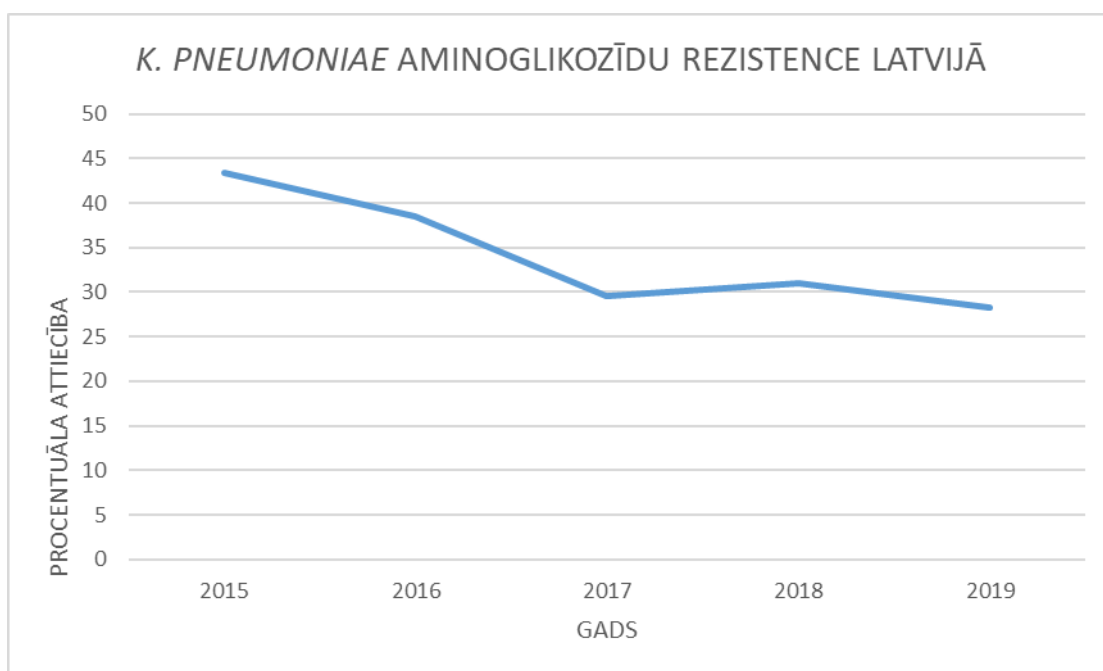
Latvijā *K. pneumoniae* rezistence pret III p. cefalosporīniem – cefotaksīms, ceftriaksons, ceftazidīms - kopš 2015. gada pakāpeniski samazinās. 2015. gadā tā ir sasniesusi 47.0%, savukārt, 2016. – 47.4%. Tad 2017. gadā novērojums rezistentu izolātu skaita samazinājums līdz 33.6% un tam sekoja pieaugums – 2018. gada – 37.7% un 2019. gada – 36.9%. Kopumā III paaudzes cefalosporīnu rezistencei ir tendence nenožīmīgi samazināties (SPKC, 2019).



1.17. att. *K. pneumoniae* fluorhinolonu rezistence Latvijā 2015.-2019. gadā

Dati no SPKC, ANTIBIOTIKU PATĒRIŅŠ UN REZISTENCE CILVĒKIEM UN DZĪVNIEKIEM LATVIJĀ 2015. – 2019. gadā. Pieejams: https://www.spkc.gov.lv/sites/spkc/files/data_content/v10_antibiotiku-paterins-un-rezistence-cilvekiem-un-dzivniekiem_2020.pdf [tiešsaistē: 22.02.2021].

K. pneumoniae fluorhinolonu (ciprofloksacīns, levofloksacīns, ofloksacīns) rezistence Latvijā pakāpeniski samazinās kopš 2015. gada no 42.0% līdz 36.9% 2019. gadā. Pēc 2017. gada novērojams kāpums no 32.8% līdz 38.5% (SPKC).



1.18. att. *K. pneumoniae* aminoglikozīdu rezistence Latvijā 2015.-2019. gadā

Dati no SPKC, ANTIBIOTIKU PATĒRIŅŠ UN REZISTENCE CILVĒKIEM UN DZĪVNIEKIEM LATVIJĀ 2015. – 2019. gadā. Pieejams: https://www.spkc.gov.lv/sites/spkc/files/data_content/v10_antibiotiku-paterins-un-rezistence-cilvekiem-un-dzivniekiem_2020.pdf [tiešsaistē: 22.02.2021].

Kopš 2015. gada *K. pneumoniae* aminoglikozīdu rezistence Latvijā ir samazinājusies gandrīz divreiz. Četru gadu laikā novērojama stabila tendence uz rezistentu izolātu samazināšanos. Šajā gadījumā, statistikā ņemti vērā gentamicīns un tobramicīns.

Latvijā *K. pneumoniae* tiek novērota, kā sekundārais antibakteriālas rezistences indikators – primārie paliek MRSA un III p. cefalosporīn-rezistenta *E. coli*. Kopumā 2019. gadā nekonstatēja nevienas grupas antibakteriālu līdzekļu *K. pneumoniae* rezistences pieaugumu, kas ir labs rādītājs. Savukārt, izteikts rezistentu izolātu skaita samazinājums novērots 2017. gadā gan III p. cefalosporīniem, gan fluorhinoloniem, gan aminoglikozīdiem,

iespējams tas ir saistīts ar mazāku iegūtu izolātu skaitu. Kopumā rezistentu izolātu skaits samazinās – vislielākā starpība četru gadu laikā konstatēta aminoglikozīdiem – 15.1%, tam seko III paaudzes cefalosporīni – 10.1%, savukārt vismazākā – fluorhinoloniem – 5.1%. Karbapenēmu gadījumā, neskatoties uz rezistences pieaugumu 2016. gadā, starpība paliek uz nulles, kas ir nozīmīgs radītājs, jo Latvijā *K. pneumoniae* rezistence pret karbapenēmiem tiek uzraudzīta, kā atsevišķs antibakteriālas rezistences indikators (SPKC, 2019).

Latvijā tiek novērota arī *K. pneumoniae* kombinēta rezistence pret fluorhinoloniem, III paaudzes cefalosporīniem un aminoglikozīdiem. 2015.-2016. gados tika konstatēts kombinētas rezistences samazinājums, savukārt, kopš 2017. gada multirezistentu izolātu skaits svārstās; 24.3% - 2017. gadā, 27.6 – 2018. gadā un 25.3% - 2019. gadā.

2 MATERIĀLI UN METODEDES

Praktiskā daļa tika veikta Rīgas Traumatoloģijas un Ortopēdijas Slimnīcā Mikrobioloģijas un patohistoloģijas apvienotajā laboratorijā. Tika saņemta laboratorijas vadītājas Dr. med. I. Līdumas atļauja.

Pētījuma laikā apgūts, ka sagatavot *Klebsiella* barotnes, baktēriju identifikācija inokulēšanas veikšana, E-testa pamatprincipi, disku difūzijas tests un molekulārbioloģiskās *DNA STRIP*® tehnoloģijas metodes.

2.1 Barotnes

Klebsiella pneumoniae un *K. oxytoca* noteikšanai laboratorijas apstākļos izmanto specifiskas barotnes, ka *MacConkey*, kas paredzētās tieši Gram-negatīvu gastro-instestinālu baktēriju noteikšanai un Endo agars, ko izmantots koloformu baktēriju noteikšanai – Gram-pozitīvu baktēriju augšana tiek inhibēta; kā arī nespecifiskas barotnes, kā asins agars.

MacConkey barotnes sastāvā uz 1L ir: 17,0 g peptons, 3,0 g proteozes peptons, 10,0 g laktozes, 1,5 g žultskābju, 5,0 g nātrija hlorīds, 0,03 g neitrālais sarkanais, 0,001 g kristālvioletais, 13,5 g agars un ūdens līdz 1 L. Barotnes pH ir jābūt 7,1 +/- 0,2.

Endo agara 1L sastāvā: 10,0 g peptons, 2,5 g kālija hidroortofosfāts, 10,0 g laktozes, 3,3 g bezūdens nātrija sulfīts, 0,3 g fuksīns un 12,5 g agars.

Rezistences testos izmantoja *Mueller – Hinton* agaru. Uz vienu litru, barotnes sastāvs: 17,5 g peptons, 17,0 g agars, 2,0 g liellopu gaļas ekstrakts, 1,5 g cietes. 38,0 g sausās barotnes šķīdina 1L destilētā ūdenī un sterilizē autoklavā pie 121°C temp. 15 min. Barotnes pH 7,1 līdz 7,3.

2.2 Inokulāti

Inokulāts ir baktēriju suspensija, kas tiek pagatavota no *K. pneumoniae* kolonijām, no neselektīvām barotnēm. Izvēlētu koloniju pārnes mēģenē ar fizioloģisku šķīdumu un veic inokulāta turbiditātes standartizēšanu, izmantojot automātisku ierīci. Turbiditāti izsaka ar McFarland vienībām. Rezultātus salīdzina ar standartvērtību, kas ir 0,5 *McF* – ekvivalents $1,5 \cdot 10^6$ koloniju veidojošu vienību uz mililitru.

Mueller – Hinton barotnes inokulē ar vates tamponu, kas iepriekš piesātināts ar *K. pneumoniae* inokulātiem. Tamponu uzmanīgi piespiež pie plates virsmas un atkārtu procesu trīs reizes, ar katru reizi pagriežot plati par 60° .

2.3 Fenotipiska izmeklēšana

2.3.1 Disku difūzijas tests (DDT)

Disku difūzijas jeb *Kirby-Bauer* tests tiek izmantots lai noteiktu mikroorganismu antibakteriālu jutību – papīra disks 6 mm diametrā tiek piesātināts ar konkrētu antibakteriālu vielu un ievietots agara gēlā, ka rezultāta notiek difūzija.

Testā izmanto jau sagatavotu 0,5 *McF* inokulātu. Nākamajā solī notiek *Mueller-Hinton* agara plašu inokulēšana. Ar disku dispensera palīdzību, ar antibiotikām piesātināti diski tiek izvietoti savā starpā vienāda attālumā – vismaz 24 mm. Plašu inkubēšana notiek 24 stundas pie 36°C , pēc inkubācijas, seko zonu mērīšana. Atbilstoši M100-S26 kritērijiem novērtē iegūtus rezultātus – S – jutīgs, I – vidēji jutīgs un R – rezistents.

DDT izmantojamie antibakteriālie līdzekļi un to koncentrācijas

Nr.	Antibakteriālais līdzeklis	Koncentrācija, mcg
1.	Amoksisilīns/klavulanāts	20/10
2.	Ceftazidīms	30
3.	Ceftriaksons	30
4.	Imipenēms	10
5.	Meropenēms	10
6.	Amikacīns	30
7.	Ciprofloksacīns	5
8.	Sulfametaksazols/Trimetoprīms	23.75/1.25

DDT zonu izmēri un interpretācija

Nr.	Antibakteriālais līdzeklis	Jūtīgs, mm	Vidēji jutīgs, mm	Rezistents, mm
1.	Amoksisilīns/klavulanāts	≥ 18	14-17	≤ 13
2.	Ceftazidīms	≥ 21	18-20	≤ 17
3.	Ceftriaksons	≥ 23	20-22	≤ 19
4.	Imipenēms	≥ 23	20-22	≤ 19
5.	Meropenēms	≥ 23	20-22	≤ 19
6.	Amikacīns	≥ 17	15-16	≤ 14
7.	Ciprofloksacīns	≥ 31	21-30	≤ 20
8.	Sulfametaksazols/Trimetoprīms	≥ 16	11-15	≤ 10

2.3.2 Dubultdisku tests

Dubultdisku difūzijas metode tika izmantota, lai noteiktu baktēriju rezistenci pret paplašināta spektra β -laktāmu antibakteriālajiem preparātiem.

Paplašināta spektra β -laktamāzes (ESBL) ir enzīmu grupa, kas hidrolīze penicilīnus un cefalosporīnus. *In vitro* tās darbība tiek inhibēta ar β -laktamāzes inhibitoru – klavulānskābi. Iespējamās ESBL var apstiprināt, nosakot klavulānskābes inhibīciju. Ja tā ir ESBL, inhibīcijas zonām būtu jāpaplašinās klavulānskābes ietekmē. Testa gaita ir sekojoša:

- Uz agara plates ar jau uzsētu kultūru tiek novietots disks ar amoksicilīnu, ko novieto 20-30 mm attālumā no tā diska, kas satur klavulānskābi.
- ESBL nosaka arī ar ceftazidīmu un ceftazidīmu/klavulānskābi.
- Tiek novērtētas inhibīcijas zonas. Ja klavulānskābes ietekmē tās palielinās vairāk kā 5 mm, kultūra tiek uzskatīta par ESBL.



2.1 att. Dubultdisku tests ar ceftazidīmu un ceftazidīmu/klavulānskābi

Pieejams:

JCDR

[tiešsaistē

05.05.2021

<https://www.jcdr.net/ReadXMLFile.aspx?id=12644>]

2.3.3 E- tests

Minimālu inhibējošu koncentrāciju (MIC) jeb E-tests, veikts izmantojot *K. pneumoniae/oxytoca* tūrkultūru. Testa veikšanai izmantota ar cefoksitīnu piesātināta teststrēmele ar koncentrācijas skalu. Izmantots arī *Mueller – Hilton* agars un *K. pneumoniae/oxytoca* inokulāti 0,5McF. Inokulē *Mueller-Hinton* agaru, kur ievietota teststrēmele. Inkubē 24 stundas pie temperatūras 36^oC. Rezultātā novēro inhibīcijas zonu, kas palielinās vai samazinās attiecīgi koncentrācijai. Rezultātus noteica pēc CLSI M100 ED30 2020 vadlīnijām.

E-testa minimālas inhibējošas koncentrācijas (MIC) un to interpretācija

Nr.	Antibakteriālais līdzeklis	Jūtīgs, mcg/mL	Vidēji jutīgs, mcg/mL	Rezistents, mcg/mL
1.	Amoksicilīns/klavulanāts	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16
2.	Ceftazidīms	≤ 4	8	≥ 16
3.	Ceftriaksons	≤ 1	2	≥ 4
4.	Imipenēms	≤ 1	2	≥ 4
5.	Meropenēms	≤ 1	2	≥ 4
6.	Amikacīns	≤ 16	32	≥ 64
7.	Ciprofloksacīns	≤ 0.25	0.5	≥ 1
8.	Sulfametaksazols/Trimetoprīms	≤ 2/38	-	≥ 4/76

2.4 Molekulāri bioloģiskā izmeklēšana

Testa pamatā ir *DNA STRIP*® tehnoloģijas. Procedūra sastāv no trīs etapiem: DNS izdalīšana no ķirurģiskā materiāla, amplifikācija un hibridizācija. Darbs notika laboratorijas speciālistu uzraudzībā.

2.4.1 DNS izdalīšana

DNS tika iegūta no *K. pneumoniae* tīrkultūras.

1. No barotnes ar plastmasas cilpu tiek paņemtas *K. pneumoniae* kolonijas un pārnestas uz stobriņiem, kur tas tiek suspendētas 0,2mL TE buferī.
2. Tālāk stobriņi 20 minūtes tiek karsēti termoblokā pie temperatūras 80°C. Pēc karsēšanas tos atdzesē un pievieno 0,05mL lizocīma ūdens šķīdumu – suspensiju samaisa ar vortekseri.
3. Stobriņus ievieto termostātā un inkubē 1-2 stundas 37°C temperatūrā.

4. Tālāk tiek pievienots 20 mg/mL proteīnkināzes un 10% SDS maisījums. Tad notiek atkārtota karsēšanā 65°C 10 minūtes.
5. Nākamajā solī, pievieno 0,1mL 5M nātrija hlorīdu un 0,075 mL CTAB; lēni samaisa ar vorteskeri, atkārtoti karsē 65°C 10 minūtes. Pievieno 0,750 mL hloroforma-izoamilspirta maisījumu. Rūpīgi samaisa un centrifugē pie 14 000 apgr./min. 30 minūtes.
6. Stobriņa alikvotu fāzi – augšēju daļu pārnes jaunā stobriņā un tur pat pievieno trīs piektdaļas, no esoša apjoma, izopropanola. Pēc samaisīšanas, stobriņus centrifugē 30 minūtes pie 14 000 apgr./min.
7. Iegūtu augšēju daļu neizmanto tālāk, bet izmanto nogulsnes, kuras skalo ar 0,5mL etanola.
8. Stobriņu maisījumu atkārtoti centrifugē 30 minūtes pie 14 000 apgr./min un izmanto nogulsnes, kuras žāvē istabas temperatūra. Beigās katrām paraugam tiek pievienots 0,05 mL TE buferis.

2.4.2 Amplifikācija

Amplifikācijas maisījumu gatavo atsevišķa sterila telpā. Viens paraugs – 45 μ - sastāv no 35 μL PNM, 5 μL 10 x polimerāzes inkubācijas bufera, 1 μL magnija hlorīda, vienu vienību termostabilas DNS polimerāzes un dejonizētu ūdeni, ko pievieno, lai kopējais tilpums veidotu 45 μL.

Aplifikācijas maisījumā pievieno DNS šķīdumu (5 μL), lai kopējais tilpums veidotu 50 μL. Amplifikāciju veic programmējamā amplifikatorā (termociklerī), pēc sekojošas shēmas: 15 minūtes 95°C, tālāk 10 cikli: 30 sekundes pie 95 °C un 2 minūtes pie 65°C, pēc tam seko 20 cikli: 25 sekundes 95°C, 40 sekundes 50°C un 40 sekundes 70°C. Amplifikācijas pabeigšana – 8 minūtes 70°C.

Amplifikācijas ciklu ilgums, temperatūra un daudzums

Ilgums	Temperatūra	Ciklu daudzums
15 min	95°C	1
30 sek	95°C	10
2 min	65°C	
25 sek	95°C	20
40 sek	50°C	
40 sek	70°C	
8 min	70°C	1

2.4.3 Hibridizācija

Pēdējā etapā, tiek veikta polimerāzes ķēdes reakcijas (PCR) produktu hibridizācija ar zondiem, kuri ir immobilizēti uz membrānām ar termošeikera (*TwinCubator*) palīdzību pēc sekojošas shēmās:

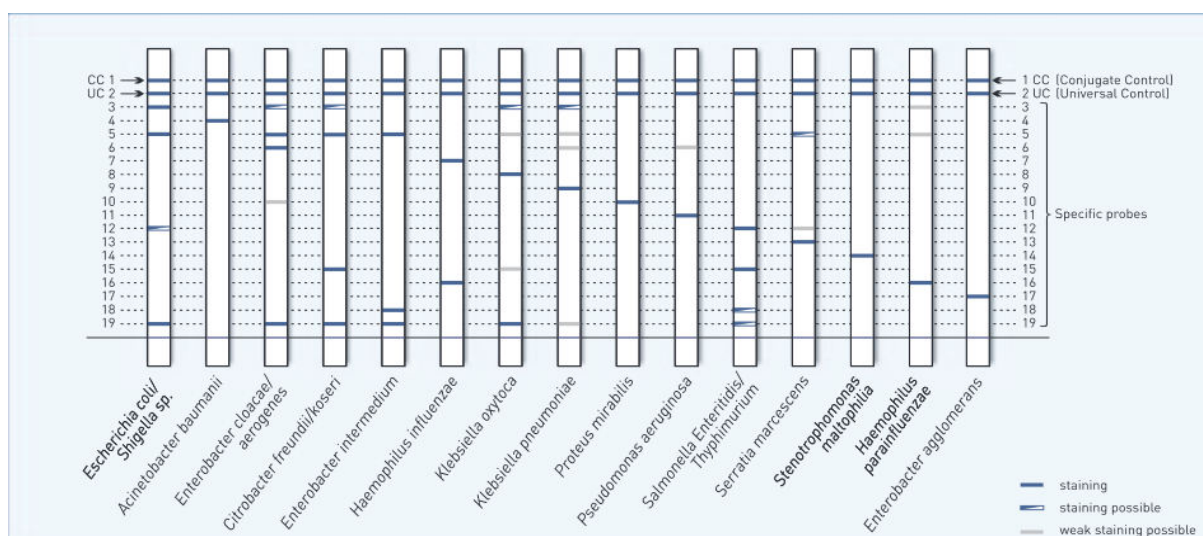
1. Ūdens vanna sasilda HYB un STR šķīdumus līdz temperatūrai 37-45°C. Pārējos reaģentus sasilda līdz istabas temperatūrai;
2. Ar automātiskas pipetes palīdzību viena pudelītē ielej koncentrētu konjugāta šķīdumu (CON-C) un pievieno konjugāta buferi (CON-D). Otrā pudelītē ielej substrāta koncentrātu (SUB-C) un pievieno substrāta buferi (SUB-D), attiecībā 1:100;
3. Testā ailītes ielej 20 µL DEN šķīduma, tad pievieno 20 µL amplificēta parauga un inkubē istabas temperatūrā 5 minūtes;
4. Ar pincetes palīdzību izņem strīpus no iepakojuma un piefiksē paraugu numurus;
5. Testa ailītēs uzmanīgi pievieno HYB šķīdumu, viegli samaisa līdz homogēnai krāsai, tad ar pinceti ievieto strīpus;
6. Ailītes ar strīpiem ievieto termošeikerī un inkubē 30 minūtes pie 45°C;
7. Ar automātiskas pipetes palīdzību, atsūc HYB no ailītēm;
8. Pie katra strīpa pievieno 1 mL STR šķīduma, tad inkubē 15 minūtes 45°C, tad atsūc ar automātisku pipeti visu STR šķīdumu;
9. Katra ailītē pievieno 1 mL RIN šķīduma un krāta istabas temperatūra 1 minūti uz termošeikera. Tālāk konjugātu nolej un izkrata;

10. Katra ailītē pievieno 1 mL sagatavota konjugāta un krāta istabas temperatūra 30 minūtes uz termošeikera;
11. Ailītēs pievieno 1 mL RIN šķīduma un krāta 1 minūti. Nolej šķīdumu un atkārti procedūru;
12. Ailītes skalo ar destilētu ūdeni un nolej to;
13. Katrā ailītē pievieno 1 mL sagatavota substrāta un inkubē istabas temperatūrā, tumšā vietā. 20 minūšu laikā, uz strīpiem jāveidojas kontroles līnijām. Kad tās var skaidri saskatīt, reakciju pārtrauc un divas reizes noskalo strīpus ar destilēto ūdeni.
14. Strīpus izņem ar pinceti, žāvē. Interpretē rezultātus.

2.4.4 *GenoType BC Gramnegative* tests

Ar *GenoType BC Gramnegative* testa palīdzību nosaka klīniski nozīmīgus Gram-negatīvus patogēnus. Analīze balstās uz *DNA STRIP®* tehnoloģijas, kas izmanto DNS daudzkārtēju amplifikāciju un hibridizāciju uz membrānu paraugiem. Tests tiek veikts manuāli un ir salīdzinoši ātrs ~2-3 h.

Testā ir paredzēta iespēja diferencēt *Klebsiella pneumoniae* un *Klebsiella oxytoca*. Iegūtus rezultātus salīdzina ar standartizētu etalonu (attēls 2.2.), kur attiecīgie marķējumi reakciju zonās norāda uz konkrētu Gram-negatīvu baktēriju un saglabā speciāli tam paredzētajā reģistrācijas žurnālā.



2.2. att. Reakciju zonas *GenoType BC Gramnegative* testam

Pieejams: Hain Lifescience GmbH. [tiešsaistē 05.05.2021 <https://www.hain-lifescience.de/en/downloads/microbiology.html>]

Klebsiella pneumoniae reakcijas zonas var novērot 3., 5., 6., 9. un 19. pozīcijās, savukārt *Klebsiella oxytoca* – 3., 5., 15. un 19. Strīpu ar iekrāsotām reakciju zonām saglabā reģistrācijas žurnālā (attēls 2.3.).

2.5 Ķirurģiskā materiāla iegūšana

1. Princips: mikrobioloģiska izmeklēšana.
2. Mērķis: noteikt brūču un audu izraisīto infekciju ierosinātājus.
3. Parauga veidi:
 - Uztriepe no brūces
 - Abscesa saturs
 - Drenas saturs
 - Audi un biopsijas paraugi
4. Izmeklēšanas aparatūra un iekārtas:
 - Termostats ar temperatūras režīmu 37°C
 - CO₂ termostats MIDI 40
 - Gaismas mikroskops ar imersijas objektīvu
 - *BD BBL Crystal ID* sistēmas
5. Nepieciešamie piederumi un reaģenti:
 - 5% aitas asins agars (BAP)
 - *MacConkey* agars (MAC)
 - Šokolādes agars (CHOC)
 - Mannitola sāls agars
 - Triptikāzes sojas buljons
 - Grama krāsas komplekts
 - Sterilas *Amies* šķidrās transporta barotnes ar tamponu
 - Sterilas mēģenes ar tamponu

6. Pieprasītie vides apstākļi: temperatūra no 16° līdz 30°C.

7. Izmeklēšanas procedūras soļi

Izmeklējamā materiāla savākšana:

1. Uztriepes no brūces

- Materiāls jāņem no virspusējām vai dziļām brūcēm, ieskaitot kodumus, kuras pēc klīniskām pazīmēm ir inficētas vai arī tās ir hroniskas un nedzīstošas.
- Maigi pārvietot tamponu pār brūces virsmu apmēram piecas reizes, fokusējoties uz apgabalu, kur ir strutas vai redzamas iekaisuma pazīmes.
- Ievietot tamponu atpakaļ sterilā mēģenē vai sterilā *Amies* šķidrā transporta barotnē, un nekavējoties nogādāt laboratorijā.

2. Audi un biopsijas paraugi

- Audu paraugu gabali jāvēc no vietām, kurām ir infekcijas pazīmes.
- Izmeklējami ir arī kaulaudi bez iekaisuma pazīmēm.
- Jāpaņem pietiekami lieli paraugi, piemēram, 3-4 mm.
- Audu un biopsijas paraugus jāievieto sterilā konteinerā un nekavējoties jānogādā laboratorijā.

8. Inokulācija

a) Audi

- Jāizvēlas audu gabaliņš, kas robežojas ar inficēto apgabalu un kurā ir infekcijas pazīmes.
- Inokulēt audu gabaliņu pa vienam uz plates nospiedumu veidā.
- Audus ievieto triptikāzes sojas buljonā.

b) Asinis un strutas

- Rūpīgi sajaukt izmeklējamo materiālu. Inokulēt pa pilei izmeklējamā materiāla uz plati.

- Ja ir pietiekami daudz izmeklējamā materiāla, inokulēt invazīvi savākto aspirātu buljonā atšķaidījumā 1:10.

9. Aeroba inkubācija

- BAP, CHOC, MAC inkubē 37°C vismaz 48 stundas kultūrām no atvērtām brūcēm un 3 līdz 4 diennaktis invazīvi savāktiem izmeklējamiem materiāliem, no kuriem netika novērota sākuma augšana. Inkubāciju var pagarināt līdz 7 diennaktīm invazīviem izmeklējamiem materiāliem, ja kultūra ir negatīva pēc 3-4 diennakšu aerobas inkubācijas.
- Inkubēt buljonu 37°C temperatūrā 3-4 diennaktis. Ja ir vērojama duļķošanās un uz BAP, CHOC, MAC platēm nav vērojama augšana, veic inokulāciju no buljona uz BAP. Ja buljons ir dzidrs pēc 3-4 diennaktīm, tad to patur līdz 1 nedēļai.
- Veikt krāsojumu pēc Grama visiem izmeklējamiem materiāliem un izmantot šo metodi kultūru vērtējumam.

10. Kultūru analīze

- Plates un buljonus apskata katru dienu.
- Izvēlas raksturīgas kolonijas tīrkuļūras iegūšanai.
- Identificē līdz trīs mikroorganismiem, ja paraugs ņemts no normāli sterilas organisma vietas un parauga kvalitāte ir laba.

11. Mikroorganismu identifikācija un references intervāli

- Gatavo iztriepes un krāso tās pēc Grama.
- Gram-negatīvam enterobaktērijām dominējošas vai mērenā daudzumā; ja ir viena vai divas sugas dominējošā skaitā, mikroorganismus identificē un nosaka jutību pret antibakteriālām vielām.
- Gram-negatīvas nūjiņas, kuras nepieder *Enterobacteriaceae* dzimtai: identificē *P. aeruginosa* un *Stenotrophomonas maltophilia* un nosaka jutību pret antibakteriālajām vielām; nosaka jutību citām Gram-negatīvām nūjiņām: *Pseudomonas*, *Acinetobacter* un radniecīgām, glikozi nefermentējošām nūjiņām.

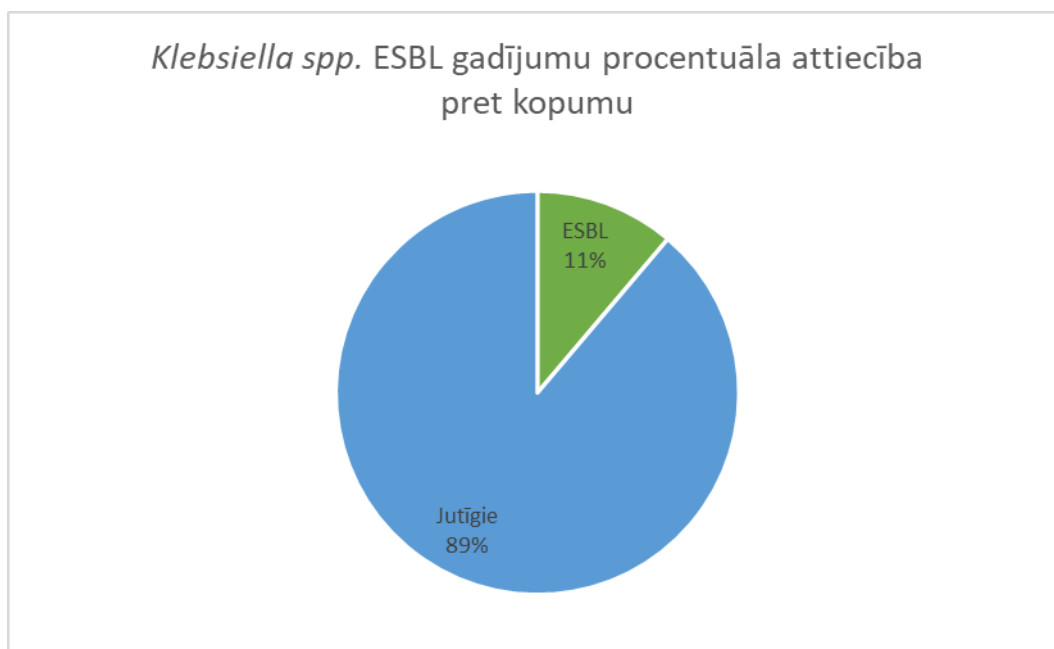
12. Izmeklējuma rezultātu aprēķināšanas princips

- Individuāli ziņo par tiem mikroorganismiem, kurus uzskata par patogēniem (daudzums, ģints, suga).
- Ziņo par šādiem mikroorganismiem – β hemolītiskie streptokoki, *S. aureus*, *P. aeruginosa*.
- Par citiem patogēniem ziņo minimāli vai pilnīgi identificējot atkarībā no mikroorganismu skaita, krāsojuma pēc Grama rezultātiem.
- Ziņo par Gram-negatīvu nūjiņu, enterokoku, *S. aureus* jutību pret antibakteriālajiem līdzekļiem rezultātiem. Mikroorganismiem, kuri nedominē, jauktām kultūrām, ādas normālam mikrobiomām, jutību parasti nenosaka – izņemot pēc ārsta pieprasījuma.
- Ja kultūra ir jaukta un neviena suga nedominē, ziņo ka gastrointestinālā trakta, mutes-deguna, ādas vai ģenitāliju mikrobioms.
- Ja kultūrā ir vairākas mikroorganismu sugas, par tām ziņo minimālas identifikācijas.

3 REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Kopumā Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcas Mikrobioloģijas un patohistoloģijas apvienotajā laboratorijā Rīgā 2020. gadā tika veikts 214 *Klebsiella spp.* zāļu jutības analīzes, kurām *Klebsiella pneumoniae* - 204 un *Klebsiella oxytoca* – 10. Zāļu jutības testi veikti, lietojot sekojošus β -laktāmu antibakteriālos preparātus – amoksicilīns ar klavulanātu, cefalosporīni (ceftazidīms un ceftriaksons), karbapenēmi (imipenēms un meropenēms), kā arī jutības salīdzināšanai – aminoglikozīdi (amikacīns), fluorhinoloni (ciprofloksacīns) un sulfometaksozols/trimetoprīms.

Paplašināta spektra β -laktamāžu producēšana (ESBL) konstatēta 24 gadījumos, kas ir 11.21% no visiem testētiem paraugiem.



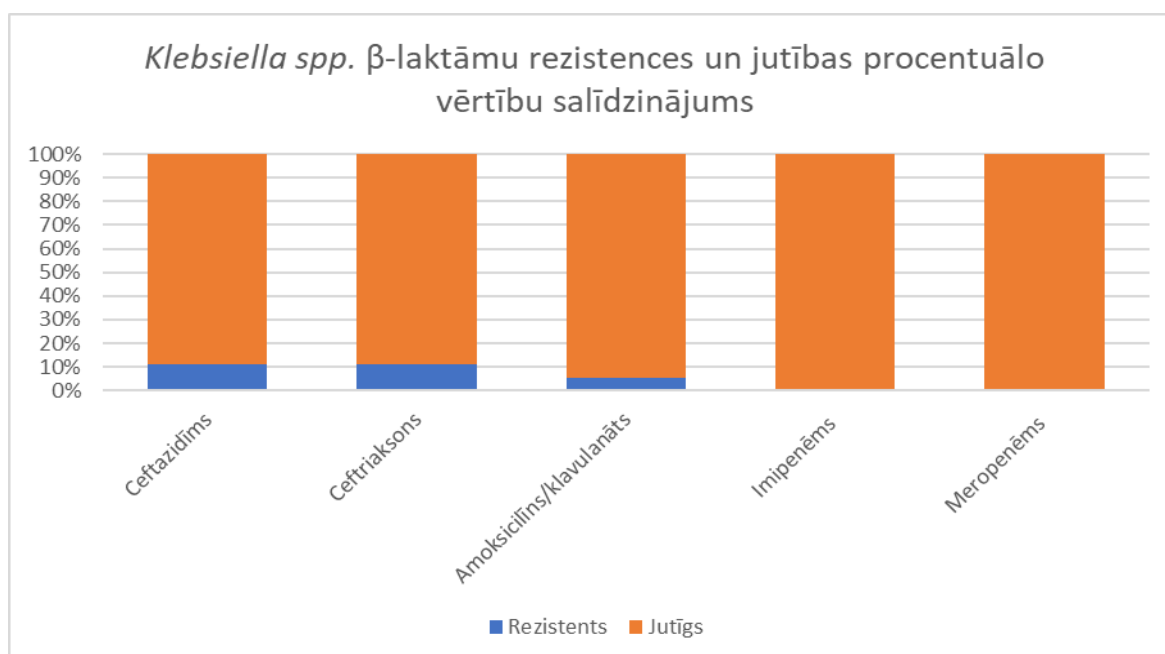
3.1 att. *Klebsiella spp.* ESBL gadījumu procentuāla attiecība pret kopumu

Tabulā 3.1 apkopoti iegūtie dati par β -laktāmu jutības testiem. Kopumā veikti 214 analīzes bakteriālai jutībai pret amoksicilīnu/klavulanātu, ceftazidīmu, ceftriaksonu, imipenēmu un meropenēmu.

***Klebsiella spp.* jutība pret β-laktāmu līdzekļiem**

B-laktāms (n-214)	Jutīgs, n	Vidēji jutīgs, n	Rezistents, n	Rezistents, %
Amoksicilīns/ klavulanāts	203	0	11	5.14
Ceftazidīms	190	0	24	11.21
Ceftriaksons	190	0	24	11.21
Imipenēms	213	1	0	0
Meropenēms	213	1	0	0

No visiem 214 paraugiem, visvairāk rezistences gadījumu konstatēja pret cefalosporīniem – ceftazidīmu un ceftriaksonu (11.21% n-214), savukārt, efektivitāti saglabā karbapenēmi – imipenēms un meropenēms – tikai ar vienu vidējās rezistences gadījumu – kas nozīmē, kā baktērijas ir jutīgas pret doto antibakteriālo līdzekli, bet to apkaršanai ir nepieciešamas paaugstinātas medikamenta devas. Viens vidējās rezistences gadījums un laba jutība pret karbapenēmiem norāda uz salīdzinoši labi kontrolējamu situāciju. Pret praksē bieži lietoto preparātu – amoksicilīns ar klavulānskābi, konstatēta rezistence 5.14% no visiem izolātiem. Rezistences procentuālās vērtības un to salīdzinājums attēlots 3.2 attēlā.



3.2 att. *Klebsiella spp.* β-laktāmu rezistences un jutības procentuālo vērtību salīdzinājums

Tika noteikts arī paplašinātas darbības β -laktamāzes (ESBL) producējošu *Klebsiella spp.* īpatsvars. ESBL nosaka pēc rezistences pret cefalosporīniem – dotajā situācijā, ESBL gadījumu skaits ir ekvivalents ceftazidīma un ceftriaksona rezistencei – tas ir – 11.21%.

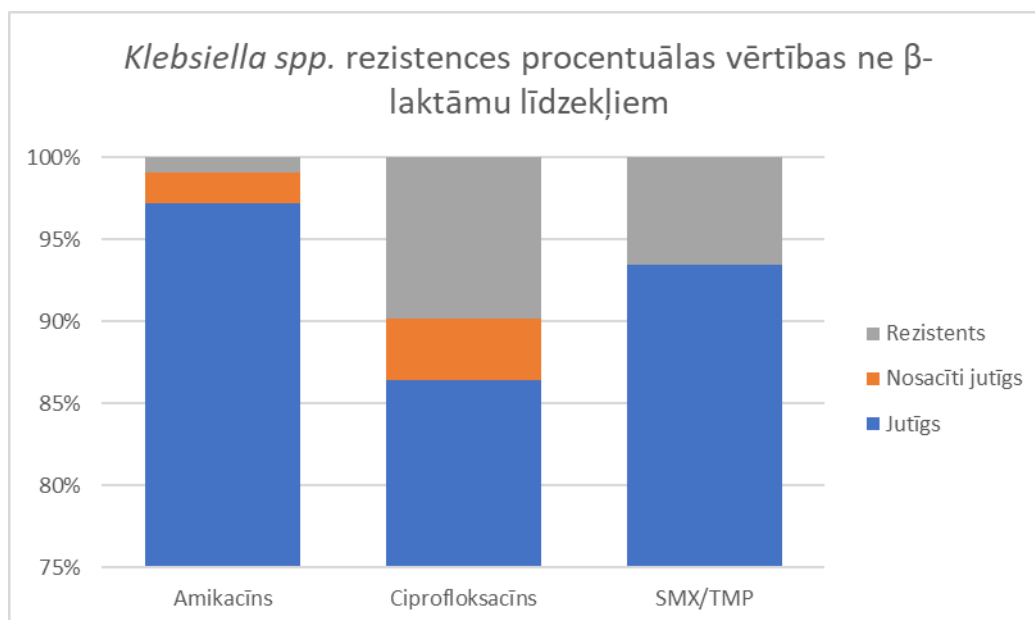
Papildus antibakteriālās rezistences salīdzināšanai tika veikti jutības izmeklējumi pret amikacīnu, ciprofloksacīnu un sulfametaksazolu/trimetoprīmu. Rezultāti apkopoti tabulā 3.2.

3.2 tabula

***Klebsiella spp.* antibakteriāla jutība pret ne- β -laktāmu līdzekļiem**

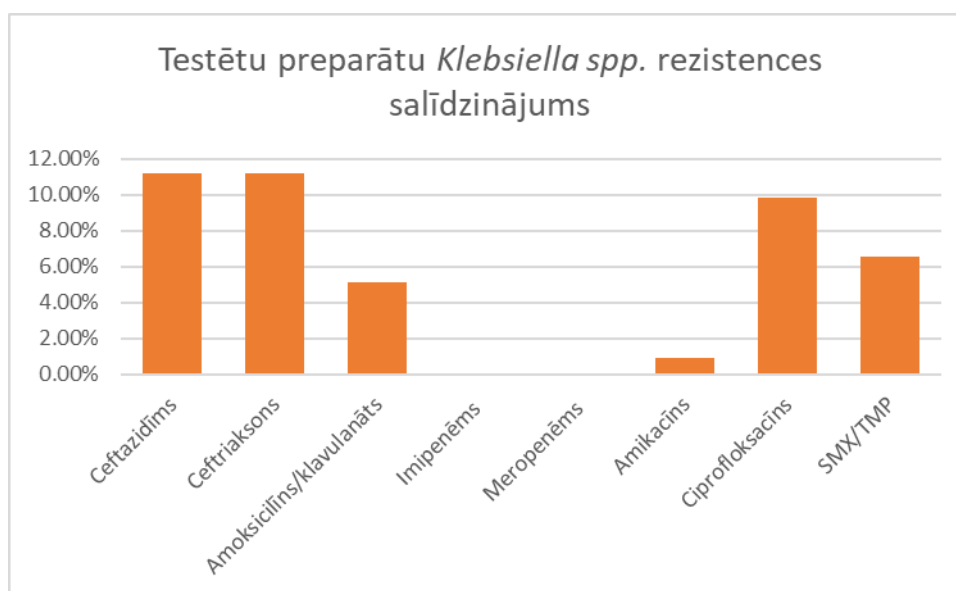
Ne- β -laktāms (n-214)	Jutīgs, n	Vidēji jutīgs, n	Rezistents, n	Rezistents, %
Amikacīns	208	4	2	0.93
Ciprofloksacīns	185	8	21	9.81
Sulfametaksazols/Trimetoprīms	200	-	14	6.54

Rezistence novērota visiem testētiem ne- β -laktāmu līdzekļiem. Mazāks rezistentu gadījumu skaits novērots pret aminoglikozīdiem – amikacīnām <1%, savukārt, lielākais – pret fluorhinoloniem – ciprofloksacīnām 9.81%. Biežāk konstatēti vidējās jutības izolāti nekā β -laktāmu līdzekļiem. Amikacīnam vidēju jutību konstatē 1.87%, savukārt ciprofloksacīnām – 3.74%. Sulfametaksazolām/trimetoprīmām vidēju jutību nenosaka. Rezistences procentuālas vērtības un to salīdzinājums ne- β - laktāmiem apkopots attēlā 3.3.



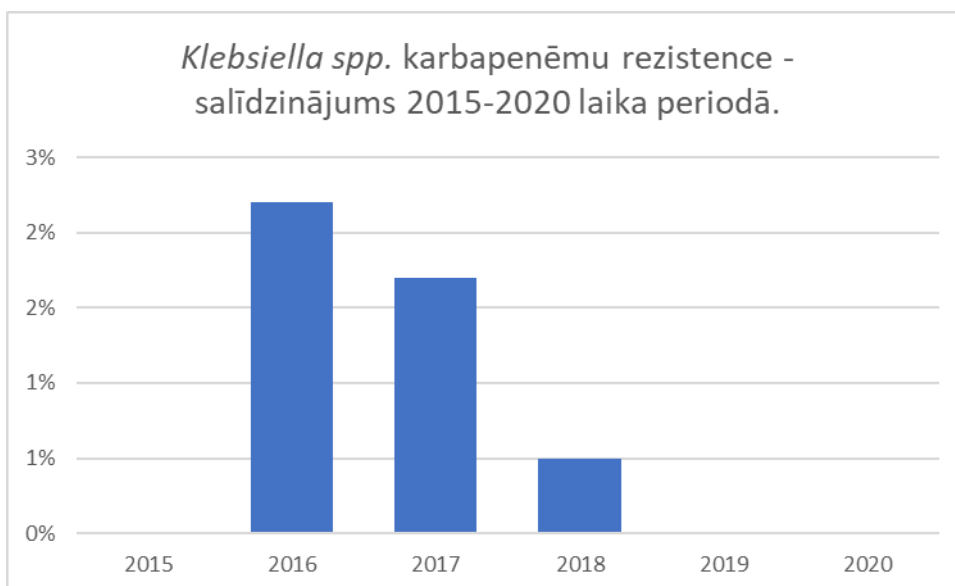
3.3 att. *Klebsiella spp.* ne- β -laktāmu rezistences un jutības procentuālo vērtību salīdzinājums

Kopumā no visiem testētiem preparātiem vislielāko rezistenci novēro pret cefalosporīniem – 11.21%, savukārt, rezistenci nekonstatē pret karbapenēmiem. Visu testētu līdzekļu rezistences salīdzinājums apkopots attēlā 3.4. Salīdzinoši liels rezistences radītājs ir pret ciprofloksacīnu, iespējams tas ir saistīts ar tā plašu izmantošanu gan stacionārā, gan ambulatorā aprūpē. Pret amikacīnu novēro nelielu rezistences procentu, tā pielietošana ir ierobežota un nav tik plaši izmantots, kā citi līdzekļi.



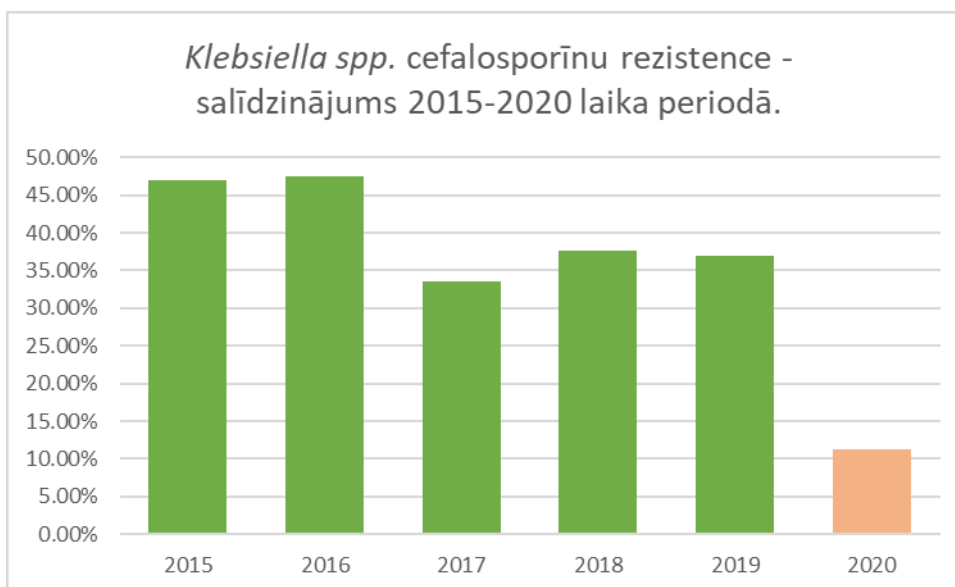
3.4 att. Testētu preparātu *Klebsiella spp.* rezistences salīdzinājums

Ja iegūtus rezultātus salīdzina ar datiem par *Klebsiella spp.* rezistenci iepriekšējos gados Latvijā, loģisks rezultāts tiek konstatēts tikai karbapenēmu līdzekļiem – pagājušajos gados rezultāts ir bijis vienāds vai tuvs nullei procentu. Cefalosporīniem, aminoglikozīdiem un fluorhinoloniem novēro izteiktas starpības rezultātos, visticamāk pētāmas populācijas skaita dēļ – TOS tika veikti 214 testi, savukārt Latvijā skaits būtu attiecīgi lielāks un radītu precīzākus datus par situāciju. Aktuāli dati šobrīd uz 10.04.2021 nav pieejami SPKC datubāzēs.



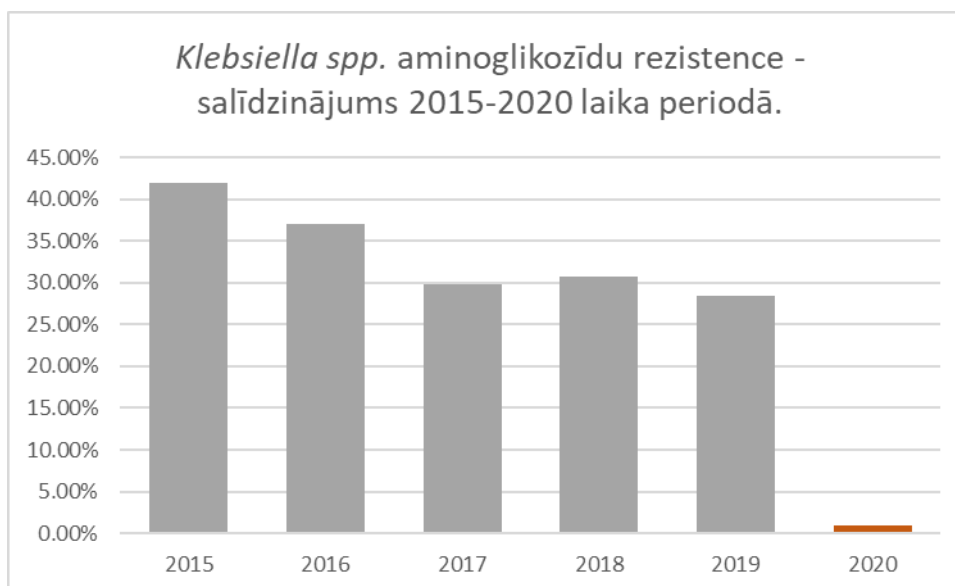
3.5 att. *Klebsiella spp.* karbapenēmu rezistence - salīdzinājums 2015-2020 laika periodā Latvijā

Latvijā karbapenēmiem arī iepriekšējos gados tika novērots zems rezistences līmenis, ar pīķi 2016. gadā. No veiktajiem pētījumiem var secināt, kā TOS-ā karbapenēmu rezistence ir reti sastopama un labi kontrolēta. Karbapenēmi ir nākamais pēc cefalosporīniem un amoksicilīna/klavulanskābes līdzeklis, ko izmanto *Klebsiella spp.* infekciju gadījumos, ja iepriekš minētajiem tiek konstatēta rezistence, piem., ESBL ar jutību pret karbapenēmiem. No iegūtiem izolātiem, karbapenēmāzes aktivitāte netika konstatēta nevienām gadījumam.



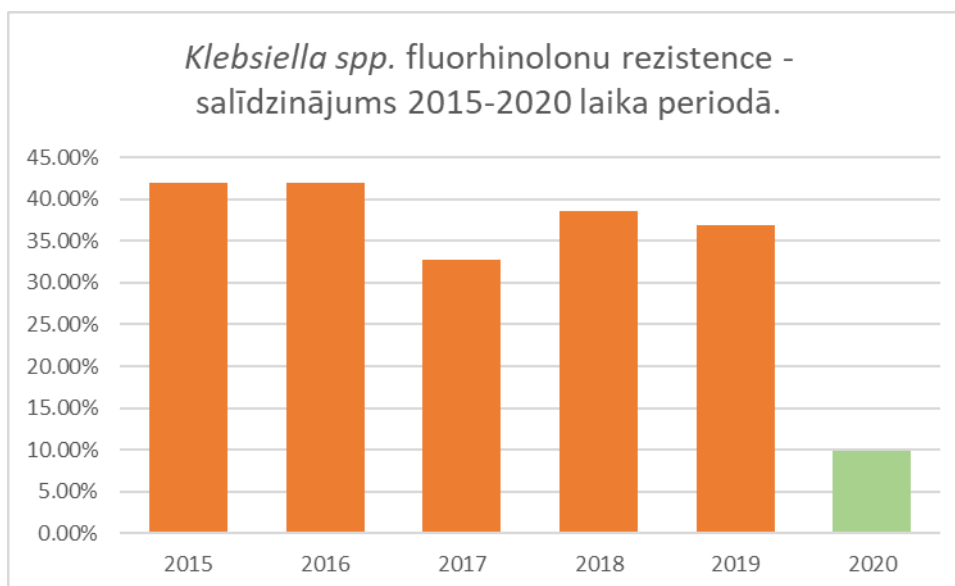
3.6 att. *Klebsiella spp.* cefalosporīnu rezistence – salīdzinājums 2015-2020 laika periodā Latvijā

Situācija ar cefalosporīniem ir ievērojami sliktāka nekā ar karbapenēmiem, bet līdzīga tendence ir arī pasaules statistikā par *Klebsiella spp.* rezistenci pret cefalosporīniem. TOS-ā iegūtais rezistences rezultāts ir augstākais no visiem testētiem līdzekļiem – 11.21%, bet tajā pat laikā ir daudz zemāks nekā kopumā Latvijā iepriekšējos gados – procentuālas vērtības TOS-ā rezultāts ir četras reizes zemāks nekā 2019. gadā kopējais Latvijas rezultāts. Cefalosporīni ir visbiežāk izmantotais līdzeklis *Klebsiella spp.* infekciju ārstēšanā, toties tiem novēro arī augstu rezistences līmeni. Ar koši oranžu atzīmēti testēti paraugi attēlā 3.6. Rezistence pret cefalosporīniem, kā arī penicilīniem un monobaktāmiem norāda uz baktēriju spēju producēt paplašināta spektra β -laktamāzes (ESBL). Savukārt, baktērijām ar ESBL aktivitāti pastāv augsts multirezistences risks, kas ierobežo un apgrūtina korekto farmakoterapijas izvēli



3.7 att. *Klebsiella spp.* aminoglikozīdu rezistence – salīdzinājums 2015-2020 laika periodā Latvijā

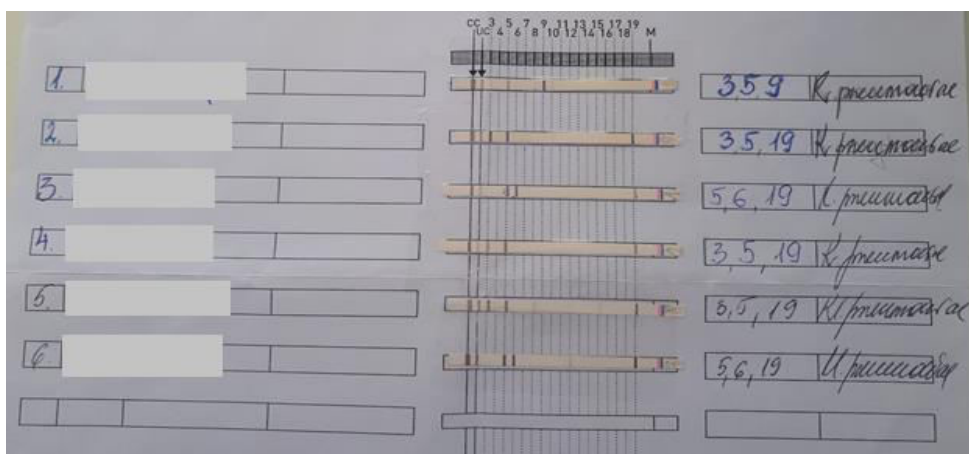
Pasaules līmenī *Klebsiella spp.* aminoglikozīdu rezistence ir diezgan bieži sastopama, tāpēc iegūti TOS rezultāti ir pārsteidzoši, jo tie norāda, kā šobrīd, salīdzinot ar 2019. gadu, konstatēta gandrīz 30 reizes mazāka aminoglikozīdu rezistence. Visticamāk rezultāts arī ir atkarīgs no pētāmas populācijas skaita, kā arī lokācijas, kur veikts pētījums – t.i. TOS atrodas Rīgā, kur diagnosticēšanas līdzekļi, laboratoriskie izmeklējumi un medikamenti ir vieglāk pieejami, nekā provinces slimnīcās, tādēļ situācija ir daudz labāk kontrolējama. Ar sarkanu krāsu atzīmēti testēti paraugi attēlā 3.7.



3.8 att. *Klebsiella spp.* fluorihinolonu rezistence – salīdzinājums 2015-2020 laika periodā Latvijā

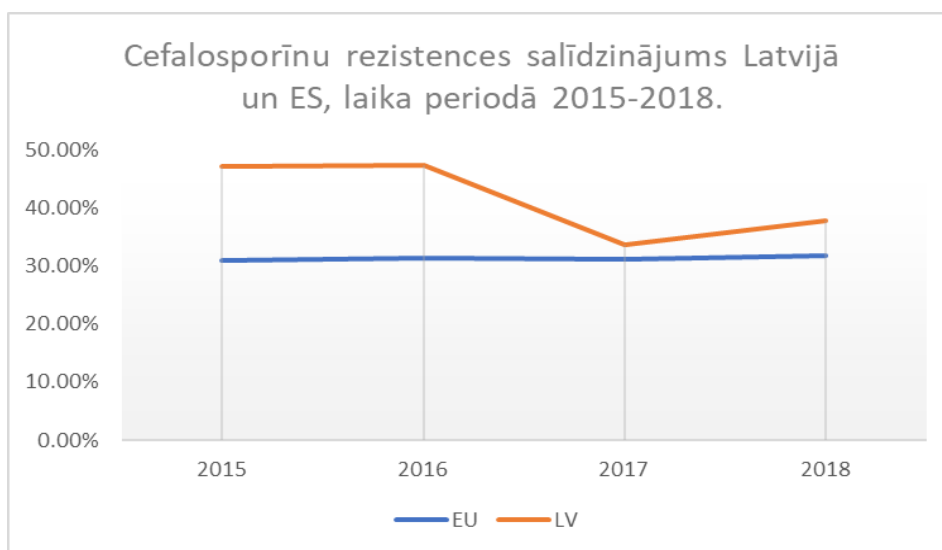
Attiecīgi situācija ar fluorhinoloniem ir līdzīga. Salīdzinot ar iepriekšēju gadu rezultātiem – TOS-ā konstatēts vidēji četras reizes mazāk fluorhinolonu rezistences nekā Latvijā. Praksē fluorhinolonus mēdz bieži izmantot, tādēļ tam arī novēro salīdzinoši augstu rezistences līmeni ~40%. Skaidrojums par TOS-a labu rezultātu būtu līdzīgs, kā aminoglikozīdiem – populācijas skaits, medikamentu pieejamība, vadlīniju ievērošana u.c. Attēlā 3.8 pētāmie paraugi iekrāsoti gaiši zaļā krāsā.

Izmantojot molekulārbioloģisku metodi *Genotype BC Gramnegative*, tika analizēti 6 paraugi, kas iegūti no pozitīvām asins kultūrām. Visi izolāti tika identificēti, kā *Klebsiella pneumoniae*. Metodes priekšrocība ir īss izpildes laiks (2-3h) un laba izšķirtspēja, kas ir būtiski ātrākai β -laktamāžu noteikšanai – nav nepieciešams audzēt baktēriju kultūras, lai precizētu sugu. Strīpus ar iekrāsotām reakciju zonām saglabā reģistrācijas žurnālā (attēls 3.13).



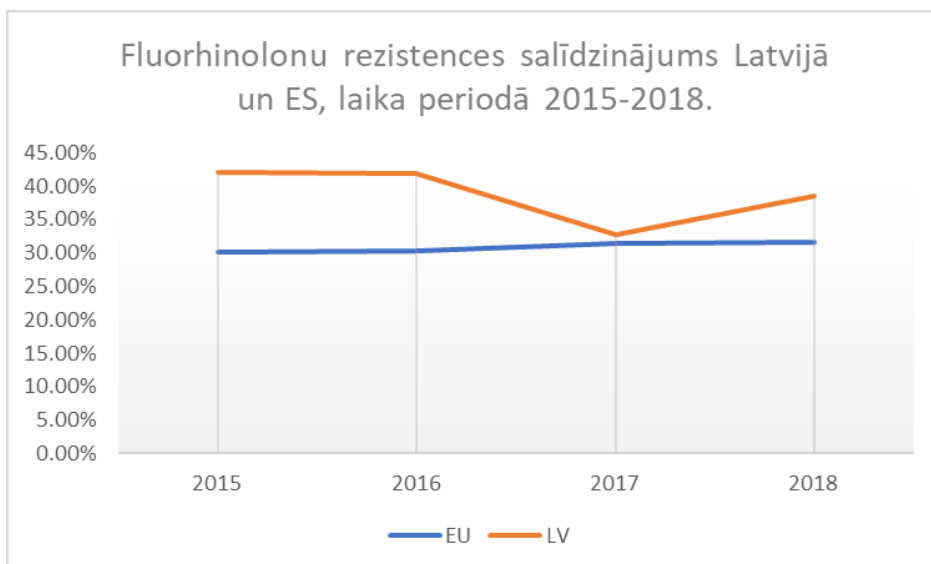
3.13. att. *GenoType BC Gramnegative K. pneumoniae* rezultātu reģistrācijas žurnāls
[Foto: 04.2021. TOS]

Salīdzinot datus gan par Eiropas Savienības, gan Latvijas *Klebsiella spp.* rezistences var secināt, kā kopumā situācija Latvijā ir sliktāka nekā kumulatīvais Eiropas Savienības 2015-2018 gadu rezultāts.



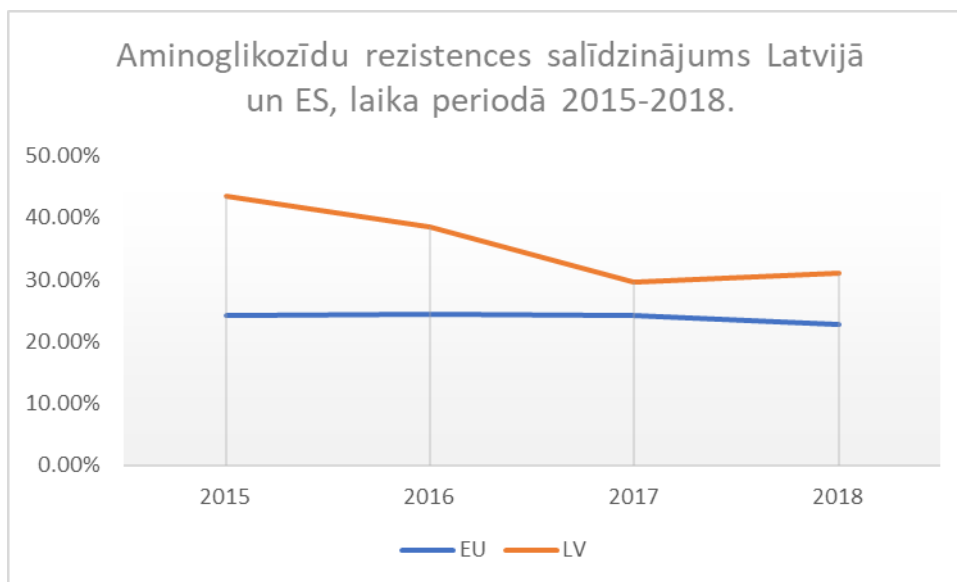
3.9 att. *Klebsiella spp.* cefalosporīnu rezistences salīdzinājums Latvijā un ES, laika periodā 2015-2018

Salīdzinot datus par cefalosporīniem var secināt, kā situācija Latvijā ir sliktāka nekā Eiropas savienība, bet pakāpeniski uzlabojas. Kopējais rezistences pret cefalosporīniem procents ES paliek nosacīti nemainīgs ~30%, savukārt, Latvijas dati norāda uz situācijas pakāpenisku uzlabošanas. Salīdzinot arī ar TOS-ā iegūtajiem datiem, var droši apgalvot, kā situācija Traumatoloģijas un Ortopēdijas Slimnīcā ir daudz labākā nekā Latvijā un ES – *Klebsiella spp.* rezistence pret cefalosporīniem sasniegusi 11.21%. Jāpiemin, kā *Klebsiella spp.* rezistence pret cefalosporīniem norāda uz ESBL.



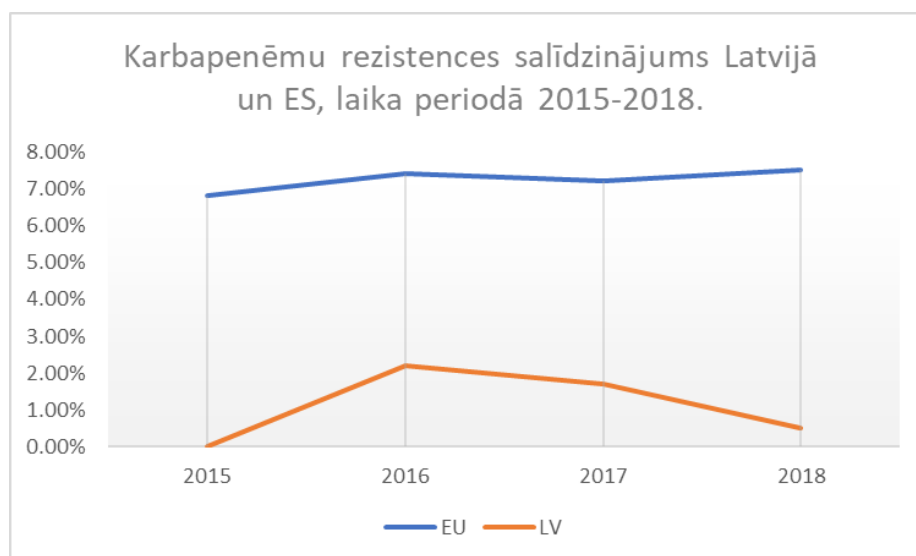
3.10 att. *Klebsiella spp.* fluorhinolonu rezistences salīdzinājums Latvijā un ES, laika periodā 2015-2018

Turpinot salīdzināšanu ar fluorhinoloniem, var konstatēt līdzīgu situāciju. Rezistences līmenis ir augstāks nekā ES, bet nav novērojams uzlabojums. ES rezistences līmenis paliek nemainīgs (~31%), savukārt Latvijā ir bijis rezistences gadījumu skaita kritiens 2017. gadā no 41.80% līdz 32.80%, bet jau 2018. gadā atkal seko pieaugums. TOS-ā rezultāts ir ievērojami mazāks nekā Latvijā un ES – 9.81%.



3.11 att. *Klebsiella spp.* aminoglikozīdu rezistences salīdzinājums Latvijā un ES, laika periodā 2015-2018

Kopumā aminoglikozīdu rezistencei ir tendence samazināties Latvijā, ES - mazāk. Latvijā novērojams rezistences pieaugums kopš 2017. gadā, kad Eiropā tajā laikā konstatēts rezistences gadījumu skaita samazinājums. TOS rezultāts ir nenozīmīgs, salīdzinot ar kopēju Latvijas un ES rezultātu – 0.93%.



3.12 att. *Klebsiella spp.* karbapenēmu rezistences salīdzinājums Latvijā un ES, laika periodā 2015-2018

Klebsiella spp. rezistencē viens no būtiskākajiem rādītājiem ir karbapenēmu rezistence. Karbapenēmi ir efektīvi un salīdzinoši droši līdzekļi ESBL *Klebsiella spp.* infekciju gadījumos. Rezistence pret karbapenēmiem un cefalosporīniem izteikti palielina multirezistentas *Klebsiella spp.* iespējamību.

Pēdējos gados ES pieaug rezistence pret karbapenēmiem, kas noteikti nav labs rādītājs. 2015. gadā tas sasniedzis 6.80% un četrus gadus laikā pakāpeniski pieaudzis līdz 7.50%. Salīdzinot ar ES, Latvijā rezistence pret karbapenēmiem ir niecīga un labi kontrolējama. Pīķis ir bijis 2016. gadā – 2.20% un kopš tā laika samazinās; pēc jaunākajiem datiem 2019. gadā sasniedzis 0%. TOS-ā rezistence pret karbapenēmiem netika konstatēta, bet tika konstatēts viens vidēji jutīgs gadījums, kad bija nepieciešamas lielākas karbapenēmu devas nekā parasti.

Noteiktā perioda laikā tika veiktas 214 *Klebsiella spp.* rezistences analīzes, no tam 204 – *Klebsiella pneumoniae* un 10 – *Klebsiella oxytoca*. Izolāti iegūti no ķirurģiska materiāla, pacientiem, kuriem konstatētas infekcijas pazīmes. Katrām izolātām tika veikti rezistences testi jutības noteikšanai pret amoksicilīnu/klavulānskābi, ceftazidīmu, ceftriaksonu, imipenēmu, meropenēmu, amikacīnu, ciprofloksacīnu un trimetoprīmu/sulfametaksolu.

Klebsiella spp. gadījumos kritisks moments ir cefalosporīnu rezistence, kas norāda uz baktēriju paplašināta spektra β -laktamāžu producēšanu (ESBL).

No veiktajiem izolātu testiem rezistence pret abiem cefalosporīniem – ceftazidīmu un ceftriaksonu, tika konstatēta 24 izolātiem. Pēc savas definīcijas, ESBL neitralizē plaša darbības spektra cefalosporīnu aktivitāti, tas nozīmē, kā no testētiem izolātiem 24 jeb 11.21% producē ESBL. Ņemot vērā Latvijas pagājušo gadu rezultātus, TOS-ā atklāts ESBL skaits ir ievērojami zemāks nekā vidējais Latvijas. *Klebsiella spp.* III paaudzes cefalosporīnu rezistence pagājušos gados Latvijā sasniedza vidēji ~40%, bet TOS-ā rezultāts ir 11.21%. Visticamāk, tik ievērojama starpība ir veidojusies nelielas pētāmas populācijas dēļ vai arī saistīts ar pētījuma veikšanas vietu – TOS atrodas Rīgā, kur diagnosticējoši un laboratorijas ierīces un materiāli būs vieglāk pieejami nekā provincē. Kopumā rezultāts norāda uz labi kontrolējamu situāciju, salīdzinot ar Latvijas un pasaules statistiku.

Karbapenēmu rezistence netika novērota, kas arī ir labs rādītājs. Karbapenēmi ir nākamās izvēlēs preparāti ESBL gadījuma un rezistence pret tiem norāda uz izteiktu bakteriālu multirezistenci, kā arī apgrūtina veselības aprūpes procedūras un ārstēšanas kursu. Pēdējos gados Latvijā netika novērota karbapenēmu rezistence – pēdējo reizi – 2018. gadā, kad tā ir sasniegusi 0.5%. Karbapenēmu rezistences gadījumos jāapsver specifisku un bieži vien toksisku antibakteriālu līdzekļu lietošanu, piem., polimiksīni, tigeciklīns u.c.

Izmantojot disku difūzijas testus (DDT) un E-testu (MIC), tika noskaidrota iegūta *Klebsiella spp.* rezistence arī pret citiem antibakteriālajiem līdzekļiem, ko izmanto *Klebsiella spp.* infekciju ārstēšanā. Bez cefalosporīniem un karbapenēmiem, rezistenci noteica arī amoksicilīnām/klavulānskābei, kas arī ir β -laktāma antibakteriāls līdzeklis ar β -laktamāzes inhibitoru. Tā kā *Klebsiella spp.* ir spējīgas producēt penicilināzes, β -laktāma monoterapija ir neefektīva ir nepieciešams inaktivējoša enzīma inhibitors. Amoksicilīns/klavulanāts saglabā savu efektivitāti, kas procentuāli ir lielāka nekā cefalosporīniem – rezistentu gadījumu īpatsvars veiktajā pētījumā ir sasniedzis 5.14%, kas ir divreiz mazāk nekā cefalosporīniem. Amoksicilīnu/klavulanātu drošības dēļ, var izmantot kā otras kārtas līdzekli *Klebsiella spp.* infekciju ārstēšana.

Rezistences biežumu noteica arī pret amikacīnu – aminoglikozīdu antibakteriālajam līdzeklim, kas ir efektīvs enterobaktēriju infekciju ārstēšanā. Praksē amikacīnu izmanto retāk, izteiktāku blakusparādību dēļ. TOS-ā iegūtais rezultāts, arī līdzīgi kā pārējo līdzekļu rezultāti, ir izteikti zemāks nekā Latvijas vidējais iepriekšēju gadu rezultāts, t.i. – 0.93%, savukārt iepriekšēju gadu rezultāti svārstās ap ~35%. Tik liela starpība varēja veidoties pētāmas populācijas skaita dēļ, bet arī laboratorisku izmeklējumi pieejamības, kā arī vadlīniju ievērošanas dēļ.

Tika izmeklēta fluorhinolonu rezistence, konkrēti – ciprofloksacīnu. Kārtējo reizi, iegūtais rezultāts bija ievērojami zemāks nekā iepriekšēju gadu Latvijas vidējais rezultāts – 9.81%, Latvijas rezultāts svārstās ap ~37%.

Pēdējais medikaments, kam tika noteikta rezistences pakāpe, ir sulfometaksazola un trimetoprīma (SMX-TMP) kombinācija. Preparātam ir plašs darbības spektrs – gan pret Gram-negatīvām, gan pret Gram-pozitīvām baktērijām. Tā izmantošana arī ir retāka, izņemot pediatriķu populāciju, daudzu kontrindikāciju dēļ. Veiktie testi *Klebsiella spp.* rezistences noteikšanai norādīja uz nelielu rezistenci – 6.54%.

Kopumā situācijā Latvijā ir sliktāka nekā Eiropas Savienībā. Konstatēta augstāka rezistence pret cefalosporīniem, fluorhinoloniem un aminoglikozīdiem, savukārt, karbapenēmu rezistence ir minimāla, kas, neskatoties uz pārējiem rezultātiem, ir pozitīvs moments un labs rādītājs. Karbapenēmu jutība norāda uz labi kontrolējamu situāciju, kā arī mazu multirezistentas *Klebsiella spp.* attīstības risku.

TOS veikto analīžu rezultāti ir labāki nekā kopējie Latvijas un Eiropas Savienības. Pret cefalosporīniem, karbapenēmiem, aminoglikozīdiem un fluorhinoloniem tika konstatēta vairākas reizes mazāka rezistence nekā Latvijā un ES. Rezultātu varēja ietekmēt salīdzinoši neliela pētāma populācija – 214 testi, kad Eiropas līmenī tie ir 20-40 tūkstoši. Iespējams, tas ir saistīts ar laboratorisku ierīču un tehnoloģiju pieejamību un izmantošanu, kā arī aktuālo diagnostikas vadlīniju ievērošana.

SECINĀJUMI

- Visbiežāk rezistentie *Klebsiella spp.* baktēriju celmi noteikti pret tādiem β -laktāmu antibakteriālajiem līdzekļiem kā: cefalosporīni (ceftriaksons un ceftazidīms), attiecīgi $n = 24$ (11.21%), no visiem pārbaudītajiem baktēriju izolātiem.
- Paplašināta spektra β -laktamāžu (ESBL) producētāji noteikti 11.21% no visiem pārbaudītajiem *Klebsiella spp.* baktēriju izolātiem.
- Visos ESBL noteikšanas gadījumos, lietojot DDT, rezultāti tika apstiprināti, pārbaudot ar E-testu.
- Netika noteikts neviens rezistents baktēriju celms pret karbapenēmu grupas (imipenēms, meropenēms) antibakteriālajiem līdzekļiem, kas, salīdzinot ar Eiropas Savienības datiem, ir labs rādītājs.
- Rezistence pret cefalosporīniem (11.21%) ir vairākas reizes zemāka nekā tas bija noteikts 2019. gadā Latvijā (36.90%).
- Veicot *GenoType BC Gramnegative* molekulārbioloģisko testu, ātri un precīzi tika noteiktas sešas *Klebsiella pneumoniae* baktēriju sugas, kas ir nozīmīgi korektas antibakteriālās terapijas izvēlē.

PATEICĪBAS

Izsaku pateicību darba vadītājam – Ivetai Līdumai un Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcas Mikrobioloģijas un patohistoloģijas apvienotas laboratorijas personālam.

Paldies vecākiem par atbalstu studiju procesā.

Darba devējiem – *Acta non verba*.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. **Ahn C, Yoon SS, Yong TS, Jeong SH, Lee K.** The resistance mechanism and clonal distribution of tigecycline-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* isolates in Korea. *Yonsei medical journal*, 2016, 57(3), 641;
2. **Antoniadou A, Kontopidou F, Poulakou G.** Colistin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster. *J Antimicrob Chemoth* 2007;59:786–90;
3. **Ashurst John V, Dawson A.** *Klebsiella Pneumonia*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-;
4. **Bachman MA, Oyler JE, Burns SH.** *Klebsiella pneumoniae* yersiniabactin promotes respiratory tract infection through evasion of lipocalin 2. *Infect Immun* 2011;79:3309–16;
5. **Baier F, Tokuriki N.** Connectivity between catalytic landscapes of the metallo-beta-lactamase superfamily. *J. Mol. Biol.* 2014;426:2442–2456;
6. **Bassetti M, Righi E, Carnelutti A, Graziano E, Russo A.** Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*: challenges for treatment, prevention and infection control. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 2016. doi:10.1080/14787210.2018.1522249;
7. **Bauernfeind A, Grimm H, Schweighart S.** A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infection*. 1990;18:294–298;
8. **Bester L, Osei Sekyere J, Essack SY, Govinden U.** Colistin and tigecycline resistance in carbapenemase producing Gram-negative bacteria: emerging resistance mechanisms and detection methods. *J Appl Microbiol* 2016;121:601–17;
9. **Bradford PA, Kazmierczak KM, Biedenbach DJ, Wise MG, Hackel M, Sahn DF.** Correlation of β -lactamase production and colistin resistance among Enterobacteriaceae isolates from a global surveillance program. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2016, 60(3), 1385-1392;

10. **Bradford PA.** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threa. *Clinical Microbiology Reviews*. 14 (4): 933–51, 2011;
11. **Braykov NP, Eber MR, Klein EY, Morgan DJ, Laxminarayan R.** Trends in resistance to carbapenems and third-generation cephalosporins among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* in the United States, 1999-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013 Mar; 34(3):259-68;
12. **Brisse S, Verhoef J.** Phylogenetic diversity of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* clinical isolates revealed by randomly amplified polymorphic DNA, *gyrA* and *parC* genes sequencing and automated ribotyping, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*. 51 (2001) 915–924;
13. **Brogden RN, Carmine AA, Heel RC, Speight TM, Avery GS.** Trimethoprim: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic use in urinary tract infections. *Drugs*. 1982, 23 (6): 405–30;
14. **Campos MA, Vargas MA, Regueiro V.** Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infect Immun* 2004;72:7107–14;
15. **Cano V, March C, Insua JL.** *Klebsiella pneumoniae* survives within macrophages by avoiding delivery to lysosomes. *Cell Microbiol* 2015;17:1537–60;
16. **Cano V, Moranta D, Llobet-Brossa E.** *Klebsiella pneumoniae* triggers a cytotoxic effect on airway epithelial cells. *BMC Microbiol* 2009;9:156–2180–9–156;
17. **Chaves J, Ladona MG, Segura C, Coira A, Reig R, Ampurdanes C.** SHV-1 beta-lactamase is mainly a chromosomally encoded species-specific enzyme in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2001;45:2856–2861;
18. **Chen Y, Bonnet R, Shoichet BK.** The acylation mechanism of CTX-M beta-lactamase at 0.88 Å resolution. *J. Am. Chem. Soc*. 2007;129:5378–5380;
19. **Chen SC, Mehrad B, Deng JC, Vassileva G, Manfra DJ, Cook DN, Wiekowski MT, Zlotnik A, Standiford TJ, Lira SA.** Impaired pulmonary host defense in mice lacking expression of the CXC chemokine lungkine. *J Immunol*. 2001 Mar 1; 166(5):3362-8;
20. **Chong Y, Shimoda S, Shimono N.** Current epidemiology, genetic evolution and clinical impact of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Infect. Genet. Evol*. 2018;61:185–188;

21. **Christine M, Slover A, Rodvold Larry H, Danziger.** Tigecycline: A Novel Broad-Spectrum Antimicrobial Disclosures. *The Annals of Pharmacotherapy.* 2007;41(6):965-972;
22. **de Astorza B, Cortes G, Crespi C.** C3 promotes clearance of *Klebsiella pneumoniae* by A549 epithelial cells. *Infect Immun* 2004;72:1767–74;
23. **Delost MD.** Introduction to Diagnostic Microbiology for the Laboratory Sciences. Jones & Bartlett Learning, 2020, 209-219;
24. **Diagbouga S, Salah FD, Sadjı AY, Metuor Dabire A, Nadembega C, Banla Kere A.** Detection of high prevalence of TEM/SHV/CTX-M genes in ESBL producing and multidrug resistant *Klebsiella Pneumoniae* and *Klebsiella Oxytoca*. *J Clin Diagn Res.* 2016;4(1:130):p7;
25. **Diaz N, Suarez D, Sordo TL.** Molecular dynamics simulations of class C beta-lactamase from *Citrobacter freundii*: insights into the base catalyst for acylation. *Biochemistry.* 2006;45:439–451;
26. **Diver JM.** Quinolone uptake by bacteria and bacterial killing. *Rev Infect Dis* 11(SuppI5):S941-S946,1989;
27. **Dokyun K, Ji Young A, Chae Hoon L, Sook Jin J, Hyukmin L, Dongeun Y, Seok Hoon J, Kyungwon L.** Increasing Resistance to Extended-Spectrum Cephalosporins, Fluoroquinolone, and Carbapenem in Gram-Negative Bacilli and the Emergence of Carbapenem Non-Susceptibility in *Klebsiella pneumoniae*: Analysis of Korean Antimicrobial Resistance Monitoring System (KARMS) Data From 2013 to 2015 *Ann Lab Med* 2017;37:231-239;
28. **Domingo-Calap P, Beamud B, Vienne J, González-Candelas F, Sanjuán R.** Isolation of Four Lytic Phages Infecting *Klebsiella pneumoniae* K22 Clinical Isolates from Spain. *Int J Mol Sci.* 2020;21(2):425;
29. **Dubois V, Arpin C, Dupart V, Scavelli A, Coulange L, Andre C, Fischer I, Grobost F, Brochet JP, Lagrange I, Dutilh B, Jullin J, Noury P, Larribet G, Quentin C.** β -lactam and aminoglycoside resistance rates and mechanisms among *Pseudomonas aeruginosa* in French general practice (community and private healthcare centres) *J Antimicrob Chemother.* 2008;62:316–323;
30. **Dzierżanowska D.** *Antybiotykoterapia praktyczna.* Wyd. V. α -medica press, 2009, s. 161,162;
31. **ECDC.** Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. SURVEILLANCE REPORT. [tiešsaistē]

<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf>;

32. **Edelstein MV, Skleenova EN, Shevchenko OV, D'Souza JW, Tapalski DV, Azizov IS.** Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study. *Lancet Infect. Dis.* 2013;13:867–876;
33. **Electronic Medicines Compendium.** Colomycin Injection. Summary of Product Characteristics. (eMC). 18 May 2016.
34. **Esposito EP, Cervoni M, Bernardo M, Crivaro V, Cuccurullo S, Imperi F, Zarrilli R.** Molecular Epidemiology and Virulence Profiles of Colistin-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Blood Isolates From the Hospital Agency "Ospedale dei Colli," Naples, Italy. *Front Microbiol.* 2018;9:1463;
35. **European Medicines Agency.** Committee For Veterinary Medicinal Products: Colistin: Summary Report (2) (PDF). January 2002. Colistin base has an assigned potency of 30 000 IU/mg EMEA/MRL/815/02-FINAL January 2002;
36. **Fischer J, Ganellin CR.** Analogue-based Drug Discovery. John Wiley & Sons. p. 507. 2006.
37. **Freeman R, Ironmonger D, Katie L. Hopkins, Richard Puleston, Peter Staves, Russell Hope, Berit Muller-Pebody, Colin S. Brown, Susan Hopkins, Alan P. Johnson, Neil Woodford, Isabel Oliver,** Epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacterales in England, May 2015–March 2019: national enhanced surveillance findings and approach, *Infection Prevention in Practice*, Volume 2, Issue 3, 2020, 100051;
38. **Gilson M, Moachon L, Jeanne L, Dumaine V, Eyrolle L, Morand P, Ben m'Rad M, Salmon D.** Acute pancreatitis related to tigecycline: case report and review of the literature. *Scandinavian journal of infectious diseases.* 8 (40), s. 681–683, 2008;
39. **Goessens WH, van der Bij AK, van Boxtel R, Pitout JD, van Ulsen P, Melles DC.** Antibiotic trapping by plasmid-encoded CMY-2 beta-lactamase combined with reduced outer membrane permeability as a mechanism of carbapenem resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013;57:3941–3949;
40. **Golan Y.** Empiric therapy for hospital-acquired, Gram-negative complicated intra-abdominal infection and complicated urinary tract infections: a systematic

literature review of current and emerging treatment options. *BMC infectious diseases*, 2015, 15(1), 1-7;

41. **Golemi D, Maveyraud L, Vakulenko S, Samama JP, Mobashery S.** Critical involvement of a carbamylated lysine in catalytic function of class D beta-lactamases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001;98:14280–14285;
42. **Gomez-Luis R, Vergara Y, Lopez L, Castillo J, Rubio M.** 1-N-Aminoglycoside acetyltransferase [AAC(1)] in clinical isolates of *Campylobacter* spp.. *Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; San Francisco, CA. 1999;
43. **Gupta.** *Clinical Ophthalmology: Contemporary Perspectives*, 9/e. Elsevier India. pp. 112–. ISBN 978-81-312-1680-4. 2009;
44. **Happel KI, Dubin PJ, Zheng M, Ghilardi N, Lockhart C, Quinton LJ, Odden AR, Shellito JE, Bagby GJ, Nelson S, Kolls JK.** Divergent roles of IL-23 and IL-12 in host defense against *Klebsiella pneumoniae*. *J Exp Med.* 2005 Sep 19; 202(6):761-9;
45. **Hermann JC, Pradon J, Harvey JN, Mulholland AJ.** High level QM/MM modeling of the formation of the tetrahedral intermediate in the acylation of wild type and K73A mutant TEM-1 class A beta-lactamase. *J. Phys. Chem. A.* 2009;113:11984–11994;
46. **Herridge W, Shibu P, O`Shea J, Brook T.** Bacteriophages of *Klebsiella* spp., their diversity and potential therapeutic uses. *Journal of Medical Microbiology* Volume 69, Issue 2. Jan 2020;
47. **Heuer H, Krogerrecklenfort E, Wellington EM, Egan S, Elsas JD, Overbeek L, Collard JM, Guillaume G, Karagouni AD, Nikolakopoulou TL, Smalla K.** Gentamicin resistance genes in environmental bacteria: prevalence and transfer. *FEMS Microbiol Ecol.* 2002;42:289–302;
48. **Ho Yin Wong M, Wai Chi Chan E, Sheng Chen.** Evolution and Dissemination of OqxAB-Like Efflux Pumps, an Emerging Quinolone Resistance Determinant among Members of Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* May 2015, 59 (6) 3290-3297;
49. **Hoffmann KM, Deutschmann A, Weitzer C, Joainig M, Zechner E, Högenauer C, Hauer AC.** Antibiotic-associated hemorrhagic colitis caused by cytotoxin-producing *Klebsiella oxytoca*. *Pediatrics.* 2010 Apr; 125(4):e960-3;

50. **Hudson CM, Bent ZW, Meagher RJ, Williams KP.** Resistance Determinants and Mobile Genetic Elements of an NDM-1-Encoding *Klebsiella pneumoniae* Strain. *PLoS One*. 2014; 9, e99209;
51. **Huovinen P.** Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole. *Clinical Infectious Diseases*. 2001, 32 (11): 1608–14;
52. **Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD.** Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2001;45:1151–1161;
53. **Jacoby GA.** AmpC beta-lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.* 2009;22:161–182;
54. **Jacoby GA.** Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin Infect Dis*. 2005 Jul 15; 41 Suppl 2():S120-6;
55. **Jayol A, Nordmann P, Desroches M, Decousser JW, Poirel L.** Acquisition of broad-spectrum cephalosporin resistance leading to colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2016, 60(5), 3199-3201;
56. **Jeon JH, Hong MK, Lee JH, Lee JJ, Park KS, Karim AM.** Structure of ADC-68, a novel carbapenem-hydrolyzing class C extended-spectrum beta-lactamase isolated from *Acinetobacter baumannii*. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 2014;70:2924–2936;
57. **Jiahui L, Wenzhi B, Guofeng D, Yizhi Z, Qing W, Tongyu D, Jianming C, Tieli Z.** The new perspective of old antibiotic: In vitro antibacterial activity of TMP-SMZ against *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, Volume 53, Issue 5,2020,Pages 757-765,ISSN 1684-1182;
58. **Jondle CN, Gupta K, Mishra BB, Sharma J.** *Klebsiella pneumoniae* infection of murine neutrophils impairs their efferocytic clearance by modulating cell death machinery. *PLoS Pathog*. 2018 Oct;14(10):e1007338;
59. **Juan C, Torrens G, Gonzalez-Nicolau M, Oliver A.** Diversity and regulation of intrinsic beta-lactamases from non-fermenting and other Gram-negative opportunistic pathogens. *FEMS Microbiol. Rev.* 2017;41:781–815;
60. **Kasman LM, Porter LD.** *Bacteriophages*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan–. PMID: 29630237.
61. **Kato-Toma Y, Iwashita T, Masuda K, Oyama Y, Ishiguro M.** pKa measurements from nuclear magnetic resonance of tyrosine-150 in class C beta-lactamase. *Biochem. J.* 2003;371:175–181;

62. **Kemnic TR, Coleman M.** Trimethoprim Sulfamethoxazole. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan;
63. **Kitao T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Tanaka M, Narahara K, Saito N, Kirikae T.** Development of an immunochromatographic assay for the rapid detection of AAC(6)-Iae-producing multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Jul; 65(7):1382-6;
64. **Kostakioti M, Hadjifrangiskou M, Hultgren SJ.** Bacterial Biofilms: Development, Dispersal, and Therapeutic Strategies in the Dawn of the Postantibiotic Era. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013 Apr; 3(4): a010306;
65. **Kostina E, Ofek I, Crouch E.** Noncapsulated *Klebsiella pneumoniae* bearing mannose-containing O antigens is rapidly eradicated from mouse lung and triggers cytokine production by macrophages following opsonization with surfactant protein D. *Infect Immun* 2005;73:8282–90;
66. **Kropp H, Gerckens L, Sundelof JG, Kahan FM.** Antibacterial activity of imipenem: the first thienamycin antibiotic. *Rev. Infect. Dis.* 1985;7(Suppl. 3):S389–S410;
67. **Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R.** Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect. Dis.* 2010;10:597–602;
68. **Laichalk LL, Bucknell KA, Huffnagle GB, Wilkowski JM, Moore TA, Romanelli RJ, Standiford TJ.** Intrapulmonary delivery of tumor necrosis factor agonist peptide augments host defense in murine gram-negative bacterial pneumonia. *Infect Immun.* 1998 Jun; 66(6):2822-6;
69. **Laichalk LL, Kunkel SL, Strieter RM, Danforth JM, Bailie MB, Standiford TJ.** Tumor necrosis factor mediates lung antibacterial host defense in murine *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun.* 1996 Dec; 64(12):5211-8;
70. **Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K.** Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents.* 2005, 25 (1): 11–25;
71. **Lin YT, Jeng YY, Chen TL, Fung CP.** Bacteremic community-acquired pneumonia due to *Klebsiella pneumoniae*: clinical and microbiological characteristics in Taiwan, 2001-2008. *BMC Infect Dis* 2010; 10:307;
72. **Lindell DM, Standiford TJ, Mancuso P, Leshen ZJ, Huffnagle GB.** Macrophage inflammatory protein 1alpha/CCL3 is required for clearance of an

- acute *Klebsiella pneumoniae* pulmonary infection. *Infect Immun.* 2001 Oct; 69(10):6364-9;
73. **Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J.** Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet infectious diseases*, 2016, 16(2), 161-168;
74. **Livrelli V, De Champs C, Di Martino P, Darfeuille-Michaud A, Forestier C, Joly B.** Adhesive properties and antibiotic resistance of *Klebsiella*, *Enterobacter*, and *Serratia* clinical isolates involved in nosocomial infections. *J Clin Microbiol.* 1996 Aug; 34(8):1963-9;
75. **Lobkovsky E, Moews PC, Liu H, Zhao H, Frere JM, Knox JR.** Evolution of an enzyme activity: crystallographic structure at 2-Å resolution of cephalosporinase from the *ampC* gene of *Enterobacter cloacae* P99 and comparison with a class A penicillinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1993;90:11257–11261;
76. **Lohans CT, Brem J, Schofield CJ.** New Delhi metallo-beta-lactamase 1 catalyzes avibactam and aztreonam hydrolysis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017;61;
77. **Macfarlane G.** Alexander Fleming, the man and the myth (1st ed.). Cambridge, Mass: Harvard University Press. 1984. ISBN 0674014901;
78. **Maddison J, Dodd M, Webb AK.** Nebulized colistin causes chest tightness in adults with cystic fibrosis. *Respir. Med.* 88 (2): 145–7, 1994;
79. **Madec JY, Haenni M, Nordmann P, Poirel L.** Extended-spectrum beta-lactamase/AmpC-and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in animals: a threat for humans? *Clin. Microbiol. Infect.:Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2017;
80. **Mancuso P, Standiford TJ, Marshall T, Peters-Golden M.** 5-Lipoxygenase reaction products modulate alveolar macrophage phagocytosis of *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun.* 1998 Nov; 66(11):5140-6;
81. **March C, Cano V, Moranta D, Llobet E, Pérez-Gutiérrez C, Tomás JM, Suárez T, Garmendia J, Bengoechea JA.** Role of bacterial surface structures on the interaction of *Klebsiella pneumoniae* with phagocytes. *PLoS One.* 2013; 8(2):e56847;

82. **Mills G, Dumigan A, Kidd T.** Identification and characterization of two *Klebsiella pneumoniae* lpxL lipid acyltransferases and their role in virulence. *Infect Immun* 2017;85;
83. **Minami J, Saito S, Yoshida T, Uemura T, Okabe A.** Biological activities and chemical composition of a cytotoxin of *Klebsiella oxytoca*. *J Gen Microbiol.* 1992 Sep; 138(9):1921-7;
84. **Mingeot-Leclercq MP, Glupczynski Y, Tulkens PM.** Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999. 43 (4): 727–37;
85. **Moore TA, Lau HY, Cogen AL, Standiford TJ.** Defective innate antibacterial host responses during murine *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: tumor necrosis factor (TNF) receptor 1 deficiency versus therapy with anti-TNF-alpha. *Clin Infect Dis.* 2005 Aug 1; 41 Suppl 3():S213-7;
86. **Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, Cornaglia G, Garau J, Gniadkowski M, Hayden MK, Kumarasamy K, Livermore DM, Maya JJ, Nordmann P, Patel JB, Paterson DL, Pitout J, Villegas MV, Wang H, Woodford N, Quinn JP.** Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis.* 2013 Sep; 13(9):785-96;
87. **Murri R, Fiori B, Spanu T, Mastroianni I, Giovannenze F, Taccari F, Palazzolo C, Scoppettuolo G, Ventura G, Sanguinetti M, Cauda R, Fantoni M.** Trimethoprim-sulfamethoxazole therapy for patients with carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: retrospective single-center case series. *Infection.* 2017 Apr;45(2):209-213;
88. **Nagoba B.S.** *Microbiology and Parasitology PMFU.* Elsevier Health Sciences, 2016, 337-338;
89. **Navon-Venezia S, Kondratyeva K, Carattoli A.** *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance, *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 41, Issue 3, May 2017, Pages 252–275;
90. **Neu HC.** beta-Lactam antibiotics: structural relationships affecting in vitro activity and pharmacologic properties. *Rev. Infect. Dis.* 1986;8(Suppl. 3):S237–S259;
91. **Nikaido H, Takatsuka Y.** Mechanisms of RND multidrug efflux pumps. *Biochim. Biophys. Acta* 1794(5), 769–781 (2009);

92. **Oefner C, D'Arcy A, Daly JJ, Gubernator K, Charnas RL, Heinze I.** Refined crystal structure of beta-lactamase from *Citrobacter freundii* indicates a mechanism for beta-lactam hydrolysis. *Nature*. 1990;343:284–288;
93. **Oliphant CM, Green GM.** Quinolones: a comprehensive review. *American Family Physician*. 65 (3): 455–64. PMID 11858629, 2002;
94. **Paczosa MK, Meccas J.** *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2016 Sep; 80(3):629-61.
95. **Paczova MK, Meccas J.** *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiol Mol Biol Rev* 2016; 80:629-61;
96. **Palzkill T.** Metallo-beta-lactamase structure and function. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 2013;1277:91–104;
97. **Pan YJ, Lin TL, Hsu CR, Wang JT.** Use of a *Dictyostelium* model for isolation of genetic loci associated with phagocytosis and virulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun*. 2011 Mar; 79(3):997-1006;
98. **Pan X, He Y, Lei J, Huang X, Zhao Y.** Crystallographic snapshots of class A beta-lactamase catalysis reveal structural changes that facilitate beta-lactam hydrolysis. *J. Biol. Chem*. 2017;292:4022–4033;
99. **Pandey N, Cascella M.** Beta lactam antibiotics. *StatPearls*. PMID 31424895, 2020;
100. **Paterson DL, Ko W, Von Gottberg A, Sunita Mohapatra, Jose Maria Casellas, Herman Goossens, Lutfiye Mulazimoglu, Gordon Trenholme, Keith P. Klugman, Robert A. Bonomo.** Antibiotic Therapy for *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: Implications of Production of Extended-Spectrum β -Lactamases. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 39, Issue 1, 1 July 2004, Pages 31–37;
101. **Peterson LR.** A review of tigecycline – the first glycylcycline. *International journal of antimicrobial agents*, s. S215–22, 2008; *The Annals of Pharmacotherapy*
102. **Pettinati I, Brem J, Lee SY, McHugh PJ, Schofield CJ.** The chemical biology of human metallo-beta-lactamase fold proteins. *Trends Biochem. Sci*. 2016;41:338–355;
103. **Podschun R, Fischer A, Ullmann U.** Siderophore Production of *Klebsiella* Species Isolated from Different Sources. *Zentralblatt Für Bakteriologie*, 276(4), 1992, 481–486;
104. **Podschun R, Ullmann U.** *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev*. 1998 Oct; 11(4):589-603;

105. **Poirel L, Bonnin RA, Nordmann P.** Genetic features of the widespread plasmid coding for the carbapenemase OXA-48. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012;56:559–562;
106. **Poirel L, Potron A, Nordmann P.** OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J. Antimicrob. Chemother.* 2012;67:1597–1606;
107. **Ramirez MS, Tolmasky ME.** Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat.* 2010;13(6):151-171.
108. **Regueiro V, Moranta D, Frank CG.** *Klebsiella pneumoniae* subverts the activation of inflammatory responses in a NOD1-dependent manner. *Cell Microbiol* 2011;13:135–53;
109. **Rønning TG, Aas CG, Støen R, Bergh K, Afset JE, Holte MS, Radtke A.** Investigation of an outbreak caused by antibiotic-susceptible *Klebsiella oxytoca* in a neonatal intensive care unit in Norway. *Acta Paediatr.* 2019 Jan;108(1):76-82;
110. **Russo TA, Gulick A.** M.Aerobactin Synthesis Proteins as Antivirulence Targets in Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *ACS Infectious Diseases*, 2019;
111. **Russo TA, Olson R, MacDonald U, Beanan J, Davidson B A.** Aerobactin, but not yersiniabactin, salmochelin and enterobactin, enables the growth/survival of hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae* ex vivo and in vivo. *Infect. Immun.* 83(8), 2015, 3325–3333;
112. **Sabath LD, Abraham EP.** Zinc as a cofactor for cephalosporinase from *Bacillus cereus* 569. *Biochem. J.* 1966;98:11C-3C;
113. **Sauvage E., Kerff F., Terrak M., Ayala J.A., Charlier P.** The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiol. Rev.* 2008;32:234–258;
114. **Sebghati TA, Korhonen TK, Hornick DB, Clegg S.** Characterization of the type 3 fimbrial adhesins of *Klebsiella* strains. *Infect Immun.* 1998 Jun; 66(6):2887-94;
115. **Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH.** Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol Rev.* 1993 Mar; 57(1):138-63;
116. **Shorn AS, Bajwa RPS, Russo TA.** Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: A new and dangerous breed. *Virulence* 2013; 4:107-18;
117. **Sneider W.** *Drug Discovery: A History.* John Wiley & Sons. p. 302, 2005;
118. **SPKC.** ANTIBIOTIKU PATĒRIŅŠ UN REZISTENCE CILVĒKIEM UN DZĪVNIEKIEM LATVIJĀ 2015. – 2019. gadā. 2019. nov. Rīga. [tiešsaistē]

https://www.spkc.gov.lv/sites/spkc/files/data_content/v10_antibiotiku-paterins-un-rezistence-cilvekiem-un-dzivniekiem_2020.pdf;

119. **Srinivasan VB, Rajamohan G.** KpnEF, a new member of the *Klebsiella pneumoniae* cell envelope stress response regulon, is an SMR-type efflux pump involved in broad-spectrum antimicrobial resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(9), 4449-4462, 2013;
120. **Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, Robicsek A.** Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin Microbiol Rev.* 2009 Oct; 22(4):664-89;
121. **Struve C, Bojer M, Krogfelt KA.** Characterization of *Klebsiella pneumoniae* type 1 fimbriae by detection of phase variation during colonization and infection and impact on virulence. *Infect Immun.* 2008 Sep; 76(9):4055-65;
122. **Sunada A, Nakajima M, Ikeda Y, Kondo S, Hotta K.** Enzymatic 1-N-acetylation of paromomycin by an actinomycete strain #8 with multiple aminoglycoside resistance and paromomycin sensitivity. *J Antibiot (Tokyo).* 1999 Sep; 52(9):809-14;
123. **Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ.** ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multi-drug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *European Society of Clinical Microbiology. Clin Microbiol Infect.* 2014;20(Suppl 1):1–55;
124. **Thompson PR, Hughes DW, Cianciotto NP, Wright GD.** Spectinomycin kinase from *Legionella pneumophila*. Characterization of substrate specificity and identification of catalytically important residues. *J Biol Chem.* 1998 Jun 12; 273(24):14788-95;
125. **Tolmasky ME.** Aminoglycoside-modifying enzymes: characteristics, localization, and dissemination. In: Bonomo RA, Tolmasky ME, editors. *Enzyme-mediated resistance to antibiotics: mechanisms, dissemination, and prospects for inhibition.* ASM Press; Washington, DC: 2007a. pp. 35–52;
126. **Tomanicek SJ, Wang KK, Weiss KL, Blakeley MP, Cooper J, Chen Y.** The active site protonation states of perdeuterated Toho-1 beta-lactamase determined by neutron diffraction support a role for Glu166 as the general base in acylation. *FEBS Lett.* 2011;585:364–368;
127. **Tooke LC, Hinchliffe, Elis C. Bragginton, Charlotte K. Colenso, Viivi H.A. Hirvonen, Yuiko Takebayashi, James Spencer.** β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *J Mol Biol.* 2019 Aug 23; 431(18): 3472–3500;

128. **Torok E, Moran, E, Cooke F.** Oxford Handbook of Infectious Diseases and Microbiology. OUP Oxford. 2009. p. Chapter 2;
129. Toth M, Antunes NT, Stewart NK, Frase H, Bhattacharya M, Smith CA. Class D beta-lactamases do exist in Gram-positive bacteria. *Nat. Chem. Biol.* 2016;12:9–14;
130. **Toth M, Chow JW, Mobashery S, Vakulenko SB.** Source of phosphate in the enzymic reaction as a point of distinction among aminoglycoside 2''-phosphotransferases. *J Biol Chem.* 2009 Mar 13; 284(11):6690-6;
131. **Tsai WC, Strieter RM, Zisman DA, Wilkowski JM, Bucknell KA, Chen GH, Standiford TJ.** Nitric oxide is required for effective innate immunity against *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun.* 1997 May; 65(5):1870-5;
132. **Tsubery H, Ofek I, Cohen S, Fridkin, M.** Structure activity relationship study of polymyxin B nonapeptide. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2000, 479: 219–222;
133. **Vandavasi VG, Langan PS, Weiss KL, Parks JM, Cooper JB, Ginell SL.** Active-site protonation states in an acyl-enzyme intermediate of a class A beta-lactamase with a monobactam substrate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017;61;
134. **Velkov T, Roberts KD, Nation RL, Thompson PE, Li J.** Pharmacology of polymyxins: new insights into an 'old' class of antibiotics. *Future Microbiology.* 8 (6), 2013;
135. **Vliegthart JS, Ketelaar-van Gaalen PA, van de Klundert JA.** Nucleotide sequence of the *aacC3* gene, a gentamicin resistance determinant encoding aminoglycoside-(3)-N-acetyltransferase III expressed in *Pseudomonas aeruginosa* but not in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991 May; 35(5):892-7;
136. **Walker RC, Wright AJ.** The Fluoroquinolones. *Mayo Clinic Proceedings,* 66(12), 1991, 1249–1259;
137. **Ward KH, Olson ME, Lam K, Costerton JW.** Mechanism of persistent infection associated with peritoneal implants. *J Med Microbiol.* 1992 Jun; 36(6):406-13;
138. **WHO.** Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge Clean Care Is Safer Care. Geneva: World Health Organization; 2009. 7, Transmission of pathogens by hands;
139. **Wormser GP, Keusch KT, Heel RC.** Co-trimoxazole(Trimethoprim-sulfamethoxazole). *Drugs* 24, 459–518, 1982;

140. **Wright G, Berghuis A.** Structural aspects of aminoglycoside-modifying enzymes. Enzyme-mediated resistance to antibiotics: mechanisms, dissemination, and prospects for inhibition. ASM Press; Washington, DC: 2007. pp. 21–33;
141. **Xu X, Weiss ID, Zhang HH, Singh SP, Wynn TA, Wilson MS, Farber JM.** Conventional NK cells can produce IL-22 and promote host defense in *Klebsiella pneumoniae* pneumonia. *J Immunol.* 2014 Feb 15; 192(4):1778-86;
142. **Zwama M, Yamaguchi A.** Molecular mechanisms of AcrB-mediated multidrug export. *Res. Microbiol.* 169(7–8), 372–383 (2018).

DOKUMENTĀRĀ LAPA

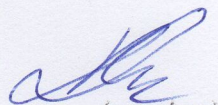
Maģistra darbs

no ķīmizģisvā materiāla izdalīto Klebsiella spp.
baktēriju β-laktamāžu producēšanai noteicšana

izstrādāts LU Medicīnas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors/e: Mārcis Kleina
(vārds, uzvārds)

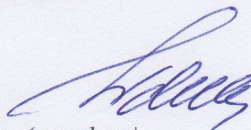

(paraksts)

16.05.2021
(datums)

Rekomendēju/nerekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs/a:

Doc. Dr. med. IVETA Līduma
(amats, vārds, uzvārds, grāds)


(paraksts)

17.05.2021
(datums)

Recenzents/e: _____
(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts) (datums)

Darbs iesniegts LU Medicīnas fakultātē _____
(datums)

Vecākā lietvede Juta Bārtule _____
(paraksts)

Maģistra darbs aizstāvēts maģistra studiju programmas „Farmācija” Maģistra gala pārbaudījuma komisijas sēdē _____ 2021., prot. Nr. _____.

Komisijas sekretāre: docente Kristīne Saleniece, Dr.pharm. _____
(paraksts)