

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Multirezisztencia mechanizmusainak vizsgálata Gram negatív kórokozók körében: karbapenem rezisztens *Acinetobacter baumannii* genomi epidemiológiája

Balázs Bence

Témavezető: Dr. Kardos Gábor



DEBRECENI EGYETEM

GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2022

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék.....	1
I. Rövidítések jegyzéke	3
II. Bevezetés	4
III. Irodalmi áttekintés.....	5
III.1. Nozokomiális fertőzések	5
III.2. A multirezisztens kórokozók tünetmentes hordozása	7
III.3. Az <i>Acinetobacter</i> jellemzése	8
III.3.1. Az <i>A. baumannii</i> béta-laktamázok által biztosított rezisztenciája.....	10
III.3.3. Az <i>A. baumannii</i> aminoglikozidokkal szembeni rezisztenciája.....	11
III.3.4. A külső membránfehérjék és az efflux pumpák szerepe az antibiotikum rezisztenciában	12
III.4. Az antibiotikum felhasználás és rezisztencia kapcsolata	13
IV. Célkitűzések	15
V. Anyagok és módszerek.....	16
V.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> klinikai izolátumok	16
V.2. Széklet eredetű <i>A. baumannii</i> izolátumok	16
V.3. Antibiotikum érzékenység meghatározás.....	16
V.4. Antibiotikum felhasználás és töréspont analízis	17
V.5. Granger oksági vizsgálat	17
V.6. Rezisztencia gének	18
V.7. Teljes genom szekvenálás (WGS – Whole genome sequencing)	20
V.8. Idő-ölés vizsgálat.....	20
VI. Eredmények.....	22
VI.1. Antibiotikum fogyási eredmények:.....	22
VI.2. Töréspont analízis	22
VI.3. Granger-okozati vizsgálat	23
VI.4. Klinikai izolátumok.....	23
VI.4.1. A klinikai izolátumok antibiotikum érzékenysége.....	23
VI.4.2. Klinikai izolátumok rezisztencia gén megoszlása	25
VI.4.3. Klinikai izolátumok teljes genom szekvenálása	26
VI.4.4. Klinikai izolátumok idő-ölés vizsgálata.....	30
VI.5. Széklet izolátumok	33
VI.5.1. Széklet izolátumok megoszlása és fenotípusos rezisztenciája	33
VI.5.2. A széklet izolátumok teljes genom szekvenálása	33

VI.5.3. A klinikai és széklet izolátumok összehasonlítása.....	35
VII. Megbeszélés.....	38
VIII. Új eredmények.....	42
IX. Összefoglalás.....	43
X. Summary.....	44
XI. Társszerzők hozzájárulása:	45
XII. Irodalomjegyzék	46
XIII. Tárgyszavak.....	57
XIII.1. Magyar tárgyszavak.....	57
XIII.2. English keywords	57
XIV. Köszönetnyilvánítás	58
XV. Függelék	59

I. Rövidítések jegyzéke

- ADC** – *Acinetobacter* kromoszómális cefalosporináz (acinetobacter derived cephalosporinase)
- CARD** – Comprehensive Antibiotic Resistance Database
- CarO** – karbapenem-asszociált külső membrán protein (carbapenem associated outer membrane protein)
- CFU** – teleképző egység (colony forming unit)
- CHDL** – karbapenem-hidrolizáló β -laktamáz (carbapenem hydrolyzing class D β -lactamase)
- CRAb** – karbapenem rezisztens *Acinetobacter baumannii* (carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*)
- CRE** – karbapenem rezisztens Enterobacterales (carbapenem resistant Enterobacterales)
- DDD** – napi terápiás dózis (defined daily dose)
- ESBL** – kiterjedt spektrumú β -laktamáz (extended spectrum β -lactamases)
- EUCAST** - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- IS** – inszerciós szekvencia (insertion sequence)
- ITO** – Intenzív terápiás osztály
- MALDI-TOF-MS** – mátrix asszociált lézer deszorpció/ionizáció tömegspektrometria (matrix Matrix-Associated-Laser-Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass-Spectrometry)
- MBL** – metallo-béta-laktamázok (metallo- β -lactamase)
- MDR** – multirezisztens (multidrug resistant)
- MIC** – minimális gátlókoncentráció (minimal inhibitor concentration)
- MRSA** – meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*
- NCBI** – Nemzeti Biotechnológiai Információs Központ (National Center for Biotechnology Information)
- OBD** – ápolási nap (occupied bed-days)
- OMP** – külső membrán protein (outer membrane protein)
- PCR** – polimeráz láncreakció (polymerase chainreaction)
- PDR** – pánrezisztens baktérium (pandrug resistant)
- ST** – szekvenciatípus (Sequence type)
- VRE** – vankomicin rezisztens *Enterococcus*
- WGS** – teljesgenom szekvenálás (Whole-Genome-Sequencing)
- XDR** – kiterjedt rezisztenciájú baktérium (extensively drug resistant)

II. Bevezetés

A nozokomiális vagy egészségügyi ellátással összefüggő fertőzések világszerte súlyos problémát jelentenek. Kórházi ellátás során minden száz betegből a fejlett országokban 7, fejlődő országokban 10 fertőződik meg valamilyen kórokozóval (Khan, 2017). Természetesen a különböző kórházi osztályoknál, például intenzív terápiás osztályok (ITO), égési osztályok, neonatális osztályok, a fertőződés aránya eltérhet (Ma, 2020). A leggyakrabban és a legsúlyosabb infekciók a ITO-kon alakulnak ki, csak ezen osztályokat tekintve a fertőzés aránya elérheti a 20,6%-ot is (Vincent, 1995). A magas előfordulási arány megnövekedett mortalitással is jár. Az Egészségügyi Világszervezet adatai szerint, csak a legszegényebb régiókban (Délkelet Ázsia, szubszaharai Afrika) a csecsemőosztályokon halálozsi arány eléri a 75%-ot (Khan, 2017)., ám még a leggazdagabb régiókban is 3,5 és 12,0% közé esik (Nejad, 2011). A nozokomiális kórokozók terjedése és a járványok kialakulása több tényező folyamat. A kórokozó akár a beteg normál flórájának tagja is lehet, opportunistá patogénként az immunrendszer legyengülése esetén okozhat súlyos fertőzést. Másik forrást maga a kórházi környezet jelent. Transzmissziójuk történhet kórházi személyzettel, eszközökkel, illetve másik fertőzött beteggel való direkt kontaktussal. Továbbá a kórokozók ott lehetnek a vízhálózatban is növelve növeli a terjedés lehetőségét, amely csökkenthető a megfelelő higiéniai intézkedések betartásával (például a kézfertőtlenítés és a szájmaszkok megfelelő használata) (Serra-Burriel, 2020, Sydnor, 2011).

A problémát tovább súlyosbítja a multirezisztens (MDR – multidrug resistant) kórokozók jelenléte. Ezek a kórházi környezetben megtalálható baktériumok képesek ellenállni az antibiotikumok széles spektrumának vagy akár fertőtlenítő szereknek is (Sydnor, 2011). Sokan közülük abiotikus felületeken is hosszú ideig (>100 nap) túlélnek, illetve ellenállnak a kiszáradásnak is (Edwardson, 2019). A nozokomiális fertőzések döntő részéért az úgynevezett ESKAPE kórokozók (az *Enterococcus* fajok, a *Staphylococcus aureus*, a *Klebsiella pneumoniae*, az *Acinetobacter baumannii*, a *Pseudomonas aeruginosa* és az *Enterobacter* fajok) a felelősek. (Gniadek, 2016; Gijón, 2012; Weinberg, 2020). Mindezen kórokozók közül az elmúlt évtizedekben a nem fermentáló, aerob, Gram-negatív baktériumok által okozott fertőzések klinikai szempontból jelentős kihívássá váltak (Santajit, 2016; Mózes, 2014).

III. Irodalmi áttekintés

III.1. Nozokomiális fertőzések

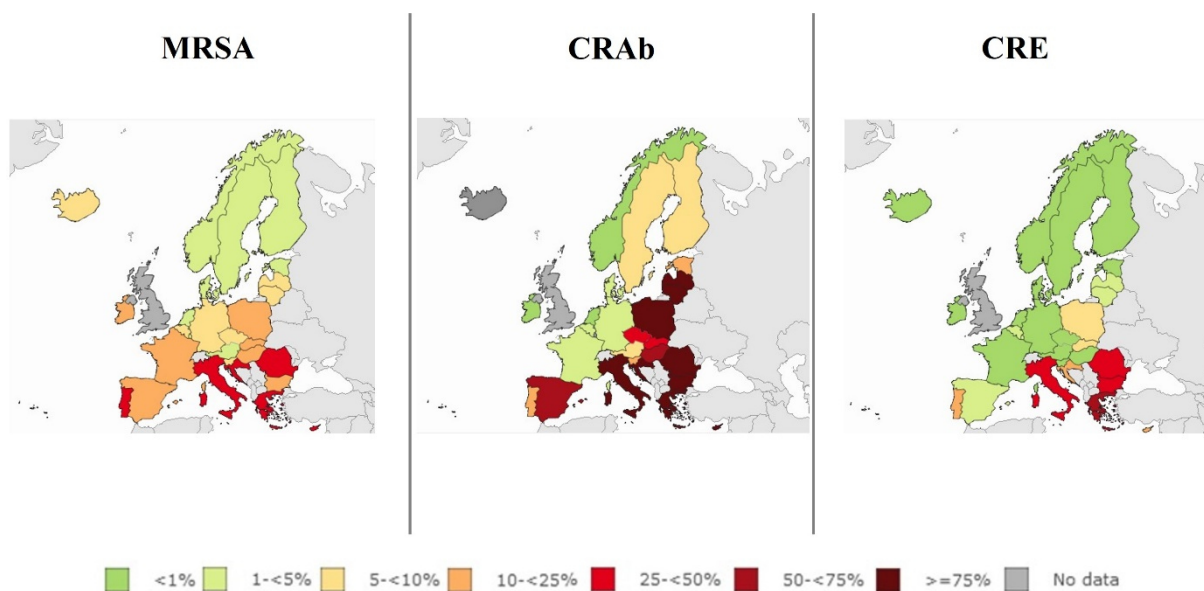
A nozokomiális fertőzések forrása lehet exogén vagy endogén, illetve a beteg megfertőződhet más betegekkel, egészségügyi dolgozókkal és fertőzött tárgyakkal való közvetlen vagy közvetett érintkezés útján (Lukac, 2015).

Az esetek gyakoriságát tekintve a katéter asszociált húgyúti infekció a leggyakoribb, mely az összes nozokomiális fertőzés 12%-a volt 2011-ben. Ráadásul szövődményként pyelonephritis, cystitis és meningitis, illetve férfiaknál orchitis, mellékhere- és prosztatagyulladás fordulhat elő (Khan, 2017; Rinke 2020). A sebészeti eljáráshoz köthető sebfertőzések előfordulása ritkább, az esetek 2-5%-ában alakul ki, és leggyakrabban a meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*-t (MRSA) izolálják ezen fertőzések közül (Khan, 2017). A legsúlyosabb kórképeket a lélegeztetéssel összefüggő pneumonia és a centrális vénás kanülökhöz köthető véráramfertőzés okozza: tüdőgyulladás a mesterségesen lélegeztetettek 9-27%-ban alakul ki 48-72 órán belül, letalitása pedig elérheti a 70-76%-ot, míg ugyanez az arány véráramfertőzés esetében 12-25% közé esik (Koenig, 2006; Khan 2017, Srinivasan, 2011). Habár sikerült a halálozási arányt majdnem 50%-al csökkenteni, számos tanulmány számolt be a nozokomiális fertőzések megnövekedett mortalitásáról: 2002-ben 1,7 millió jelentett esetből 99 000 beteg halt meg az Egyesült Államokban, míg 2016-ban 772 000 esetből 75 000 volt halálos kimenetelű (Lukac, 2015; Girlich, 2014; Mirelis, 2003).

A helyzetet tovább rontják a MDR baktériumok által okozott fertőzések. A MDR kórokozók által okozott fertőzések terápiás lehetősége beszűkül, a hatékonyan alkalmazható antibiotikumok száma jelentősen csökkent. A legnagyobb problémát a karbapenem rezisztens Enterobacterales (CRE – Carbapenem resistant Enterobacterales), az MRSA, illetve a karbapenem rezisztens *Acinetobacter baumannii* (CRAb) jelenti (Durand-Réville, 2017, Khan, 2017). Előfordulásuk országonként változó. Az 1. ábrán látható, hogy a legsúlyosabb helyzet mindhárom kórokozót tekintve Dél- és Közép-Európában regisztrált (EARS-NET, 2022). Ebben a régióban az MRSA és CRE kórokozók aránya elérheti az 50%-ot, míg a CRAb egyes országokban a 75% feletti értéket is meghaladja (EARS-NET, 2022). Magyarország az európai átlag felett van az MRSA és CRAb tekintetében (21,0% vs. 16,8% és 73,0% vs 38,0%), ám a CRE-t tekintve jóval az európai átlag alatt van (0,7% vs. 10,0%) (EARS-NET, 2022)

A MDR-k okozta infekciók mortalitása becslések szerint a 2050-re elérheti a 10 milliót, megelőzve ezzel a rosszindulatú daganatos megbetegedések vagy a diabetes mellitus okozta halálesetek számát (Ma, 2020). A mortalitás mellett gazdasági problémát is jelentenek ezek a fertőzések, számítások szerint a rezisztencia epidemiológiájának nyomon követése 2050-re a világ éves GDP-jének 3,8%-át emésztheti fel (kb. 1,2 trillió USD), csak az USA-ban pedig elérheti a 2,9 milliárd USD-t (Ma, 2020; Burriel, 2019; Shrestha, 2018). Ezenkívül az MDR baktériumok által okozott egészségügyi fertőzések komoly terhet jelentenek az egészségügyi ellátórendszer számára is, például a lélegeztetőgéppel összefüggő tüdőgyulladás 9,1, illetve 38,7 ápolási nappal megnöveli a kórházi tartózkodási időt a felnőtt és a gyermek intenzív osztályokon (Mehta, 2016, Cassini 2015).

Az említett Gram-negatív MDR és kiterjedt rezisztenciájú (XDR – extensively drug-resistant) kórokozók ellen már csak úgynevezett utolsóvonalbeli szerek a (pl.: polymyxinek, tigecyclin, ceftazidim-avibactam, illetve a cefiderocol) alkalmazhatók, gyakran kombinációban (Ma, 2020). Sajnos az antibiotikumok használata miatti szelekciós nyomás elvezetett odáig, hogy szelektálódtak a csak egy antibiotikumcsoportra érzékeny XDR patogének vagy olyan baktérium törzsek, amelyek esetén a magas MIC értékek miatt jelenleg egyik antibiotikumtól sem várhatunk klinikai hatékonyságot (pánrezisztens; PDR = pandrug resistant kórokozók).



1. ábra: A MRSA, CRAB és CRE izolátumok országonkénti előfordulása az European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-NET) 2020-as adatai alapján. A különböző színek az előfordulási arányokat jelölik.

Az antibiotikumok helyes használatával, az infekciókontroll ajánlások betartásával, valamint a fertőzések nyomon követésének megfelelő módszereivel, a nozokomiális

fertőzések száma csökkenthető, illetve a prevalencia növekedése megállítható (Edwardson, 2019).

III.2. A multirezisztens kórokozók tünetmentes hordozása

A kórházi környezeten kívül a nozokomiális fertőzések, illetve a MDR kórokozók forrásaként szolgálhatnak a kórokozókkal kolonizált betegek is. Számos tanulmány mutatott rá, hogy a gasztrointesztinális traktust tünetmentesen képesek kolonizálni a különböző primer vagy szekunder rezisztenciával rendelkező baktériumok. Korábbi adatok alapján a klinikai szempontból szintén releváns kórokozó csoport, a széles spektrumú béta-laktamázt (ESBL) termelő *Escherichia coli* és a *K. pneumoniae* baktériumok előfordulása elérheti a 14,0%-ot a tünetmentesen kolonizáló patogének között fekvőbetegek esetében, míg a járóbetegek körében akár 69,4%-ot is elérheti a kolonizáltak aránya. (Kuenzli, 2014; Karanika, 2016). Munkacsoportunk korábbi kutatásában fekvőbetegek esetében az ESBL termelők prevalenciája 27,1% és 9,3% között volt kórházi osztálytól függően. A járóbetegek körében ez az arány 3,1% volt (Ebrahimi, 2016). Mivel az ESBL termelő baktériumok jelenléte magával hozza a karbapenem felhasználás növekedését, ezáltal lehetőség nyílik a karbapenem rezisztens kórokozók szelektálódására és terjedésére. A CRE-k is képesek a bélrendszer kolonizálására, és ugyan arányuk még nem éri el az ESBL termelőkéét (kevesebb mint 10%), de a tünetmentes hordozás növekvő tendenciát mutat (Gorrie, 2017; Xiao, 2020; Qin, 2020; Juhász, 2021). A bélmikrobiom így nagyon fontos rezervoárja lehet ezen MDR vagy akár XDR mikroorganizmusoknak, és nem csak a multirezisztens baktériumok terjedésében lehet fontos szerepe, de hatalmas rezisztenciagén forrást is jelent. Ezáltal a horizontális géntranszfer révén, a rezidens flóra addig antibiotikum érzékeny tagjai, ellenállóvá válhatnak, majd opportunista kórokozóként nehezen kezelhető fertőzést okozhatnak, így akár nozokomiális infekciók forrásaként is szolgálhatnak (Aljindan, 2015, Corbella, 1996). Az *A. baumannii* a többi hagyományos bélszékletkolonizáló baktériumhoz képest, kevesebbszer izolálható a gasztrointesztinális traktusból (Qin, 2020). Kivételt azok a ITO-s betegek képviselnek, akik széles spektrumú antibiotikum terápiában részesülnek. Epidemiológiai vizsgálatok során az MDR *A. baumannii* előfordulása ritkább volt az MDR *Enterobacterales* vagy *Enterococcus*-hoz viszonyítva. Ez talán azzal magyarázható, hogy utóbbiak az egészséges bélflóra rezidens tagjai, míg az *Acinetobacter* genusba tartozó baktériumok inkább környezeti eredetűek, valamint nem hospitalizált betegek bélrendszeréből ritkán izolálhatóak (Aljindan, 2015). Azonban a multirezisztens kórokozók tünetmentes hordozása növekvő figyelmet érdemel, mert jelenleg egyik ajánlás sem fogalmaz meg hatékony módszert ezen patogének

béltraktusból eradikálására, csak a szűrés fontosságára hívható fel a figyelem, és a pozitív betegek elkülönítésére a terjedés megakadályozása érdekében (Weinberg, 2020). Ráadásul, az *A. baumannii* vagy a *P. aeruginosa* esetében a terjedésben inkább a környezet szolgál fertőzőforrásként, így a tünetmentes hordozása ezen patogéneknek jelenleg kevésbé kutatott (Weinberg, 2020; Pachori 2019). Egyes tanulmányok azonban rámutatnak arra, hogy a CRAB törzsek képesek az intenzív osztályokon ápoltságú betegek bélrendszerét kolonizálni, az arány elérheti akár a 72,2%-ot, de egyértelmű kapcsolatot a nosokomiális fertőzések és a kolonizáció között még nem sikerült kimutatni (Corbella, 1996).

III.3. Az *Acinetobacter* jellemzése

A *Acinetobacter* genusba nem fermentáló, Gram-negatív, spórát nem képző, coccobacillus alakú baktériumok tartoznak, amelyet először Martinus Willem Beijerinck holland mikrobiológus izolált 1911-ben. A genus genetikailag igen diverz csoport, modern molekuláris biológiai módszerek alapján 59 különböző fajt sorolunk ide, amelyek szinte minden élettérben előfordulnak. A fajok jelentős hányada környezeti mintából izolálható, klinikai relevanciája azonban kevésnek van. A legtöbb humán egészségügyi problémát az *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* komplexbe tartozó öt faj, az *A. baumannii*, *A. nosocomialis*, *A. pittii*, *A. seifertii* és *A. calcoaceticus* okozza, amelyek elkülönítése igen nehéz (Nemec, 2011; Howard 2012).

Utóbbi fajok közül kiemelkedik az *A. baumannii*, mint nosokomiális patogén. Virulencia mechanizmusai még kevésbé ismertek. Képes perzisztensen kolonizálni különböző abiotikus (üveg, fém, műanyag) és biotikus (emberi test epitél sejtjei) felületeket. Köszönhető ez biofilmképző, illetve szárazságtűrő képességének (Cerqueria, 2011). Szerzett és generikus rezisztencia mechanizmusai révén nemcsak az antibiotikumok széles palettájával szemben rezisztens, hanem a dezinficensekkel szemben is (Howard, 2012). Nosokomiális kórokozóként leggyakrabban lélegeztetéssel összefüggő pneumóniát, húgyúti fertőzéseket, meningitist, véráramfertőzéseket, illetve seb- vagy bőrfertőzéseket okoz. Ahogy korábban említettem, egyike ez ún. ESKAPE kórokozóknak, melyek jelenleg az egyik legnagyobb kihívást jelentik a világ egészségügyi ellátórendszereinek (Rice, 2008). A multirezisztens *A. baumannii* fertőzés kezelésében az elsőként választandó szerek a karbapenemek, mégpedig a más β -laktám típusú antibiotikumokkal szemben rezisztenciát biztosító mechanizmusok miatt (Naas, 2005).

Az *A. baumannii* generikus rezisztenciával rendelkezik számos antimikrobiális szerrel szemben, így az általa okozott infekciók kezelése már a vad típusú törzsek esetén is nehéz. A

probléma tovább súlyosbodik a noszokomiális fertőzésekből izolált, rezisztensebb törzsekkel. A kórházi izolátumok döntő többsége multirezisztens, melyek ellen a kezelés során leggyakrabban karbapenemeket használtak. A karbapenem rezisztens *A. baumannii* XDR törzsek világszerte elterjedtek (1. táblázat), illetve már megjelentek pánrezisztens törzsek is, melyek minden ismert antibiotikummal szemben rezisztenciát mutatnak (Kyriakidis, 2021).

Bakétriium faj	Antibiotikum csoport	2016		2017		2018		2019		2020		Trend 2016-2020
		N	R%	N	R%	N	R%	N	R%	N	R%	
Acinetobacter spp.	Karbapenem rezisztencia	5006	37,1	5404	37,6	5812	36,3	5240	36,9	7542	38,0	-
	Fluorokinolon rezisztencia	5007	42,3	5305	41,9	5776	41,1	5216	41,0	7392	41,8	-
	Aminoglikozid rezisztencia	4964	37,0	5252	36,3	5733	35,2	5194	36,8	7306	37,1	-
	Ko-rezisztencia	4860	32,3	5126	32,1	5618	32,4	5012	33,6	7140	34,1	^

1. táblázat: Az *Acinetobacter spp.* rezisztenciájának alakulása az Európai Unió országaiban 2016 és 2020 között az EARS-NET adatai alapján. Az N a vizsgált izolátumok számát jelöli, az R% a rezisztens izolátumok arányát az adott antibiotikum csoporttal szemben. A ko-rezisztencia a karbapenem, fluorokinolon és aminoglikozid rezisztens törzseket jelöli.

Az antibiotikum rezisztencia hátterében három fő mechanizmus áll. Egyrészt a csökkent membrán permeabilitás vagy a fokozott efflux pumpa működés, melyek az antibiotikum intracelluláris koncentrációját csökkentik. Megjegyzést érdemel, hogy a kórokozó biofilmképző képessége szintén csökkenti az antibiotikumok penetrációjának fokát (Krzyściak, 2017). Másodrészt, az antibiotikumok célpontja enzimatis módosítások által megváltozhat, így a target megváltozása miatt az antibiotikum hatástalanná válik a kórokozó ellen. Harmadrészt, maga a baktérium képes enzimatis módosításokkal (pl. hidrolízissel) semlegesíteni az adott antibiotikumot (Blair, 2015). Az *A. baumannii*-ban mindhárom mechanizmus megtalálható, biztosítva ezzel a faj magasfokú rezisztenciáját a leggyakrabban használt antibiotikumokkal szemben. Például az *A. baumannii* kromoszómálisan kódol AmpC típusú cefalosporinázt és oxacillináz típusú β -laktamázt is (Paton, 1993; Bou, 2000; Héritier, 2005). Az említett cefalosporináz a porinmutációkkal együtt alacsony szintű karbapenem rezisztenciával hozható összefüggésbe (Scerpella, 1995).

III.3.1. Az *A. baumannii* béta-laktamázok által biztosított rezisztenciája

A béta-laktámokkal szembeni rezisztenciában mindhárom fentebb említett rezisztencia mechanizmus fontos szerepet játszik, ám a béta-laktám típusú antibiotikumok esetében az enzimatis bontás, az ilyen típusú antibiotikumokban található β -laktám gyűrűt hidrolizáló β -laktamázok szerepe a legfontosabb az *A. baumannii* és más Gram-negatív baktériumok esetében. Ezeket az enzimeket négy fő csoportba soroljuk az aktív centrumok alapján: az A-, C- és D-csoportú enzimek aktív centrumában szerin található, míg a B-csoportba tartozó metalloenzimeknél valamilyen fémion atom (Tookey, 2019). Az A-csoportú enzimek a penicillinekkal, cefalosporinokkal, monobaktámokkal és karbapenemekkel szemben biztosíthatnak rezisztenciát. Géncsaládokat tekintve az A-csoportba tartoznak a KPC, TEM, SHV, GES, CTX-M, SCO, PER és VEB, melyek közül a GES (*blaGES-5*; -11; -12), PER (*blaPER-1*; -7), VEB (*blaVEB-1*), CTX-M (*blaCTX-M-15*; -55; -115), TEM (*blaTEM-1*) és SHV (*blaSHV-5*; -12) található meg az *A. baumannii*-ban (Ghatourian, 2015; Smiline, 2018).

A B-csoportú laktamázok vagy metallo-béta-laktamázok (MBL) a monobaktámokon kívül az összes β -laktámot képesek hidrolizálni. Általában aktív centrumukban cink vagy más fémion található, illetve aktív centrumuk szerkezete alapján további három alcsoportba oszthatók (B1, B2, B3). Az *A. baumannii* leggyakrabban a NDM (*blaNDM-1*), az IMP (*blaIMP-1*; -4; -14; -16) és a VIM (*blaVIM-1*) családba tartozó géneket hordoz.

Az Ambler C-csoportba tartoznak az *A. baumannii*-ban kromoszómálisan kódolt cefalosporinázok (ADC – acinetobacter-derived cephalosporinase), melyek önmagukban csak gyenge rezisztenciát biztosítanak. Azonban az inszerciós szekvenciák (IS) ezen enzimeket kódoló gének erős promóterei, így például az ADC-30 nem csak cefalosporinokkal, de akár a karbapenemekkel szembeni rezisztenciát is biztosíthatnak az IS-k promóter aktivitása révén (Ingiti, 2020). Az IS-k kicsi (~0,7-2,5 kbp), rendkívüli változatosságot mutató (többféle IS család) mobilis genetikai elemek, a legtöbb bakteriális genomban megtalálhatók akár több példányban is. Képesek befolyásolni a bakteriális génexpressziót az említett promóter aktivitásukkal (Consuegra, 2021).

Az *A. baumannii* klinikailag jelentős karbapenem rezisztenciáját az 1980-as években megjelent, Ambler D csoportba tartozó enzimek okozzák (Paton, 1993; Héritier, 2005; Queenan, 2007). Az oxacillinázok (OXA) vagy a karbapenem-hidrolizáló D csoportú β -laktamázok (CHDL – carbapenem hydrolyzing class D β -lactamases), melyek az összes béta-laktám típusú antibiotikumot képesek hasítani β -laktamáz gátlók (klavulánsav, tazobactam, sulbactam) jelenléte mellett is kivételt az OXA-48 enzim képez, mely avibactammal gátolható

(Antunes, 2014; Poirel, 2010). Az *A. baumannii* D csoportú OXA karbapenemázai közül az OXA-23-like (ARI-1); az OXA-40-like; az OXA-51-like és az OXA-58-like alcsoportok jelentősek (Brown, 2005; Woodford, 2006). A kromoszómálisan kódolt OXA-51-like oxacillinázok a karbapenem rezisztenciához is köthetők, különösen túltermelésük esetén, amikor expressziójukat az ISAb inszerciós szekvenciák segítik elő (Wong, 2019). Ezt a mechanizmust felváltotta a plazmidokon kódolt CHDL enzimek által közvetített rezisztencia, amely hatékonyabbnak bizonyult. Ilyen enzimek például az OXA-23-like, OXA-58-like és OXA24/40-like enzimsaládok tagjai (Heritier, 2005). A *bla_{OXA-23-like}* géncsaládot 1995-ben találták meg az *A. baumannii*-ban, majd világszerte kórházi járványok során és a helyi epidemiológiai viszonyokat tekintve is ez a gén vált a leggyakrabban kimutatható a karbapenem rezisztens törzsekből (Brown, 2006; Mózes, 2014). A *bla_{OXA-24/40-like}* géneket Észak-Spanyolországból származó klinikai izolátumokban azonosították 2002-ben (Lopez-Otsoa, 2002).

A karbapenem rezisztens törzsek okozta fertőzések világszerte súlyos problémát jelentenek. Ezt támasztja alá az is, hogy az Egészségügyi Világszervezet 2017-ben indított új antibiotikum fejlesztési programjában az egyik legfontosabb kórokozóként jelölte meg. A rezisztencia gének főként plazmidon kódoltak így horizontális géntranszfer révén terjedhetnek akár törzsek, akár baktérium fajok között.

III.3.3. Az *A. baumannii* aminoglikozidokkal szembeni rezisztenciája

Az aminoglikozidok aminociklitól gyűrűből és a hozzájuk kapcsolódó különböző aminocukrokból állnak. Klinikai szempontból az amikacin, a gentamicin, a tobramycin, a netilmicin, és az arbekacin a legfontosabb antibiotikumok (Jospe-Kaufman, 2020). A baktériumsejtbe való bejutásuk energiaigényes folyamat, hatásukat a riboszóma 30S alegységén fejtik ki, a 16S rRNS-hez kötődve, a transláció során hibás aminosavat építenek be a növekvő fehérjeláncba. A hibás fehérjék révén membránkárosodás jön létre, melynek hatására az aminoglikozidok könnyebben be tudnak jutni a citoszólba. A megnövekedett antibiotikum koncentráció, illetve a hibás fehérjék szintézise a baktérium pusztulásához vezet (Forge, 2000).

Az aminoglikozidokkal szembeni rezisztencia hátterében többféle mechanizmus áll. A legelterjedtebb az antibiotikumok enzimatisz modifikációja. Az acetiltranszferázok (AAC) az aminoglikozidok amino-csoportjára egy acetyl-csoportot kötnek szubsztrátként acetyl-CoA-t használva. Az *A. baumannii*-ban leggyakrabban az *aac(6')-Ib* gén által kódolt acetiltranszferáz a leggyakoribb, mely tobramycin, amikacin és netilmicin rezisztenciát

biztosít. A Gram-negatív baktériumok esetében az AAC(3') és AAC(2') is gyakori, azonban rezisztencia profiljuk szűkebb, mint az előbb említett AAC(6') enzimnek (Nemec, 2004).

Az enzimatisz modifikáció másik csoportját a foszotranszferázok (APH) alkotják. Az aminoglikozidok hidroxil-csoportjára foszfát csoportot helyeznek, amely ATP eredetű. Az *A. baumannii* leggyakrabban *aph(3)-VIa* gént hordoz, amely a neomycinnel, kanamycinnel, amikacinnal és gentamicinnel szembeni rezisztenciát biztosítja (Tait, 2014).

Az aminoglikozid rezisztencia harmadik típusa a nukleotidil-transzferázok által biztosított enzimatisz modifikáció. Ezek az enzimek ATP jelenléte mellett adenilálják az aminoglikozidok hidroxil-csoportját. Leggyakrabban az *ant(2'')-Ia* gén által kódolt enzim található meg az *A. baumannii*-ban, és gentamicin, tobramycin, kanamycin és dibekamicin rezisztenciát alakít ki (Tait, 2014; Jouybari, 2021).

Az aminoglikozid rezisztenciának 2002-ben leírt új mechanizmusa a 16S rRNS metilálásán alapszik, és a legtöbb említett klinikailag fontos aminoglikoziddal szemben egy lépésben biztosít rezisztenciát (Doi, 2007; Galimand, 2003; Jouybari, 2021). A metiltranszferázok, illetve a korábban említett enzimek is transzpozonokon kódoltak, így a horizontális géntanszfer révén gyorsan terjedhetnek, hozzájárulva a multirezisztencia kialakulásához.

III.3.4. A külső membránfehérjék és az efflux pumpák szerepe az antibiotikum rezisztenciában

A béta-laktámokat hidrolizáló enzimek által biztosított rezisztencia mértékét tovább növelik a külső membrán proteinek (OMP – outer membrane proteins) és az efflux pumpák (Sugawara, 2012).

A külső membrán fehérjéknek csak az antibiotikum rezisztencia esetében fontosak, kulcsszerepük van a konjugációban, bakteriofágok kötődésében, biofilm képzésben és a citotoxicitásban is, illetve porin csatornák révén kapcsolatot jelentenek az extracelluláris térrel (Gordon, 2009). Az *A. baumannii*-ban található külső membrán proteinek közül az Omp38 és OmpA proteinek a legfontosabbak (Smani, 2014). Előbbi az epitéliális sejtekben a mitokondrium károsítása révén képes a programozott sejthalál indukálására, ezáltal utat nyitva a baktérium számára a mélyebben fekvő szövetek inváziójára. Az OmpA szintén képes ezen folyamatokat mediálni, illetve részt vesz a biofilm képzésben, valamint a sejtfelszíni adhézióban (Gaddy, 2009). Az antibiotikumok az OmpA-n keresztül kerülnek ki a periplazmatikus térből, illetve a porin csatorna C-terminális doménjéhez kihorgonyozva találhatóak például a GES-11 vagy OXA-23 hidrolizáló enzimek (Zhong, 2020). Szerepét jól

bizonyítja, hogy OmpA deléciós mutánsok esetén az antibiotikum hatása növekedett a vad típusú törzsekhez viszonyítva (Kyriakidis, 2021).

A karbapenem rezisztenciában továbbá részt vesznek az úgynevezett karbapenem-asszociált külső membrán proteinekben (CarO – karbapenem-associated outer membrane protein) bekövekező mutációk. A CarO proteinek a karbapenemek baktériumba való bejutásáért felelősek. A porin csatornát kódoló gén, illetve magában a kész fehérjében bekövetkező mutációk azonban csökkentik a csatorna permeabilitását ezáltal biztosítva a karbapenem rezisztenciát (Alejandra, 2011).

Az efflux pumpák közül *A. baumannii* esetében a leggyakoribb az AdeABC efflux pumpa, mely három komponensű: az AdeB komponens felelős a szubsztrátok kötéséért, az AdeA a fúziós protein, míg az AdeC komponens a baktérium külső membránjában található (Hawkey, 2018). Az efflux pumpa képes az antibiotikumok megkötésére és sejtből való kijuttatásukra, ezért az AdeABC overexpressziója révén amikacin rezisztencia érhető el. Más efflux pumpák, például az AdeIJK és az AbeM felelősek a karbapenem vagy a cefalosporin rezisztenciáért (Hou, 2012).

A nem enzimatisz mechanizmuson alapuló rezisztencia esetében egy-egy mechanizmus több antibiotikum csoport ellen is biztosíthat rezisztenciát. Például az RND (resistance nodulation division) rendszer felelős a multirezisztencia kialakításáért, az ide tartozó s MexXY–OprM efflux pumpa működése *mexXY* gén révén valósul meg, az aminoglikozidok indukálják ennek a génnek az expresszióját és ennek eredményeképpen a III. és IV. generációs cefalosporin, a fluorokinolon és a karbapenem érzékenység is csökken (Poonsuk, 2014).

III.4. Az antibiotikum felhasználás és rezisztencia kapcsolata

Az antibiotikum rezisztencia legfőbb mozgatórugója az antibiotikum felhasználás. Az antibiotikum felhasználás által kifejtett szelekciós nyomás, az egyre szélesebb spektrumú antibiotikumok használata, az egyre rezisztensebb MDR, XDR és PDR törzsek megjelenésének irányába hajta a kórházi környezetben megtalálható patogének evolúcióját. Az antibiotikum felhasználás és rezisztencia közti kapcsolatot Carlet és mtsai. spirálként ábrázolták, mely a fent említett folyamatot foglalja össze (Carlet, 2004).

Ez a folyamat mind Gram-pozitív mind Gram-negatív baktériumoknál megfigyelhető. Az 1943-ban tömegesen gyártott első antibiotikumra, a pencillinre, például már 1947-ben megjelent a rezisztencia, a penicillináz termelő *S. aureus* (Podolsky, 2018). A rezisztens törzsek miatt terjedő meticillin (és cefalosporin) használatával megjelent a világszerte nagy

problémát okozó MRSA, majd évtizedek múlva az MRSA elleni kezelésre használt vankomicinre mérsékelten érzékeny törzs (Shariati, 2020). A Gram-negatív baktériumok esetében is hasonló a spirál. Az első Gram negatív baktériumok ellen hatásos béta-laktámok, az aminopenicillinek és a korai cefalosporinok ellen különböző béta-laktamázok fejlődtek ki, amelyek miatt igény volt az ezeket termelő törzsek ellen is hatásos béta-laktamáz inhibitor kombinációk és a béta-laktamázoknak jobban ellenálló harmadik cefalosporin generáció kifejlesztésére. Ezt követően a harmadik generációs cefalosporinoknak a használata szelektálta ki az ESBL termelő MDR törzseket. Egy spanyol tanulmány arra mutatott rá, hogy korábban béta-laktám terápián átesettek esetében megduplázódott a kockázat az ESBL *E. coli* bakterémiára, illetve hasonlóan figyeltek meg a kinolon és fluorokinolon rezisztens *E. coli* esetében is (Ortega, 2009). Villers és mtsai. pedig az intravénás fluorokinolonok alkalmazása és a fluorokinolon-rezisztens *A. baumannii* prevalenciája között találtak kapcsolatot (Villers, 1998).

Az egyre gyakrabban izolált MDR izolátumokra válaszul a karbapenemek felírása vált egyre gyakoribbá, ez pedig karbapenem rezisztens törzsek megjelenését és terjedését okozta. A karbapenem rezisztenciára a növekvő colistin használatával reagált az orvoslás (Ryu, 2018), azonban már megjelentek és terjednek a colistin rezisztens törzsek is.

Az egyes antibiotikumokra kialakult rezisztencia és a válaszul adott szélesebb spektrumú antibiotikumok induktorai lehetnek eltérő, a szélesebb spektrumú antibakteriális szerre rezisztens baktérium fajok megjelenésnek. Például a cefalosporin rezisztens *E. coli* törzsek kezelésére adott karbapenemek a rezisztens *P. aeruginosa* és CRAB prevalenciáját növelték (Monnet, 2001). Ezt a rezisztencia spirált követte nyomon munkacsoportunk egy korábbi munkája (Tóth, 2019)

IV. Célkitűzések

Munkacsoportunk 2010 óta végzi a multirezisztens *A. baumannii* rezisztenciájának molekuláris epidemiológiai vizsgálatát, kiegészítve az antibiotikum felhasználás elemzésével. Jelen tanulmány a 2012 után időszak eredményeit mutatja be, illetve a székletmintákból származó *A. baumannii* izolátumokat hasonlítja össze az azonos időszakból származó klinikai izolátumokkal. Előzetes vizsgálataink alapján felmerült, hogy a Debreceni Egyetem Klinikai Központjának osztályain új, karbapenem rezisztens *Acinetobacter baumannii* törzs jelent meg. Ezért az alábbi kérdések megválaszolását tűztük ki célul::

- Történt-e törzsváltás?
- Az új törzs rezisztenciája eltér-e a korábban domináns klónokétól akár genomi akár fenotípusos jellegben?
- Ha megtörtént, mi állhat a törzsváltás hátterében?
- Az antibiotikum felhasználásnak van-e szerepe a törzsváltásban?
- Az új és régi törzsek mennyire térnek el egymástól?
- Megjelenhetnek-e tünetmentes hordozók?

V. Anyagok és módszerek

V.1. *Acinetobacter baumannii* klinikai izolátumok

A vizsgált klinikai *Acinetobacter baumannii* izolátumokat a Debreceni Egyetem Klinikai Központjának klinikáiról gyűjtöttük össze 2012 és 2017 között. Összesen 521 izolátumot vizsgáltunk: 2012-ben 74; 2013-ban 118; 2014-ben 128; 2016-ban 136 és 2017 áprilisáig 65 izolátumot gyűjtöttünk. Az izolátumokat úgy válogattuk össze, hogy minden betegről az adott vizsgálati évben csak egy izolátum szerepeljen. A minták, melyekből a baktériumot izoláltuk a klinikák fekvőbeteg, illetve intenzív osztályairól származtak. Mintamegoszlást tekintve az izolátumok 44,7%-a (233/521) bronchus mintákból származott, emellett a leggyakrabban seb (38/521), trachea (33/521), vizelet (36/521) és a vér (37/521) mintákból tenyésztett ki *A. baumannii*. Az klinikai eredetű izolátumok identifikálása MALDI-TOF-MS (Matrix-Associated-Laser-Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass-Spectrometry) módszerrel, MALDI Biotyper (Bruker Daltonics) készülékkel történt. A 2012-ben, 2013-ban, 2014-ben, 2016-ban és 2017-ben gyűjtött és vizsgált *A. baumannii* törzsek rezisztencia profilját (genotípus és fenotípus) a munkacsoport 2010/2011-es évben végzett kutatása során vizsgált *A. baumannii* izolátumok eredményeivel is összehasonlítottuk (Mózes, 2014).

V.2. Széklet eredetű *A. baumannii* izolátumok

A rutin diagnosztikai tenyésztésre érkező széklet mintákat 2 mg/L cefotaxim tartalmú eozin-metilénkék táptalajra is kioltottuk kiterjedt multirezisztens Gram-negatív baktériumok keresése céljából. A táptalajon kitenyésztett baktérium telepeket MALDI-TOF-MS segítségével identifikáltuk, majd az *A. baumannii* telepeket izoláltuk. A vizsgálat 2017 januárja és 2019 áprilisa között zajlott. Összesen 7806 mintát vizsgáltunk, melyek a Debreceni Egyetem Klinikai Központjának különböző fekvő beteg osztályairól érkeztek.

V.3. Antibiotikum érzékenység meghatározás

Mind a klinikai, mind a széklet eredetű *A. baumannii* izolátumok antibiotikum érzékenységének vizsgálata Kirby-Bauer féle korongdiffúziós módszerrel történt az European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) aktuális évi ajánlása alapján az alábbi antibiotikumokkal szemben: imipenem, meropenem, ciprofloxacin, amikacin, tobramycin, gentamicin. A colistin érzékenység meghatározása minden esetben mikrodilúciós vizsgálattal történt (Merlin Diagnostics, Germany).

V.4. Antibiotikum felhasználás és töréspont analízis

A havi antibiotikum fogyási adatokat és a fertőzések incidencia denzitásait 2005 és 2017 között gyűjtöttük havi bontásban. A fogyási adatokat definiált napi dózisban (DDD – defined daily dose) számoltuk, a DDD-k számát 100 ápolási napra (OBD – occupied bed-days) vonatkoztatva adtuk meg. A fertőzések incidencia denzitását a fekvőbetegekben jelentkező fertőzések 100 ápolási napra vonatkoztatott számával jellemeztük. Az így kapott idősorokban Mann-Kendall teszttel kerestük a trend meglétét. A karbapenem érzékeny, illetve karbapenem rezisztens törzsek incidencia denzitásának idősoraiban valamint a karbapenemek fogyási adatainak idősoraiban az idősorok jelentős változásait töréspont (changepoint) analízissel vizsgáltuk. Összehasonlítva az egyes idősorokban talált töréspontokat, összefüggéseket kerestünk az antibiotikum használat és a karbapenem érzékeny, illetve karbapenem rezisztens *Acinetobacter baumannii* (CRAb) incidenciája között.

A töréspont analízis esetében az egyes idősorokban kerestünk töréspontokat és a különböző idősorokban talált töréspontok időbeli távolságát elemeztük. A töréspont analízis esetében az átlag eltéréseit kerestük, a changepoint R csomagban a `cpt.mean` paranccsal a Pruned Exact Linear Time (PELT) módszerrel. Először megkerestük azt a penalty értéket, ahol az adott idősorban a töréspontok számának növekedése már nem exponenciális (Changepoints for a Range of Penalties (CROPS) módszer), majd ezzel a penalty értékkel meghatároztuk a töréspontokat. A tesztet úgy paramétereztük, hogy hat hónapnál rövidebb periódusok (két töréspont közé eső időszakok) létrejöttét szupprimáltuk. Amennyiben két idősor töréspontjai időben közel estek egymáshoz, közöttük kapcsolat meglétét feltételeztük. A töréspont analízis témavezetői segítségével történt.

V.5. Granger oksági vizsgálat

A tünetmentes hordozás és a klinikai mintákból származó *A. baumannii* izolátumok közötti oksági összefüggés vizsgálata Granger oksági teszttel történt. A Granger-féle oksági vizsgálat előrejelzési minőség összehasonlításon alapul, ahol egy idősort önmagában, majd egy másik idősor bevonásával vizsgálunk. Ha az előrejelzés minősége az utóbbi esetben jobb, akkor az első idősort a másikat Granger-okozza, ami lehetséges ok-okozati összefüggést jelez (Anil, 2007). A Granger oksági tesztet a megjelölt hivatkozás szerint végeztük el az alapadatok felhasználásával (differenciálás és Box-Cox transzformáció nélkül) (Anil, 2007).

A Granger oksági teszthez összegyűjtöttük a fekvőbetegek székletmintáiból, valamint a nozokomiális fertőzésekben származó karbapenemre érzékeny és a rezisztens *A. baumannii*

előfordulását havi bontásban 100 ápolási napra vonatkoztatva 2017 és 2019 között. A Granger-kausalitást az infekcióból származó és fekális eredetű *A. baumannii* incidencia-idősortpárok között teszteltük.

A Granger oksági teszt elvégzése témavezetői segítséggel történt.

V.6. Rezisztencia gének

A karbapenem rezisztenciát biztosító *bla_{OXA-23-like}*, *bla_{OXA-40-like}* és *bla_{OXA-51-like}* géneket, valamint a *IS_{Aba-1}* inszerciós szekvenciát Woodford és mtsai, illetve Turton és mtsai által leírt metodikával kerestük polimeráz láncreakció (PCR) segítségével. Az *aac(6')-Ib*, az *aph(3')-Ia* és az *armA* aminoglikozid rezisztencia háttérében álló gének előfordulását Frana és mtsai., Vila és mtsai., valamint Bogaerts és mtsai. által leírt módszerrel vizsgáltuk PCR segítségével. A reakciókat korábbi munkák során (Mózes, 2014) optimalizáltuk, az alkalmazott primerekre vonatkozó főbb paramétereket a 2. táblázat tartalmazza.

Gén	Primer	Szekvencia (5'-3')	Amplikon mérete	Annellációs hőmérséklet	Irodalom
Aminglikozid rezisztencia gének vizsgálatára használt primerek					
aac(6')-Ib	aac(6')-Ib-F aac(6')-Ib-R	GTTACTGGCGAATGCATCACA TGTTTGAACCATGTACACGGC	216 bp	58 °C	<i>Frana, 2001</i>
aph(3')-VIa	aph(3')-VIa-F aph(3')-VIa-R	ATACAGAGACCACCATACAGT GGACAATCAATAATAGCAAT	234 bp	55 °C	<i>Vila, 1999</i>
<i>Arm-A</i>	Arm-A-F Arm-A-R	CAAATGGATAAGAATGATGTT TTATTTCTGAAATCCACT	776 bp	55 °C	<i>Bogaerts, 2007</i>
Karbapenem rezisztencia gének vizsgálatára használt primerek					
<i>bla_{OXA-23-like}</i>	bla _{OXA-23} -F bla _{OXA-23} -R	GATCGGATTGGAGAACCAGA ATTTCTGACCGCATTTCCAT	501 bp	60 °C	<i>Woodford, 2006</i>
<i>bla_{OXA-40-like}</i>	bla _{OXA-40} -F bla _{OXA-40} -R	GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	246 bp	60 °C	<i>Woodford, 2006</i>
<i>bla_{OXA-51-like}</i>	bla _{OXA-51} -F bla _{OXA-51} -R	TAATGCTTTGATCGGCCTTG TGGATTGCACTTCATCTTGG	353 bp	60 °C	<i>Woodford, 2006</i>
<i>IS_{Aba-1}</i>	IS _{Aba-1} -F IS _{Aba-1} -R	CACGAATGCAGAAGTTG CGACGAATACTATGACAC	563 bp	55 °C	<i>Turton, 2005</i>

2. táblázat: A PCR során keresett gének típusai, a felhasznált primerek szekvenciái, az amplikonok mérete, az alkalmazott annelációs hőmérséklet, illetve a felhasznált irodalmi források

V.7. Teljes genom szekvenálás (WGS – Whole genome sequencing)

A teljes genom szekvenálásához a 2010/2011-es vizsgálatból 9, az *A. baumannii* összes pulzotípusát (A1; A2; B; C1; C2; D) és az egyedi izolátumokat képviselő izolátumokat választottunk. Egy pulzotípusba tartozónak tekintettük a pulzáló mezejű gélelektroforézis során >90% hasonlóságot mutató izolátumokat. A 2017-es klinikai izolátumok közül 14, a széklet eredetűek közül 15 izolátumot választottunk ki a rezisztencia fenotípusban mutatkozó különbségek (érzékenyek az összes vizsgált antibiotikumra; amikacin rezisztensek, de tobramycinre érzékenyek; csak gentamicinre és colistinre érzékenyek; csak ciprofloxacinra és colistinre érzékenyek; a colistint kivéve minden vizsgált antibiotikumra rezisztensek), illetve a génhordozás eredményei (karbapenemázok illetve az *armA* gén jelenléte) alapján teljes genom analízisre.

Az összes izolátum genomiális DNS-ét a DNeasy UltraClean Microbial Kit (Qiagen, Hilden, Németország) segítségével extraháltuk. A könyvtárakat Nextera DNA Flex könyvtár-előkészítő készlettel (Illumina, San Diego, USA) hoztuk létre, és MiSeq platformon (Illumina) a MiSeq Reagent Kit v2 (300 ciklus) (Illumina) segítségével szekvenáltuk a gyártó utasításainak megfelelően. Az eredményül kapott FASTQ fájlok felhasználásával, majd a Ridom SeqSphere+ szoftverbe integrált Velvet assemblerrel (Ridom GmbH, München, Németország) *de novo* illesztettük a draft genomokat. A cgMLST analízist SeqSphere+ szoftverrel (Ridom) hajtottuk végre az *A. baumannii* cgMLST 1.0 verziójú séma alapján. Az antibiotikum rezisztencia géneket a ResFinder v3.9 (cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/) és a Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD) v3.1.0 (card.mcmaster.ca/analyze) segítségével azonosítottuk. A nyers szekvenciákat feltöltöttük az NCBI BioProject adatbázisba (BioProject ID: PRJNA671692), az izolátumok génbanki azonosító száma az 3. és 4. táblázatban látható.

A teljes genom szekvenálást a Nemzeti Népegészségügyi Központ munkatársainak segítségével (Dr. Tóth Ákos és kollégái) végeztük el.

V.8. Idő-ölés vizsgálat

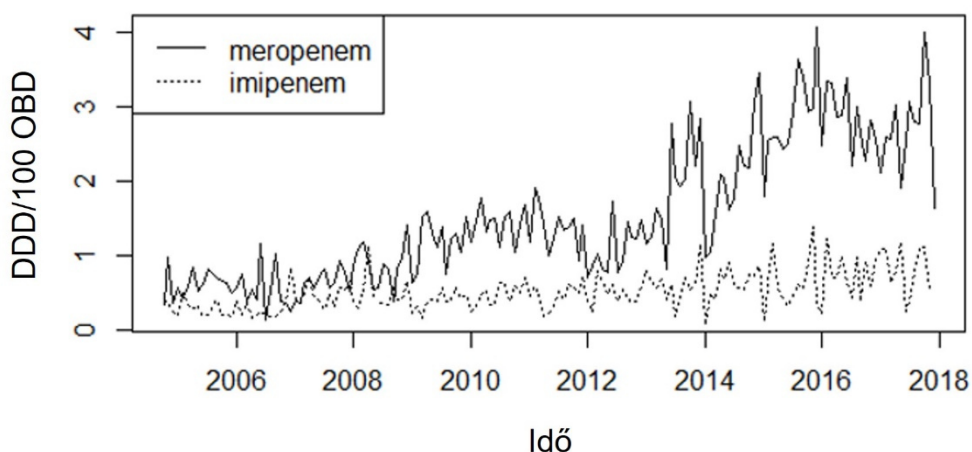
Time-kill vizsgálatok során a meropenem, az imipenem és a colistin hatását vizsgáltuk mind a klinikai, mind a széklet eredetű izolátumokkal szemben. A kiindulási baktérium inokulum 10^6 CFU/ml volt, a gyógyszerkoncentrációk pedig 16 és 128-1024 mg/l karbapenemek (imipenem, meropenem) és 2-32 mg/L colistin esetében, Mueller-Hinton tápfelesben (Lab M Limited, Heywood, UK.). Mindegyik kísérlet esetén egy pozitív

(antibiotikum mentes) és egy negatív (antibiotikum és baktérium mentes) kontrollt is alkalmaztunk. A reakció térfogata 5 mL volt, a baktérium inokulumot és az antibiotikumot tartalmazó folyékony médiumokat 37 °C-on inkubáltuk, és 2; 4; 6; 8; 10; 12 és 24 óra időpontban szilárd Mueller-Hinton táptalajra (Lab M Limited, Heywood, Egyesült Királyság) oltottuk le. A táptalajokon kinőtt telepeket 24 órás, 37 °C-on történő inkubálás után megszámoltuk. Meghatároztuk az ölési rátát (k): $N_t = N_0 \times e^{-kt}$, ahol N_t az életképes baktérium telepek száma t időpontban, N_0 az életképes baktérium telepek száma a kezdeti médiumban, k az ölési ráta és t az inkubációs idő. A negatív és a pozitív k értékek növekedést, illetve pusztulást jeleznek. Az antibiotikumot baktericid hatásúnak tekintettük, ha a kiindulási élőcsíraszámhoz képest >99,9%-os csökkenést találtunk. Minden vizsgálatot legalább két párhuzamos kísérletben végeztünk.

VI. Eredmények

VI.1. Antibiotikum fogyási eredmények:

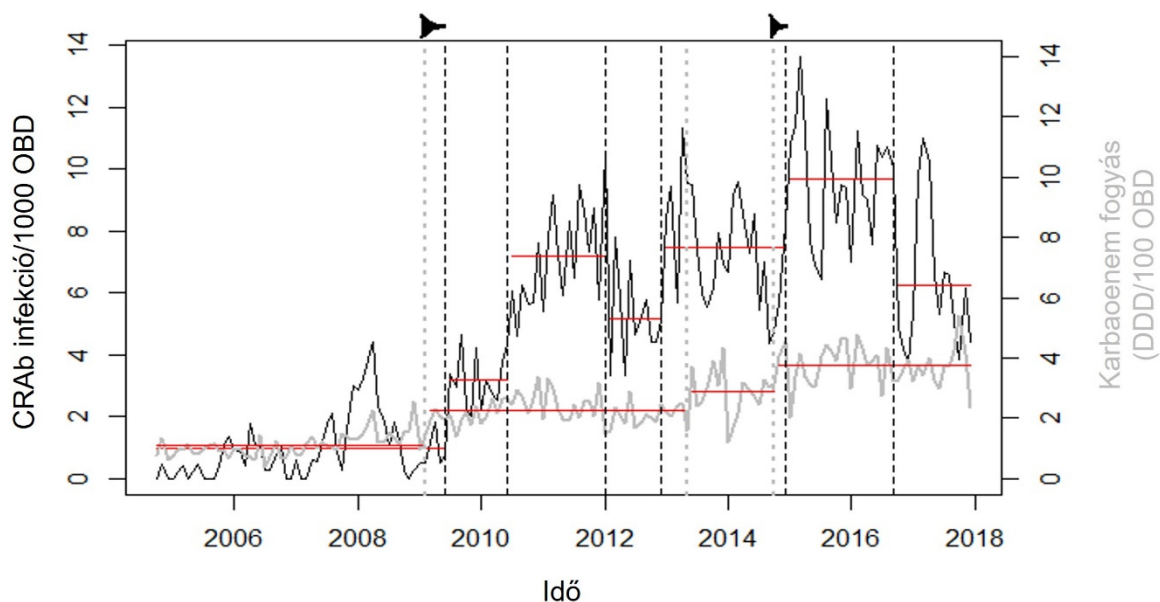
A karbapenem fogyasztása egyenletesen nőtt 2005 és 2018 között ($p < 0,001$; 2. ábra), a meropenem használat négyszeresére nőtt a két végpont között. Az átlagos felhasználás 0,64 DDD/100 OBD 2007-ben, míg 2,69 DDD/100 OBD 2017-ben. Az imipenem fogyasztás a meropenemhez hasonló volt 2007-ben (átlagos felhasználás 0.48 DDD/100 OBD), de nem változott drasztikusan a vizsgált időszak alatt (2017-ben az átlagos fogyás 0.80 DDD/100 OBD), amint azt a 2. ábra mutatja. A meropenem felhasználás jelentősen meghaladja az imipenem fogyást.



2. ábra: Az imipenem (pontosított görbe) és meropenem (folytonos görbe) fogyási adatai 2004 és 2018 között a Debreceni Egyetem Klinikai Központ osztályain.

VI.2. Töréspont analízis

A vizsgálat során hat olyan pontot azonosítottunk, amikor a CRAb törzsek előfordulása jelentősen változott (az idősor adott szakaszának megváltozott az átlaga). A megnövekedett CRAb prevalencia és a karbapenem használat között két esetben detektáltunk időbeli összefüggést: 2009 februárja és júniusa, illetve 2014 októbere és decembere között (3. ábra).



4. ábra: A töréspont analízis eredménye. A karbapenem rezisztens *Acinetobacter baumannii* (CRAb) okozta ifekciók előfordulása (fekete görbe), CRAB infekció/ 1000 ápolási napra (OBD) vonatkoztatva, és a karbapenem fogyasztási adatok, DDD/100 ápolási napra (szürke görbe) összevetése. A két nyíl az összefüggő töréspontokat jelölik, ahol a karbapenem fogyás emelkedését szorosan követte a CRAb incidenciájának növekedése

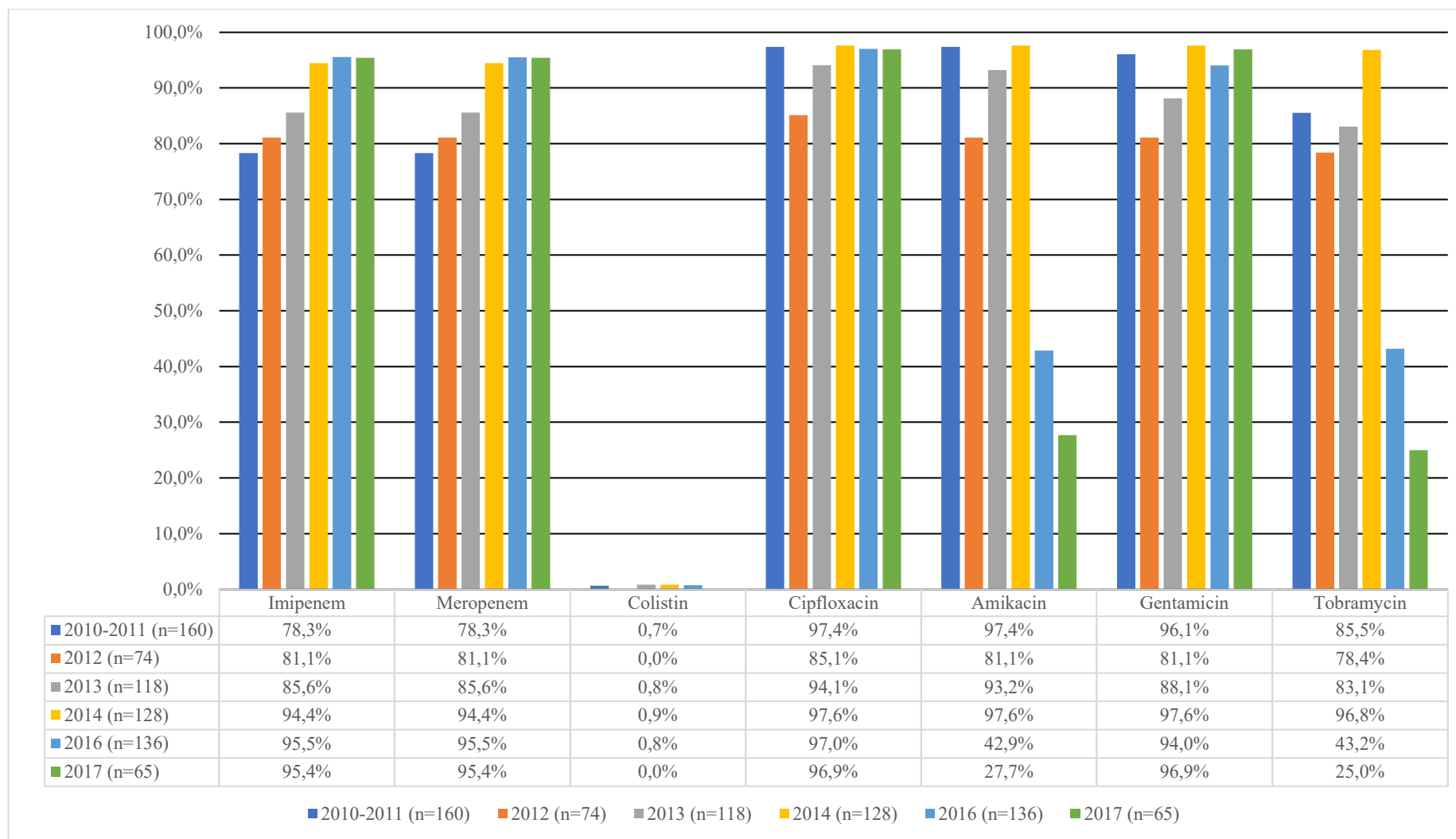
VI.3. Granger-okozati vizsgálat

A CRAb fekális hordozását a fekvőbetegeknél a klinikai CRAb megnövekedett prevalenciája okozta ($F = 15,84$; $p < 0,001$), ugyanakkor a fekvőbetegeknél a CRAb székletben való megjelenése nem fokozta a CRAb előfordulását ($F = 0,03$, $p = 0,855$) a klinikai mintákban. Ezzel szemben sem a karbapenemre érzékeny *A. baumannii* tünetmentes hordozása nem állt okozati összefüggésben a klinikai mintákból származó karbapenem érzékeny *A. baumannii* prevalenciájával ($F = 2,15$, $p = 0,155$), sem pedig fordítva ($F = 0,13$, $p = 0,726$).

VI.4. Klinikai izolátumok

VI.4.1. A klinikai izolátumok antibiotikum érzékenysége

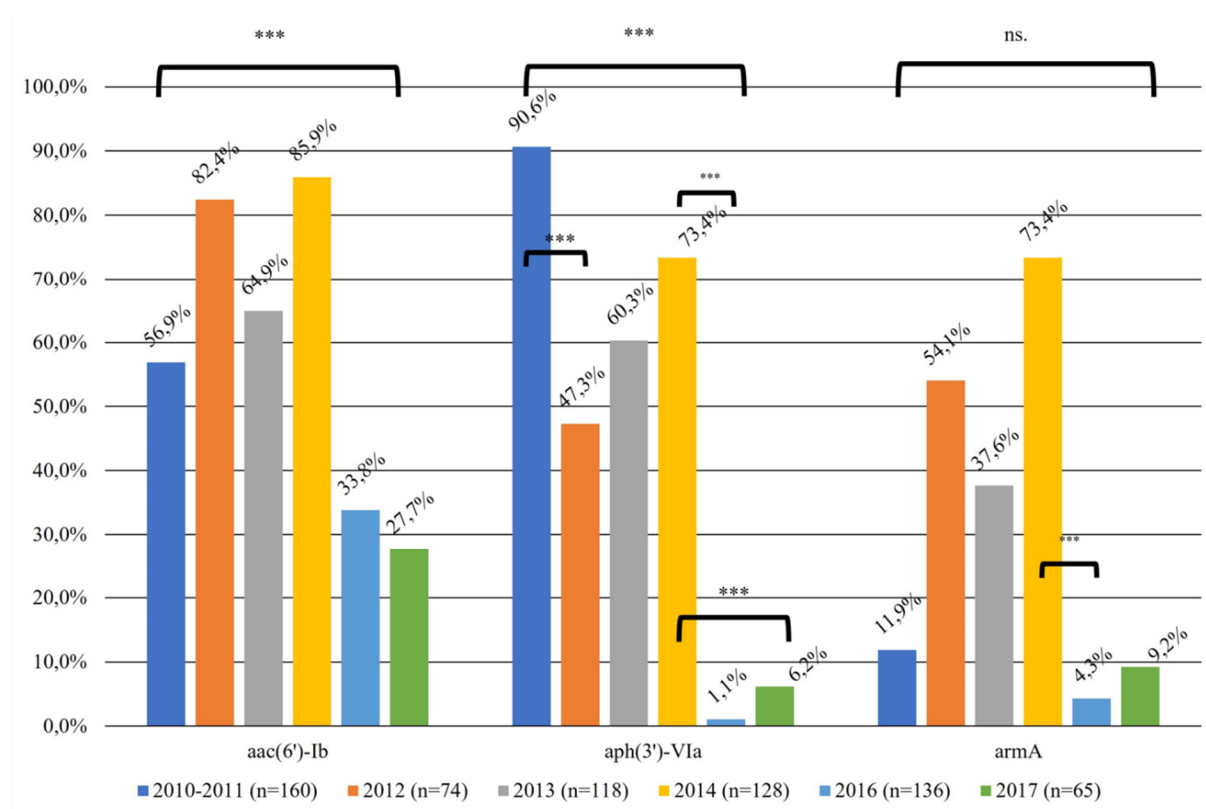
A rezisztencia 75% feletti volt az összes vizsgált antibiotikum esetében, kivéve a colistint (5. ábra). A karbapenem rezisztencia folyamatosan nőtt a vizsgálat során ($p < 0,001$). Az izolátumok több mint 90%-a CRAb volt. A ciprofloxacin és gentamicin rezisztencia nagyon magas maradt a vizsgálat során, míg az amikacin és tobramycin rezisztencia 2016-2017 között szignifikánsan csökkent ($p < 0,001$). A colistin rezisztencia mindvégig sporadikus volt.



5. ábra: Az antibiotikum rezisztencia fenotípusos változásának nyomonkövetése. A százalékok a rezisztens törzsek arányát mutatják. Az X tengelyen az antibiotikumok, az Y tengelyen a rezisztencia százalékos aránya szerepel. Szignifikancia szintek: *→ $p<0,05$; **→ $p<0,01$; ***→ $p<0,001$; ns → nem szignifikáns.

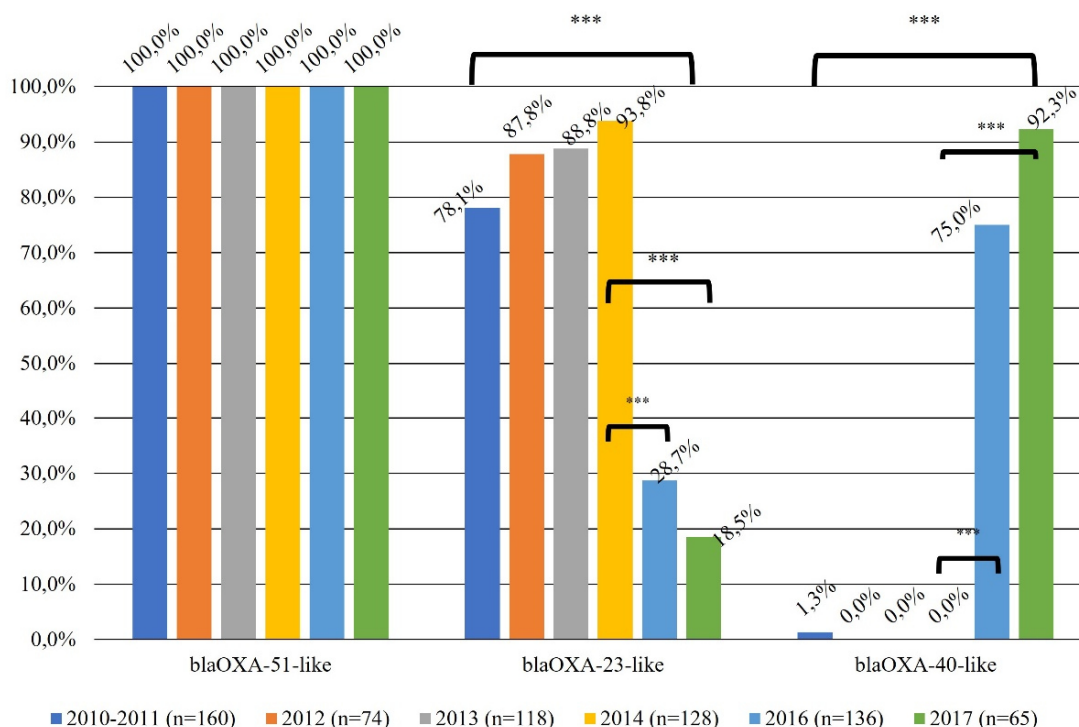
VI.4.2. Klinikai izolátumok rezisztencia gén megoszlása

Az aminoglikozid rezisztencia gének prevalenciája a vizsgált időszakban csökkent (6. ábra). A domináns *aph(3')-VIa* foszfortranszferáz gén prevalenciája 90,6%-ról 6,2%-ra csökkent ($p<0,001$). Az *aac(6')-Ib* acetil-transzferáz esetében szintén hasonló mintázat figyelhető meg: a vizsgálat végpontjai között szignifikáns csökkenést tapasztaltunk (56,9% vs. 27,7%). A metil-transzferáz *armA* gyakoriság a két végpont között nem mutatott szignifikáns eltérést, viszont a 2014 és 2016 között a gén prevalenciája szignifikánsan csökkent. ($p<0,001$).



6. ábra: Az aminoglikozid rezisztencia gének előfordulásának időbeli változása a vizsgált időszakban. A diagramm X tengelyén a vizsgált aminoglikozid rezisztencia gének, az Y tengelyen a gének előfordulási aránya szerepel. Szignifikancia szintek: *→ $p<0,05$; **→ $p<0,01$; ***→ $p<0,001$; ns → nem szignifikáns.

Az összes izolátum tartalmazta a *bla_{OXA-51-like}* géneket, ami azt bizonyítja, hogy minden vizsgált izolátum *A. baumannii* volt (7. ábra). A domináns karbapenemáz gén 2010 és 2014



7. ábra: A karbapenemáz géncsaládok előfordulásának időbeli változása a vizsgált időszakban. A diagramm X tengelyén a vizsgált karbapenemáz géncsaládok, az Y tengelyen a gének előfordulási aránya szerepel Szignifikancia szintek: *→ $p<0,05$; **→ $p<0,01$; ***→ $p<0,001$; ns → nem szignifikáns.

között a *blaOXA-23-like* volt (7. ábra), de a géncsalád előfordulása 2016-ban és 2017-ben szignifikánsan csökkent ($p<0,001$). A *blaOXA-40-like* karbapenemázok prevalenciája ezzel ellentétes tendenciát mutatott, míg a vizsgálati időszak elején a géncsalád szinte teljesen hiányzott, prevalenciája 2016-ban szignifikánsan emelkedett ($p<0,001$), 2017-ben pedig még magasabb volt ($p<0,001$).

VI.4.3. Klinikai izolátumok teljes genom szekvenálása

2010-ben a *blaOXA-23-like* géncsaládba tartozó karbapenemázok *blaOXA-23* génnek bizonyultak az összes – a főbb pulzotípusokat reprezentáló – szekvenált törzsben. Szekvenciátípusokat tekintve (ST) ST1, ST2 és ST45 fordult elő.

A 2017-ből származó összes csak *blaOXA-23-like* szerzett karbapenemáz gént hordozó izolátum az ST2-be tartozott. A nagyobb prevalenciájú *blaOXA-40-like* géncsaládot hordozó (75,0% 2016-ban és 92,3% 2017-ben) izolátumok az ST636-hoz és az ST492-hez tartoztak, amelyek mindegyike *blaOXA-72* gént, illetve három ST636 törzs esetében az a *blaOXA-72* és a *blaOXA-23* gént együtt kódolta (3. táblázat). A *blaOXA-23* gén környezetében elhelyezkedő gének

ezekben az izolátumokban megegyeztek a 2010-ből származó ST1 és ST45 törzsekével (például az *aph(3')-VIa* gén). Más típusú szerzett karbapenemáz géneket nem mutattunk ki (8. ábra).



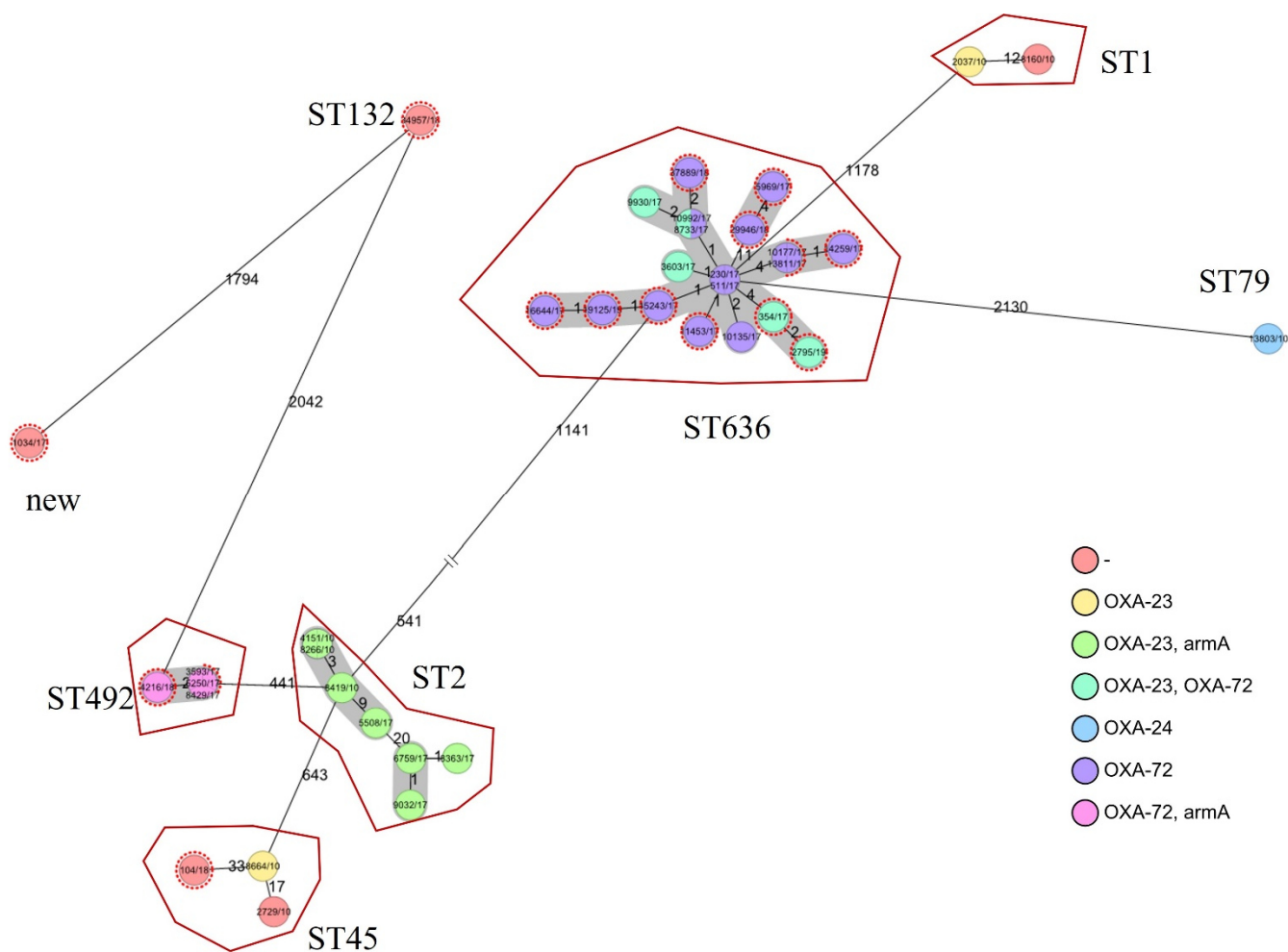
8. ábra: Az ST1, ST45 és a *blaOXA-23* gént hordozó ST636 izolátumokban az *bla_{OXA-23}* gén környezete.

Izolátum	Minta	Év	ST	Szerzett karbapenemáz	Rezisztencia gének				
					Qui	Agl	Sul	Mac	Tet
4151 Ac.No.: SRX9354489	vér	2010	2	blaOXA-23	aac(6')-Ib-cr	aac(6')-Ib3 aadA1 aph(3'')-Ib aph(3')-Ia aph(3')-VIa aph(6)-Id armA	sul1	mph(E) msr(E)	tet(B)
8266 Ac.No.: SRX9354496	bronchus	2010	2	blaOXA-23	aac(6')-Ib-cr	aac(6')-Ib3 aadA1 aph(3'')-Ib aph(3')-Ia aph(3')-VIa aph(6)-Id armA	sul1	mph(E) msr(E)	tet(B)
8419 Ac.No.: SRX9354497	bronchus	2010	2	blaOXA-23	aac(6')-Ib-cr	aac(6')-Ib3 aadA1 aph(3'')-Ib aph(3')-Ia aph(3')-VIa aph(6)-Id armA	sul1	mph(E) msr(E)	tet(B)
2738 Ac.No.: SRX9354478	torok	2010	2	blaOXA-23	aac(6')-Ib-cr	aac(6')-Ib3 aadA1 aph(3'')-Ib aph(3')-Ia aph(3')-VIa aph(6)-Id armA	sul1	mph(E) msr(E)	tet(B)
2037 Ac.No.: SRX9354477	abscessus	2010	1	blaOXA-23		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-VIa	sul1		
8160 Ac.No.: SRX9354495	vizelet	2010	1	-		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-VIa	sul1		
8664 Ac. No.: SRX9354494	kanül	2010	45	blaOXA-23		aph(3')-Ia aph(3')-VIa	sul1		
2729 Ac.No.: SRX9354493	bronchus	2010	45	blaOXA-23	aac(6')-Ib-cr	aac(6')-Ib3 aph(3')-Ia	sul1		tet(A)
13803 Ac.No.: SRX9354498	vér	2010	79	blaOXA-24		aac(3)-IIa aac(6')-Ia aph(3'')-Ib aph(3')-VIa aph(6)-Id armA	sul2		
5508 Ac.No.: SRX9354499	bronchus	2017	2	blaOXA-23	aac(6')-Ib-cr	aac(6')-Ib3 aadA1 aph(3'')-Ib aph(3')-Ia aph(6)-Id armA	sul1	mph(E) msr(E)	tet(B)
6759 Ac.No.: SRX9354479	köpet	2017	2	blaOXA-23	aac(6')-Ib-cr	aac(6')-Ib3 aadA1 aph(3'')-Ib aph(3')-Ia aph(3')-VIa aph(6)-Id armA	sul1	mph(E) msr(E)	tet(B)
8363 Ac.No.: SRX9354482	bronchus	2017	2	blaOXA-23	aac(6')-Ib-cr	aac(6')-Ib3 aadA1 aph(3'')-Ib	sul1	mph(E) msr(E)	tet(B)

						aph(3')-Ia aph(6)-Id armA			
9032 Ac.No.: SRX9354481	köpet	2017	2	blaOXA-23	aac(6')-Ib-cr	aac(6')-Ib3 aadA1 aph(3'')-Ib aph(3')-Ia aph(3')-VIa aph(6)-Id armA	sul1	mph(E) msr(E)	tet(B)
230 Ac.No.: SRX9354485	bronchus	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia	sul1		
511 Ac.No.: SRX9354486	bronchus	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia	sul1		
3603 Ac.No.: SRX9354487	bronchus	2017	636	blaOXA-72 blaOXA-23		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia aph(3')-VIa	sul1		
9930 Ac.No.: SRX9354492	bronchus	2017	636	blaOXA-72 blaOXA-23		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia aph(3')-VIa	sul1		
10135 Ac.No.: SRX9354488	nasalis	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1	sul1		
10177 Ac.No.: SRX9354490	torok	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1	sul1		
10992 Ac.No.: SRX9354483	bronchus	2017	636	blaOXA-72 blaOXA-23		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia aph(3')-VIa	sul1		
8733 Ac.No.: SRX9354491	drain	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia	sul1		
3593 Ac.No.: SRX9354480	bronchus	2017	492	blaOXA-72		aadA2 aph(3'')-Ib aph(6)-Id armA	sul1 sul2	mph(E) msr(E)	tet(B)
8429 Ac.No.: SRX9354484	trachea	2017	492	blaOXA-72		aadA2 aph(3'')-Ib aph(6)-Id armA	sul1 sul2	mph(E) msr(E)	tet(B)

3. táblázat: A kiválasztott klinikai *A. baumannii* izolátumok teljesgenom szekvenálásának eredménye, a különböző szekvenciatípusok rezisztenciagénjeinek összehasonlítása. Ac.No.= hozzáférési szám; ST=szekvenciatípus ; Qui=kinolonok; Agl=aminoglikozidok; Sul=szulfonamidok Mac=makrolidok; Tet=tetraciklinek.

Az ST636 izolátumok genetikailag igen egységesek voltak, a távolság ≤ 4 allél volt, míg az ST2 törzsek sokkal diverzebbnek bizonyultak, egyes törzsek között 20 allél különbséget is detektáltunk, így ezeket elkülönülő alcsoportokba soroltuk (9. ábra).



9. ábra: Minimális feszítő fa (Minmum spanning tree) az *A. baumannii* izolátumok cgMLST allélprofilja alapján. Mindegyik kör egy allélprofilot jelent, amely 2390 cgMLST célgén szekvenciaanalízisen alapul. A szaggatott vonallal jelölt körök a széklet izolátumokat, míg a folytonos vonalú körök a klinikai izolátumokat mutatják, genotípus szerint csoportosítva. Az összekötő vonalakon lévő számok az allélkülönbségek számát mutatják, a szürke sávok a szorosan kapcsolódó genotípusokat (<10 allelikus különbség a jelenlét-hiány alapján). Az azonos szekvenciatípusok keretezéssel vannak jelölve.

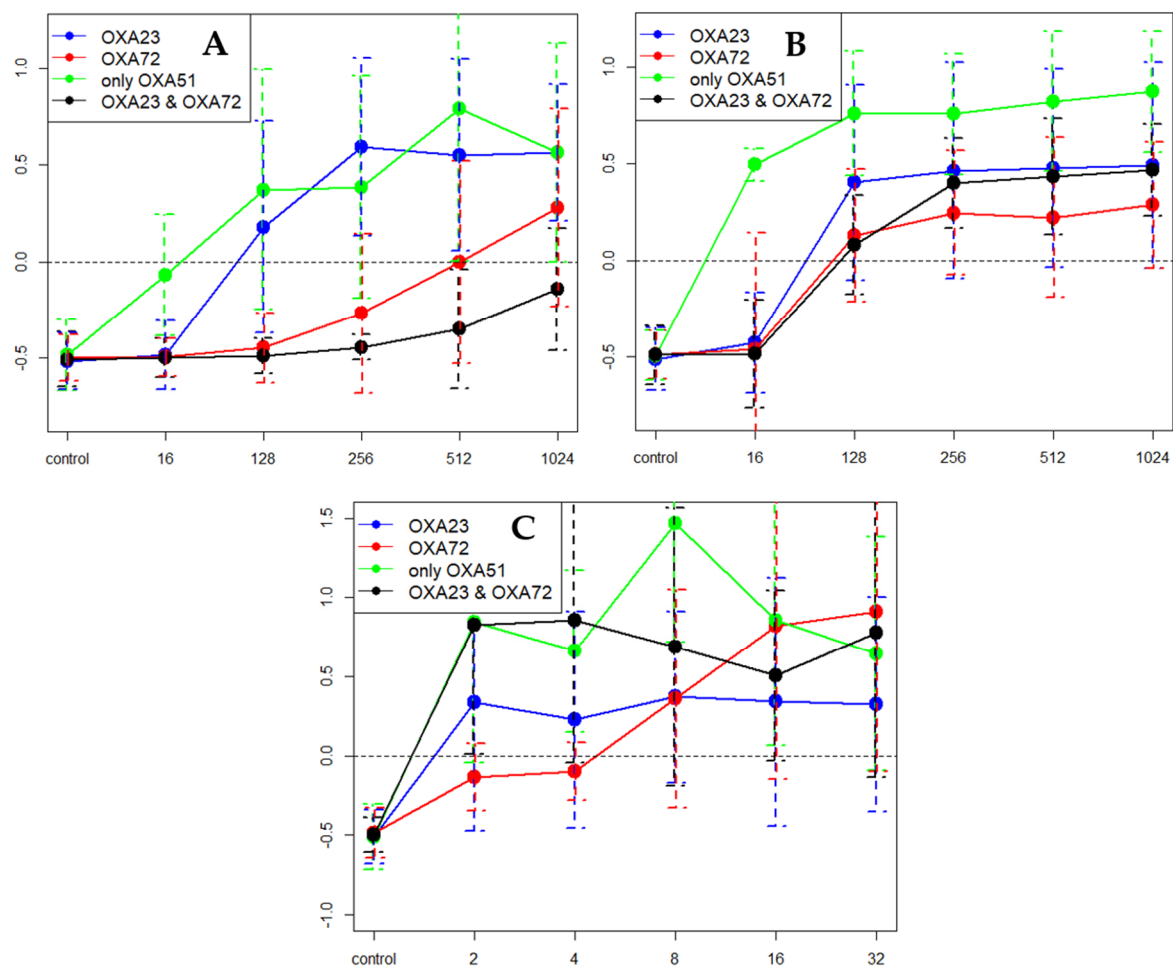
VI.4.4. Klinikai izolátumok idő-ölés vizsgálata

A vizsgált izolátumok klinikai szempontból rezisztensek voltak mind meropenemmel, mind imipenemmel szemben, a minimális inhibitor koncentráció (MIC) >32 mg/L volt, kivéve a csak *bla_{OXA-51-like}* gént kódoló két izolátumot (MIC=2 mg/l mindkét esetben). A csak *bla_{OXA-23}* hordozókkal (ST2) szemben a meropenem koncentrációfüggő baktericid hatást mutatott (10a. ábra) 128-1024 mg/L között (átlag $k=0,48$; 0,13-0,59), míg a *bla_{OXA-72}* hordozók (ST636; ST492) nem pusztultak el 256 mg/l-nél (átlag $k=-0,27$; -0,49 és -0,01 között), csak 512-1024 mg/L koncentráció között volt baktericid hatás (átlag $k=0,14$; 0,00 - 0,28). Sőt a mindkét karbapenemázt, *bla_{OXA-23}* és *bla_{OXA-72}*, hordozó izolátumok ellen csak bakteriosztatikus hatást figyeltünk meg a legmagasabb 1024 mg/L koncentráción (átlag $k=-$

0,14; 0,00 - -0,25) is. A meropenem 32 mg/L koncentráción baktericid volt a csak kromoszómálisan kódolt *bla_{OXA-51-like}* gént hordozó (átlag $k=0,08$; 0,05-0,10) izolátumokkal szemben.

Az imipenem koncentrációfüggetlen baktericid hatást mutatott 16 és 128 mg/L között, a *bla_{OXA-72}* (átlag $k=0,17$; 0,05-0,31) és a *bla_{OXA-23}* (átlag $k=0,36$; 0,19-0,57) karbapenemázt kódoló törzsek ellen is. A mindkét karbapenemázt együtt kódoló törzseknél (ST636) a baktericid koncentráció 128 mg/L volt (átlag $k=0,43$; 0,16-0,71) (10b. ábra). Hasonlóképpen a meropenemhez, az alacsonyabb koncentráció (16-32 mg/L) hatástalan volt, ugyanakkor az imipenem valamivel hatékonyabbnak bizonyult a csak *bla_{OXA-72}* hordozókkal (ST636; ST492) szemben 16 mg/L-nél.

A colistin hatása inkább izolátum, mint törzsfüggő volt, ám mind *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-72}*, mind *bla_{OXA-23}/bla_{OXA-72}* kódoló törzsekkel szemben a colistin baktericid hatást mutatott <2 mg/L koncentráción. (10c. ábra).



10. ábra: Az időölési vizsgálatok eredménye, az X tengely a gyógyszerkoncentrációt, az Y tengely az átlagos k-értékeket mutatja. A 0 feletti értékek (szaggatott vonal) baktericid hatást jeleznek (a részletekért lásd a szöveget). **A** panel: A meropenem elleni, a **B** panel: az imipenem elleni, a **C** panel: A colistin elleni eredményeinek összefoglalása

VI.5. Széklet izolátumok

VI.5.1. Széklet izolátumok megoszlása és fenotípusos rezisztenciája

Az első vizsgálati időszakban (2011-2013) csak egy *A. baumannii* izolátumot azonosítottunk (0,02%) a székletmintákban (n=4067). 2017 januárja és 2019 áprilisa között 7806 székletmintát vizsgáltunk, amiből 55 (0,15%) *A. baumannii* izolátum tenyésztett ki (24 db 2017-ben; 25 db 2018-ban; 6 db 2019-ben). Ezek az izolátumok olyan betegekből származtak, akiknek más mintáiból nem tenyésztett ki *A. baumannii*. Ebből az 55 izolátumból 30 gyermekgyógyászatról, 15 belgyógyászatról, 10 pedig különböző más klinikákról (pl. tüdőgyógyászat, idegsebészet) származott. Az *A. baumannii* izolátumok közül 15 volt CRAB (imipenem és meropenem rezisztens), 17 ciprofloxacinnal, 9 amikacinnal és tobramycinnel, 13 pedig gentamicinnel szemben mutatott rezisztenciát.

VI.5.2. A széklet izolátumok teljes genom szekvenálása

A teljes genom analíziséhez 16 széklet izolátumot választottunk ki az antibiotikum érzékenységi és PCR vizsgálatok alapján. A szekvenált izolátumok közül 15 legalább egy karbapenemázra pozitív volt, egy esetben pedig nem detektáltunk sem *bla_{OXA-23-like}* sem *bla_{OXA-40-like}* gént, viszont fenotípusosan rezisztensnek bizonyult a vizsgált karbapenemekkel szemben.

A 16 szekvenált izolátum közül csak az *bla_{OXA-72}*-t hordozó ST636-ot (n=9) és az ST492-t (n=2) mutattunk ki. Két esetben találtunk *bla_{OXA-72}/bla_{OXA-23}* hordozó ST636 izolátumot. A két ST492 törzs az *armA* aminoglikozid rezisztencia gént is hordozta. A *bla_{OXA-72}* gén környezetének további vizsgálata során kiderült, hogy az ST636 és ST492 izolátumok pMAL-1-like és pA105-2-like plazmidokat hordoznak. Csak három izolátum nem tartozott az újonnan megjelent szekvenciatípusok (ST492, ST636) közé, az *aac(6')-Ib-cr* és csak a *bla_{OXA-120}* hordozó ST132, valamint a *bla_{OXA-20}* gént hordozó az ST45. Egy esetben egy új, *bla_{OXA-106}* gént hordozó szekvenciatípust azonosítottunk (4. táblázat).

Izolátum	Év	ST	Szerzett karbapenemáz	Rezisztencia gének				
				Qui	Agl	Sul	Mac	Tet
1034 Ac.No.: SRX1405698 6	2017	new	blaOXA-106					
5250 Ac.No.: SRX1405699 5	2017	492	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-VIa armA	sul1 sul2	mph(E) msr(E)	
11453 Ac.No.: SRX1405699 6	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia	sul1		
14259 Ac. No.: SRX1405699 7	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1	sul1		
15243 Ac.No.: SRX1405699 8	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia	sul1		
16644 Ac.No.: SRX1405699 9	2017	636	blaOXA-72		aph(3')-Ia	sul1		
29946 Ac.No.: SRX1405700 0	2017	636	blaOXA-72					
37889 Ac.No.: SRX1405698 8	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia	sul1		
354 Ac.No.: SRX1405698 9	2017	636	blaOXA-23 blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia aph(3')-VIa	sul1		
5969 Ac.No.: SRX1405699 0	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia	sul1		
13811 Ac.No.: SRX1405699 1	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1	sul1		
19125 Ac.No.: SRX1405699 2	2017	636	blaOXA-72		aac(3)-Ia aadA1 aph(3')-Ia	sul1		
104 Ac.No.: SRX1405698 5	2018	45	-	aac(6')-Ib-cr	aac(6')-Ib3 aph(3')-Ia	sul1		
4216 Ac.No.: SRX1405699 4	2018	492	blaOXA-72		aadA2 aph(3'')-Ib aph(6)-Id armA	sul1 sul2	mph(E) msr(E)	tet(B)
34957 Ac.No.: SRX1405698 7	2018	132	-					

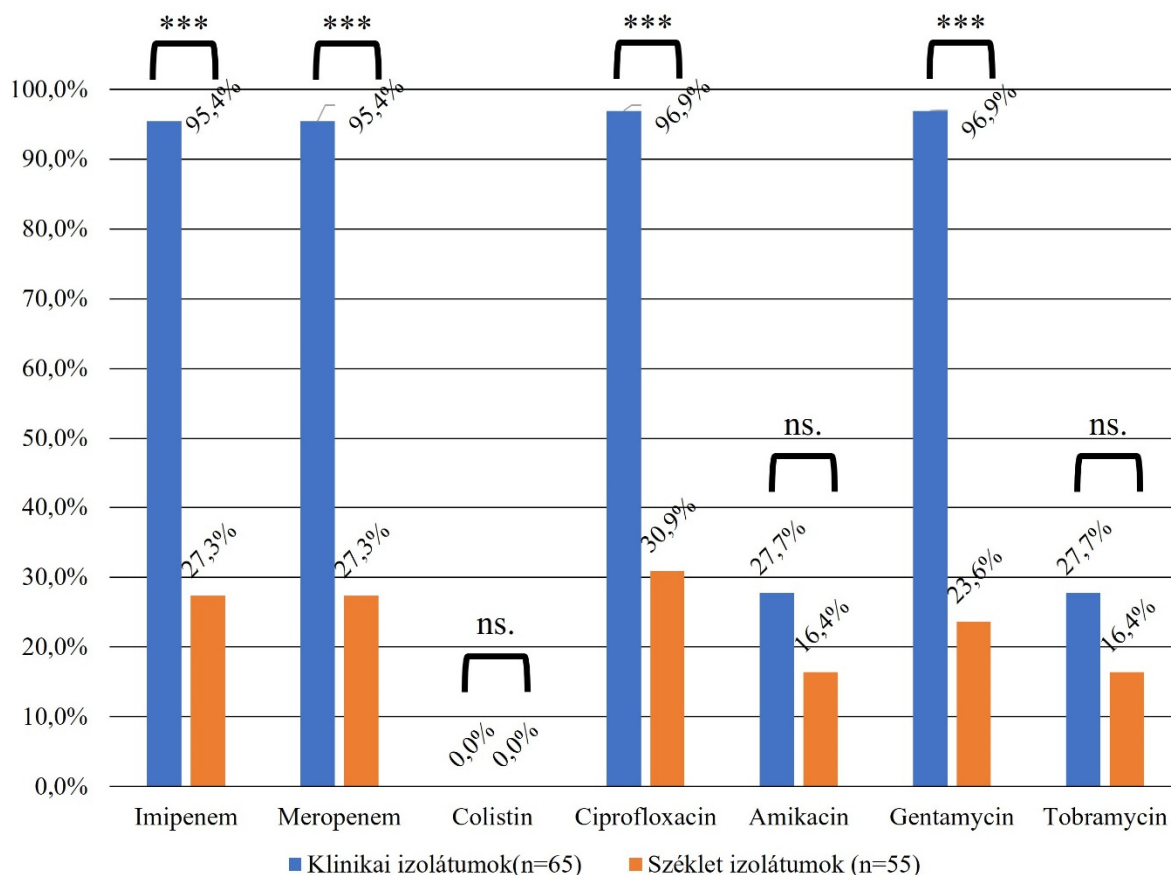
2795				aac(3)-Ia	
Ac.No.:	2019	636	blaOXA-23	aadA1	
SRX1405699			blaOXA-72	aph(3')-Ia	sul1
3				aph(3')-VIa	

4. táblázat: A kiválasztott széklet eredetű *A. baumannii* izolátumok teljes genom szekvenálásának eredménye, a különböző szekvenciatípusok rezisztenciagénjeinek összehasonlítása. Ac.No.= hozzáférési szám; ST=szekvenciatípus ; Qui=kinolonok; Agl=aminoglikozidok; Sul=szulfonamidok Mac=makrolidok; Tet=tetraciklinek

A WGS megerősítette, hogy hasonlóan a klinikai eredetű ST636 CRAB izolátumokhoz, a fekális ST636 törzsek is genetikailag nagyon közel állnak egymáshoz, ebben a filogenetikai csoportban mindössze 4 allél távolságot észleltünk (9. ábra).

VI.5.3. A klinikai és széklet izolátumok összehasonlítása

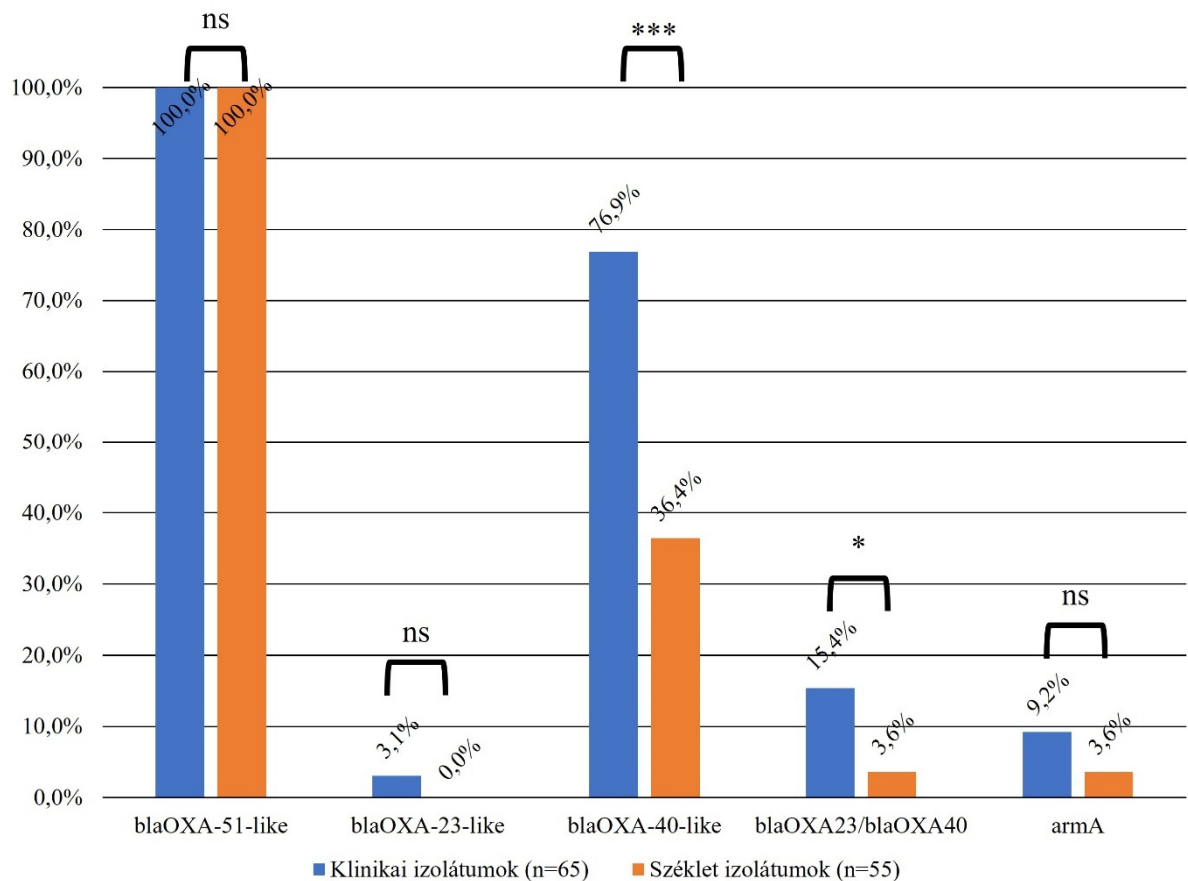
A klinikai izolátumok rezisztencia aránya 2017-től szignifikánsan magasabb volt az imipenem (95,4% vs. 27,3%; $p<0,001$), a meropenem (95,4% vs. 27,3%; $p<0,001$), a ciprofloxacín (96,9% vs. 30,9%; $p<0,001$) és a gentamicin (96,9% vs. 23,6%; $p<0,001$) esetében is (11. ábra). Ez a különbség nem volt szignifikáns az amikacin és a tobramycin esetében, de ezeknél az antibiotikumoknál is magasabb volt a rezisztencia aránya a klinikai izolátumok körében (11. ábra).



11. ábra: Az antibiotikum rezisztencia fenotípusos összehasonlítása a klinikai és széklet izolátumok között. A diagramm X tengelyén a antibiotikumok, az Y tengelyen a rezisztencia előfordulási aránya szerepel. Szignifikancia szintek: *→ $p<0,05$; **→ $p<0,01$; ***→ $p<0,001$; ns → nem szignifikáns.

Az imipenem és a meropenem minimális gátló koncentrációja (MIC) minden esetben >32 mg/l volt. Az idő-ölés analízis kimutatta, hogy nincs különbség a széklet és a klinikai törzsek között a karbapenemek jelenlétében történő növekedés kinetikájában. A meropenem 128 mg/l-ben baktericid volt az ST492 izolátumok esetében, de az ST636 ellen soha nem figyeltünk meg baktericid hatást, ahogy *bla_{OXA-40-like}*, sem *bla_{OXA-40-like}* és *bla_{OXA-23-like}* karbapenemázt hordozó izolátumok ellen sem. Az imipenem 256 mg/l dózisban baktericid volt minden vizsgált izolátummal szemben.

A *bla_{OXA-40-like}* karbapenemáz gének prevalenciája szignifikánsan magasabb volt a klinikai *A. baumannii* izolátumokban (76,9% vs. 36,4; $p<0,001$), két izolátum csak a *bla_{OXA-23-like}* gént hordozta, míg a székletben nem voltak olyan törzsek, amelyek csak a *bla_{OXA-23-like}* karbapenemázt hordozták. A két karbapenemázt egyszerre hordozó izolátumok aránya szintén szignifikánsan magasabb volt a klinikai izolátumok között (15,4% vs 3,6%; $p<0,05$) (12. ábra). Az *armA* aminoglikozid rezisztencia gén esetében nem volt szignifikáns a különbség (9-2% vs. 3,6%) (12. ábra).



12. ábra: A gének előfordulásának összehasonlítása a klinikai és széklet izolátumok körében. A diagramm X tengelyén a vizsgált rezisztencia gének, az Y tengelyen a gének előfordulási aránya szerepel Szignifikancia szintek: *→ $p < 0,05$; **→ $p < 0,01$; ***→ $p < 0,001$; ns → nem szignifikáns.

Mind a klinikai, mind a fekális ST636 és ST492 izolátumok a *bla_{OXA-72}* karbapenemáz gént pMAL-1-like plazmidon hordozzák, egy klinikai izolátumban azonosítottuk a teljes pMAL-1 plazmidot 99,99%-os identikusság mellett egy kontigban (GeneBank ID: KX230793.1). A *bla_{OXA-23}* gén minden esetben a *Tn2008* (GeneBank ID: LN877214.1) transzpozonhoz kapcsolódott.

VII. Megbeszélés

Jelen tanulmányban a teljes genom analízis alátámasztotta, hogy az *A. baumannii* esetében törzsváltás történt, amely során a korábban domináns *bla_{OXA-23-like}* hordozó ST2 és ST45 szekvenciatípusba tartozó izolátumokat felváltották az ST636 és ST492 törzsek, melyek *bla_{OXA-40-like}* karbapenemázt kódoltak. Ugyanakkor ezek az új törzsek nem tudták teljesen kiszorítani a korábbi törzseket. Az antibiotikumok használatával összefüggő evolúció, mely az egyre rezisztensebb baktérium törzsek felé halad, egy jól ismert folyamat. Az *A. baumannii* esetében az újonnan megjelent törzsek világszerte növekvő prevalenciát mutatnak (Dortet, 2016). Ez összhangban áll a fentebb említett evolúciós folyamatokkal, hiszen az önmagában gyenge hidrolitikus képességekkel rendelkező *bla_{OXA-51-like}* gének által kódolt enzimeket először a *bla_{OXA-23-like}*, illetve a *bla_{OXA-58-like}* pozitív klónok váltották, majd megjelentek a karbapenemeket leghatékonyabban hidrolizálni képes *bla_{OXA-40-like}* karbapenemázokat hordozó klónok.

A kórházi környezethez való alkalmazkodás nem csak rezisztencia formájában jelenhet meg, bár tény, hogy az antibiotikumokkal szembeni gyors és hatékony rezisztencia az egyik legfőbb mozgatója ennek a változásnak. Egy koreai tanulmányban összefüggést tártak fel a megnövekedett fluorokinolon használat és a III. generációs cefalosporin, illetve ciprofloxacinnal szembeni rezisztens *E. coli* és *K. pneumoniae* előfordulása között (Lai, 2011). Hasonló eredményre jutottak Mamoon és mtsai. a fluorokinolon használat és az ESBL termelő *E. coli* prevalenciája esetén (Aldeyab, 2012). Bár egy-egy rezisztencia mechanizmus megszerzésének komoly fitness költsége lehet, amíg az antibiotikum használat elkerülése túlélési előnyt biztosít, addig az antibiotikumok használata miatti szelekciós nyomás egyre rezisztensebb baktériumok megjelenését, terjedését és fennmaradását fogja eredményezni. Az említett rezisztencia megszerzése mellett a virulencia és transzmissziós tényezők is fontos hatással vannak a törzsek térbeli (osztályok közötti) és időbeli kicserélődésében.

Az egyre rezisztensebb *A. baumannii* terjedése a szakirodalom által már jól dokumentált folyamat, mely összefügg a III. generációs cefalosporinok és karbapenemek használatának növekedésével (Manikal, 2000). Utóbbi kapcsolatot a jelen tanulmányban bemutatott töréspont analízis is alátámasztja. Ez a folyamat rezisztencia spirál része, a karbapenem felhasználás növekedése az ESBL termelő baktériumok elterjedésével és az emiatti növekvő karbapenem felhasználással lehet összefüggésben (Zowawi, 2015; Tóth, 2021), amit munkacsoportunk hazai adatokon statisztikailag is megerősített (Tóth, 2019).

Ezenkívül a CRAb izolátumok 2012 előtti vizsgálata is rámutatott a karbapenemek használata és a rezisztens törzsek megemelkedett prevalenciája közti kapcsolatra (Mózes, 2014).

A jelen tanulmány idő-ölési kísérletei rámutattak arra, hogy a fentebb említett folyamat esetében az antibiotikum csoporton belül az egyes szerek iránti rezisztencia, ha kismértékben is, de eltérhet. A meropenem és imipenem ölési kinetikája eltérő volt; a meropenem kisebb hatékonyságot mutatott az újonnan megjelent ST636 és ST492 izolátumokkal szemben, mint az imipenem. Ez a különbség jelenthetett szelekciós előnyt az új *bla_{OXA-72}* törzsek számára, hiszen az antibiotikum fogyási adatokból kiderül, hogy a klinikák osztályain a meropenem használat a négyszeresére nőtt a vizsgált 2007 és 2017 közötti időszakban, míg az imipenemnél a fogyási adatok jelentősen nem változtak (Mózes, 2014).

Fontos megemlíteni, hogy az ST636 és ST492 izolátumok előnye klinikailag elérhető koncentrációkon nem kimutatható, azonban mégis fontos tényező lehet a törzsek közötti szelekciós versenyben. Hasonlóan magyarázható például a H30Rx *E. coli* pandémiás klónok sikere a más fluorokinolon rezisztens *E. coli* ST131 szubklónokkal szemben (Johnson, 2015). Ebben az esetben is a klinikailag rezisztens, de eltérő szintű rezisztenciával rendelkező kládok közötti kompetíció során a legmagasabb szintű rezisztenciát mutató szubklón bizonyult a legsikeresebbnek. Az előbbi, illetve a jelen tanulmányban bemutatott eredmények is rámutatnak a helyes antibiotikum használat fontosságára, mely nem csak a kórokozóval szemben hatásos antibakteriális szer használatát jelenti, de egy csoport spektrumukban kis különbségeket mutató tagjainak kiegyensúlyozott használatát is. Így még a klinikai szempontból is magas szintű rezisztenciával rendelkező törzseket is felválthatják rezisztensebb, új klónok nagy szelekciós nyomás alatt, mert a magasabb rezisztenciaszint elérése evolúciós szempontból előnyös lehet.

A megnövekedett fekális hordozás egybeesett a törzsváltással. A *bla_{OXA-72}* karbapenemáz gént hordozó ST636 és ST492 szekvenciatípusokat azonosítottunk a széklet CRAb izolátumok esetében, míg a korábban a klinikai izolátumoknál domináns csak *bla_{OXA-23}* gént hordozó ST2 izolátumok hiányoztak.

Fontos kiemelni, hogy a vizsgált széklet eredetű CRAb izolátumok mindegyike, olyan betegről származott, akiknek más klinikai mintájában nem jelent meg sem karbapenem rezisztens sem érzékeny *A. baumannii*. (Sajnos a fertőzöttek széklet kolonizációjának szisztematikus vizsgálatára nem volt lehetőség.) Korábbi tanulmányok már vizsgálták a karbapenem rezisztens *A. baumannii* törzsekkel való kolonizációt, azonban a vizsgálatok intenzív osztályokon történtek, és a betegeknél súlyos *A. baumannii* által okozott fertőzést mutattak ki (Corbella; 1996, Maamar, 2018). Prevalencia eredményeink összhangban állnak

Dijkshoorn és mtsai. által végzett felméréssel amely során az *A. baumannii* egészséges felnőtt populációs előfordulása 0,8 -0 % -nak bizonyult (Dijkshoorn, 2005). Ugyanakkor, kevés adat áll rendelkezésre a korábban CRAB-al nem fertőzött betegekről. Li és mtsai. hasonló, 1,48%-os (74/5000) széklet prevalenciáról számoltak be kórházi betegek nyomon követéses vizsgálatában, ám azt nem publikálták, hogy a betegek *A. baumannii* fertőzésben szenvedtek vagy tünetmentes kolonizációról volt szó (Li, 2019).

Mindezek alapján az újonnan megjelent törzsek esetében nemcsak a fertőzések száma nőtt meg, de megnövekedett azoknak a száma is, akik betegség kialakulása nélkül kolonizálódtak, ami a korábban elterjedt törzsekre nem volt jellemző. A kolonizációs képesség tehát törzsspecifikus lehet, ami a meropenemmel szembeni nagyobb rezisztencián túl hozzájárulhatott a *bla_{OXA-72}*-t hordozó törzsek sikeréhez (Petrović, 2018; Nemec, 2010; Villalón, 2019).

A Granger-oksági teszt rámutatott arra, hogy összefüggés áll fenn a megnövekedett CRAB prevalencia és a karbapenem rezisztens törzsek széklet mintákban való megjelenése között, ugyanakkor ez nem mondható el az antibiotikum csoportra érzékeny izolátumok esetében. A rezisztens törzsek okozta fertőzések előfordulásának gyakorisága hatott a hordozás megjelenésére, míg a hordozás nem fokozta a fertőzések előfordulását. Mindez azt jelenti, hogy a megnövekedett hordozás a fertőzések emelkedő prevalenciájának következménye lehet, például a több beteg miatti magasabb környezeti kontamináció eredményeképpen.

Klinikai szempontból a bélrendszer CRAB izolátumokkal történő tünetmentes kolonizációjának a felismerése jelentős kihívás, mivel ezek a betegek átadhatják a kórokozót az egészségügyi dolgozóknak, illetve a beteg környezete (pl. betegágy) is kontaminálódhat. Ezt alátámasztja, hogy a Granger-oksági teszt alapján a kolonizáltak emelkedő száma a fertőzöttek emelkedő számával magyarázható. A kontaminálódott kórházi környezettől, illetve a kolonizált ápoló személyzettől a később érkező, kritikus állapotban lévő betegek kolonizációja majd akár invazív fertőzése következhet be. Mivel a vastagbél kolonizációja egy multirezisztens kórokozóval önmagában nem indikációja az antibiotikus terápiának, illetve az antibiotikus terápia nem szünteti meg a kolonizációt, ezért a betegek szűrése és izolálása tűnik továbbra is a leghatékonyabb intézkedésnek a terjedés ellen (Gniadek, 2016).

Az antibiotikum stewardship törekvések általában egy gyógyszercsoport fogyasztásának csökkentését célozzák, egyformán kezelve a csoporton belüli azonos spektrumú gyógyszereket. Jelen tanulmány arra hívja fel a figyelmet, hogy a rokon vegyületek nem feltétlenül egyenrangúak, és kedvezhet bizonyos rezisztens törzsek

elterjedésének és/vagy a már rezisztens törzseknél a magasabb rezisztencia szint kifejlődésének vagy akár a bélflóra kolonizációjának. Ellenkezőleg, az egyes vegyületek egy gyógyszercsoporton belüli sokoldalú felhasználása az egységes szelekciós nyomás csökkentésével akadályozhatja a rezisztencia terjedését. Ha a teljes antibiotikum restrikció nem kivitelezhető, egy ilyen megközelítés előnyös lehet.

VIII. Új eredmények

- A megnövekedett antibiotikum használat és a CRAb előfordulás között töréspont analízis két esetbentárt fel összefüggést, amikor az antibiotikum használat növekedését követte az rezisztens törzsek prevalenciájának növekedése.
- A klinikai CRAb izolátumok körében törzsváltás történt 2014 és 2016 között. Az addig domináns ST2 *bla_{OXA-23}* karbapenámzokat kódoló törzseket az újonnan megjelent ST636 és ST492 törzsek szorították vissza, melyek *bla_{OXA-72}* gént kódoltak.
- Az új törzsek rezisztenciája eltért: a meropenem koncentrációfüggő ölü hatást mutatott, a *bla_{OXA-72}*-t hordozó izolátumok rezisztensebbek voltak. Imipenem esetében az antibiotikum hasonló mértékű koncentráció-független hatást mutatott mindkét karbapenemáz termelőivel szemben.
- Az *A. baumannii* előfordulása megnövekedett a széklet mintákban, és a CRAb izolátumok is megjelentek a törzsváltással egyidőben. A székletben korábban klinikai minták esetében domináns ST2, illetve csak *bla_{OXA-23}* karbapenemázt kódoló izolátumot nem azonosítottunk. A CRAb izolátumok mindegyike ST636 és ST492 szekvenciatípusba tartozott.
- A Granger oksági analízis eredményei alapján a CRAb okozta fertőzés megnövekedett prevalenciája okozta a fekális hordozás megjelenését nem pedig fordítva. Karbapenem érzékeny izolátumok esetében nem tapasztaltunk ilyen összefüggést.

IX. Összefoglalás

A Debreceni Egyetem Klinikai Központjában izolált a karbapenem rezisztens *A. baumannii*-k esetében 2016 előtt a *bla_{OXA-23}* hordozó ST2 és ST45 klónok domináltak. Azonban 2017-re ezen törzsek prevalenciája lecsökkent és egy újonnan megjelent *bla_{OXA-72}* karbapenemázt kódoló ST636 és ST492 klónok jelentek meg. Az új törzs megjelenése egybeesett a megemelkedett karbapenem fogyási adatokkal, elsősorban az egyoldalú meropenem használatával. Hipotézisünk az volt, hogy a bekövetkezett törzsváltás, az említett egyoldalú antibiotikum használatával függött össze. Az új törzsek megjelenésével egy időben megjelentek az *A. baumannii* -t tünetmentes hordozó a fekvőbetegek.

A *bla_{OXA-23}* és *bla_{OXA-72}* karbapenemázt kódoló izolátumok rezisztenciájának különbségeit idő-ölés kísérletekben vizsgáltuk, karbapenemekkel (meropenem és imipenem; 16, 128-1024 mg/L) és colistinnel (2-32 mg/L) szemben.

Meropenem esetében eltérést mutattunk ki a két karbapenemáz termelésével összefüggő rezisztencia között, míg a *bla_{OXA-23}*-t kódoló ST2 és ST45 izolátumok 256-1024 mg/L között ($k=0,346-0,859$) mutatott baktericid hatást, addig az újonnan megjelent *bla_{OXA-72}* gént hordozó ST636, ST492 klónok esetében ez a hatás csak 512-1024 mg/L koncentrációnál ($k=0,156-0,421$) jelentkezett. Az imipenem koncentrációfüggetlen baktericid hatást mutatott 128 és 1024 mg/L között mind ST2, ST45, ST636 és ST492 esetében. A colistin baktériumölő hatása izolátumfüggő volt.

2017 és 2019 között a 7806 vizsgált rutin diagnosztikai vizsgálatra érkező székletmintákból 55 *A. baumannii* tenyésztett (0,15%). Ebből a mintacsoportból származó izolátumok esetében a karbapenem rezisztencia prevalenciája alacsonyabb volt, mint a fentebb említett klinikai mintákból származó izolátumoké. A fekális izolátumok között a csak *bla_{OXA-23}* gént hordozó törzsek nem voltak jelen. A *bla_{OXA-72}* karbapenemázt hordozó izolátumok aránya 36,4% volt, de az izolátumok 3,6%-a mindkét karbapenemázt kódolta. A klinikai izolátumok esetében a *bla_{OXA-72}* gén előfordulása 76,9%, míg a *bla_{OXA-23}* gén előfordulása 3,1% volt. A két gént az izolátumok 15,4%-a kódolta egyszerre.

A rezisztensebb klónok, illetve a *bla_{OXA-72}*-t hordozó izolátumok megjelenéséhez a meropenem rezisztenciában tapasztalható különbség hozzájárulhatott, mely különbség imipenem esetében nem volt megfigyelhető. Ez rávilágít az egyoldalú antibiotikum-használat veszélyeire. A CRAb izolátumok klinikai prevalenciája okozta a karbapenem-rezisztens ST636 és ST492 izolátumok fekális hordozásának előfordulását, de ez az érzékeny izolátumok esetében nem mutatható ki.

X. Summary

In case of the CRAb strains, *bla*_{OXA-23-like} carbapenemase was the dominant gene between 2010 and 2014 at the University of Debrecen Clinical Centre. The prevalence of the isolates carrying the gene decreased in 2016 and *bla*_{OXA-40-like} encoding *A. baumannii* isolates became dominant by 2017. Whole-genome sequencing was used to demonstrate strain replacement. The carbapenem consumption has increased fourfold in the last 10 years, predominantly due to an increase in meropenem use. Our hypothesis was that the strain switch is probably due to the pattern of antibiotic consumption, mainly uniform carbapenem use. The strain replacement coincided with the appearance of asymptomatic carriage of *A. baumannii* inpatients.

Differences in resistance between clinical strains carrying the *bla*_{OXA-23} and *bla*_{OXA-72} (the latter belonging to the *bla*_{OXA-40-like} group) carbapenemase genes were investigated in time-kill assays with carbapenems (meropenem and imipenem; 16, 128-1024 mg/L) and colistin (2-32 mg/L); the curves were used to calculate killing rates (k).

Meropenem showed a bactericidal effect between 256-1024 mg/L (k=0.346-0.859) against the *bla*_{OXA-23} (ST2; ST45) carriers dominant in 2010, whereas this effect for *bla*_{OXA-72} (ST636, ST492) carriers was shown only with 512-1024 mg/L concentrations (k=0.156-0.421). In contrast, imipenem showed a concentration-independent bactericidal effect between 128-1024 mg/L against any isolates (k=0.106-0.639). The effect of colistin was isolate-dependent.

Between 2017 and 2019, 55 *A. baumannii* isolates were identified from 7806 faecal samples (0.15%). Carbapenem resistance was less common in faecal isolates than in clinical isolates, collected from the same period. Only the *bla*_{OXA-40-like} carbapenemase gene family was detectable among the faecal isolates (36.4%), there were no isolates carrying only the *bla*_{OXA-23-like} gene, and the proportion of isolates encoding both carbapenemases was 3.6%. In case of the clinical isolates, the prevalence of the *bla*_{OXA-40-like} gene was 76.9%, while the prevalence of the *bla*_{OXA-23-like} gene was 3.1%. The two genes were encoded by 15.4% of the isolates.

The difference in meropenem resistance may have contributed to the spread of *bla*_{OXA-72}-carrier strains. This difference was not detected with imipenem, highlighting the dangers of uniform antibiotic use. There is a Granger-causality between the clinical prevalence of CRAb isolates and the incidence of faecal carriage of the new carbapenem-resistant ST636 and ST492 isolates, but this is not detectable in case of the sensitive isolates.

XI. Társszerzők hozzájárulása:

- A doktori értekezésben szereplő statisztikai analízisek: töréspont analízis, Granger oksági vizsgálat témavezetői (Dr. Kardos Gábor) segítségével történt.
- A teljes genom analízis (DNS izolálás, könyvtár készítés, szekvenálás) a Nemzeti Népegészségügyi Központ munkatársainak (Dr. Tóth Ákos és kollégái) közreműködésével történt.

XII. Irodalomjegyzék

- Aldeyab MA, Harbarth S, Vernaz N, Kearney MP, Scott MG, Darwish Elhajji FW, Aldiab MA, McElnay JC. The impact of antibiotic use on the incidence and resistance pattern of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in primary and secondary healthcare settings. *British journal of clinical pharmacology* 2012;1:171-179.
- Alejandra Mussi M, Limansky AS, Relling V, Ravasi P, Arakaki A, Actis LA, Viale AM, Horizontal Gene Transfer and Assortative Recombination within the *Acinetobacter baumannii* Clinical Population Provide Genetic Diversity at the Single *carO* Gene, Encoding a Major Outer Membrane Protein Channel. *Journal of Bacteriology* 2011;18:4736-4748.
- Aljindan R, Bukharie H, Alomar A, Abdalhamid B. Prevalence of digestive tract colonization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in hospitals in Saudi Arabia. *Journal of medical microbiology* 2015;Pt 4:400-406.
- Antunes NT, Fisher JF. Acquired Class D β -Lactamases. *Antibiotics* 2014;3:398-434.
- Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews. Microbiology* 2015;1:42-51.
- Bogaerts P, Galimand M, Bauraing C, Deplano A, Vanhoof R, De Mendonca R, Rodriguez-Villalobos H, Struelens M, Glupczynski Y. Emergence of ArmA and RmtB aminoglycoside resistance 16S rRNA methylases in Belgium. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2007;3:459-464.
- Bou G, Martinez-Beltran J. Cloning, Nucleotide Sequencing, and Analysis of the Gene Encoding an AmpC β -Lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;2:428-432.
- Brown S, Amyes S. OXA β -lactamases in *Acinetobacter*: the story so far. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2006;1:1-3.
- Brown S, Amyes SGB. The sequences of seven class D β -lactamases isolated from carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from four continents. *Clinical Microbiology and Infection* 2005;4:326-329.
- Carlet J, Ben Ali A, Chalfine A. Epidemiology and control of antibiotic resistance in the intensive care unit. *Current opinion in infectious diseases* 2004;4:309-316.

- Cerqueira GM, Peleg AY. Insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenicity. *IUBMB life* 2011;12:1055-1060.
- Consuegra J, Gaffé J, Lenski RE, Hindré T, Barrick JE, Tenaillon O, Schneider D. Insertion-sequence-mediated mutations both promote and constrain evolvability during a long-term experiment with bacteria. *Nature communications* 2021;1:980.
- Corbella X, Pujol M, Ayats J, Sendra M, Ardanuy C, Domínguez MA, Liñares J, Ariza J, Gudiol F. Relevance of Digestive Tract Colonization in the Epidemiology of Nosocomial Infections Due to Multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Clinical infectious diseases* 1996;2:329-334.
- Dijkshoorn L, van Aken E, Shunburne L, van der Reijden TJK, Bernardts AT, Nemec A, Towner KJ. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* and other *Acinetobacter* spp. in faecal samples from non-hospitalised individuals. *Clinical Microbiology and Infection* 2005;4:329-332.
- Doi Y, Arakawa Y. 16S Ribosomal RNA Methylation: Emerging Resistance Mechanism against Aminoglycosides. *Clinical Infectious Diseases* 2007;1:88-94.
- Dortet L, Bonnin RA, Bernabeu S, Escaut L, Vittecoq D, Girlich D, Imanci D, Fortineau N, Naas T. First Occurrence of OXA-72-Producing *Acinetobacter baumannii* in Serbia. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;10:5724-5730.
- Durand-Réville TF, Guler S, Comita-Prevoir J, Chen B, Bifulco N, Huynh H, Lahiri S, Shapiro AB, McLeod SM, Carter NM, Moussa SH, Velez-Vega C, Olivier NB, McLaughlin R, Gao N, Thresher J, Palmer T, Andrews B, Giacobbe RA, Newman JV, Ehmann DE, de Jonge B, O'Donnell J, Mueller JP, Tommasi RA, Miller AA. ETX2514 is a broad-spectrum β -lactamase inhibitor for the treatment of drug-resistant Gram-negative bacteria including *Acinetobacter baumannii*. *Nature microbiology* 2017;9:17104.
- Ebrahimi F, Mózes J, Monostori J, Gorács O, Fésűs A, Majoros L, Szarka K, Kardos G. Comparison of rates of fecal colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteria among patients in different wards, outpatients and medical students. *Microbiology and immunology* 2016;5:285-294.
- Edwardson S, Cairns C. Nosocomial infections in the ICU. *Anaesthesia and intensive care medicine* 2019;1:14-18.
- Forge A, Schacht J. Aminoglycoside Antibiotics. *Audiology & neurotology* 2000;1:3-22.

- Frana TS, Carlson SA, Griffith RW. Relative Distribution and Conservation of Genes Encoding Aminoglycoside-Modifying Enzymes in *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Phage Type DT104. *Applied and Environmental Microbiology* 2001;1:445-448.
- Gaddy JA, Tomaras AP, Actis LA. The *Acinetobacter baumannii* 19606 OmpA Protein Plays a Role in Biofilm Formation on Abiotic Surfaces and in the Interaction of This Pathogen with Eukaryotic Cells. *Infection and Immunity* 2009;8:3150-3160.
- Galimand M, Courvalin P, Lambert T. Plasmid-Mediated High-Level Resistance to Aminoglycosides in Enterobacteriaceae Due to 16S rRNA Methylation. *AAC* 2003;8:2565-2571.
- Girlich D, Bouihat N, Poirel L, Benouda A, Nordmann P. High rate of faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase and OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae at a University hospital in Morocco. *Clinical microbiology and infection* 2014;4:350-354.
- Gniadek TJ, Carroll KC, Simner PJ. Carbapenem-Resistant Non-Glucose-Fermenting Gram-Negative Bacilli: the Missing Piece to the Puzzle. *Journal of clinical microbiology* 2016;7:1700-1710.
- Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* : mechanisms of virulence and resistance. *International journal of antimicrobial agents* 2009;3:219-226.
- Gorrie CL, Mirceta M, Wick RR, Edwards DJ, Thomson NR, Strugnell RA, Pratt NF, Garlick JS, Watson KM, Pilcher DV, McGloughlin SA, Spelman DW, Jenney AWJ, Holt KE. Gastrointestinal carriage is a major reservoir of *Klebsiella pneumoniae* infection in intensive care patients. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 2017;2:208-215.
- Hawkey J, Ascher DB, Judd LM, Wick RR, Kostoulas X, Cleland H, Spelman DW, Padiglione A, Peleg AY, Holt KE. Evolution of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* during a prolonged infection. *Microbial Genomics* 2018;3.
- Heritier C, Poirel L, Fournier P, Claverie J, Raoult D, Nordmann P. Characterization of the Naturally Occurring Oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *AAC* 2005;10:4174-4179.

- Hou PF, Chen XY, Yan GF, Wang YP, Ying CM. Study of the Correlation of Imipenem Resistance with Efflux Pumps AdeABC, AdeIJK, AdeDE and AbeM in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Chemotherapy (Basel)* 2012;2:152-158.
- Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*. *Virulence* 2012;3:243-250.
- Ingiti B, Upadhyay S, Hazarika M, Khyriem AB, Paul D, Bhattacharya P, Joshi SR, Bora D, Dhar D, Bhattacharjee A. Distribution of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* with blaADC-30 and induction of ADC-30 in response to beta-lactam antibiotics. *Research in microbiology* 2020;3-4:128-133.
- Johnson JR, Johnston B, Kuskowski MA, Sokurenko EV, Tchesnokova V. Intensity and Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance within the H30 and H30Rx Subclones of *Escherichia coli* Sequence Type 131 Compared with Other Fluoroquinolone-Resistant *E. coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;8:4471-4480.
- Jospe-Kaufman M, Siomin L, Fridman M. The relationship between the structure and toxicity of aminoglycoside antibiotics. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2020;13:127218.
- Jouybari MA, Ahanjan M, Mirzaei B, Goli HR. Role of aminoglycoside-modifying enzymes and 16S rRNA methylase (ArmA) in resistance of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates against aminoglycosides. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2021:e05992020.
- Juhász J, Ligeti B, Gajdács M, Makra N, Ostorházi E, Farkas FB, Stercz B, Tóth Á, Domokos J, Pongor S, Szabó D. Colonization Dynamics of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Are Dictated by Microbiota-Cluster Group Behavior over Individual Antibiotic Susceptibility: A Metataxonomic Analysis. *Antibiotics (Basel)* 2021;3:268.
- Karanika S, Karantanos T, Arvanitis M, Grigoras C, Mylonakis E. Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis. *Clinical infectious diseases* 2016;3:310-318.
- Khan HA, Baig FK, Mehboob R. Nosocomial infections:Epidemiology,prevention,control and surveillance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2017;5:478-482.

- Koenig SM, Truitt JD. Ventilator-Associated Pneumonia: Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Clinical Microbiology Reviews* 2006;4:637-657.
- Krzyściak P, Chmielarczyk A, Pobiega M, Romaniszyn D, Wójkowska-Mach J. *Acinetobacter baumannii* isolated from hospital-acquired infection: biofilm production and drug susceptibility. *APMIS : acta pathologica, microbiologica et immunologica Scandinavica* 2017;11:1017-1026.
- Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms. *Pathogens (Basel)* 2021;3:373.
- Lai C, Wang C, Chu C, Tan C, Lu C, Lee Y, Huang Y, Lee P, Hshueh P. Correlation between antibiotic consumption and resistance of Gram-negative bacteria causing healthcare-associated infections at a university hospital in Taiwan from 2000 to 2009. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2011;6:1374-1382.
- Li S, Duan X, Peng Y, Rui Y. Molecular characteristics of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from clinical infection samples and fecal survey samples in Southern China. *BMC Infectious Diseases* 2019;1:900.
- Lopez-Otsoa F, Gallego L, Towner KJ, Tysall L, Woodrod N, Livermore DM. Endemic Carbapenem Resistance Associated with OXA-40 Carbapenemase among *Acinetobacter baumannii* Isolates from a Hospital in Northern Spain. *Journal of Clinical Microbiology* 2002;12:4741-4743.
- Lukac PJ, Bonomo RA, Logan LK. Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Children: Old Foe, Emerging Threat. *Clinical infectious diseases* 2015;9:1389-1397.
- Ma Y, Wang C, Li Y, Li J, Wan Q, Chen J, Tay FR, Niu L. Considerations and Caveats in Combating ESKAPE Pathogens against Nosocomial Infections. *Advanced Science* 2020;1:1901872-n/a.
- Maamar E, Alonso CA, Ferjani S, Jendoubi A, Hamzaoui Z, Jebri A, Saidani M, Ghedira S, Torres C, Boubaker IB. NDM-1- and OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients in Tunisia. *International journal of antimicrobial agents* 2018;6:910-915.
- Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oyedun E, Lal H, Quale J. Endemic Carbapenem-Resistant *Acinetobacter* Species in Brooklyn, New York: Citywide Prevalence,

Interinstitutional Spread, and Relation to Antibiotic Usage. *Clinical Infectious Diseases* 2000;1:101-106.

- Mehta Y, Jaggi N, Rosenthal VD, Kavathekar M, Sakle A, Munshi N, Chakravarthy M, Todi SK, Saini N, Rodrigues C, Varma K, Dubey R, Kazi MM, Udwardia FE, Myatra SN, Shah S, Dwivedy A, Karlekar A, Singh S, Sen N, Limaye-Joshi K, Ramachandran B, Sahu S, Pandya N, Mathur P, Sahu S, Singh SP, Bilolikar AK, Kumar S, Mehta P, Padbidri V, Gita N, Patnaik SK, Francis T, Warriar AR, Muralidharan S, Nair PK, Subhedar VR, Gopinath R, Azim A, Sood S. Device-Associated Infection Rates in 20 Cities of India, Data Summary for 2004–2013: Findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium. *Infection control and hospital epidemiology* 2016;2:172-181.
- Mirelis B, Navarro F, Miró E, Mesa RJ, Coll P, Prats G. Community transmission of extended-spectrum beta-lactamase. *Emerging Infectious Diseases* 2003;8:1024-1025.
- Monnet DL, López-Lozano J-, Campillos P, Burgos A, Yagüe A, Gonzalo N. Making sense of antimicrobial use and resistance surveillance data: application of ARIMA and transfer function models. *Clinical Microbiology and Infection* 2001;5:29-36.
- Mózes, Ebrahimi F, Gorács O, Miszt C, Kardos G. Effect of carbapenem consumption patterns on the molecular epidemiology and carbapenem resistance of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of medical microbiology* 2014;12:1654-1662.
- Naas T, Levy M, Hirschauer C, Marchandin H, Nordmann P. Outbreak of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Producing the Carbapenemase OXA-23 in a Tertiary Care Hospital of Papeete, French Polynesia. *Journal of Clinical Microbiology* 2005;9:4826-4829.
- Nejad SB, Allegranzi B, Syed S, Ellis B, Pittet D. Health-care-associated infection in Africa: a systematic review. *Bulletin of the World Health Organization* 2011;10:757-765.
- Nemec A, Dolzani L, Brisse S, van den Broek P, Dijkshoorn L. Diversity of aminoglycoside-resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii* clones. *Journal of medical microbiology* 2004;12:1233-1240.
- Nemec A, Krizova L, Maixnerova M, Musilek M. Multidrug-resistant epidemic clones among bloodstream isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in the Czech Republic. *Research in microbiology* 2010;3:234-242.

- Nemec A, Krizova L, Maixnerova M, van der Reijden, Tanny J.K., Deschaght P, Passet V, Vaneechoutte M, Brisse S, Dijkshoorn L. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus*– *Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU). *Research in microbiology* 2011;4:393-404.
- Ortega M, Marco F, Soriano A, Almela M, Martínez JA, Muñoz A, Mensa J. Analysis of 4758 *Escherichia coli* bacteraemia episodes: predictive factors for isolation of an antibiotic-resistant strain and their impact on the outcome. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2009;3:568-574.
- Pachori P, Gothwal R, Gandhi P. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes & Diseases* 2019;2:109-119.
- Paton R, Miles RS, Hood J, Amyes SGB, Amyes SGB. ARI 1: β -lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *International journal of antimicrobial agents* 1993;2:81-87.
- Petrović T, Uzunović S, Barišić I, Luxner J, Grisold A, Zarfel G, Ibrahimagić A, Jakovac S, Slaćanac D, Bedenić B. Arrival of carbapenem-hydrolyzing-oxacillinases in *Acinetobacter baumannii* in Bosnia and Herzegovina. *Infection, genetics and evolution* 2018:192-198.
- Podolsky SH. The evolving response to antibiotic resistance (1945–2018). *Palgrave Communications* 2018;1.
- Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, Epidemiology, and Genetics of Class D β - Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010;1:24-38.
- Poonsuk K, Tribuddharat C, Chuanchuen R. Simultaneous overexpression of multidrug efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* non-cystic fibrosis clinical isolates. *Canadian journal of microbiology* 2014;7:437-443.
- Qin X, Wu S, Hao M, Zhu J, Ding B, Yang Y, Xu X, Wang M, Yang F, Hu F. The Colonization of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Resistance Mechanisms, and Risk Factors in Patients Admitted to Intensive Care Units in China. *The Journal of infectious diseases* 2020;Suppl 2:S206-S214.

- Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the Versatile β -Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews* 2007;3:440-458.
- Rice LB. Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE. *The Journal of infectious diseases* 2008;8:1079-1081.
- Rinke ML, Oyeku SO, Ford WJH, Heo M, Saiman L, DeLaMora P, Rabin B, Zachariah P, Rosenberg RE, Mirhaji P, Obaro-Best O, Drasher M, Klein E, Peshansky A, Bundy DG. Costs of ambulatory pediatric healthcare-associated infections: Central-line-associated bloodstream infection (CLABSIs), catheter-associated urinary tract infection (CAUTIs), and surgical site infections (SSIs). *Infection control and hospital epidemiology* 2020;11:1292-1297.
- Ryu S, Klein EY, Chun BC. Temporal association between antibiotic use and resistance in *Klebsiella pneumoniae* at a tertiary care hospital. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 2018;1:83.
- Santajit S, Indrawattana N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *BioMed Research International* 2016;2475067-8.
- Scerpella EG, Wanger AR, Armitage L, Anderlini P, Ericsson CD. Nosocomial Outbreak Caused by a Multiresistant Clone of *Acinetobacter baumannii*: Results of the Case-Control and Molecular Epidemiologic Investigations. *Infection control and hospital epidemiology* 1995;2:92-97.
- Serra-Burriel M, Keys M, Campillo-Artero C, Agodi A, Barchitta M, Gikas A, Palos C, López-Casasnovas G. Impact of multi-drug resistant bacteria on economic and clinical outcomes of healthcare-associated infections in adults: Systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 2020;1:e0227139.
- Shariati A, Dadashi M, Moghadam MT, van Belkum A, Yaslianifard S, Darban-Sarokhalil D. Global prevalence and distribution of vancomycin resistant, vancomycin intermediate and heterogeneously vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* clinical isolates: a systematic review and meta-analysis. *Scientific reports* 2020;1:12689.
- Shivaprasad A, Antony B, Shenoy P. Comparative Evaluation of Four Phenotypic Tests for Detection of Metallo- β -Lactamase and Carbapenemase Production in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of clinical and diagnostic research* 2014;5:DC05-DC08.

- Shrestha P, Cooper BS, Coast J, Oppong R, Thuy NDT, Phodha T, Celhay O, Guerin PJ, Wertheim HFL, Lubell Y. Enumerating the economic cost of antimicrobial resistance per antibiotic consumed to inform the evaluation of interventions affecting their use. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 2018;1:98.
- Smani Y, Fabrega A, Roca I, Sanchez-Encinales V, Vila J, Pachon J. Role of OmpA in the Multidrug Resistance Phenotype of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;3:1806-1808.
- Smiline A, Vijayashree J, Paramasivam A. Molecular characterization of plasmid-encoded blaTEM, blaSHV and blaCTX-M among extended spectrum β -lactamases [ESBLs] producing *Acinetobacter baumannii*. *British journal of biomedical science* 2018;4:200-202.
- Srinivasan A, Wise M, Bell M, Cardo D, Edwards J, Fridkin S, Jernigan J, Kallen A, McDonald LC, Patel PR, Pollock D. Vital Signs: Central Line—Associated Blood Stream Infections — United States, 2001, 2008, and 2009. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report* 2011;8:243-248.
- Sugawara E, Nikaido H. OmpA Is the Principal Nonspecific Slow Porin of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Bacteriology* 2012;15:4089-4096.
- SYDNOR ERM, PERL TM. Hospital Epidemiology and Infection Control in Acute-Care Settings. *Clinical Microbiology Reviews* 2011;1:141-173.
- Taitt CR, Leski TA, Stockelman MG, Craft DW, Zurawski DV, Kirkup BC, Vora GJ. Antimicrobial Resistance Determinants in *Acinetobacter baumannii* Isolates Taken from Military Treatment Facilities. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;2:767-781.
- Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, Colenso CK, Hirvonen VHA, Takebayashi Y, Spencer J. β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of Molecular Biology* 2019;18:3472-3500.
- Tóth H, Fésűs A, Kungler-Gorács O, Balázs B, Majoros L, Szarka K, Kardos G. Utilization of Vector Autoregressive and Linear Transfer Models to Follow Up the Antibiotic Resistance Spiral in Gram-negative Bacteria From Cephalosporin Consumption to Colistin Resistance. *Clinical infectious diseases* 2019;8:1410-1421.

- Turton JF, Kaufmann ME, Glover J, Coelho JM, Warner M, Pike R, Pitt TL. Detection and Typing of Integrons in Epidemic Strains of *Acinetobacter baumannii* Found in the United Kingdom. *Journal of Clinical Microbiology* 2005;7:3074-3082.
- Villalón P, Ortega M, Sáez-Nieto JA, Carrasco G, Medina-Pascual MJ, Garrido N, Valdezate S. Dynamics of a Sporadic Nosocomial *Acinetobacter calcoaceticus* - *Acinetobacter baumannii* Complex Population. *Frontiers in Microbiology* 2019:593.
- Villers D, Espaze E, Coste-Burel M, Giauffret F, Ninin E, Nicolas F, Richet H. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* Infections: Microbiological and Clinical Epidemiology. *Annals of internal medicine* 1998;3:182-189.
- Vincent J, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin M, Wolff M, Spencer RC, Hemmer M. The Prevalence of Nosocomial Infection in Intensive Care Units in Europe: Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 1995;8:639-644.
- Weinberg SE, Villedieu A, Bagdasarian N, Karah N, Teare L, Elamin WF. Control and management of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: A review of the evidence and proposal of novel approaches. *Infection Prevention in Practice* 2020;3:100077.
- Wong MH, Chan BK, Chan EW, Chen S. Over-Expression of ISAbal-Linked Intrinsic and Exogenously Acquired OXA Type Carbapenem-Hydrolyzing-Class D- β -Lactamase-Encoding Genes Is Key Mechanism Underlying Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology* 2019:2809.
- Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, Amyes SGB, Livermore DM. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *International journal of antimicrobial agents* 2006;4:351-353.
- Xiao X, Liu Q, Zhu X, Li Y, Li X. Risk Factors Associated with Hospital-Acquired Infections for COVID-19 Patients in ICU. *SSRN Electronic Journal* .
- Zhong X, Wu X, Schweppe DK, Chavez JD, Mathay M, Eng JK, Keller A, Bruce JE. In Vivo Cross-Linking MS Reveals Conservation in OmpA Linkage to Different Classes of β -Lactamase Enzymes. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 2020;2:190-195.

Zowawi HM, Forde BM, Alfaresi M, et al. Stepwise evolution of pandrug-resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Sci Rep* 2015; 5:15082.

XIII. Tárgyszavak

XIII.1. Magyar tárgyszavak

Karbapenem rezisztens *Acinetobacter baumannii*; *bla_{OXA-23-like}* karbapenemáz; *bla_{OXA-40-like}* karbapenemáz; törzsváltás; multirezisztencia, changepoint analízis

XIII.2. English keywords

Carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*; *bla_{OXA-23-like}* carbapenemase; *bla_{OXA-40-like}* carbapenemase; strain replacement; Multidrug resistance; changepoint analysis

XIV. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindenekelőtt témavezetőmnek, Dr. Kardos Gábor egyetemi docensnek a szakmai segítségért és támogatásért, melyet a kísérletek és a disszertációm megírása során nyújtott.

Külön köszönettel tartozok Dr. Kónya József intézetigazgatónak, hogy PhD tanulmányaimat az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben végezhettem el.

Köszönettel tartozok Dr. Mózes Juliannának, aki pályakezdő koromban segített a gyakorlati munkavégzés elsajátításában és segítette pályám kezdetét.

Hálával tartozom Dr. Majoros Lászlónak, Dr. Kovács Renátónak, Dr. Szarka Krisztinának, Dr. Tóth Ákosnak szakmai segítségükért és hasznos tanácsaikkal támogatták szakmai fejlődésemet.

Köszönöm Tóth Zoltánnak, Nagy Zsófiának, Nagy József Bálintnak, Dr. Nagy Fruzsínának, Dr. Tóth Hajnalkának segítségüket, melyet munkám végzése során nyújtottak, mindemellett hálás vagyok a jó társaságért.

Szeretném megköszönni Fatemeh Ebrahimi volt PhD hallgatónak a metodikai iránymutatásért, Dr. Csoma Eszter egyetemi adjunktusnak pedig pályázati és szakmai kérdésekben adott segítségét.

Továbbá szeretném megköszönni a segítséget az Orvosi Mikrobiológia Intézet valamennyi korábbi és jelenlegi dolgozójának, akik hozzájárultak a kutatómunkám elvégzéséhez az elmúlt években.

Köszönöm az Emberi Erőforrások Minisztériuma, valamint az Innovációs és Technológiai Minisztérium által meghirdetett Új Nemzeti Kiválóság Programnak (ÚNKP-19-3; ÚNKP-21-4), illetve az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 „Az orvos-, egészségtudományi-és gyógyszerészképzés tudományos műhelyeinek fejlesztése” projektnek kutató munkám kivitelezéséhez nyújtott támogatásukat.

Végül de nem utolsó sorban szeretném megköszönni családomnak a rengeteg támogatást és türelmet, amivel hozzájárultak PhD tanulmányaim sikeres elvégzéséhez.

XV. Függelék



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/414/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Balázs Bence
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10054316

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Balázs, B.**, Tóth, Z., Nagy József, B., Majoros, L., Tóth, Á., Kardos, G.: Faecal Carriage of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*: comparison to Clinical Isolates from the Same Period (2017-2019).
Pathogens. "Accepted by Publisher", 2022.
IF: 4.531 (2021)
2. **Balázs, B.**, Tóth, Z., Nagy, F., Kovács, R. L., Tóth, H., Nagy József, B., Tóth, Á., Szarka, K., Majoros, L., Kardos, G.: The Role of Uniform Meropenem Usage in *Acinetobacter baumannii* Clone Replacement.
Antibiotics. 10 (2), 1-12, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics10020127>
IF: 5.222

További közlemények

3. Nagy, B. J., **Balázs, B.**, Benmazouz, I., Gyüre, P., Kövér, L., Kaszab, E., Bali, K., Lovas-Kiss, Á., Damjanova, I., Majoros, L., Tóth, Á., Bányai, K., Kardos, G.: Comparison of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates From Rooks (*Corvus frugilegus*) and Contemporary Human-Derived Strains: A One Health Perspective.
Front. Microbiol. 12, 1-9, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2021.785411>
IF: 6.064 (2021)
4. Forgács, L., Borman, A. M., Kovács, R. L., Balázs, D., Tóth, Z., **Balázs, B.**, Chun-Ju, C., Kardos, G., Kovács, I., Majoros, L.: In Vivo Efficacy of Amphotericin B against Four *Candida auris* Clades.
J. Fungi. 8 (5), 1-16, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jof8050499>
IF: 5.724 (2021)





5. **Balázs, B.**, Tóth, Z., Kacsir, I., Sipos, A., Buglyó, P., Somsák, L., Bokor, É., Kardos, G., Bai, P.: Targeting multiresistant Gram-positive bacteria by ruthenium, osmium, iridium and rhodium half-sandwich type complexes with bidentate monosaccharide ligands. *Front. Chem.* 10, 1-9, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fchem.2022.868234>
IF: 5.545 (2021)
6. Tóth, H., Buchholcz, G., Fésüs, A., **Balázs, B.**, Nagy József, B., Majoros, L., Szarka, K., Kardos, G.: Evolution of the Gram-Negative Antibiotic Resistance Spiral over Time: a Time-Series Analysis. *Antibiotics-Basel.* 10 (6), 1-10, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics10060734>
IF: 5.222
7. **Balázs, B.**, Nagy József, B., Tóth, Z., Nagy, F., Károlyi, S., Turcsányi, I., Bisttyák, A., Kálmán, A., Sárközi, R., Kardos, G.: Occurrence of *Escherichia coli* producing extended spectrum [béta]-lactamases in food-producing animals. *Acta Vet. Hung.* 69 (3), 1-5, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/004.2021.00036>
IF: 0.959
8. Kovács, R. L., Nagy, F., Tóth, Z., Bozó, A., **Balázs, B.**, Majoros, L.: Synergistic effect of nikkomycin Z with caspofungin and micafungin against *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* biofilms. *Lett. Appl. Microbiol.* 69 (4), 271-278, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/lam.13204>
IF: 2.173
9. Tóth, H., Fésüs, A., Kungler-Gorácz, O., **Balázs, B.**, Majoros, L., Szarka, K., Kardos, G.: Utilization of vector autoregressive and linear transfer models to follow up the antibiotic resistance spiral in Gram-negative bacteria from cephalosporin consumption to colistin resistance. *Clin. Infect. Dis.* 69 (8), 1410-1421, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciy1086>
IF: 8.313

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 43,753

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 9,753

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.09.01.

