

# KLEBSIELLA PNEUMONIAE- REZISTENCIJA NA ANTIBIOTIKE

---

Kezić, Karla

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:922607>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-04**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U RIJECI**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**

**SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

**Karla Kezić**

**KLEBSIELLA PNEUMONIAE - REZISTENCIJA NA ANTIBIOTIKE**

**Diplomski rad**

**Rijeka, 2022.**

**SVEUČILIŠTE U RIJECI**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**

**SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

**Karla Kezić**

**KLEBSIELLA PNEUMONIAE - REZISTENCIJA NA ANTIBIOTIKE**

**Diplomski rad**

**Rijeka, 2022.**

Mentor rada: Izv. prof. dr.sc. Marina Bubonja Šonje, dr.med.

Diplomski rad ocjenjen je dana 23.06.2022. na Medicinskom fakultetu Sveučilište u Rijeci

pred povjerenstvom u sastavu:

1. Prof.dr.sc. Darinka Vučković, dr.med.
2. Doc.dr.sc. Tanja Grubić Kezele, dr.med.
3. Doc.dr.sc. Đurđica Cekinović Grbeša, dr.med.

Rad sadrži 43 stranice, 4 slike, 3 tablice i 52 literaturna navoda.

## SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| <b>1. UVOD</b> .....  | 1  |
| <b>2. SVRHA RADA</b> .....  | 2  |
| <b>3. TAKSONOMIJA UZROČNIKA</b> .....                                   | 3  |
| <b>4. EPIDEMIOLOGIJA</b> .....  | 4  |
| <b>5. ČIMBENICI VIRULENCIJE</b> .....                                   | 5  |
| 5.1. KAPSULARNI POLISAHARID (CPS).....                                  | 6  |
| 5.2. LIPOPOLISAHARID (LPS).....   | 7  |
| 5.3. FIMBRIJE.....  | 7  |
| 5.4. PROTEINI VANJSKE MEMBRANE.....                                     | 8  |
| 5.5. SIDEROFORE.....  | 8  |
| <b>6. BIOFILM</b> .....   | 9  |
| <b>7. ANTIBIOTICI I MEHANIZMI REZISTENCIJE</b> .....                    | 10 |
| 7.1. B-LAKTAMSKI ANTIBIOTICI I MEHANIZMI REZISTENCIJE NA B-LAKTAME..... | 12 |
| 7.1.1. $\beta$ -laktamaze proširenog spektra (ESBL).....                | 13 |
| 7.1.2. Karbapenemaze.....   | 14 |
| 7.1.2.1. Klasa A karbapenemaza.....                                     | 14 |
| 7.1.2.2. Klasa B karbapenemaza.....                                     | 15 |
| 7.1.2.3. Klasa D karbapenemaza.....                                     | 15 |

|   |           |
|---|-----------|
| 7.1.3. AmpC laktamaze.....                                | 16        |
| 7.1.4. Gubitak porina.....                                | 16        |
| 7.1.5. Efluksne pumpe.....                                | 17        |
| 7.2. AMINOGLIKOZIDI I REZISTENCIJA NA AMINOGLIKOZIDE..... | 18        |
| 7.3. FLUOROKINOLONI I REZISTENCIJA NA KINOLONE.....       | 18        |
| 7.4. POLIMIKSINI I REZISTENCIJA NA POLIMIKSINE.....       | 19        |
| 7.5. TIGECIKLIN I REZISTENCIJA NA TIGECIKLIN.....         | 20        |
| <b>8. LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA.....</b>                | <b>22</b> |
| 8.1. METODE ODREĐIVANJA OSJETLJIVOSTI NA ANTIBIOTIKE..... | 24        |
| <b>9. KONTROLA INFEKCIJA.....</b>                         | <b>26</b> |
| <b>10. TERAPIJSKE MOGUĆNOSTI.....</b>                     | <b>27</b> |
| <b>11. RASPRAVA.....</b>                                  | <b>31</b> |
| <b>12. ZAKLJUČCI.....</b>                                 | <b>33</b> |
| <b>13. SAŽETAK.....</b>                                   | <b>34</b> |
| <b>14. SUMMARY.....</b>                                   | <b>35</b> |
| <b>15. LITERATURA .....</b>                               | <b>36</b> |
| <b>16. ŽIVOTOPIS.....</b>                                 | <b>43</b> |

## POPIS KRATICA

|        |   |
|--------|---|
| BI     | bolničke infekcije  |
| CA     | infekcije stečene u zajednici (eng. community-acquired infections)  |
| CPS    | kapsularni polisaharid (eng. capsular polysaccharide)   |
| ECDC   | Europski centar za sprječavanje i kontrolu bolesti (engl. European Centre for Disease Prevention and Control)   |
| EDTA   | etilendiaminotetraoctena kiselina (engl. ethylenediaminetetraacetic acid)   |
| ESBL   | $\beta$ -laktamaze proširenog spektra (eng. extended spectrum $\beta$ -lactamases)  |
| ESKAPE | <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter</i> spp. |
| HAI    | infekcije povezane sa zdravstvenom skrbi (eng. hospital-acquired infections)  |
| Hv     | hipervirulentna   |
| IMP    | imipenemaza (eng. imipenemase)  |
| JIL    | jedinica intenzivnog liječenja  |
| LPS    | lipopolisaharid   |

|              |   |
|--------------|---|
| MALDI-TOF MS | matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry                                      |
| MBL          | metalo- $\beta$ -laktamaze (eng. metallo- $\beta$ -lactamases)  |
| MDR          | višestrukorezistentne (eng. multidrugresistant)   |
| MIC          | minimalna inhibicijska koncentracija (eng. minimal inhibitory concentration)                                      |
| NDM          | New Delhi metalo $\beta$ -laktamaza (eng. New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase)                                  |
| OMP          | protein vanjske membrane (eng. outer membrane protein)  |
| pEtN         | fosfoetanolamin   |
| RT-PCR       | lančana reakcija polimeraze u realnom vremenu (eng. real time polymerase chain reaction)                          |
| SZO          | Svjetska zdravstvena organizacija   |
| TLR          | Toll-like receptore   |
| VAP          | upale pluća povezane s mehaničkom ventilacijom (eng.ventilator-associated pneumonia)                              |
| VIM          | Verona integron kodirajuća metalo- $\beta$ -laktamaza (engl. Verona-integron encoded metallo- $\beta$ -lactamase) |



## 1. UVOD

*Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) je gram-negativna, nesporena, nepokretna štapićasta bakterija, pripadnik reda *Enterobacterales*, obitelji *Enterobacteriaceae*. Prvi ju je opisao Friedlander 1882. god. nakon izolacije iz pluća bolesnika umrlih od upale pluća. Bakterija posjeduje vrlo izraženu polisaharidnu kapsulu koja je značajan činitelj virulencije. Zahvaljujući kapsuli rastom na čvrstoj hranjivoj podlozi bakterija stvara velike mukoidne kolonije. *K. pneumoniae* je oportunistički patogen, komenzal probavnog sustava čovjeka i životinja koji se često može izolirati i iz okoliša (voda, tlo, bilje). Kolonizira crijeva, kožu, nos i grlo zdravih osoba, ali također može uzrokovati niz infekcija u hospitaliziranih pacijenata, najčešće upalu pluća, infekcije rana i mokraćnog sustava. Infekcija uzrokovana *K. pneumoniae* osobito ugrožava rizične skupine - novorođenčad, starije osobe i imunokompromitirane. Prije otkrića antibiotika bila je značajan uzročnik izvanbolničke upale pluća, posebno u alkoholičara i dijabetičara. Tijekom proteklog desetljeća višestruko rezistentni (eng. multidrugresistant, MDR) sojevi *K. pneumoniae* koji proizvode  $\beta$ -laktamaze proširenog spektra (eng. extended spectrum  $\beta$ -lactamases, ESBL) i/ili karbapenemaze postaju javno-zdravstvena prijetnja i nalaze se među vodećim uzročnicima infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi (eng. hospital-acquired infections, HAI). Posebno zabrinjava porast broja infekcija uzrokovanih karbapenem-rezistentnim sojevima. Više od trećine izolata *K. pneumoniae* prijavljenih Europskom centru za sprječavanje i kontrolu bolesti (engl. European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) pokazuje otpornost na barem jednu skupinu antibiotika. *K. pneumoniae* je rezervoar gena rezistencije koji se mogu proširiti na druge gram-negativne bakterije (1-4). Jedna je od šest višestruko rezistentnih bakterija udruženih pod akronimom ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*) koje danas predstavljaju veliku lokalnu i globalnu prijetnju (5).

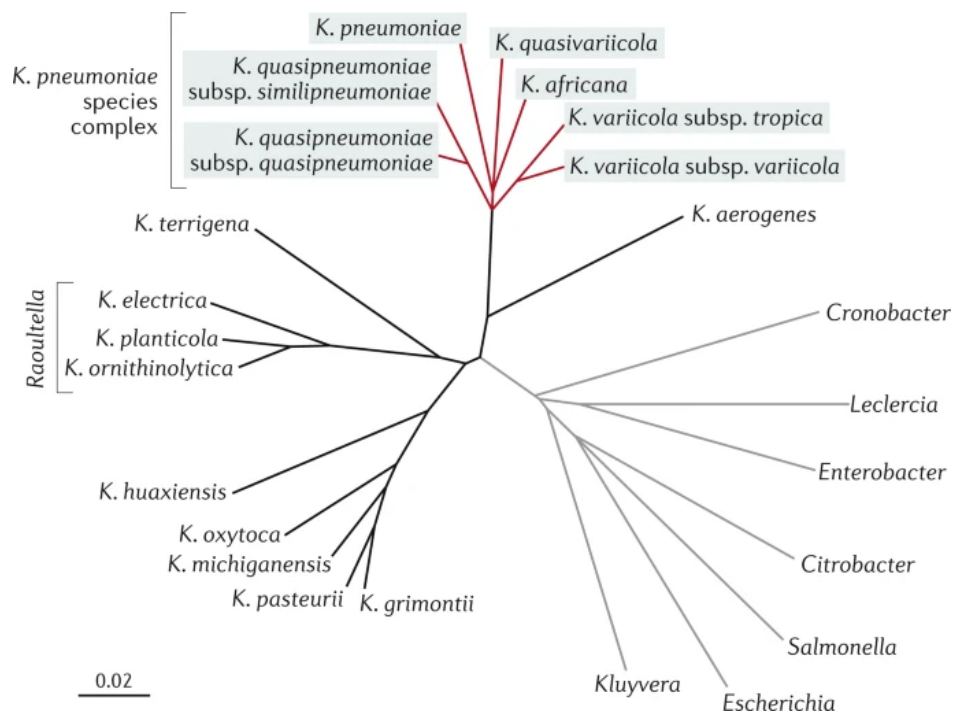
## 2. SVRHA RADA

Cilj ovog rada je opisati glavne karakteristike bakterije *K. pneumoniae* uključujući epidemiologiju, patogenezu, dijagnostiku i liječenje s naglaskom na antimikrobnu rezistenciju.

Svrha rada je na primjeru *K. pneumoniae* istaknuti povećanje rezistencije bakterija na antibiotike kao jedan od vodećih problema suvremene medicine.

### 3. TAKSONOMIJA UZROČNIKA

Novije filogenetske analize genoma (sekvenciranje 16S rRNA i rDNA) dovele su do revizije unutar roda *Klebsiella* koji je podijeljen u nekoliko vrsta, a rod *Raoultella* 2001. god. izdvojen kao zaseban rod. Na Slici 1. prikazani su filogenetski odnosi između *K. pneumoniae* i bliskih srodnika svrstanih u *K. pneumoniae* kompleks (crvene grane), drugih vrsta roda *Klebsiella* (crne grane) i ostalih pripadnika obitelji *Enterobacteriaceae* (sive grane) (4). Rod *Klebsiella* je stekao sposobnost stjecanja vanjskih genetskih materijala koji mu omogućuje evolucijsku prilagodbu. Osim lokusa gena smještenih na kromosomu, *K. pneumoniae* posjeduje veliki akcesorni plazmidni genom. Ovaj pomoćni genom zaslužan je za podjelu sojeva *K. pneumoniae* u oportunističke (klasične), hipervirulentne (hv) i MDR skupine, te razlikovanje *K. pneumoniae* od dvije blisko srodne vrste - *K. variicola* i *K. quasipneumoniae*. "Klasični" sojevi *K. pneumoniae* su oportunistički patogeni i čest su uzrok HAI, dok hv sojevi mogu uzrokovati infekcije i u zdravih osoba (3).



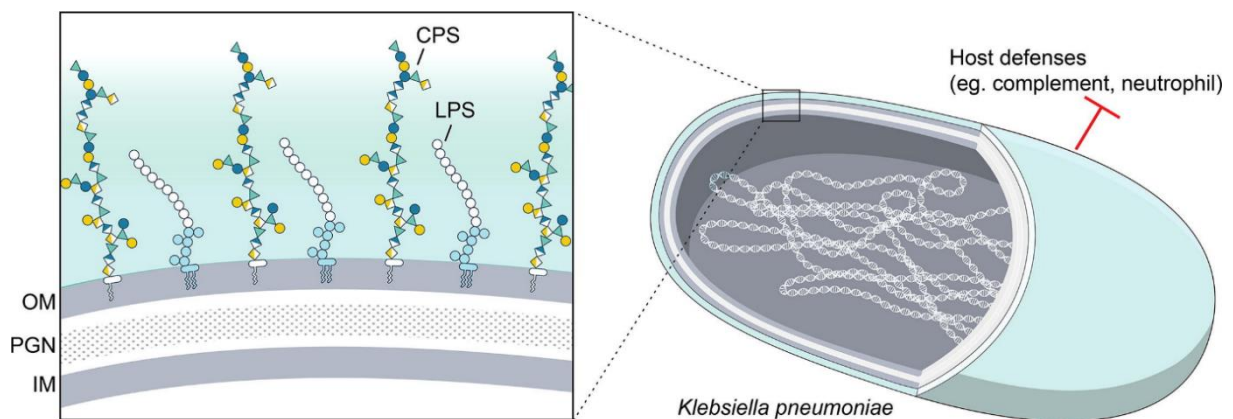
**Slika 1.** Taksonomski položaj *K. pneumoniae* (izvor: Wyres KL i sur. 2020) (4)

#### 4. EPIDEMIOLOGIJA

Bakterija *K. pneumoniae* je široko rasprostranjena u okolišu i može preživjeti u različitim ekološkim nišama kao što su tlo, voda, niz biljnih i životinjskih vrsta. Probavni sustav čovjeka služi kao primarni rezervoar *K. pneumoniae* (4). U općoj populaciji do 38% pojedinaca nosi ovu bakteriju u crijevima, a do 6% u nazofarinksu (6). *K. pneumoniae* većinom uzrokuje oportunističke infekcije povezane sa zdravstvenom skrbi, koje se ponekad nazivaju i "klasičnim" *K. pneumoniae* infekcijama. Najčešće infekcije su upala pluća, infekcije mokraćnog sustava i kirurškog mjesta, od kojih svaka može napredovati u bakterijemiju i sepsu (4). Najrizičnije skupine predstavljaju novorođenčad, starije i imunokompromitirane osobe. Prethodna kolonizacija crijeva bakterijom je ključni čimbenik rizika za stjecanje bolničke infekcije (BI), a rizik je četverostruko povećan u onkoloških bolesnika i u bolesnika koji su smješteni u jedinici intenzivnog liječenja (JIL) (4). Vrste roda *Klebsiella* identificirane su kao treći vodeći uzročnik BI u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD). Vodeći su uzročnici upale pluća povezane s mehaničkom ventilacijom (eng.ventilator-associated pneumonia, VAP) među bolesnicima smještenim u JIL-u, te su drugi vodeći uzročnici gram-negativne sepsis iz *E. coli* (3). Najučestalije BI uzrokovane klepsijelom su infekcije mokraćnog sustava koje se u većini slučajeva javljaju u kateteriziranih bolesnika (7). Postoji nekoliko potencijalnih puteva prijenosa *K. pneumoniae* pri čemu su ruke zdravstvenih radnika značajan izvor infekcije. Kontaminirane površine i instrumenti također su identificirani kao izvori prijenosa (3). Od 1980-ih god. prošlog stoljeća globalno se širi nova virulentnija varijanta *K. pneumoniae*, koja je odgovorna za infekcije stečene u zajednici (engl. community-acquired infections, CAI). Ovaj soj je prvi put opisan u Aziji, a poznat je po hipervirulentnom (hipermukoviskoznom) fenotipu te može uzrokovati endoftalmitis, upalu pluća, nekrotizirajući fasciitis, meningitis i piogeni apsces jetre (4,8).

## 5. ČIMBENICI VIRULENCIJE

Kako bi izbjegle imunološki sustav domaćina, bakterije su razvile cijeli repertoar strategija i posjeduju brojne čimbenike virulencije koji pridonose njihovoj preživljavanju unutar organizma domaćinu. Najbolje proučeni čimbenici virulencije *K. pneumoniae* su kapsularni polisaharid (eng. capsular polysaccharide, CPS), lipopolisaharid (LPS), fimbrije, proteini vanjske membrane (eng. outer membrane protein, OMP) i siderofore (Slika 2). LPS (O antigen) i CPS (K antigen) su sastojci vanjske membrane koji ulaze u interakciju s domaćinom (9). Većina sojeva *K. pneumoniae* proizvodi CPS koji bakteriji omogućuje otpornost na antimikrobnе peptide, kao i na fagocitozu (10). LPS, fimbrije tipa 1 i tipa 3 i OMP doprinose sposobnosti bakterije da se odupre fagocitozi, pričvrsti na površine i smanji propusnost stijenke za antibiotike (11). Sposobnost preuzimanja željeza pomoću siderofora dodatno doprinosi patogenom potencijalu ove bakterije (10).



**Slika 2.** Građa stanice i činitelji virulencije (izvor Opoku-Temeng C i sur. 2019) (9)

Kratice: CPS - kapsularni polisaharid (eng. capsular polysaccharide); IM - unutarnja membrana (eng. inner membrane); LPS - lipopolisaharid; OM - vanjska membrana (outer membrane); PGN – peptidoglikan

## 5.1. KAPSULARNI POLISAHARID (CPS)

Kapsula koja okružuje površinu *K. pneumoniae* služi kao glavni čimbenik virulencije. Na temelju raznolikosti polisaharidnih komponenti kapsule i različitih struktura i antigena vrsta se može podijeliti na najmanje 79 serotipova. Osam tipova spadaju u hv sojeve, s K1 i K2 kao najčešćim (12). Ti sojevi imaju hipermukoviskozni fenotip zbog povećane proizvodnje CPS i definirani su pojavom hipermukoviskoznih kolonija rastom na krutom hranilištu (13). Gen *rmpA* smješten na plazmidu regulira sintezu kapsularnog polisaharida. Sojevi koji nose *rmpA* su povezani s fenotipom hv *K. pneumoniae* uzročnikom gnojnih infekcija tkiva i apscesa (14). Kapsularni polisaharidi omogućavaju bakteriji:

- otpornost na fagocitozu
- suzbijanje ranog upalnog odgovora
- otpornost na antimikrobne peptide
- inhibiciju sazrijevanja dendritičkih stanica

**Otpornost na fagocitozu** postiže se time što kapsula na površini stanice blokira opsonizaciju i internalizaciju bakterije od strane makrofaga, neutrofila, epitelnih stanica i dendritičkih stanica (13). Epitelne stanice dišnih putova proizvode Toll-like receptore (TLR) koji prepoznaju molekule koje izražavaju patogeni. Nakon prepoznavanja, TLR aktiviraju signalne putove koji dovode do oslobađanja imunomedijatora - kemokina i citokina te proizvodnje antimikrobnih molekula, kao što su  $\beta$ -defenzini. **Protuupalni učinak** CPS-a karakterizira inhibicija ekspresije IL-8 inhibicijom TLR2 i TLR4 signalizacije i NOD1 ovisnih putova (13).

CPS na površini stanice *K. pneumoniae* djeluje kao **štit protiv domaćinovitih antimikrobnih peptida**. Također, oslobođen iz bakterijskih stanica može zarobiti antimikrobne polipeptide kako bi se smanjila njihova količina koja doseže bakterijsku površinu (13). CPS može narušiti

**sazrijevanje dendritičkih stanica** i time smanjiti proizvodnju proupalnih Th1 citokina, kao što je IL-12 i TNF- $\alpha$ , što dovodi do disfunkcije nezrelih dendritičkih stanica tijekom prezentacije antigena *K. pneumoniae* (13).

## 5.2. LIPOPOLISAHARID (LPS)

LPS, poznat još i kao endotoksin, je velika molekula koje se sastoji od tri dijela: hidrofobnog lipida A, varijabilnog O-antigena i polisaharidne jezgre, a nalazi se u vanjskoj membrani gram-negativnih bakterija i izaziva snažan imunološki odgovor. U *K. pneumoniae* je prepoznato devet O-antigenskih skupina (O1, O2, O2ac, O3, O4, O5, O7, O8 i O12). O1 je najčešći serotip među kliničkim izolatima *K. pneumoniae*, a češći je u hipermukoviskoznih sojeva. Kao najudaljenija podjedinica LPS-a, O-antigen je prva molekula s kojom se susreće domaćinov imunološki sustav te štiti bakteriju od ubijanja posredovanog komplementom (12,13). Ranija istraživanja su pokazala da O-antigen O1:K2 *K. pneumoniae* pridonosi povećanoj virulenciji slabljenjem aktivacije makrofaga (12).

## 5.3. FIMBRIJE

Adhezija bakterija na površine sluznice domaćina općenito se smatra bitnim korakom u uspostavi infekcije. U gram-negativnih bakterija adheziju često posreduju fimbrije, koje su filamentozne organele izražene na površini bakterijske stanice. *K. pneumoniae* posjeduje fimbrije tipa 1 i tipa 3. U genomu hv *K. pneumoniae* NTUH-2044 identificirano je sedam novih fimbrijalnih genskih klastera: *kpa*, *kpb*, *kpc*, *kpd*, *kpe*, *kpf* i *kfg*, a *Kpc* fimbrije su povezane s K1 serotipom hv *K. pneumoniae* (12). Fimbrije tipa 1 šire se izvan kapsule i posreduju prianjanje bakterija na strukture domaćina koje sadrže šećer manozu ili na izvanstanični matriks. Fimbrije

tipa 1 bitne su za početno uspostavljanje infekcije mokraćnog sustava, ali nemaju učinka na sposobnost *K. pneumoniae* da kolonizira crijeva ili inficira pluća (13). Fimbrije tipa 3 posreduju *in vitro* adheziju na epitelne stanice tkiva bubrega i pluća te imaju veliki doprinos u stvaranju biofilma. Fimbrije tipa 1 i 3 pojačavaju stvaranje biofilma na urinarnim kateterima (13).

#### 5.4. PROTEINI VANJSKE MEMBRANE

OmpA je jedan od glavnih proteina vanjske membrane gram-negativnih bakterija. U infekciji dišnog sustava uzrokovanoj klepsijelom OmpA doprinosi slabljenju staničnog upalnog odgovora tako što sprječava aktivaciju epitelnih stanica. *K. pneumoniae* proizvodi dva glavna porina vanjske membrane OmpK35 i OmpK36 i alternativne porine, kao što je KpnO i OmpK26 (13). Gubitak bilo kojeg od proteina OmpK36, KpnO ili OmpK26 dovodi do povećane otpornosti bakterije na cefalosporine/karbapeneme. Važno je napomenuti da gubitak OmpK36 remodelira površinsku strukturu klepsijele što olakšava vezanje fagocita dovodeći do povećane osjetljivosti na fagocitozu i slabljenja virulencije (13).

#### 5.5. SIDEROFORE

Siderofore su male molekule koje vežu željezo, esencijalan element koji je uključen u mnoge reakcije koje se odvijaju u bakterijskoj stanici. Siderofore se sintetiziraju unutar bakterija i izlučuju izvan stanica, nakon čega vežu željezo iz okoliša i prenose ga natrag u stanice. Receptori vanjske membrane prepoznaju kompleks siderofora-željezo te ga prenose na periplazmu. Kompleks se zatim prenosi u unutarnju membranu. Konačno, željezo uz pomoć ABC-transportera prelazi u bakterijsku citoplazmu, gdje se trovalentni feri-oblik ( $Fe^{+++}$ ) željeza svodi na dvovalentni feri-oblik željeza dostupan bakterijama (12). *K. pneumoniae* posjeduje



četiri siderofore: enterobaktin, jersinijabaktin, salmokelin i aerobaktin. Nedavna studija je pokazala da su sojevi hv *K. pneumoniae* sposobni proizvesti veće i aktivnije molekule koje apsorbiraju željezo, u usporedbi s ne-virulentnim sojevima (14). Enterobaktin se smatra glavnim sustavom apsorpcije željeza, te ima najveći afinitet prema željezu. Salmokelin je povezan s invazivnim bolestima i čest je kod hv *K. pneumoniae* (14). Aerobaktin je izražen u >90% hv *K. pneumoniae* sojeva, a samo u 6% klasičnih *K. pneumoniae* sojeva, te je specifičniji za hv *K. pneumoniae* u usporedbi s enterobaktinom i jersinijabaktinom (12).

## 6. BIOFILM

Biofilm je sesilni bakterijski oblik života koji im olakšava preživljavanje, a povezuje se s brojnim bakterijskim infekcijama. Infekcije povezane s biofilmom obično su kronične prirode, budući da su bakterije koje žive u biofilmu otpornije na antibiotike i dezinficijense te zaštićene od imunološkog odgovora domaćina. Biofilm predstavlja ključni mehanizam u virulenciji i patogenezi bolesti uzrokovanih ESKAPE grupom bakterija. Stvaranje biofilma je složen proces koji je podijeljen u faze koje uključuju ranu adherenciju bakterija, formaciju mikrokolonija, razvoj zrelog biofilma i oslobađanje planktonskih bakterija iz biofilma (5,15). Najvažnije površinske strukture uključene u proces stvaranja biofilma *K. pneumoniae* su fimbrije tipa 3 i kapsularni polisaharid. Fimbrije omogućavaju stabilnu adherenciju, dok CP pridonosi strukturi biofilma i utječe na komunikaciju između stanica (14). Klinički najznačajniji *K. pneumoniae* biofilmovi su oni nastali na unutarnjim površinama katetera. *K. pneumoniae* biofilmovi također mogu doprinijeti kolonizaciji probavnog, respiratornog i mokraćnog sustava i razvoju invazivnih infekcija, posebno kod imunokompromitiranih bolesnika (14).

## 7. ANTIBIOTICI I MEHANIZMI REZISTENCIJE

Rastuća antimikrobna rezistencija u današnje je vrijeme jedna je od najozbiljnijih prijetnji javnom zdravstvu. Bakterije koje uzrokuju infekcije razvijaju otpornost na svaki novi antibiotik koji dolazi na tržište. Otpornost na antibiotike prirodna je pojava koja se javlja kada su bakterije izložene antibioticima. Selektivni pritisak antibiotika inhibira ili ubija osjetljive bakterije, dok bakterije koje su prirodno (ili intrinzično) otporne ili koje su stekle svojstva otpornosti imaju veće šanse za preživljavanje i razmnožavanje. Porastu rezistencije na antibiotike doprinosi prekomjerna i neodgovarajuća uporaba antibiotika (neprikladan izbor, neadekvatno doziranje). Mehanizmi rezistencije dijele se u četiri glavne skupine (16):

- promjena ciljnog mjesta antibiotika
- smanjenje propusnosti stanične membrane
- enzimska inaktivacija antibiotika
- pojačano izbacivanje (efluks) antibiotika

*K. pneumoniae* je intrinzično rezistentna na ampicilin zbog prisutnosti SHV-1 penicilinaze na kromosomu, dok je otpornost na druge  $\beta$ -laktamske antibiotike stečena, bilo kromosomskim mutacijama ili horizontalnim prijenosom gena (17). Početkom 1980-ih, uvođenje cefalosporina treće generacije za liječenje enterobakterijskih infekcija otpornih na ampicilin, rezultiralo je pojavom ESBL sojeva koji su otporni na sve  $\beta$ -laktamske antibiotike osim karbapenema (18). Karbapenemi su zatim postali terapija izbora za liječenje ESBL infekcija. Prvi sojevi *K. pneumoniae* koji proizvodi enzim (karbapenemazu) sposoban hidrolizirati sve  $\beta$ -laktame, uključujući karbapeneme, identificiran je u SAD-u 1996. god. (19). Opsežna upotreba karbapenema imala je za posljedicu brzo širenje MDR sojeva koji proizvode karbapenemaze. Mehanizmi antibiotske rezistencije u *K. pneumoniae* prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Mehanizmi rezistencije *K. pneumoniae* na pojedine skupine antibiotika (Izvor: Galani i sur. 2021) (17)

| Skupina antibiotika            | Važni mehanizmi  | Komentar   |
|--------------------------------|--|--|
| <b>β-laktamski antibiotici</b> | <b>Modifikacija antibiotika</b><br>ESBL (SHV, CTX-M..)<br>Plazmidima posredovane AmpC (CMY, DHA, FOX, MOX tip)<br>Karbapenemaze (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48) | Često prenosive mobilnim genetskim elementima. Fenotipski izraženija rezistencija uz kombinaciju mehanizama (smanjena propusnost ili efluks) |
|                                | <b>Membranska propusnost</b><br>(OmpK36, OmpK35)   | Važno za rezistenciju na karbapeneme   |
| <b>Aminoglikozidi</b>          | <b>Modifikacija antibiotika</b><br>Acetilaze<br>Aminoacil transferaze<br>Fosfotrasferaze   | Uzak spektar aktivnosti. Plazmidima posredovani geni rezistencije  |
|                                | <b>Modifikacija ciljnog mjesta</b><br>16S rRNA metilaza (ArmA, Rmt-tip)  | Visok nivo rezistencije. Plazmidima posredovani geni rezistencije  |
|                                | <b>Efluks pumpe:</b> AcrAB-ToIC, KpnEF   | Sustavi efluksnih pumpi: rezistencija na tobramicin i gentamicin   |
| <b>Fluorokinoloni</b>          | <b>Modifikacija ciljnog mjesta</b><br>DNA giraza ( <i>gyrA</i> i <i>gyrB</i> ) mutacije<br>Topoizomeraza IV ( <i>parC</i> i <i>parE</i> ) mutacije           | Akumulacija mutacija u genima za DNA girazu ili topoizomerazu IV doprinosi većem stupnju rezistencije  |
|                                | <b>Mimikrija ciljnog mjesta:</b> Qnr proteini  | Veći nivo rezistencije ako soj nosi drugi gen rezistencije ili prekomjerno izražava efluksnu pumpu   |
|                                | <b>Efluks pumpe</b> AcrAB-ToIC, OqxAB, QepA  |  |
|                                | <b>Modifikacija antibiotika</b> <i>aac(6′)-Ib-cr</i>   | Rezistencija i na aminoglikozide   |
| <b>Polimiksini</b>             | <b>Posttranslacijska modifikacija LPS-a</b><br>Stjecanje <i>mcr</i> gena<br>LPS modifikacija   | Posljedica mutacija<br>Nalazi se na plazmidu i lako se može širiti konjugacijom  |
|                                | <b>Tigeciklin</b>  | <b>RND efluksne pumpe:</b><br>AcrAB-ToIC, OqxAB<br><b>Modifikacija antibiotika:</b> Tet(X)   |

## 7.1. B-LAKTAMSKI ANTIBIOTICI I MEHANIZMI REZISTENCIJE NA B-LAKTAME

Svi  $\beta$ -laktamski antibiotici u svojoj kemijskoj strukturi sadrže  $\beta$ -laktamski prsten, a dijele se na peniciline, cefalosporine i cefamicine, monobaktame i karbapeneme. Skupina penicilina uključuje uskospektralne prirodne peniciline, peniciline otporne na  $\beta$ -laktamazu, aminopeniciline, karboksipeniciline i ureidopeniciline. Cefalosporini se tradicionalno dijele u pet klasa ili generacija, a novije klase imaju širi spektar djelovanja te povećanu aktivnost prema gram-negativnim bakterijama (16).  $\beta$ -laktamski prsten karbapenemima pruža zaštitu od većine  $\beta$ -laktamaza, a otpornost na karbapeneme postaje značajan problem i javlja se uglavnom među gram-negativnim bakterijama (npr. *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* i *A. baumannii*), koje proizvode različite klase enzima karbapenemaza. Inhibitori  $\beta$ -laktamaza pokazuju sinergistički učinak s  $\beta$ -laktamskim antibioticima inaktivirajući enzime koji hidroliziraju i inaktiviraju  $\beta$ -laktamski prsten, osobito gram-negativnih bakterija. Ti agensi uključuju inhibitore  $\beta$ -laktamaze prve generacije (klavulanska kiselina, sulbaktam i tazobaktam) i noviji avibaktam i vaborbaktam koji su aktivni protiv karbapenemaza.  $\beta$ -laktamski se antibiotici ubrajaju u antibiotike koji se najčešće primjenjuju, baktericidni su te djeluju inhibitorno na sintezu stanične stijenke bakterija (16). U *K. pneumoniae* i ostalih enterobakterija postoje tri glavna mehanizma rezistencije na  $\beta$ -laktame: proizvodnja enzima, prekomjerna ekspresija efluksnih pumpi koje izbacuju antibiotik i otežan ulazak antibiotika u stanicu uslijed modifikacija porina (20). Najvažniji mehanizam rezistencije je proizvodnja  $\beta$ -laktamaza koji hidroliziraju  $\beta$ -laktamske antibiotike.  $\beta$ -laktamaze su kodirane kromosomski ili genima smještenim na pokretnim genskim elementima koji se mogu prenositi među različitim vrstama bakterija (17).

### 7.1.1. $\beta$ -laktamaze proširenog spektra (ESBL)

Proizvodnja  $\beta$ -laktamaza kodirana je genima koji mogu biti smješteni na kromosomu ili plazmidima. Plazmidni geni za produkciju ovih enzima obično se nalaze na istom lokusu, zajedno s genima odgovornim za rezistenciju na druge skupine antimikrobnih lijekova (kinoloni, aminoglikozidi, sulfonamidi) što otežava izbor antibiotika i liječenje.  $\beta$ -laktamaze klepsijele, kao i ostalih gram-negativnih bakterija, nalaze se u periplazmatskom prostoru bakterijske stanice te inaktiviraju antibiotik prije nego što stigne do ciljnog mjesta. Djelotvornost ovih enzima ovisi o njihovu afinitetu za određeni supstrat pa tako razlikujemo penicilinaze, cefalosporinaze i karbapenemaze. Amblerova (molekularna) podjela  $\beta$ -laktamaza dijeli ih u četiri skupine označene slovima od A do D (21).

Polovinom prošlog stoljeća otkrivene su prve plazmidne  $\beta$ -laktamaze koje su imale širi spektar od penicilinaza (nose otpornost na peniciline i cefalosporine prve generacije). Novootkrivenoj skupini pripadala je i kromosomska SHV-1  $\beta$ -laktamaza intrinzična u *K. pneumoniae*. Pretjerana primjena cefalosporina treće generacije omogućila je prilagodbu bakterija na nove  $\beta$ -laktamske antibiotike i produkciju novih enzima još šireg spektra koji su nazvani ESBL enzimi. Prvi ESBL gen, *bla*<sub>SHV-2</sub>, identificiran je u *K. pneumoniae* u Njemačkoj 1987. god. (19). ESBL enzimi su plazmidima kodirane  $\beta$ -laktamaze koje hidroliziraju peniciline, cefalosporine prve, druge i treće generacije, te aztreonam, pri čemu je većina osjetljiva na inhibitore  $\beta$ -laktamaza (klavulansku kiselinu, sulbaktam i tazobaktam). ESBL enzimi su podijeljeni u tri glavne skupine: TEM, SHV i CTX-M, među kojima je CTX-M dominantna grupa u *K. pneumoniae* ESBL producirajući sojevi *K. pneumoniae* uglavnom uzrokuju bolničke infekcije. U većini slučajeva radi se o višestruko rezistentnim sojevima što predstavlja veliki izazov u liječenju (22).

### 7.1.2. Karbapenemaze

Karbapenemaze su  $\beta$ -laktamaze s raznovrsnim hidrolitičkim kapacitetima, hidroliziraju peniciline, cefalosporine, monobaktame i karbapeneme (23). Produkcija karbapenemaza, uključujući KPC, NDM i OXA-48 karbapenemaze najčešći je mehanizam rezistencije među kliničkim izolatima enterobakterija otpornih na karbapeneme. Prema Amblerovoj molekularnoj klasifikaciji, karbapenemaze pripadaju klasama A, B i D  $\beta$ -laktamaza (Tablica 2) (21). Klase A i D karbapenemaza za svoju hidrolitičku aktivnost trebaju aminokiselinu serin. Metallo- $\beta$ -laktamaze (engl. metallo- $\beta$ -lactamases, MBL) su karbapenemaze klase B koje za svoju aktivnost zahtijevaju bivalentni metalni cinkov ion. Otporne su na inhibitore  $\beta$ -laktamaza, ali su osjetljive na metalne ionske kelatore, kao što je etilendiaminotetraoctena kiselina (engl. ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) (23). Prenosivi genski elementi koji kodiraju karbapenemaze obično sadrže i gene otpornosti na ostale antibiotike što znatno ograničava terapijske opcije.

Tablica 2. Klasifikacija karbapenemaza (Izvor: Rapp RP i sur. 2012) (21)

| <b>Molekularna klasa <math>\beta</math>-laktamaza</b> | <b>Karbapenemaze</b> |
|---|----------------------|
| Klasa A   | KPC, IMI             |
| Klasa B (metalo- $\beta$ -laktamaze)                  | IMP, VIM, NDM        |
| Klasa D (oksacilinaze)                                | OXA-48 like enzimi   |

#### 7.1.2.1. Klasa A karbapenemaza

KPC karbapenemaze (engl. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) su klinički najznačajniji enzimi među klasom A karbapenemaza (24). KPC enzimi mogu hidrolizirati sve  $\beta$ -laktame, uključujući karbapeneme, cefalosporine, cefamicine, monobaktame, a otporne su na većinu inhibitora  $\beta$ -laktamaza. Avibaktam, ne-beta-laktamski inhibitor  $\beta$ -laktamaza, može inaktivirati karbapenemaze KPC-tipa, predstavljajući tako novu terapijsku alternativu za liječenje infekcija

uzrokovanih KPC producirajućim sojevima. KPC enzimi su nađeni u brojnim gram-negativnim bakterijama (enterobakterije, pseudomonas, acinetobakter) no najčešće u *K. pneumoniae*. Endemski su prisutni u nekim zemljama (primjerice SAD) gdje uzrokuju bolničke epidemije. Infekcije uzrokovane bakterijama koje proizvode KPC karbapenemaze imaju visoku stopu mortaliteta. U SAD-u i Europi dominantno je proširen hipervirulentni ST258 KPC-producirajući klon bakterije (25).

#### 7.1.2.2. Klasa B karbapenemaza

Metallo- $\beta$ -laktamaze Amblerove klase B (MBL) kodirane su plazmidom, a predstavljaju kliničku prijetnju jer se nalaze u mobilnim genetskim strukturama koje nose gene otpornosti i na druge klase antibiotika (17). Među enterobakterijama najčešći MBL enzimi su IMP (engl. imipenemase), VIM (engl. Verona-integron encoded metallo- $\beta$ -lactamase) i NDM (engl. New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase) (26). MBL enzimi hidroliziraju većinu  $\beta$ -laktama, uključujući karbapeneme, ali ne i aztreonam. No, istraživanja pokazuju da je više od 80% NDM-1 sojeva *K. pneumoniae* otporno i na aztreonam zbog istovremene produkcije ESBL (uglavnom vrsta CTX-M) i AmpC enzima (23).

#### 7.1.2.3. Klasa D karbapenemaza

$\beta$ -laktamaze klase D su kategorizirane kao "oksacilinaze" zbog svoje sposobnosti hidroliziranja oksacilina (20). Oksacilinaze imaju hidrolitičku aktivnost protiv penicilina i slabo su inhibirane inhibitorima  $\beta$ -laktamaza, osim avibaktama. Samo dio OXA obitelji  $\beta$ -laktamaza (OXA-23, OXA-40, kao i sve proširenije OXA-48) ima hidrolitičku aktivnost prema ertapenemu i u manjoj mjeri

prema meropenemu i imipenemu. OXA-48 producirajuća *K. pneumoniae* prvi je put izolirana u Turskoj 2001. god. gdje je sada endemski prisutna. Bolničke epidemije uzrokovane OXA-48 producirajućom *K. pneumoniae* otkrivene su u nekoliko europskih zemalja, poput Francuske, Njemačke, Nizozemske, Italije (27). Njen epidemijski potencijal uočen je i u Hrvatskoj. Naime, u nekoliko hrvatskih bolnica u periodu od 2015. god. do 2017. god. OXA-48 je postala najdominantnija karbapenemaza, za razliku od perioda 2012. god. do 2013. god. kada je prevladavala VIM-1 karbapenemaza (28). Globalno širenje *K. pneumoniae* koja proizvodi OXA-48 enzime se može pripisati stjecanju epidemijskog plazmida koji nosi kodirajući *bla<sub>OXA-48</sub>* gen kao jedini gen u transpozonu Tn1999 (23).

#### 7.1.3. AmpC $\beta$ -laktamaze

AmpC  $\beta$ -laktamaze su cefalosporinaze kodirane kromosomima mnogih enterobakterija (*Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii* i *Serratia* spp.) te pokazuju rezistenciju na cefazolin, cefoksitin, većinu penicilina i inhibitora  $\beta$ -laktamaza. AmpC enzimi su inducibilni te njihova prekomjerna ekspresija može dovesti do rezistencije na cefalosporine proširenog spektra kao što su cefotaksim, ceftazidim i ceftriakson. Pomoću plazmida ove  $\beta$ -laktamaze mogu preći i na *K. pneumoniae* koja ih prirodno ne posjeduje (29). Osim što hidroliziraju cefalosporine treće generacije, AmpC enzimi su otporni na inhibiciju većinom inhibitora  $\beta$ -laktamaza.

#### 7.1.4. Gubitak porina

Vanjska membrana gram-negativnih bakterija jedinstvene je arhitekture, a sastoji se od fosfolipida, LPS-a, lipoproteina i porina. Porini su transmembranski proteinski koji formiraju



kanale i omogućuju pasivnu difuziju hidrofилnih molekula manje molekularne mase. Smanjena ekspresija porina vanjske membrane dovodi do slabijeg prolaska antibiotika u bakterijsku stanicu te povećanja vrijednosti minimalnih inhibicijskih koncentracija (eng. minimal inhibitory concentration, MIC) antibiotika, najčešće onih koji djeluju na sintezu peptidoglikana. OmpK35 i OmpK36 su glavni porini vanjske membrane *K. pneumoniae*. Klinički izolati *K. pneumoniae* koji proizvode ESBL enzime ili karbapenemaze obično pokazuju gubitak OmpK35 ili gubitak OmpK35 i OmpK36 porina (17). Mutacije OmpK36 porina koje dovode do promjene u veličini pora otežavaju prodiranje karbapenema i cefalosporina u bakterijsku stanicu. Smanjena osjetljivost na nove antibiotike - kombinacije karbapenema s inhibitorima  $\beta$ -laktamaza kao što je meropenem-vaborbaktam također je povezana s gubitkom OmpK36 i OmpK35, kao i rezistencija na imipenem-relabaktam (17). U studiji provedenoj u Kliničkom bolničkom centru (KBC) Rijeka molekularna analiza kliničkih sojeva ertapenem-rezistente ESBL-producirajuće *K. pneumoniae* je pokazala smanjenu ekspresiju OmpK35 porina (30). Među sojevima koji su bili dodatno rezistentni na barem još jedan karbapenemski antibiotik u manjoj mjeri je dokazana i smanjena ekspresija OmpK36 porina.

#### 7.1.5. Efluksne pumpe

Bakterijske efluksne pumpe su proteinski transportni sustavi koji aktivnim transportom izbacuju neželjene toksične tvari iz bakterijske stanice, a nalaze se na citoplazmatskoj membrani. Pojačana ekspresija efluksnih pumpi je jedan od mehanizama koji uzrokuje povećanu otpornost na mnoge vrste antimikrobnih lijekova. AcrAB, OqxAB, EefAB, KexD, KmrA, KdeA i CepA efluksne pumpe mogu izbacivati različite antibiotike iz bakterijske stanice. Iako se ranije smatralo da ovaj mehanizam ne doprinosi značajno rezistenciji klepsijele na

$\beta$ -laktamske antibiotike, ako je udružen s drugim mehanizmima rezistencije, kao što je promjena permeabilnosti vanjske membrane, može doprinijeti značajnom povišenju MIC vrijednosti (30).

## 7.2. AMINOGLIKOZIDI I REZISTENCIJA NA AMINOGLIKOZIDE

Aminoglikozidi su baktericidni antibiotici širokog spektra, a uključuju gentamicin, amikacin, tobramicin, neomicin i streptomycin. Primjenjuju se parenteralno, a zbog njihovog uske terapijske širine tijekom primjene treba pratiti bubrežnu funkciju bolesnika kako bi se izbjegla toksičnost. Najčešći mehanizam otpornosti na aminoglikozide je produkcija enzima koji modficiraju antibiotik. Oni uključuju N-acetiltransferaze, O-nukleotidil-transferaze i O-fosfotranferaze (17). Drugi mehanizam je produkcija enzima 16SrRNA metilaze koji blokira vezanje aminoglikozida na 16SrRNA te nosi rezistenciju na gotovo sve aminoglikozide, uključujući tobramicin, gentamicin i amikacin (14,31). Ostali mehanizmi rezistencije na aminoglikozide uključuju izmjenu propusnosti membrane zbog gubitka porina KpnO te pojačan efluks uslijed pojačane ekspresije efluksnih pumpi AcrAB-TolC i KpnEF (19). Studije su pokazale da su porini KpnO izravno uključeni u otpornost na aminoglikozide i mogu dovesti do tolerancije tobramicina, streptomicina i spektromicina (14).

## 7.3. FLUOROKINOLONI I REZISTENCIJA NA KINOLONE

Fluorokinoloni su širokospektralni baktericidni antibiotici, a uključuju ciprofloksacin, gemifloksacin, levofloksacin, moksifloksacin, norfloksacin i ofloksacin. Ometaju sintezu nukleinskih kiselina inhibirajući aktivnost DNA giraze i topoizomeraze IV. Glavni mehanizam

rezistencije na kinolone je kromosomska mutacija ciljnih mjesta njihova djelovanja - DNA girazi (*gyrA-gyrB* podjedinice) i topoizomerazi IV (*parC-parE* podjedinice) (19). Ostali mehanizmi rezistencije uključuju ekspresiju plazmidski posredovanog *qnr* gena, ekspresiju aminoglikozidne acetiltransferaze i kinolonskih efluksnih pumpi QepA i OqxAB (31). *Qnr* gen kodira proteine koji fizički štite DNA girazu i topoizomerazu IV od inhibicije kinolonima. AAC(6')-Ib-cr je bifunkcionalna aminoglikozidna acetiltransferaza, koja osim aminoglikozida može katalizirati acetilaciju piperazinilne grupe norfloksacina i ciprofloksacina (17,31). Ekspresija QepA efluksne pumpe je posredovana plazmidom i smanjuje osjetljivost na hidrofilne fluorokinolone, osobito ciprofloksacin i norfloksacin. OqxAB efluksna pumpa, kodirana genima *oqxA* i *oqxB*, pridonosi rezistenciji na kinolone kao što su nalidiksična kiselina, norfloksacin i ciprofloksacin (17). Istraživanja su pokazala da su promjene u propusnosti stanica također uključene u rezistenciju na kinolone, uključujući nedostatak OmpK36 porina, kao i prekomjerna ekspresija gena efluksne pumpe *acrAB* (14).

#### 7.4 POLIMIKSINI I REZISTENCIJA NA POLIMIKSINE

Kolistin je polimiksin, stari baktericidni antibiotik sa značajnom aktivnošću protiv gram-negativnih bakterija uključujući *K. pneumoniae*, a počeo se ponovo primjenjivati kao zadnja linija obrane za liječenje infekcija uzrokovanih bakterijama otpornim na sve ostale antibiotike. Mehanizam djelovanja kolistina je oštećenje vanjske stanične membrane što dovodi do propuštanja unutarstaničnih sadržaja i smrti bakterije. Najčešći mehanizam rezistencije na kolistin je modifikacija ciljnog mjesta (bakterijskog lipida A) dodavanjem kationskih skupina fosfoetanolamina(pEtN) ili 4-amino-4-deoksi-L-arabinoze(L-Ara4N) što sprječava vezanje kolistina za lipid A (32). Te su promjene posredovane prekomjernom ekspresijom gena *pmrC*

(kodira PEtN transferazu koja katalizira prijenos PEtN-a na lipid A) ili operona *pmrHFIJKLMB* (odgovoran za sintezu L-Ara4N). Povišena ekspresija *pmrC* ili *pmrHFIJKLM* uglavnom je posljedica kromosomskih mutacija u dvokomponentnim sustavima *phoP/phoQ*, *pmrA/pmrB* i *crrA/crrB* ili *mgrB* gena (negativni regulator *phoP/phoQ*) (32). Također, *K. pneumoniae* može posjedovati rezistenciju na kolistin posredovanu plazmidom preko *mrc* gena. On kodira protein Mcr-1 koji pripada PEtN transferaznoj obitelji i može posredovati u prijenosu PEtN-a na lipid A na sličan način kao PmrC. Ostali mehanizmi rezistencije uključuju pojačanu ekspresiju efluks pumpi (AcrAB-TolC i KpnEF) te prekomjernu proizvodnju kapsularnog polisaharida (14,32). Nakon izolacije prvih sporadičnih slučajeva kolistin-rezistentne *K. pneumoniae* ESBL OXA-48 u hrvatskim bolnicama, tijekom 2019. god. uočeno je alarmantno širenje ovog soja u nekoliko bolnica koje se nalaze u različitim geografskim regijama Hrvatske, ali i u izvanbolničkih pacijenata (33). Molekularnom analizom nisu pronađeni *mcr* geni odgovorni za prenosivu rezistenciju na kolistin, što ukazuje da je rezistencija vjerojatno posljedica kromosomskih mutacija. Kolistin se intenzivno koristi u našim bolnicama tijekom posljednjih deset godina, a prisutnost rezistencije na kolistin u *K. pneumoniae* izolirane iz različitih hrvatskih bolnica naglašava potrebu za ograničenom primjenom kolistina i ranim prepoznavanjem rezistentnih sojeva.

## 7.5. TIGECIKLIN I REZISTENCIJA NA TIGECIKLIN

Tigeciklin je glicilciklinski antibiotik širokog spektra. Veže se na bakterijski ribosom blokirajući vezanje tRNA te sprječavajući sintezu proteina zaustavljanjem ugradnje aminokiselina u peptidne lance. Otpornost na tetracikline javlja se uglavnom kroz ekspresiju efluksnih pumpi, kao što je TetB (31). Poznati mehanizmi tolerancije tigeciklina uključuju izmjenu njegovog

ciljnog mjesta što su ribosomske jedinice 30S i 16S, kao i promjene u propusnosti stanica. Istraživanja su pokazala da prekomjerna ekspresija efluksnih pumpi AcrAB-TolC i OqxAB i promjene ekspresije njihovih regulatora (*ramA*, *ramR*, *rarA* i *acrR*) također mogu dovesti do rezistencije na tigeciklin (14). Zabrinjavajuća pojava rezistencije na tigeciklin uočena je u 10% izolata ertapenem-rezistentne *K. pneumoniae* koja se proširila unutar KBC Rijeka (uglavnom JIL i kirurški odjeli) u periodu 2012. god. - 2014. god. (30). Budući da u izolatima nije detektirana pojačana ekspresija AcrAB-TolC efluksnih pumpi, rezistencija na tigeciklin je vjerojatno bila posredovana otežanom difuzijom antibiotika uslijed slabe ekspresije OmpK35 porina.

## 8. LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Odabir kliničkog uzorka za mikrobiološku dijagnostiku primarno ovisi o lokalizaciji infekcije. Za većinu testova koji se izvode u mikrobiološkom laboratoriju potrebno je izolirati žive bakterije. Konvencionalne metode koje se koriste za identifikaciju *K. pneumoniae* uključuju izravnu mikroskopiju kliničkog uzorka, uzgoj bakterija u odgovarajućim hranilištima, biokemijsku identifikaciju i upotrebu automatskih sustava identifikacije, kao što je VITEK 2 sustav (34). Klinički uzorci kao što je urin se mogu inokulirati na krvni agar i / ili diferencijalna kromogena hranilišta kao što je MacConkey agar, Uriselect, CLED i dr. Primarno sterilne uzorke (likvor, krv, biopsati, sinovijalna tekućina) potrebno je inokulirati na obogaćena hranilišta za aerobni i anaerobni uzgoj ili u komercijalne bočice za hemokulturu koje se očitavaju automatiziranim instrumentima kao što je BacT/ALERT 3D (BioMerieux, Francuska) (34). Rastom na čvrstom hranilištu *K. pneumoniae* karakteristično formira mukoidne kolonije s istaknutom kapsulom koja se može dokazati određenim tehnikama bojenja (35). *K. pneumoniae* fermentira glukozu i laktozu te je ureaza pozitivna, a uz druge osobine, navedena se biokemijska svojstva koriste za fenotipsku identifikaciju. Iako se infekcije uzrokovane enterobakterijama mogu dijagnosticirati serološkim testovima, oni nisu korisni za dijagnostiku *K. pneumoniae* (36). „Ručnim“ ili automatiziranim biokemijskim tehnikama identifikacije bakterija često nedostaje osjetljivost i specifičnost, a dodatan problem predstavlja vrijeme koje je potrebno za izdavanje nalaza (dva do tri dana) što dovodi do odlaganja uvođenja antibiotika. Stoga se u novije vrijeme biokemijske tehnike identifikacije sve češće zamjenjuju analizom proteina bakterija masenom spektrometrijom (engl, matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS). Iako je MALDI-TOF metoda pouzdana i brza, visoka cijena uređaja usporava njezino uvođenje u kliničke laboratorije (37).

Posljednjih se godina sve više primjenjuju različite molekularne metode za detekciju nukleinske kiseline uzročnika infekcije. Lančana reakcija polimeraze u realnom vremenu (eng. real time polymerase chain reaction, RT-PCR) nudi mogućnost brze identifikacije *K. pneumoniae* iz različitih bioloških uzoraka i tjelesnih tekućina unutar nekoliko sati (38). Ostale molekularne metode uključuju elektroforezu DNA u promjenjivom električnom polju (eng. pulsed field gel electrophoresis, PFGE), enterobakterijski ponavljajući intergenski konsenzus (eng. enterobacterial repetitive intergenic consensus-, ERIC-PCR), metoda slučajnog umnažanja polimorfne DNA (eng. randomly amplified polymorphic DNA, RAPD) i ponavljajuću ekstrageni lančanu reakciju palindromične polimeraze (eng. extragenic palindromic polymerase chain reaction, rep-PCR) i analizu više sekvenci gena (eng. multilocus sequence typing, MLST). Navedene se metode češće koriste u epidemiološke ili istraživačke svrhe za utvrđivanje genetske povezanosti izolata. Rep-PCR se koristi za genotipizaciju *K. pneumoniae* iz različitih izvora. Kao jednostavna, brza, jeftina i pouzdana metoda genotipizacije rep-PCR ima prednost u odnosu na druge molekularne metode zbog sposobnosti razlikovanja usko povezanih sojeva bakterija (39). FilmArray multipleks metoda (BioMerieux, Francuska) omogućava jednostavno rukovanje i dijagnostiku uzročnika unutar jednog do dva sata budući da potpuno automatizira i objedinjuje izolaciju i amplifikaciju nukleinskih kiselina (40). Zbog toga se u kliničkim mikrobiološkim laboratorijima sve više koriste multipleks RT-PCR dijagnostički paneli koji omogućavaju tzv. sindromsko testiranje. Iz reprezentativnog se kliničkog uzorka (likvor, iskašljaj, stolica, hemokultura) istovremeno mogu detektirati nukleinske kiseline dvadesetak i više različitih patogena koji uzrokuju istu kliničku sliku (sindrom). *K. pneumoniae* je uključena u komercijalne pneumonija i sepsa multipleks RT-PCR panele budući da je jedan od češćih uzročnika sindroma sepse ili pneumonije u hospitaliziranih bolesnika (40).

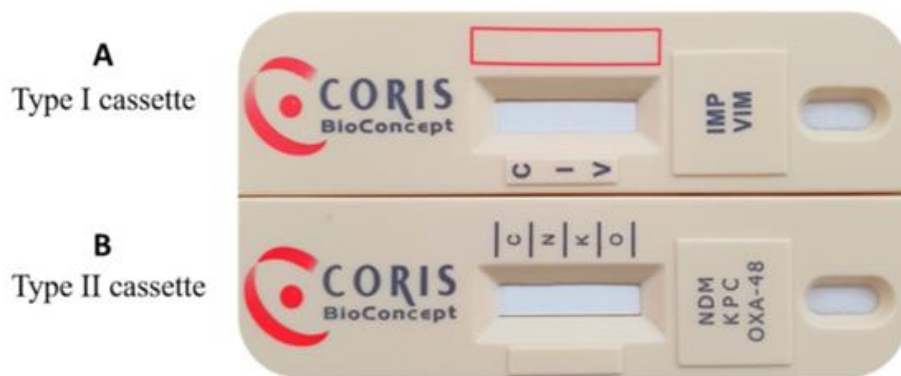
## 8.1. METODE ODREĐIVANJA OSJETLJIVOSTI NA ANTIBIOTIKE

*K. pneumoniae* može postati otporna na antibiotike te je laboratorijsko testiranje osjetljivosti bakterijskog izolata na antibiotike uvijek indicirano. Osjetljivost bakterije na antibiotike se može odrediti testovima probira, testovima fenotipske detekcije (disk-difuzijska i dilucijske metode, E-test) i molekularnim metodama detekcijom specifičnih gena rezistencije.

Testovima probira se može detektirati produkcija ESBL enzima kao i otpornost *K. pneumoniae* na karbapeneme. Međutim, postoje određene poteškoće u detekciji OXA-48-like enzima zbog toga što rezultati antibiograma mogu ukazivati na to da su izolati osjetljivi na karbapeneme unatoč prisutnosti OXA-48 like karbapenemaza. Većina OXA-48-like enzima ima malo ili nimalo aktivnosti protiv cefalosporina treće i četvrte generacije i stoga se može posumnjati na njihovu prisutnost kada se uoči osjetljivost na cefalosporine uz povišene MIC-ove karbapenema, posebno ako je praćena visokom rezistencijom na piperacilin/tazobaktam.

Test koji se često rutinski provodi u kliničkim laboratorijima za detekciju ESBL enzima je test sinergije dvostrukog diska. Za probir karbapenem rezistentnih sojeva koriste se komercijalni Rapidec Carba NP test (BioMerieux, Francuska), kolorimetrijski test  $\beta$ -CARBA testa (Bio-Rad, Francuska) kao i testovi drugih proizvođača. Na Slici 3. prikazan je komercijalni imunokromatografski test lateralnog protoka RESIST-5 O.K.N.V.I. test (Coris Bioconcept, Belgija) koji omogućava detekciju pet različitih karbapenemaza (OXA-48, KPC, NDM, VIM, IMI) (41). MALDI-TOF MS metoda također omogućava identifikaciju pojedinih tipova karbapenemaza.





**Slika 3. Komercijalni imunokromatografski test za detekciju karbapenemaza**  
(izvor: Hong i sur 2021) (41)

A. Detekcija IMP (I) i VIM (V) karbapenemaza, kontrolna linija (C)

B. Detekcija NDM (N), KPC (K) i OXA-48-like (O) karbapenemaza

Genotipske molekularne metode detekcije najvažnijih  $\beta$ -laktamaza uključuju RT-PCR ili potpuno automatizirane FilmArray sustave temeljene na PCR tehnikama. Napredak tehnologije omogućio je detekciju ESBL enzima ili karbapenemaza u roku od desetak minuta, bilo iz kulture ili izravno iz kliničkog uzorka (urin, bris rektuma). Primjena brzih molekularnih metoda za detekciju rezistentnih bakterija, kao što je eazyplex SuperBug CRE (AmplexDiagnostics, Njemačka), uvelike olakšava nadzor i kontrolu širenja bolničkih infekcija u zdravstvenim ustanovama (42).

## 9. KONTROLA INFEKCIJA

MDR *K. pneumoniae* ima sposobnost klonalnog širenja unutar zdravstvenih ustanova, stoga je važno na vrijeme detektirati uzročnika i provesti odgovarajuće mjere kontrole infekcije kako bi se spriječio prijenos na osjetljive osobe (42). S obzirom da je kontakt glavni način prijenosa, pravilna i redovita higijena ruku smatra se osnovnom i nezamjenjivom mjerom u sprječavanju prijenosa infekcije (43). Trenutne europske smjernice preporučuju različite strategije za ograničavanje prijenosa MDR sojeva. One uključuju provedbu programa edukacije o higijeni ruku, mjere opreza pri kontaktu s bolesnikom, te mjere izolacije za sve bolesnike za koje se zna da su zaraženi ili kolonizirani rezistentnim bakterijama. Preporučuju se i druge mjere, kao što su čišćenje okoliša i mikrobiološki nadzor određenih skupina bolesnika kako bi se u slučaju potrebe omogućilo rano uvođenje kontaktnih mjera. Aktualne smjernice predlažu i rukovođenje ili nadzor nad antimikrobnim lijekovima kako bi se ograničila pretjerana i neopravdana uporaba antibiotika, a time i selektivni pritisak antibiotika koji dovodi do nastanka rezistencije (42).

## 10. TERAPIJSKE MOGUĆNOSTI

Izbor antibiotika za liječenje *K. pneumoniae* infekcija u prvom redu ovisi o mjestu infekcije, osjetljivosti izolata te vrsti  $\beta$ -laktamaza koju bakterija producira (44). Preporučena terapija upale pluća uzrokovane s *K. pneumoniae* uključuje cefalosporine treće ili četvrte generacije ili kinolone u monoterapiji ili u kombinaciji s aminoglikozidom (6). Inicijalna terapija bolesnika s mogućom bakteremijom je empirijska. Liječenje infekcija uzrokovanih MDR sojevima *K. pneumoniae* predstavlja izazov za liječnike s obzirom na to da se obično radi o težim bolesnicima koji su smješteni u JIL-u, operiranim bolesnicima, bolesnicima na umjetnoj ventilaciji, bolesnicima s više podležećih bolesti koji često razvijaju ozbiljne infekcije i komplikacije (42). Poseban problem u liječenju predstavljaju sojevi bakterija koji produciraju karbapenemaze, otporni na većinu  $\beta$ -laktamskih antibiotika, kao i na kinolone i na većinu aminoglikozida. U tom slučaju terapijske mogućnosti su ograničene na rezervne antibiotike: ceftazidim-avibaktam i novije kombinacije s inhibitorima  $\beta$ -laktamaza, fosfomicin, kolistin, tigeciklin i odabrane aminoglikozide te novije opcije kao što su plazomicin, eravaciklin i cefiderokol (45).

Fosfomicin je širokospektralni antibiotik čije se djelovanje zasniva na inhibiciji enzima koji sudjeluje u sintezi peptidoglikana. Intravenskom primjenom fosfomicin postiže dovoljnu koncentraciju na različitim mjestima u tijelu te se može se koristiti za širok spektar infekcija uključujući pneumoniju, meningitis, kirurške infekcije i nekomplikirane UTI. Budući da monoterapija fosfomicinom može dovesti do rezistencije u *K. pneumoniae* preporučuje se kombinirana primjena s aminoglikozidima, karbapenemima ili tigeciklinom (46,47).

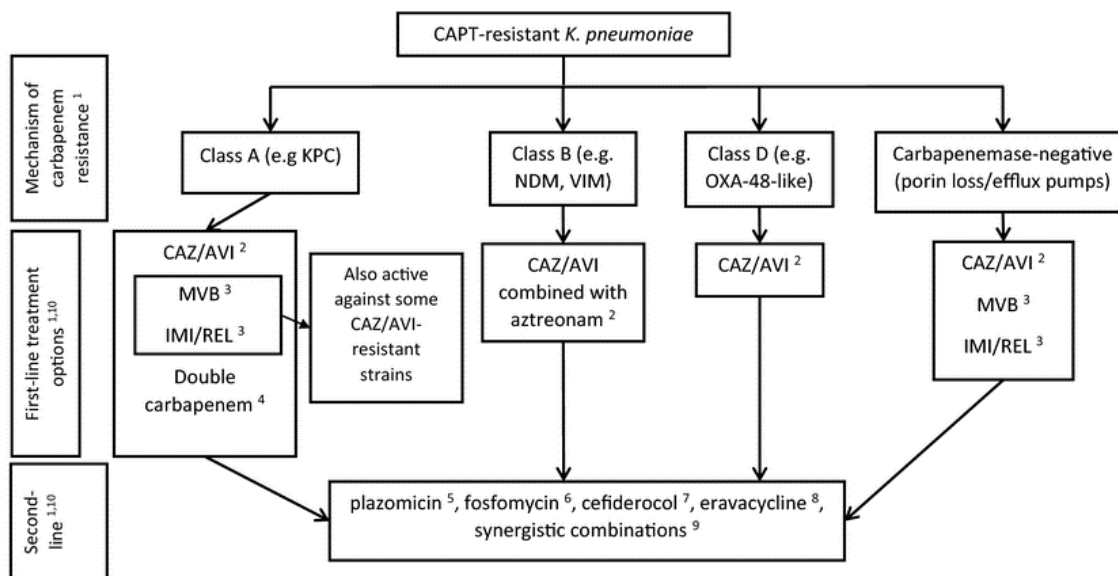
Novi sintetski aminoglikozidni antibiotik plazomicin je aktivan protiv većine sojeva koji luče enzime koji razgrađuju aminoglikozide, a indiciran je za liječenje kompliciranih urinarnih infekcija (46).

Različite kombinacije antibiotika pokazuju aktivnost protiv KPC-producirajuće *K. pneumoniae*, kao što su gentamicin, tigeciklin, trimetoprim-sulfametoksazol ili dvostruka karbapenemska terapija. Rezistencija na kolistin dodatno otežava izbor antibiotika za liječenje infekcija uzrokovanih MDR izolatima. U Tablici 3 prikazani su antibiotici koji se mogu primijeniti za liječenje infekcija uzrokovanih kolistin-karbapenem rezistentom *K. pneumoniae* (46).

**Tablica 3. Antibiotici koji se primjenjuju za liječenje infekcija uzrokovanih kolistin i karbapenem rezistentnom *K. pneumoniae* (Izvor Petrosillo N 2019) (46)**

| Antibiotik            | Porijeklo/skupina                                      | Način primjene           | Prednosti i nedostaci   |
|-----------------------|--|--------------------------|---|
| Fosfomicin            | Izoliran iz <i>Streptomyces fradiae</i>                | IV (dinatrij fosfomicin) | Izvrstan profil sigurnosti i podnošljivosti. Izvrsna distribucija. Monoterapija može uzrokovati rezistenciju. Zahtijeva praćenje serumskih elektrolita. |
| Tigeciklin            | Semisintetski glicilciklin                             | IV                       | Dobra distribucija u žuči i kolonu. Odobren za liječenje kompliciranih kožnih i intraabdominalnih infekcija.  |
| Ceftazidim/avibaktam  | Kombinacija cefalosporin/ $\beta$ -laktamski inhibitor | IV                       | Baktericidan. Nije aktivan protiv MBL klase B.  |
| Plazomicin            | Semisintetski aminoglikozid                            | IV                       | Aktivan protiv većine sojeva koji sadrže enzime koji modificiraju aminoglikozide. Nije aktivan protiv mnogih NDM.                                       |
| Cefiderokol           | Sideroforni cefalosporin                               | IV                       | Aktivan protiv većine MDR izolata, uključujući metalo- $\beta$ -laktamaze.  |
| Meropenem/vaborbaktam | Kombinacija karbapenem/ $\beta$ -laktamski inhibitor   | IV                       | Neučinkovit za OXA-48 i MBL klase B.  |
| Eravaciklin           | Sintetski tigeciklinski analog                         | IV, PO                   | Aktivan protiv izolata koji produciraju KPC, OXA-48 i MBL klase B.  |

Predloženi algoritam za odabir antibiotika prve i druge linije za liječenje infekcija uzrokovanih MDR sojevima *K. pneumoniae* rezistentnim na karbapeneme, aminoglikozide, polimiksin i tigeciklin, s obzirom na detektirani mehanizam rezistencije prikazan je na Slici 4 (48).



**Slika 4. Algoritam za odabir antibiotika za liječenje MDR *K. pneumoniae* infekcija**

(Izvor: Karakonstantis S, 2020) (48).

Kratice: CAZ/AVI=ceftazidim/avibaktam, C/T=ceftolozan/tazobaktam, CAPT= karbapenem, aminoglikozid, polimiksin, tigeciklin, IMI/REL=imipenem/relebaktam, MVB=meropenem/vaborbaktam

Za MDR *K. pneumoniae* infekcije danas su dostupni noviji antibiotici s manje nuspojava i toksičnosti kao što su ceftazidim/avibaktam, meropenem/varborbaktam, plazomicin i cefiderokol. Ceftazidim/avibaktam je nedavno odobrena kombinacija antibiotika za liječenje abdominalnih infekcija, urinarnih infekcija i bolničke upale pluća (46). Djelotvorna je protiv klase A, C i D karbapenemaza te je terapija izbora za OXA-producirajuću *K. pneumoniae*. Kombinacija ceftazidim/avibaktam s aztreonamom se pokazala uspješnom protiv infekcija uzrokovanih MBL sojevima (48). Meropenem-vaborbaktam pokazuje aktivnost protiv klase A (KPC) i C (AmpC) producirajućih sojeva. Koristi se u liječenju kompliciranih urinarnih infekcija, intraabdominalnih infekcija, bakterijemije i bolničkih pneumonija. Zbog visoke cijene i rizika

od razvoja rezistencije, trebao bi se koristiti kao rezervni antibiotik za liječenje odabranih slučajeva infekcija, uključujući kolistin-karbapenem rezistentnu *K. pneumoniae* (46). Imipenem/relebaktam je opcija za liječenje infekcija uzrokovanih MDR *K. pneumoniae* sojevima koji proizvode KPC, ali ne i OXA-48. Plazomicin može biti dobar terapijski izbor za infekcije uzrokovane karbapenem-rezistentnim sojevima, osim za MBL producirajuće sojeve zbog detektirane koprodukcije 16S rRNA metiltransferaze (46). Iako plazomicin pokazuje stabilnost protiv modificirajućih aminoglikozidnih enzima i na njega se razvija rezistencija posredovana 16sRNA metiltransferazom. Cefiderokol je novi cefalosporin koji ima povećanu stabilnost protiv različitih  $\beta$ -laktamaza uključujući klasu A, B i D. Glavni izazov za liječenje s cefiderokolom predstavljaju sojevi koji uz gubitak porina produciraju NDM i ESBL enzime (49).

Sve učestalija rezistencija kliničkih izolata *K. pneumoniae* i drugih ESKAPE bakterija na konvencionalne antibiotike je dovela do traženja novih terapijskih opcija. Tako kombinirana uporaba bakteriofaga i liposoma koji pojačavaju fagocitozu, primjena monoklonskih antitijela, genetskog uređivanja i transplantacija fekalne mikrobiote pokazuje *in vitro* djelotvornost (50). Ciljana fagoterapija pokazuje obećavajuće rezultate kao potencijalna buduća alternativa antibioticima. Međutim, još se moraju razriješiti važna pitanja u vezi sigurnosnog profila - imunološkog odgovora bolesnika na fage kao i potencijalni rizik brze pojave rezistencije (46). Do danas, nema dostupnih cjepiva protiv *K. pneumoniae* infekcija. Iako postoje formulacije temeljene na kapsularnim polisaharidima bakterije, visoka varijabilnost kapsularnih serotipova *K. pneumoniae* ograničava cjepnu pokrivenost. Rekombinantna cjepiva na bazi bakterijskih antigena prisutnih na površini su obećavajuća alternativa (51).

## 11. RASPRAVA

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) je 2017. god. objavila globalnu listu prioriteta MDR bakterija s namjerom da potakne što brži razvoj novih antibiotskih opcija. ESKAPE bakterije, među kojima se nalazi i MDR *K. pneumoniae* su dobile status najvišeg prioriteta. *K. pneumoniae* je oportunistički patogen koji se među vodećim uzročnicima bolničkih infekcija (18). Uzrokuje širok spektar infekcija, a primarno su pogođeni imunokompromitirani bolesnici i teški bolesnici smješteni na JIL-u. Porast hv sojeva i pojava novih MDR klonova rezultirali su pojavom infekcija među prethodno zdravim osobama (18). *K. pneumoniae* sojevi koji proizvode karbapenemaze trenutno su jedan od najvažnijih nozokomijalnih patogena zbog različitih fenotipova rezistencije i globalne diseminacije putem mobilnih genetskih elemenata. Iako se geografska distribucija pojedinih sojeva u svijetu donekle razlikuje, sojevi *K. pneumoniae* koji proizvodi KPC, NDM i OXA-48 enzime brzo su se proširili diljem svijeta (45). U Hrvatskoj je veliki epidemijski potencijal pokazala KPC *K. pneumoniae* koja se proširila vrlo brzo nakon prvog pojavljivanja 2011. god. dovodeći do epidemije u najmanje tri zdravstvene ustanove. Interdisciplinarna sekcija za kontrolu rezistencije na antibiotike (ISKRA) i nacionalno Povjerenstvo za sprječavanje i suzbijanje infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi su posebnu pažnju posvetili ograničavanju širenja tih sojeva. Multidisciplinarnim pristupom je zaustavljeno širenje epidemija uzrokovanih KPC *K. pneumoniae* (2012. god. u Općoj bolnici u Zaboku, 2013. god. u KBC Zagreb te 2014. god. u Klinici za infektivne bolesti). U 2018. god. ponovo je zabilježeno njihovo epidemijsko širenje u Splitsko-dalmatinskoj županiji (12 izolata) (52). Važno je spomenuti da su MDR *K. pneumoniae* infekcije povezane sa stopama smrtnosti do 50%, s visokom učestalošću bakterijemije i septičkog šoka (45). Liječenje infekcija uzrokovanih rezistentnim sojevima trenutno predstavlja veliki izazov u području zaraznih bolesti stoga točna i brza fenotipska i genotipska laboratorijska detekcija karbapenemaza

može smanjiti odgađanje odabira odgovarajućeg antibiotika. Zabrinjavajući je i porast kolistin-karbapenem rezistente *K. pneumoniae* koji predstavlja javnozdravstvenu prijetnju jer rezistencija na kolistin dodatno smanjuje terapijske mogućnosti. Studija provedena u susjednoj Italiji je pokazala da se stopa rezistencije na kolistin među invazivnim izolatima KPC *K. pneumoniae* iz hemokultura povećala za više od tri puta tijekom pet godina, a stopa smrtnosti je iznosila približno 50% (45). Također, bilježi se i zabrinjavajuća pojava rezistencije na nove kombinacije  $\beta$ -laktamskih antibiotika s inhibitorima  $\beta$ -laktamaza kao što je ceftazidim/avibaktam. Stoga bi se antibiotici u kliničkoj praksi trebali koristiti odgovorno i racionalno kako bi se izbjegla pojava preuranjene rezistencije. Odgovarajuće mjere kontrole i prevencije infekcija uz upravljanje antimikrobnim lijekovima mogu spriječiti širenje rezistencije i produljiti vrijeme djelotvornosti novih antibiotika (17).



## 12. ZAKLJUČCI

- *K. pneumoniae* je nozokomijalni patogen koji uzrokuje širok spektar infekcija, a posebno su ugroženi teški bolesnici smješteni na JIL-u i imunokompromitirane osobe
- H<sub>v</sub> serotipovi (pretežno K1 i K2) zbog povećane proizvodnje kapsularnih polisaharida mogu uzrokovati invazivne infekcije u prethodno zdravih osoba.
- Veliku prijetnju predstavlja sve veća proširenost MDR *K. pneumoniae* sojeva, posebice sojeva koji produciraju karbapenemaze, a koji se brzo šire unutar bolnica.
- Sve je manje terapijskih mogućnosti za liječenje infekcija uzrokovanih MDR sojevima zbog čega je važno poznavati i primijeniti sve potrebne mjere da se spriječi njihovo širenje i što duže sačuva djelotvornost novih antibiotika.
- Poznavajući mehanizme rezistencije i lokalnu epidemiološku sliku kliničar može bolje razumjeti i predvidjeti obrasce otpornosti te odabrati najprikladniji antibiotik
- Testiranje osjetljivosti na antibiotike kombiniranim fenotipskim i genotipskim metodama omogućava bržu identifikaciju uzročnika, provođenje programa nadzora i pravovremeno poduzimanje postupaka kontrole širenja mikroorganizama

### 13. SAŽETAK

*K. pneumoniae* je gram-negativna, nesporogena, nepokretna štapićasta bakterija, pripadnik obitelji *Enterobacteriaceae*. Široko je rasprostranjena u okolišu, a probavni sustav čovjeka služi joj kao primarni rezervoar. Većinom uzrokuje oportunističke infekcije povezane sa zdravstvenom skrbi. Novorođenčad, starije osobe i imunokompromitirani bolesnici predstavljaju najrizičnije skupine. Zabrinjavajuća pojava hv sojeva te novih MDR klonova rezultirala je pojavom infekcija među prethodno zdravim osobama. *K. pneumoniae* posjeduje tri glavna mehanizma rezistencije na  $\beta$ -laktame: proizvodnja enzima, prekomjerna ekspresija efluksnih pumpi i modifikacija porina. Sojevi koji proizvode karbapenemaze trenutno su jedan od najvažnijih bolničkih patogena zbog različitih fenotipova rezistencije i globalne proširenosti. Otporni su na većinu  $\beta$ -laktamskih antibiotika, kinolone i na većinu aminoglikozida. Terapijske mogućnosti su ograničene na rezervne antibiotike: ceftazidim-avibaktam i novije kombinacije s inhibitorima  $\beta$ -laktamaza, fosfomicin, kolistin, tigeciklin i odabrane aminoglikozide te nove antibiotike kao što su plazomicin, eravaciklin i cefiderokol. Zabrinjavajući je i porast kolistin-karbapenem rezistente *K. pneumoniae* koji predstavlja javnozdravstvenu prijetnju jer rezistencija na kolistin dodatno smanjuje terapijske mogućnosti. Također, bilježi se i zabrinjavajuća pojava rezistencije na nove kombinacije  $\beta$ -laktama s inhibitorom  $\beta$ -laktamaze kao što je ceftazidim/avibaktam. Mjere kontrole i prevencije infekcija uz racionalnu primjenu i upravljanje antibioticama ključne su za sprječavanje širenja rezistencije i produljenje vremena djelotvornosti novih antibiotika.

**Ključne riječi:** Antibiotička rezistencija, bolničke infekcije, karbapenemaze, *K. pneumoniae*, kontrola infekcija

## 14. SUMMARY

*K. pneumoniae* is a Gram-negative, nonsporogenic, immotile, rod-shaped bacterium that belongs to the *Enterobacteriaceae* family. It is widely distributed in the environment, the human digestive tract serves as its primary reservoir. Most infections caused by *K. pneumoniae* are opportunistic, healthcare-associated infections. The groups most at risk are infants, the elderly, and immunocompromised patients. However, a significant increase in hv strains and the emergence of new MDR clones have led to the emergence of infections in previously healthy individuals. *K. pneumoniae* has three main mechanisms of  $\beta$ -lactam resistance: enzyme production, efflux pump overexpression, and porin modification. Carbapenemase-producing strains are currently one of the most important nosocomial pathogens because they exhibit different resistance phenotypes and spread worldwide. They are resistant to most  $\beta$ -lactam antibiotics, quinolones, and most aminoglycosides. Therapeutic options are limited to reserve antibiotics: ceftazidime-avibactam and newer combinations with  $\beta$ -lactamase inhibitors, fosfomicin, colistin, tigecycline, selected aminoglycosides, as well as newer options such as plasomycin, eravacycline, and cefiderocol. The increase in colistin-carbapenem-resistant *K. pneumoniae* poses a serious public health threat, as resistance to colistin further limits therapeutic options. Also of concern is the emergence of resistance to new combinations of antibiotics with a  $\beta$ -lactamase inhibitor such as ceftazidime/avibactam. Appropriate infection control and antimicrobial stewardship programme are key to preventing the spread of resistance and extending the period during which new antibiotics are effective.

**Keywords:** Antimicrobial resistance, carbapenemases, hospital infections, infection control, *K. pneumoniae*

## 15. LITERATURA

1. Bengoechea JA, Sa Pessoa J. *Klebsiella pneumoniae* infection biology: living to counteract host defences. *FEMS Microbiol Rev.* 2019;43(2):123-44. doi: 10.1093/femsre/fuy043
2. Piperaki ET, Syrogiannopoulos GA, Tzouveleki LS, Daikos GL. *Klebsiella pneumoniae*: virulence, biofilm and antimicrobial resistance. *Ped Infect Dis J.* 2017;36(10):1002-5. doi: 10.1097/INF.0000000000001675
3. Martin RM, Bachman MA. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;8:4. doi: 10.3389/fcimb.2018.00004
4. Wyres KL, Lam M, Holt KE. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nat Rev Microbiol.* 2020;18(6):344-59. doi:10.1038/s41579-019-0315-1
5. Talapko J, Škrlec I. The principles, mechanisms, and benefits of unconventional agents in the treatment of biofilm infection. *Pharmaceuticals.* 2020;13(10):299. doi: 10.3390/ph13100299
6. Ashurst JV, Dawson A. *Klebsiella Pneumonia*. U: Stat Pearls (mrežne stranice). Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing; 2022. (ažurirano 2. veljače 2022; citirano 10. svibnja 2022). Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519004/>
7. Chung PY. The emerging problems of *Klebsiella pneumoniae* infections: carbapenem resistance and biofilm formation. *FEMS Microbiol Lett.* 2016;363(20):fnw219. doi: 10.1093/femsle/fnw219
8. Hu Y, Anes J, Devineau S, Fanning S. *Klebsiella pneumoniae*: prevalence, reservoirs, antimicrobial resistance, pathogenicity, and infection: a hitherto unrecognized zoonotic bacterium. *Foodborne Pathog Dis.* 2021;18(2):63-84. doi: 10.1089/fpd.2020.2847

9. Opoku-Temeng C, Kobayashi SD, DeLeo FR. Klebsiella pneumoniae capsule polysaccharide as a target for therapeutics and vaccines. *Comput Struct Biotechnol J*. 2019;17:1360-6. doi: 10.1016/j.csbj.2019.09.011
10. Gonzalez-Ferrer S, Peñaloza HF, Budnick JA, Bain WG, Nordstrom HR, Lee JS, Van Tyne D. Finding order in the chaos: Outstanding questions in Klebsiella pneumoniae pathogenesis. *Infect Immun*. 2021;89(4):e00693-20. doi: 10.1128/IAI.00693-20
11. Gomez-Simmonds A, Uhlemann AC. Clinical implications of genomic adaptation and evolution of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae. *J Infect Dis*. 2017;215(suppl\_1):S18-27. doi: 10.1093/infdis/jiw378
12. Zhu J, Wang T, Chen L, Du H. Virulence factors in hypervirulent Klebsiella pneumoniae. *Front Microbiol*. 2021;12:734. doi: 10.3389/fmicb.2021.642484
13. Li B, Zhao Y, Liu C, Chen Z, Zhou D. Molecular pathogenesis of Klebsiella pneumoniae. *Future Microbiol*. 2014;9(9):1071-81. doi: 10.2217/fmb.14.48.
14. Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L, Wang H. The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of Klebsiella pneumoniae. *Int J Environ Res Public Health* 2020;17(17):6278. doi: 10.3390/ijerph17176278
15. Murphy CN, Clegg S. Klebsiella pneumoniae and type 3 fimbriae: nosocomial infection, regulation and biofilm formation. *Future Microbiol*. 2012;7(8):991-1002. doi: 10.2217/fmb.12.74.
16. Kalenić S i sur. *Medicinska mikrobiologija*. Zagreb: Medicinska naklada; 2019.
17. Galani I, Karaikos I, Giamarellou H. Multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae: Mechanisms of resistance including updated data for novel  $\beta$ -lactam- $\beta$ -lactamase inhibitor

- combinations. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2021;19(11):1457-68. doi: 10.1080/14787210.2021.1924674
18. Arato V, Raso MM, Gasperini G, Berlanda Scorza F, Micoli F. Prophylaxis and treatment against *Klebsiella pneumoniae*: current insights on this emerging anti-microbial resistant global threat. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8):4042. doi: 10.3390/ijms22084042
19. Navon-Venezia S, Kondratyeva K, Carattoli A. *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. *FEMS Microb Rev.* 2017;41(3):252-75. doi: 10.1093/femsre/fux013
20. De Angelis G, Del Giacomo P, Posteraro B, Sanguinetti M, Tumbarello M. Molecular mechanisms, epidemiology, and clinical importance of  $\beta$ -lactam resistance in enterobacteriaceae. *Int J Mol Sci.* 2020;21(14):5090. doi: 10.3390/ijms21145090
21. Rapp RP, Urban C. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases in Enterobacteriaceae: history, evolution, and microbiology concerns. *Pharmacotherapy.* 2012;32(5):399-407. doi: 10.1002/j.1875-9114.2012.01035.x
22. Chong Y, Ito Y, Kamimura T. Genetic evolution and clinical impact in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Genet Evol.* 2011;11(7):1499-504. doi: 10.1016/j.meegid.2011.06.001
23. Lai YC, Lu MC, Hsueh PR. Hypervirulence and carbapenem resistance: two distinct evolutionary directions that led high-risk *Klebsiella pneumoniae* clones to epidemic success. *Expert Rev Mol Diagn.* 2019;19(9):825-37. doi: 10.1080/14737159.2019.1649145

24. Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(9):821-30. doi: 10.1111/1469-0691.12719
25. Chen L, Mathema B, Chavda KD, DeLeo FR, Bonomo RA, Kreiswirth BN. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding. *Trends Microbiol.* 2014;22(12):686-96. doi: 10.1016/j.tim.2014.09.003
26. Kopotsa K, Osei Sekyere J, Mbelle NM. Plasmid evolution in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a review. *Ann N Y Acad Sci.* 2019;1457(1):61-91. doi: 10.1111/nyas.14223
27. Karaïskos I, Galani I, Papoutsaki V, Galani L, Giamarellou H. Carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae*: Implication on future therapeutic strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2022;20(1):53-69. doi: 10.1080/14787210.2021.1935237.
28. Bedenić B, Slade M, Starčević LŽ, Sardelić S, Vranić-Ladavac M, Benčić A i sur. Epidemic spread of OXA-48 beta-lactamase in Croatia. *J Med Microb.* 2018;67(8):1031-41. doi: 10.1099/jmm.0.000777
29. Jacoby GA. AmpC  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22(1):161-82. doi: 10.1128/CMR.00036-08.
30. Matovina M, Abram M, Repac-Antić D, Knežević S, Bubonja-Šonje M. An outbreak of ertapenem-resistant, carbapenemase-negative and porin-deficient ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* complex. *Germs.* 2021;11(2):199. doi: 10.18683/germs.2021.1257
31. Kakoullis L, Papachristodoulou E, Chra P, Panos G. Mechanisms of antibiotic resistance in important gram-positive and gram-negative pathogens and novel antibiotic solutions. *Antibiotics.* 2021 Apr;10(4):415. doi: 10.3390/antibiotics10040415

32. Elias R, Duarte A, Perdigão J. A molecular perspective on colistin and *Klebsiella pneumoniae*: Mode of action, resistance genetics, and phenotypic susceptibility. *Diagnostics*. 2021;11(7):1165. doi: 10.3390/diagnostics11071165.
33. Tot T, Kibel S, Sardelić S, Nemer K, Benčić A, Vraneš J i sur. Polyclonal spread of colistin resistant *Klebsiella pneumoniae* in Croatian hospitals and outpatient setting. *Germs*. 2021;11(2):163. doi: 10.18683/germs.2021.1254
34. Uzunović-Kamberović S i sur. *Medicinska mikrobiologija*. Zenica: Štamparija Fojnica, 2009.
35. Murray PR, Rosenthals KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 9. izd. Elsevier; 2020.
36. Qureshi S. *Klebsiella Infections Workup* (mrežne stranice). Medscape (ažurirano 10. lipanj 2019; citirano 15. svibnja 2022). Dostupno na:  
<https://emedicine.medscape.com/article/219907-workup>
37. MALDI-TOF masena spektrometrija (mrežne stranice) (citirano 10. svibnja 2022). Dostupno na: <https://www.shimadzu.hr/maldi-tof-mass-spectrometry>
38. Kurupati P, Chow C, Kumarasinghe G, Poh CL. Rapid detection of *Klebsiella pneumoniae* from blood culture bottles by real-time PCR. *J Clin Microbiol*. 2004;42(3):1337-40. doi: 10.1128/JCM.42.3.1337-1340.2004
39. Mirzaie A, Ranjbar R. Antibiotic resistance, virulence-associated genes analysis and molecular typing of *Klebsiella pneumoniae* strains recovered from clinical samples. *AMB Expr*. 2021;11(1):122. doi: 10.1186/s13568-021-01282-w.
40. BIOFIRE FILMARRAY Systems (mrežne stranice) (citirano 10. svibnja 2022). Dostupno na: <https://www.biomerieux-diagnostics.com/filmarray>



41. Hong J, Kang D, Kim D. Performance Evaluation of the Newly Developed In Vitro Rapid Diagnostic Test for Detecting OXA-48-Like, KPC-, NDM-, VIM- and IMP-Type Carbapenemases: The RESIST-5 O.K.N.V.I. Multiplex Lateral Flow Assay. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(4):460. doi: 10.3390/antibiotics10040460.
42. Bassetti M, Righi E, Carnelutti A, Graziano E, Russo A. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*: challenges for treatment, prevention and infection control. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2018;16(10):749-61. doi: 10.1080/14787210.2018.1522249
43. De Chang LS, Cruz CS, Zhang D. Clinical epidemiology, risk factors, and control strategies of *Klebsiella pneumoniae* Infection. *Front Microbiol*. 2021;12. doi: 10.3389/fmicb.2021.750662.
44. Reyes J, Aguilar AC, Caicedo A. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: microbiology key points for clinical practice. *Int J Gen Med*. 2019;12:437. doi: 10.2147/IJGM.S214305
45. Lee CR, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. *Front Microbiol*. 2016:895. doi: 10.3389/fmicb.2016.00895
46. Petrosillo N, Taglietti F, Granata G. Treatment options for colistin resistant *Klebsiella pneumoniae*: present and future. *J Clin Med*. 2019;8(7):934. doi: 10.3390/jcm8070934.
47. Cebrero-Canguero T, Labrador-Herrera G, Pascual A, Diaz C, Rodriguez-Bano J, Pachon J i sur. Efficacy of Fosfomycin and Its Combination With Aminoglycosides in an Experimental Sepsis Model by Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Clinical Strains. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:615540. doi: 10.3389/fmed.2021.615540.

48. Karakonstantis S, Kritsotakis EI, Gikas A. Treatment options for *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii* co-resistant to carbapenems, aminoglycosides, polymyxins and tigecycline: an approach based on the mechanisms of resistance to carbapenems. *Infection*. 2020;48(6):835-51. doi: 10.1007/s15010-020-01520-6.
49. Theuretzbacher U, Carrara E, Conti M, Tacconelli E. Role of new antibiotics for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chem*. 2021;76(Supplement\_1):i47-54. doi: 10.1093/jac/dkaa497
50. Poerio N, Olimpieri T, Henrici De Angelis L, De Santis F, Thaller MC, D'Andrea MM i sur. Fighting MDR-*Klebsiella pneumoniae* Infections by a Combined Host- and Pathogen-Directed Therapeutic Approach. *Front Immunol*. 2022;13:835417. doi: 10.3389/fimmu.2022.835417.
51. Assoni L, Girardello R, Converso TR, Darrieux M. Current stage in the development of *Klebsiella pneumoniae* vaccines. *Infectious Diseases and Therapy*. 2021 Dec;10(4):2157-75. doi: 10.1007/s40121-021-00533-4
52. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2019. godini. Akademija medicinskih znanosti Hrvatske: Zagreb; 2020.

## **16. ŽIVOTOPIS**

Karla Kezić rođena je 29. veljače 1996. god. u Splitu, u Republici Hrvatskoj. Nakon završene Osnovne škole Manuš upisuje II. jezičnu gimnaziju u Splitu. Po završetku srednje škole, 2014. god. upisuje Prirodoslovno-matematički fakultet u Splitu. 2016. god. upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci.