

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Multirezisztens Gram-negatív kórokozók vizsgálata az Arab-félsziget országaiiban

Dr. Sonnevend Ágnes



Pécs

2023

asonnevend_117_23

“To you, Ernst Chain, Howard Florey and Alexander Fleming, I will relate one of Grimm’s fairy-tales that I heard as a child. A poor student heard under an oak a wailing voice that begged to be set free. He began to dig at the root, and found there a corked bottle with a little frog in it. It was this frog that wanted so badly to be set at liberty. The student pulled the cork, and out came a mighty spirit, who by way of thanks for the help gave him a wonderful plaster. With the one side one could heal all sores; with the other one could turn iron into silver. The student thereafter performed both operations, and became the most famous physician in the whole world – perhaps also the richest.

You have dug up a wonderful plaster, too, that has healed countless sores.”

Professor A.H.T. Theorell, a Biokémiai Intézet igazgatója
Orvostudományi Nobel Intézet
Nobel Bankett, Stockholm, 1945 december 10.

“Some experts say we are moving back to the pre-antibiotic era. No. This will be a post-antibiotic era. In terms of new replacement antibiotics, the pipeline is virtually dry. A post-antibiotic era means, in effect, an end to modern medicine as we know it. Things as common as strep throat or a child's scratched knee could once again kill.”

Dr. Margaret Chan, a WHO korábbi főigazgatója
Nyitóbeszéd a „Conference On Combating Antimicrobial
Resistance” rendezvényen

Koppenhága, Dánia, 2012 március 14.

asonnevend_117_23

LECTORI SALUTEM

MTA Doktori Értekezésem címe: „Multirezisztens Gram-negatív kórokozók vizsgálata az Arab-félsziget országaiban”, azaz a témaválasztás egy magyar mikrobiológus részéről meglepő lehet. A magyarázat prózai: családi okok miatt több, mint 15 éven át, 2002 és 2006, illetve 2008 és 2019 között éltem az Arab-félszigeten és dolgoztam az Egyesült Arab Emírátsok Egyetemén. Vizsgálataink nagyrészt ebben az országban végeztük, de esetenként módunk volt azokat a hasonló problémákkal szembesülő, környező Öböl-menti országokra is kiterjeszteni.

*Kutató és oktató munkám mellett klinikai mikrobiológiai feladatokat is elláttam, így kutatásaink irányát jelentősen befolyásolták a napi szinten tapasztalt problémák: kezdetben az egyre növekvő mértékű multirezisztencia, az ESBL termelő törzsek terjedése, majd a 2000-es évek első évtizedének végétől egyre inkább a karbapenem és kolisztin rezisztencia, esetenként akár pán-rezisztencia. Miután mi egy nagyon kis, kizárólag pályázatokból „élő” kutató laboratórium voltunk, kapacitás hiány miatt természetesen nem tudtunk az e téren jelentkező valamennyi problémával foglalkozni. Vitathatatlan jelentőségük ellenére így maradt ki például a *Pseudomonas aeruginosa* törzsek, vagy a Gram pozitívok esetén is gyorsan terjedő rezisztencia tanulmányozása.*

*Ott tartózkodásunk idején az Arab-félsziget országaiban molekuláris tipizáláson alapuló járványtani vizsgálatokat végző állami járványügyi laboratóriumi hálózat nem létezett. A régióból származó első, a rezisztencia mechanizmusok genetikai hátterének felderítésére irányuló vizsgálatok is általában néhány ott gyűjtött, de fejlett nyugati laboratóriumokban analizált törzs leírását jelentették. Éppen ezért feladatunknak éreztük, hogy helyben is megteremtsük az e vizsgálatokhoz szükséges műszer-, és software parkot, illetve tudásbázist. Ennek megfelelően értekezésem eredményei - a nyers „read”-ek szintjéig törtéző Illumina szekvenálás, az *Escherichia coli* #81009 ST131 törzs genomjának de novo összeállítása, az *E. coli* törzsek szerotipizálása, illetve egyes izolátumok MALDI-TOF -fal történt identifikálása kivételével - kizárólag olyan módszerek alkalmazásán, olyan bioinformatikai analíziseken alapulnak, melyeket saját laboratóriumunkban én magam, vagy munkamegosztás esetén én magam is rendszeresen végeztem.*

Bízom benne, hogy ebben az egyre növekvő globális hatásokkal rendelkező, de még kevésbé kutatott régióban szerzett tapasztalataink, ott született eredményeink a távolabbi területek, így Magyarország szakemberei számára is nyújthatnak hasznos ismereteket.

asonnevend_117_23

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ADC	<i>Acinetobacter</i> -Derived Cephalosporinase
ADPHC	Abu Dhabi Public Health Center
Azid^R	Na-azid rezisztens
BL	Béta-laktám
<i>bla</i>	Béta-laktámáz gén
bp	bázis pár
BSAC	The British Society for Antimicrobial Chemotherapy
CC	Clonal Complex
CDS	Coding Sequence
cgMLST	core genome Multi Lókuszt Szekvencia Tipizálás
CIM	Carbapenem Inactivation Method
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMY	Cephamecinase
CR	Carbapenem resistant
CRAb	Carbapenem Resistant <i>Acinetobacter baumannii</i>
CRE	Carbapenem Resistant Enterobacterales
CTX-M	Cefotaximáz-M
DHA	Dubai Health Authority
DIG	Digoxigenin
DNS	Dezoxiribonukleinsav
DoH	Department of Health-Abu Dhabi
DTP3	Diftéria-Pertuszisz-Tetanusz oltás
EAE	Egyesült Arab Emírségek
EAEC	Enteroaggregatív <i>Escherichia coli</i>
ESBL	Extended Spectrum Beta-Lactamase
EUCAST	The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	Food and Drug Administration (USA)
GA	Georgia állam, USA
GC	Gene Casette
GCC	Gulf Cooperation Council
GDP	Gross Domestic Product
GLASS	Global Antimicrobial Surveillance System
IMP	Imipenem-active carbapenemase
Inc	plazmid Inkompatibilitási csoport
Int	Integrase, Integron
IS	IS elem, Inzerciósszekvencia
kb	kilobázis
KL	K-lókuszt (Klebsiella tok szintézisért felelős lókuszt)

folyt.

folyt.

KPC	Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase
LPS	Lipopoliszacharid
MBL	Metallo Beta-Lactamase
mCIM	módosított CIM teszt
MCR	Mobile Colistin Resistance
MDR	Multi-Drug Rezisztens
MIC	Minimal Inhibitory Concentration
MLST	Multi Lókus Szekvencia Tipizálás
MOPA	Ministry of Presidential Affairs
MRSA	Meticillin Rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i>
MW	Molecular Weight
NDM	New Delhi Metallo beta lactamase
OAG	Official Aviation Guide of the Airways
Omp	Outer membrane protein (külső membrán fehérje)
OXA	Oxacillináz
PAGE	Polyacrylamide Gel Electrophoresis
PCR	Polymerase Chain Reaction
PER	Pseudomonas Extended Resistant béta laktamáz
PDR	Pan-Drug Resistant
PFGE	Pulsed Field Gel Electrophoresis
Rif^R	Rifampicin rezisztens
RNS	Ribonuliensav
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SDS	Sodium Dodecyl Sulphate
SLV	Single Locus Variant
ST	Sequence Type, Szekvencia Típus
Str^R	Sztreptomicin rezisztens
TEM	"Temoneira" (egy A osztályú béta laktamáz csoport)
Tn	Transzpozon
TSB	Tryptic Soy Broth
UAE	United Arab Emirates
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
USD	Amerikai dollár
VIM	Verona Integron-encoded Metallo beta-lactamase
WGS	Whole Genome Sequencing
WHO	World Health Organization
XDR	Extreme Drug Resistant

**AZ EUCAST ÁLTAL JAVASOLT ANTIBIOTIKUM NÉV
RÖVIDÍTÉSEK ⁸¹**

AMI	Amikacin
AMC	Amoxicillin-klavulánsav
AMO	Amoxicillin
AMP	Ampicillin
AVI	Avibactam
AZT	Aztreonam
CHL	Kloramfenikol
CIP	Ciprofloxacín
COL	Kolisztin
CPO	Cefpodoxim
CTA	Ceftazidim
CTR	Ceftriaxon
CTV	Ceftazidim-avibactam
CTZ	Ceftazidim
CUR	Cefuroxim
DOX	Doxiciklin
ERT	Ertapenem
FLO	Florfenikol
FOS	Foszfomicin
GEN	Gentamicin
IMI	Imipenem
MER	Meropenem
NAL	Nalidixsav
NET	Netilmicin
PIT	Piperacillin-tazobaktám
STR	Sztreptomycin
TIG	Tigeciklin
TET	Tetraciklin
TOB	Tobramicin
TRS	Trimetoprim-szulfametoxazol

TÁBLÁZATOK LISTÁJA

1. táblázat	A GCC országokra jellemző néhány adat hazánkkal összehasonlítva	2
2. táblázat	Az Egyesült Arab Emírátságok emírátságainak GDP-je és népessége.....	3
3. táblázat	Az Egyesült Arab Emírátságokban dolgozó vendégmunkások megoszlása állampolgárság szerint (2022).....	4
4. táblázat	Az Arab-félsziget országainak néhány jellemző, az egészségügyre és közegészségügyre vonatkozó paramétere.....	5
5. táblázat	Néhány Gram negatív pálca egyes beta-laktám antibiotikumokkal szemben mutatott rezisztenciájának alakulása Abu Dhabiban 2010 és 2017 között.....	9
6. táblázat	Néhány Gram negatív pálca egyes beta-laktám antibiotikumokkal szemben mutatott érzékenysége az Egyesült Arab Emírátságokban, 2019-ben.....	10
7. táblázat	Az irodalomban szereplő gén-kimutatásra és direkt szekvenálásra használt PCR eljárások.....	19
8. táblázat	Gének kimutatására és szekvenálásra használt újonnan tervezett primerek.....	20
9. táblázat	ESBL termelő enteroaggregatív <i>E. coli</i> törzsek.....	30
10. táblázat	MDR minták és gyakoriságuk az izolált salmonella törzsek között.....	31
11. táblázat	A salmonella törzsek ciprofloxacín rezisztenciája és csökkent érzékenysége.....	32
12. táblázat	A CTX-M-15 termelő salmonella törzsek.....	33
13. táblázat	A shigella törzsek antibiotikum érzékenysége.....	34
14. táblázat	A shigella törzsek MDR mintázatai.....	34
15. táblázat	A különböző LPS core típusok előfordulása korábbi vizsgálatokban és saját munkánk során.....	38
16. táblázat	A #81009 törzs <i>waa</i> régiója géntermékeinek származtatott aminosav sorrendi hasonlósága különböző törzsek hasonló régióival.....	40
17. táblázat	A <i>bla_{OXA-51-serü}</i> gén új alléljai sporadikus törzsekben.....	51
18. táblázat	Rezisztencia gének gyakorisága járványos és sporadikus törzsekben.....	53
19. táblázat	Antibiotikum nem-érzékenység járványos és sporadikus törzsekben.....	53
20. táblázat	A CRAb törzsek megoszlása az egyes osztályok között.....	55
21. táblázat	Az egyes CRAb típusok tulajdonságai.....	57
22. táblázat	<i>bla_{NDM-1}</i> gént hordozó törzsek és NDM plazmidjaik tulajdonsága.....	64
23. táblázat	<i>bla_{NDM-7}</i> -et az IncX3 plazmidjukon hordozó <i>E. coli</i> törzsek a régióban.....	67
24. táblázat	Az ABC104 törzs pVIM plazmidja I. osztályú integronjának szerkezete más izolátumok hasonló struktúráihoz hasonlítva.....	71

folyt.

folyt.

25. táblázat	A vizsgálatba bevont, az EAE-ban izolált karbapenemáz gént tartalmazó IncX3 plazmidot hordozó törzsek.....	75
26. táblázat	Karbapenemáz gének prevalenciájának vizsgálata az EAE-ban és a környező országokban.....	81
27. táblázat	Aminoglikozid rezisztenciát okozó 16S metiláz gének gyakorisága az EAE-ban és a környező országokban.....	84
28. táblázat	NDM és OXA típusú karbapenemáz géneket egyaránt hordozó törzsek tulajdonságai.....	88
29. táblázat	A karbapenemáz kódoló plazmidok jellegzetességei kettős karbapenemáz termelő törzsekben.....	89
30. táblázat	A törzsek antibiotikum nem-érzékenysége.....	92
31. táblázat	Antibiotikum nem-érzékenység a törzsek különböző csoportjaiban (N=1192, XXVI).....	94
32. táblázat	A fő <i>Klebsiella pneumoniae</i> klónok különböző paraméterei a sporadikus törzsekhez hasonlítva.....	100
33. táblázat	A két legmagasabb prevalenciájú kórházból származó <i>Klebsiella pneumoniae</i> CC14 törzsek összehasonlítása.....	104
34. táblázat	2009 és 2015 között Abu Dhabiban izolált nagyobb <i>Klebsiella pneumoniae</i> klónok tulajdonságai.....	109
35. táblázat	Az egyes gének, rezisztenciával összefüggő jellemzők és klónok jelenléte évek szerinti bontásban az Abu Dhabiban izolált törzsekben.....	110
36. táblázat	Az ST14 törzsek alcsoportjai a hordozott karbapenemáz gének és az azokat hordozó plazmidok alapján.....	113
37. táblázat	A régióban izolált ST14 <i>Klebsiella pneumoniae</i> törzsek rezisztencia gén profilja.....	115
38. táblázat	Az <i>mcr-1</i> pozitív <i>Escherichia coli</i> törzsek tulajdonságai.....	124
39. táblázat	A kolisztin rezisztencia aránya, és az <i>mcr</i> allélok szerepe.....	127
40. táblázat	Kolisztin rezisztens törzsek WGS alapján azonosított kromozómális mutációi.....	128
41. táblázat	A panrezisztens <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST147 törzsek genotípusa.....	132
42. táblázat	A brojlercsirke székletből izolált <i>mcr-1.1</i> pozitív törzsek és MCR plazmidjaik tulajdonságai.....	138
43. táblázat	Az <i>mcr-1.1</i> pozitív törzsek faj, szekvencia típus és pMCR alapú variánsai és azok farmonkénti megoszlása.....	144
44. táblázat	A GenBank-ban elhelyezett parciális szekvenciák.....	176
45. táblázat	A GenBank-ban elhelyezett teljes plazmid szekvenciák.....	178
46. táblázat	Az European Nucleotide Archiveban elhelyezett teljes baktérium genom readok.....	178

ÁBRÁK LISTÁJA

1. ábra	Az Arab-félsziget.....	1
2. ábra	Az Egyesült Arab Emírátságok.....	1
3. ábra	A vizsgált <i>K. pneumoniae</i> törzsek makrorestrikciós mintái.....	36
4. ábra	Klinikai esetek és kolonizáltak számának alakulása.....	37
5. ábra	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> törzsek PFGE mintái.....	45
6. ábra	A <i>bla</i> _{PER-7} gén lokalizációja és környezete.....	47
7. ábra	A <i>bla</i> _{NDM-2} gén környezete <i>A. baumannii</i> AG132 törzsben.....	49
8. ábra	Járványos és sporadikus <i>A. baumannii</i> törzsek eloszlása Abu Dhabi kórházakban.....	51
9. ábra	Klinikai és környezeti <i>A. baumannii</i> izolátumok PFGE mintázata.....	56
10. ábra	Az NDM-1 plazmidok <i>bla</i> _{NDM-1} gént határoló régiói.....	65
11. ábra	Az IncX3 NDM-1 plazmidok restrikciós polimorfizmus vizsgálata.....	65
12. ábra	A régióban izolált törzsek pNDM-7 IncX3 teljes plazmidjainak szerkezete.....	68
13. ábra	Az ABC104 törzs genomjának S1 nukleázzal történt emésztést követő, különböző próbákkal végzett hibridizációja.....	70
14. ábra	Az EAE-ban azonosított <i>bla</i> _{KPC-2} gén környezete összehasonlítva másutt izolált plazmidok hasonló génjeivel.....	73
15. ábra	Az EAE-ban izolált törzsek karbapenemáz-kódoló IncX3 plazmidjai teljes szekvenciáinak összehasonlítása.....	77
16. ábra	Különböző régiókból származó IncX3 plazmidok gerinc régiójának filogenetikai összehasonlítása.....	79
17. ábra	Rezisztenciát kódoló gének gyakorisága különböző EAE -béli kórházakban izolált CRE törzsekben.....	82
18. ábra	Összefüggés az utazás és kórházi ápolás és az izolált törzsek tulajdonságai között.....	83
19. ábra	A <i>bla</i> _{NDM} és <i>bla</i> _{OXA-48-szerű} gének környezete kettős karbapenemáz termelő törzsekben.....	90
20. ábra	Faj-eloszlás a különböző baktérium csoportokban.....	95
21. ábra	Egyes antibiotikumokkal szembeni rezisztencia és néhány rezisztenciával összefüggő paraméter gyakorisága különböző EAE -béli kórházakban izolált CRE törzsekben.....	96
22. ábra	<i>K. pneumoniae</i> klónok eloszlása az EAE régiói és kórházai között.....	102
23. ábra	A <i>K. pneumoniae</i> klónok cgMLST vizsgálata.....	103
24. ábra	<i>K. pneumoniae</i> klónok arányának időbeni változása.....	108
25. ábra	A régióban izolált 39 ST14 <i>K. pneumoniae</i> törzs cgMLST vizsgálata.....	112
26. ábra	Neighbour-joining fa 212 ST14 <i>K. pneumoniae</i> törzs cgMLST-je alapján.....	117

folyt.

folyt.

27. ábra	A pVIM plazmidok szerkezete és az azokat hordozó törzsek összehasonlítása.....	119
28. ábra	Az Arab-félszigeten talált <i>mcr-1</i> kódoló plazmidok összehasonlítása	123
29. ábra	Az Ománban talált <i>mcr-1</i> kódoló plazmid összehasonlítása más IncI2 plazmidok szerkezetével.....	126
30. ábra	A panrezisztens <i>K. pneumoniae</i> ST147 törzsek izolálásának helye és időrendje.....	132
31. ábra	Az <i>mgrB::bla_{OXA181}</i> inzerció.....	133
32. ábra	A <i>bla_{OXA-181}</i> gén funkcionalitásának igazolása és az <i>mgrB:: bla_{OXA-181}</i> mutáció komplementálása.....	134
33. ábra	Az ABC143C törzs pNDM-5 plazmidjának hasonló plazmidokkal történő összehasonlítása.....	135
34. ábra	Az NDM-5 és OXA-181 termelő, részben PDR <i>K. pneumoniae</i> ST147 törzs feltételezett terjedése.....	137
35. ábra	Az <i>mcr-1</i> gén környezete a különböző plazmidok esetén.....	142
36. ábra	Az <i>mcr-1.1</i> törzsek eredete, faja, MCR plazmidjaik Inc típusa és cgMLST csoportja.....	143

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke.....	i
Az EUCAST által javasolt antibiotikum név rövidítések.....	iii
Táblázatok listája.....	iv
Ábrák listája.....	vi
Tartalomjegyzék.....	viii
1. BEVEZETÉS.....	1
1.1. AZ ARAB-FÉLSZIGET ÉS AZ EGYESÜLT ARAB EMIRÁTUSOK.....	1
1.2. AZ ANTIBIOTIKUM REZISZTENCIA ADATOKAT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK AZ EGYESÜLT ARAB EMIRÁTUSOKBAN.....	3
1.2.1. Az ország kitétsége.....	3
1.2.2. Az Egyesült Arab Emirátusok egészségügy rendszere.....	4
1.2.3. Antibiotikum felhasználás.....	7
1.2.4. Antibiotikum rezisztenciát vizsgáló kutatások.....	7
1.2.5. Antibiotikum rezisztencia surveillance.....	8
2. CÉLKITŰZÉSEK.....	13
2.1. TÁVLATI, ÁLTALÁNOS CÉLOK.....	13
2.2. KÖZVETLEN, SPECIFIKUS CÉLOK.....	13
2.2.1. Multirezisztens, elsősorban ESBL termelő <i>Enterobacterales</i> vizsgálata.....	13
2.2.2. Kórházi fertőzéseket okozó, nem fermentáló multi-rezisztens Gram-negatív kórokozók vizsgálata.....	14
2.2.3. Karbapenem rezisztens <i>Enterobacterales</i> vizsgálata.....	14
2.2.4. A kolisztin rezisztencia vizsgálata.....	15
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	16
3.1. BAKTÉRIUM TÖRZSEK.....	16
3.2. KÖRNYEZETI MINTAVÉTEL.....	16
3.3. AZ ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉG VIZSGÁLATA.....	17
3.4. ANTIBIOTIKUM REZISZTENCIA MECHANIZMUSOK FENOTÍPUSOS VIZSGÁLATA.....	18
3.5. KÜLSŐ MEMBRÁN FEHÉRJÉK VIZSGÁLATA.....	18
3.6. ANTIBIOTIKUM REZISZTENCIA-, VIRULENCIA FAKTOR-, ÉS EGYÉB GÉNEK KIMUTATÁSA ÉS VIZSGÁLATA PCR-RAL.....	19
3.7. PLAZMIDOK KIMUTATÁSA ÉS VIZSGÁLATA, KONJUGÁCIÓ, TRANSZFORMÁCIÓ.....	21
3.8. KLÓNOZÁS.....	23
3.9. DNS-DNS HIBRIDIZÁCIÓ (SOUTHERN BLOT).....	24
3.10. HAGYOMÁNYOS („SANGER”) SZEKVENÁLÁS.....	24
	<i>folyt.</i>

folyt.

3.11. TELJES GENOM SZEKVENÁLÁS ÉS ANALÍZIS	24
3.12. A TÖRZSEK TÍPIZÁLÁSA	25
3.13. STATISZTIKAI ANALÍZIS	26
3.14. ETIKAI ENGEDÉLYEK	27

4. EREDMÉNYEK..... 28

4.1. MULTIREZISZTENS ÉS ESBL TERMELŐ BÉLBAKTÉRIUMOK VIZSGÁLATA..... 28

4.1.1. Előzmények..... 28

4.1.2. Eredmények és megbeszélés..... 29

4.1.2.1. ESBL termelés első részletes leírása enteroaggregatív E. coli törzsekben.. 29

4.1.2.2. Multirezisztens és ESBL termelő salmonella és shigella törzsek vizsgálata..... 31

4.1.2.3. ESBL termelő K. pneumoniae járvány egy újszülött intenzív osztályon..... 35

4.1.2.4. Az ESBL termelő E. coli ST131 globális klón LPS mag (core) régiójának vizsgálata..... 37

4.2. MULTIREZISZTENS NEM FERMENTÁLÓ GRAM-NEGATÍV BAKTÉRIUMOK VIZSGÁLATA..... 42

4.2.1. Előzmények..... 42

4.2.2. Eredmények és megbeszélés..... 44

4.2.2.1. Véráram fertőzést okozó Stenotrophomonas maltophilia törzsek vizsgálata egy hármasszintű kórházban..... 44

4.2.2.2. Plazmidon elhelyezkedő bla_{PER-7} gén ceftazidim rezisztens A. baumannii-ban..... 46

4.2.2.3. NDM-2 termelő Acinetobacter baumannii az Egyesült Arab Emírségekben..... 48

4.2.2.4. Járványos és sporadikus Acinetobacter baumannii törzsek eloszlása Abu Dhabi Emírátság kórházaiiban..... 49

4.2.2.5. Klinikai és környezeti Acinetobacter baumannii izolátumok összehasonlítása egy szaudi kórházban..... 54

4.3. KARBAPENEM REZISZTENS BÉLBAKTÉRIUMOK VIZSGÁLATA..... 60

4.3.1. Előzmények..... 60

4.3.2. Eredmények és megbeszélés..... 63

4.3.2.1. Egyes karbapenemázok országosan vagy regionálisan első leírása, illetve génjeik regionálisan első részletes jellemzés..... 63

NDM-1..... 63

NDM-7..... 66

VIM-4..... 69

KPC-2..... 72

4.3.2.2. Karbapenemázokat kódoló IncX3 plazmidok összehasonlító vizsgálata.... 74

4.3.2.3. Karbapenemáz és 16S RNS metiláz aminoglikozid rezisztencia gének gyakoriságának vizsgálata..... 80

4.3.2.4. Kettős karbapenemáz termelő törzsek vizsgálata..... 86

folyt.

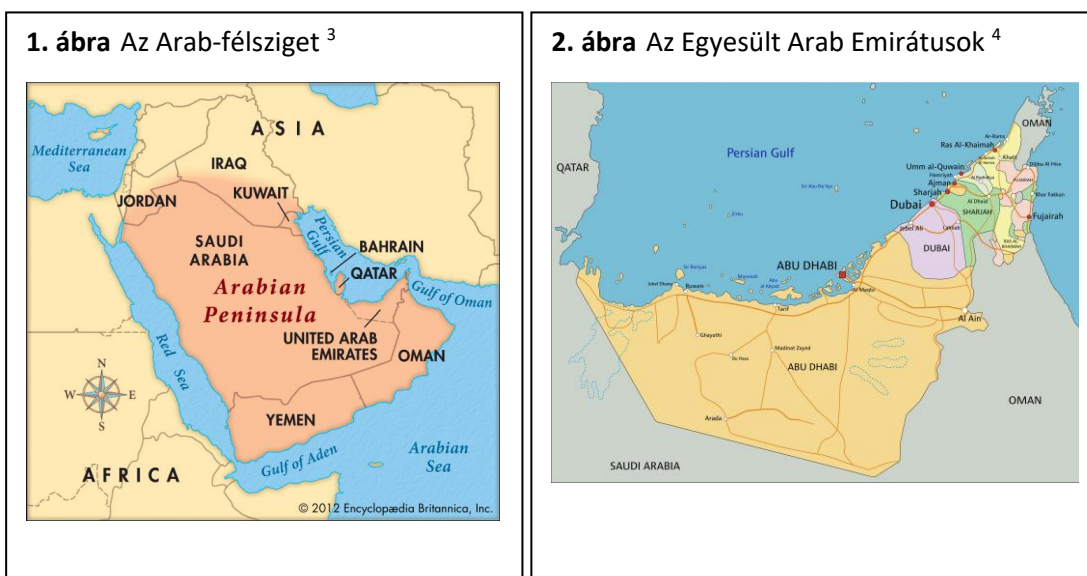
folyt.

4.3.2.5. A CRE törzsek antibiotikum rezisztenciája.....	91
4.3.2.6. Klonalitás a CRE törzsek között.....	98
4.3.2.7. A jelen CRE helyzet kialakulásának dinamikája Abu Dhabiban.....	107
4.3.2.8. Az országban domináló <i>K. pneumoniae</i> ST14 klón törzseinek változatossága.....	112
4.3.2.9. Egy kuvaiti VIM-4 plazmid/integron járvány vizsgálata.....	118
4.4. KOLISZTIN REZISZTENS BÉLBAKTÉRIUMOK VIZSGÁLATA.....	121
4.4.1. Előzmények.....	121
4.4.2. Eredmények és megbeszélés.....	122
4.4.2.1. Az <i>mcr</i> gén első leírása az Arab-félsziget országában.....	122
4.4.2.2. CRE törzsek kolisztin rezisztenciája és annak genetikai háttere.....	126
4.4.2.3. Az első panrezisztens járvány az EAE-ben, - egy kolisztin rezisztenciát okozó ritka mutáció.....	131
4.4.2.4. Az <i>mcr</i> gén brojlersírkék ürülékéből izolált törzsekben.....	137
5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	149
6. A DOKTORI MŰ ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK.....	154
7. A DOKTORI MŰBEN FEL NEM HASZNÁLT KÖZLEMÉNYEK.....	157
7.1. A PhD DISSZERTÁCIÓBAN FELDOLGOZOTT KÖZLEMÉNYEK.....	157
7.2. EGYÉB KÖZLEMÉNYEK.....	157
8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	160
9. IRODALOM.....	162
10. FÜGGELÉK.....	176
10.1. A DOKTORI MŰBEN SZEREPLŐ PROJEKTEK KAPCSÁN NYILVÁNOS ADATBÁZISOKBAN ELHELYEZETT SZEKVENCIÁK.....	176

1. BEVEZETÉS

1.1. AZ ARAB-FÉLSZIGET ÉS AZ EGYESÜLT ARAB EMIRÁTUSOK

Az Arab-félszigetet az Arab- (Perzsa-) öböl, az Ománi-öböl, az Arab-tenger, az Indiai-óceán, a Vörös-tenger és az Akabai-öböl, illetve északon, a szárazföld felé a Zagrosz és Torosz-hegységek és a Szíriai-sivatag határolják. Országai Szaúd-Arábia, Kuvait, Bahrein, Katar, az Egyesült Arab Emirátusok (EAE), Omán és Jemen ^{1,2} (1. ábra). (Az értekezésben országok említésekor a köznyelvben használt rövidebb neveket és nem azok teljes, hivatalos nevét, pl. Szaúd-Arábiai Királyság, fogom használni).



A félsziget országainak, Jemen kivételével, monarchikus az államformája, és egy laza politikai szövetséget alkotnak „Gulf Cooperation Council” (GCC) néven, ezért olykor GCC országok gyűjtőnévvel hivatkoznak rájuk. Mindegyik GCC ország, bár egymástól jelentősen eltérő, de jelentős szénhidrogén kincssel rendelkezik. Néhány jellemző adatot az 1. táblázatban mutatunk be. Ezekből az adatokból is látható, hogy a GCC országokban hazánkhoz képest nem csak a gazdasági potenciál, de a külföldi vendégmunkások, illetve az idős korcsoport aránya vonatkozásában is jelentős eltérés van.

1. táblázat A GCC országokra jellemző néhány adat hazánkkal összehasonlítva

	Szaúd-Arábia	Kuvait	Bahrein	Katar	EAE	Omán	Magyar-ország
Terület (ezer km ²)	2150	17,8	0,76	11,6	83,6	309,5	93,02
Népesség (millió)	35,4	3,1	1,54	2,5	9,9	3,76	9,69
0-14 éves (%)	24,84	24,29	18,45	12,84	14,54	30,15	14,54
25-54 éves (%)	50,2	52,39	56,14	70,66	68,03	44,81	42,17
≥65 éves (%)	3,63	2,92	3,36	1,19	1,9	3,68	20,69
Külföldiek aránya (%) [*]	32,7	69,2	52,0	85,7	88,5	44,0	~ 2,0 ^{**}
GDP per fő (USD) ^{***}	49 551	47 303	45 411	93 521	66 766	31 117	36 752

Adatok ⁵, illetve ^{*} ⁶, ^{**} számítva ⁷ alapján, ^{***} ⁸

Vizsgálataink döntő részét az Egyesült Arab Emírátságokban végeztük (**2. ábra**). Az országot 1971-ben alapította Sheik Zayed kezdetben hat (Abu Dhabi, Dubai, Sharjah, Umm al Quwain, Ajman, Fujairah) emírátság szövetségéeként, amihez 1972-ben csatlakozott hetedikként Ras al Khaimah. Az ország fővárosa az Abu Dhabi emírátságban lévő hasonló nevű város.

Nem csak területileg, de a népességet és gazdasági potenciáljukat tekintve is jelentős különbségek vannak az egyes emírátságok között. Az adatokból látható (**2. táblázat**), hogy Abu Dhabi, és bizonyos mértékig Dubai gazdaságilag és a népességet tekintve is dominálja a szövetséget ^{9,10}. Globálisan is jelentős mennyiségű szénhidrogén vagyonnal Abu Dhabi rendelkezik. Az egyes emírátságok között meglévő aránytalanságok az oka annak, hogy a köznyelvben, de sok esetben különböző hivatalok tekintetében, szervezetileg is, az országot gyakran osztják három nagy régióra, melyet egyes vizsgálataink során mi is követtünk: 1. Abu Dhabi, 2. Dubai, 3. Sharjah és az Északi Emírátságok.

2. táblázat Az Egyesült Arab Emírátsok emírátságainak GDP-je és népessége

Emírátság	GDP (milliárd dirham) (2014)*	Lakosság (millió) (2022)**
Abu Dhabi	960	1,540
Dubai	338	3,488
Sharjah	114	1,786
Ajman	16,4	0,504
Umm al Quwain	nincs adat	0,049
Fujairah	14	0,256
Ras al Khaimah	nincs adat	0,345

* 9, ** 10

1.2. AZ ANTIBIOTIKUM REZISZTENCIA ADATOKAT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK AZ EGYESÜLT ARAB EMÍRÁTUSOKBAN

1.2.1. Az ország kitettsége

Az **1. táblázatban** látható, hogy a félsziget országaiban nagyon magas az ott dolgozó, tartósan ott élő külföldiek aránya. Ennek vizsgálataink szempontjából kiemelt jelentősége van, hiszen a vendégmunkások többsége olyan országokból érkezik, ahol az antibiotikum rezisztencia köztudottan nagyon magas arányú. A **3. táblázatban** az EAE-ra vonatkozó arányokat mutatjuk be.

A vendégmunkások aránya mellett a kórokozók, és így az antibiotikum rezisztencia terjedésére potenciális hatással bír egy ország „kitettsége”, kereskedelmének, turizmusnak mértéke is. Ebből a szempontból fontos, hogy kis mérete ellenére az import és export értékét tekintve, a 2021-es adatok alapján az EAE a világ 18. legnagyobb importáló, és a 16. legnagyobb exportáló országa volt ¹¹. A 2020-as turista beutazásokat tekintve pedig az ország, Görögországot megelőzve a 14. leglátogatottabb ország ¹². Az Official Aviation Guide of the Airways (OAG) 2022 augusztusi adatai alapján a Dubai Nemzetközi Repülőtér az atlantai (GA, USA) után a második legforgalmasabb repülőtér, csak a nemzetközi járatokat tekintve pedig a legforgalmasabb ¹³.

3. táblázat Az Egyesült Arab Emírátsokban dolgozó vendégmunkások megoszlása állampolgárság szerint (2022) ¹⁰

Állampolgárság	Arány a teljes lakosság %-ában
India	27,49
Pakisztán	12,69
Banglades	7,4
Fülöp-szigetek	5,56
Irán	4,76
Egyiptom	4,23
Nepál	3,17
Sri-Lanka	3,17
Kína	2,11
Egyéb országok	17,94
Összesen	88,52

Mindezek fényében érthető, hogy a tágabb régió előkelő helyen szerepel az utazások során szerzett MDR kórokozókra történt kolonizáció, illetve a fertőzések forrás-területei között ¹⁴⁻¹⁸.

1.2.2. Az Egyesült Arab Emírátsok egészségügyi rendszere

Tapasztalataink többségét az EAE egészségügyével kapcsolatban szereztük, de ismereteink, és a környező országokban dolgozó kollégáink elmondása szerint a GCC országoknak nagyon hasonló problémái és eredményei vannak. Általánosságban elmondható, hogy a gazdag, Öböl-menti országok egészségügye magas szintű, általában közelít a fejlett nyugati országok egészségügyéhez, bár, legalábbis a területileg nagyobb országok esetén, az országokon belül nagyon jelentős eltérések tapasztalhatóak. Néhány, ezen országok egészségügyét jellemző adatot, a hazai adatokkal összehasonlításban a **4. táblázatban** mutatunk be.

Az EAE-ban az infekció kontrollal, antibiotikum felhasználással, a mikrobiológiai diagnosztikával kapcsolatos, az egész országra kiterjedő egységes gyakorlatot, a szükséges útmutatók hiánya mellett, számos egyéb tényező nehezíti. Mindenekelőtt az egészségügyi ellátó rendszer a gyakorlati kérdéseket tekintve nem mindig átlátható módon szabályozott. A szövetségi szintű szabályozást az Egészségügyi és Megelőzési Minisztérium (*Ministry of Health and Prevention*) biztosítja, de ezt egyes emírátsok szintjén helyi szervek (*Department*

of Health, Abu Dhabi, Dubai Health Authority, Sharjah Health Authority) részben felülírják. A kisebb Emirátusok esetén a helyi irányítást is a szövetségi minisztérium látja el¹⁹.

4. táblázat Az Arab-félsziget országainak néhány jellemző, az egészségügyre és közegészségügyre vonatkozó paramétere

	Szaúd-Arábia	Kuvait	Bahrein	Katar	EAE	Omán	Magyar-ország
Születéskor várható élettartam (év)	79,65	79,13	79,9	79,81	79,56	76,9	77,2
5 év alatti halandóság (halálozás / 1000 élve születés)*	5,2	8,86	6,76	5,76	6,57	1,01	4,05
A gazdaság egészségügyre fordított része (%)	5,7	5,5	4,0	2,9	4,3	4,1	6,4
Orvosok száma (per 1000 lakos)	2,74	2,34	0,93	2,49	2,6	1,77	6,06
Kórházi ágyak száma (per 1000 lakos)	2,2	2,0	1,7	1,3	1,4	1,5	7,0
A nem megfelelő vízellátásnak, szanitációnak vagy higiénianak betudható hasmenéses esetek aránya*	0,08 [0-0,28]	0,08 [0-0,28]	0,08 [0-0,28]	0,08 [0-0,28]	0,08 [0-0,28]	0,08 [0-0,28]	0,08 [0-0,28]
Bejelentett diftéria esetek száma (2021)*	0	0	0	0	0	0	0
DTP3** oltottság 1 éves kor alatt (2021, %)*	97	94	98	98	96	99	99

Adatok⁵, illetve *²⁰. ** Diftéria-Pertusszisz-Tetanusz oltás

Tovább bonyolítja a helyzetet a főleg Abu Dhabi és Dubai emirátusokban jelenlévő nagyszámú magánkórház és egyéb egészségügyi ellátóhely, melyekhez még a jelentősen önálló, több emirátusban is megtalálható, közvetlenül az Elnöki Hivatal irányítása alatt álló „elnöki” kórházak csatlakoznak^{19,21}. A magánszektor kiterjedtségét jól jelzi, hogy 2019-ben, hozzávetőleg azonos ágyszám mellett, közel kétszer annyi magánkórházban kétszer annyi orvos dolgozott a privát egészségügyben, mint a közvetlenül az állam irányítása alatt levőkben²².

2012-es adatok szerint az orvosok 81, a nővérek 91%-a volt nem emirátusi ²³. Bár e tekintetben a teljes országra nézve nincsenek újabb adatok ²⁴, becslésünk szerint ezek az évek során alapvetően nem változtak. Ez azt jelenti, hogy az egészségügyi személyzet hozza magával, és helyileg alkalmazza a világ legkülönbözőbb pontjain elsajátított gyakorlatot és szemléletet. E tekintetben különösen nagy az eltérés a gazdagabb (Abu Dhabi, Dubai) és szegényebb emirátusok között, tekintve, hogy az utóbbiakban az elérhető fizetések lényegesen alacsonyabbak. Bár ilyen irányú statisztikai kimutatást nem találtunk, tapasztalataink szerint az előbbieken sokkal több a fejlett egészségüggyel rendelkező európai és tengerentúli országokban tanult és onnan érkező orvos, míg az utóbbiakban nagyobb számban dolgoznak a fejlődő országokban (pl. Egyiptom, Szudán) képzett kollégák.

Elsősorban, de nem kizárólag a gazdagabb emirátusokban szintén hozzájárul a szakmai színvonal változatosságához, hogy néhány nagyobb kórház vezetését külföldi kórházakra, intézményekre bízzák, amelyek ott több-kevesebb sikerrel vezetik be saját standardjaikat. Ilyen megoldásokra példa a John Hopkins International kezelésében lévő Tawam kórház Al Ainben, Abu Dhabiban a Cleveland Kórház, a Ras-al-Khaimahban működő elnöki kórház mely a Szöuli Egyetem szakmai irányítása alatt áll, vagy volt egy ideig a Bécsi Egyetem Orvoskara által irányított Al Ain Kórház Al Ain-ban.

Az egyes emirátusok szervezeti elkülönülése ellenére nem ritka az emírségi határokon átívelő betegellátás. Ez elsősorban, de nem kizárólag, az emirátusi állampolgárok részére biztosított, így a beteg, amennyiben azt a kezelő orvos indokolni tudja, az esetleges jobb ellátás érdekében részesülhet kórházi ápolásban más emirátusokban is. Mindezek mellett a helyi lakosok, állami költségen igénybe vehetnek kórházi kezelést külföldön is, amennyiben ezt a kezelő orvos indokolja. A lehetőséget kiterjedten használják, és a célországok az USA, Kanada, Németország mellett nem ritkán a súlyos rezisztencia gondokkal küzdő Thaiföld vagy India, utóbbiakban főleg ezek egészségügyi csúcs-intézményei.

Az országban dolgozó vendégmunkásoknak is van egészségbiztosítása. Az évek során felismerhető volt az az állami tendencia, hogy őket egyre inkább a magánellátás felé tereljék. Miután ennek minden költségét a biztosításuk nem feltétlenül fedezi, így esetükben sem ritka a kezelés igénybevétele saját országaik inkább megfizethető kórházaiban, természetes ezzel tovább növelve a kórokozó-import lehetőségét.

1.2.3. Antibiotikum felhasználás

A helyi antibiotikum felhasználás mértékéről, gyakorlatáról szinte kizárólag tudományos közleményekből értesülhetünk, melyek általában egy, vagy néhány kórházra korlátozódnak, vagy egy adott kórkép kapcsán folytatott gyakorlatról számolnak be ²⁵⁻³¹. Nyilvánosan hozzáférhető adatbázis az EAE antibiotikum felhasználásról, annak területi megoszlásáról nem áll rendelkezésre. Jelentős problémát jelent, hogy a kórházon kívüli ellátásban az antimikrobás szerek felírását befolyásolják a külföldről jött orvosok ismeretei, vagy azok hiánya, illetve a betegek igényeivel szembeni, szakmailag indokolt ellenállás alacsony volta ³². Ijesztő, és a béta-laktám (BL) rezisztenciára kedvezőtlenül ható gyakorlat, hogy pl. tonsillitis esetén az amoxicillin-klavulánsav mellett az egyik leggyakrabban alkalmazott kezelés a parenterális ceftriaxon ³³. Részben ezen adat hatására kezdődött Abu Dhabi emirátusban az alapellátásban dolgozók esetén az egyéni antibiotikum-felírás monitorozása és az ott dolgozók oktatása ³⁴ és (*Dr. Rayhan Hashmey – személyes közlés, engedéllyel hivatkozva*).

Jelentős gond, hogy az antibiotikumok a legutóbbi időkhöz recept nélkül hozzáférhetőek voltak a gyógyszertárakban (*saját tapasztalat*) és ³⁵⁻³⁷, ami a széles körben elterjedt öngyógyításhoz vezetett ³⁸⁻⁴¹. Ezt a helyzetet tovább rontja, hogy a vendégmunkások hazájukból is hoznak, minden eshetőségre, nem egyszer kétes forrásból származó antibiotikum készítményeket.

1.2.4. Antibiotikum rezisztenciát vizsgáló kutatások

Eltételezve a teljes régiót felölelő néhány vizsgálattól ^{42,43} az EAE-ban, de tulajdonképpen az egész régióban az antibiotikum rezisztenciát célzó kutatások többsége vagy specifikus kórokozó csoportokon belül található ⁴⁴⁻⁵⁵, vagy néhány kórház, esetleg kisebb területen lévő kórházak helyi rezisztencia viszonyait írták le ⁵⁶⁻⁵⁹. E tanulmányok általában a klinikai mikrobiológiai laboratóriumokban végzett vizsgálatok eredményeit összegezték, és mint ilyenek, tükrözték az adott laboratóriumokban végzett vizsgálatok, a módszertan, a helyi interpretáció színvonalát, minőségét. Ez esetenként félrevezető, nyilvánvalóan hibás eredmények publikálásához is vezetett (pl. 30% körüli karbapenem rezisztencia *E. coli* és *K. pneumoniae* esetén 2005-ben ⁶⁰).

Az ezredforduló táján viszonylag kevés vizsgálat célozta meg az egyes rezisztencia mechanizmusok, különösen a kiterjedt BL rezisztenciát okozó mechanizmusok elterjedtségét, jóllehet a 3. és 4. generációs cefalosporin ellenes rezisztencia növekedését a 90-es években és azt követően a régió minden országában megfigyelték ⁶¹. Néhány vizsgálat terjedt ki arra, hogy ezek a változások mely cefalosporináz, elsősorban kiterjedt spektrumú béta-laktamáz (ESBL) enzimek terjedésének köszönhetőek: Saudi Arábiában ⁶²⁻⁶⁵, Ománban ⁶⁶, Kuwaitban ⁶⁷⁻⁷⁰ és az EAE -ben ^{49,71}. Bár sporadikusan az enzimek változatossága volt megfigyelhető ⁶¹, a domináns ESBL enzimek a CTX-M család különböző alléljai voltak. Hasonlóképpen, bár a karbapenem rezisztencia növekedését észlelték úgy a bélbaktériumok, mint a nem fermentálók esetén ⁶¹, a jelenségért felelős antibiotikum rezisztencia mechanizmusokat célzó vizsgálatokra csak elvétve került sor, nem ritkán nyugati laboratóriumok bevonásával ⁷²⁻⁷⁹.

1.2.5. Antibiotikum rezisztencia surveillance

Az EAE-ban szisztematikus antibiotikum surveillance 2010-ben indult, eleinte kizárólag Abu Dhabiban, gyakorlatilag magánkezdeményezésként a *Department of Health, Abu Dhabi* Környezetegészségügyi osztályán dolgozó *Dr. Jens Thomsen* által. Rövidesen ez hivatalossá vált, mint *Abu Dhabi Antimicrobial Surveillance System*, melynek azonban az egyre több kórházból beérkező adatokat nem volt módjában nyilvánosságra hozni. 2015-ben a *Ministry of Presidential Affairs (MOPA)*, *Dubai Health Authority (DHA)*, *Department of Health-Abu Dhabi (DoH)*, és az *Abu Dhabi Public Health Center (ADPHC)* együttesen megalapították a *UAE Higher Committee for Antimicrobial Resistance* -t, melynek egyik albizottsága a *National Sub-Committee for Antimicrobial Resistance Surveillance*. Ezzel egyidejűleg az adatgyűjtés fokozatosan kiterjedt mind a hét emirátusra. Jelenleg a mára már a *National Antimicrobial Surveillance System* -nek nevezett rendszer részére 318 klinikai egység 44 laboratóriuma szolgáltat adatokat (*Dr. Jens Thomsen – személyes közlés, engedéllyel idézve*).

Az adatok elemzése szinte a kezdetektől a WHONET (www.whonet.org) program segítségével történik.

Az adatgyűjtés ellenére az első, csak Abu Dhabira vonatkozó, 2017 és 2019 második negyedéve közötti részleges, válogatott adatok, az izolátumok forrásának (pl. invazív, klinikai vagy szűrésből származó minta) megjelölése nélkül, csak 2017-ben váltak nyilvánosan hozzáférhetővé a *Communicable Disease Bulletin* -ben ⁸⁰. Az ebben szereplő, Gram-negatívok

3. generációs cefalosporin és karbapenem érzékenységi adatait a **5. táblázatban** mutatjuk be.

5. táblázat Néhány Gram-negatív pálcá egyes beta-laktám antibiotikumokkal szemben mutatott rezisztenciájának alakulása Abu Dhabiban 2010 és 2017 között ⁸⁰

Fajok	Antibiotikumok*	A rezisztencia aránya (%)							
		2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
<i>E. coli</i>	CTZ	13,2	12,9	11,5	14,8	15,4	13,9	14,8	15,0
	CTA	21,9	23,2	21,9	25,3	26,2	26,4	27,6	28,8
	ERT	-	-	1,1	0,7	0,6	0,4	0,6	0,8
	IMI	0,2	0,3	0,1	0,3	0,2	0,1	0,6	0,4
	MER	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	1,5	0,4
<i>K. pneumoniae</i>	CTZ	8,9	10,5	9,9	11,9	16,3	16,7	18,3	18,1
	CTA	11,1	14,5	15,8	18,7	20,9	21,3	25,0	25,8
	ERT	-	-	0,0	4,5	3,8	3,9	4,9	5,3
	IMI	0,4	0,7	1,4	1,6	2,9	2,4	3,4	2,4
	MER	0,5	0,7	1,0	2,5	3,5	3,4	4,8	4,1
<i>P. aeruginosa</i>	CTZ	7,5	7,7	6,9	7,0	8,1	8,9	8,4	10,4
	CEP	6,0	6,8	5,4	5,1	5,3	6,2	5,9	8,0
	IMI	12,8	11,1	10,0	14,7	16,2	17,4	18,3	21,6
<i>A. baumannii</i>	MER	13,6	10,1	9,4	11,4	12,1	13,4	13,8	16,4
	IMI	39,3	51,8	45,4	43,9	39,8	28,5	33,9	28,9
	MER	45,6	51,9	53,3	47,2	41,2	28,2	34,6	29,4

* A disszertáció táblázataiban az EUCAST által javasolt antibiotikum rövidítéseket használjuk ⁸¹.

A nemzeti surveillance rendszer teljes országot átfogó jelentése 2021-ben jelent meg először a 2019-tal bezárólag gyűjtött adatokról ⁸². Eddigre az adatközlés áttért a minden forrásból származó érzékeny izolátumok arányának megadására. Az ebből származó, 2019-es évre vonatkozó adatokat, mely forrástól függetlenül minden izolátumot tartalmaz, a **6. táblázatban** mutatjuk be.

6. táblázat Néhány Gram negatív pálca egyes beta-laktám antibiotikumokkal szemben mutatott érzékenysége az Egyesült Arab Emírátsokban, 2019-ben ⁸²

Fajok	Antibiotikumok	Az érzékeny törzsek aránya (%)
<i>E. coli</i>	CTZ	-
	CTA	68
	ERT	98
	IMI	99
	MER	99
<i>K. pneumoniae</i>	CTZ	-
	CTA	74
	ERT	95
	IMI	94
	MER	96
<i>P. aeruginosa</i>	CTZ	87
	CEP	90
	IMI	85
	MER	86
<i>A. baumannii</i>	IMI	74
	MER	75

Megjegyzendő, hogy bár az adatok számos kérdést felvetnek, azok kizárólag a beküldő laboratóriumok eredményein alapulnak. Ugyan a laboratóriumok egységesen a *Clinical and Laboratory Standards Institute* -nak (CLSI, <https://clsi.org/>) útmutatásai alapján értékelik az érzékenységi eredményeket, a munka minőségére, de még az alkalmazott CLSI dokumentum aktualitására sem volt az adatokat feldolgozóknak tanácsadást meghaladó ráhatása. Így az adatok gyűjtése és értékelése során kizárólag a nagyon kirívó eseteket lehetett korrigálni, pl. több vankomicin rezisztens *S. aureus* izolátum jelentése, melyről kiderült, hogy téves interpretáción alapult (*személyes, nem publikált megfigyelés, rálátással a nyers adatokra a National Sub-Committee for Antimicrobial Resistance Surveillance tagjaként*).

Vizsgálataink szempontjából fontos továbbá, hogy a táblázatok nem tartalmazzák a kolisztin rezisztencia/érzékenységi adatokat. Ennek oka, hogy bár az EUCAST/CLSI 2016-ban kiadott konszenzuson alapuló útmutatója csak a leves-higításos módszert tartotta elfogadhatónak ⁸³, a kolisztin érzékenységet tesztelő laboratóriumok egy része ekkor még változatlanul az korong-diffúziós vagy gradiens diffúziós módszereket alkalmazta.

A surveillance rendszer az adatok begyűjtésén túl nem terjed ki a rezisztencia mechanizmusait, az esetleges rezisztens klónokat azonosító molekuláris vizsgálatokra. Ilyen vizsgálatokat végző állami laboratórium vagy laboratóriumi hálózat az EAE-ben mind a mai napig nem létezik. A fenti rendszer adatai alapján az EAE 2018 óta szolgáltat adatokat a WHO GLASS (*Global Antimicrobial Surveillance System*) adatbázisa részére ⁸⁴.

Más, a régióhoz tartozó országokban is ezekben az években jelentek meg az első országos szintű jelentések az antibiotikum rezisztenciáról, pl. Ománból ⁸⁵ vagy Szaúdi-Arábiából ⁸⁶. Az antibiotikum rezisztencia terjedése elleni küzdelmet regionálisan egységesíteni kívánó szándék ⁸⁷ ellenére a feldolgozás szempontjaiban, az alkalmazott definíciókban és az eredmények bemutatásának módjában meglévő különbségek jelentősen megnehezítik az adatok összehasonlítását.

Az antibiotikum rezisztencia problémájára irányuló, bizonyos mértékig növekvő figyelem ellenére a 2010-ben Sheikh Mohammed bin Rashid Al Maktoum, az ország elnökhelyettese és miniszterelnöke, Dubai vezetője által meghirdetett „*UAE Vision, 2021*” program „*World-class Healthcare*” szekcióján belül a nevesített, prioritást kapó területek (pl. kardiovaszkuláris betegségek, rák, diabetes vagy például az egészségügyi szolgáltatók minősége, nővérek száma stb.) között sem az antibiotikum rezisztencia, sem a fertőző betegségek általában nem szerepeltek ⁸⁸. Ugyanakkor jelentős előrelépés, hogy 2019-ben publikálásra került egy, a WHO-val együttműködésben a 2019-2023 évekre készült, az antibiotikum rezisztencia problémájának gyakorlatilag minden aspektusát érintő, részletes nemzeti antibiotikum stratégia ⁸⁹.

Összességében tehát az Egyesült Arab Emírségekben tartózkodásunk alatt a kezdeti években (2002-2006) elsősorban a hagyományos szerekkel szemben fokozódó rezisztencia és az ESBL termelő törzsek gyors terjedése jelentett globális és helyi problémát. Ott tartózkodásunk második időszakában (2008-2019) már egyértelműen a nem-fermentálók, illetve a bélbaktériumok között terjedő karbapenem és kolisztin rezisztencia volt a legfőbb gond úgy világszerte, mint a régióban is. Mindez egy általánosságban fejlett, de elemeiben gyakran eklektikus egészségügyi rendszerben történt, melyben a széleskörű, molekuláris vizsgálatokon alapuló antibiotikum surveillance hiányzott.

Eredményeinket a továbbiakban 4 fő téma köré csoportosítva ismertetem:

- Multirezisztens és ESBL termelő bélbaktériumok vizsgálata
- Multirezisztens nem fermentáló Gram-negatív baktériumok vizsgálata
- Karbapenem rezisztens bélbaktériumok vizsgálata
- Kolisztin rezisztens bélbaktériumok vizsgálata

2. CÉLKITŰZÉSEK

(A szövegben a **vastagon szedett római számok** a disszertáció alapját képező közleményekre utalnak, melyeket a *154. oldalon* sorolunk fel)

2.1. TÁVLATI, ÁLTALÁNOS CÉLOK

Célunk az volt, hogy jellemezzük az EAE-ben, esetenként a teljes régióban, az *Enterobacterales* család, kisebb mértékben az *Acinetobacter* és *Stenotrophomonas* genusok antibiotikum érzékenységét, az izolátumokban előforduló válogatott antibiotikum rezisztencia mechanizmusokat, e mechanizmusok genetikai hátterét, feltárjuk az izolátumok között előforduló járványtani kapcsolatokat, a klonalitás esetleges jelenlétét, és a helyi klónok kapcsolatát azok globális képviselőivel. A vizsgálatok során olyan adatokat igyekeztünk nyerni, amelyek segíthetik az infekció kontroll és járványtan területén dolgozó szakembereket a kórokozók forrásainak, terjedési útvonalainak helyi, regionális, esetleg globális szintű azonosításában, további terjedésük korlátozásában.

2.2. KÖZVETLEN, SPECIFIKUS CÉLOK

2.2.1. Multirezisztens, elsősorban ESBL termelő *Enterobacterales* vizsgálata

- 2.2.1.1. *Célunk volt az EAE-ben végzett, hasmenést okozó E. coli patotípusok felismerésére irányuló vizsgálat során azonosított enteroaggregatív típus egyes izolátumaiban tapasztalt 3. generációs cefalosporin rezisztencia genetika hátterének tisztázása (I)*
- 2.2.1.2. *Vizsgálni kívántuk a különböző enterális kórokozók között terjedő multi-rezisztencia, elsősorban az ESBL enzimek termelésének gyakoriságát (III-V)*
- 2.2.1.3. *Egy neonatális intenzív osztályon zajló ESBL termelő K. pneumoniae járvány esetén célunk volt a járványtani összefüggések tisztázása - az ország történetében először - molekuláris tipizáló módszerek alkalmazásával (VII)*
- 2.2.1.4. *Vizsgálni kívántuk az ST131 ESBL termelő globális, ún. „high risk” E. coli klón LPS mag (core) szerkezetének genetikai hátterét (VIII, XXI)*

2.2.2. Kórházi fertőzéseket okozó, nem fermentáló multi-rezisztens Gram-negatív kórokozók vizsgálata

- 2.2.2.1. *Vizsgáltuk egy 3-as, azaz a legmagasabb ellátási szintű kórházban előforduló Stenotrophomonas maltophilia törzsek járványtani kapcsolatait (II)*
- 2.2.2.2. *Vizsgálni kívántuk az EAE-ben izolált A. baumannii törzsekben felbukkanó, szokatlan mechanizmusú ceftazidim (VI) és karbapenem rezisztencia (IX) genetikai hátterét*
- 2.2.2.3. *Célunk volt az Abu Dhabi kórházaiban előforduló A. baumannii törzsek lehetséges járványtani kapcsolatainak feltárása (XI)*
- 2.2.2.4. *Szaúdi-Arábia egy regionális kórházában azt vizsgáltuk, hogy a karbapenem rezisztens A. baumannii törzsekkel szennyezett kórházi környezet szolgálhat-e humán fertőzések forrásául (XXV)*

2.2.3. Karbapenem rezisztens Enterobacterales vizsgálata

- 2.2.3.1. *A karbapenem rezisztens Enterobacterales járvány kezdetekor célunk volt az országban és/vagy a régióban korábban még elő nem fordult karbapenemázok azonosítása, genetikai hátterük tisztázása (X, XII, XIV, XVII, XXII)*
- 2.2.3.2. *Különböző időpontokban vizsgáltuk a karbapenem rezisztenciáért felelős gének, és egyes esetekben a széles körű aminoglikozid rezisztenciáért felelős 16S metiláz gének előfordulásának gyakoriságát az EAE-ban, illetve a régióban (XIII, XV, XXIII, XXVI, XXVIII, XXX)*
- 2.2.3.3. *Különböző időpontokban vizsgáltuk a karbapenem rezisztens bélbaktérium (CRE) törzsek antibiotikum rezisztenciáját, illetve multirezisztens (MDR) törzsek kezelésére esetleg bevethető, még kevésbé elterjedt, vagy kísérletes szerek hatékonyságát (XIII, XV, XXIII, XXVI, XXVIII, XXX)*
- 2.2.3.4. *Célunk volt annak tisztázása, hogy melyek az EAE-ban keringő legfontosabb CRE klónok és ezek milyen jellegzetes tulajdonságokkal rendelkeznek (XIII, XV, XXII, XXIII, XXVIII, XXX)*
- 2.2.3.5. *Vizsgáltuk az EAE-ban legelterjedtebb CRE klón, a K. pneumoniae ST14 helyi és globális heterogenitását (XXVII)*

- 2.2.3.6. *Célunk volt a gyakran különböző karbapenemáz géneket hordozó, a régióban elterjedt IncX3 típusú plazmidok helyi és globális változatosságának vizsgálata (XXIV)*
- 2.2.3.7. *Egy kuvaiti, több kórházat érintő járvány kapcsán vizsgáltuk a plazmidok és egyéb mobilis genetikai elemek átvitelének szerepét a karbapenem rezisztencia helyi és regionális terjedésében (XX)*

2.2.4. A kolisztin rezisztencia vizsgálata

- 2.2.4.1. *Megkíséreltük felderíteni az országban először izolált pánrezisztens (PDR) K. pneumoniae törzs karbapenem és kolisztin rezisztenciájának genetikai hátterét (XIX)*
- 2.2.4.2. *Megvizsgáltuk, jelen van-e a régióban izolált humán CRE törzsekben a plazmid-kódolt kolisztin rezisztencia gén (mcr) (XVI, XVIII)*
- 2.2.4.3. *Tisztázni kívántuk, hogy a régióban izolált karbapenem rezisztens K. pneumoniae törzsek között talált magas kolisztin rezisztenciának mi a genetikai háttere (XXVII, XXVIII)*
- 2.2.4.4. *Célunk volt annak feltárása, hogy a humán mintákból származó kolisztin rezisztens CRE izolátumokban megfigyelt mcr-kódolt kolisztin rezisztencia alacsony prevalenciája összefüggést mutat-e az emberi fogyasztásra kerülő broiler csirkékből izolált törzsek mcr hordozásával (XXIX)*

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. BAKTÉRIUM TÖRZSEK

A vizsgálandó baktérium törzseket a kórházi laboratóriumok identifikálás, illetve meghatározott antibiotikum érzékenység minta (pl. klinikai határérték alá csökkent karbapenem érzékenység bármely módszerrel vizsgálva) alapján küldték laboratóriumunkba, azaz az EAE Egyeteme Orvosi és Egészségtudományi Karán lévő Orvosi Mikrobiológiai és Immunológiai Intézetbe. Kizárólag olyan törzsekkel dolgoztunk, melyek klinikai vagy higiénés vizsgálatok részeként kerültek izolálásra, különböző projektjeink céljára mintavétel nem történt. Az egyes célzott projektek mellett az EAE laboratóriumainak lehetősége volt CR törzsek folyamatos beküldésére, amit az Abu Dhabi emirátus kórházi laboratóriumai számára az Abu Dhabi Health Authority egy igazgatói körlevélben, 2013-ban javasolt is ⁹⁰, bár a beküldés végig önkéntes maradt. Abban az esetben, ha bármilyen okból kétség merült fel a beküldő laboratóriumban végzett faj-meghatározás helyességét illetően, azt a 16S riboszómális RNS gén egy szakasza PCR amplifikációt követő szekvencia meghatározásával ^{91,92} tisztáztuk. Minden törzset 20% glicerint tartalmazó tripton-szója levesben (TSB) tároltuk -80 °C-on.

A törzseket minden esetben a beküldő laboratórium által kódolva, „dehumanizálva” kaptuk, azaz semmilyen, a beteg azonosítását lehetővé tévő információ nem állt rendelkezésünkre. A beküldő által szolgáltatott demográfiai és klinikai adatok projektenként változtak, ezek információ tartalmát, annak mélységét minden esetben a beküldő intézmény belső szabályai határozták meg.

3.2. KÖRNYEZETI MINTAVÉTEL

Karbapenem rezisztens *A. baumannii* (CRAb) kórházi környezetben, tárgyak felszínéről történő kimutatása során (XXV) steril 7 x 7 cm-es, normál fiziológiás sóoldattal nedvesített kendőkkel történt a felszínekről a mintavétel ⁹³. A kendőket 10 mg/L imipenem és 10 mg/L vankomicin tartalmú BHI-ban egy éjszakán át inkubáltuk, majd vortexelés után McConkey lemezekre oltottuk ki és a laktóz negatív telepeket azonosítottuk. A broiler farmokon történt mintavétel során (XXIX) négy, Al Ain (Abu Dhabi emirátus) városától 15-70, egymástól 30-90

km távolságra lévő farmot látogattunk meg 2018 március-április hónapokban, a madarak 3 hetes korában. A látogatások alkalmával egy, 5000-7000 állatot tartalmazó madárházat mintáztunk: a házból tíz, 3 ürülmintából álló kompozit mintát vettünk cikk-cakk mintában haladva ⁹⁴.

3.3. AZ ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉG VIZSGÁLATA

A törzs beküldését indokló antibiotikum érzékenység mintát (pl. karbapenem rezisztencia) minden esetben ellenőriztük mikro-leveshígítós, kvantitatív módszerrel és általában ugyanezt a módszert alkalmaztuk a projektek során aktuálisan vizsgált antibiotikum panellel szemben mutatott érzékenység vizsgálatánál is. E módszertől egyes antibiotikumok, vagy akár a teljes antibiotikum panel esetén néhány esetben eltértünk korongdiffúziót (**I, VI, IX, XI, XXV, XV, XXIX**), gradiens diffúziót (**II, III, IV, VI, VIII, XIII, XVIII**), a BD Phoenix TM 100 (Becton Dickinson, Saudi Arabia) (**XXV**), vagy a VITEK-2 compact system (bioMérieux, Franciaország) (**XXIII**) automata rendszert alkalmazva. A fenti módszereket a CLSI metodikai útmutatásai alapján ⁹⁵ végeztük. Tigeciklin és foszfomicin esetén a leves-hígítás helyett az agar-dilúciós módszert alkalmaztuk, utóbbi szer esetén a táptalajt 25 mg/L glukóz-6-foszfáttal kiegészítve ⁹⁶. 2016 után a kolisztin érzékenységet kizárólag leves-hígítással határoztuk meg ⁹⁷. Az antibiotikum érzékenység eredményeket a CLSI rendszer aktuálisan érvényben lévő M100-as dokumentumaiban meghatározott klinikai határértékek szerint interpretáltuk. Ez alól egy projekt jelentett kivételt (**VI**), amikor a BSAC kritériumok kerültek alkalmazásra. Ha a CLSI-nak nem, de az EUCAST-nak voltak az adott faj és adott antibiotikum esetén klinikai határértékei (pl. tigeciklin), az utóbbi alkalmaztuk ⁹⁸, egy tanulmány kivételével (**IV**), ahol a tigeciklin esetén az FDA által javasolt érték (≤ 2 mg/L) ⁹⁹ szerint interpretáltuk az eredményeket. Abban az esetben, ha különböző évekből gyűjtött törzsek érzékenységét hasonlítottuk össze (**XXX**), visszamenőleg is a legkésőbb gyűjtött törzsek idejében érvényes határértékeket alkalmaztuk.

A törzsek MDR és XDR besorolásakor egyes közleményekben (**VI, XXIII**) a *Magiorakos* definíciót követtük ¹⁰⁰, más esetekben, praktikus okokból (pl. bizonytalanság tekintetben, hogy a *Magiorakos és mtsai* által javasolt antibiotikum paneleknek milyen mértékben kell teljesnek lennie ¹⁰¹, áttértünk arra, hogy XDR-nak tekintettük azokat a törzseket, melyek a helyben elérhető és terápiásan bevethető szerek közül csak egyetlen család tagjaival, vagy azok egyes képviselőivel szemben mutatnak érzékenységet (**XXVI, XXVIII, XXX**). A PDR

definíciójánál a vizsgáltak közül a figyelembe vett antibiotikumok sorát azokra korlátoztuk, amelyek a törzsek gyűjtésekor már klinikai alkalmazásban voltak. Így a PDR definícióból kimaradt a parenterális alkalmazásra az EAE-ban nem hozzáférhető foszfomicin és a kereskedelmi forgalomban még nem lévő aztreonam-avibaktám kombináció (**XXVIII, XXX**), illetve a fentiek mellett a törzsek egy részének gyűjtésekor még nem alkalmazott ceftazidim-avibaktám (**XXVI**). Egyes közleményekben (**XXVIII, XXX**) rezisztencia indexet (RI) számítottunk, ami azt jelezte, hogy az adott projektben vizsgált antibiotikumok közül hányval szemben mutatott nem-érzékenységet az adott törzs.

A táblázatokban az antibiotikum nevek rövidítésénél, függetlenül az eredeti közleményekben szereplőktől, egységesen az EUCAST által javasolt hárombetűs kódokat használtuk ⁸¹ (*l. iii. old.*).

A törzsek dezinficienssel (klórhexidin, benzalkónium és igrasan) szemben mutatott érzékenységet (**XVII, XIX**) agar dilúcióval vizsgáltuk ¹⁰².

3.4. ANTIBIOTIKUM REZISZTENCIA MECHANIZMUSOK FENOTÍPUSOS VIZSGÁLATA

Az ESBL termelés kimutatása az enzimek klavulánsav általi gátolhatósága alapján történt E teszttel (**I, IV, V**) vagy a „kulcsluk képzés” alapján, kettős korongdiffúzióval (**VII, VIII**). A karbapenemáz termelés detektálására a Hodge tesztet ^{95,103} (**XII, XIII**), a CIM (Carbapenem Inactivation Method) tesztet ¹⁰⁴, (**XIV**), a módosított CIM tesztet (mCIM) ¹⁰⁵ (**XXVII, XXX**), vagy a CarbaNP tesztet ¹⁰⁶ (**XV, XXIII**) alkalmaztuk.

3.5. KÜLSŐ MEMBRÁN FEHÉRJÉK VIZSGÁLATA

A *K. pneumoniae* törzsek Omp35 és Omp36 külső membrán porinjainak meglétét (**XIV**) a membrán preparátumok ¹⁰⁷ SDS-PAGE módszerrel történő elválasztását követően a referencia törzsek (CSUB10S (Omp36K) és CSUB10S/pSH16K (OmpK35 és OmpK36) hasonló preparátumaihoz hasonlítva vizsgáltuk. A kontroll törzseket *Prof. Jordi Vila* (University of Barcelona) bocsájtotta rendelkezésünkre.

3.6. ANTIBIOTIKUM REZISZTENCIA-, VIRULENCIA FAKTOR-, ÉS EGYÉB GÉNEK KIMUTATÁSA ÉS VIZSGÁLATA PCR-RAL

Az antibiotikum rezisztenciával, virulenciával és egyes sejt-szerkezeti elemekkel összefüggő gének jelenlétét polimeráz láncreakcióval (PCR) mutattuk ki. Egy adott gén (pl. allél meghatározás esetén), illetve környezetének bázis sorrendjét, függően a vizsgálni kívánt szakasz hosszától, vagy a kimutatására alkalmazott primerek, vagy belső primerek által létrehozott amplikonok két irányú direkt szekvenálásával, amennyiben erre nem volt lehetőség, a „primer walking” módszerrel ¹⁰⁸ határoztuk meg. A vizsgálatok során alkalmazott, az irodalomban található PCR módszerek felsorolását a **7. táblázat**, az ilyen célra általunk tervezett primerek listáját a **8. táblázat** tartalmazza.

7. táblázat Az irodalomban szereplő génkimutatásra és direkt szekvenálásra használt PCR eljárások

Gén(ek)	Referencia	Közlemény, melyben a módszer alkalmazásra került *
<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M} , <i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{PER}	109	I, IV, V, VI, VII, XX, XXIV
<i>bla</i> _{ADC}	119	VI, IX, XI
<i>bla</i> _{AmpC}	111	XII, XVI, XVII, XVIII, XIX, XXII
<i>bla</i> _{PER}	112	VI, XVI, XIX, XXV
<i>bla</i> _{OXA-48-szerű} , <i>bla</i> _{VIM} , <i>bla</i> _{IMP} , <i>bla</i> _{KPC}	113	IX, XII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII, XIX, XXII, XXIII, XXIV, XXVII, XXVIII, XXX
<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M} , <i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{OXA} , <i>bla</i> _{VIM}	114	XII, XVI, XVII, XIX, XXII
<i>bla</i> _{OXA}	114, 115	XV, XXX
<i>bla</i> _{OXA-181}	116	IX, XII, XXII
<i>bla</i> _{VIM} , <i>bla</i> _{IMP}	117	VI, IX, XI, XIV, XXV, XXX
<i>bla</i> _{OXA23-Ilike}	118	VI, IX, XI, XXV
<i>bla</i> _{OXA-24} , <i>bla</i> _{OXA-58-szerű}	119	VI, IX, XI, XXV
<i>bla</i> _{OXA-70}	110	VI, IX, XI, XXV
<i>ISAbal</i>	110	VI, IX, XI, XXV
<i>bla</i> _{OXA-51} és <i>ISAbal</i> upstream	120	VI, XXV
<i>ISEcp1</i>	121	I, IV
<i>ISABA-1</i>	122	XI
<i>armA</i> , <i>rmtA</i> , <i>rmtB</i> , <i>rmtC</i> , <i>npmA</i>	123	XII, XVII, XXII
<i>rmtE</i>	124	XVI, XVIII, XIX, XXVIII, XXX
<i>rmtF</i>	125	XVI, XVIII, XIX, XXVI, XXVIII, XXX
<i>armA</i> , <i>rmtA</i> , <i>rmtC</i> , <i>rmtD</i> , <i>npmA</i>	126	XI, XIV, XV, XVI, XVIII, XIX, XX, XXV, XXVI, XXVIII, XXX,
<i>strAB</i>	127	XI, XV, XXX
<i>aadA</i>	128	XI
<i>aac(3)-Ia</i> , <i>aac(3)-IIa</i> , <i>aac(69)-Ib</i> , <i>aac(6')-Ih</i> , <i>aph(3')-Ia</i> , <i>aph(3')-VI</i> , <i>ant(2')-Ia</i>	129	XI
<i>qnrA</i> , <i>qnrB</i> , <i>qnrS</i> , <i>qepA</i> , <i>aac6-1b-cr</i>	130	XII, XVII, XX, XXII

folyt.

folyt.

Gén(ek)	Referencia	Közlemény, melyben a módszer alkalmazásra került *
<i>mcr-1</i>	131	XVI, XVIII, XXIII
<i>mcr-2</i>	132	XVI, XVIII, XXIII
<i>mcr-3</i>	133	XXIII
<i>mcr-4</i>	134	XXIII
<i>mcr-5</i>	135	XXIX
<i>mcr-1, -2, -3, -4, -5</i>	136	XXVI, XXVIII, XXIX
EAEC plazmid	137	I
<i>emrE, qacDE, qacF, qacE, mdFA, ydgE, ydgF, sugE(c), sugE(p), cepA</i>	102	XVI, XVII, XIX
<i>cdt, hlyA, papC, papA, papEF, fimH, PAI, fyuA, bmaE, sfa/foc DE, iutA, traT, focG, cvaC, gafD, sfaS, cnf1, afa/dra, nfaE, rfc, ibeA, iha, upaH, upaB, Kps MTII, K5, K1, Kps MTIII, sat, ireA, iroN, usp</i>	138	XVI, XVII, XVIII
<i>csgA, crl, bcsA</i>	139	XVI, XVIII
<i>rmpA, wabG, wcaG, fimH, mrkD, iutA, fyuA, iroN, ireA, kfuBC, traT and clpK</i>	140	XIV, XIX
<i>K. pneumoniae</i> tok típusaira fajlagos gének	141	XIV, XIX
Az egyes <i>E. coli</i> LPS mag-típusokra specifikus szekvenciák a <i>waa</i> operonon belül	142	VIII
<i>rfb_{O25b}</i>	143	VIII
<i>E. coli</i> filogenetikai csoport-besorolás	144	VIII
Plazmid inkompatibilitásra specifikus régiók	78,145-147	XII, XX, XXII
<i>mgrB</i>	148	XIX

8. táblázat Gének kimutatására és szekvenálásra használt újonnan tervezett primerek

Projekt	Cél	Primer	Szekvencia (5'→3')
I	<i>bla_{TEM}</i>	TEM1do1Fo	ACTGCTGCCAACTTACTTCT
		TEM1do1Re	AAACTTGGT CTGACAGTTAC
	<i>bla_{CTX-M}</i>	403Fo	GTGTTGCTCTGTGGATAACT
		1040Re	ACGTTATCGCTGTACTGTAG
		1166Fo	GCGATCCGCGTGATACCACT
		1671Re	CGTGGCTGCCGATGACTATG
<i>bla_{ADC-szerű}</i>	ADC-F	GCGCCGTGAATTCTTAAGTG	
	ADC-R	CAGCTTATGCTGTGCTGGAT	
VI*	<i>bla_{VEB}</i>	VEB-F	ATTTCCCGATGCAAAGCGT
		VEB-R	CCAACAGC GATGAACAAACT
	<i>bla_{GES}</i>	GES-F	ATGCGCTTCATTCACGCAC
		GES-R	AACTCATCCTGAGCACGGAC
	<i>bla_{PER}</i>	PER-F	CCTGACGATCTGGAACCTTT
		PER-R	GCAACCTGCGCAATGATAGC
	<i>bla_{NDM}</i>	NDM-F	GGGCCGTATGAGTGATTG
		NDM-R	GCACACTTCCTATCTCGAC
	ISAba1	ISAba1-F	CATTGGCATTAAACTGAGGAGAAA
		ISAba1-R	TCACAACAATAAAAGCACTG
orf513	orf513-F	TCAAAGAGACGACTCTGTGATGGAT	
	orf513-R	TGACTCTTATCCAACGCTTTGGC	

folyt.

folyt.

Projekt	Cél	Primer	Szekvencia (5'→3')
VI*	<i>bla_{PER}</i> környezet	gst-R	GTTCAGTGGCTTCCCCTTTT
		gst-F	GAACGGCCTTCAGACTCAAA
		Abau-R	GGGTTTCCGAGAAGGTGATT
IX	<i>bla_{NDM}</i>	NDMI-Fo	TGCCGAGCGACTTGGCCTTG
		NDMI-Re	ACCGATGACCAGACCGCCCA
		Asndm1	GTCGCAAAGCCCAGCTTCGCA
		ASndm2	GCCTCGCATTTCGCGGGTTTTTA
		ASndm1-up1	CCAGTGACAATATCACCGTTGG
		AS-ISAb125-IRL	AGTAAACTTGAAGTGCAC
XII	<i>bla_{NDM}</i> környezet	AS-NDM1-LR1	CGACCGGGTGCATAATATTG
		AS-IS3000-8	GGGGTTCTAGGGATTTCCG
		ASndmGS-6	AAACCCGGCATGTGAGATAG
		AS_ISIRL_f	GCGAACAAGTCCCCTGATATG
		ASndmGS-6	AAACCCGGCATGTGAGATAG
		ASndmDN-3	AAGTCGCTCGGCAATCTC
		ASndmDN-4	ATCGCCTCGGCAACATTC
		AS_Classlint_L	TGTCGTTTTCAGAAGACGGCTGC
		AS_Classlint_R	CAAACGTGCCGTAGAACAAG
		AS_intl1_L	GGGAGGACTTTCCGCAACCG
		AS_VIM_R	CGTTACCACCGCTGCGTTCCG
		AS_VIM_GS_S1	GCCTTGATGTTACCCGAGAG
		AS-VIM4GS-f	GATGCGTGGAGACCGAAACC
XX	<i>bla_{VIM}</i> és környezet	AS-VIM4GS-r	TGCCTAACGCCTGAGTTGAG
		AS_VIM_L	AATCGCTCAGTCGCCGAGTA
		AS_ISPa21_R	CTATAAGACACGAGGTGTCTG
		AS_ISPa21_L	CACCACAACCGCAAGAAATA
		AS_ISPa21_seq	CGCGCATCGATTGTTTCGTAG
		AS_smr_f	GCTGGACTCTTTGAGATTGG
		AS_dhfri_R	ACCCTTTTGCCAGATTGGT
		AS_aacA7_R	GAGCAACCTCCGTGAATCCA
		AS_VIMdn_LS1	TTCGTTCAAGCCGAACCTGC
		AS_VIMdn_LS2	AATAGACATCGAGCCGGAAG
		AS_VIMdn_LS3	ACATAGCGTTGCCTTGGTAG
		AS_orf5_R	TTAGATTTTCGAGTTCTAGGCGTTCTG
		AS_smr_f	GCTGGACTCTTTGAGATTGG
		AS_ISPa21_R	CTATAAGACACGAGGTGTCTG
		AS_ISPa21_L	CACCACAACCGCAAGAAATA
		AS_ISPa21_seq	CGCGCATCGATTGTTTCGTAG
		AS_sul1_R1	TTGCCGATCGCGTGAAGTTC
		AS_sul1_R2	CACAACCTGGTCGATATCAC
		AS_orf5_L	ATGGACAGCGAGGAGC
		AS_qacED1_L	GCG AAGTAATCGCAACATCC
AS_VIMdn_LS4	GATCAGATGCACCGTGTTC		

* E primereket, szerzőtársunk, Andres Opazo tervezte

3.7. PLAZMIDOK KIMUTATÁSA ÉS VIZSGÁLATA, KONJUGÁCIÓ, TRANSZFORMÁCIÓ

A **plazmidok kimutatására** rutin szerűen az alkalikus lízis eljárást követő agaróz gél elektroforézist alkalmaztuk¹⁴⁹. Molekula tömegük hozzávetőleges meghatározásakor az E.

coli V517¹⁵⁰, 39R861¹⁵¹ plazmidjai, illetve a virulens *Shigella flexneri* YSH6000 törzs 220 kb inváziós plazmidja szolgáltak standardokként. Esetenként (VI, X, XXII) nagy plazmidokat vizsgálva megkíséreltük azokat linearizáltan, a teljes genom S1 nukleáz emésztését követő pulzáló mezéjú elektroforézissel kimutatni^{152,153}. Ezekben az esetekben a molekulatömeg meghatározásához Lambda Concatamer PFG Marker-t (New England Biolabs) használtunk molekulatömeg standardként.

A plazmidok átvitelét általában először táplevesben 37°C-on végzett **konjugációval** kíséreltük meg *E. coli* J53_{RAZ} (Azid^R, Rif^R)-t, esetenként (I) J53 Str^R törzset alkalmazva recipiensként, megfelelő szelekciós markerre szelektálva a transzkonjugánsokat. *A. baumannii* donor esetén (IX) a konjugációt azonos fajú recipiennel (BM4547) is megkíséreltük. Sikertelenség esetén a donor:recipiens arányon, az inkubációs hőmérsékleten illetve a millió (szilárd táptalajon közvetlenül, vagy arra helyezett nitrocellulóz szűrőn, melyre úgy a donort, mint a recipienst rászűrtük) változtatva kíséreltük meg a plazmid átvitelét. Ha ez nem volt sikeres, illetve több epizóma is megjelent a recipiensben, a plazmidokat Plasmid Maxi Prep kit (Qiagen, Germany) segítségével preparálva azokat hű-sokk **transzformáltuk** általában *E. coli* DH5α, esetenként GM2163 (XIV, XXIV) kompetens sejtjeibe. Egy esetben (I) a transzformáció **elektroporáció** módszerével történt Gene-Pulser Electroporator rendszert (Bio-Rad) használva.

Plazmidok **inkompatibilitási csoportokba** sorolását a megfelelő csoportokra specifikus primerekkel, csak a megcélzott plazmidot tartalmazó derivátum PCR vizsgálatával végeztük^{78,145-147} (XII, XX, XXII). Vad törzsek esetén a törzsek plazmidjainak IncX3 csoportba tartozását IncX3 specifikus próbát alkalmazva hibridizációval (*lásd később*) azonosítottuk (XIV, XXIV). Azokban az esetekben, amikor egy plazmid teljes szekvenciáját meghatároztuk (XVI, XVII, XVIII, XIX, XXIX), az inkompatibilitás meghatározása a Plasmid Finder programmal¹⁵⁴ történt.

Azonos molekula tömegű plazmidok gyors összehasonlítására a **plazmid restrikciós fragment hosszúság polimorfizmus (RFLP)** vizsgálatát használtuk. Az egy epizómát tartalmazó törzsekből Plasmid Maxi Prep kittel (Qiagen, Germany) tisztított plazmidokat legalább két (*EcoR* I, *Hind* III, XIV), de általában három enzimmel (*BamH* I, *EcoR* I, *Hind* III - XII, XXIX; *Hinc* II, *Hind* III, *EcoR* I – XX; illetve *Hinc* II, *Nsi* I, *Nde* I - XXIX) emésztettük. Az enzimeket a plazmid emészthetősége (azaz a szolgáltatott fragmentumok kellő száma) alapján választottuk.

Plazmidok teljes szekvenciájának meghatározására a csak a vizsgálni kívánt plazmidot tartalmazó transzkonjugánsból vagy transzformánsból Plasmid Maxi Prep kit (Qiagen,

Germany) segítségével tisztított plazmidokból került sor. Egy esetben (XVII) ez a római Istituto Superiore di Sanità-ban, Genome Sequencer FLX procedure (Roche Diagnostic, Monza, Milan) szerint Dr. Alessandra Carattoli által történt, míg ezen projekt többi plazmidja, illetve a későbbi az egyéb projektekben szereplő plazmidok esetén a szekvenálás Illumina MiSeq rendszerben a CCIB DNA Core Facility -ban (Massachusetts General Hospital, Cambridge, MA) történt kereskedelmi szolgáltatásként. A readok contigokká történő összeállítása általában része volt a szolgáltatásnak (XVI, XVII, XVIII, XIX), de egyes esetekben azt mi magunk végeztük (XXIX) a CLC Genomic Workbench v20.0 program (QIAGEN Aarhus, Dánia) segítségével. A contigok sorrendjének megállapítása, a *gap-closing*, azok terminális-közeli szekvenciáira tervezett primerekkel nyert amplikonok direkt szekvenálásával történt. A teljes plazmid szekvencia összeállítása a Clone Manager program különböző verzióival (Sci-Ed Software LLC) történt. A szekvenciák annotálásához és a GenBankba való feltöltésükhöz a Sequin programot (www.ncbi.nlm.nih.gov/Sequin) használtuk. A feltöltött teljes plazmid szekvenciák listája a FÜGGELÉK-ben található.

3.8. KLÓNOZÁS

A *bla_{NDM}* gént hordozó szakaszt *A. baumannii*-ből „*shutgun*” klónozással, a törzs genomjának részleges *Hind* III emésztését követően a keletkezett fragmentumokat pUC19 vektorba ligálva juttattuk kompetens *E. coli* DH5 α recipiensbe (IX). A XXII tanulmányban tisztított plazmidoknak a *bla_{NDM}* gént körülvéző régió klónozása céljából a plazmid *Hind* III emésztéssel nyert fragmentumait klónoztuk pUC19 vektorba és transzformáltuk azt *E. coli* DH5 α -ba. Az *mgrB::bla_{OXA-181}* inzerciót tartalmazó gén esetén PCR klónozást alkalmaztunk (XIX). A *K. pneumoniae* ABC143C és MS6671 törzsekben az inzerciót hordozó gént CGCCGC terminális szekvenciát („*overhang*”) tartalmazó külső primerek¹⁴⁸ segítségével amplifikáltuk és *Bam* HI enzimmal emésztett pUC19 vektorba ligáltuk (pCoxABC143C és pCoxMS6671), majd eretapenem rezisztenciára szelektálva *E. coli* DH5 α törzsbe transzformáltuk azt. A vad törzsekben az inzerció hatását komplementálandó az intakt *mgrB* gént a *K. pneumoniae* ABC193 törzsből a fentiek szerint amplifikálva a pDG106, *merR* génje révén higany rezisztenciát kódoló vektor¹⁵⁵ *Bam*HI hasítási helyére ligáltuk és transzformáltuk a vad típusú *K. pneumoniae* ABC143 és MS6671 törzsekbe higany rezisztenciára szelektálva.

3.9. DNS-DNS HIBRIDIZÁCIÓ (SOUTHERN BLOT)

A vizsgálandó plazmidokat agaróz gél elektroforézissel, az S1 nukleáz emésztéssel linearizált plazmidokat, illetve a genom makro-restrikciós analízis során a fragmenteket pulzáló mezejű gél elektroforézissel történt elválasztásuk után azokat kapilláris transzferrel vittük át Hybond-N+ (Amersham) membránokra. A próbákat digoxigenin jelölő kittel (Roche) jelöltük és a hibridizáció után alkalikus foszfáttal jelölt anti-DIG antitestekkel reagáltatva detektáltuk a próba kötődését.

3.10. HAGYOMÁNYOS („SANGER”) SZEKVENÁLÁS

A PCR amplikonok direkt, kétirányú szekvenálásához azokat a cél-szekvencia amplifikálását követően vagy közvetlenül az amplifikációs elegyből, vagy gél elektroforézist követően a csíkot agarózból kivágva SV Gel and PCR Clean-Up System kit (Promega, USA) segítségével tisztítottuk. Mindkét komplementer szálát, mindkét irányban, Big Dye Cycle Terminator V.3.1 (Applied Biosystems) kittel szekvenáltuk, a futtatást 3130X Genetic Analyzer apparátuson végezve (Applied Biosystems). A szekvenciákat a MEGA program v4.0¹⁵⁶ és az azt követő verzióival, illetve a CloneManager programmal (Sci-Ed software) analizáltuk. A szekvenciák annotálása és GenBankba történő feltöltésükre a Sequin programot (www.ncbi.nlm.nih.gov/Sequin) használtuk. Az *E. coli* 81009 törzs *waa* lókusának szekvenálása (VIII) kereskedelmi szolgáltatásként (Eurofins MWG Operon, Németország) történt.

A GenBankba feltöltött szekvenciák listáját a **FÜGGELÉK**-ben közöljük.

3.11. TELJES GENOM SZEKVENÁLÁS ÉS ANALÍZIS

A genomiális DNS kivonása Wizard® Genomic DNA Purification Kittel (Promega, USA) történt. A szekvenálás a readok szintjéig vagy kooperáció keretében a New York University Abu Dhabin Dr. Youssef Idaghdour által, illetve a Kölni Egyetemen Dr. Paul G Higgins által Illumina MiSeq rendszerben, 250 bp *paired-end* (XXVII), vagy kereskedelmi szolgáltatásként (Novogene Company Limited, Hong Kong) Illumina HiSeq150 bp *paired-end* módszerrel történt (XXVIII, XXIX). A readok összerakása contigokká, már saját laboratóriumunkban, a CLC

Genomic Workbench v20.0 (QIAGEN Aarhus, Denmark) segítségével történt. A contigokat a faj ellenőrzése céljából feltöltöttük a Pathogenwatch oldalra (<https://pathogen.watch/>), míg a rezisztencia gének, illetve a plazmidok és azok inkompatibilitási csoportjainak azonosítása a ResFinder és PlasmidFinder oldalakon történt (<http://www.genomicepidemiology.org/>). *K. pneumoniae* törzsek esetén a Pathogenwatch oldalon a Kleborate programmal azonosítottuk a törzsek virulencia faktorait és tok típusait kódoló génszakaszokat. A nyers genom szekvenálási adatok az European Nucleotide Archives (ENA) oldalára (<https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/home>) kerültek feltöltésre a SeqSphere program (Ridom) segítségével. Az ENA-ba feltöltött szekvenciák listáját az **FÜGGELÉKBEN** közöljük.

A CTX-M-27 termelő *E. coli* ST131-H30 törzs teljes genom szekvenálását és *de novo* összeállítását **(XXI)** együttműködő munkatársaink végezték a Vienna Biocenter Core Facilities GmbH-ban.

3.12. A TÖRZSEK TIPIZÁLÁSA

A **makro restrikciós analízis** során az *A. baumannii* törzsek genomját *Apa* I¹⁵⁷, a *Stenotrophomonas maltophilia* törzsekét¹⁵⁸, és a bélbaktériumokét¹⁵⁹ *Xba* I restrikciós enzimmel emésztettük. A keletkezett fragmentumokat pulzáló mezejú gélelektroforézissel (**PFGE**), CHEF Mapper (Biorad) apparátusban választottuk el egymástól az egyes csoportokra leírt paraméterek alkalmazásával. A mintázatokat GelCompar II programmal (Applied Maths, Belgium) analizáltuk. A törzsek összefüggésének mértékét az UPGMA fa létrehozásával ábrázoltuk a Dice hasonlósági koefficiens alapján, 1.5%-os pozicionális toleranciát alkalmazva. Általában $\geq 80\%$ hasonlóság esetén tekintettük a törzseket egymással potenciálisan összefüggőnek. Egyes vizsgálatoknál a PFGE minták $\geq 90\%$ hasonlósága alapján alcsoportokat képeztünk, és az alcsoportokból választottunk minden, az alcsoportban előforduló karbapenem rezisztencia mechanizmust reprezentáló törzseket MLST vagy WGS és cgMLST vizsgálat céljára (**XXVII, XXVIII, XXX**). A *S. maltophilia* törzsek esetén **(II)** e határértékektől eltértünk: a minták számának meghatározásakor a $\geq 90\%$ hasonlóságot vettük figyelembe, míg a járványtani összefüggést $\geq 95\%$ hasonlóság esetén tekintettük valószínűnek. A gélek közötti összehasonlíthatóságot javítandó a bélbaktériumok esetén a molekula tömeg marker (Lambda concatamer PF marker, NE Biolabs) mellett minden gélen legalább két ponton futtattuk a *Salmonella* Braenderup H9812 törzs *Xba* I enzimmel emésztett mintáit is.

Esetenként **(XX)** a törzsek összehasonlítását repetitív elem szekvencia alapú PCR módszerrel (**rep PCR**) végeztük a DiversiLab rendszerben a *Klebsiella* kit-et alkalmazva (bioMerieux).

A törzsek **multi-lókuszos szekvencia típusának (MLST)** meghatározását az irodalomban fellelhető standardok szerint végeztük úgy *A. baumannii*¹⁶⁰, *K. pneumoniae*¹⁶¹, mint *E. coli*¹⁶² esetén.

A törzsek **WGS-alapú MLST-jének és core genom MLST-jének (cgMLST)** meghatározása, illetve a minimális feszítő fa megrajzolása a SeqSphere+ programmal (Ridom) történt. *E. coli* esetén a törzseket egy clusterba tartozónak tekintettük ≥ 10 nem azonos gén esetén, míg *K. pneumoniae* esetén a határérték ≥ 15 gén volt.

Az ***E. coli* törzsek filogenetikai típusokba sorolásakor** Clermont és mtsai módszerét követtük¹⁴⁴.

Az **enteroaggregatív *E. coli* törzsek szerotipizálását** Dr. Herpay Mária és Dr. Mag Tünde végezték a Johan Béla Országos Epidemiológiai Intézetben (I).

3.13. STATISZTIKAI ANALÍZIS

Kategorikus változók két független csoport közötti arányának összehasonlítására, a csoportok mintaszámától függően a *Pearson Chi* négyzet, illetve *Fisher's exact* tesztet alkalmaztuk. Egyes esetekben **(XI)** a klónokon belüli hasonlóság torzító hatását elkerülendő az ezekben szereplő törzsek adatait újra súlyoztuk a klón méretével fordítottan arányosan. Két csoport közötti folyamatos változók összehasonlítására *Student*-féle kétmintás *t* tesztet, nem normális eloszlás esetén a *Mann-Whitney U* tesztet használtuk. A betegek különböző paramétereinek az izolált törzsek fajával, illetve szekvencia típusával mutatott összefüggéseit egyváltozós és többváltozós logisztikai regressziós modellel analizáltuk **(XXVIII)**. Az elemzések általában a GraphPad Prism 6.07 programmal (GraphPad Inc), esetenként az SPSS program 19-es **(XI)**, illetve 28-as verziójával (IBM) **(XXVIII)** történtek.

3.14. ETIKAI ENGEDÉLYEK

Minden vizsgálatunk olyan törzseken történt, melyek vagy már létező törzsgyűjteményekből származtak vagy a minták a projektjeinktől független klinikai, illetve járványtani indokkal kerültek levételre. A vizsgálatok során csak a beküldő laboratórium által kódolt, számunkra „de-humanizált” törzseket kaptunk, a rendelkezésünkre álló adatok alapján a betegek nem voltak azonosíthatóak, így külön etikai engedélyre általában nem volt szükség. Helyi igény esetén a beküldő laboratóriumok szerezték be saját hatóságaiktól a szükséges etikai engedélyeket (**XIII** - Research Ethics Committee of the Al Qassimi Hospital (REC-02012-03); **XX** - Medical Ethics Committee of the Ministry of Health, Kuwait (288/MTT); **XXIII** - Dubai Scientific Research Ethics Committee of Dubai Health Authority (DSREC-11); **XXVIII** - Dubai Scientific Research Committee (DSREC-06/2018_08), Ministry of Health and Prevention Research Ethics Committee (MOHP/REC-27/2018). A fenti kondíciók miatt az etikai engedély alól a UAE University Human Research Ethics Committee felmentést adott (ERH_20185790 FAZ/fa/1807E).

4. EREDMÉNYEK

4.1. MULTIREZISZTENS ÉS ESBL TERMELŐ BÉLBAKTÉRIUMOK VIZSGÁLATA

4.1.1. Előzmények

A 80-as évektől az ESBL termelő bélbaktériumok az egyik legjelentősebb terápiás kihívást jelentik ¹⁶³. A 90-es évektől az ESBL gének terjedése már nem csak a kórházi, elsősorban extraintesztinális kórképek esetén jelentettek problémát, de egyre inkább megjelentek a különböző enterális kórokozók között is. A hasmenést okozó *E. coli* törzsek mindig is gondot jelentettek a genus/faj-orientált diagnosztika számára. Közülük is az egyik legtöbb problémát okozó csoport az enteroaggregatív *E. coli* (EAEC) nem pontosan definiált virulencia faktorai, igazolt kórokozó képessége mellett gyakori tünetmentes előfordulása, egyes területeken magas prevalenciája miatt ^{164,165}.

A typhoid és paratyphoid salmonella, illetve nem-typhoid salmonella fertőzések esetén fellépő extraintesztinális komplikációk során hagyományosan alkalmazott antibiotikumokkal (pl. ampicillin, kloramfenikol, trimetoprim-szulfametoxazol) szembeni rezisztencia az ezredforduló óta jelentősen megnövekedett a fejlődő országokban ¹⁶⁶. Hasonló tendencia volt megfigyelhető a shigella infekciók esetén is, ahol a klasszikus, első választandó szer az ampicillin és trimetoprim-szulfametoxazol mellett a nalidixsav volt ¹⁶⁷. Ennek megfelelően, mindkét enterális fertőzés esetén jelentősen felértékelődött a ciprofloxacinnal és a 3. generációs cefalosporinokkal jelentősége ¹⁶⁸⁻¹⁷¹. Fokozott használatuk a világ számos helyén elvezetett a velük szemben tapasztalt rezisztencia növekedéséhez, többek között olyan régiókban, ahonnan számos vendégmunkás érkezik az Öböl-menti országokba, illetve ahonnan a régióba irányuló élelmiszer import jelentős része származik ¹⁷¹⁻¹⁷⁴. Ugyanakkor az Arab-félszigetről ilyen irányú részletes adatok nem álltak rendelkezésre. Célunk ennek pótlása volt, két, a régió északi és déli oldalán elhelyezkedő ország, Kuvait és az EAE adatainak összehasonlításával.

Az ESBL termelő törzsek által okozott kórházi járványok, a kezelés problémái mellett, az infekció kontroll egyik legjelentősebb kihívását is jelentik ¹⁶³. Ezek feldolgozása, követése és

kontrollja az izolátumok közötti járványtani kapcsolatokat valószínűsítő vagy kizáró tipizáló módszerek alkalmazása nélkül gyakorlatilag lehetetlen. Ilyen kapacitások az EAE-ben az állami járványügyi szolgálat számára nem álltak rendelkezésre, így laboratóriumunk örömmel tett eleget egy felkérésnek, hogy vegyünk részt egy Abu Dhabi kórház neonatológiai osztályán zajló járvány kivizsgálásában, megfékezésében.

Az *E. coli* LPS mag (core) régiójának 5 típusa: R1, R2, R3, R4 és K-12 ismert¹⁷⁵. Az ezredforduló tájkán, illetve azt megelőzően végzett vizsgálatokból látszott, hogy ezek a klinikai izolátumok között nem egyforma arányban fordulnak elő: az extraintesztinális fertőzést okozó törzsek döntő többsége az R1 típust hordozta, míg a K-12 a legritkább, vagy második legritkább volt^{142,176-178}. Ezek a vizsgálatok azonban még abban az időben készültek mielőtt elterjedtek a globális, általában fokozottan virulens, és/vagy fokozottan rezisztens ún. „*high risk*” klónokba sorolható, gyakran ESBL termelő törzsek. Vizsgálataink során arra voltunk kíváncsiak, hogy milyen core típusa van ezek egyik legjelentősebb képviselőjének, az *E. coli* ST131-nek.

4.1.2. Eredmények és megbeszélés

4.1.2.1. ESBL termelés első részletes leírása enteroaggregatív *E. coli* törzsekben (I)

Egy, a jelen disszertációtól független, nem publikált vizsgálatunk során 2003 áprilisa és 2004 májusa között Al Ain városában 116 négy év alatti hasmenéses gyermek, továbbá 100 hasmenéses és 100 egészséges felnőtt székletét vizsgáltuk EAEC jelenlétére a virulencia plazmidjukra specifikus PCR segítségével¹³⁷. A 44 azonosított EAEC törzs közül 5 törzs (4 hasmenéses gyermekből, egy beteg felnőttből) legalább egy 3. generációs cefalosporinnal szemben rezisztens volt és E-teszttel vizsgálva mindegyikük ESBL termelőnek bizonyult. Az ötből 4 esetben volt ismert, hogy a megelőző 3 hónapban nem kaptak antibiotikumot és nem hagyták el az EAE területét. A törzsek között PFGE módszerrel rokonságot nem lehetett kimutatni, antibiotikum érzékenységük változatos volt. Szerotípusukat és PCR-ral kimutatott virulencia génjeiket a **9. táblázat** mutatja.

9. táblázat ESBL termelő enteroaggregatív *E. coli* törzsek

Törzs	Szerotípus*	Genotípus	Nem érzékeny
742	O90:HNT	<i>eagg, aagA, fyuA, irp2</i>	AMP, AMC, TET, TRS, CHL, CIP, NAL, CTA
705	O153:HNT	<i>eagg, aagA, astA,</i>	AMP, AMC, TET, TRS, CHL, CIP, NAL, CTA
364	O25:H4	<i>eagg, fyuA, irp2</i>	AMP, AMC, GEN, TRS, CHL, CIP, NAL, CTA
540	ONT:H21	<i>eagg, aaf, fyuA, irp2</i>	AMP, TET, TRS, CHL, NAL, CTA
971	O153:HNT	<i>eagg, fyuA, irp2</i>	AMP, AMC, TET, TRS, CHL, CTA

* A szerotípus meghatározást Dr. Herpay Mária és Dr. Mag Tünde végezték az Országos Epidemiológiai Központban (ma Nemzeti Népegészségügyi Központ)

Mind az öt izolátum hordozott *bla*_{TEM} és *bla*_{CTX-M} géneket, utóbbi szekvenciája a *bla*_{CTX-M-15} allélnak felelt meg. Az *bla*_{CTX-M-15} gén előtt elhelyezkedő 201 bp hosszú régió azonos volt a legelső ilyen allél esetén publikálttal¹⁷⁹, azaz megtalálható volt az *ISEcp1* 3' vége egy jobb invertált ismétlődő szekvenciával (IRR) és egy tentatív -10 és -35 TATA box-szal. A *bla*_{TEM} és *bla*_{CTX-M} géneket konjugációval egy törzsből (971), több plazmid együttes átvitele mellett, sikerült transzferálni *E. coli* J53_{Str} recipiensbe. E multi-plazmid recipiensből, illetve egy másik törzsből (540) elektroporációval sikerült egy *bla*_{TEM} és *bla*_{CTX-M-15} géneket kódoló 95 kb-os plazmidot átvinnünk *E. coli* DH5α-ba, a nem béta-laktám antibiotikumokkal szemben mutatott rezisztencia ko-transzfere nélkül.

Harmadik generációs cefalosporin rezisztenciát EAEC törzsek között, a mechanizmus feltárása nélkül, ezt megelőzően, csak Indiában írtak le¹⁸⁰, illetve a csoporton belül igazolt ESBL termelésről ezt megelőzően csak egy lengyel nyelvű közlemény számolt be a genetikai háttér ismertetése nélkül¹⁸¹. Ezek alapján, legjobb tudomásunk szerint, ez az első, a genetikai háttérrel is feltáró leírása az ESBL termelésnek az enteroaggregatív *E. coli* patotípusban, és egyben az első beszámoló a *bla*_{CTX-M-15} allél előfordulásáról az Arab-félszigeten⁶¹. Jelenleg az ESBL termelés már meglehetősen elterjedt a hasmenést okozó *E. coli*, különösen az EAEC, és főleg a Közel-Keletről importált törzsek között^{165,182}. Ennek jelentősége, hogy jóllehet a harmadik generációs cefalosporinok csak korlátozottan jönnek szóba a nem invazív enterális fertőzések kezelése során, e törzsek szerepet játszhatnak a rezisztencia gének terjesztésében. Megjegyzésre érdemesnek tartjuk, hogy a 2011-es, Európa számos országát érintő hemorrágiás kolitisz/hemolitikus urémiás járványért felelős *E. coli* O104:H4 EHEC/EAEC hibrid törzs szintén *bla*_{CTX-M-15} ESBL termelő volt^{183,184}.

4.1.2.2. *Multirezisztens és ESBL termelő salmonella és shigella törzsek vizsgálata (III – V)*

2003 és 2006 között Kuvaitban izolált 287 (III), illetve az ESBL projektben (IV) 284, és az EAE-ban hasmenéses székletből kitenyészett 123 (III és IV) salmonella törzset vizsgáltunk. A vizsgált shigella törzseket Kuvaitban 2003 áprilisa és 2005 májusa (n=42), az Emirátusokban 2003 januárja és 2004 decembere között (n=100) izolálták egyedi betegekből (V). Miután ekkorra már több adat azt jelezte, hogy a CLSI akkor érvényben lévő ciprofloxacín klinikai határértékének (Érzékeny MIC \leq 1 mg/L) (CLSI, 2005) alkalmazása több invazív salmonella fertőzés esetén vezetett terápiás sikertelenséghez¹⁸⁵, a fenti határérték mellett a „csökkent érzékenységet” 0,125 – 0,5 mg/L értékben definiáltuk¹⁸⁶. MDR-nek akkor tekintettünk egy törzset, ha >2 szerrel szemben mutatott rezisztenciát. Vizsgáltuk a törzsek között előforduló ESBL termelés gyakoriságát és annak genetikai hátterét is. Összességében a Kuvaitból származó salmonella törzsek 9,8%-a, míg ez emirátusi izolátumok 4.1%-a bizonyult MDR-nek. Kuvaitban az invazív típusok (*S. Typhi* és *Paratyphi*) között az arány 30% volt, míg az EAE-ben egyetlen *S. Typhi* törzset találtunk, az viszont MDR volt. Az MDR mintázatokat a **10. táblázat** mutatja.

10. táblázat MDR mintázatok és azok gyakorisága az izolált salmonella törzsek között

<i>Salmonella</i>	Törzsek száma (Kuvait/EAE)	MDR mintázat	Arány az MDR törzsek között (%)	
			Kuvait	EAE
B csoport	6/0	AMP, CTA, CUR, TRS	33,3	-
		AMP, CHL, TRS	50,0	-
		AMP, CHL, CUR	16,7	-
C csoport	7/2	AMP, CHL, GEN, TRS	0	50,0
		AMP, CHL, TRS	71,4	0
		AMP, GEN, TRS	28,6	0
		CUR, CHL, GEN	0	50,0
D csoport	3/2	AMP, CTA, CUR, CIP, TRS	33,3	0
		AMI, AMP, CTA, CUR	0	100,0
		AMP, CUR, CHL	33,3	0
		AMP, CHL, TRS	33,3	0
Egyéb	2/0	AMP, CTA, CUR, CHL	50,0	-
		AMP, CIP, TRS	50,0	-
<i>S. Typhi</i>	8/1	AMP, CHL, TRS	100,0	100,0
<i>S. Paratyphi</i> A vagy B	2/0	AMP, CHL, TRS	100,0	-

Jóllehet a ciprofloxacínra nem érzékeny törzsek aránya az érvényben lévő határérték alapján nem volt magas, jelentős volt azon törzsek gyakorisága, melyek a fenti „csökkent

érzékenységű” MIC értéket mutattak, és ez az arány az invazív törzsek esetén >50% volt. A nem-érzékenység és csökkent érzékenység tekintetében itt is sokkal súlyosabb volt a helyzet Kuvaitban, mint az EAE-ban (**11. táblázat**).

11. táblázat A salmonella törzsek ciprofloxacín rezisztenciája és csökkent érzékenysége

<i>Salmonella</i>	Törzsek száma (Kuvait/EAE)	Kuvait		EAE	
		Nem érzékeny * (%)	Csökkent érzékenység ** (%)	Nem érzékeny * (%)	Csökkent érzékenység ** (%)
B csoport	79/24	2,5	16,5	0	0
C csoport	70/30	0	17,1	3,3	20,0
D csoport	58/39	1,7	13,8	0	5,1
Egyéb	34/29	2,9	2,9	0	3,4
Összes nem invazív	247/122	1,6	14,2	0,8	7,4
S. Typhi	25/1	0	44,0	0	0
S. Paratyphi	15/0	0	66,7	x	x
Összes invazív	40/1	0	52,5	0	0

* MIC > 1mg/L¹⁸⁷ ** MIC ≥0,125 – 0,5 mg/L¹⁸⁶ x - ilyen kórokozó nem került izolálásra

A 407 salmonella törzsből azokat (n=116) teszteltük ESBL termelésre, melyek bármely 3. generációs cefalosporinnal szembeni MIC értéke ≥1 mg/L volt. Ezek közül 69 esetében (az összes törzs 17,0%) sikerült az ESBL termelést igazolni (17,6%-ban az összes Kuvaitban izolált, míg 15,6% -ban az Emírátságokban izolált törzseknél), míg az érték csak az invazív típusokat tekintve 10,5% volt. A törzsek 25%-ában detektáltunk, az allél meghatározása nélkül, *bla*_{TEM} gént, és 14 törzsben *bla*_{CTX-M} gént, melyek szekvenálás során mind *bla*_{CTX-M-15} -nek bizonyultak. A 14 *bla*_{CTX-M-15} hordozó törzs esetén tízből az *ISEcp1* szekvencia jelenlétét is ki tudtuk mutatni. Makrorestrikciós analízissel a *bla*_{CTX-M-15} pozitív törzsek közül öt S. Typhimurium, illetve B csoportú izolátum mutatott rokonságot (PFGE hasonlóság >80% - az adatok nincsenek ábrázolva). A betegek változatos nemzetiségűek voltak, egyikük sem számolt be a betegséget megelőző 6 hónapban utazásról. E törzseket a **12. táblázatban** mutatjuk be.

A shigella törzsek megoszlása a Kuvaitban 76.2% *S. flexneri* és 23.8% *S. sonnei* volt, míg az Emírátságokban a fenti két faj (58% és 36%) mellett 2-2-2% -ban fordultak elő *S. dysenteriae*, *S. boydii* és nem azonosított *Shigella spp* törzsek. Kuvaitban a törzsek 50, míg az Emírátságokban 39%-a volt MDR. Az izolátumok antibiotikum érzékenységét a **13. (l. 34. old.)**, míg leggyakoribb MDR mintázataikat a **14. táblázat** mutatja. Jóllehet az alkalmazott határértékek (MIC ≤ 8 mg/L,¹⁸⁷) szerint egyetlen törzs sem volt 3. generációs

cefalosporinokkal szemben rezisztens, azokat, melyek ≥ 1 mg/L értéket mutattak, fenotípusos ESBL tesztnak vetettük alá. Közülük négy törzs (1, 1,5, 2 és 2 mg/L cefotaxim MIC értékekkel) volt pozitív, azaz a klavulánsav növelte a cefotaximmal és ceftazidimmel szemben mutatott érzékenységet. PCR-rel egyikük esetén sem sikerült TEM, SHV vagy CTX-M típusú ESBL gént kimutatni.

12. táblázat A CTX-M-15 termelő salmonella törzsek

Törzs	Csoport	Ország	Dátum	ESBL	ISEcp1	Nemzetiség
K16*	S. Typhimurium	Kuvait	2003-06-17	CTX-M-15, TEM	+	NK** Arab
K147	S. Typhimurium	Kuvait	2004-05-11	CTX-M-15, TEM	+	NK Arab
K152	S. Typhimurium	Kuvait	2004-05-18	CTX-M-15, TEM	+	NK Arab
K180	S. Enteritidis	Kuvait	2004-06-28	CTX-M-15, TEM	-	NK Arab
K181	S. Typhi	Kuvait	2004-06-28	CTX-M-15, TEM	-	Indiai
K205	<i>Salmonella sp.</i>	Kuvait	2004-08-02	CTX-M-15	+	NK Arab
K235	B csoport	Kuvait	2004-10-09	CTX-M-15	+	Pakisztáni
K236	B csoport	Kuvait	2004-10-11	CTX-M-15	+	NK Arab
K237	B csoport	Kuvait	2004-10-12	CTX-M-15, TEM	+	NK Arab
K238	S. Typhi	Kuvait	2004-10-12	CTX-M-15, TEM	-	Indiai
K247	C2 csoport	Kuvait	2004-11-02	CTX-M-15, TEM	+	NK Arab
K270	S. Typhimurium	Kuvait	2005-05-09	CTX-M-15	+	NK Arab
K286	B csoport	Kuvait	2005-06-13	CTX-M-15	-	NK Arab
U38	C csoport	EAE	2003-11-24	CTX-M-15, TEM	+	Indiai

* A vastag szedés az egymással PFGE hasonlóságot (>80%) mutató törzseket jelzi.

** NK – nem kuvaiti

A salmonella és shigella törzsekre vonatkozó adataink azt mutatják, hogy gyakorlatilag az összes vizsgált paramétert tekintve a salmonella törzsek antibiotikum rezisztenciája magasabb fokú Kuvaitban, mint az EAE-ban, mely jelenségre kielégítő magyarázat nem áll rendelkezésünkre. A kuvaiti adatokat korábbi vizsgálatokéival összehasonlítva ¹⁸⁸ jelentős rezisztencia növekedés volt megfigyelhető, ami különösen a fluorokinolonok és 3. generációs cefalosporinok esetén ad okot aggodalomra. Bár a ciprofloxacinnal szembeni rezisztencia az akkor érvényben lévő útmutató szerint ¹⁸⁷ nemzetközi összehasonlításban nem volt kiugró ¹⁷⁴, az abban az időben még érzékenynek tekintett tartományba (MIC 0,125 – 0,5 mg/L) tartozó törzsek magas aránya aggasztó, hiszen itt a szer alkalmazása könnyen vezethet a kezelés sikertelenséghez ¹⁸⁵. Megjegyezzük, hogy azóta úgy a CLSI, mint az EUCAST az érzékenység klinikai határértéket salmonellák esetén jelentősen csökkentette.

13.táblázat A shigella törzsek antibiotikum érzékenysége

Antibiotikum	Rezisztencia (%)	
	Kuvait	EAE
AMP	50,0	50,0
AMC	0	22,0
PIT	0	0
CUR	0	0
CTR	0	0
CTA	0	0
MER	0	0
IMI	0	0
GEN	26,2	6,0
AMI	0,0	0
CHL	50,0	36,0
CIP	0	0
TET	76,2	98,0
TIG	0	0
TRS	73,8	92,0

14. táblázat A shigella törzsek MDR mintázatai

MDR minta	Minta gyakoriság (%)	
	Kuvait	EAE
AMP, CHL, TET	0	3,0
AMP, TRS, TET	0	8,0
AMP, CHL, TRS, TET	26,2	13,0
AMP, TRS, AMC, TET	0	3,0
AMP, CHL, AMC, TET	0	2,0
AMP, CHL, TRS, AMC, TET	0	8,0
AMP, CHL, GEN, TRS, TET	23,8	0
AMP, CHL, GEN, TRS, AMC, TET	0	2,0

ESBL termelő salmonella törzsek aránya, elsősorban Kuvaitban, nemzetközi összehasonlításban is kiemelkedően magas volt. Bár korábban salmonellák esetén különböző CTX-M allélokot világszerte, így Magyarországon is detektáltak^{189,190}, úgy tudjuk, vizsgálataink idejéig CTX-M-15 allélt a fajban csak néhány, sporadikus esetben írták le^{191,192}. Ezzel szemben az általunk leírt 14-ből 5 eset a makro-restrikciós minták alapján, az izolátumok jelentős időbeli eltérése ellenére, feltehetően járványtani kapcsolatban állt egymással. Sajnos a rendelkezésünkre álló korlátozott adatok nem tették lehetővé egy esetleges közös forrás felderítését. Mindenesetre figyelemre méltó, hogy bár minden beteg külföldi vendégmunkás volt, a betegséget megelőző 6 hónapban nem hagyták el Kuvaitot, illetve az egy beteg az Emirátusokat. Összefoglalva, a csökkent ciprofloxacín érzékenységet mutató, illetve ESBL termelő törzsek magas aránya hozzájárulhat ahhoz, hogy nemzetközi összehasonlításban a Közel-Keletről hazatérő utazók kiemelkedően magas arányban

kolonizáltak ilyen salmonellákkal, illetve bélbaktériumokkal ¹⁹³. A két országban, úgy a gasztroenteritisz, mint az invazív a salmonella fertőzések, közegészségügyi jelentőségükön túl a törzsek kezelési lehetőségeket is befolyásoló, egyre fokozódó antibiotikum rezisztenciája miatt ma már terápiás problémát is jelentenek, mely csak a folyamatos, a törzsek molekuláris tipizálását is magában foglaló járványügyi ellenőrzéssel kontrollálható.

Shigella törzsek esetén a hagyományos első vonalbeli szerekkel, elsősorban ampicillinnel és trimetoprim-szulfametoxazollal szemben mutatott magas fokú rezisztenciát találtunk: mindkét országban a leggyakoribb MDR minták tartalmazták az e két szerrel szembeni rezisztenciát (**14. táblázat**). Ugyanakkor a ciprofloxacín, a 3. generációs cefalosporinok és az akkori közelmúltban mindkét országban bevezetésre került tigeciklin esetén teljes *in vitro* hatékonyságot észleltünk. Egy esetleges A osztályú ESBL jelenlétére utaló, az enzim gátolhatóságán alapuló tesztekkel néhány olyan törzs esetén kaptunk pozitív reakciót, melyek az akkori határértékek alapján még 3. generációs cefalosporinokkal szemben egyértelműen érzékenynek minősültek és ezekben a törzsekben nem tudtuk kimutatni a leggyakoribb ESBL gének jelenlétét sem. Bár további adatok hiányában sem kizárni, sem megerősíteni nem tudjuk a három fő ESBL típustól eltérő enzim jelenlétét, megjegyzendő, hogy a törzsek némelyikénél mért 2 mg/L-es cefotaxim MIC érték a jelenlegi CLSI rendszerben már „intermedier”, míg EUCAST -nál már rezisztens tartományba esik.

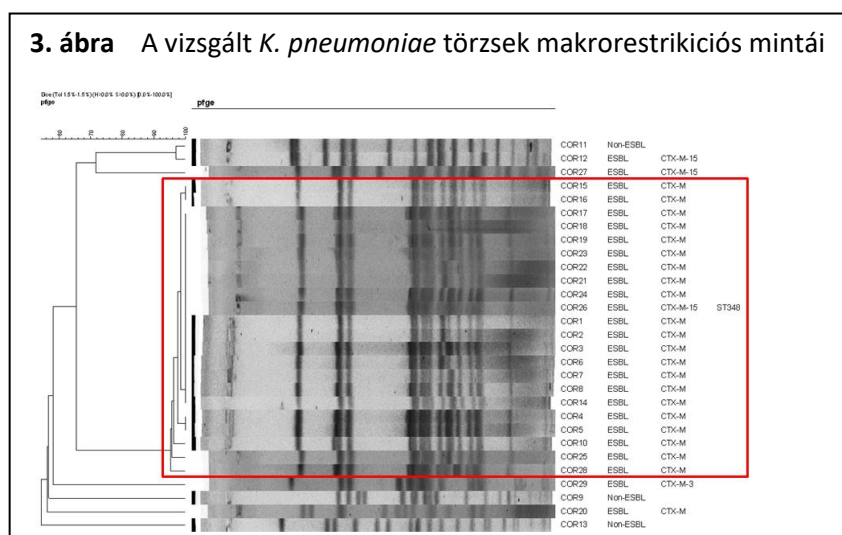
4.1.2.3. ESBL termelő *K. pneumoniae* járvány egy újszülött intenzív osztályon (VII)

Az Abu Dhabi Corniche Hospital egy 235 ágyas szülészeti-nőgyógyászati-neonológiai intézmény, 42 ágyas Újszülött Intenzív osztállyal, melynek szakmai irányítását a Johns Hopkins International látta el. 2011 tavaszán 2 újszülött halt meg az Újszülött Intenzív osztályon szepszis tünetei között, melyet korábbi állapotuk nem magyarázott. Mindkettőjük véréből ESBL termelő *K. pneumoniae*-t izoláltak. A kórház vezetősége kiterjedt kórház higiénés és mikrobiológiai vizsgálatokat rendelt el, melynek koordinálását a baltimoori Johns Hopkins University-ről érkezett szakemberek végezték. Minket azzal a kéréssel kerestek meg, hogy az izolátumok molekuláris vizsgálatát és összehasonlítását elvégezzük.

Az összesen 13 hetes periódusban 26 betegből izoláltak ESBL termelő *K. pneumoniae* törzset. A korábbi mikrobiológiai leleteket végig nézve az első izolátumot megelőző négy hónapban még 5 további esetet sikerült azonosítani a hasonló rezisztencia minta (3. és 4. generációs

cefalosporinokra és gentamicinre rezisztens) alapján. Azt megelőzően, a 2010-es évben ilyen izolátum nem fordult elő. Az összesen 31 izolátum közül 10 származott klinikai fertőzésből (1 meningitis, 7 véráram fertőzés, 1 VAP és 1 intraabdominális tályog), amik közül 6 újszülött elhunyt, öt esetben igazolhatóan a fertőzés következtében. 26 ESBL termelő törzset és további három, azonos időperiódusban izolált nem ESBL termelő törzset vizsgáltunk. A törzsek PFGE mintáját a **3. ábra** mutatja.

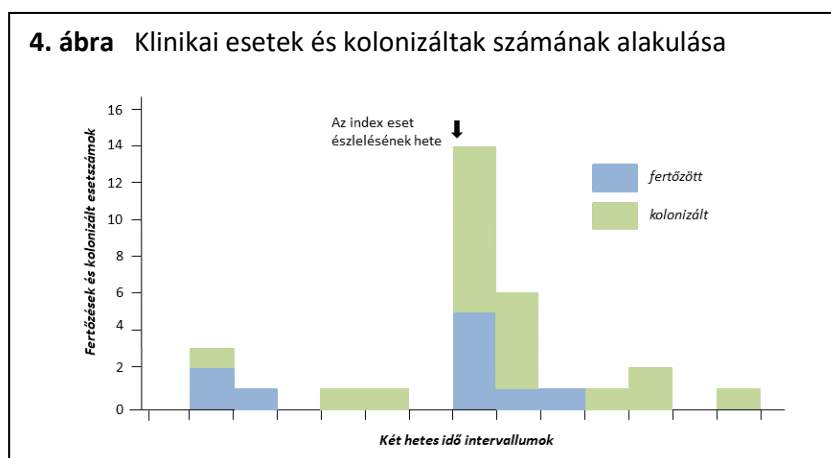
Huszonkét törzs egyértelműen egy csoportot alkotott, míg négy ESBL termelő, és három ESBL-t nem-termelő törzs a csoporton kívül helyezkedett el. A kép alapján igazolni tudtuk, hogy a 22 izolátum között járványtani kapcsolat valószínűsíthető. A csoportban egy törzs esetén igazoltuk, hogy a termelt ESBL CTX-M-15 típusú volt, csakúgy, mint a csoporton kívüli két törzs esetén. Egy további, a csoporttól független izolátum CTX-M-3-at, egy pedig allél szintig nem azonosított CTX-M enzimet termelt.



A piros keret az egymással jelentős (>90%) hasonlóságot mutató törzseket jelöli

A csoport tagjaira jellemző rezisztencia minta az AMC, CTZ, CTR, CTA, CPO, CIP, GEN volt. Egy törzs ezen felül rezisztens volt ertapenemre, de sem fenotípusos teszttel, sem az öt gyakori karbapenemáz gént megcélzó PCR teszttel karbapenemáz jelenlétét igazolni nem sikerült. A cluster tagjai az ST348 típusba tartoztak (az eredeti publikációban (VII) a szekvencia típus nem szerepelt).

Jóllehet a fertőzés forrását nem sikerült felderíteni, a kiterjedt infekció kontroll intézkedéseknek köszönhetően az első eset felismerését követő 13. hét után ESBL termelő *K. pneumoniae* nem került izolálásra (**4. ábra**)



Az ezredforduló utáni első évtized végére egyre nyilvánvalóbbá vált, hogy a MDR bélbaktériumok fokozódó szerepet játszanak kórházi fertőzések okozóiként^{194,195}. Az újszülött intenzív osztályok e tekintetben kitüntetett helyzetben vannak, tekintve az érintett populáció rendkívül érzékeny voltát¹⁹⁶. Az általunk vizsgált járvány rendkívül agresszív volt, a csak kolonizált:beteg arány 21:10 volt. Vizsgálatainkkal igazolni tudtuk, hogy az esetek döntő többsége (22 izolátum, minden beteg és 12 kolonizált) egy CTX-M-15-öt termelő MDR *K. pneumoniae* törzs által okozott fertőzésnek volt tulajdonítható. Adataink tovább erősítik, hogy a régióban, a világ számos más pontjához hasonlóan, a CTX-M-15 az egyik, ha nem a leggyakrabban előforduló ESBL típus^{61,197}.

Megjegyzendő, hogy bár a közleménybe (VII) a szekvencia típus (ST348) nem került publikálásra, ezt követően számos járványban, ideértve újszülött osztályokon zajló járványokat, is írtak le ESBL vagy/és karbapenemáz termelő ST348 törzseket^{198,199}. Ismereteink szerint ez volt az első eset az Emirátusokban, hogy egy bakteriális járvány követésére molekuláris tipizáló eljárást használtak.

4.1.2.4. Az ESBL termelő *E. coli* ST131 globális klón LPS mag (core) régiójának vizsgálata (VIII, XXI)

2008 májusa és 2009 áprilisa között az Al Ain-i Tawam kórházban izolált 121 ESBL termelő és 109 ESBL-t nem termelő vizelet izolátumot vizsgáltunk a különböző core típusokra fajlagos

PCR módszerrel¹⁴². Eredményeink szerint az ESBL-t nem termelő törzsek között a core-típus megoszlás gyakorlatilag megegyezett a korábbi, klinikai mintákból származó izolátumok esetén tapasztaltakkal. Azonban az ESBL termelőknél egészen más eloszlást tapasztaltunk, amit elsősorban a K-12 core típusú törzsek megszorodása okozott (**15. táblázat**). Az 54, K-12 maggal rendelkező, ESBL termelő törzsből 52 tárgylemez agglutinációval, illetve az *rfb*_{O25b} génre specifikus PCR -ral O25b szerocsoportúnak bizonyult. Ezek a törzsek mind a B2 filogenetikai csoportba tartoztak²⁰⁰. Kizárandó a jelenség korlátozott földrajzi előfordulását, megvizsgáltuk 10 magyarországi extraintesztinális fertőzésekből származó, szintén O25b szerocsoportú törzs core régióját, melyek szintén K-12 típusnak bizonyultak. Az 52 emirátusi és 10 magyar törzs PFGE mintázata változatos volt: a ≥ 80 % hasonlósági határérték alapján a törzsek 18 pulzotípusba voltak sorolhatóak. Közülük, minden típus reprezentánsaiból válogatva 24 törzs esetén igazoltuk, hogy mindegyikük az ST131 szekvencia típusba tartozik.

15. táblázat A különböző LPS mag típusok előfordulása korábbi vizsgálatokban és saját munkánk során

Vizsgálat (ref.)	Minta	LPS mag típus (%)					
		R1	R2	R3	R4	K-12	
Korábbi vizsgálatok	177	Vér	61,0	7,0	15,0	-	-
		Vizelet	81,0	5,0	5,0	-	-
		Széket	52,0	19,0	10,0	-	-
	176	Vér	68,0	6,5	8,7	5,1	3,2
		142	ECOR	69,4	11,1	11,1	2,8
	178	Emberi széklet	63,0	15,0	4,0	14,0	4,0
Szarvasmarha széklet		49,0	11,0	11,0	25,0	4,0	
Jelen vizsgálat	ESBL termelő törzs (n=121)	17,4	9,1	9,1	19,8	44,6	
	ESBL-t nem termelő törzs (n=109)	63,3	10,1	15,6	7,3	3,7	

Egy törzs (#81009) core-t kódoló *waa* régióját, mely tartalmazta a 15 K-12 core gént¹⁷⁵, teljes hosszában (>16 kb) megszekvenáltuk. A gének kiterjedt homologitást mutattak a K-12 prototípus törzs (*E. coli* MG1655), illetve ST131 törzsek hasonló szekvenciáival. A **16. táblázat** (*I. 40. old.*) a Waa fehérjék, részint ST131 törzsek, részint különböző core típusok prototípusai esetén a szekvenciákból származtatott aminosav sorrendjét hasonlítja a #81009 törzs esetén találtakhoz. A K-12 core típus törzs (MG1655) esetén minden gén aminosav sorrendje (a *waaQ* gén kivételével) >90%-ban egyezett a #81009 törzs peptidjeinek származtatott

szerkezetével és gyakorlatilag teljes azonosság volt ismert ST131 törzsek Waa fehérjéinek szerkezetével.

A #81009 törzs genomját, teljes genom szekvenálás után az Arsanis Bioscience GmbH munkatársaival együtt, *de novo* összeállítottuk. A törzs kromoszómája 5,012,084 bp méretű (GenBank CP021179.1) és egy 135,720 bp méretű plazmidot (pEC-81009) (GenBank CP021180) tartalmaz. A pEC-81009 plazmid az IncFII-FIA-FIB inkompatibilitási csoportba tartozott és toxin/antitoxin rendszer (Phd/Doc, CcdBA, Kid/Kis) génjei mellett számos rezisztencia gént (*aadA5*, *strA*, *strB*, *sul1*, *sul2*, *tetA*, *mphA*, *dfrA17*, *bla_{CTX-M-27}*) hordozott.

A kromoszóma számos adhezin (*upaB*, *crl*, *csgA*, *fimH*, *iha*), biofilm képzéshez szükséges (*bscA*, *agn43*, F9 fimbria), szérum rezisztencia (*iss*, *gad*) és toxin gént (*senB*, *sat*) tartalmazott. A törzs a *fimH* génnek a H30 allélját hordozta, és a kromoszómáján azonosítható volt egy, a H30 szubklón C1-M27 alcsoportjára (clade) fajlagos, ²⁰¹ 11.8 kb hosszúságú szakasz (M27PP1).

16. táblázat A #81009 törzs *waa* régiója géntermékeinek származtatott aminosav sorrendi hasonlósága különböző törzsek hasonló régióival

Törzs	GenBank No.	Tulajdon- ság	A #81009 törzshöz ^{&} hasonlított %-os aminosav azonosság az egyes gének termékei esetén														
			WaaD	WaaF	WaaC	WaaL	WaaU	WaaZ	WaaY	WaaR	WaaI	WaaB	WaaS	WaaP	WaaG	WaaQ	WaaA
NA114	CP002797	O25 ST131	100	100	100	*	**	**	**	**	**	**	*	100	100	100	100
EC958	CAFL01000107 CAFL01000108	O25 ST131	100	100	100	100	100	100	100	100	*	100	99	100	100	100	100
SE15	AP009378.1	O150:H5 ST131	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	100	100	100	100	100
MG1655	U00096.2	K-12 core	99	99	99	98	95	95	98	96	97	93	95	90	91	71	100
CFT073	AE014075.1	R1 core	100	99	94	24	**	**	52	39	50	**	**	92	100	99	100
F632	AF019375	R2 core	*	*	*	**	**	85	91	88	86	92	**	86	89	71	*
042	FN554766.1	R3 core	100	99	93	**	**	**	54	38	51	**	**	92	99	99	99
F2513	AF019746	R4 core	*	*	*	24	**	**	52	40	49	**	**	92	99	99	*

& GenBank JQ241150; * Kódoló szekvencia (CDS) nem, vagy csak részlegesen áll rendelkezésre; ** A gén nincs jelen

Vizsgálataink igazolták, hogy a globálisan kiemelkedően sikeres *E. coli* ST131 klón²⁰² LPS mag típusa a klinikai esetekből származó törzsek között korábban csak ritkán előforduló K-12 típusnak felel meg. Ez felveti a kérdést, hogy ez közrejátszhatott-e a klón terjedésében? Tény, hogy noha a core az LPS mélyebb régiójában helyezkedik el²⁰³, ellene a szervezetben antitestek termelődnek, és ezek fajlagosságának populáción belüli eloszlása megfelelt a korábban talált mag típus eloszlásnak¹⁷⁸. Korábban felvetették a mag-ellenes antitestek szerepét olyan fertőzések megelőzésében, mint az *E. coli* O157 által kiváltott enterális infekciók²⁰⁴ és különböző kísérletes rendszerekben szintén felmerült, hogy az LPS mag-ellenes immunitás rendelkezhet protektív szereppel²⁰⁵⁻²⁰⁹. Mindemellett a kérdés, hogy a korábban ritkán előforduló anti-K-12 mag ellenes antitestek hiánya utat nyithatott-e egy ilyen klón terjedésének, a jelen eredményeink alapján csak felvethető, de nem megválaszolható. Úgy gondoljuk, e tekintetben figyelemre méltó azon, eddig nem publikált megfigyelésünk, miszerint egyéb sikeres klónok is gyakran hordoznak korábban ritkán előforduló mag típusokat, pl. az ST38, ST405 és ST648 klónok az R4 mag típust²¹⁰. Jelenleg nem állnak rendelkezésre adatok, hogy a terjedő új globális klónok megváltoztatták-e az LPS mag-ellenes antitestek eloszlását. Úgy gondoljuk, eredményeink jelentőségét tovább hangsúlyozza az a tény, hogy az utóbbi időben az eredetileg ESBL termelő ST131 klón egyre gyakrabban szerepel karbapenemázokat termelő, sőt kolisztin rezisztens fertőző ágensként is²¹¹.

4.2. MULTIREZISZTENS NEM FERMENTÁLÓ GRAM NEGATÍV BAKTÉRIUMOK VIZSGÁLATA

4.2.1 Előzmények

Az ún. „nem fermentáló” Gram-negatív baktériumok alkalmazkodóképességük, természetes rezisztenciájuk és szerzett rezisztenciára való hajlamuk miatt egyre növekvő problémát jelentő opportunista kórokozók²¹². A legjelentősebb genusok a *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas* és *Acinetobacter* közül az utóbbi kettő képviselőivel kapcsolatban volt módunk vizsgálatokat végezni. A *S. maltophilia*, amellet, hogy gyakran kolonizálja a kórházban fekvőket, a kórházi fertőzéseknek, sőt járványoknak egyre gyakoribb okozója^{213,214}. Opportunista kórokozóként a fertőzések elsősorban lélegeztetettek, centrális vénás katéterezettettek, neutropeniás betegek, rosszindulatú betegségben szenvedők, különösen citotoxikus kezelésben részesülők között gyakori²¹⁴. A fertőzések kezelése azért is jelent nagy kihívást, mert a *S. maltophilia* még a nem fermentáló csoporton belül is kirívóan sok antibiotikummal szemben mutat természetes rezisztenciát^{213,215}.

Az EAE-ban korábban a *S. maltophilia* által okozott kórházi fertőzések tekintetében átfogó vizsgálatok nem történtek. A Tawam kórház, Al Ain városában, Abu Dhabi emirátusban egy kb. 400 ágyas, hármass ellátási szintű kórház, mely vizsgálatunk idején az EAE elsőszámú onkológiai központja volt. Korábbi, gyermek-onkológiai betegek között végzett vizsgálatokból ismert volt, hogy ebben a populációban a véráram fertőzések 1,5%-át (az ilyen fertőzésekben szereplő Gram negatívok 4,4%-át) *S. maltophilia* okozza⁵⁴. Célunk annak tisztázása volt, hogy a 2000-2003-as időszakban a kórházban előforduló *S. maltophilia* véráram fertőzések egymással járványtanilag kapcsolatba hozható, vagy elsősorban sporadikus eseteket jelentenek-e.

Az utóbbi évtizedek talán legjelentősebb új, „*emerging*” opportunista kórokozója, az *A. baumannii*²¹⁶. Számos tulajdonsága mellett, melyek változatos kórházi és kórházon kívüli környezetben teszik lehetővé megtelepedését, egyik legfontosabb ismérve a multirezisztenciára való hajlam^{217,218}. Legjellegzetesebb béta-laktamáza az OXA csoportból kerülnek ki²¹⁹. Miután e csoport tagjai, bár egyesek akár a karbapenemeket is hidrolizálják, relatíve gyenge aktivitást mutatnak cefalosporinokkal szemben, az *A. baumannii* törzsek utóbbi csoporttal szembeni rezisztenciáját nem ritkán különböző cefalosporinázok okozzák.

A leggyakoribb ilyen enzimek AmpC típusú béta-laktamázok, főleg az ADC (*Acinetobacter*-derived cephalosporinase) ^{220,221}. A közelmúltban egy új, az A osztályba tartozó, széles hatásspektrummal rendelkező cefalosporinázt azonosítottak a fajban. A *bla*_{PER-7} gén kromoszómáisan, az *ISCR1* családba tartozó 1 osztályú integronon belül helyezkedett el ²²². Vizsgálatainkban plazmidon történő lokalizációjának lehetőségét tanulmányoztuk.

A 2000-es évek első évtizedének végére vált ismertté, hogy a kezdetben bélbaktériumokban leírt NDM-1 karbapenemáz általában plazmidon elhelyezkedő génje az *Enterobacteriales* családon kívül egyéb fajokra is, így nem fermentáló Gram-negatív speciemekre is átterjedhet ²²³. Vizsgálataink idején már *A. baumannii*-ban is több ízben leírták az NDM-1 termelését ²²⁴⁻²²⁶. 2011-ben az eredeti enzimnek egy új allélja (NDM-2) is e fajban került felismerésre Németországban, egy olyan betegben, aki korábban Egyiptomban részesült kórházi kezelésben ²²⁷. Ez készítetett minket arra, hogy e gén jelenlétét vizsgáljuk Abu Dhabi kórházakban izolált karbapenem rezisztens *A. baumannii* törzsekben.

A kétezres évek első évtizedének végére a MDR Gram-negatív kórokozók, így az *A. baumannii* törzsek is már nagyon nagy problémát jelentettek a régió kórházaiban ⁴³. Bár Kuvaitban történtek már kísérletek a különböző kórházakban prevalens *A. baumannii* törzsek tipizálására ^{228,229}, az EAE-ban, és több más régió béli országban a vizsgálatok, Nyugat-Európai laboratóriumokba küldött törzsek vizsgálata révén, főleg a törzsek béta-laktamáz típusainak meghatározását célozták ^{74,79,230}. Ennek megfelelően nem álltak rendelkezésre adatok arról, hogy a helyi kórházakban izolált törzsek sporadikusak vagy egyes típusok halmozottan fordulnak-e elő, esetleg felmerül-e a kórházak közötti törzs-átvitel lehetősége. Vizsgálataink során e kérdésekre kerestük a választ.

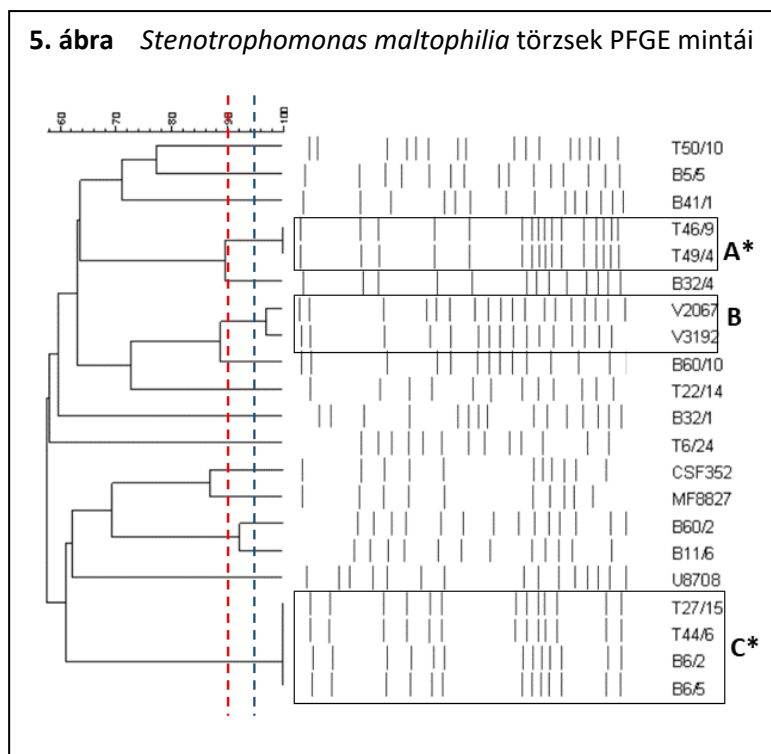
Az *A. baumannii* sikeresen képes túlélni különböző kórházi környezetekben ^{231,232}, illetve jelentős ellenállást mutathat különböző fertőtlenítő szerekkel szemben ²³³. Mindez felveti annak lehetőségét, hogy a kórházi fertőzések egy részének közvetlen forrása a kórházi élettelen környezet, a kontaminált tárgyak lennének. Egy 335 ágyas, Szaúdi Arábia Keleti Régiójában, Qatif városában a régió mintegy félmillió lakosa számára ellátást nyújtó kórház osztályain azt vizsgáltuk, hogy a 2014 januárja során környezeti mintákból izolált karbapenem rezisztens *A. baumannii* (CRAb) törzsek típusukat tekintve mutatnak-e azonosságot az ugyanazon idő alatt a betegekből izolált törzsekkel.

4.2.2. Eredmények és megbeszélés

4.2.2.1. Véráram fertőzést okozó *Stenotrophomonas maltophilia* törzsek vizsgálata egy hármass ellátási szintű kórházban (II)

2000 és 2003 között a Tawam Kórházban összesen 25 *S. maltophilia* véráram fertőzés fordult elő. A minták 18 esetben felnőtt, és 7 esetben gyermek betegből származtak. A részletes vizsgálatok minden esetben igazolták, hogy kórházban szerzett fertőzésről volt szó, melyek a kórház 6 osztályán fordultak elő. A klinikai adatok alapján minden beteg immunkompromittáltnak minősült, 19-en onkológia betegek voltak. A fertőzés forrásaként 22 esetben ér-katéter szerepelt. Kilenc fertőzés esetén a *S. maltophilia* mellett egy vagy több más potenciális kórokozót is izoláltunk: 3-3 esetben *P. aeruginosa*, *Acinetobacter sp.*, 2-2 esetben *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, illetve koaguláz negatív *Staphylococcus*, míg 1-1 esetben *Bacillus sp.* és *Kluyvera sp.* fordult elő. A betegek között két haláleset történt a véráram fertőzést követő 7 napon belül, de egyik sem volt közvetlenül a *S. maltophilia* fertőzésnek tulajdonítható.

21 törzs állt rendelkezésre PFGE céljára. A törzsek összesen 16 elkülöníthető mintát mutattak, és három jól elkülönülő csoport (cluster) volt felismerhető (5. ábra, A-C). A három $\geq 95\%$ hasonlóságot mutató clusterből kettő (5. ábra, A és C) azonos betegekből származó mintákat tartalmazott, a C esetén a minták 8 hónap időtartamot öleltek fel. A B csoport két törzse eltérő időben, két különböző osztályról, két különböző betegből származott, azaz a törzsek döntő többsége sporadikus izolátum volt.



A szaggatott piros vonal a $\geq 90\%$, a kék a $\geq 95\%$ hasonlósági határt mutatja. A fekete négyzetek a clustereket határolják.

* A cluster tagjai azonos betegből lettek izolálva

Eredményeink azt mutatják, hogy a Tawam Kórházban a *S. maltophilia* véráram fertőzések a vizsgált időpontban kizárólag immunkompromittált, általában onkológiai, ér-katéterrel rendelkező betegeknél fordultak elő. Annak ellenére, hogy a faj kórházi járványokat okozni képes kórokozó ²³⁴, a vizsgált időszakban kórházunkban, egy, nagyfokú hasonlóságot mutató törzs-pártól eltekintve (**5. ábra, B**) az izolátumok sporadikusak voltak. Fenti pár esetén a vizsgálatok nem tudták az esetleges átvitel módját vagy egy lehetséges közös forrást felderíteni. Az alkalmazott tipizálási módszert, azaz azt, hogy valóban összefüggő törzsek esetén a minták közel azonosak, validálta az a megfigyelés, hogy az azonos betegből 4 hónapon keresztül izolált törzsek egy clustert (**C**) képeztek.

A régióban, bár a *S. maltophilia* fertőzések egyre fokozódó gondot jelentenek, az e témában folytatott vizsgálatok során tipizálási próbálkozások nem történtek, így járványok előfordulásáról nem tudunk ²³⁵⁻²³⁹. Véleményünk szerint, még ha jelen eredményeink e tekintetben negatív eredményt szolgáltattak is, miután a *S. maltophilia* ismert járványokat kiváltani képes kórokozó, és egy fertőző ágens sporadikus vagy járványos halmozódása eltérő

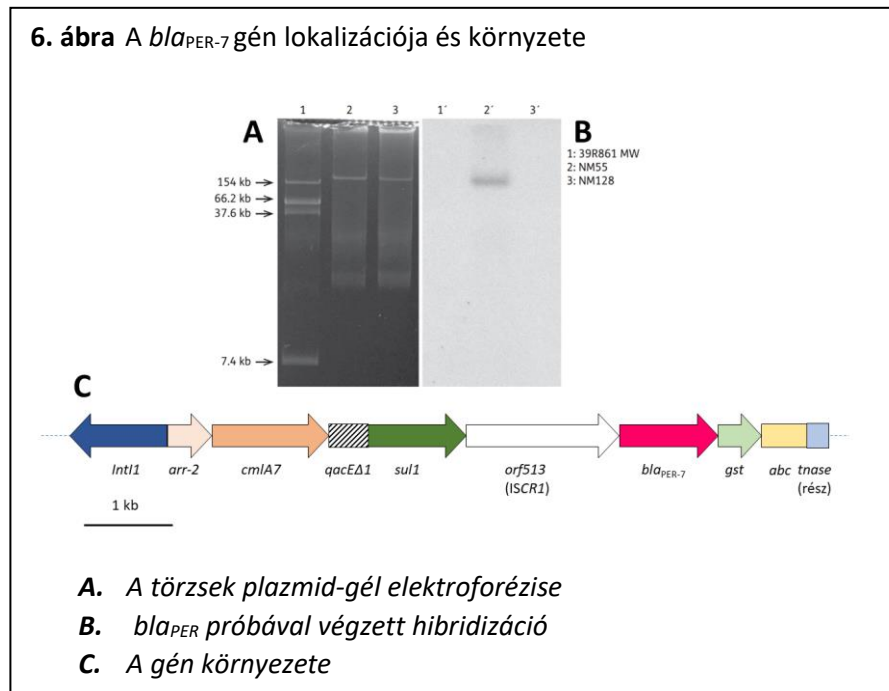
infekció kontroll intézkedéseket igényel, a molekuláris tipizáláson alapuló vizsgálatok elengedhetetlen részei kell, hogy legyenek egy kórházban folytatott járványügyi munkának.

4.2.2.2. Plazmidon elhelyezkedő *bla_{PER-7}* gén ceftazidim rezisztens *A. baumannii*-ban (VI)

Munkánk során egy 6 éves gyermek légcső mintájából 4 hónap időeltéréssel izolált két *A. baumannii* törzs (NM55 és NM128) karbapenem rezisztens, PCR-ral *bla_{PER}* pozitív tagjában (NM55) vizsgáltuk, hogy hol és milyen környezetben helyezkedik el a gén. A két izolátum (NM55 és NM128) PFGE mintája azonos volt, mindkettő rezisztens volt imipenemre, meropenemre, cefotetanra, aztreonamra, cefoperazonra, cefepimre, cefotaximra, cefpodoximra és kloramfenikolra, míg ceftazidimmal és rifampicinnel szemben csak az NM55 mutatott rezisztenciát. Mindkét törzs hordozta a *bla_{OXA-51}*-szerű, *bla_{ADC-26}*, *bla_{OXA-23}* géneket. A *bla_{ADC-26}* gén előtt egyik törzsben sem volt semmilyen IS elem kimutatható, míg a *bla_{OXA-23}* gén előtt megtalálható volt mindkettőben az *ISAbal1*. A *bla_{PER}* gént megcélzó PCR-ral csak a NM55 törzs adott pozitív reakciót. Szekvenciájának meghatározása alapján a gén a *bla_{PER-7}* allélnak felelt meg (GenBank AEI54993.1).

A hagyományos plazmid-kivonás és gél elektroforézis alapján ¹⁴⁹ mindkét törzs hordozott egy nagy, >154 kb plazmidot (**6. ábra, A**). A *bla_{PER-7}* próbával végzett Southern blot analízis a gén jelenlétét csak az NM55 törzs plazmidján igazolta (**6. ábra, B**). A plazmidok pontosabb méretmeghatározása S1 nukleáz emésztést ^{152,153} követően azt mutatta, hogy az NM55 törzs plazmidja >200 kb, míg az NM128 törzsben egy ~180 kb plazmid található. Az NM55 törzsből a plazmidot ismételt, változatos körülmények között végzett konjugációs kísérletek során sem sikerült átvenni különböző recipiensekbe.

A *bla_{PER-7}* gén környezetét megszekvenálva kiderült, hogy az egy komplex 1. osztályú integronon belül helyezkedik el, mely variábilis részén tartalmazta a rifampicin és kloramfenikol rezisztenciáért felelős *arr-2* és *cmIA7* géneket. Az integron szintén tartalmazta a *qacEΔ1* és *sul1* géneket. A *bla_{PER-7}* gén után, a *gst* gént követően egy *abc* transzporter gén és egy transzpozáz gén részeit találtuk (**6. ábra, C**).



Eredményeink azt mutatják, ismereteink szerint elsőként, hogy a közelmúltban kromoszómáisan kódoltként leírt PER-7 cefalosporináz génje²²² plazmidon is elhelyezkedhet. Ugyanakkor, a plazmidon elhelyezkedő verzióban nem találtuk meg kromoszómális változatban a gén előtt fellelhető, annak kifejeződéséhez a feltételezett promotert biztosító IS elemet. Így sikeres konjugáció, illetve expressziós kísérletek hiányában biztosan nem állíthatjuk, hogy az NM55 törzsben a *bla*_{PER-7} gén volt a felelős a ceftazidim rezisztenciáért. Ugyanakkor figyelemreméltó, hogy az azonos betegből 4 hónappal később izolált, *bla*_{PER-7} negatív NM128, melynek plazmidja egy jelentős delécióra utalva lényegesen kisebb volt, ceftazidim érzékeny volt. Bár mindkét törzs hordozta a *bla*_{ADC-26} gént, ez részint nem széles spektrumú cefalosporinázt kódol, részint mindkét törzsben hiányzott előle a potenciálisan promotert biztosító IS elem. A plazmid kódolt verzió után elhelyezkedő régió jelentősen különbözött a kromoszómális verzióban találttól²²², de az általunk leírt *gst* és az *abc* transzporter gén része miatt a szerkezet nagyon hasonló a *bla*_{PER-1} gén környezetéhez, melyet Kínában, *Aeromonas punctata*-ban írtak le²⁴⁰. Megjegyzendő, hogy legjobb tudomásunk szerint plazmid-kódolt *bla*_{PER-7} gént azóta is csak ritkán írtak le, érdekes módon szintén a tágabb régióból²⁴¹.

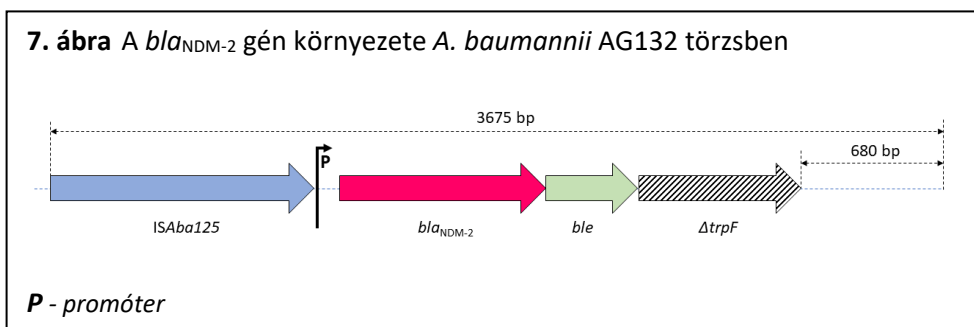
Figyelemre méltónak tartjuk azt a tényt, hogy az NM55 törzs mintegy 2 évvel korábban került izolálásra, mint az a törzs Franciaországban, amiben a gén kromoszómáisan kódolt verzióját

leírták ²²². Jóllehet vizsgálataink során a *bla*_{PER-7} gént hordozó plazmidot nem tudtuk konjugációval *in vitro* átvinni, nem tartjuk kizártnak, hogy a gén plazmid-kódolt formában került be a fajba és ugrott át a kromoszómába, ott már egy ismert promóter szekvenciával támogatva kifejeződését.

4.2.2.3. NDM-2 termelő *Acinetobacter baumannii* az Egyesült Arab Emírségekben (IX)

2008 és 2010 között 155, különböző Abu Dhabi Emíráton belüli kórházakban izolált karbapenem rezisztens *A. baumannii* izolátumot vizsgáltunk PCR-ral a *bla*_{NDM} gén jelenlétére. Két pozitív törzset találtunk, melyek ugyanannak a betegnek a vizeletéből kerültek 2009 májusában és augusztusában izolálásra. Az egy vesével élő, 2004 óta áttételes vastagbél tumorról kezelt 55 éves egyiptomi nőbeteg többször állt Kairóban, Beirutban és Dubaiban kórházi kezelés alatt. 2008-ban Egyiptomban fém húgyvezeték stentet kapott, majd az ezt követő többszöri vizelet fertőzését (ESBL termelő *E. coli* és MDR *P. aeruginosa*) ceftriaxonnal és meropenemmel kezelték. 2009 áprilisában került felvételre az Al Ain-i Tawam kórházba, ahol a vizeletéből májusban először (AG132), majd ezt követően augusztusban (AG124) *A. baumannii*-t izoláltunk. A két törzs azonos PFGE és plazmid profil mintát mutatott. Mindkét törzs hordozta a *bla*_{OXA-70} gént, és az IS*Aba1* IS elemet, de azt nem a *bla*_{OXA-70} gént közvetlenül megelőző pozícióban. A törzsek Bartual séma szerint ¹⁶⁰ ST253 típusúnak bizonyultak (a Pasteur intézet sémája szerint ²¹⁷ ST103-nak). Konjugációval nem sikerült a *bla*_{NDM} gént se *E. coli*-ba, se *A. baumannii*-ba átvinni.

A genom részleges *Hind* III emésztése után nyert fragmentumokat pUC19 plazmidba klónozva majd transzformálva azonosítottunk egy ~10 kb nagyságú, *bla*_{NDM} pozitív fragmentet (132LigB), mely a recipiens *E. coli* DH5α meropenem MIC értékét ≤0,125 mg/L-ről 2 mg/L-re növelte. E fragmentum 3675 bp hosszúságú darabját megszekvenálva azonosítottuk, hogy a karbapenemáz gén a *bla*_{NDM-2} allélnak felel meg, mely azonban nem tartalmazta az Izraelben a közelmúltban leírt variáns szinonim A→G szubsztitúcióját a 468-as pozícióban ²⁴². A *bla*_{NDM-2} gén előtt megtalálható volt a IS*Ab125* inzerciószekvencia, míg a gén mögötti szakasz megegyezett a Németországban kimutatott *bla*_{NDM-1} gén alatti régióval, azaz egy feltételezett bleomicin rezisztencia gént (*ble*) és a foszforibozil anthralinát isomeráz gén egy részét (*ΔtrpF*) tartalmazta ²²⁶ (**7. ábra**) (GenBank JN112341).



Vizsgálataink során beszámoltunk az első NDM -et kifejező *A. baumannii* törzs izolálásáról az EAE -ben. Az országban rendszeresen kerültek NDM termelő bélbaktérium törzsek izolálásra, igaz, ezek az enzim 1-es alléjét termelték²⁴³ és az NDM-1 allélt expresszáló törzsek előfordulása Szaúd-Arábiában is növekvő tendenciát mutatott²⁴⁴. NDM-2-t termelő törzset korábban Izraelben írtak le, az első Emirátusi törzsnél három hónappal később izolált *A. baumannii* törzsek esetén²⁴². Az e törzsekben szereplő bla_{NDM-2} gén szekvenciájától az általunk vizsgált törzsekben találtaké csak egy néma A→G szubsztitúcióban különbözött. A két helyszín földrajzi közelsége, illetve az a tény, hogy a bla_{NDM-2} gén az *ISAb125* szekvencia alatt helyezkedett el, nyitva hagyja akár a klonális terjedés, akár az IS-mediált gén-disszemináció, akár a két mechanizmus együttes meglétének lehetőségét is. Megjegyzendő, hogy egy későbbi összehasonlító analízis igazolta, hogy az Emirátusi izolátumok (**IX**), az Izraeli törzsek²⁴², illetve egy korábban Egyiptomban hospitalizált betegből Németországban izolált bla_{NDM-2} -t hordozó ST103 *A. baumannii* törzs²²⁷, nagyon hasonló PFGE mintát és gyakorlatilag azonos plazmid profilt mutatott, ami azt sugallja, hogy a típus klonálisan terjed a Közel-Keleten, hordozva az interkontinentális terjedés lehetőségét²⁴⁵.

4.2.2.4. Járványos és sporadikus *Acinetobacter baumannii* törzsek eloszlása Abu Dhabi Emírátság kórházaiban (**XI**)

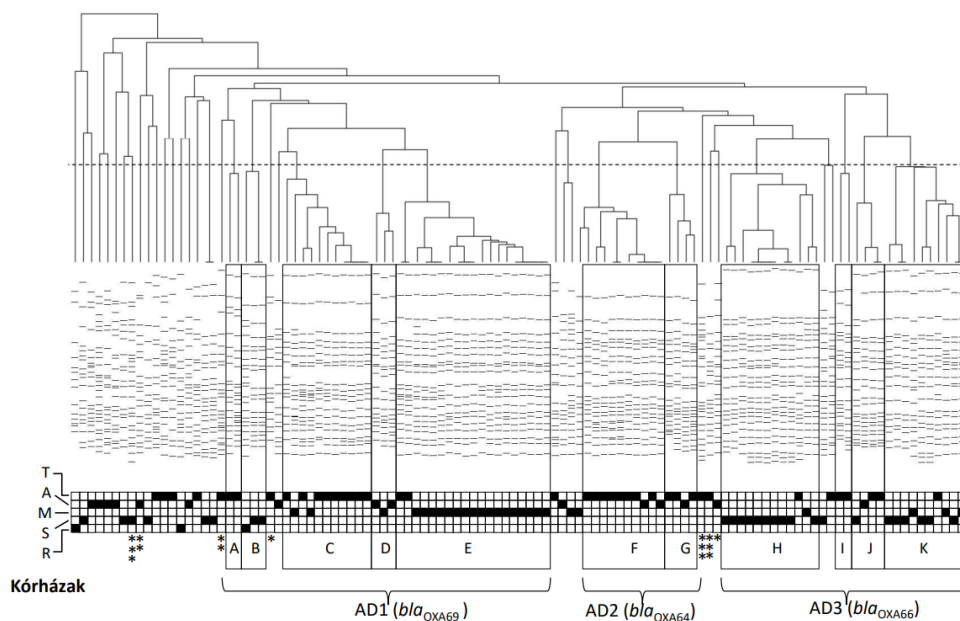
2008 márciusa és novembere között öt Abu Dhabi kórházban izolált 110 klinikailag releváns, nem ismétlődő *A. baumannii* izolátumot vetettünk részletes vizsgálat alá. Meghatároztuk a törzsek faj-specifikus bla_{OXA-51} -szerű génjének allél típusát¹²⁰ és a PFGE mintázatukat. Akkor tekintettünk egy törzset „járványosnak”, ha mindkét paraméter tekintetében legalább egy másik izolátummal azonosak voltak, míg azokat a törzseket, melyek legalább az egyik fenti tulajdonságot illetően különböztek a többitől, sporadikusnak tekintettük. E kritériumok alapján a törzsek 72.7%-a volt járványos, melyek a bla_{OXA-51} -szerű allél/PFGE minta kombinációik

alapján 11 altípust (A-K) képviseltek (**8. ábra**). Az altípusok három nagy, a *bla*_{OXA-51-szerű} allél alapján meghatározott klónba (AD1-3) csoportosultak. Az AD1 klón tagjai az „Oxford séma”¹⁶⁰ szerinti CC109-es klonális komplexbe tartoztak. A klónon belül a B és C altípus ST109, a D és E altípus ennek egyetlen lókuszban különböző variánsa ST95 volt, az A altípus pedig ST434 (az ST109-hez viszonyított két lókuszból különbözővel). Az AD2 klón tagjai egységesen ST110 típusúak voltak, míg az AD3 törzsek változatosabb szekvencia típusokat mutattak. Legtöbbjük a CC92 része volt, azaz a J és K altípus ST189, és a H altípus ST92, azonban az I altípus egy ezektől eltérő szekvencia típust (ST254) képviselt.

Mindhárom klón tagjait több kórházban is sikerült kimutatni, sőt, amennyiben egy altípust legalább 3 törzs képviselt, akkor az legalább két intézményben megtalálható volt. Mindezek ellenére minden nagyobb altípus esetén tudunk olyan kórházat azonosítani, ahol az adott típus dominált. Így pl. a Tawam kórházra jellemzőek voltak a két különböző klónba tartozó C és F altípusú törzsek, a Mafraq kórházra az E altípusúak, vagy a Sheikh Khalifa kórházra a H altípusú izolátumok (**8. ábra**).

A sporadikus törzsek sokkal heterogénebbek voltak és két csoportra voltak oszthatóak. Az A csoport 7 törzset tartalmazott, melyek olyan *bla*_{OXA-51-szerű} allélt hordoztak, amik a három nagy klón valamelyikével megegyeztek, azaz a klónoktól csak PFGE mintájuk alapján különböztek (**8. ábra**, *-al jelölt törzsek). A B csoport 22 törzse a *bla*_{OXA-51-szerű} gén 15 különböző allélját hordozta: OXA-98, -65, -83, -67, -68, -78, -89, -91, -94, -95, -208, míg három törzs korábban már ismert (GenBank AJ309734, EU255289, AJ309734), de számmal még nem ellátott allél variánsokat, illetve négy törzs eddig ismeretlen allél változatokat tartalmazott (**17. táblázat**).

8. ábra Járványos és sporadikus *A. baumannii* törzsek eloszlása Abu Dhabi kórházakban



Az **A-K keretek** az AD1-3 klónokon belüli szubtypusok. A **csillagok** olyan sporadikus törzseket jelölnek, melyek a klónokra jellemző bla_{OXA-51} -szerű allélt hordozzák, de azoktól eltérő pulzotípussal rendelkeznek:
 * bla_{OXA-69} , ** bla_{OXA-64} , *** bla_{OXA-66} .

Kórházak: Al Ainban **T** – Tawam, **A** – Al Ain, Abu Dhabi városban **M** – Mafraq, **S** – Sheikh Khalifa, **R** – Rahba

17. táblázat A bla_{OXA-51} -szerű gén új alléljai sporadikus törzsekben

Törzs	A legközelebbi allél	Származtatott aminosav változás	GenBank #
NM114	OXA-70	237 Gln → Arg	JX865391
NM61	OXA-88	36 Lys → Glu	JX865392
NM69	OXA-64	38 Gly → Ala 188 Lys → Asn	JX865393
NM83	OXA-217	37 Lys → Asn	JX865394

A járványos törzsek kétszer annyi béta-laktám és aminoglikozid gént tartalmaztak (átlagosan 7,9 gén/törzs), mint a sporadikus izolátumok (3,8 gén/törzs). Előbbiekben a bla_{OXA-23} , bla_{PER} , int és $armA$ gének különböző mértékű szignifikanciával ugyan, de gyakrabban voltak jelen, míg az $ISAbal1$ és bla_{AmpC} és a különböző aminoglikozid módosító enzimeket kódoló gének tekintetében a két csoport között nem volt szignifikáns eltérés. Az AD2 (OXA-64) csoport tagjai mind, az AD3 csoport (OXA-66) tagjainak 50%-a (a H és I alcsoport tagjai) hordozták az $armA$ gént. Megfigyelhető volt az is, hogy az A csoportú sporadikus törzsek, tehát amelyek a

járványos klónok *bla*_{OXA-51-szerű} alléljét tartalmazták, sokkal gyakrabban hordoztak különböző rezisztencia géneket, mint a B csoportú sporadikus izolátumok (**18. táblázat**).

Összességében a kolisztin volt az egyetlen antibiotikum, amivel szemben a törzseknek legalább 40%-a ne mutatott volna rezisztenciát vagy mérsékelt érzékenységet. Az izolátumok egyes csoportjait összehasonlítva a törzsek antibiotikum érzékenysége a hordozott rezisztencia génekhez hasonló megoszlást mutatott: a kolisztin és doxiciklin kivételével a nem-érzékenység szignifikánsan gyakoribb volt a járványos törzsek között, és az A csoportú sporadikus törzsek megfelelő értékei megközelítették a járványos csoportnál látottakat (**19. táblázat**). Az összes járványos törzs MDR, 60%-uk XDR volt, míg a sporadikus törzsek között az arányok 36,5% és 13,3% voltak.

18. táblázat Rezisztencia gének gyakorisága járványos és sporadikus törzsekben

Törzsek	N	A gén előfordulása													
		<i>int</i>	<i>ISAb1-bla_{OXA-23}</i>	<i>ISAb1-bla_{AmpC}</i>	<i>ISAb1-bla_{PER}</i>	<i>aadA</i>	<i>aac(3)-Ia</i>	<i>aac(3)-IIa</i>	<i>aac(6')-Ib</i>	<i>aac(6')-Ih</i>	<i>aph(3')-Ia</i>	<i>aph(3'9-VI</i>	<i>ant(2')-Ia</i>	<i>armA</i>	<i>strAB</i>
Összes	110	62,7	73,6	31,8	14,5	34,5	12,7	6,4	14,5	22,7	35,5	35,5	22,7	27,3	46,4
Járványos	80	75,0	98,7	33,8	20,0	38,8	17,5	8,8	17,5	23,8	40,0	43,8	30,0	35,0	52,5
Sporadikus	30	30,0	10,0	25,9	0	23,3	0	0	6,7	20,0	23,3	10,0	3,3	6,7	30,0
<i>P</i>	-	0,005	<0,001	0,445	0,015	0,247	0,067	0,268	0,288	0,413	0,247	0,069	0,052	0,035	0,272
Sporadikus A	8	75,0	37,5	62,5	0	50,0	0	0	12,5	50,0	37,5	25,0	0	12,5	50,0
Sporadikus B	22	13,6	0	9,1	0	13,6	0	0	4,5	9,1	13,6	4,5	4,5	4,5	22,7

19. táblázat Antibiotikum nem-érzékenység járványos és sporadikus törzsekben

Törzsek	N	Antibiotikum nem-érzékenység (%)														MDR (%)
		E teszt										Korong diffúzió				
		CTZ	MER	IMI	AMI	GEN	NET	TOB	CIP	COL	AMS	PIT	DOX	TRS		
Összes	110	77,3	76,4	76,4	63,6	77,3	41,8	49,1	81,8	0,9	76,4	85,5	54,5	81,8	82,7	
Járványos	80	96,25	97,5	97,5	81,25	97,5	55	63,8	100	1,25	95,0	100	62,5	98,8	100,0	
Sporadikus	30	26,7	20,0	20,0	16,7	23,3	6,7	10,0	33,3	0,0	26,7	46,7	33,3	36,7	36,5	
<i>P</i>	-	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,003	0,001	<0,001	1,00	<0,001	0,003	0,151	<0,001	<0,001	
Sporadikus A	8	75,0	50,0	50,0	50,0	62,5	25,0	25,0	62,5	0,0	75,0	75,0	62,5	62,5	75,0	
Sporadikus B	22	9,1	9,1	9,1	4,5	9,1	0,0	4,5	22,7	0,0	9,1	36,4	22,7	27,3	22,7	

Az EAE-ban első, kórházi *A. baumannii* törzsekkel végzett vizsgálat egyik fontos megfigyelése volt, hogy az Abu Dhabi kórházakban elterjedt három nagyobb klón mind ismert nemzetközi típus volt. Az általunk AD1-ként azonosított klón, *bla*_{OXA-69} béta laktamáza alapján a széles körben elterjedt WW1 típusnak felel meg^{120,246-248}, és korábban már leírták a régióban^{229,249}, sőt az EAE-ben is⁷⁴. A *bla*_{OXA-64}-et hordozó WW7 klón képviselőit²⁴⁸ korábban Szingapúrban¹²⁰ és Németországban²²⁶ izolálták, de eredményeink, együtt Kuvaitból származó közlésekkel²²⁸, azt jelzik, hogy a klón megtelepedett a Közel-Keleten is. Az általunk AD3-nak jelzett, *bla*_{OXA-66}-ot hordozó csoport WW2 néven ismert^{120,246-248}, és korábban előfordult a tágabb régióban, Kuvaitban²²⁹ és Iránban²⁵⁰ is. Aggasztó, hogy a gyakorlatilag minden aminoglikoziddal szemben rezisztenciát eredményező, e klónban korábban már leírt 16S metiláz gén, az *armA*²⁵¹ a törzsek jelentős részében jelen volt.

A regionális hasonlóságok ellenére különbségek is megfigyelhetők voltak: míg a vizsgálataink során, Pakisztánhoz²⁵² és Iránhoz²⁵⁰ hasonlóan nagyon gyakorinak találtuk az *ISAbal1* után elhelyezkedő *bla*_{OXA-23} gént, a globálisan *A. baumannii*-ban talán legjobban elterjedt szerzett oxacillináz²⁵³ lényegesen ritkább volt Kuvaitban²²⁹ rámutatva arra, hogy az azonos térségen belül is jelentős eltérések figyelhetők meg. A helyi járványtan szempontjából talán legfontosabb megfigyelés volt, hogy jóllehet a kórházak általában rendelkeztek „jellemző, házi” altípussal, de az altípusok, amennyiben legalább 3 került belőlük izolálásra, több kórházban is jelen voltak. Ez mindenképpen felveti a kórházak közötti kiterjedt átvitel lehetőségét, akár a több intézményben is ellátást kapó betegek, a több kórházban dolgozó egészségügyi személyzet, de elméletileg akár több intézménybe eljutó források által.

4.2.2.5. Klinikai és környezeti karbapenem rezisztens *Acinetobacter baumannii* izolátumok összehasonlítása egy szaúdi kórházban (XXV)

A Szaúd-Arábia Keleti Régiójában, Qatif városában lévő 335 ágyas, általános ellátást nyújtó kórház osztályain 2014 januárja során gyűjtöttünk környezeti és klinikai mintákat. A kórház házi szabályzata szerint a padlót és a vizesblokkokat naponta legalább egyszer detergensen (Surfanios, Anios, Franciország) tisztították. A nővérpultok felszíneit a nővérek fertőtlenítették különböző, több komponensű (kvaterner ammónium + bronopol + biguanidin polimer vagy klórhexidin + izopropil alkohol) vagy csak alkohol alapú szerekkel. Ezenkívül, mindazon helyiségekben, ahol olyan betegeket kezeltek, akik MDR kórokozók voltak fertőzöttek, a végső takarítás során hipoklorit alapú oldattal fertőtlenítettek.

A vizsgálat ideje alatt 21 klinikai mintából (3 vér, 2 testfolyadék, 1 liquor folyadék, 7 légúti, 4 seb és 4 vizeletmintából) izoláltunk CRAb-t, míg a 208 környezeti minta 74 CRAb törzset eredményezett. A **20. táblázatban** látható, hogy míg az Intenzív osztályon a klinikai esetek aránya kiugróan magas volt, addig a környezeti minták a férfi belgyógyászaton voltak a legkontamináltabbak. Összesen 51 törzset, minden klinikai és 30 környezeti mintából származó izolátumot vetettünk alá részletes tipizálásnak. A törzsek a PFGE analízis alapján 4 csoportot és egy szingletont képviseltek (**9. ábra, A-E**). Mindegyik PFGE csoporton belüli törzsek azonos *bla*_{OXA-51-szerű} allélt hordoztak, a két legnagyobb csoport (**9. ábra, E és C**) a *bla*_{OXA-66} allélt tartalmazta. Az ábrán jól látható, hogy mindegyik csoporton belüli előfordulnak klinikai és környezeti izolátumok is.

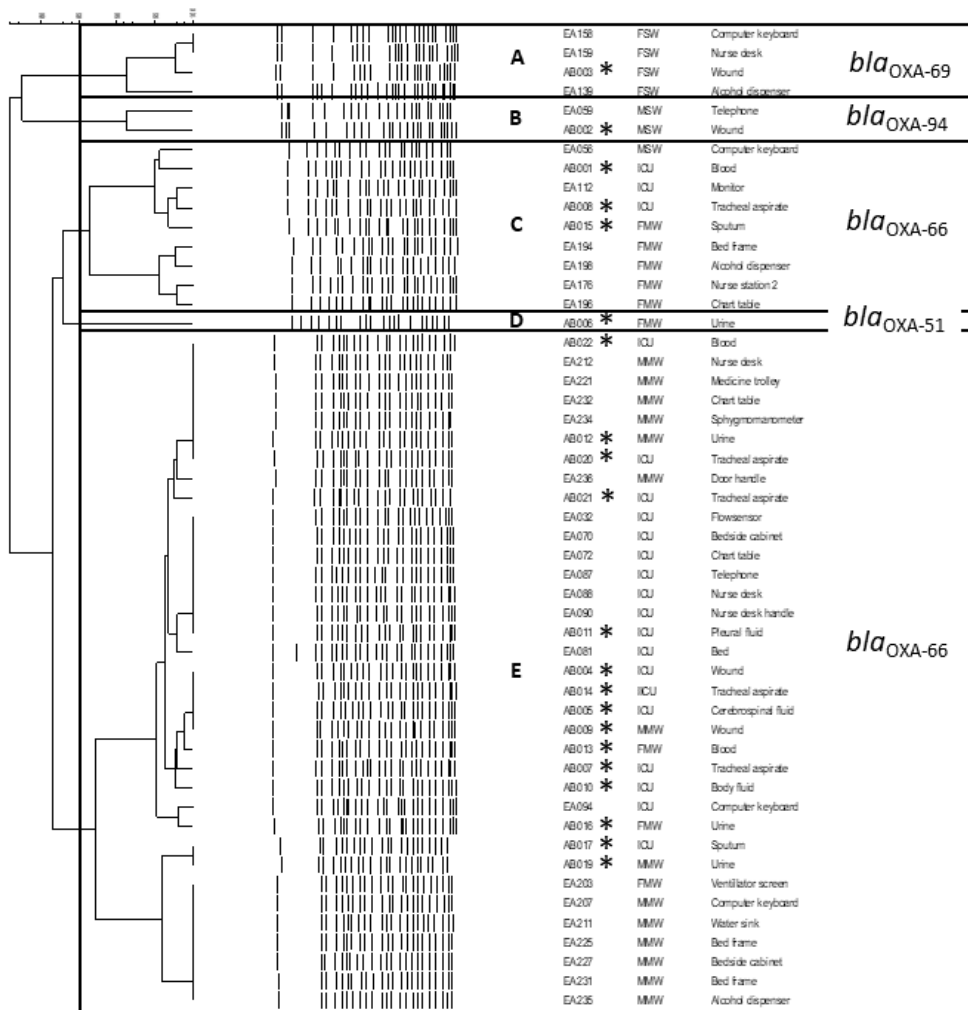
20. táblázat A CRAb törzsek megoszlása az egyes osztályok között

Osztály	Beteg			Klinikai felszín*			Nem klinikai felszín**		
	Kezelt	CRAb fertőzött	%	Mintaszám	CRAb pozitív	%	Mintaszám	CRAb pozitív	%
Intenzív	19	10	52,6	36	15	41,7	36	17	48,3
Férfi Bel	194	4	2,1	14	9	64,2	16	11	68,8
Női Bel	176	5	2,8	9	5	55,6	27	1	3,7
Férfi Sebészet	158	1	0,6	12	4	33,3	23	8	34,8
Női Sebészet	206	1	0,5	12	0	0	23	4	17,4
Összes	752	21	2,8	83	33	39,8	125	41	32,8

* Klinikai felszín – minden, a beteg közelében lévő felszín, ** Nem klinikai felszín – a nővér állások területén lévő felszínek

A **21. táblázat** (l. 57. old.) azt mutatja, hogy míg a kisebb csoport izolátumai (**9. ábra, A és B**) csak 1-1 osztályról származtak, az **E** és **C** csoport tagjai több osztályon is megtalálhatóak voltak úgy a betegekben, mint a környezetben. A mindössze két törzssel reprezentált **B** csoport kivételével minden csoport tagjaiban jelen volt a *bla*_{OXA-23} és előtte a *ISAbal1* szekvencia, a **B** csoport tagjai viszont a *bla*_{NDM-1} gént hordozták, míg a szintén relative kis csoport (**A**) tagjai a *bla*_{GES-11}-et. Megjegyzendő, hogy az egyaránt *bla*_{OXA-66} allélt hordozó, de a PFGE minta lapján jól elkülönülő **C** és **E** csoport tagjai közül az *armA* gént csak az utóbbi, legnagyobb csoport tagjai tartalmazták (**21. táblázat**).

9. ábra Klinikai és környezeti *A. baumannii* izolátumok PFGE mintázata



A keretek hasonló (>85%) PFGE mintázatokat jelölnek

* Betegekből származó izolátumok

21. táblázat Az egyes CRAb típusok tulajdonságai

PFGE minta*	N	Klinikai minta	Környezeti minta	Osztály	Antibiotikum érzékenység	OXA-50-szerű allél	<i>bla</i> _{OXA-23}	Egyéb béta-laktamáz	16 S metiláz
A	4	1	3	Női Seb	COL	OXA-69	+	GES-11	-
B	2	1	1	Férfi Seb	AMI, GEN, TOB, NET, COL	OXA-94	-	NDM-1	-
C	9	3	6	Intenzív, Női Bel, Férfi Seb	TOB, COL	OXA-66	+	-	-
D	1	1	0	Női Bel	AMI, GEN, TOB, NET, COL	OXA-51	+	-	-
E	35	15	20	Intenzív, Női Bel, Férfi Bel	COL	OXA-66	+	-	<i>armA</i>

* A 9. ábra alapján

Eredményeink azt mutatják, hogy minden vizsgált osztályon jelen volt a CRAb környezeti szennyezőként és a betegektől származó mintákban egyaránt. A vizsgálat adatai nem tették lehetővé, hogy állást foglaljunk tekintetben, hogy a fokozott környezeti szennyezés okozta-e egyes osztályokon a magasabb fertőzési számokat vagy fordítva, több fertőzés miatt volt a környezet szennyezettebb. Úgy véljük, mindkét lehetőség fennáll, bár a két érték (környezet szennyezettsége és a betegek fertőzöttsége) között nem volt egyenes arányú összefüggés: a klinikai felszínek tekintetében három legmagasabb kontamináltsági szintet mutató osztály (Intenzív, férfi és női Bel) esetszámai között nagyon nagy volt a különbség (**20. táblázat**). Az Intenzív osztály magas esetszámát feltételezhetően a speciális betegállomány magyarázza. Noha a rendelkezésre álló adatok nem tették lehetővé a tényleges fertőzés és kolonizáció elkülönítését, a vizsgálati anyagok többsége fiziológiásan baktérium-mentes mintákból származott.

A legnagyobb számban előforduló, a *bla_{OXA-66}* allélt hordozó típus a CC2 globális klón ²⁵⁴ (korábbi jelölés szerint WW2 ²⁴⁸) volt, mely világszerte az egyik legelterjedtebb klón, és korábban már elfordult a régióban is (lásd jelen disszertáció előző, 4.2.2.4. fejezetét, **XI.**). A már abban a korábbi vizsgálatban is megfigyelt aggasztó tendencia, a széleskörű aminoglikozid rezisztenciát okozó *armA* gén terjedése, tovább látszik erősödni, még akkor is, ha csakúgy, mint korábban, a gén jelenléte a CC2/WW2 klónnak csak egyes PFGE típusára terjed ki (**21. táblázat**).

A vizsgálatban alacsonyabb számú izolátummal rendelkező típusok (*bla_{OXA-51}* – CC15, *bla_{OXA-94}* – CC6 és *bla_{OXA-69}* – CC1/WW1 ²⁵⁴) szintén globális klónok képviselői voltak. A CC1 klón tagjai jól ismertek a régióban is (lásd jelen disszertáció előző, 4.2.2.4. fejezetét, **XI.**). Ennek, a vizsgálatban előforduló tagjai hordozták a GES-11 karbapenemázt, mely leírása óta ²⁵⁵, szintén elterjedt a régióban izolált törzsek között ^{228,256,257}.

Összességében elmondhatjuk, hogy a vizsgált kórházban magas volt a CRAb jelenléte a környezeti mintákban. A tény, hogy a betegekből azonos típusú törzsek kerültek izolálásra, felveti annak lehetőségét, hogy a kontaminált környezet szolgálhatott, legalábbis egyes fertőzések esetén, forrásként. Bár minden olyan PFGE csoportban, amelyekben legalább két törzs volt, megtalálhatóak voltak környezeti és betegből származó izolátumok is, csak a két legnagyobb csoport (**C** és **E**) tagjai fordultak elő több osztályon, ezek esetében az osztályok közötti átvitel valószínűsíthető. Noha a kórház szabályzata kiterjedt és megfelelő

fertőtlenítési módszereket írt elő, tekintetben nem álltak adatok rendelkezésre, hogy ezt milyen következeteséggel valósították meg. Ugyanakkor jelen vizsgálat kereteit meghaladta a törzsek biocidekkel szembeni ellenállásának vizsgálata. Bár egy közelmúltban az országban folytatott vizsgálat nem tudott összefüggést kimutatni a fertőtlenítő szerekkel szemben mutatott MIC értékek és egyes ismert biocid rezisztencia gének között²⁵⁸, a jelen projektben észlelt magasfokú környezeti kontamináció valós okának pontos tisztázásához a jövőben ezt is vizsgálni kell. Adataink mindenképpen hangsúlyozzák a környezeti kontamináció lehetséges fertőző forrás szerepét, és így a környezeti fertőtlenítés rendszeres ellenőrzése mindenképpen javasolt. Ilyen irányú javaslatainkat megtettük a kórház infekció kontroll szolgálata felé.

4.3. KARBAPENEM REZISZTENS BÉLBAKTÉRIUMOK VIZSGÁLATA

4.3.1. Előzmények

A kétezres évek második évtizedének elejére már jelentek meg leírások a Közel-Kelet országában izolált első CRE törzsekről, elsősorban nyugati laboratóriumokba küldött izolátumok vizsgálatai eredményeként. E törzsek, a régió földrajzi elhelyezkedéséből fakadóan, azaz a Mediterrán medence, illetve az Indiai szubkontinens közé ékelődve, főleg az OXA-48 csoport különböző alléljai, illetve NDM-1-et termelő törzsek voltak^{75,77,78,114,116}. Az NDM allélok között fokozott imipenem rezisztenciát okozó képessége miatt kiemelt jelentőségű NDM-7 allél, bár globálisan szintén elterjedt volt már²⁵⁹⁻²⁶², sőt jelentős járványokat is okozott²⁶³, ebben a régióban még nem került izolálásra. Az ebben az időben a Mediterráneumban már nem ritka VIM típusú karbapenemázok²⁶⁴ ekkor még nem jelentek meg a régió bélbaktériumaiban, jóllehet nem fermentáló törzsekben már előfordultak^{73,229}. Hasonlóképpen, bár KPC termelő törzsek ekkor már nagyon elterjedtek voltak globálisan²⁶⁵, és jelentős járványokat okoztak az olyan, legalábbis földrajzi értelemben közeli országokban is, mint Izrael²⁶⁶, a VIM típusú karbapenemázokhoz hasonlóan, részletes leírásuk az Arab-félsziget országaiból nem volt ismert. Az egyetlen KPC és VIM termelő *E. coli* ST131 törzsről Kuvaitból számoltak be egy kongresszusi összefoglalóban a karbapenemázok alléljainak, genetikai hátterének részletes ismertetése nélkül²⁶⁷.

Ebben az időben több kórházi klinikai mikrobiológiai szolgálat küldött laboratóriumunkba alkalmanként karbapenem rezisztens izolátumokat a rezisztencia genetikai hátterének tisztázása céljából, ami többek között lehetőséget adott a régióban korábban még nem detektált karbapenem rezisztencia mechanizmusok keresésére is.

Ismert volt, hogy az IncX3 plazmidok jelentős szerepet játszanak számos béta-laktamáz, így karbapenemáz gének horizontális terjesztésében¹⁴⁶. Vizsgálataink során arra kerestük a választ, hogy az országban található IncX3 típusú plazmidok mennyire heterogének, elterjedtségük mennyire tulajdonítható horizontális génátvitelnek és mennyire az azokat hordozó törzsek klonális terjedésnek és jelenlétük mennyire magyarázható esetleges helyi evolúciójukkal, illetve más földrajzi térségekből történt idekerülésükkel.

A kétezres évek második évtizedének elején, mikor a CRE probléma már egyértelműen jelen volt a régióban, a kezdeti vizsgálatok ^{61,75-78,114,116,268,269}, ideértve saját korai vizsgálatainkat is (lásd 4.3.2.1. fejezet, **X, XII, XIV, XVII**) elsősorban egyes karbapenemázok lokálisan első leírását célozták. Volt ugyan egy korai szaúdi kísérlet arra nézve, hogy az egyes karbapenem rezisztencia mechanizmusok arányát a teljes régióban vizsgálják, de az alacsony mintaszámmal (62 törzs), a teljes régiót tekintve nem reprezentatív módon történt (míg a törzsek 67,7%-a egyetlen Szaúdi kórházból származott, a régió többi országa néhány, az EAE egyetlen törzssel szerepelt csak) ²⁷⁰. Tehát, bár már számos adat állt rendelkezésre arra nézve, hogy mely karbapenemázok fordulnak elő a régióban, ezek aránya, jóllehet ennek hatása lehet az empirikus kezelésre is ²⁷¹, nem volt ismert.

Az aminoglikozid antibiotikumok felhasználhatóságának gyakorlatilag teljes kizárásával, és a karbapenemáz termelők között ismert gyakori előfordulásával ²⁷² a 16S RNS metiláz géneknek nagyon nagy jelentőségük van a CRE törzsek esetén ⁷⁷. Ugyanakkor előfordulásukról a régió országaiban ebből az időszakból szintén csak nagyon kevés adat állt rendelkezésre. Ennek megfelelően célul tűztük ki, hogy úgy a különböző karbapenemáz enzimek, mint a leggyakoribb 16S metiláz enzim gének helyi, illetve régiós prevalenciáját meghatározzuk. A legutolsó ilyen vizsgálat során, mely a CRE helyi járványtanának az első országos felmérése volt, megkíséreltük az egyes kórházak szintjéig is analizálni az eredményeket.

Jóllehet, alacsony mintaszámokon végzett korai vizsgálataink szerint (lásd 4.3.2.1. fejezet, **X, XII, XIV, XVII**) úgy tűnt, hogy a CRE-vel fertőzött betegek csak kis részénél volt feltételezhető a külföldön történt expozíciót követő kórokozó import, mégis informálisan elterjedt nézet volt, hogy a helyi esetek többségéért ez a felelős. Éppen ezért vizsgáltuk azt is, hogy mekkora szerepe lehet a kórokozóval történt külföldi expozíciónak.

A több karbapenemáz termelésére való képesség jól ismert jelenség a CRE törzsek között. Dupla karbapenemáz termelőket a régióval szoros kapcsolatban lévő India szubkontinensen is többször izoláltak ²⁷³ és több vizsgálatunk során magunk is e törzsek relatíve magas arányát tapasztaltuk (**XIII, XXIII, XXIV, XXVIII**). Éppen ezért 5, az EAE-ban izolált NDM+OXA-48-szerű karbapenemáz termelő *K. pneumoniae* törzset részletes vizsgálat alá vettünk és hasonlítottuk azokat 1-1 Szaúdi-Arábiában illetve Ománban talált törzshöz, annak kiderítése

céljából, hogy az EAE-ban talált magas szám klonális terjedésnek, vagy egymástól független törzsek jelenlétének tudható-e be.

Egy adott régió járványtani helyzetét jelentősen alakítják, az esetleges regionális különbségeket befolyásolják az ott megtelepedett klónok. Korábban egyes kisebb léptékű vizsgálatokból ismert volt, hogy a régióban bizonyos, globálisan is jelentős *K. pneumoniae* szekvencia típusok, pl. ST14⁷⁷, ST147⁷⁸, ST11^{78,116} előfordulnak, de nem került sor egy régióon vagy országon belül a domináns klónok azonosítására, tényleges arányuk meghatározására és jellemzésükre.

A 2009-ben kezdődött CRE járvány 2019-re az EAE-ban kritikus szintet ért el: az összes *Enterobacterales* izolátum 3%-a, a *K. pneumoniae* törzsek 5%-a nem volt érzékeny ertapenemre⁸². (Összehasonlításként, ebben az időszakban a hazánkban izolált *K. pneumoniae* törzsek 99,1%-a ertapenem érzékeny volt²⁷⁴). A helyzet kialakulását elvileg befolyásolhatta, hogy az évtized során semmilyen koordinált, nemzeti szintű törzskövetés, járványtani vizsgálat nem történt. Ugyanakkor nem volt ismert, hogy a 2019-ben prevalens törzsek már jelen voltak-e a járvány kezdetén, és így esetleg folyamatos követésükkel a helyzet súlyosbodása legalábbis fékezhető lett volna, vagy a helyzetért csak az utóbbi években, új típusú, esetleg robbanásszerűen betörő törzsek lehetnek a felelősek. Ezt tisztázandó egy retrospektív vizsgálat során az Abu Dhabiban 2018-19-ben gyűjtött törzseket összehasonlítottuk az ebben az Emirátusban 2009 és 2015 között izolált törzsek tulajdonságaival.

Az antibiotikum rezisztencia terjedésében a klonálítás mellett jelentős szerepet játszik a rezisztencia gének horizontális átvitele is^{275,276}. Ennek révén új törzsek, akár új fajok terjedési képességét kihasználva fokozódhat egy vagy több rezisztencia bélyeg jelenléte a közösségben. Bár a jelenséget gyakran illetjük a „*plazmid epidemiológia*” kifejezéssel, annak komplexitását tovább növelik a rezisztencia géneket hordozó transzpozonoknak, integronoknak a genom különböző elemei (kromoszóma, episzómák) közötti mozgása²⁷⁷. 2009 és 2011 között Kuvaitban a *bla_{VIM}* gént hordozó, de többségükben egymástól különböző törzsek elszaporodását észlelték²⁷⁸. Vizsgálataink során arra kerestük a választ, hogy a jelenség megmagyarázható-e a *bla_{VIM}* gént hordozó mobilis genetikai elemek terjedésével.

4.3.2. Eredmények és megbeszélés

4.3.2.1. Egyes karbapenemázok országosan vagy regionálisan első leírása, illetve génjeik regionálisan első részletes jellemzése (X, XII, XIV, XVII)

NDM-1 (XII)

2009 és 2011 között négy Abu Dhabi Emirátusi kórházból érkezett 28 karbapenem rezisztens *Enterobacterales* között PCR-ral hét NDM pozitív törzset azonosítottunk, melyek mind a *bla_{NDM-1}* gént hordozták (**22. táblázat**).

A törzsek egy kivételével (ABC83) az Al Ain-i Tawam kórházból származtak. A mintavételt megelőző egy évben csak két beteg hagyta el az EAE-t: egy beteg (ABC83 törzs) járt Irakban, és egy (ABC52) Tawam kórházi felvételét egy hónappal megelőzően hospitalizálva volt Indiában. A Tawam kórházban egy másik beteget (ABC53 törzs) 7 napig az ő kórterme melletti kórteremben ápolták. Az ABC52 és ABC53 törzs azonos PFGE mintát mutatott.

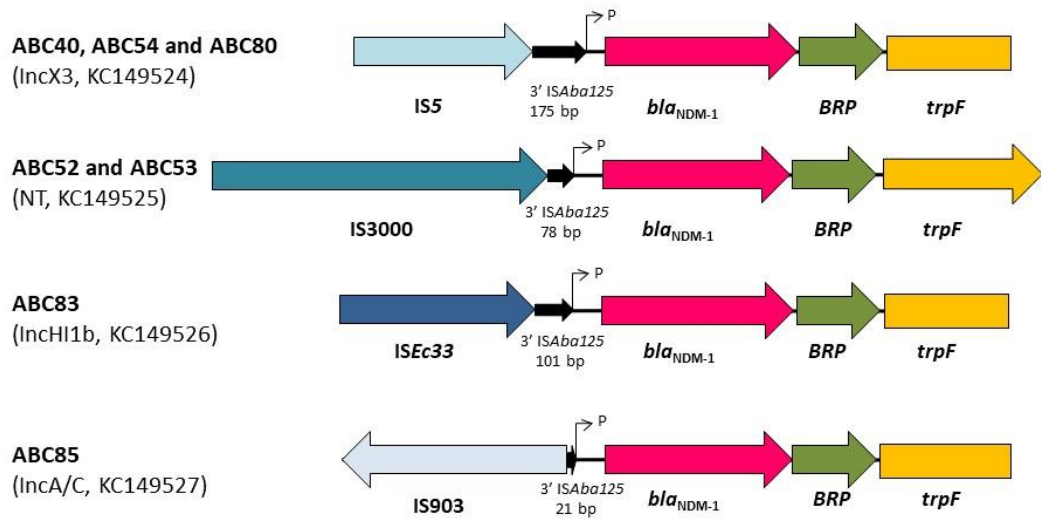
Mind a hét törzsből sikerült konjugációval, több plazmid együttes átvitele esetén a konjugációt követő transzformációval csak a *bla_{NDM-1}*-t hordozó plazmidot tartalmazó származékot előállítani. Az NDM plazmiddal minden esetben ko-transzferálódott legalább egy ESBL-t kódoló gén, de az ABC83 és ABC85 törzsek esetén számos további rezisztencia gén is, ideértve az olyan 16S metiláz géneket, mint az *armA* vagy *rmtC* (**22. táblázat**). A plazmidok *bla_{NDM-1}* génjét határoló szekvenciák tekintetében Inc csoportjaik szerint, különböztek egymástól (**10. ábra (l. 65. old.)**). A gén átírásához promotert szolgáltató IS*Aba125* elemben különböző IS elemek okoztak deléciókat, míg a gén mögött elhelyezkedő szakaszok minden plazmidon azonosak voltak. A három IncX3 plazmid restrikciós mintája három enzimmel történt emésztés után közel azonos volt (**11. ábra (l. 65. old.)**).

22. táblázat *bla*_{NDM-1} gént hordozó törzsek és NDM plazmidjaik tulajdonsága

Törzs	Faj	Minta	Izolálás ideje	Rezisztencia	ST	Egyéb rezisztencia gének	NDM plazmid	
							Inc	Méret (kb)
ABC40	<i>E. cloacae</i>	Seb	2009. 08.	IMI, MER, ERT, CTZ, AZT, CIP, GEN, TET, CHL	NT	<u><i>bla</i>_{SHV-12}</u> , <i>qnrB</i>	IncX3	50
ABC52	<i>K. pneumoniae</i>	Trachea	2010. 08.	IMI, MER, ERT, CTZ, AZT, CIP, AMI, GEN, TRS, CHL	ST11	<u><i>bla</i>_{SHV-12}</u> , <i>bla</i> _{CMY-2} , <i>qnrB</i>	NT	50
ABC53	<i>K. pneumoniae</i>	Trachea	2010. 09.	IMI, MER, ERT, CTZ, AZT, CIP, AMI, GEN, TRS, CHL	ST11	<u><i>bla</i>_{SHV-12}</u> , <i>qnrB</i>	NT	50
ABC54	<i>E. coli</i>	Vizelet	2010. 12.	IMI, MER, ERT, CTZ, AZT, TET, TRS	ST2206	<u><i>bla</i>_{SHV-12}</u> , <i>qnrB</i>	IncX3	50
ABC80	<i>C. freundii</i>	Vizelet	2011. 05.	IMI, MER, ERT, CTZ, AZT, CIP, TRS	NT	<u><i>bla</i>_{SHV-12}</u> , <i>bla</i> _{CMY-72} , <i>qnrB</i>	IncX3	50
ABC83	<i>K. pneumoniae</i>	Orrüreg	2011. 06.	MER, ERT, CTZ, AZT, CIP, AMI, GEN, TET, TRS, CHL	ST14	<u><i>bla</i>_{SHV-11}</u> , <u><i>bla</i>_{CTX-M-15}</u> , <i>armA</i> , <i>qnrB</i>	IncHI1b	170
ABC85	<i>E. coli</i>	Trachea	2011. 09.	MER, ERT, CTZ, AZT, CIP, AMI, GEN, TET, TRS	ST2531	<u><i>bla</i>_{SHV-12}</u> , <u><i>bla</i>_{CMY-2}</u> , <u><i>bla</i>_{SHV-12}</u> , <u><i>bla</i>_{DHA-1}</u> , <u><i>bla</i>_{CTX-M-15}</u> , <u><i>rmtC</i></u>	IncA/C	150

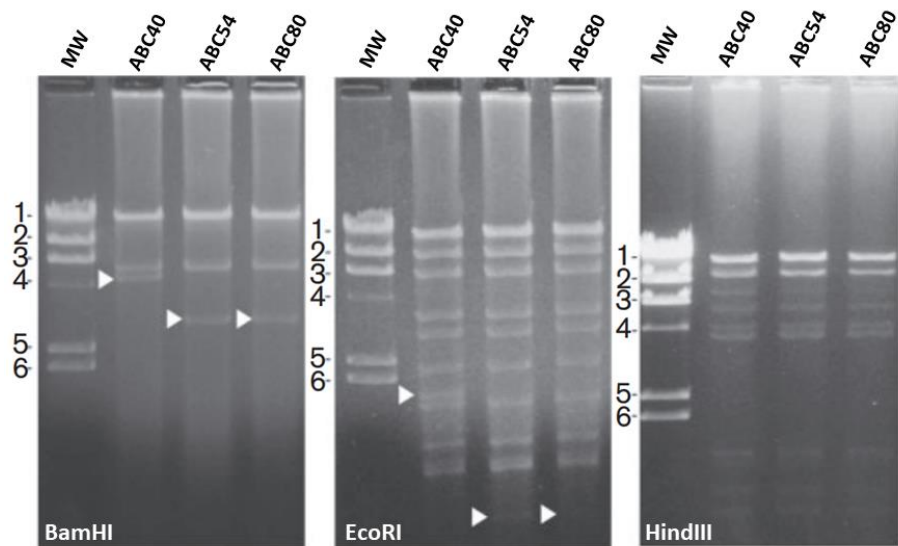
NT – nem tipizálható, **vastag, aláhúzott** – a pNDM-mel együtt átvitt gének

10. ábra Az NDM-1 plazmidok *bla*_{NDM-1} gént határoló régiói



Zárójelben az Inc csoport és a GenBank szám. **NT** – nem tipizálható, **P** - promóter

11. ábra Az IncX3 NDM-1 plazmidok restrikciós polimorfizmus vizsgálata



A fehér nyilak az eltéréseket jelölik. **MW** – λ DNS Hind III-mal emésztve
1: 23130 bp, 2: 9416 bp, 3: 6557 bp, 4: 4361 bp, 5: 2322 bp, 6: 2027 bp

Vizsgálataink során először sikerült kimutatni NDM-1 karbapenemázt termelő bélbaktériumokat az EAE-ban. E megfigyelés, együtt az enzimnek a régióból származó többi leírásával^{75,77,78,114} támogatja azt az elképzelést²⁷⁹, miszerint az Indiai szubkontinens után a régió az NDM-1 másodlagos rezervoárjaként szolgálhat. Ezt támasztja alá az is, hogy az általunk azonosított NDM-1 -et kifejező törzsek változatos fajokat képviseltek. Fontos megfigyelés, hogy egy esetben feltételezhető volt a nozokomiális átvitel (ABC52 és ABC53), ráadásul egy olyan típussal (*K. pneumoniae* ST11), mely globálisan rendkívül elterjedt, már Magyarországon is okozott kórházi járványokat²⁸⁰, számos ESBL és karbapenemáz gén hordozásával kapcsolatban leírták már, és egyes képviselői hipervirulensek^{281,282}. További fontos megfigyelésnek tartjuk, hogy a *bla*_{NDM-1} gén többféle Inc típusú plazmidon helyezkedett el, minden esetben az Inc típuson belül azonos, de a típusok között eltérő környezetben (**10. ábra**). Ezek között különös jelentőséggel bír az IncX3 plazmid, mely három különböző fajban is jelen volt (**22. táblázat**) rámutatva e plazmid típusnak a régióban úgy tűnik jelentős, a *bla*_{NDM-1} génnek faji határokon átnyúló terjedésében betöltött szerepére. A másik régióban, ahol hasonló szerkezetű, több fajban előforduló, NDM-1-et kódoló, az általunk vizsgáltakkal azonos szerkezetű IncX3 plazmidokat leírták, Kína volt²⁸³. Megjegyzendő, hogy az izolálás időpontját tekintve az Emirátusi törzsek 2 évvel megelőzték a kínaiakat, ismét csak felvetve a régió esetleges forrás szerepének²⁷⁹ lehetőségét. Szintén figyelemre méltó, hogy e konjugatív plazmidok mindegyike a *bla*_{NDM-1} gén mellett legalább egy SHV típusú ESBL gént tartalmazott, sőt az IncHI1b és IncA/C típusok emellett még *bla*_{CTX-M-15} és 16S metiláz géneket (*armA*, *rmtC*) is átvittek. A karbapenemáz és 16S metiláz gének epizomális ko-lokalizációja jól ismert jelenség²⁷².

NDM-7 (XVII)

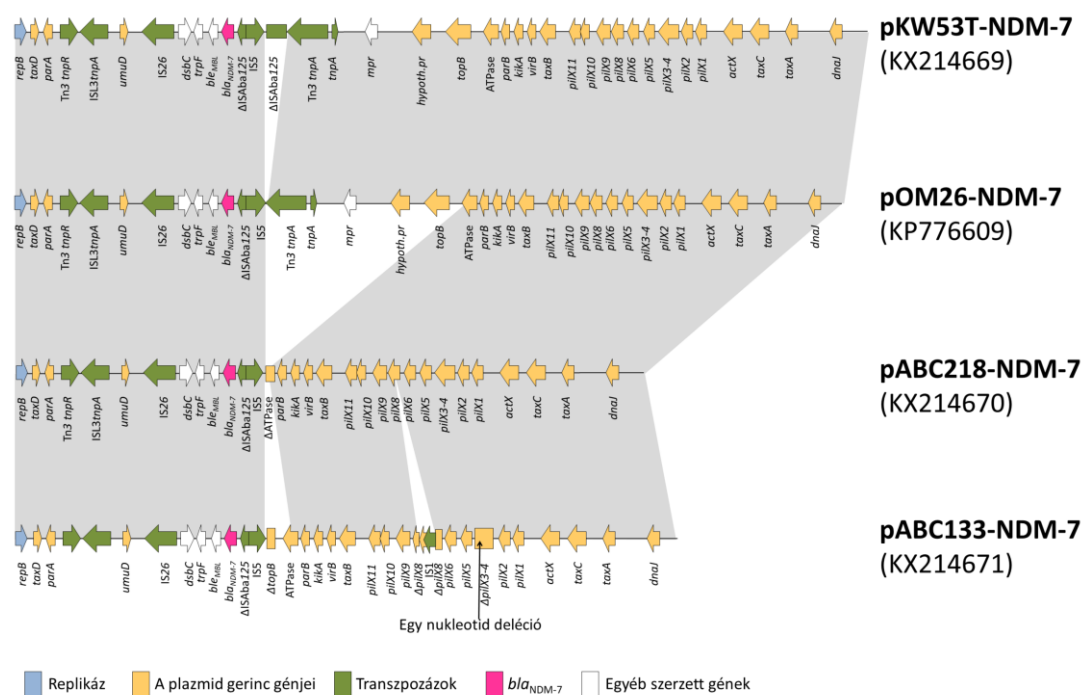
Két, Ománból, illetve az EAE-ból származó, általunk már korábban leírt, de részleteiben nem jellemzett NDM-7-et kifejező *E. coli* törzset (lásd **XV**, 4.3.2.3. fejezet) és további két, 57 NDM pozitív törzs vizsgálata során azonosított, ezt az allélt tartalmazó kuvaiti, illetve emirátusi törzset vetettünk részletes vizsgálat alá. Mind a négy törzs 2012-ben került izolálásra. Az ezt megelőző évben a kuvaiti és az egyik emirátusi beteg Indiában kórházi kezelés alatt állt, az előző ceftriaxon és amikacin, utóbbi ceftriaxon és meropenem kezelésben részesült. A négy törzs PFGE mintája különböző volt (<70 % azonosság) és eltérő szekvencia típusuk volt, bár a OM26-os és ABC128-as ST típusai azonos klonális komplexbe (CC10) tartoztak (**23. táblázat**).

23. táblázat *bla*_{NDM-7}-et az IncX3 plazmidjukon hordozó *E. coli* törzsek a régióban

Törzs	Ország	Minta	Izolálás ideje	Rezisztencia	ST	Rezisztencia gének	Méret (bp)
KW53T	Kuvait	Vizelet	2012 07.	IMI, MER, ERT, CTZ, AZT, CIP, GEN, AMI, TET, CHL	ST448	<i>bla</i> _{NDM-7} , <i>bla</i> _{TEM-1} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{CMY-42} , <i>rmtB</i> , <i>aac6'-1b-cr</i> , <i>qacEΔ1</i> , <i>mdfA</i> , <i>ydgE</i> , <i>ydgF</i> , <i>sugE(C)</i> , <i>sugE(P)</i>	46 161
OM26	Omán	Trachea	2012 11.	IMI, MER, ERT, CTZ, AZT, CIP, GEN, AMI, TET, TRS	ST4107 (CC10)	<i>bla</i> _{NDM-7} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{CMY-42} , <i>aac6'-1b-cr</i> , <i>qacEΔ1</i> , <i>mdfA</i> , <i>ydgE</i> , <i>ydgF</i> , <i>sugE(C)</i> , <i>sugE(P)</i>	45 122
ABC133	EAE	Köpet	2012 12.	IMI, MER, ERT, CTZ, AZT, CIP, GEN, TET, CHL	ST4108	<i>bla</i> _{NDM-7} , <i>bla</i> _{TEM-1} , <i>bla</i> _{CMY-42} , <i>aac6'-1b-cr</i> , <i>emrE</i> , <i>mdfA</i> , <i>ydgE</i> , <i>ydgF</i> , <i>sugE(C)</i> , <i>sugE(P)</i>	37 070
ABC218	EAE	Sebváladék	2012 12.	IMI, MER, ERT, CTZ, AZT, CIP, GEN, TRS	ST167 (CC10)	<i>bla</i> _{NDM-7} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{CMY-2} , <i>aac6'-1b-cr</i> , <i>qacEΔ1</i> , <i>mdfA</i> , <i>ydgE</i> , <i>ydgF</i> , <i>sugE(C)</i>	34 403

Az ABC133 törzs kivételével minden izolátumból sikerült a *bla*_{NDM-7} gént konjugációval megfelelő recipiensbe átvinni, míg az utóbbi törzs esetén kizárólag pNDM-7 plazmidot tartalmazó származékot csak transzformációval tudtunk nyerni. Jóllehet a törzsek számos rezisztencia gént hordoztak (**23. táblázat**), ezek egyike sem transzferálódott a *bla*_{NDM-7} génnel együtt. A négy törzs IncX3 plazmidjainak teljes szekvenciáit összehasonlítva (**12. ábra**) látható volt, hogy a *bla*_{NDM-7} géntől, a gén átírási irányát tekintve lefelé, a szekvenciák megegyeztek. A legnagyobb, pKW37T-NDM-7 plazmid a IS26 transzpozáz génjében azonosított, lle106→Leu változást előidéző nukleotid különbségtől eltekintve azonos volt a Kanadában *K. pneumoniae*-ben leírt plazmiddal (GenBank CP012990.1, ²⁸⁴). A *bla*_{NDM-7} gén előtt elhelyezkedő ISAb125 mind a négy törzsben csak részlegesen volt jelen egy IS5 elem inzerciója következtében, ami után az ománi és a két emirátusi törzsben az ISAb125 5' vége hiányzott. Ettől, a *bla*_{NDM-7} gén átírási irányát tekintve felfelé, az utóbbi három plazmidban különböző méretű deléciók voltak megfigyelhetőek. Megjegyzendő, hogy a konjugációval át nem vitt törzs esetén a konjugációs apparátus génei sérültek voltak: a *pilX8* génbe egy IS1 elem inzertálódott, míg a *pilX3*-ban egy nukleotidot érintő deléció volt azonosítható.

12. ábra A régióban izolált törzsek pNDM-7 IncX3 plazmidjainak teljes szerkezete



A szürke sávok a plazmidok közötti azonos területeket jelzik. Zárójelben a GenBank számok láthatóak

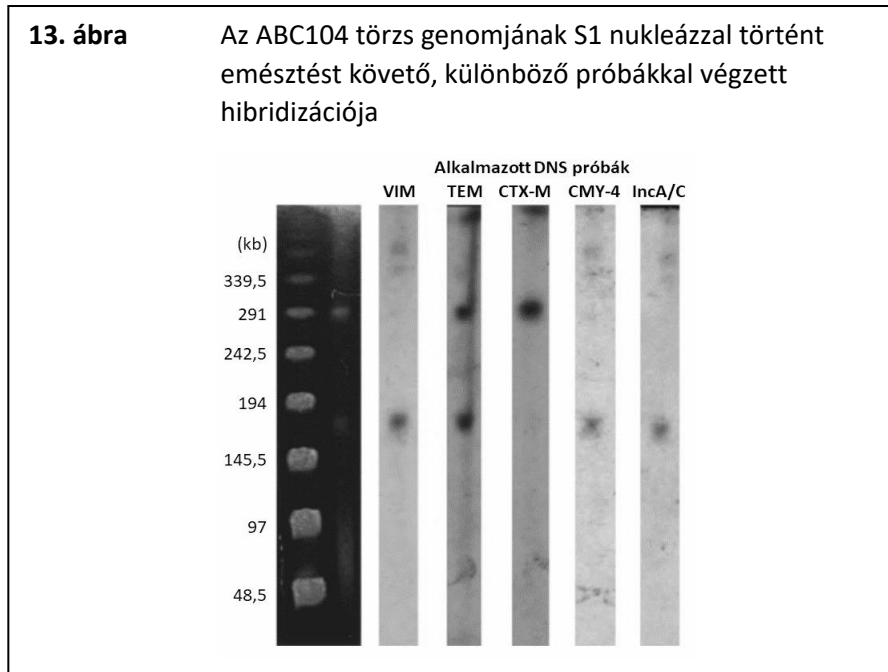
A régióban először általunk kimutatott NDM-7 allél tovább hangsúlyozza az IncX3 plazmidok jelentőségét. A régió kívül már más típusú plazmidokon (pl. IncF, IncA/C) is leírták ezt az allélt, míg IncX3 pNDM-7 plazmidot korábban Németországból ²⁸⁵, Kínából ²⁸⁶ és Kanadából ²⁸⁴ jelentettek. Utóbbi azért különösen figyelemre méltó, mert a kuvaiti törzsben detektált pKW53-NDM-7 mindössze egy nukleotidban tért el a kanadai plazmidtól (CP012990). Megjegyzendő, hogy Kanadában ezt a plazmidot, azonos szerkezettel, több fajban is kimutatták, míg esetünkben mind a négy plazmid hosszabb-rövidebb deléciók miatt némileg eltért egymástól (**12. ábra**). Jelen vizsgálataink arra nem adnak választ, hogy a négy egymástól eltérő törzs egymástól függetlenül került-e a régióba, vagy a mobilis plazmidok különböző recipiensekbe történt helyi átvitele, és ezt követő többféle deléciója hozta-e létre a tapasztalt változatosságot úgy a törzsek, mint a hordozott pNDM-7 IncX3 plazmidokat tekintve. De a megfigyelés mindenképpen felhívja a figyelmet ennek az általában fokozott karbapenem rezisztenciát okozó ²⁶⁰ allélnak a regionális jelenlétére.

VIM-4 (X)

Harmincnégy, karbapenemekre nem érzékeny, különböző Abu Dhabi kórházakból származó *Enterobacterales* izolátumot PCR-ral vizsgálva a globálisan leggyakoribb karbapenemáz gének jelenlétére, 9 NDM és 11 OXA-48-szerű enzimet termelő izolátum mellett azonosítottunk egy *E. cloacae* törzset (ABC104), mely a *bla*_{VIM} gént hordozta. A gén direkt szekvenálással meghatározott nukleotid sorrendje alapján a *bla*_{VIM-4}-es allélnak bizonyult. A törzset 2012 januárjában izolálták egy 45 éves egyiptomi férfiből, akit 12 éves kora óta gerincsérüléséből fakadó vizelet inkontinencia, és egy 3 évvel korábban sebészileg csak részleges eltávolításra kerülő ependymoma miatt többször állt változatos, széles spektrumú antibiotikus kezelés alatt részint Egyiptomban, részint az Emirátusokban hospitalizálva. A törzs minociklin és kolisztin kivételével minden vizsgált antibiotikummal szemben rezisztens volt.

A *bla*_{VIM-4} gént nem sikerült konjugációval átvinni megfelelő recipiensbe. S1 nukleáz emésztést, pulzáló mezőjű elektroforézist, majd különböző DNS próbákkal történő hibridizációt alkalmazva, illetve a megfelelő PCR amplikonok szekvenálásával sikerült igazolni, hogy a *bla*_{VIM-4} gén a törzs egy kb. 175 kb-os IncA/C plazmidján helyezkedik el együtt a *bla*_{CMY-4} és egy *bla*_{TEM} génnel, míg utóbbi szintén megtalálható volt a *bla*_{CTX-M-15} génnel együtt egy közel 300 kp plazmidon is (**13. ábra**). Ismert szerkezetű *bla*_{VIM}-et tartalmazó plazmidok szekvenciái (GenBank AJ704863 és AY339625) alapján tervezett primerek

segítségével történt szekvenálások során megállapítottuk, hogy az ABC104 törzs pVIM plazmidján a *bla*_{VIM-4}, egy I. osztályú integron része. Ezt, összehasonlítva néhány másutt detektált plazmid hasonló szakaszával, a **24. táblázatban** mutatjuk.



VIM karbapenemázt, annak allél típusát és genetikai környezetét először mi írtunk le a Fél-sziget országaiból. Korábban csak egy konferencia összefoglalóban szerepelt egy VIM és KPC termelő *E. coli* izolátum, melyben csupán a gének jelenlétéről történt említés²⁶⁷. A *bla*_{VIM-4} és *bla*_{CMY-4} lehetséges ko-lokalizációja IncA/C típusú plazmidokon ismert jelenség²⁸⁷. A pVIM-4 plazmidot nem sikerült *in vitro* konjugációval átvinnünk, és ennek okát nem volt lehetőségünk tisztázni. Ugyanakkor figyelemre méltó, hogy a közelmúltban Olaszországban az általunk detektálthoz hasonló méretű, szintén mindkét gént hordozó IncA/C típusú konjugatív plazmidot azonosítottak, mely ugyanazon betegből izolált két fajban is megtalálható volt²⁸⁸. Ez felveti annak lehetőségét, hogy a plazmid, legalábbis potenciálisan ebben a régióban is terjedhet, akár külön fajok között is, horizontális génátvitel révén.

24. táblázat Az ABC104 törzs pVIM plazmidja I. osztályú integronjának szerkezet más izolátumok hasonló struktúráihoz hasonlítva

Faj	Ország	GenBank	Az I. osztályú integron szerkezete								pVIM		
			Gén kazetták (GC)					3' vég			Méret (kb)	Inc	Egyéb β -laktamázok
			GC1	GC2	GC3	GC4	GC5						
Ent.c.	EAE ¹	JX275775	<i>bla</i> _{VIM-4}	<i>aacA7</i>	<i>dfrA1</i>	Δ <i>aadA1</i>	<i>smr</i>	<i>ISPa21</i>	<i>qacED1</i>	<i>sul1</i>	175	A/C	CMY-4, TEM-1
E.c.	Oroszo. ²	-	<i>bla</i> _{VIM-4}	<i>aacA7</i>	<i>dfrA1</i>	Δ <i>aadA1</i>	<i>smr</i>	<i>ISPa21</i>			40	A/C	
Ent.c., K.p	Olaszo. ³	AJ704863	<i>bla</i> _{VIM-4}	<i>aacA7</i>	<i>dfrA1</i>	Δ <i>aadA1</i>	<i>smr</i>	<i>ISPa21</i>			ismeretlen	A/C	CMY-4
K.p.	Tunézia ⁴	AM181293	<i>bla</i> _{VIM-4}	<i>aacA7</i>	<i>dfrA1</i>	Δ <i>aadA1</i>	ND	ND			>130	NT	
K.p., K.o.,	Magyar. ⁵	GU181265 GU181269	<i>aacA4</i>	<i>bla</i> _{VIM-4}	-	-	-	<i>qacED1</i>			90	NT	
Ent.c.	Görögo. ⁶	EF467306	<i>bla</i> _{VIM-4}	<i>aacA7</i>	<i>dfrA1</i>	<i>aadA1</i>	-	<i>qacED1</i>	<i>sul1</i>		40	NT	SHV-2a
K.p.	Görögo. ⁷	-	<i>bla</i> _{VIM-4}	-	-	-	-	-			175	NT	

Ent.c. – *E. cloacae*, E.c. – *E. coli*, K.p. – *K. pneumoniae*, K.o. – *K. oxytoca*, ND – nem volt kimutatható, NT – nem tesztelve

1. – jelen vizsgálat, 2. – ²⁸⁹, 3. – ²⁸⁷, 4. – ²⁹⁰, 5. – ²⁹¹, 6. – ²⁹², 7. – ²⁹³

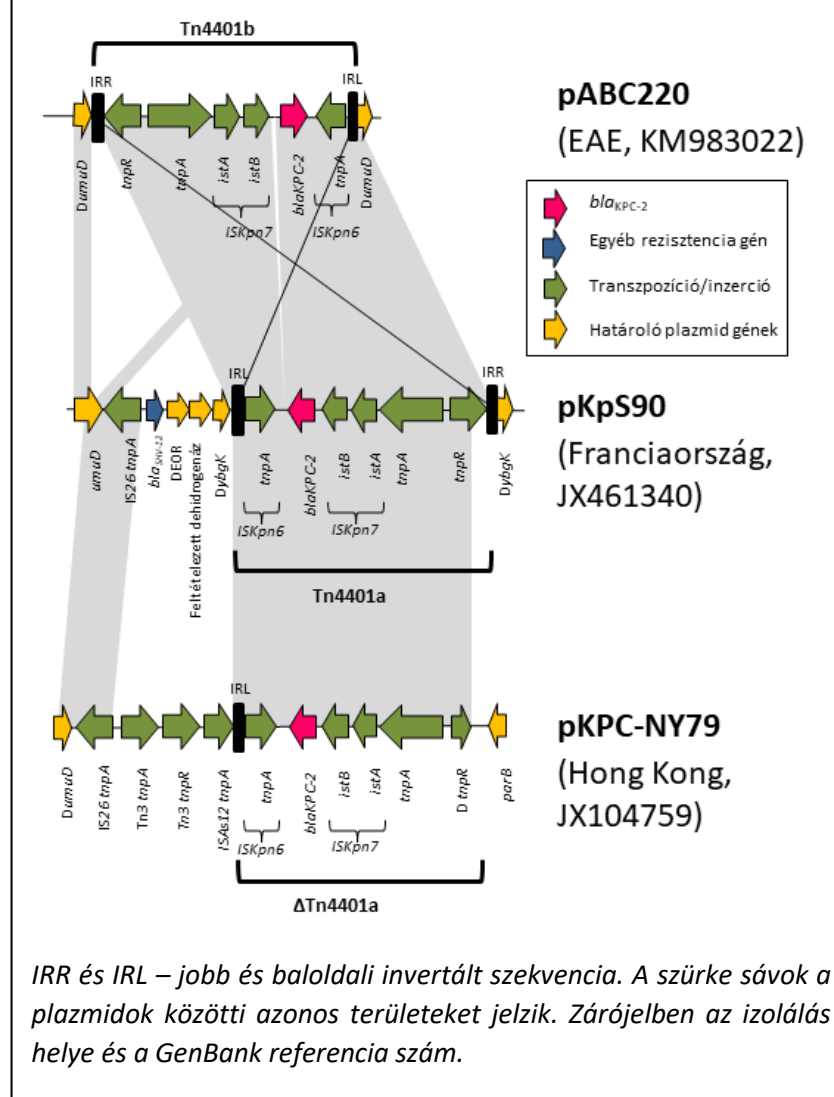
KPC-2 (XIV)

Az Al-Rashid kórházban (Dubai) 2012 márciusa és 2014 februárja között izolált 34 karbapenemekkel szemben nem érzékeny *Enterobacterales* törzset PCR-ral a leggyakoribb karbapenemáz génekre vizsgálva a 6 NDM, 7 OXA-48-szerű, 17, az NDM és az OXA típusú enzimek génjeit egyaránt hordozó és 2 *bla_{KPC}* pozitív törzset (*K. pneumoniae* ABC220 és ABC224) azonosítottunk. Az ABC220-as törzset 2012 októberében izolálták egy 40 éves Fülöp-szigeti beteg nekrotizáló sebfertőzéséből 25 nappal azután, hogy perforált appendix és szepszis miatt felvételre került. Az ABC224 törzs 2013 májusában került izolálásra egy olyan 80 éves emirátusi beteg köpetéből, aki a megelőző egy évben a kórház különböző osztályain folyamatosan hospitalizálva volt láb-amputációja és szepszise miatt. A törzsek izolálását megelőző évben egyik beteg sem hagyta el az EAE-t. A két KPC pozitív törzs izolálását megelőzően mindkét betegtől ismételtelen vett minták negatívak voltak CRE tekintetében. A törzsek a vizsgált antibiotikumokra, ideértve a kolisztin is (a ma már nem elfogadottnak tekintett E-teszttel vizsgálva!) a tigecliklin és amikacin kivételével rezisztensek voltak. SDS-PAGE analízissel mindkét törzsben kimutatható volt az OmpK35 külső membrán fehérje hiánya (a disszertációban nem ábrázolt eredmény).

Mindkét törzs az ST14 típusba tartozott, PFGE mintájuk >95% hasonlóságot mutatott és egyaránt hordozták a *fyuA*, *kfuBC*, *fimH*, *mrkD*, *traT*, *clpK*, *ugeA* virulencia, és a *bla_{TEM-1}*, *bla_{SHV-1}*, *bla_{CTX-M-15}* és *aac-6'-1b-cr* rezisztencia géneket. A hordozott gének alapján a K2 típusú tok jelenléte volt valószínűsíthető.

Konjugációval a *bla_{KPC}* átvihető volt az *E. coli* J53_{RAZ} recipiensbe, de abban nem lehetett stabilan fenntartani. Éppen ezért a plazmidokat transzformációval átvittük az *E. coli* GM2163 törzsbe is. Mindkét törzs pKPC-je egy 45 kb méretű IncX3 plazmid volt, melyek azonos RFLP mintát mutattak *Eco* RI és *Hind* III emésztést követően. A *bla_{KPC}* gén és környezetének szekvenciáját meghatározva kiderült, hogy a gén a KPC-2 allélnak felelt meg és azt egy, az *umuD* génbe inzertálódott Tn4401b transzpozon tartalmazza, mely, néhány korábban leírt pKPC-2-höz képest^{294,295} fordított módon illeszkedik a plazmid szerkezetébe (14. ábra).

14. ábra Az EAE-ban azonosított bla_{KPC-2} gén környezete összehasonlítva másutt izolált plazmidok hasonló struktúráival



Eredményeink alapján először adtunk részletes jelentést az Arab-félszigetről itt izolált KPC, pontosabban KPC-2 termelő törzs jelenlétéről. bla_{KPC-2} -t hordozó IncX3 plazmidról korábban már Franciaországból²⁹⁴ és HongKongból²⁹⁵ is beszámoltak (**14. ábra**). Megfigyelésünk tovább hangsúlyozza a régióban az IncX3 plazmidok szerepét a karbapenemáz gének terjesztésében. Sajnos a korábban egy kongresszusi összefoglalóban említett VIM és KPC géneket is tartalmazó törzset²⁶⁷ többszöri próbálkozásunk ellenére sem sikerült megkapnunk, így nem tudtuk azt a törzset saját VIM-4, illetve KPC-2 termelő törzseinkhez hasonlítani.

Figyelemre méltó volt, hogy az e vizsgálatokban feldolgozott esetek többsége esetén nem volt igazolható az adott törzs izolálását megelőző külföldi utazás. Így, bár a törzs-import lehetőségét teljesen kizárni nem lehetett, de azt valószínűsíthettük, hogy legalábbis az esetek többsége mögött inkább helyi fertőzés áll. Ennek pontos tisztázásához azonban, csakúgy, mint a régióban előforduló különböző karbapenem rezisztencia mechanizmusok prevalenciájáról alkotandó képhez nagyobb számú törzsekkel végzett vizsgálatokra volt szükség.

4.3.2.2. Karbapenemázokat kódoló IncX3 plazmidok összehasonlító vizsgálata (XXIV)

2009 és 2014 között 12 emirátusi kórházban izolált 295 karbapenemáz termelő törzs között replikáz-specifikus PCR-ral ¹⁴⁶ 30 olyan törzset azonosítottunk, melyek valamilyen karbapenemáz gént IncX3 plazmidon hordoztak (**25. táblázat**). Az öt faj IncX3 plazmidjai az NDM négyféle, az OXA-48-szerű egyféle, és a KPC egyféle allélját hordozták. A 13 *E. coli* törzs csak korlátozott hasonlóságot mutatott egymáshoz, 8 különböző szekvencia típusba tartoztak. Az ugyancsak 13 *K. pneumoniae* izolátumok közül 5 bla_{NDM-1} hordozó, $\geq 90\%$ PFGE minta hasonlóságot mutató ST11 típus volt, melyek, bár azonos kórházból, de 3 év alatt kerültek izolálásra. Kisebb, de hasonlóan szoros csoportokat képezett a 3 NDM-1-et és OXA-48-at egyaránt termelő ST1318 törzs (ezekben a bla_{NDM-1} az IncX3 plazmidon helyezkedett el) és a két ST14 típusú, KPC-2-t termelő törzs.

25. táblázat A vizsgálatba bevont, az EAE-ban izolált karbapenemáz gént tartalmazó IncX3 plazmidot hordozó törzsek

Izolátum					IncX3 plazmid			
Törzs*	Izolálás dátuma	Faj	Karbapenemáz	MLST	Átvihetőség **	Név	Méret (bp)	Rezisztencia gén
ABC133	12/14/2012	<i>E. coli</i>	NDM-7	ST4108	nem-C	pABC133-NDM	37070	<i>bla</i> _{NDM-7}
ABC239	8/15/2013	<i>E. coli</i>	OXA-181	ST410	nem-C	pABC239-OXA-181	51479	<i>bla</i> _{OXA-181} + <i>qnrS1</i>
ABC264	6/9/2014	<i>E. coli</i>	OXA-181	ST410	nem-C	pABC264-OXA-181	51479	<i>bla</i> _{OXA-181} + <i>qnrS1</i>
ABC356	8/8/2014	<i>E. coli</i>	OXA-181	ST410	Cm	pABC356-OXA-181	51479	<i>bla</i> _{OXA-181} + <i>qnrS1</i>
ABC381	11/4/2014	<i>E. coli</i>	OXA-181	ST167	nem-C	pABC381-OXA-181	51479	<i>bla</i> _{OXA-181} + <i>qnrS1</i>
ABC218	12/25/2012	<i>E. coli</i>	NDM-7	ST167	C	pABC218-NDM	34403	<i>bla</i> _{NDM-7}
ABC233	7/21/2013	<i>E. coli</i>	NDM-5	ST167	Cm	pABC233-NDM-5	46161	<i>bla</i> _{NDM-5}
ABC384	11/5/2014	<i>E. coli</i>	NDM-5	ST1284	C	pABC384-NDM-5	46161	<i>bla</i> _{NDM-5}
ABC54	1/2/2011	<i>E. coli</i>	NDM-1	ST2206	C	pABC54-NDM-1	53023	<i>bla</i> _{NDM-1} + <i>bla</i> _{SHV-12}
BC-13-836	9/24/2013	<i>E. coli</i>	NDM-1	ST446	C	pBC836-NDM-1	52565	<i>bla</i> _{NDM-1} + <i>bla</i> _{SHV-11}
ABC280	7/15/2014	<i>E. coli</i>	NDM-5	ST448	C	pABC280-NDM5	35502	<i>bla</i> _{NDM-5}
ABC286	8/15/2014	<i>E. coli</i>	NDM-5	ST448	NT	NT	NT	NT
ABC268	6/11/2014	<i>E. coli</i>	NDM-5	ST2083	Cm	pABC268-NDM-5	45232	<i>bla</i> _{NDM-5}
ABC40	10/27/2009	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	ST417	Cm	pABC40-NDM-1	54035	<i>bla</i> _{NDM-1} + <i>bla</i> _{SHV-12}

folyt.

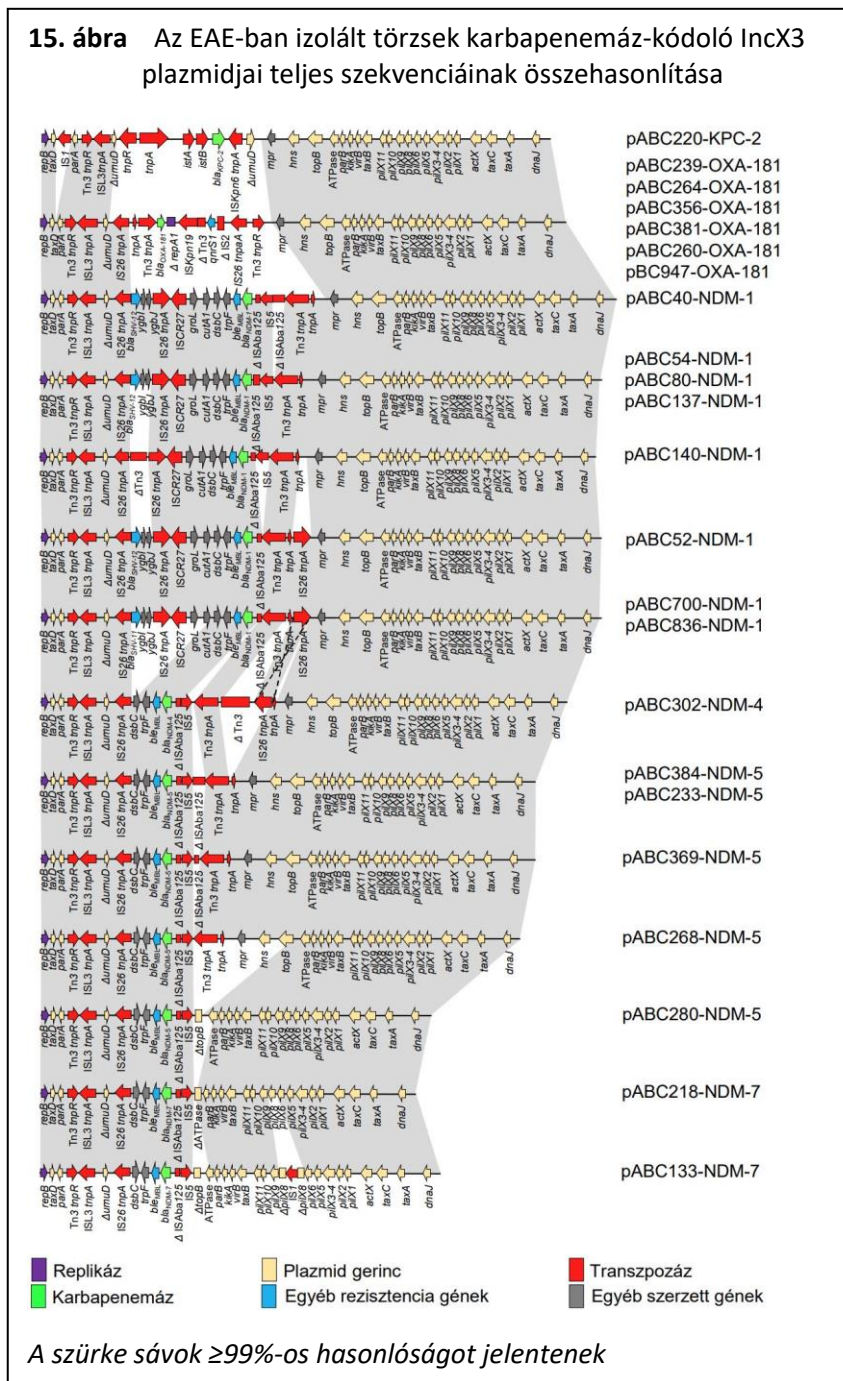
folyt.

Izolátum					IncX3 plazmid			
Törzs*	Izolálás dátuma	Faj	Karbapenemáz	MLST	Átvihetőség **	Név	Méret (bp)	Rezisztencia gén
ABC260	3/31/2014	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-181	ST3545	nem-C	pABC260-OXA-181	51480	<i>bla</i> _{OXA-181} + <i>qnrS1</i>
ABC369	9/23/2014	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-5 + OXA-162	ST307	Cm	pABC369-NDM-5	45252	<i>bla</i> _{NDM-5}
ABC137	1/14/2013	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1 + OXA-48	ST1318	Cm	pABC137-NDM-1	53022	<i>bla</i> _{NDM-1} + <i>bla</i> _{SHV-12}
ABC141	4/20/2013	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1 + OXA-48	ST1318	NT	NT	NT	NT
ABC155	6/5/2013	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1 + OXA-48	ST1318	NT	NT	NT	NT
ABC220	10/5/2012	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	ST14	C [#]	pABC220-KPC-2	46900	<i>bla</i> _{KPC-2}
ABC224	3/17/2013	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	ST14	C [#]	NT	NT	NT
ABC52	9/19/2010	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	ST11	C	pABC52-NDM-1	52565	<i>bla</i> _{NDM-1} + <i>bla</i> _{SHV-12}
ABC53	9/19/2010	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	ST11	NT	NT	NT	NT
BC680	7/18/2012	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	ST11	NT	NT	NT	NT
BC700	7/24/2012	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	ST11	C	pBC700-NDM-1	52565	<i>bla</i> _{NDM-1} + <i>bla</i> _{SHV-11}
BC-13-817	9/17/2013	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	ST11	NT	NT	NT	NT
ABC80	5/8/2011	<i>C. freundii</i>	NDM-1	NT	Cm	pABC80-NDM-1	53023	<i>bla</i> _{NDM-1} + <i>bla</i> _{SHV-12}
ABC140	3/25/2013	<i>M. morgani</i>	NDM-1	NA	nem-C	pABC140-NDM-1	52591	<i>bla</i> _{NDM-1}

* A vastagon szedett törzsek IncX3 plazmidjainak teljes szekvenciáit a **XXIV**-es tanulmányban határoztuk meg

** Átvihetőség: C – konjugatív, Cm – konjugatív, de több plazmid transzferálódott, C[#] - Konjugatív, de nem stabil a J53_{RAZ} recipiensben, nem-C – nem konjugatív; NT – nem tesztelt

Huszonegy plazmid teljes szekvenciáját határoztuk meg és hasonlítottuk két, szintén az EAE-ban izolált, NDM-7-et kódoló plazmid már ismert szekvenciájához (XVII). A plazmidok gerincei hasonlóak voltak, de a mobilis elemeket felvevő, „loading” régiókban jelentős, részben a kódolt karbapenemázra specifikus, vagy annak alléljaival összefüggő változatosságot észleltünk (15. ábra).

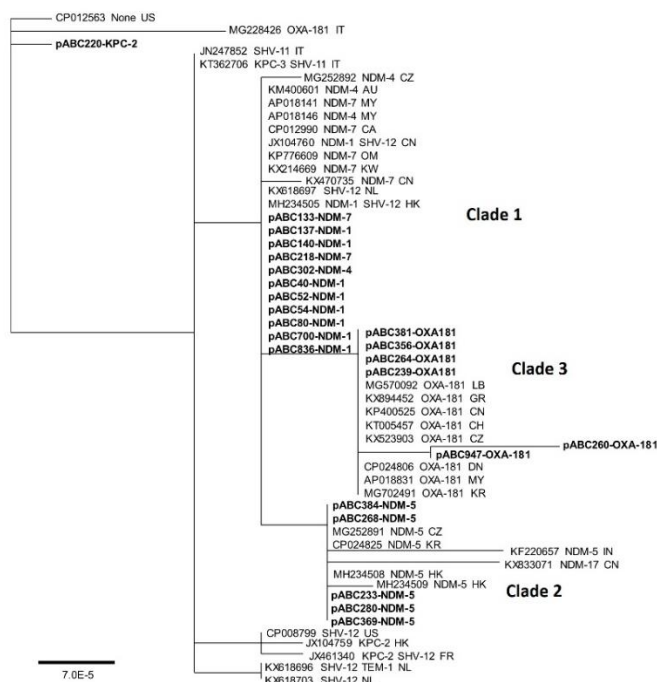


A pABC220-KPC-2 plazmidon a KPC-2-t kódoló gén egy *Tn4401b* transzpozonon helyezkedett el és a plazmid más rezisztencia gént nem hordozott. A hat OXA-181-et kódoló plazmid nagyon hasonló volt, rajtuk a karbapenemáz gén a *qnrS1* génnel együtt egy IS26 által határolt kompozit transzpozon részeként helyezkedett el. Az NDM-1-et kódoló plazmidok karbapenemázt kódoló, egy ISCR27 és egy részleges ISAb125 között elhelyezkedő régiói azonosak voltak, csakúgy, mint a *bla_{NDM-4}*, *bla_{NDM-5}*, és *bla_{NDM-7}* géneket keretező IS26 és IS5 közötti szakaszok (**15. ábra**).

A pABC218-NDM plazmid 1286 és 26190 bázisai közti (GenBank KX214670) 24905 bp hosszú szakaszát alapul véve a fenti EAE-béli, és további, a világ különböző pontjairól származó 35 IncX3 plazmid replikációjáért, leány sejtek közti megosztásáért és az átvitelért felelős gerinc szakaszát összehasonlítottuk. Az 58 plazmid Neighbor-Joining fája a **16. ábrán** látható. Három jól elkülönülő csoport (clade) volt azonosítható. Az első az NDM-1, NDM-4 és NDM-7 és egy SHV-12- t kódoló plazmidokat tartalmazta, míg a második az NDM-5-öt, a harmadik az OXA-181 plazmidokat foglalta magába egy Olaszországban talált OXA-181 plazmid kivételével. Az emirátusi KPC-2 plazmid jelentősen eltért a Hong Kong-ban, illetve Franciországban izolált, azonos karbapenemázt kódoló plazmidoktól. Mindhárom nagy clade egyaránt tartalmazott az EAE-ből és a világ változatos régióiból származó plazmidokat.

Az IncX3 plazmidok széles gazda-specifitással rendelkeznek, jól konjugálódnak, stabilak, és nem jelentenek jelentős fitness-terhelést, azaz számos olyan tulajdonsággal rendelkeznek, melyek kiemelten alkalmassá teszik őket antibiotikum rezisztencia gének terjesztésére ²⁹⁶. Az EAE-ban azonosított 5 kórokozó faj három karbapenemáz 6 alléját hordozták. Ez a faj-béli változatosság, még ha nem is példa nélküli, mindenképpen magasnak számít ²⁹⁷. Eredményeink azt mutatják, hogy az EAE-ban tapasztalt magas IncX3 prevalencia (a vizsgált karbapenáz termelő törzsek 10,2%-ában hordozta ilyen plazmid az enzim génjét) komplex folyamatok eredménye. Egyrészt, egyes esetekben a klonális terjedés kimutatható volt (pl. az 5, nagyon hasonló plazmidot hordozó ST11 *K. pneumoniae* törzs). Figyelemre méltó, hogy egymástól függetlenül úgy az IncX3 plazmid ²⁹⁶, mint a CG258 részeként az ST11 törzsek önmagukban is kiemelt terjedési képességgel rendelkeznek ²⁹⁸. Kisebb csoportokat képezve, egyéb, magas rizikójú globális klónok is előfordultak az országban IncX3 plazmidokat hordozva (pl. az OXA-181-et termelő *E. coli* ST410 ²⁹⁹). A plazmidok

16. ábra Különböző régiókból származó IncX3 plazmidok gerinc régiójának filogenetikai összehasonlítása



A vastagon szedett plazmidok az EAE-ből származnak. A többi plazmidnál a kódolt enzim mellett feltüntettük a GenBank számot és a származási országot: CA - Kanada; CH - Svájc; CN - Kína; CZ - Cseh Köztársaság; DN - Dánia; FR - Franciaország; GR - Németország; HK - Hong Kong; IN - India; IT - Olaszország; KR - Dél-Korea; KW - Kuvait; LB - Libanon; MY - Myanmar; NL - Hollandia; OM - Omán; US - USA

konzervált régióinak összehasonlítása egyrészt megmutatta, hogy a plazmidok szerkezete szoros összefüggés mutat a hordozott rezisztencia génnel. Ugyanakkor több NDM allél (NDM-1, -4, -7) helyezkedett el hasonló szerkezetű plazmidokban, mely a génnek a plazmidba való bejutását követő evolúciójának elméletét támogatja²⁹⁷. Az viszont, hogy az NDM-5-ös allél eltérő gerincű plazmidban foglal helyet, a *bla*_{NDM} gén IncX3 plazmidokba történt többszörös felvételét valószínűsíti. Az a tény, hogy gyakorlatilag minden, az EAE-ben előforduló IncX3 plazmid típus más földrajzi régiókban is megtalálható volt azonos géneket, illetve allélokot hordozva azt igazolja, hogy a hordozó törzsek klonális terjedés mellett nem elsősorban a plazmidok helyi evolúciója, hanem azok importja, esetleg ezt követő helyi horizontális átvitele felelősek az IncX3 plazmidok magas prevalenciáját mutató helyzet kialakulásáért.

4.3.2.3. Karbapenemáz és 16S RNS metiláz aminoglikozid rezisztencia gének gyakoriságának vizsgálata (XIII, XV, XXIII, XXVI és XXVIII)

A legfontosabb karbapenemázok előfordulásának gyakoriságával kapcsolatos különböző kiterjedtségű, különböző időpontban folytatott projektjeink során nyert eredményeket a **26. táblázatban** foglaltuk össze. A nagyobb esetszámmal dolgozó EAE béli (**XXIII** és **XXVIII**) és regionális tanulmányok (**XXVI**) mind hasonló képet mutattak az enzimek gyakoriságát tekintve: a leggyakoribbak az OXA-48-szerű enzimek voltak, melyet az NDM, mint egyetlen karbapenemáz követett. Ettől kisebb, helyi kórházi adatok eltérhettek (**XIII**): az Al-Qassimi kórházból a vizsgálat idején hiányoztak az OXA enzimet termelő izolátumok. Az is figyelemre méltó, hogy az első regionális vizsgálat során (**XV**) Kuvait kivételével az NDM termelők még mindenütt meghaladták az OXA-termelők arányát. Mindkét regionális vizsgálatban (**XV** és **XXVI**) jelentős különbségeket találtunk az egyes országokban tapasztalt prevalenciák között. Ezek közül talán a legfeltűnőbb az NDM-OXA termelő törzsek kiugróan magas, általában 10% feletti aránya az EAE-ban, mely a legfrissebb vizsgálat szerint (**XXVIII**) az ország mindhárom régiójában megfigyelhető (**17. ábra**). Általánosságban jellemző volt ugyanakkor az IMP enzimek hiánya, a VIM Kuvaittól eltekintve alacsony aránya és a KPC típusú enzimek nagyon ritka előfordulása. A kezelhetőség szempontjából fontos megfigyelés az MBL törzsek nagyon magas, általában 40% feletti, de nem ritkán még magasabb aránya az összes vizsgált területen (**26. táblázat**).

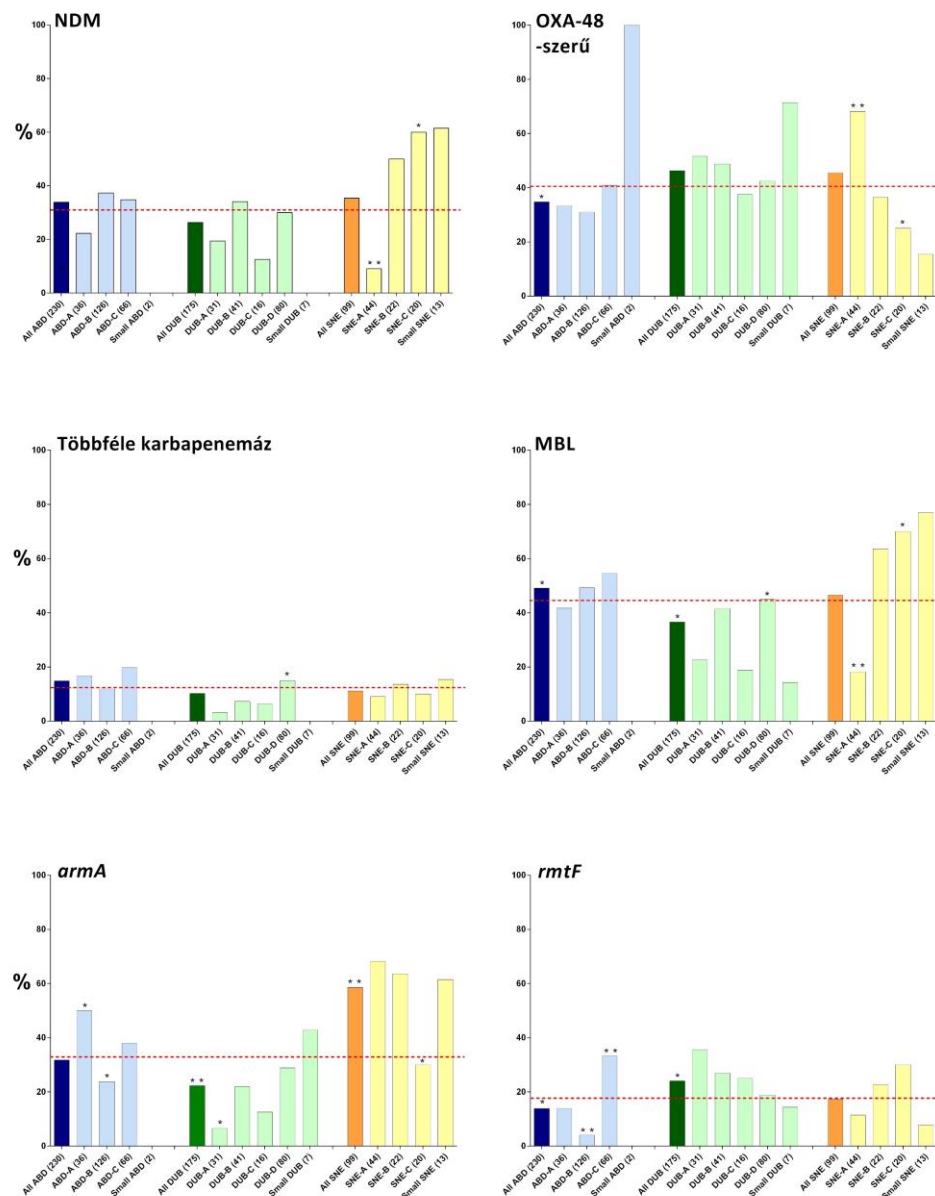
Míg a projektek többsége esetén nem volt adatunk arról, hogy a vizsgált törzsek a ténylegesen izolált CRE-knak milyen arányát jelentették, a **XXVIII** projekt során a résztvevő kórházakat (Abu Dhabi Emírátus 4 kórház, Dubai Emírátus 6 kórház, Sharjah és az Északi emírátusok 5 kórház) arra kértük, hogy a vizsgálat ideje alatt minden, az adott betegről izolált első CRE törzset küldjenek el. A vizsgálatba vont törzsek számát összevetve a résztvevő kórházak által az izolált CRE-k számára vonatkozó, a *National Antimicrobial Surveillance System*-nek küldött jelentéseivel számításaink szerint a fenti kritériumoknak megfelelő törzsek 45.9% -át vizsgáltuk, így ezt a vizsgálatot reprezentatívnak tekinthettük. Bár a fenti arány (OXA > NDM) az EAE mindhárom régiójára igaz volt, ettől, főleg egyes Sharjah és Északi emírátusok béli kórház esetén ettől jelentős eltéréseket tapasztaltunk, így nem csoda, hogy az MBL törzsek aránya ezekben a kórházakban volt a legmagasabb (**17. ábra (l. 82. old.)**).

26. táblázat Karbapenemáz gének prevalenciájának vizsgálata az EAE-ban és a környező országokban

Cikk	Hol	A törzsgyűjtés ideje	Törzs szám	Karbapenemáz gén gyakorisága (%)								MBL	
				NDM	OXA	KPC	VIM	IMP	NDM-OXA	Egyéb karbapenemáz gén kombinációk	Nincs jelen		
XIII	Al-Qassimi Kórház, Sharjah	2011. 09. – 2012. 10.	13	76,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	23,1	0,0	0,0	100,0
XV	EAE	2009. 04. – 2013. 04.	56	48,2	21,4	0	1,8	0	8,9	0		19,6	58,9
	Szaúdi		54	57,4	33,3	0	1,9	0	1,9	0		5,6	61,1
	Kuvait		27	22,2	25,9	0	29,6	0	0	0		22,2	51,9
	Omán		63	46,0	44,4	0	3,2	0	1,6	0		4,8	50,8
	Összesen		200	46,5	32,5	0	6,0	0	3,5	0	11,5	56,0	
XXIII	Dubai	2015. 06. – 2016. 06.	89	21,3	46,1	0,0	0,0	0,0	19,1	0	13,5	40,4	
XXVI *	EAE	2009-2017	754	26,9	41,5	0,4	1,3	0	16,0	0,1		13,7	44,4
	Szaúdi	2012-2016	218	28,9	48,6	0	2,3	0	6,9	0,9		12,4	39,0
	Kuvait	2009-2016	112	50,0	17,0	2,7	10,7	0	8,0	0,9		10,7	69,6
	Omán	2010-2016	85	35,3	50,6	0,0	2,4	0	3,5	0		8,2	41,2
	Bahrein	2015	23	82,6	8,7	0,0	0,0	0	0	0		8,7	82,6
	Összesen	2009-2017	1192	31,1	40,5	0,5	2,4	0	12,4	0,3	12,7	46,3	
XXVIII	Abu Dhabi	2018. 07. – 2019. 03.	230	33,9	34,8	2,2	0,9	0	13,9	0,9		13,5	49,1
	Dubai		175	26,3	46,3	0	0	0	10,3	0		17,1	36,6
	Sharjah és az északi emirátusok		99	35,4	45,5	0	0	0	11,1	0		8,1	46,5
	Összesen		504	31,5	40,9	1,0	0,4	0	12,1	0,4	13,7	44,2	

* Ez a törzsgyűjtemény tartalmazott több izolátumot a **X**, **XIII**, **XIV** és **XV** cikkekben vizsgált törzsek közül, melyek a gyűjtemény 22,5 %-át tették ki, **MBL** – metallo-béta- laktamáz

17. ábra Rezisztenciát kódoló gének gyakorisága különböző EAE -béli kórházakban izolált CRE törzsekben



Régiók és kórházak (N = a vizsgált törzsek száma)

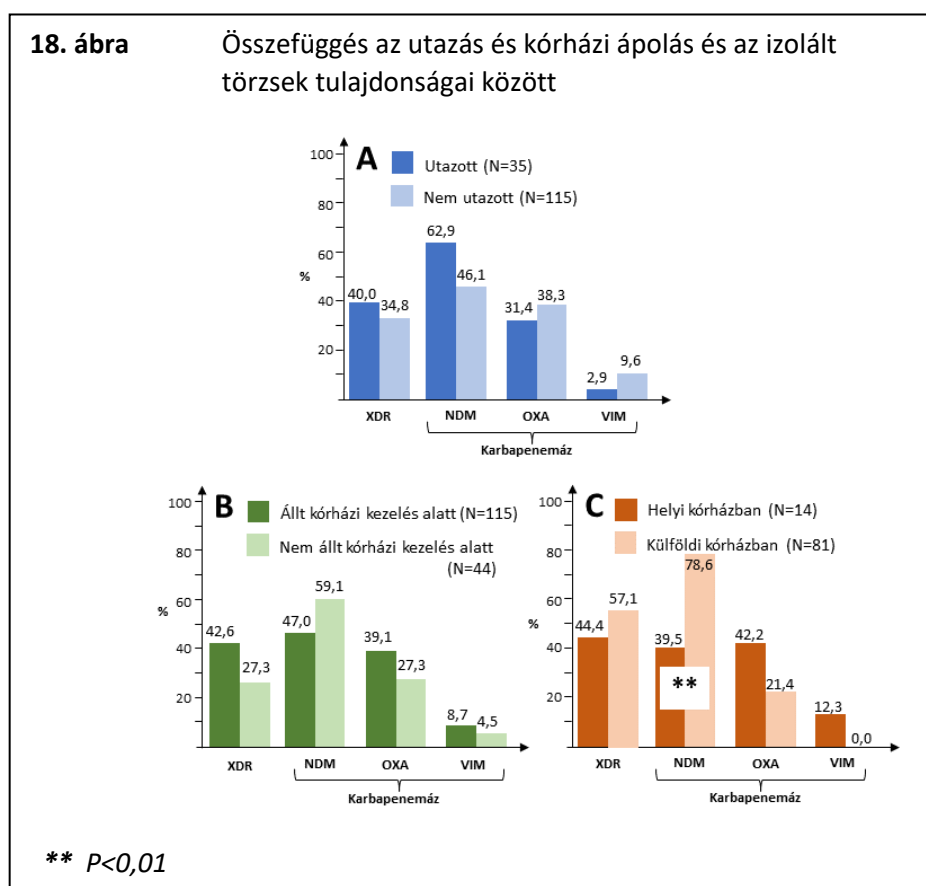
ABD – Abu Dhabi (kék), **DUB** – Dubai (zöld), **SNE** – Sharjah és az Északi emirátusok (sárga)

Sötétebb oszlopok - a három régió, **világosabb oszlopok** az adott régióban az egyes kórházak adatai

A szaggatott piros vonal az országos átlagot mutatja.

* $P=0,05-0,001$, ** $P<0,001$ Sötét oszlop felett az adott régió a másik kettővel összehasonlítva, világosabb oszlop felett az adott kórház a régió többi kórházához hasonlítva

A **XV** projekt során volt módunk adatokat gyűjteni a betegek hospitalizálási és utazási anamnéziséről. 150 beteg esetén állt rendelkezésre adat abban a tekintetben, hogy a CRE izolálását megelőző egy évben járt-e külföldön, 159 beteg esetén ismert volt, hogy egy éven belül állt-e kórházi kezelés alatt és 95 betegnél tudtuk, hogy a kezelés külföldön történt-e. Jóllehet a külföldön járt betegek között valamivel több volt az XDR és NDM termelő és kevesebb az OXA termelő törzs, a különbségek nem érték el a szignifikáns szintet (**18. ábra A**). Bár a korábban kórházban kezeltek között több volt az XDR törzs és az OXA termelő, ezek a különbségek sem voltak szignifikánsak (**18. ábra B**) Szignifikáns különbséget kizárólag akkor láttunk, ha a hazai, illetve külföldi kórházakban kezelteket hasonlítottuk össze: utóbbiak esetén (78,6%-ukat Indiában kezelték) szignifikánsan gyakoribb volt az NDM előfordulása (**18. ábra C**).



A 16S RNS metiláz gének jelenlétét nagyobb törzsszámon három tanulmányban (**XV**, **XXVI** és **XXVIII**) és vizsgáltuk (**27. táblázat**). Általánosságban jellemző volt e gének magas aránya, jóllehet, jelentős eltérések voltak az egyes országok, illetve a **XXVIII** projektben az egyes régiók, sőt kórházak (**17. ábra**) tekintetében is.

27. táblázat Aminoglikozid rezisztenciát okozó 16S metiláz gének gyakorisága az EAE-ban és a környező országokban

Cikk	Hol	A törzsgyűjtés ideje	Törzs szám	16S metiláz gén gyakorisága (%)							Bármilyen 16S metiláz gén
				<i>armA</i>	<i>rmtA</i>	<i>rmtB</i>	<i>rmtC</i>	<i>rmtD</i>	<i>rmtE</i>	<i>rmtF</i>	
XV	EAE	2009. 04. – 2013. 04.	56	25,0	NT	0	1,8	0	NT	NT	26,8
	Szaúdi		54	11,1	0	0	59,3	0	NT	NT	70,4
	Kuvait		27	0,0	0	0	14,8	0	NT	NT	14,8
	Omán		63	25,4	0	1,6	12,7	0	NT	NT	34,9
	Összesen		200	18,0	0	0,5	22,5	NT	NT	NT	39,5
XXVI *	EAE	2009-2017	754	31,3	0	3,2	0,7	0	0	16,2	47,7
	Szaúdi	2012-2016	218	12,8	0	0	17,9	0		3,2	33,9
	Kuvait	2009-2016	112	19,6	0	3,6	8,9	0		8,9	41,1
	Omán	2010-2016	85	32,9	0	1,2	3,5	0		10,6	47,1
	Bahrein	2015	23	8,7	0	0	0	0		8,7	17,4
	Összesen	2009-2017	1192	26,5	0,0	2,4	0	0,0	0,0	12,6	44,0
XXVIII	Abu Dhabi	2018 07. – 2019. 03.	230	31,7	0	2,2	0	0	0	13,9	46,1
	Dubai		175	22,3	0	5,7	0	0	0	24,0	51,4
	Sharjah és az északi emirátusok		99	58,6	0	1,0	0	0	0	17,2	75,8
	Összesen		504	33,7	0	3,2	0,6	0	0	18,1	53,8

* Ez a törzsgyűjtemény tartalmazott több izolátumot a **X**, **XIII**, **XIV** és **XV** cikkekben vizsgált törzsek közül, melyek a gyűjtemény 22,5 %-át tették ki **NT** – nem tesztelt

Figyelemre méltó volt, hogy míg a Szaúdi törzsek között az *rmtC* gén volt a leggyakoribb, ez, bár az ománi és kuvaiti törzsek között is előfordult, ritka volt az EAE-ban. Itt egyértelműen az *armA* gén dominált, mely hasonló prevalenciával csak Ománban fordult elő.

A regionális vizsgálatok (**XV, XXVI**) során nem álltak rendelkezésre adatok tekintetben, hogy a törzsek az előforduló CRE-k hány százalékát jelentették és hogy azokat hogyan randomizálták, így ezeket nem tekinthetjük valódi reprezentatív tanulmányoknak. Azonban úgy érezzük, hogy néhány általános megfigyelést így is tehetünk: adataink azt mutatják, hogy regionálisan jellemző úgy az OXA-48-szerű, mint az NDM-et, és általában az MBL-t termelő törzsek magas aránya, és a KPC típusú enzimek ritkasága. A VIM relatív gyakorisága Kuvaitban, és a kétféle karbapenemázt termelők gyakorisága az EAE-ban inkább helyi jelenségnek tűnik, utóbbit a valóban reprezentatív vizsgálat (**XXVIII**) az ország minden régiójában 10% felettinek találta (**26. táblázat, XXVIII**). Az NDM és OXA-48-szerű enzimek magas száma magyarázható a régió elhelyezkedésével, mely beékelődik a Mediterráneum (OXA-48-szerű dominancia ³⁰⁰) és az Indiai szubkontinens (NDM dominancia ³⁰¹) közé. A KPC hiányára, miután mára globálisan elterjedt, nehéz magyarázatot adni. Az első KPC termelő törzset az Egyesült Államokban, Észak-Karolinában írták le ³⁰², amit rövidesen jelentős keleti-parti járványok követtek, elsősorban New York kórházaiban ²⁶⁵. Minden valószínűség szerint innen került ez a típus a Közel-Keletre, Izraelbe ³⁰³, azaz olyan országba, mely az Arab-félsziget országainál lényegesen szorosabb kapcsolatokat ápolt az USA-val. Feltehető, hogy az izraeli-arab kapcsolatok korlátozottsága szerepet játszhatott abban, hogy e törzsek nem terjedtek át a régió arab országaira. Mindennek ellenére, a KPC termelők globális elterjedésével nem kizárható a helyzet megváltozása és a közeljövőben érdekes lesz megfigyelni, hogy a régióban meglévő „rezidens típusok” (OXA-48-szerű és NDM termelők) képesek lesznek-e a KPC termelőket távoltartani. Véleményünk szerint ebben, a helyi surveillance és infekció kontroll hatásosságán túl a lokális antibiotikum felhasználás mellett a különböző enzimeket kifejező törzsek és klónok kolonizáló képessége fog meghatározó szerepet játszani. A VIM Kuvaitban észlelt magas előfordulására magyarázat lehet a gének lokális terjedése (ezzel kapcsolatban lásd később az 4.3.2.9. fejezetet).

Egy 2015-ben publikált, 2012-ben 15 Szaúdi kórházban gyűjtött törzsön végzett vizsgálat a különböző karbapenemázok arányát tekintve megerősítette mi Szaúdi törzsekkel kapott második, nagyobb törzsszámon végzett regionális vizsgálatunkat (**XXVI**) ³⁰⁴, ami felveti, hogy az első ilyen vizsgálatunk során (**XV**) a Szaúdi minták nem voltak kellően reprezentatívak.

Későbbi, a régióból származó vizsgálatok többsége igazolta, hogy az alapvető OXA-48-szerű > NDM >> KPC megállapításunk, bár az arányok mértékében helyi eltérésekkel, de helyes volt ³⁰⁵⁻³⁰⁸. Ugyanakkor néhány kisebb mintaszámon végzett helyi vizsgálatban az NDM-et kifejező törzsek aránya valamivel meghaladta az OXA-48-szerű enzimet termelőket ^{309,310}.

Miután adatok csak a CRE fertőzöttekről álltak rendelkezésre, azt nem tudtuk vizsgálni, hogy a külföldi utazás vagy hospitalizáció fokozta-e a CRE fertőzés veszélyét. De azt meg tudtuk állapítani, hogy az utóbbi két tényező egyike sem hatott szignifikánsan a leggyakoribb karbapenemáz típusokat kifejező törzsek gyakoriságára. Jóllehet, a külföldön hospitalizált betegek törzseinek közel 80%-a NDM termelő volt (**18. ábra C**), ez az összes izolált NDM termelő törzseknek csak 25,6% -át jelentette. Természetesen az ország kitettsége miatt valószínűleg jelentős a kórokozó import, de adataink azt mutatják, hogy a helyben észlelt esetek többségénél a törzsek gyűjtésének idejében (2009-2013) a helyi fertőződés, átvitel vélhetően már nagyon jelentős, ha nem meghatározó szerepet játszott.

A 16S RNS metiláz gének vizsgálataink során észlelt aránya (40-50%, **27. táblázat**) nagyon magasnak számít ^{311,312}, jóllehet e gének karbapenemázokkal való együttes előfordulása, sőt, plazmidokon való ko-lokálációja jól ismert jelenség ^{260,272}. Úgy az egyes 16S metiláz (**27. táblázat**), mint egyes karbapenemáz gének esetenként, egy országot, egy régiót (**26. táblázat**), vagy akár csak egy kórházat (**17. ábra**) érintő kiugró értéke felveti specifikus klónok szerepét. Az ezzel kapcsolatos eredményeinkről e tézis későbbi fejezetében (lásd 4.3.2.6.) számolunk be.

4.3.2.4. Kettős karbapenemázt termelő törzsek vizsgálata (XXII)

A többféle karbapenemáz termelő törzsek helyi jellegzetességeit tisztázandó öt, az EAE-ban, egy Szaúd-Arábiában és egy Ománban izolált NDM+OXA-48-szerű karbapenemázt termelő *K. pneumoniae* törzset vettünk részletes vizsgálat alá. A törzsek legfontosabb jellemzőit, karbapenemázaik allél típusát és a hordozott rezisztencia géneket a **28. táblázat** (l. 88. old.) mutatja. Látható, hogy az 5 EAE-béli törzsből három, melyeket – bár különböző időpontokban – Sharjah -ban, azonos kórházban izoláltak, azonos szekvencia típusba (ST14) tartoztak, azonos karbapenemáz allélokot termeltek, és hasonló rezisztencia gén készlettel rendelkeztek, míg a többi emirátusi és külföldi törzsek ettől eltértek. A három ST14-es törzs azonos PFGE mintát mutatott, a többiek etekintetben is különböztek (*nincs bemutatva*).

Mind a hét törzsből a pNDM konjugációval átvihető volt, de csak az NDM plazmidot tartalmazó származékot az ABC137 törzsből csak a transzkonjugánsból indított transzformációval tudtunk előállítani. Az *bla*_{OXA-48-szerű} gént konjugációval csak az ABC106 törzsből sikerült átvinni, de csak a pOXA-t tartalmazó származékot a OMABC109 kivételével transzformációval minden törzsből létre tudtunk hozni. A plazmidok méretét, a gének lokalizációját, illetve inkompatibilitási csoportjukat a plazmid-gél elektroforézist követő hibridizációval, illetve PCR-ral határoztuk meg, illetve igazoltuk. Az OMABC109 törzs esetén a *bla*_{OXA-181} gén kormoszómális lokalizációját a genom S1 nukleáz emésztését követő hibridizációjával igazoltuk. A három ST14 törzs, egy további emirátusi és az ománi izolátum pNDM-ja >160 kb nagyságú IncHI1b plazmid volt, míg az ötödik emirátusi és a Szaúdi törzsé ettől eltért: az ABC137 törzsben a *bla*_{NDM-1} gént egy IncX3 típusú plazmid tartalmazta, míg a SA54-ban lévő plazmid mind az IncFIb, mind az IncFII próbával hibridizált. Utóbbi kettős pozitivitást szekvenálással is megerősítettük. A pOXA plazmidok ettől eltérő képet mutattak: A három ST14 törzsben IncColE típusú plazmidon helyezkedett el az OXA-48-szerű karbapenemáz, míg a többi plazmid-kódolt OXA karbapenemáz esetén az OXA plazmid egy körülbelül 60 kb nagyságú IncL/M plazmid volt. A plazmidok tulajdonságait a **29. táblázat** (/. 89. old.) mutatja.

28. táblázat NDM és OXA típusú karbapenemáz géneket egyaránt hordozó törzsek tulajdonságai

Törzs	Ország/város	Izolálás	Minta	ST*	Karbapenemáz	Rezisztencia minta	Egyéb rezisztencia gének
ABC106	EAE/Ai Ain	2012 03.	Vizelet	ST307	NDM-1 + OXA-162	CTZ, CTA, AZT, ERT, IMI, MER, GEN, AMI, TRS, TET, CHL	<i>bla</i> _{TEM-206} , <i>bla</i> _{SHV-1} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>qnrB</i> , <i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>armA</i>
ABC120	EAE/Sharjah	2011 10.	Vizelet	ST14	NDM-1 + OXA-232	CTZ, CTA, AZT, ERT, IMI, MER, GEN, AMI, TRS, <i>TET</i> , CHL	<i>bla</i> _{TEM-1} , <i>bla</i> _{SHV-1} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>qnrB</i> , <i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>armA</i>
ABC127	EAE/Sharjah	2012 06.	Vér	ST14	NDM-1 + OXA-232	CTZ, CTA, AZT, ERT, IMI, MER, GEN, AMI, TRS, <i>TET</i> , <i>TIG</i> , CHL	<i>bla</i> _{SHV-1} , <i>qnrB</i> , <i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>armA</i>
ABC128	EAE/Sharjah	2012 09.	Köpet	ST14	NDM-1 + OXA-232	CTZ, CTA, AZT, ERT, IMI, MER, GEN, AMI, TRS, <i>TET</i> , <i>TIG</i> , CHL	<i>bla</i> _{SHV-1} , <i>qnrB</i> , <i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>armA</i>
ABC137	EAE/Abu Dhabi	2013 01.	Seb	ST1318	NDM-1 + OXA-48	CTZ, CTA, AZT, ERT, IMI, MER, GEN, AMI, TRS, TET, <i>TIG</i> , <i>CHL</i>	<i>bla</i> _{TEM-1} , <i>bla</i> _{SHV-12} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>qnrB</i> , <i>aac-6'-Ib-cr</i>
OMABC109	Omán/Muscat	2011 08.	Perianal	ST11	NDM-1 + OXA-181	CTZ, CTA, AZT, ERT, IMI, MER, GEN, AMI, TRS, CHL	<i>bla</i> _{SHV-1} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>qnrB</i> , <i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>armA</i>
SA54	Szaúdi/"C"	2012 06.	Trachea	ST152	NDM-1 + OXA-48	CTZ, CTA, AZT, ERT, IMI, MER, GEN, AMI, TRS	<i>bla</i> _{TEM-1} , <i>bla</i> _{SHV-1} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>rmtC</i>

* *ST* – szekvencia típus

Dőlttel szedett antibiotikum név – mérsékelten érzékeny

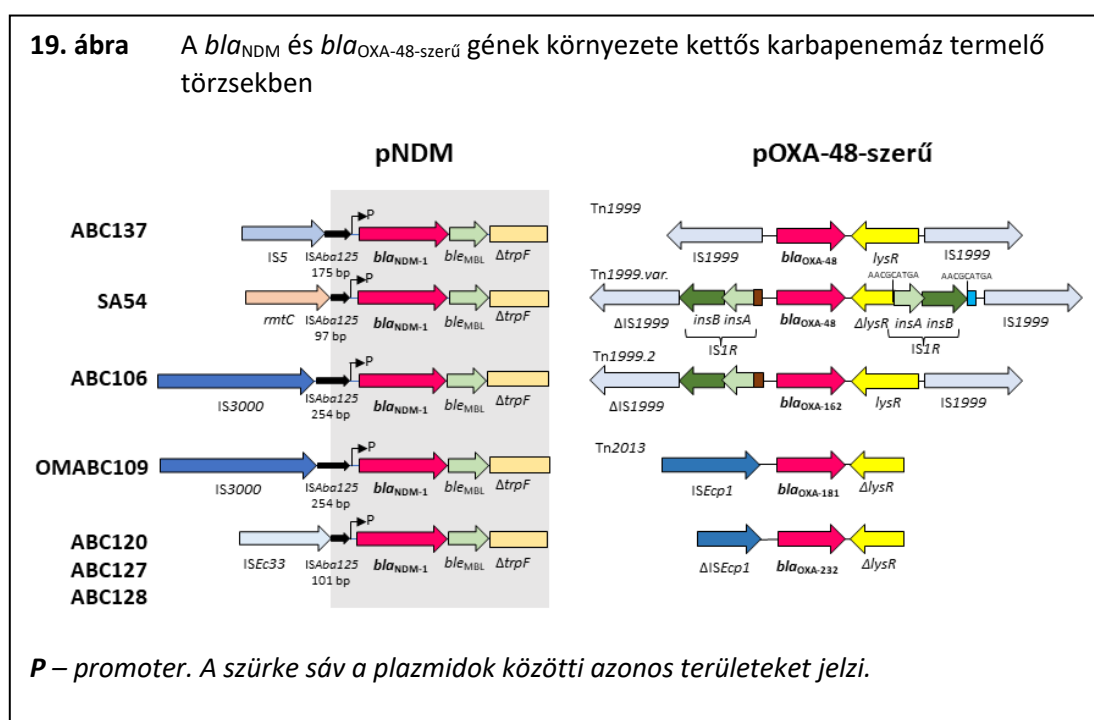
29. táblázat A karbapenemázt kódoló plazmidok jellegzetességei kettős karbapenemázt termelő törzsekben

Törzs	Karbapenemáz elhelyezkedése	Allél	Plazmid méret (kb)	Inc	Átvitel *	A plazmiddal átvitt rezisztencia **	A plazmiddal átvitt egyéb rezisztencia gének
ABC106	pABC106/13-NDM	NDM-1	>160	HI1b	K	CTZ, CTA, AZT, ERT, IMI, <i>MER</i> , GEN, AMI, CHL	<i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>qnrB</i> , <i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>armA</i>
	pABC106/13-OXA	OXA-162	60	L/M	K	<i>CTA</i> , <i>MER</i> , <i>CHL</i>	-
ABC120	pABC120/3-NDM	NDM-1	>160	HI1b	K	CTZ, CTA, ERT, IMI, <i>MER</i> , GEN, AMI	<i>qnrB</i> , <i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>armA</i>
	pABC120-OXA-T18	OXA-232	6	ColE	T	ERT	-
ABC127	pABC127/2-NDM	NDM-1	>160	HI1b	K	CTZ, CTA, ERT, IMI, <i>MER</i> , GEN, AMI,	<i>qnrB</i> , <i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>armA</i>
	pABC127-OXA-T11	OXA-232	6	ColE	T	ERT	-
ABC128	pABC128/1-NDM	NDM-1	>160	HI1b	K	CTZ, CTA, ERT, IMI, <i>MER</i> , GEN, AMI,	<i>qnrB</i> , <i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>armA</i>
	pABC128-OXA-T5	OXA-232	6	ColE	T	ERT	-
ABC137	pABC137-NDM-T1	NDM-1	50	X3	T	CTZ, CTA, AZT, ERT, IMI, <i>MER</i> ,	<i>bla</i> _{SHV-12}
	pABC-OXA-T2	OXA-48	60	L/M	T	ERT	-
OMABC109	pOMABC109/16-NDM	NDM-1	>160	HI1b	K	CTZ, CTA, AZT, ERT, IMI, GEN, AMI, CHL	<i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>qnrB</i> , <i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>armA</i>
	kromoszóma	OXA-181	-	-	-	-	-
SA54	pSA54/4-NDM	NDM-1	110	Fib/FII	K	CTZ, CAT, ERT, IMI, <i>MER</i> , GEN, AMI,	<i>aac-6'-Ib-cr</i> , <i>rmtC</i>
	pSA54-OXA-T8	OXA-48	60	L/M	T	ERT, IMI, <i>AMI</i>	-

* **K** -konjugáció, **T** – transzformáció, **Inc** – inkompatibilitási csoport

Dőltten szedett antibiotikum név – mérsékelten érzékeny

A karbapenemáz géneket határoló szekvenciák, a három ST14 törzstől eltekintve, melyek e tekintetben is teljesen azonosak voltak, még változatosabb képet mutattak (19. ábra). A pNDM-ek esetében a változatosság a bla_{NDM-1} gént megelőző $ISAb\alpha 125$ 3' végét érintő deléció méretében, és az ez előtt elhelyezkedő szekvenciákban jelentkeztek, míg a bla_{NDM} gén utáni szakasz, mely egy bleomicin rezisztencia gént tartalmazott, minden plazmidban azonos volt. A pOXA plazmidok esetén a két, nem ST14 emirátusi és a szaúdi törzsben a megfelelő OXA allélok génjei a Tn1999 különböző verzióiba inzertálódtak, míg az ománi törzsben a $bla_{OXA-181}$ és az ST14 törzsekben a $bla_{OXA-232}$ gének a Tn2013 transzpozonban, utóbbiak esetében annak egy deléciót szenvedett változatában, helyezkedtek el.



Az első kettős karbapenemáz termelő törzset (VIM+KPC) 2009-ben izolálták Görögországban³¹³, míg NDM+OXA-48-szerű karbapenemázokat termelő törzseket először Indiából jelentettek³¹⁴. Azóta globálisan szinte mindenhol előfordultak ilyen törzsek³¹⁵, de az EAE-ban tapasztalt arányuk mindenképpen figyelemre méltó. Feltételezhetjük, hogy elsősorban a kiterjesztett rezisztencia spektrummal magyarázható a kettős karbapenemáz termelés (lásd 29. táblázat: a recipiensbe átvitt pOXA plazmidok önmagukban csak ritkán okoztak klinikailag szignifikáns szintű cefalosporin rezisztenciát). Tény, hogy ilyen törzsek globálisan³¹⁵, illetve a régióban is előfordulnak²⁷⁰, igaz, az EAE-ban tapasztaltnál alacsonyabb arányban. Eredményeink alapján egyértelműen kimutatható volt a klonális terjedés szerepe az ST14

törzseknel: ezek azonos plazmidokat hordozva egy adott sharjah-i kórházban közel egy év különbséggel kerültek izolálásra (**28. táblázat**).

Ugyanakkor az ABC137 törzs által hordozott, NDM-1 kódoló IncX3 plazmidhoz hasonló konjugatív plazmidot, illetve a többi emirátusi és az ománi törzs által hordozott IncHI1b típusú plazmidot korábban már mi magunk is leírtunk az országban (**XII**, és lásd a 4.3.1. fejezetet), illetve az utóbbit Ománban is megtalálták ⁷⁸. Ezenfelül az emirátusi ST307 (ABC106) és az ománi ST11 törzs (OMABC109) által hordozott pNDM -ek egyéb rezisztencia génjeik tekintetében (**29. táblázat**) megegyező IncHI1b plazmidot írtak le Marokkóból ³¹⁶. Érdekes, hogy vizsgálatainkban az egyetlen konjugatív pOXA az OXA-162 allélt kódoló plazmid volt. Azonban a többi plazmid-kódolt OXA-48-szerű gén esetén is azok mind mobilis genetikai elemeken belül foglaltak helyet (**19. ábra**), bár az ST14 törzsekben, melyek klonális terjedést mutattak, ez a mobilis elem (Δ ISEcp1) sérült volt. Megjegyzendő, hogy ezt az allélt (OXA-232) először szintén ST14-ben írták le ³¹⁷, és az egyik első leírt NDM+OXA termelő törzs szintén NDM-1 és OXA-232 -t termelő ST14 törzs volt ³¹⁸.

Mindezek az eredmények azt mutatják, hogy a kettős karbapenemáz termelés magas helyi prevalenciája komplex, szimultán folyamatok eredménye, melyek között megtalálható a helyi klonális expanzió (ST14), csakúgy, mint a plazmid-kódolt karbapenemáz gének helyi, illetve regionális átvitele is.

4.3.2.5. A CRE törzsek antibiotikum rezisztenciája (**XXVI, XXVIII**)

A törzsek antibiotikum érzékenységét két, különböző időpontban és területen gyűjtött nagyobb tanulmányban vizsgáltuk: 2009 és 2017 között a régió országaiban izolált 1192 törzsen (**XXVI**) és 2018-19 9 hónapja során a EAE három régiójában (**XXVIII**). Az eredményeket a **30. táblázatban** mutatjuk. Mindkét alkalommal jellemző volt az általános rezisztencia magas foka, a kolisztin, tigecklin és ceftazidim-avibaktám rezisztens törzsek magas, és az aztreonam-avibaktám

30. táblázat A törzsek antibiotikum nem-érzékenysége *

Projekt jellemzői	Közlemény	XXVI.					XXVIII.	
		Csoport						
		Összes	XDR	PDR [©]	COL R [€]	CTV R		AZT-AVI R
Vizsgált törzsek (N)		1192 [§]	282	43	241	557	54	504 [#]
Gyűjtési terület		Régió					EAE	
Kórházak száma		33					15	
Időtartam		2009 -17					2018 07.- 2019 03.	
Antibiotikum nem-érzékenység (%)	CTZ	92,3	100,0	-	92,9	100,0	100,0	93,8
	CTA	98,1	100,0	-	99,6	100,0	100,0	97,8
	AZT	89,2	100,0	-	97,5	91,0	98,1	91,5
	ERT	99,7	100,0	-	99,2	100,0	100,0	100,0
	IMI	88,3	100,0	-	92,5	100,0	74,1	79,2
	MER	87,3	99,6	-	91,7	100,0	79,6	80,0
	MER MIC>8 mg/L	63,9	89,7	83,7	67,2	90,1	51,9	49,2
	CTV	46,7	51,8	62,8	41,1	-	57,4	44,6
	AZT-AVI	4,5	1,4	2,3	1,2	5,6	-	6,2
	CIP	92,4	100,0	-	95	96,8	94,4	93,8
	GEN	70,1	99,6	-	84,2	72,4	59,3	68,8
	AMI	57,1	97,5	-	70,5	67,5	31,5	56,7
	TRS	81,6	100,0	-	84,6	80,6	70,4	80,4
	TET	NT	NT	NT	NT	NT	NT	53,0
	CHL	70,9	98,9	-	80,1	70,7	48,1	78,8
	COL	20,2	28,0	-	-	17,8	5,6	23,6
TIG	40,1	77,3	-	35,7	42,9	18,5	41,5	
FOS	28,2	34,4	60,5	43,6	19,4	13,0	21,6	

* **Nem érzékenység** – a rezisztens és, ahol a kategória létezik, mérsékelten érzékeny törzsek együtt, [€] R – rezisztens

[©] **PDR** – semmilyen antibiotikumra nem érzékeny, nem számítva a CTV-t, FOS-t és AZT-AVI kombinációt

[§] **EAE** – 63,3%, **Szaúdi** – 18,3%, **Kuvait** – 9,4%, **Omán** – 7,1%, **Bahrein** – 1,9%

[#] **Abu Dhabi** – 45,6%, **Dubai** – 34,7%, **Sharjah és az északi emirátusok** – 19,6%

rezisztencia alacsony aránya. Utóbbi esetén különösen figyelemre méltó, hogy ez a kombináció még az egyébként XDR-nek vagy PDR-nek, kolisztin vagy ceftazidim-avibaktám rezisztensnek bizonyuló törzsek esetén is több, mint 90%-ban *in vitro* hatásoságot mutatott.

Ugyanakkor a kolisztin, a gyakran alkalmazott tigeciklin és az országban parenterálisan még nem hozzáférhető foszfomicin hatékonysága csak az egyéb antibiotikumokhoz képest volt jobb, a megnyugtató empirikus adagolhatóság szintjét (<<20% alatti rezisztencia) a legfontosabb csoportokban (pl. XDR törzsek) nem érte el.

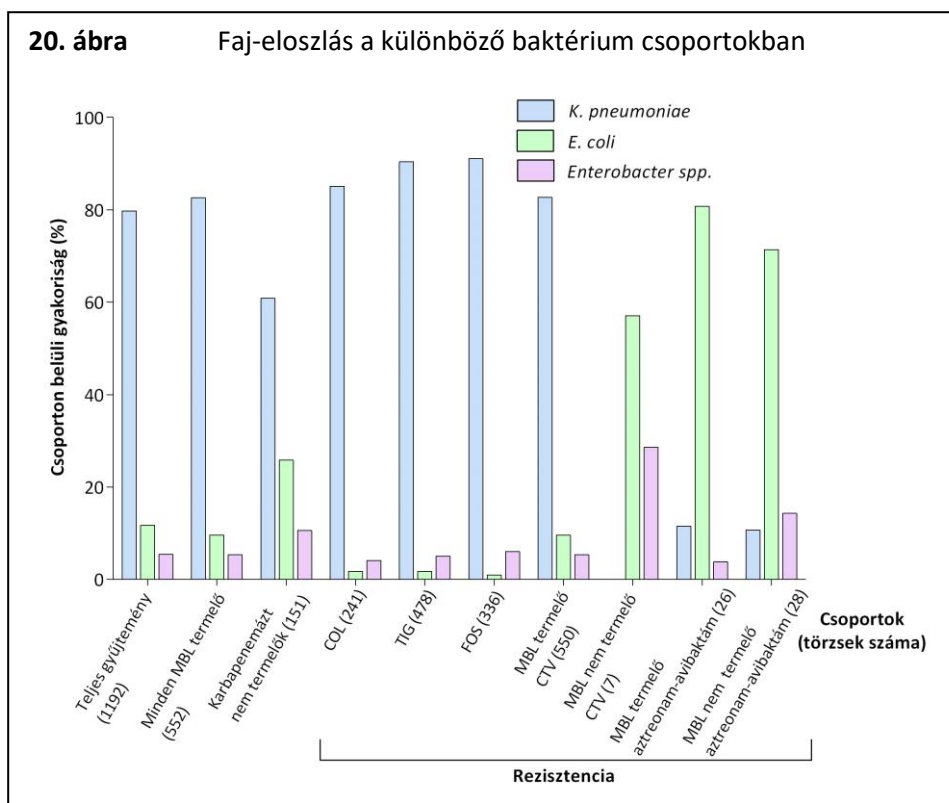
Megvizsgáltuk azt is, hogy az antibiotikum rezisztencia hogyan függ össze a különböző karbapenem rezisztencia mechanizmusokkal (**31. táblázat**). A karbapenemáz termelők, dupla karbapenemáz termelők és MBL termelők között, a gyakorlatilag minden csoportban 100%-os ertapenem rezisztencia mellett szignifikánsan több imipenem és meropenem rezisztens volt, mint a velük összehasonlított csoportok tagjai között. Az MBL termelés elsősorban a béta-laktámokkal szembeni rezisztenciát befolyásolta, míg ciprofloxacinnra és aminoglikozidokra szignifikánsan több karbapenemáz termelő törzs volt rezisztens, mint a nem termelő izolátumok. Ugyanakkor a két karbapenemáz termelő között gyakorlatilag minden fajta antibiotikum rezisztencia gyakoribb volt, mint a csak egyet termelők között. Ezzel szemben a karbapenemáz nem termelő között szignifikánsan több aztreonam-avibaktám és foszfomicin rezisztens törzs volt, mint azok között, melyeknél a rezisztencia nem antibiotikum-bontó enzim termelésén alapult.

A kolisztin, tigeciklin, foszfomicin rezisztens és az MBL termelő törzsek ceftazidim-avibaktám rezisztenciája törzsek teljes gyűjtemény béli faj-megoszlásának megfelelt a (*K. pneumoniae* > *E. coli* > *Enterobacter sp.*). Ugyanakkor a néhány MBL-t nem termelő ceftazidim-avibaktám rezisztens, és az MBL termeléstől függetlenül az aztreonam-avibaktám kombinációval szemben rezisztenciát mutató törzsek között domináltak az *E. coli* izolátumok (**20. ábra** (l. 95. old.)). PFGE vizsgálat alapján, függetlenül a fajtól, az aztreonam-avibaktám rezisztens törzsek nem mutattak semmilyen csoport-képzést, az izolátumok döntő többsége sporadikus volt.

31. táblázat Antibiotikum nem-érzékenység * a törzsek különböző csoportjaiban
(N=1192, XXVI)

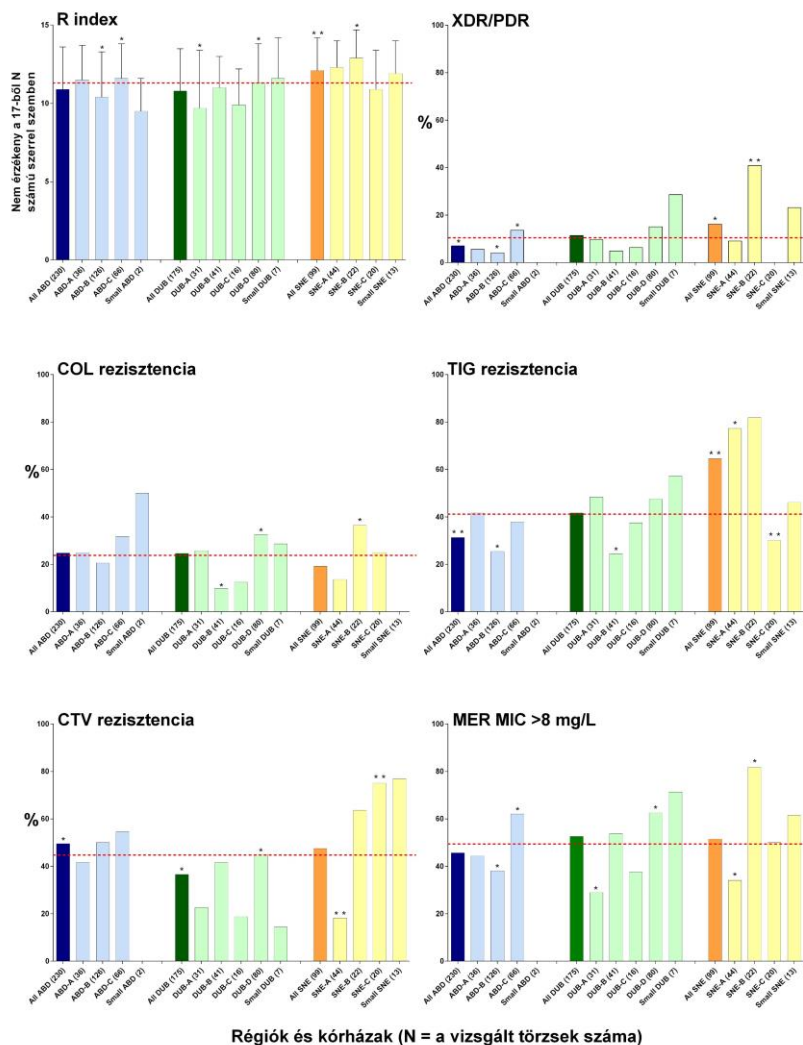
Antibiotikum	Antibiotikum nem-érzékenység (%) a különböző csoportokon belül								
	Karbapenemáz termelés			Dupla vagy egy karbapenemáz			MBL termelés		
	Nem	Igen	P	Dupla	Egy	P	Nem	Igen	P
CTZ	100,0	90,8	<0,0001	100,0	89,2	<0,0001	81,2	100,0	<0,0001
CTA	100,0	97,9	0,0988	100,0	97,5	0,0607	95,3	100,0	<0,0001
AZT	98,0	87,9	<0,0001	94,1	86,8	<0,0001	84,7	94,4	<0,0001
ERT	98,0	100,0	0,002	100,0	100,0	1,0	100,0	100,0	1,0
IMI	41,1	95,2	<0,0001	100,0	94,4	0,0006	90	99,8	<0,0001
MER	69,5	89,9	<0,0001	100,0	88,2	<0,0001	78,5	100,0	<0,0001
MER MIC>8 mg/L	6,6	72,2	<0,0001	97,4	67,9	<0,0001	51,7	90,4	<0,0001
CTV	4,0	52,9	<0,0001	100,0	44,9	<0,0001	0,2	99,6	<0,0001
AZT-AVI	14,6	3,1	<0,0001	2,0	3,3	0,6094	1,2	4,7	0,001
CIP	90,1	92,8	0,2476	100,0	91,6	<0,0001	88,3	96,7	<0,0001
GEN	52,3	72,7	<0,0001	89,5	69,9	<0,0001	73,2	72,3	0,7804
AMI	27,2	61,5	<0,0001	86,8	57,1	<0,0001	73,0	67,4	0,0497
TRS	78,8	82,0	0,368	95,4	79,8	<0,0001	83,2	81,0	0,3738
CHL	65,6	71,8	0,125	89,5	68,7	<0,0001	72,0	71,2	0,7835
COL	20,5	20,2	0,9138	30,3	18,4	0,0014	22,7	17,9	0,0632
TIG	33,8	40,7	0,1098	61,2	37,2	<0,0001	38,7	42,8	0,1851
FOS	56,3	24,1	<0,0001	31,6	22,8	0,0238	29,9	19,0	<0,0001

* **Nem érzékenység** – a rezisztens és, ahol a kategória létezik, mérsékelten érzékeny törzsek együtt



Az EAE -ban végzet első, a teljes országot érintő felmérés (**XXVIII**) során a kumulatív rezisztencia adatok mellet (lásd **30. táblázat**) módunk volt a regionális különbségek feltérképezésére is. Mint az a **21. ábrán** látható, volt olyan régió (SNE, Sharjah és az Északi Emirátusok), ahol szignifikánsan magasabb volt az R index és gyakoribbak voltak az XDR vagy PDR és tigeziklin rezisztens törzsek, mint Dubaiban vagy Abu Dhabiban. A kórházak szintjén vizsgálva az eloszlásokat, mindhárom régióban tudtunk olyan kórházakat azonosítani, amelyek az adott területen belül a legtöbb rezisztenciával összefüggő paraméter esetén a legmagasabb regionális értékkel rendelkeztek (ABD-C, DUB-D és SNE-B kórházak).

21. ábra Egyes antibiotikumokkal szembeni rezisztencia és néhány rezisztenciával összefüggő paraméter gyakorisága különböző EAE -béli kórházakban izolált CRE törzsekben



Régiók és kórházak (N = a vizsgált törzsek száma)

ABD – Abu Dhabi (kék), **DUB** – Dubai (zöld), **SNE** – Sharjah és az Északi emirátusok (sárga)

Sötétebb oszlopok - a három régió, **világosabb oszlopok** az adott régióban az egyes kórházak adatai

A szaggatott piros vonal az országos átlagot mutatja.

* P=0,05-0,001, ** P<0,001 Sötét oszlop felett az adott régió a másik kettővel összehasonlítva, világosabb oszlop felett az adott kórház a régió többi kórházához hasonlítva

Adataink egyértelműen mutatják, hogy egyrészt a régióban a CRE törzsek között a nem béta-laktám antibiotikumokkal szemben rezisztencia is nagyon kiterjedt (**30. táblázat**). Lényeges, hogy a gyakorlatilag megegyező adatok két olyan viszonylag magas törzsszámot vizsgáló tanulmányból származnak (**XXVI, XXVIII**), melyek között nincs időbeli átfedés. Figyelemre méltó a magas kolisztin és tigeziklin rezisztencia arány, melyek, különösen az olyan magas MBL prevalenciájú régiókban, mint az Arab-félsziget országai (**26. táblázat**) a CRE fertőzések kezelésénél meghatározó szerek. Fenti adatot figyelembe véve nem meglepő a ceftazidim-avibaktám rezisztens törzsek 40% feletti aránya sem, ami még magasabb az egyébként is XDR-nek vagy PDR-nek minősülő izolátumok között (**30. táblázat**). A mi adataink is azt mutatták, hogy a ceftazidim-avibaktám rezisztencia arányát döntően az MBL termelés határozza meg³¹⁹ (**31. táblázat**) olyan mértékig, hogy a két tulajdonság kórházak közötti EAE-n belüli megoszlása gyakorlatilag tükörképe egymásnak (**17. vs. 21. ábra**). Az XDR törzsek esetén, bár a rezisztencia szintjük jóval meghaladja a biztonságos empirikus alkalmazáshoz szükséges alacsony értéket, még mindig elsősorban a kolisztin és foszofomicin jöhetnek szóba, bár utóbbi szer a vizsgálat idején parenterális formában még nem állt rendelkezésre az országban, és alkalmazása egyébként is csak kombinációban javasolt³²⁰.

Ugyanakkor figyelemre méltó, hogy néhány esetben, elsősorban *E. coli* törzsek között, a ceftazidim-avibaktám rezisztencia nem volt MBL termeléshez köthető. Ismert, hogy ez a fenotípus kialakulhat akár a szer felvételét biztosító porinok, akár a célmolekula megváltozása miatt³¹⁹. Bár törzseink esetén a rezisztencia mechanizmusok vizsgálata a jelen projekt kereteit meghaladta, az eredmény azért figyelemre méltó, mert rámutat arra, hogy az MBL termelés hiánya nem feltétlenül jelenti a szer alkalmazhatóságát.

Noha kereskedelmi forgalomban standard kombinációban még nem hozzáférhető, az aztreonam-avibaktám még az itteni, magas MBL prevalenciájú területen is hatékonynak bizonyult *in vitro*. Több közlemény számolt be a ceftazidim-avibaktám és aztreonám kombinált kezelés klinikai sikeréről³²¹⁻³²⁴. Ugyanakkor vizsgálataink is igazolták, hogy rezisztencia még e kombinációval szemben is kialakulhat. Ilyen rezisztencia mechanizmusok lehetnek, a PBP3 megváltozása mellett egyes BLázok (pl. CMY-42, CTX-M-15, CTX-M-199, KPC-21, KPC-2) túltermelése, különösen ha ez különböző porin mutációkkal vagy efflux túlműködéssel társul³²⁵. Bár munkánk során e rezisztencia mechanizmusokat nem vizsgáltuk, figyelemre méltónak tartjuk, hogy ez is elsősorban a gyakran karbapenemázt nem termelő *E.*

coli törzsek között fordul elő, ráirányítva a figyelmet a karbapenemáz termelő egyéb fajok, elsősorban *K. pneumoniae* mellett kevesebb figyelmet kapott csoportra (20. ábra).

Munkánk során nem teszteltük a törzsek cefiderocol érzékenységét, mely elméletileg jelentős változást hozhat a CRE fertőzések kezelhetőségében ³²⁶. Ennek oka az volt, hogy a szer a vizsgálatok idején még nem állt rendelkezésre sem a klinikai gyakorlatban, sem az EAE-béli laboratóriumok számára teszt-korongként.

4.3.2.6. Klonalitás a CRE törzsek között (XXIII, XXVIII)

2015 júniusa és 2016 júniusa között 5 Dubai kórház összesen 13 025 *Enterobacterales* izolátuma közül a *National Antimicrobial Surveillance System* adatai alapján 599 törzs (4,6%) bizonyult CRE-nek. A laboratóriumunkba 107 törzs érkezett, melyek közül kizárva az ismétlődő izolátumokat, végül is 89-et (az adott periódusban izolált CRE törzsek 14,8%-át) vetettünk részletes vizsgálat alá (XXIII). Hetven törzs (78,7%) volt *K. pneumoniae*. A törzsek 32,6%-a, a *K. pneumoniae* izolátumok 40%-a volt XDR, a kolisztin rezisztencia aránya a teljes gyűjteményben 27,0%, a *K. pneumoniae* törzsek között 31,4% volt. Négy *K. pneumoniae* törzs PDR-nek bizonyult. A *K. pneumoniae* törzsek 44,3%-a OXA-48-szerű enzimet, 22,9% NDM-et, míg 24,3%-a mindkét enzimet termelte. Hatvannyolc *K. pneumoniae* törzset sikerült makrorestrikciós módszerrel tipizálni. Közülük 35 törzs (51,4%) a >80% hasonlóság alapján egy csoportot képezett, míg a többi izolátum 16 különféle mintát mutatott. A nagy csoport tagjaiból >90% hasonlóság alapján alcsoportokat képeztünk, és ezek mindegyikéből minden karbapenem rezisztencia mechanizmus típusból legalább egyet, összesen 19 törzset MLST vizsgálatnak vetettünk alá. Ezek mindegyike ST14 típusnak bizonyult, ideértve a négyből 2 PDR törzset is. A másik két PDR izolátum ST15 és ST231 voltak.

A fentiek, illetve a >90% PFGE hasonlóság alapján a teljes csoportot (35 törzs, a faj 50,0%-a, a teljes gyűjtemény 39,3%-a) ST14-nek tekintettük. Ezeket összehasonlítva a többi azonos fajú izolátummal, kiderült, hogy az ST14 törzsek között szignifikánsan több volt az amikacin nem érzékeny ($P=0,0001$), az XDR ($P=0,0273$), az OXA-48-szerű+NDM enzimet termelő ($P=0,0001$), és *K. pneumoniae* ST14 törzsek gyakrabban kerültek izolálásra emirátusi, mint nem emirátusi betegekből ($P=0,0015$). Bár a kolisztin rezisztencia gyakoribb volt (37,1%), mint a csoporton kívüli *K. pneumoniae* törzsek között (27,3%), a különbség nem érte el a szignifikáns szintet ($P=0,4436$).

Miután a fenti eredmények egyértelműen egy magas fokban rezisztens *K. pneumoniae* klón dominanciáját mutatták a dubai kórházakban, mintegy két évvel később a vizsgálatot megismételtük immár a teljes országra kiterjesztve (**XXVIII**). A három nagy régióra (Abu Dhabi ABD, 4 kórház, 230 törzs; Dubai, DUB, 6 kórház, 175 törzs; és Sharjah és az Északi Emírátságok, SNE, 5 kórház, 99 törzs) osztott országból gyűjtött 504 CRE izolátum esetén a rezisztencia gén megoszlást korábban a **26. és 27. táblázatban** és a **17. ábrán**, a törzsek rezisztenciáját a **30. táblázatban** és a **21. ábrán** mutattuk be.

A törzsek 17,9%-a volt *E. coli* és 75,2%-a *K. pneumoniae*. A 90 *E. coli* közül a PFGE módszerrel tipizálható 81 izolátum 32 különböző mintázatot mutatott. A 27, WGS -nek alávetett *E. coli* törzs változatos szekvencia típusokat (ST38, ST131, ST167, ST205, ST359, ST405, ST410, ST448, ST617, ST648, ST940, ST1158, ST1193, ST1284, ST1303, ST1431, ST1702, ST2659, ST3541, ST8346) mutatott jelentősebb csoportképzés nélkül. A 379 *K. pneumoniae* törzsből 378-at tudunk PFGE módszerrel tipizálni, és 58 mintát találtunk a >80% hasonlósági kritériumok alapján. >90% hasonlóság alapján alcsoportokat képezve, és mindegyiken belül minden karbapenem rezisztencia mechanizmusnak megfelelő legalább egy reprezentáns esetén WGS-t végezve három nagy klón csoportot tudunk azonosítani: CC14 (mely magában foglalta az ST14 SLV-it, a ST78 és ST2096 típusokat is), az ST231-et és a CC147-et (együtt a ST392 SLV-vel). A CC14 törzsek a fajon belül az izolátumok 40,6%-át, a teljes kollekción belül 30,6% jelentették, míg ezek az értékek az ST231 esetén 12,7% és 9,5%, a CC147 esetén 11,3% és 8,5% voltak. A 3 klón együtt a törzsek 48,6%-át a *K. pneumoniae* izolátumok 64,6%-át jelentették. A kisebb (<4 tag) csoportok esetén a típusok ST11, ST13, ST15, ST48, ST108, ST336, ST353, ST383, ST395, ST441 és ST6085 voltak. Ezeket, illetve a szingleton izolátumokat sporadikusan előfordulónak tekintettük.

32. táblázat A fő *Klebsiella pneumoniae* klónok különböző paraméterei a sporadikus törzsekhez hasonlítva

Klónok* (N)	A hordozott gének aránya (%)							A nem-érzékenység aránya (%)					MER MIC >8 mg/L (%)	XDR +PDR (%)	R index (X±SD)
	<i>bla</i> _{NDM}	<i>bla</i> _{OXA-48-} szerű	<i>bla</i> _{NDM+} <i>bla</i> _{OXA-48-} szerű	MBL	16 S metiláz	<i>armA</i>	<i>rmtF</i>	CTV	COL	TIG	AZT-AVI	FOS			
CC14 (154)	24,0	42,9	27,9	51,9	90,9	89,0	0,6	51,9	41,6	65,6	0,6	17,5	72,7	23,4	12,94 ± 1,31
ST231 (48)	0	87,5	0	0	95,8	2,1	95,8	0	20,8	31,3	0	35,4	72,9	2,1	11,47 ± 1,30
CC147 (43)	44,2	44,2	4,7	48,8	60,5	18,6	41,9	48,8	20,9	60,5	0	30,2	60,5	7,0	11,37 ± 1,90
Sporadikus (245)	35,1	34,3	9,0	44,0	30,6	13,4	16,4	44,0	19,4	38,1	1,5	31,3	30,6	7,5	10,14 ± 3,03

* Ideértve azokat a törzseket is, melyek ≥90% PFGE hasonlóságot mutattak azokhoz, melyek ST-jét meghatároztuk

Sporadikus törzsekhez hasonlítva az eltérés $P < 0,001$

Sporadikus törzsekhez hasonlítva az eltérés $P < 0,05 > 0,001$

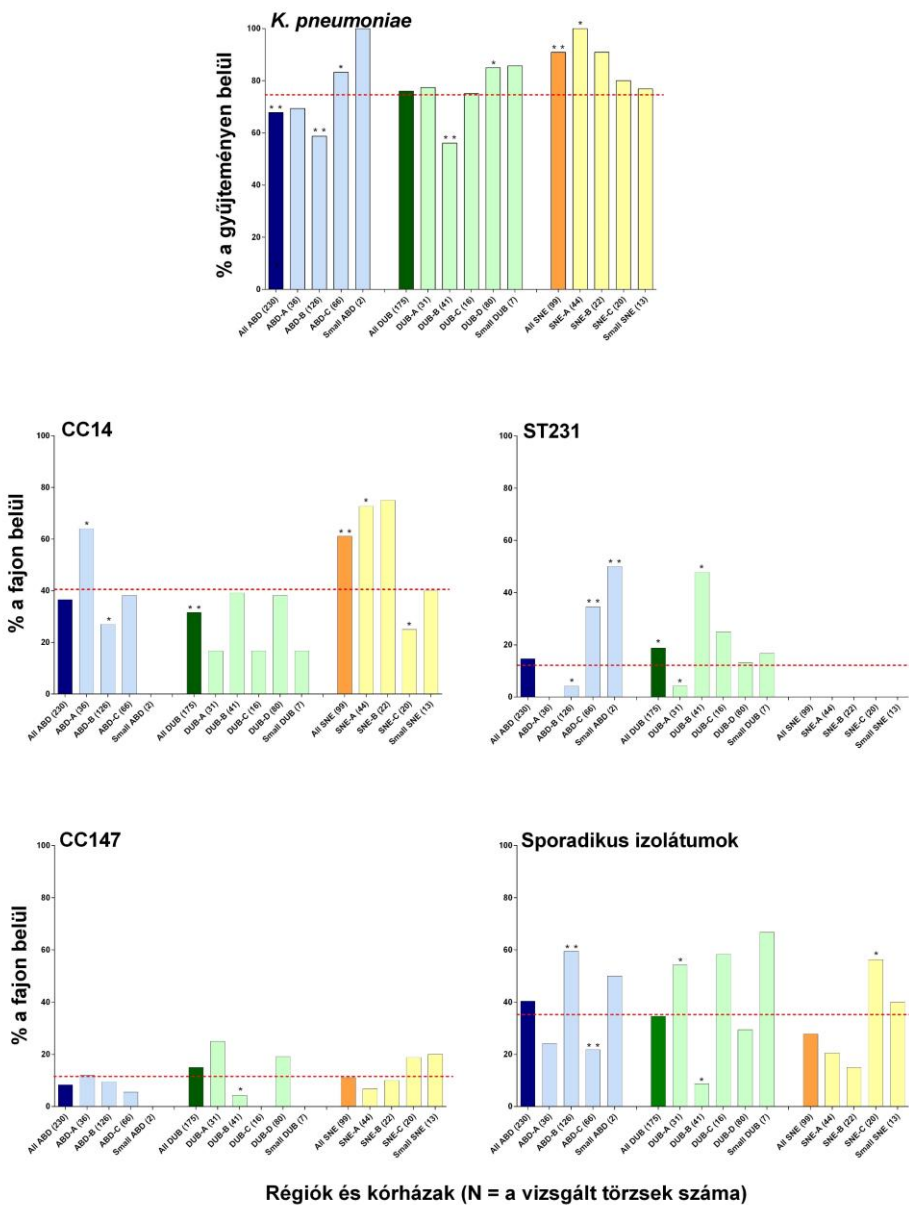
A három nagy klón tagjai több paraméter tekintetében szignifikánsan eltértek a sporadikus törzsektől (**32. táblázat**). Ebben a tekintetben különösen a legnagyobb, CC14 klón emelkedett ki: tagjai szignifikánsan gyakrabban hordoztak két karbapenemáz, illetve *armA* 16S metiláz gént, voltak XDR vagy PDR fenotípusúak, rezisztensek kolisztin és tigeciklinnel szemben, és általában több antibiotikummal szemben mutattak nem-érzékenységet, mint a sporadikus izolátumok.

A **XXVIII**-as tanulmányban WGS-nek alávetett 16 *K. pneumoniae* ST147 törzs mindegyike, míg a 32 ST14 izolátum 90,6%-a KL64-es tok lókuszt, a többi KL2-t hordozott. Az összes (13) WGS-szel vizsgált ST231-es törzs KL51 lókusszal rendelkezett.

A ST231 klón hiányzott a SNE régióból, de a CC14 és CC147 klón tagjai mindhárom régióban előfordultak. A CC14 prevalencia a legmagasabb a SNE régióban volt, köszönhetően elsősorban a SNE-A és SNE-B kórházak magas értékeinek. CC14 klón képviselőit a vizsgálatba bevont minden nagyobb kórházban izolálták, és még a legalacsonyabb CC14 prevalenciájúakban is (pl. DUB-A, DUB-C) az izolált *K. pneumoniae* törzsek minimum 16,7%-a ennek a klónnak a tagja volt a (**22. ábra**).

A cgMLST vizsgálatok a klónokon belüli eloszlást mutatták meg. A WGS-nek alávetett ST231 törzsek (N=13) két kisebb csoport és több szingleton mellett egy nagyobb csoportot képeztek (Cluster 1, **23. ábra A** (*l. 103. old.*)), utóbbiak mind egy (ABD-C) kórházból származtak. A CC147 törzsek ennél sokkal szélesebb eloszlást mutattak (**23. ábra B**). A CC14 törzsek esetén mindhárom nagyobb csoport törzsei (Cluster 1,2,3 **23. ábra C**) több kórházból, sőt, több régióból származtak. Ugyanakkor feltűnő volt, hogy a két, az országban legmagasabb CC14 prevalenciával rendelkező kórházban (SNE-A, SNE-B, **22. ábra**) izolált törzsek eltérő cgMLST clusterekbe tartoztak. E két kórház CC14-es törzseit összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy míg a SNE-A kórházban döntően OXA-48-szerű karbapenemázt termelő CC14 törzsek voltak jelen, addig a SNE-B kórházban az NDM vagy NDM+OXA-48-szerű enzimet kifejező, azaz MBL termelő, így ceftazidim-avibaktám rezisztens, gyakran XDR vagy PDR izolátumok domináltak (**33. táblázat** (*l. 104. old.*)).

22. ábra *K. pneumoniae* klónok eloszlása az EAE régiói és kórházai között



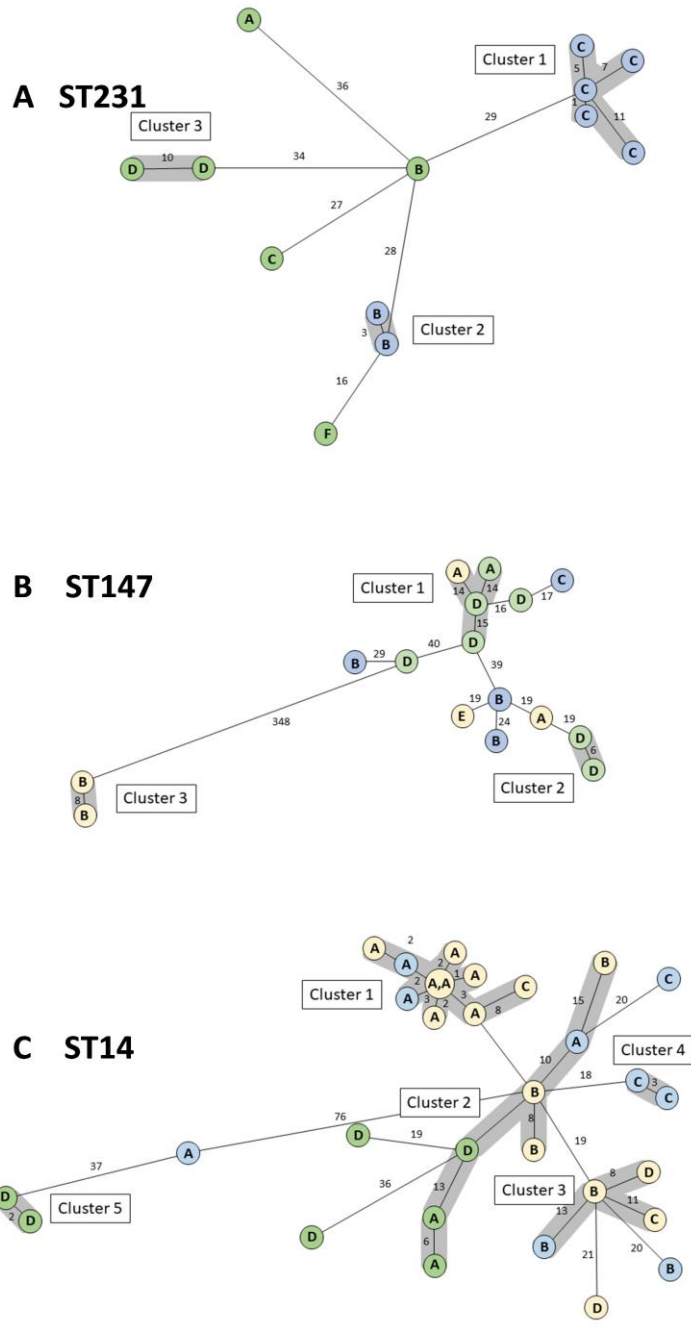
ABD – Abu Dhabi (kék), **DUB** – Dubai (zöld), **SNE** – Sharjah és az Északi emirátusok (sárga)

Sötétebb oszlopok - a három régió, **világosabb oszlopok** az adott régióban az egyes kórházak adatai

A szaggatott piros vonal az országos átlagot mutatja.

* $P=0,05-0,001$, ** $P<0,001$ Sötét oszlop felett az adott régió a másik kettővel összehasonlítva, világosabb oszlop felett az adott kórház a régió többi kórházához hasonlítva

23. ábra A *K. pneumoniae* klónok cgMLST vizsgálata



● Abu Dhabi kórház ● Dubai kórház ● Sharjah és az Északi Emírátságok kórház

A nagybetűk az egyes kórházakat, a számok az eltérő allélok számát jelzik

33. táblázat A két legmagasabb prevalenciájú kórházból származó *Klebsiella pneumoniae* CC14 törzsek összehasonlítása

Kórház	CC14 (%) [*]	Rezisztencia (%)			A törzsek % aránya		Az alábbi enzimeket kódoló gének (%)						R index
		COL	TIG	CTV	MER MIC >8 mg/L	XDR / PDR	NDM	OXA-48-szerű	NDM + OXA-48-szerű	MBL	16 S metiláz	arm A	
SNE-A	72,7	12,5	90,6	3,1	34,4	9,4	0,0	81,3	3,1	3,1	90,6	90,6	12,625 ± 1,099
SNE-B	75,0	20,0	86,7	86,7	100,0	40,0	60,0	20,0	20,0	80,0	73,3	73,3	12,866 ± 1,846
<i>P</i>	0,8487	0,5008	0,6816	< 0,0001	< 0,0001	0,0129	< 0,0001	< 0,0001	0,0533	< 0,0001	0,1206	0,1206	0,5775

^{*} Tartalmazza azokat a törzseket is, melyek ≥90% PFGE minta hasonlóságot mutatnak azokhoz a törzsekhez, melyek a WGS alapján e típusba tartoztak

Ötszáz esetben ismert volt a beteg nemzetisége, azaz emirátusi (N=225) vagy nem emirátusi (N=275). Az egyváltozós logisztikai regressziós modell vizsgálat azt mutatta, hogy az életkor, nem, nemzetiség, a minta típusa, és a mintavételig kórházban töltött idő közül a nemzetiség szignifikáns összefüggést mutatott az izolált fajjal, azaz az emirátusi betegek mintáiból 1.896-szor volt valószínűbb, hogy *K. pneumoniae* tenyészik ki (96% C.I. 1,121-2,945, $p=0,004$), míg a többi változó nem befolyásolta szignifikánsan a kitenyésztett kórokozó fajtát. Ugyanakkor a többváltozós modellt alkalmazva a *K. pneumoniae* faj kitenyésztésének valószínűségével csak az életkor korrelált: minden életév 1.017-szer növelte e faj kóroki szerepének valószínűségét (95% C.I. 1.007–1.027, $p=0.001$). Az *E. coli* estén a fordított trend volt megfigyelhető: minden életkori évvel 0,984-szeresével csökkent e kórokozó szerepének valószínűsége (95% C.I. 0.973–0.955, $p = 0.004$).

Az emirátusi betegből kitenyésztett *K. pneumoniae* törzsek szignifikánsan gyakrabban voltak kolisztin rezisztensek, termeltek NDM és OXA-48-szerű karbapenemázt és hordoztak valamilyen 16S metiláz, különösen *armA* gént ($p=0,0292-0,0048$). Ennek fényében nem volt meglepő, hogy mindhárom gyűjtő területen az emirátusi betegek *K. pneumoniae* törzsei szignifikánsan gyakrabban tartoztak a CC14 klónba, mint azok, melyek nem emirátusi betegekből származtak (ABD régió - 48,2 vs. 23,9 $p=0,0019$; DUB régió – 40,0 vs. 23,9 $p=0,0468$; SNE régió – 80,6 vs. 47,2 $p=0,0016$). Egyváltozós modelben vizsgálva az emirátusiaknak 2,257-szer nagyobb volt az esélye CC14 fertőzésre, mint a nem emirátusiaknak (95% C.I. 1,455–3,501, $p < 0,001$), míg ugyanez az érték többváltozós modelben 2,088 volt (95% C.I. 1,296–3,364, $p=0,002$). A másik két gyakori klón (ST231 és CC147) esetén hasonló összefüggéseket nem találtunk.

Mindkét vizsgálatunk eredményeként megállapíthattuk, hogy az EAE CRE problémáját döntően korlátozott számú *K. pneumoniae* klón terjedése okozza. A korábbi, kisebb, és Dubai kórházakra korlátozódó vizsgálat egy (ST14), a második, az egész országot átfogó vizsgálat három ilyen klónt (CC14, ST231, CC147) azonosított, melyek közül itt is a CC14 dominált. Mindhárom klón jól ismert „globális” klón³²⁷. Az ST231 törzsek, bár nem kizárólag, de elsősorban OXA-48-szerű karbapenemázokat termelnek³²⁸ és az általunk izolált klónok között is ez a csoport hordozott *bla*_{OXA-48-szerű} géneket a leggyakrabban (**32. táblázat**). A CC147 világszerte talán az egyik legelterjedtebb MDR klón^{329,330} változatos ESBL és karbapenemáz termelő képességgel. Bár az ST15-tel és SLV-ikkal a 15-ös klonális csoportba (CG15) tartozó ST14 törzsek³³¹ ma már szintén globálisan elterjedtek, ismereteink szerint az általunk tapasztaltakhoz hasonló mértékben egyetlen régióban sem dominálnak. ST14/CC14

törzseket leggyakrabban a Távol-Keletről, az Indiai szubkontinensről, Ausztráliából, és elsősorban a mi korábbi vizsgálataink kapcsán (**XII, XV, XXII**) a Közel-Keletről írták le. Csakúgy, mint mi a jelen vizsgálatokban találtuk (**32. táblázat**), másutt is jellemző e klón tagjaira a gyakori kettős karbapenamáz termelés, a 16S metilázok, elsősorban az *armA* gén jelenléte, a gyakori kolisztin rezisztencia, az XDR, esetenként PDR fenotípus^{332,333}.

Az egész országra kiterjedő vizsgálat során igazoltuk, hogy CC14 törzsek az országban vizsgált minden nagyon kórházban jelen vannak. A részletesebb cgMLST vizsgálatok rámutattak a kórházak közötti átvitel lehetőségére (azonos cgMLST típus különböző kórházakból (ST14, Cluster 1,2,3 **21. ábra**). Ugyanakkor ez önmagában nem magyarázza meg a kialakult helyzetet: a két leginkább érintett kórház (SNE-A és -B), szinte kizárólag „saját” ST14 cgMLST típusokkal rendelkeztek, melyek jelentősen különböztek egymástól (**33. táblázat**) legalábbis részben megmagyarázva a két kórház között talált jelentős különbségeket úgy a karbapenamázok eloszlását a (**17. ábra**), mint a kolisztin és ceftazidim-avibaktám rezisztenciát és az XDR/PDR törzsek arányát (**21. ábra**) tekintve. Figyelemre méltó volt az is, hogy minden régióban azok a kórházak, melyek a legtöbb rezisztenciával összefüggő mutató tekintetében a legmagasabb értékeket mutatták (ABU-C, DUB-D, and SNE-B) **21. ábra**) azok voltak, amelyekben az adott régió belül a legmagasabb vagy a második legmagasabb volt a CC14 törzsek aránya (**22. ábra**).

E két projekt váratlan eredménye volt az ST/CC14-es törzsek gyakoribb előfordulása emirátusi betegekben. A rendelkezésre álló nagyon korlátozott demográfiai és klinikai adatok az összefüggés megállapításán túl nem tették lehetővé a kapcsolat okainak feltárását. Egyrészt szóba jöhetnek genetikai különbségek a két, azaz az emirátusi és nem emirátusi populáció között. Azonban az utóbbi semmiképpen nem tekinthető etekintetben homogénnek, de valószínűleg az emirátusi sem. Populáció genetikai vizsgálatok szerint az Y-DNS analízis erős közel-keleti és nyugat-ázsiai befolyást mutatott az emirátusi népességre, a mitokondriális DNS vizsgálatok pedig rendkívül változatos, a teljes ázsiai térségen túl, afrikai és európai hatást mutattak³³⁴. Felmerül a ko-morbiditások terén esetleg meglévő különbségek oki szerepe is. Szaúd-Arábiában figyelték meg, hogy diabéteszes betegekből szignifikánsan gyakrabban kerültek karbapenam rezisztens *A. baumannii* törzsek izolálásra³³⁵. Bár adatok az érintettek egyéb betegségeiről nem álltak rendelkezésünkre, az kétségtelen, hogy a cukorbetegség prevalenciája rendkívül magas az EAE-ban³³⁶. A harmadik lehetőség a két csoportnak nyújtott ellátásbéli, mintavételi, és a kezelést érintő esetleges különbségek. A rendelkezésre álló adatok etekintetben sem voltak elégségesek bármilyen

konklúzió levonására. Ugyanakkor úgy gondoljuk, hogy az a tény, hogy az országban dominál, a jelenlévők között legrezisztensebb klón tagjai szignifikánsabb gyakrabban okoznak fertőzéseket a helyi lakosok, mint az itt dolgozó külföldiek között, mindenképpen további, sokkal részletesebb vizsgálatokat igényel.

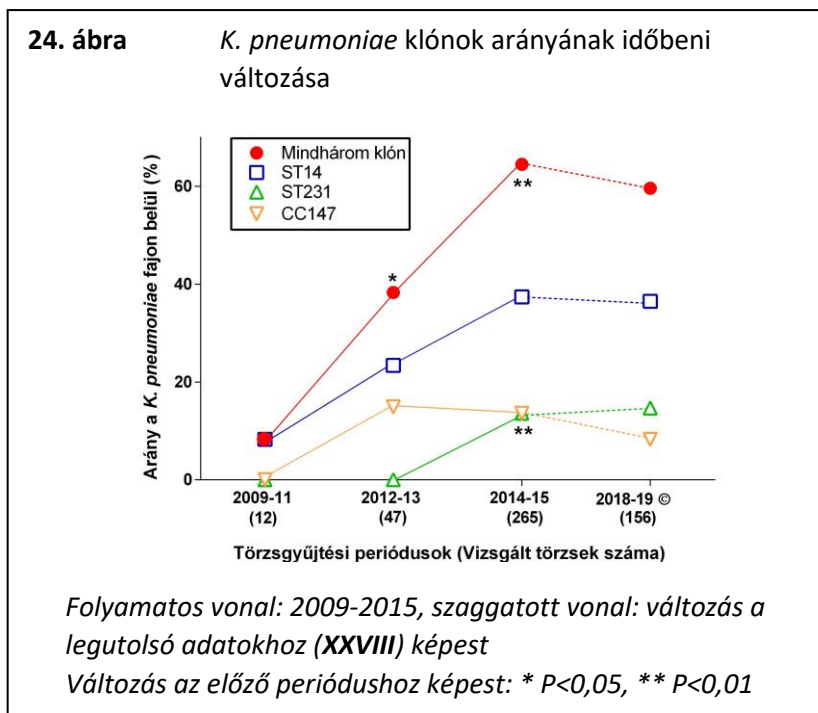
4.3.2.7. A jelen CRE helyzet kialakulásának dinamikája Abu Dhabiban (XXX)

Vizsgálataink során a Abu Dhabi emirátus 5 nagy állami és egy, a katonasághoz tartozó kórházból 2009 és 2015 között izolált törzseket három időszakra osztva (2009-11 (N=12), 2012-13 (N=47), 2014-15 (N=265) hasonlítottuk a **XXVIII.** projekt során 2018-19 nyolc hónapja alatt ugyanebben az emirátusban izolált törzsekhez.

A 2009 és 2015 között izolált 324 *K. pneumoniae* törzset először PFGE vizsgálatnak vetettük alá, majd a $\geq 90\%$ mintazonosságon belül minden karbepenem rezisztencia mechanizmusnak megfelelően legalább egy törzs esetén meghatároztuk az MLST-t. A $\geq 90\%$ PFGE minta hasonlóságú törzseket az ST-jüket meghatározottakkal azonos típusba tartozónak tekintve három nagy (>10 tagú) klónt sikerült azonosítanunk, az ST14-et (N=111), ST231-et (N=36) és a CC147-et (N=43, együtt a ST273 és ST392 SLV-kel). Az egyes klónok, a 2018-19-ből származó társaikhoz hasonlóan (**32. táblázat**), sokkal rezisztensebbek voltak a sporadikus izolátumoknál (**34. táblázat** (l. 109. old.)).

A **24. ábrán** a klónok arányának időbeni változását tüntettük fel, míg a **35. táblázat** (l. 110. old.) az egyes klónok, rezisztencia gének, és fenotípusok jelenlétének éveit mutatják. Jól látható, hogy a három nagy klón közül kettő (ST14 és CC147) már korán, 2011-ben, illetve 2012-ben megjelentek, míg az ST231 törzsek viszonylag kései addíciók. A teljes 2009-2015-ös vizsgálati periódust figyelembe véve mindhárom nagy klón tagjai a vizsgált hat kórházból legalább ötben jelen voltak.

Eredményeink egyértelműen mutatják, hogy a 2018-19-ben az országban domináló klónok közül kettő (ST14 és CC147) már a korai években is jelen volt a vizsgált Abu Dhabi kórházak



többségében, és a későbbi izolátumokhoz hasonlóan ugyanúgy sokkal rezisztensebbek voltak, mint a faj sporadikus törzsei (XXVIII, 32. táblázat vs. 34. táblázat). A klónok fajon belüli együttes részaránya 2015-ig folyamatosan növekedett, melyet minimális csökkenés követett. A legdinamikusabb változás a 2018-19-ben is legelterjedtebb, egyben legrezisztensebb klón (ST/CC14) esetén volt megfigyelhető (24. ábra). Korábbi vizsgálataink szerint e klón tagjai szignifikánsan gyakrabban kerültek izolálásra emirátusi betegekből (XXIII, XXVIII). Tekintve, hogy a 2009-15 között izolátumok esetén csak kivételesen álltak rendelkezésre adatok a betegek nemzetiségét tekintve, azt nem tudjuk, hogy ez a jelenség már a helyi CRE járvány kezdeti időszakában is megvolt-e. Azt viszont állíthatjuk, hogy a 2018-19-re országosan kialakult súlyos helyzet egy folyamatos fejlődés eredménye volt, és nem néhány klón hirtelen, robbanásszerű megjelenése vezetett idáig. Úgy gondoljuk, megalapozott az a vélekedés, hogy egy időben elkezdett, széleskörű, kiterjedt, molekuláris tipizáláson alapuló surveillance jó eséllyel, már a járvány korábbi időszakában felfedhette volna ezeket a trendeket. A góccok, átviteli utak feltárása a jelenleginél még egy sokkal egyszerűbb járványtani helyzetben teremtette volna meg a célzott megelőző, a terjedést kontrolláló intézkedések meghozatalának lehetőségét.

34. táblázat 2009 és 2015 között Abu Dhabiban izolált nagyobb *Klebsiella pneumoniae* klónok tulajdonságai

Klónok* (N)	A hordozott gének aránya (%)							A nem-érzékenység aránya (%)			MER MIC >8 mg/L	XDR +PDR	R index (X±SD)
	<i>bla</i> _{NDM}	<i>bla</i> _{OXA-48-} szerű	<i>bla</i> _{NDM} + <i>bla</i> _{OXA-48-} szerű	MBL	16 S metiláz	<i>armA</i>	<i>rmtF</i>	CTV	COL	TIG			
ST14 (111)	30,3	42,9	32,4	63,1	78,4	78,4	0	67,6	26,1	75,5	89,2	33,3	13,02 ± 1,29
ST231 (36)	0	97,2	0	0	100,0	5,6	97,2	0	5,6	100,0	91,7	0	12,27 ± 0,77
CC147 (43)**	34,9	37,2	14,0	48,8	51,2	11,6	39,5	48,8	14,0	72,1	86,1	9,3	11,67 ± 2,51
Sporadikus (134)	35,1	30,1	3,9	17,2	12,2	7,8	2,5	17,7	9,3	30,0	30,0	2,0	10,35 ± 2,63

* Ideértve azokat a törzseket is, melyek ≥90% PFGE hasonlóságot mutattak azokhoz, melyek ST-jét meghatároztuk

** Ideértve a ST147 típus SLV-it (ST273, ST392)

Sporadikus törzsekhez hasonlítva az eltérés $P < 0,001$

Sporadikus törzsekhez hasonlítva az eltérés $P < 0,05 > 0,001$

35. táblázat Az egyes gének, rezisztenciával összefüggő jellemzők és klónok jelenléte évek szerinti bontásban az Abu Dhabiban izolált törzsekben

Paraméter csoport	Gének, klónok, rezisztencia tulajdonságok	% a gyűjteményen belül	Allélek	% az enzim csoporton belül	Az előfordulás éve						
					2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Rezisztencia gének	<i>bla_{NDM}</i>	24,9	<i>bla_{NDM-1}</i>	89,8	X	X	X	X	X	X	X
			<i>bla_{NDM-4}</i>	1,0					X		
			<i>bla_{NDM-5}</i>	8,2					X	X	
			<i>bla_{NDM-7}</i>	1,0				X			
	<i>bla_{OXA-48-szerű}</i>	43,9	<i>bla_{OXA-48}</i>	37,0	X	X	X	X	X	X	X
			<i>bla_{OXA-162}</i>	1,7					X	X	
			<i>bla_{OXA-181}</i>	16,8					X	X	X
			<i>bla_{OXA-232}</i>	42,8					X	X	X
			<i>bla_{OXA-244}</i>	1,7					X	X	X
	<i>bla_{VIM}</i>	0,8	<i>bla_{VIM-4}</i>	66,6				X	X		
			<i>bla_{VIM-55}</i>	33,3						X	
	<i>bla_{NDM} + bla_{OXA-48-szerű}</i>	14,5	<i>bla_{NDM-1} + bla_{OXA-48}</i>	8,9					X		X
			<i>bla_{NDM-1} + bla_{OXA-162}</i>	1,8				X			
			<i>bla_{NDM-1} + bla_{OXA-181}</i>	3,6						X	X
			<i>bla_{NDM-1} + bla_{OXA-232}</i>	73,2					X	X	X
			<i>bla_{NDM-5} + bla_{OXA-181}</i>	12,5					X	X	X

folyt.

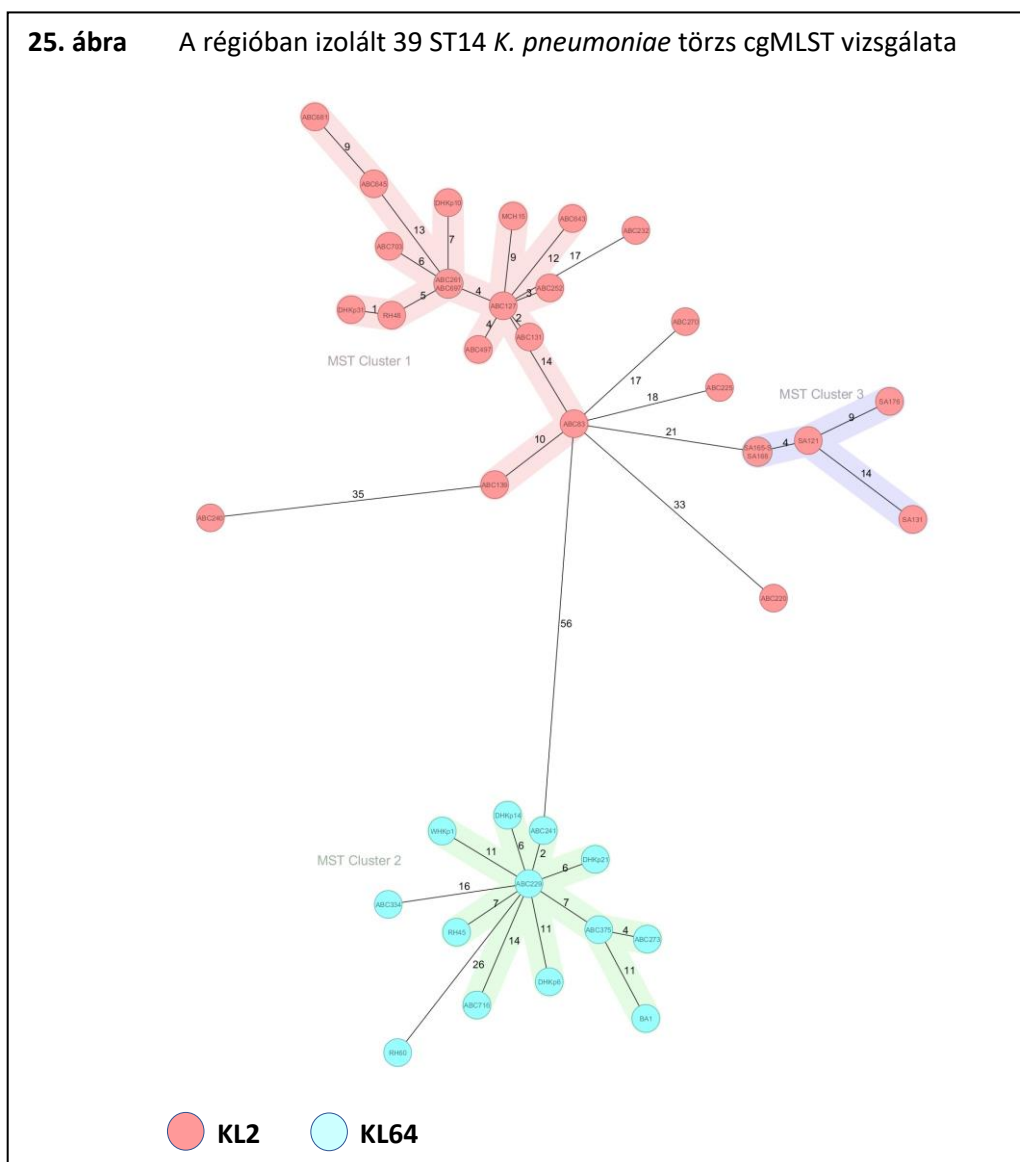
folyt.

Paraméter csoport	Gének, klónok, rezisztencia tulajdonságok	% a gyűjteményen belül	Allélek	% az enzim csoporton belül	Az előfordulás éve							
					2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	
Rezisztencia gének folyt.	<i>bla_{NDM-1} + bla_{VIM-55}</i>	0,3	<i>bla_{NDM-1} + bla_{VIM-55}</i>	100,0								X
	Bármilyen MBL*	40,4	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X
	Bármilyen 16S metiláz	49,6	<i>armA</i>	30,5				X	X	X	X	X
			<i>rmtB</i>	1,3						X	X	X
			<i>rmtC</i>	1,3						X		X
<i>rmtF</i>			15,7					X	X	X	X	
Rezisztenciával összefüggő jellemzők	XDR	9,1	-	-		X	X	X	X	X	X	
	PDR	2,5	-	-				X	X	X	X	
	COL R	16,2	-	-			X	X	X	X	X	
	TIGR	57,6	-	-	X	X	X	X	X	X	X	
	CVT R	40,6	-	-	X	X	X	X	X	X	X	
<i>K. pneumoniae</i> klónok	ST14	28,2	-	-			X		X	X	X	
	CC147**	10,9	-	-				X	X	X	X	
	ST231	11,1	-	-						X	X	

* MBL—metallo beta-laktamáz, ** CC—clonal complex, mely tartalmazza a single-locus variáns (SLVs) ST147, ST273, és ST392 típusokat

4.3.2.8. Az országban domináló *K. pneumoniae* ST14 klón törzseinek változatossága (XXVII)

2011 és 2016 júniusa között a Fél-sziget 5 országának 33 kórházából származó 761 CRE törzsből random kiválasztottunk 70 ST14 törzset, melyeket a hordozott karbapenemáz allélok és az azokat hordozó plazmidok alapján 13 alcsoportra (A-M) tudtuk osztani (36. táblázat). Minden alcsoportból több, maximum 5 törzset, összesen 39, a régióban izolált ST14 törzset teljes genom szekvenálásnak vetettünk alá. A törzsek 3 csoportot (cluster) és 7 szingletont alkottak (25. ábra). Az első két cluster izolátumai több kórházból származtak, míg a harmadikban találhatóak mind egy szaúdi kórházban kerültek izolálásra.



36. táblázat Az ST14 törzsek alcsoportjai a hordozott karbapenemáz gének és az azokat hordozó plazmidok alapján

Alcsoport	N	Prototípus*	NDM-1 plazmid			OXA plazmid				KPC plazmid		
			Méret	Inc típus	Átvihető	Allél	Méret	Inc típus	Átvihető	Méret	Inc típus	Átvihető
A	17	ABC252	240 kb	IncHI1B	C	OXA-232	6 kb	IncColKP3	NC	-	-	-
B	4	SA121	240 kb	IncHI1B	C	OXA-48	60 kb	IncL	C	-	-	-
C	4	ABC261	240 kb	IncHI1B	C	OXA-162	60 kb	IncL	C	-	-	-
D	9	ABC131 ABC643	240 kb	IncHI1B	C	nincs	-	-	-	-	-	-
E	1	ABC240	120 kb	IncFII	C	OXA-232	60 kb	IncColKP3, IncR	NC	-	-	-
F	7	RH60	120 kb	IncFII	C	OXA-232	6 kb	IncColKP3	NC	-	-	-
G	3	DHKp6	120 kb	IncFII	C	nincs	-	-	-	-	-	-
H	5	MCH15	-	-	-	OXA-162	60 kb	IncL	NC	-	-	-
I	1	ABC232	-	-	-	OXA-232	10 kb	IncColKP3	NC	-	-	-
J	15	ABC270	-	-	-	OXA-232	6 kb	IncColKP3	NC	-	-	-
K	1	ABC334	-	-	-	OXA-232	Hibridizációval nem lokalizálható		NC	-	-	-
L	2	ABC220	-						45 kb	IncX3	C	
M	1	ABC225	Karbapenemázt nem termel									

* E törzsek esetén történt plazmid átviteli kísérlet és inkompatibilitás tipizálás. C – konjugatív, NC – nem konjugatív

A törzsek WGS eredményekből kapott rezisztencia gén profilját a **37. táblázatban** foglaltuk össze. Minden izolátum számos szerzett rezisztencia gént hordozott a karbapenemáz gének mellett, mely magyarázta az e klónra általában jellemző MDR/XDR jelleget. Az egyetlen karbapenemázt nem termelő törzs esetén feltételezzük, hogy a CRE fenotípusért több béta-laktamáz (TEM-1A, OXA-1, OXA-9, CTX-M-15) génjeinek együttes jelenléte mellett az *ompF* génben talált 19 bázis hosszúságú deléció (*nem ábrázolt adat*) lehet a felelős. A 2. clusterban lévő törzsek és további két szingletton a KL64 típusú tok géneket hordozták, míg a többi törzs az ST14-re általában jellemzőnek tartott KL2-t (**25. ábra**). Jóllehet a KL64 típusú tokkal rendelkező törzsek többsége egy csoportot alkotott, többféle karbapenemáz géneket hordoztak (NDM-1, OXA-232, illetve ezek kombinációja).

A 39 regionális ST14 törzs gerinc-genomját 173 hasonló típusú, a világ különböző pontjairól származó, nyilvános adatbázisokból letöltött genomi szekvenciáihoz hasonlítottuk (**26. ábra** (*l. 117. old.*)). A tok lókuszok szerint színezett ábrán látható, hogy a KL2 lókuszú törzsek több csoportot képeztek, míg a többi (KL16, KL64, KL107, KL133) világosan elvált ezektől. Az EAE-ből és Bahreinből származó KL64 törzsek közös csoportot alkottak az NDM-1-et, NDM-5-öt és vagy OXA-232-t termelő, a világ különböző pontjairól (Hollandia, Ausztrália, India, USA) származó törzsekkel. Egy Indiából származó törzs KL107-nek bizonyult, de ez a KL64-hez hasonlóan szintén a *wiz64* allélt hordozta.

Bár az ismert volt az ST14 típus tagjairól, hogy számos rezisztencia gént hordozhatnak³³⁷, az EAE-ban, és részben annak környezetében tapasztaltak a hordozott karbapenemáz gének tekintetében meglepő volt: három karbapenemáz öt allélját azonosítottuk az azokat egyesével vagy kombinációkban termelő törzsek között (**36. táblázat**). Ez mindenképpen azt sugallja, hogy a klón törzsei kiemelten alkalmasak horizontális plazmid terjedés során recipiensként viselkedni. Ez a plazmid-kódolt karbapenemázok tekintetében meglévő heterogenitás még az egyébként egymáshoz nagyon hasonló törzsekből álló 1. és 2. clusteren belül is megmutatkozott (**37. táblázat**). Azt, hogy a 3. cluster e tekintetben gyakorlatilag homogén volt az magyarázhatja, hogy ezek a törzsek mind egy szaúdi kórházból származtak és feltehetően egy helyi járvány részei voltak. A horizontális átvitelt jelző clusteren belüli heterogenitás mellett ugyanakkor az a tény, hogy azonos clusterben lévő, azonos enzimet

37. táblázat

A régióban izolált ST14 *Klebsiella pneumoniae* törzsek rezisztencia gén profilja

Törzs	Év	Kórház	Cluster	AI-csoport	blaNDM-1	blaOXA-48	blaOXA-162	blaOXA-232	blaKPC-2	blaTEM-1A	blaTEM-1B	blaOXA-1	blaOXA-9	blaCTX-M-15	armA	aacA1	aacA2	aac(3)-Iia	aac(3)-IId	aph(3'')-Ib	aph(6'')-Id	aph(3'')-Vj	aac(6'')Ib-cr	QnrB1	QnrS1	msr(E)	mph(A)	mph(E)	erm(B)	ere(A)	cmlA1	catA1	sul1	sul2	dfrA1	dfrA12	dfrA14	ARR-2	tet(A)	tet(D)									
ABC127	2012	SH-A	C1	A	+		+					+			+		+					+	+	+		+										+	+												
ABC131	2012	SH-A	C1	D	+					+		+	+	+	+		+		+	+	+	+		+			+	+	+											+	+	+	+						
ABC139	2013	ABD-I	C1	D	+					+		+	+	+	+		+		+	+	+	+		+			+	+	+	+	+	+										+		+					
ABC252	2014	ABD-B	C1	A	+		+			+		+	+	+	+	+	+		+	+	+	+		+			+	+	+	+	+	+										+							
ABC261	2014	UAQ-F	C1	C	+		+			+		+	+	+	+		+		+	+	+	+		+			+	+	+	+	+											+	+	+					
ABC497	2015	AA-C	C1	A	+		+			+		+	+	+	+	+	+		+			+		+			+	+	+	+	+	+										+	+	+					
ABC643	2015	ABD-G	C1	D	+					+		+	+	+	+	+	+		+	+	+		+			+	+	+	+	+													+	+					
ABC645	2015	ABD-G	C1	C	+		+			+		+	+	+	+		+		+	+	+						+	+	+	+	+														+	+			
ABC681	2015	ABD-G	C1	H			+					+	+	+	+		+							+				+	+	+	+														+	+			
ABC697	2014	UAQ-F	C1	C	+		+					+	+	+			+							+	+			+	+	+														+	+				
ABC703	2015	UAQ-F	C1	C	+		+			+		+	+	+			+		+	+	+					+	+	+	+	+														+	+				
ABC83	2011	ABD-I	C1	D	+					+		+	+	+	+		+		+	+	+	+		+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
DHKP10	2015	DUB-D	C1	H			+					+	+	+			+							+				+	+	+	+													+	+				
DHKP31	2016	DUB-D	C1	H			+			+		+	+	+	+		+		+	+	+						+	+	+	+														+	+	+			
MCH15	2016	DUB-M	C1	H			+			+		+	+	+	+	+	+			+	+						+	+	+	+																+	+		
RH48	2016	DUB-K	C1	H			+			+		+	+						+	+	+							+	+																	+	+		
ABC229	2013	DUB-K	C2	F	+		+					+	+	+	+	+	+						+		+	+	+																	+	+				
ABC241	2013	DUB-K	C2	G	+							+	+	+	+	+	+						+		+	+	+																		+	+			
ABC273	2014	AA-J	C2	D	+							+	+	+	+	+	+						+				+	+	+	+																+	+		
ABC375	2014	AA-C	C2	J			+			+		+	+	+	+		+									+	+	+	+																+	+	+		
ABC716	2015	ABD-B	C2	J			+			+		+	+	+			+							+			+	+	+	+																+	+	+	
BA1	2015	BAH-N	C2	J			+			+		+	+	+	+		+							+			+	+	+	+																+	+	+	
DHKP14	2015	DUB-D	C2	F	+		+					+	+	+			+						+		+	+	+																		+	+			
DHKP21	2016	DUB-D	C2	A	+		+					+	+	+	+	+	+									+	+	+	+																	+	+	+	
DHKP6	2015	DUB-D	C2	G	+							+	+	+	+	+	+						+		+	+	+																			+	+	+	

115

folyt.

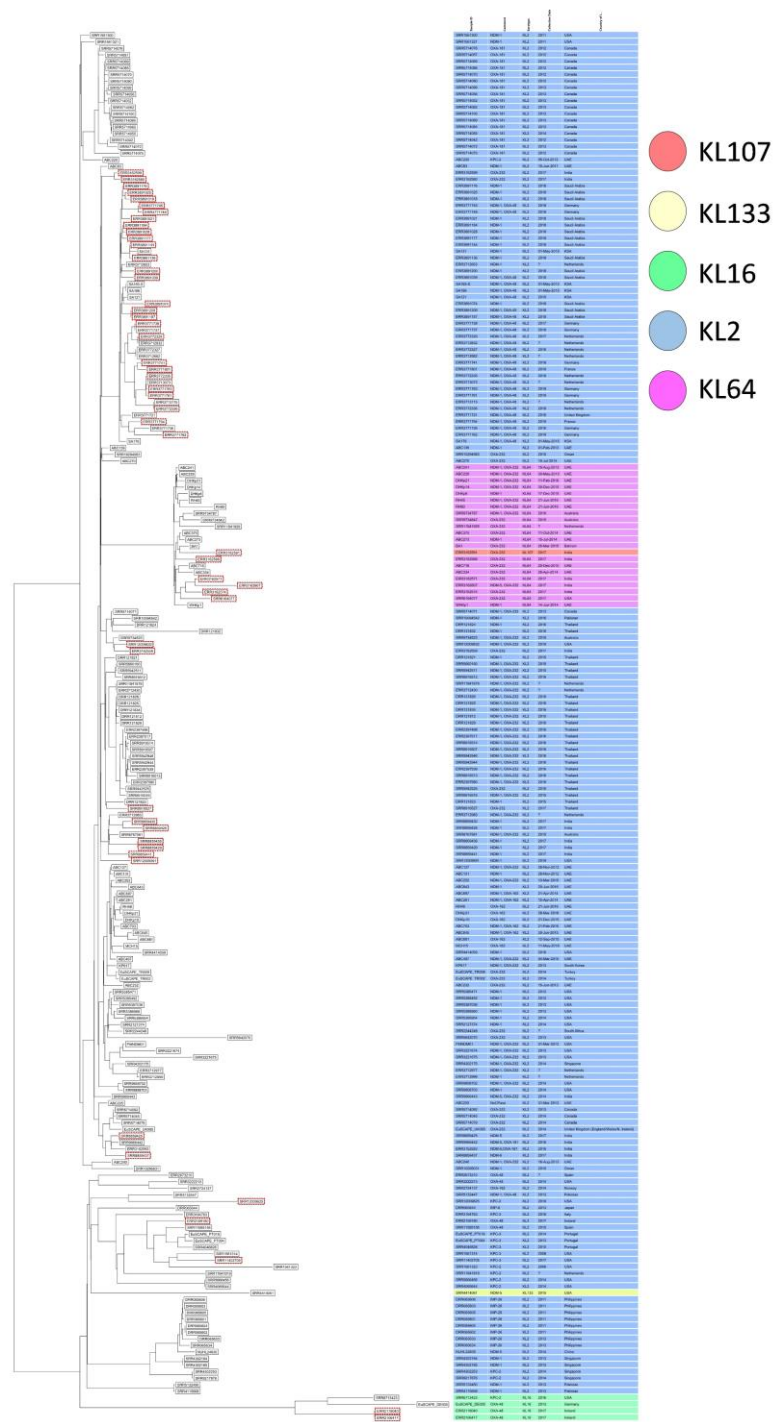
folyt.

Törzs	Év	Kórház	Cluster	Al- csoport	<i>blaNDM-1</i>	<i>blaOXA-48</i>	<i>blaOXA-162</i>	<i>blaOXA-232</i>	<i>blaKPC-2</i>	<i>blaTEM-1A</i>	<i>blaTEM-1B</i>	<i>blaOXA-1</i>	<i>blaOXA-9</i>	<i>blaCTX-M-15</i>	<i>armA</i>	<i>aadA1</i>	<i>aadA2</i>	<i>aac(3)-IIa</i>	<i>aac(3)-IIId</i>	<i>aph(3'')-Ib</i>	<i>aph(6')-Id</i>	<i>aph(3')-VI</i>	<i>aac(6')/Ib-cr</i>	<i>QnrB1</i>	<i>QnrS1</i>	<i>msr(E)</i>	<i>mph(A)</i>	<i>mph(E)</i>	<i>erm(B)</i>	<i>ere(A)</i>	<i>cmiA1</i>	<i>catA1</i>	<i>sul1</i>	<i>sul2</i>	<i>dfrA1</i>	<i>dfrA12</i>	<i>dfrA14</i>	<i>ARR-2</i>	<i>tet(A)</i>	<i>tet(D)</i>								
RH45	2016	DUB-K	C2	F	+			+				+	+	+		+							+																									
WHKP1	2014	DUB-L	C2	G	+						+	+	+	+	+	+	+							+	+								+	+														
SA121	2015	KSA-E	C3	B	+	+						+			+	+						+	+			+	+								+	+												
SA131	2015	KSA-E	C3	D	+					+				+	+	+	+					+				+	+											+	+									
SA165S	2015	KSA-E	C3	B	+	+				+				+	+	+	+					+				+	+											+	+									
SA166	2015	KSA-E	C3	B	+	+				+		+		+	+	+	+					+				+	+											+	+									
SA176	2015	KSA-E	C3	B	+	+				+		+		+	+	+	+					+			+	+													+	+								
ABC232	2013	DUB-K	S1	I				+		+		+	+	+			+		+	+		+	+		+																							
ABC270	2014	AA-J	S2	J				+		+		+	+	+			+					+	+		+																							
ABC225	2013	DUB-K	S3	M						+		+	+	+																																		
ABC220	2012	DUB-K	S4	L					+			+	+	+				+	+	+		+																										
ABC240	2013	DUB-K	S5	E	+			+			+	+	+	+								+					+	+																				
RH60	2016	DUB-K	S6	F	+			+				+	+	+		+	+					+	+		+	+																						
ABC334	2014	ABD-G	S7	K				+		+				+			+									+	+																					

Kórházak: SH-Sharjah, ABD-Abu Dhabi, UAQ-Umm Al Quain, AA-Al Ain, DUB-Dubai, BAH-Bahrein, KSA-Szaúdi Arabia

Cluster – a 25. ábra alapján, Alcsoport – a 35. táblázat alapján

26. ábra

Neighbour-joining fa 212 ST14 *K. pneumoniae* törzsek cgMLST-je alapján

A színek a tok lokusz típusát követi. A piros szaggatott vonallal keretezett törzsek 2017 és 2019 között kerültek izolálásra, azaz a EAE-ban e tanulmány céljaira gyűjtött törzsek után

termelő törzsek több kórházból is izolálásra kerültek a klonális terjedés szerepére utal, az ST14 törzsek komplex járványtani dinamikáját igazolva.

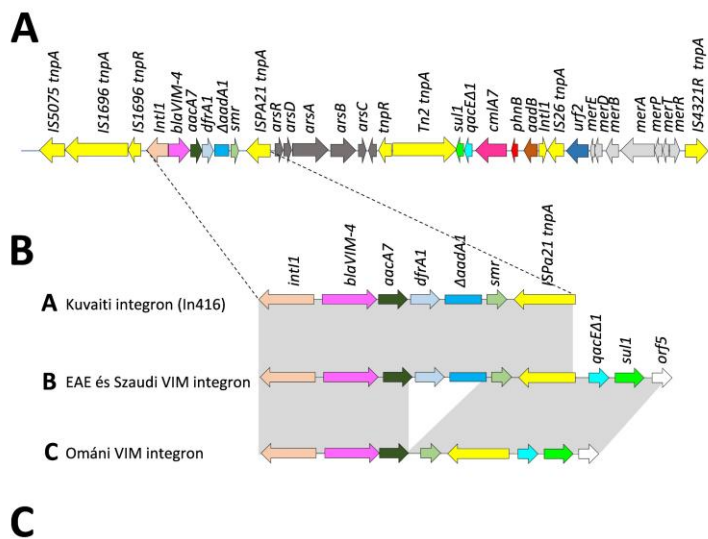
Jóllehet a jelen vizsgálat során a hipervirulens karakterre elsősorban utaló géneket (*rmpA/A2*, *iutA*) nem találtuk meg a helyi izolátumok esetén, a leggyakrabban előforduló két tok lókuszt (KL2, KL64) gyakran köthető ilyen törzsekhez³³⁸. Az ST14 törzsekhez többnyire a KL2 toktípus kapcsolható³³⁹ (**26. ábra**). Érdekes ugyanakkor, hogy a jelen vizsgálat a törzsek 33.3%-ánál a KL64 típust azonosította. A tény, hogy a helyi törzsek mellett KL64-es ST14 törzsek Ausztráliában, Indiában és az USA-ban is előfordultak, felveti a lehetőségét annak, hogy ezek egy jelenleg kialakuló és terjedő szubtypusát jelentenék az ST14 klónnak. Annak lehetőségét, hogy a KL64 tok előnyt jelenthet a törzsek számára, a jelen gyűjtés ideje után (2018-19-ben) izolált törzsek későbbi vizsgálata is megerősítette (lásd **XXVIII**, 4.3.2.6.): addigra már az EAE-ban izolált ST14 törzsek 90.6%-a a KL64 típust fejezte ki.

4.3.2.9. Egy kuvaiti VIM-4 plazmid/integron járvány vizsgálata (**XX**)

2009 és 2011 között Kuvaitban izolált hat *K. pneumoniae*, egy *E. cloacae* és egy *E. coli* törzset vizsgáltunk, és hasonlítottuk őket két Ománban, egy az EAE-ben és egy Szaúd-Arábiában izolált VIM termelő *E. cloacae* törzshöz. A kuvaiti törzsek közül csak kettőnek (KKp1 és KKp2) volt azonos a PFGE mintája (*nem ábrázolt adatok*), ezek szekvencia típusa is megegyezett. Az *E. cloacae* törzsek közül a két ománi törzs azonos PFGE mintát mutatott, de a velük azonos szekvencia típusú, az EAE-ből származó törzs már makrorestrikciós mintájában eltért tőlük. A törzsek legjellegzetesebb tulajdonságait a **27. ábra C** része ábrázolja.

A két, gyakorlatilag azonos kuvaiti *K. pneumoniae* törzs mellett további 3 független *K. pneumoniae* törzs és az *E. coli* izolátum is egy IncA/C típusú, ~165 kb nagyságú konjugatív plazmidon hordozta - a *bla_{CMY-4}* mellett - a *bla_{VIM-4}* gént. E plazmidok *Hinc* II, *Eco* RI és *Hind* III emésztéssel nyert RFLP-je azonos volt (*nem ábrázolt adatok*). A *bla_{VIM-4}* és egy a *bla_{TEM}* mellett a *bla_{CMY-4}* is egy hasonló méretű IncA/C plazmidon volt lokalizálható az ABC104 törzsben is. A KKp4 törzs plazmidjának teljes szekvenciáját meghatároztuk (GenBank: MF582638). Ez legkiterjedtebb hasonlóságot egy görög izolátum IncA/C₂ típusú *bla_{VIM-19}*-et kódoló plazmidjával (GenBank: KR559888)³⁴⁰ mutatott.

27. ábra A pVIM plazmidok és integronok szerkezete és az azokat hordozó törzsek összehasonlítása



Ország	Törzs	Klón			Plazmid				
		Faj	ST	PFGE	Méret (kb)	Inc	Átvihetőség	R gén	Int.
Kuvait	KKp1	<i>Kp</i>	1399	KP-4	165	A/C	C	<i>bla_{CMY-4}</i>	A
	KKp2	<i>Kp</i>	1399	KP-4	165	A/C	C	<i>bla_{CMY-4}</i>	A
	KEcl3	<i>Ecl</i>	184	ECL-4	80	NT	NC	-	A
	KKp4	<i>Kp</i>	138	KP-1	165	A/C	C	<i>bla_{CMY-4}</i>	A
	KKp6	<i>Kp</i>	1400	KP-5	165	A/C	C	<i>bla_{CMY-4}</i>	A
	KEc7	<i>Eco</i>	167	ND	165	A/C	C	<i>bla_{CMY-4}</i>	A
	KKp8	<i>Kp</i>	1401	KP-2	165	A/C	C	<i>bla_{CMY-4}</i>	A
	KW11	<i>Kp</i>	147	KP-3	>300	A/C	NC	-	A
Omán	OM63	<i>Ecl</i>	182	ECL-1	50	NT	NC	-	C
	OM69	<i>Ecl</i>	182	ECL-1	50	NT	NC	-	C
KSA	SA4/2	<i>Ecl</i>	183	ECL-2	50	NT	NC	-	B
EAE	ABC104	<i>Ecl</i>	182	ECL-3	165	A/C	NC	<i>bla_{CMY-4}</i> , <i>bla_{TEM}</i>	B

A: A pKKp4-VIM RI-3 régiója. **B:** A különböző pVIM plazmidokon talált három integron típus összehasonlítása. A szürke sávok azonosságot jeleznek. **C:** A VIM-4-et kifejező törzsek és plazmidjaik összehasonlítása. A színek az egyes tulajdonságok azonosságát vagy különbözőségét jelzik. *Kp* – *K. pneumoniae*, *Ecl* – *E. cloacae*, *Eco* – *E. coli*. PFGE – PFGE típusok $\geq 80\%$ hasonlóság alapján, ND – nem végeztük, C- konjugatív, NC – nem konjugatív, NT- nem tipizálható. Int – Integron, típusa (A,B,C) az ábra B részére utal

A plazmid három rezisztencia szigetet (RI-1, -2, -3) tartalmazott. Az RI-1 -en a *tet(A)*, *strA*, *strB* és *sul2* gének foglaltak helyet, míg az RI-2 egy *ISEcp1* -et, illetve a *bla_{CMY-4}*, *bhc* és *sugE* géneket tartalmazta. A harmadik rezisztencia szigeten (27. ábra, A) foglaltak helyet egy In416 szerkezeten belül a *bla_{VIM-4}*, *aacA7*, *dfrA1*, *ΔaadA1* gének, ezenfelül egy *smr* kazetta, egy In-t4-like és egy higany rezisztencia operon is (27. ábra, A, B).

Meghatároztuk a vizsgálatba bevont összes törzs esetén a *bla_{VIM-4}* gént tartalmazó integron szerkezetét. A **27. ábra, B** részén látható, hogy fajtól és plazmidtól függetlenül az összes kuvaiti izolátum azonos típusú integronon hordozta a VIM karbapenemáz génjét. Ettől eltért a két, egyébként egymással azonos ománi törzs integronja, míg a harmadik integron típus a két különböző plazmidot hordozó szaúdi és emirátusi törzsre volt jellemző (**27. ábra B és C**).

Eredményeink azt mutatják, hogy a 2009 és 2011 között Kuvaitban tapasztalt magas VIM prevalencia jelentős mértékben nem klonális terjedéssel, hanem a *bla_{VIM-4}*-et magában foglaló In416 integron horizontális átvitelével volt magyarázható. Mindennek alapja döntően egy konjugatív IncA/C típusú plazmidnak a faj-határokat nem respektáló terjedése volt, de hozzájárult ugyanennek az integronnak más, részben szintén IncA/C típusú, részben nem tipizálható plazmidokba történt átugrása. Részben hasonló IncA/C plazmid a régióban az EAE-ban fordult elő, de ez más típusú integron szerkezetben hordozta a *bla_{VIM-4}* gént, csakúgy, mint ismét más integron szerkezetet találtunk az ománi törzsekben. A nyitott adatbázisokban hozzáférhető teljes VIM-kódoló IncA/C típusú teljes plazmid szekvenciák közül a kuvaiti járványt okozó plazmidhoz szerkezetileg egy *bla_{VIM-19}* -et, azaz a VIM-4-től csak egy aminosavban különböző karbapenemáz kódoló plazmid állt ³⁴⁰ (GenBank: KR559888). VIM-4-et kódoló IncA/C plazmidok szerepét a karbapenemáz rezisztencia terjesztésében, akár a betegben történt *in vivo* átvitel révén Olaszországban írták le egy, a kuvaiti plazmidéhoz 99 %-ban hasonló RI-2 és RI-3 rezisztencia szigeteket tartalmazó episzóma kapcsán. ^{287,341}.

Összefoglalva, adataink azt mutatják, hogy a régióban a karbapenem rezisztencia terjedésében a relatíve könnyebben kontrollálható, a törzsek átvitelén alapuló terjedés mellett a lényegesen komplexebb kihívást jelentő horizontális génátvitelnek is jelentős szerepe van.

4.4. KOLISZTIN REZISZTENS BÉLBAKTÉRIUMOK VIZSGÁLATA

4.4.1. Előzmények

A Gram-negatív kórokozókban megjelenő karbapenem rezisztencia, és az ilyen törzsek gyakori nem béta-laktám antibiotikumokkal szembeni rezisztenciája vezetett el ahhoz, hogy kényszerből ismét elkezdjük használni a korábban toxikusságuk, és messze nem ideális parenterális adagolhatóságuk miatt egyszer már a használatból kikopott szereket, a polimixineket ³⁴². Ennek természetesen a polimixin rezisztencia terjedése lett a következménye, ³⁴³⁻³⁴⁵. A polimixinek membrán-aktív, az anionos LPS-hez kötődő molekulák. Az ellenük fellépő rezisztenciát korábban olyan kromoszómális mutációk okozták, melyek egy két-komponensű rendszer különböző struktúr-, vagy regulációs elemeit érintik (*pmrAB*, *PhoPQ*, *mgrB*), megváltoztatva ezzel az LPS töltését, és így azt, hogy a gyógyszer mennyire képes ahhoz kötődni ^{346,347}. Ennek megfelelően a rezisztencia terjedése kezdetben elsősorban spontán mutációknak, és a mutáns törzsek terjedésének volt betudható. A kolisztin rezisztencia megjelenése magában hordozta a pánrezisztencia megjelenésnek és terjedésének lehetőségét is. Ezért keltett olyan nagy riadalmat az a 2015 végi közlemény, miszerint találtak (véltetőleg az ismert antimikrobás szerek közül utolsóként) plazmidon lokalizált, tehát horizontális terjedésre képes, kolisztin ellenes rezisztenciát kódoló gént, melyet *mcr*-nak, *mobile colistin resistance* génnek nevezték el ¹³¹. Már a kezdetektől nyilvánvaló volt, hogy bár humán eredetű törzsekben is rendszeresen kimutattak *mcr-1* kódoló plazmidot, illetve később az *mcr* gén azóta felfedezett alléljait (*mcr-2 – mcr-10*) ³⁴⁸, a plazmidok elsősorban állati eredetű törzsekben fordulnak elő és onnan kerülnek át emberre, vagy zoonotikus fertőzés esetén, vagy horizontális génátvitel révén kimondottan humán kórokozókba ^{344,349}. Ennek felismerése vezetett ahhoz, hogy a polimixinek állattartásban való használatát több országban betiltották ³⁵⁰.

Már a viszonylag korai vizsgálataink (**XV**) is jelezték, hogy a régióban jelentős probléma a CRE törzsek kolisztin rezisztenciája, igaz, ezek a vizsgálatok még a később ilyen célra alkalmatlannak minősített ⁸³ E-teszttel történtek. Az EAE Nemzeti Antibiotikum Surveillance Adatbázisa mind a mai napig nem tartalmaz adatokat a kolisztin rezisztencia mértékéről ⁸², aminek feltételezhető oka az, hogy a laboratóriumok egy része nem követi az érzékenység vizsgálat megbízható, mikro leves-hígításos módszerét. Korábban az állatgyógyászat területén sem került sor az izolált törzsek kolisztin rezisztenciájának vizsgálatára, és

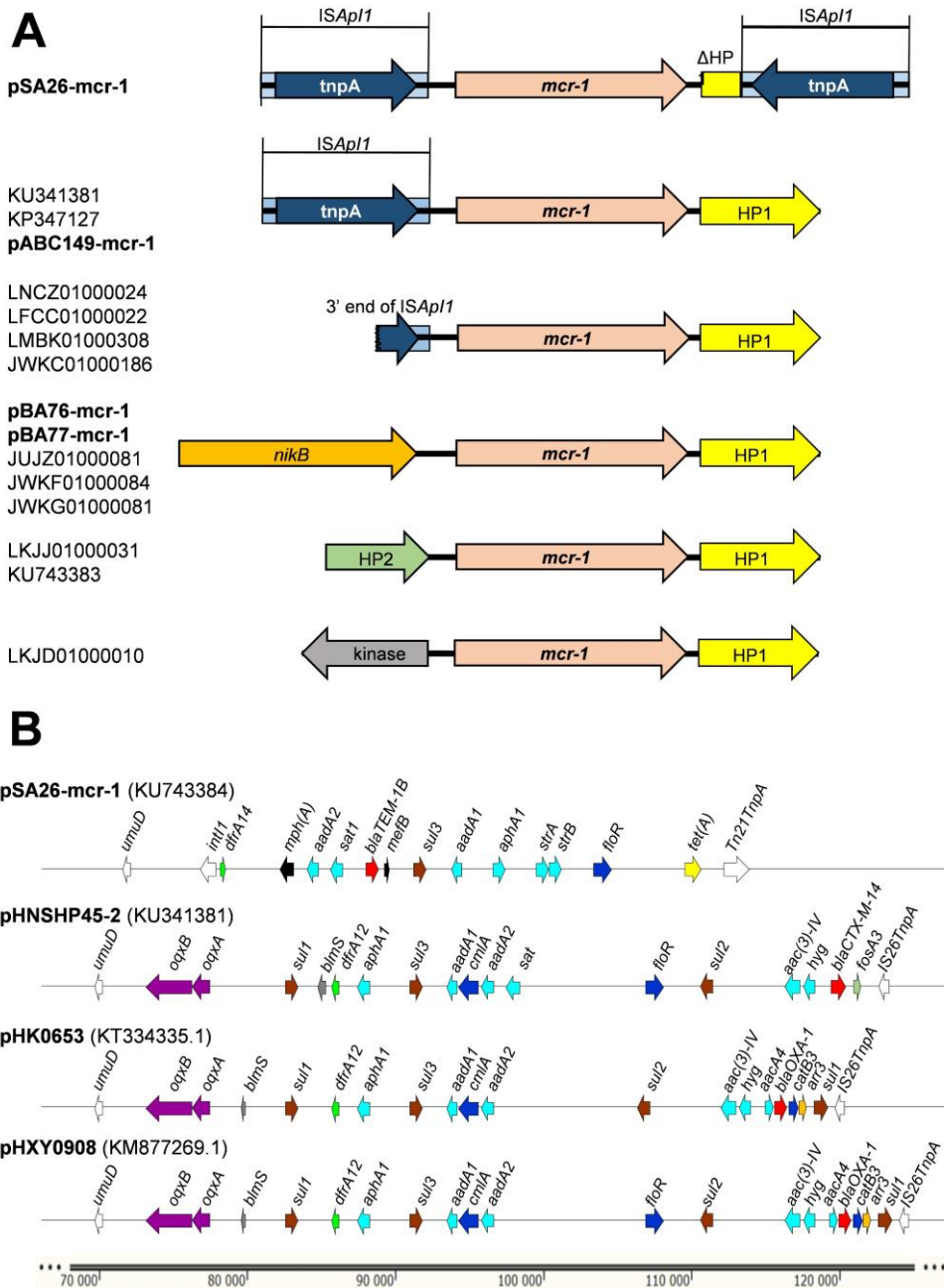
többszöri kísérlet ellenére sem sikerült adatokat szereznünk arra vonatkozóan, hogy az országban milyen mértékű a polimixinek felhasználása a mezőgazdaságban. Vizsgálataink során arra kerestünk a választ, hogy a humán CRE törzsek között fellelhető magas kolisztin rezisztenciának mi a genetikai háttere, és a globálisan terjedő mobilis *mcr* gének fellelhetőek-e a régió humán és állati eredetű izolátumai között.

4.4.2. Eredmények és összefoglalás

4.4.2.1. Az *mcr* gén első leírása az Arab-félsziget országaiban (XVI, XVIII)

Hetvenöt, a törzsgyűjteményünkben random kiválasztott kolisztin rezisztens bélbaktérium törzset *mcr-1*-re specifikus PCR-rel szűrve 4 pozitív *E. coli* törzset azonosítottunk: kettő Bahreimből, egy Szaúd-Arábiából, egy az EAE-ből származott. A törzsek különböző ST-be tartoztak, mind multirezisztensek voltak, de karbapenemekkel szemben csak egy (BA76) mutatott csökkent érzékenységet, és egy (SA26) volt rezisztens, mely NDM-1 karbapenemázt termelt (**38. táblázat** (*l. 124. old.*)). Három pMCR plazmid konjugatív volt, míg a negyedik, az emirátusi ABC149 törzsből konjugáció során egyszerre több plazmid is átment a recipiensbe. Ebből a törzsből kizárólag a pMCR-t tartalmazó derivátumot transzformációval állítottunk elő. Mind a négy plazmid teljes szekvenciáját meghatároztuk. Mindegyik a gén *mcr-1* allélját hordozta. Méretüket és tulajdonságaikat a **38. táblázat** mutatja.

A két bahreni és az emirátusi törzsek plazmidjai közel azonos méretű, IncI2 típusú plazmidok voltak, melyek közül csak a pBA76-MCR-1 hordozott az *mcr-1*-en kívül más rezisztencia gént: egy, az *mcr-1* géntől függetlenül inzertálódott, *ISEcp1* által promótált *bla*_{CTX-M-64} gént. E plazmidok (GenBank KX013540, KX013539, KX013538) gerince nagyfokú hasonlóságot mutatott az első leírt *mcr* plazmid (pHNSHP45¹³¹ szerkezetéhez. Bennük az *mcr-1* gént követő szakasz szintén azonos volt az első *mcr* plazmidével, míg a gént megelőző szakasz más, korábban leírt plazmidokban is megtalálható volt. A negyedik plazmidban (pSA26*mcr-1*) az *mcr-1*-et megelőző szakasz megegyezett a ABC149 törzs plazmidjában találtéval, de utóbbi a gén után is tartalmazott egy *ISApI1* inzerációs szekvenciát, így itt az *mcr-1* egy komplett kompozit transzpozon részeként helyezkedett el (**28. ábra, A**).

28. ábra Az Arab-félszigeten talált *mcr-1* kódoló plazmidok összehasonlítása

A: Az *mcr-1* gént övező régiók a plazmidokban. Vastaggal szedve az itt talált plazmidok, a GenBank hivatkozási számok egyéb, hasonló szerkezetű plazmidokra utalnak **B:** IncHI2 típusú plazmidok rezisztencia szigetei. Az azonos osztályba tartozó antibiotikumok elleni rezisztenciát kódoló gének azonos színnel vannak jelölve. Zárójelben a GenBank hivatkozási számok láthatóak.

38. táblázat Az *mcr-1* pozitív *Escherichia coli* törzsek tulajdonságai

Törzs	Ország	Izolálás ideje	ST	Fil.*	Virulencia faktor gének	Rezisztencia gének	A pMCR plazmid		
							Méret (bp)	Inc csoport	Rezisztencia gének a plazmidon
BA76	Bahrein	2015 08	648	D	<i>papC, fimH, PAI, csgA, crl, bcsA</i>	<i>mcr-1, bla_{CTX-M-64}, rmtB, aac6-1b-cr, qacΔE, mdfA, ydgE, ydgF, sugE(C)</i>	64942	Incl2	<i>mcr-1, bla_{CTX-M-64}</i>
BA77	Bahrain	2015 09	224	B1	<i>fimH, csgA, crl</i>	<i>bla_{TEM-1}, bla_{CTX-M-15}, mdfA, ydgE, ydgF, sugE(C), qacF</i>	62661	Incl2	<i>mcr-1</i>
SA26	Szaúdi Arabia	2012 06	68	D	<i>fimH, PAI, KpsMTII, K5, csgA, crl, bcsA</i>	<i>bla_{NDM-1}, bla_{TEM-1}, rmtC, aac6-1b-cr, mdfA, ydgE, ydgF, sugE(C), qacF, qacE</i>	240367	InclH12	<i>mcr-1, bla_{TEM-1}, dfrA14, mphA, mefB, aadA2, aadA1, sat1, aph(3')-Ia, strA, strB, floR, sul3, tet(A)</i>
ABC149	EAE	2013 05	131	B2	<i>fimH, PAI, fyuA, iutA, afa/dra, iha, upaH, upaB, KpsMTII, K5, sat, usp, csgA, crl, bcsA</i>	<i>bla_{CTX-M-15}, aac6-1b-cr, emrE, qacΔE, mdfA, ydgE, ydgF, sugE,</i>	61228	Incl2	<i>mcr-1</i>

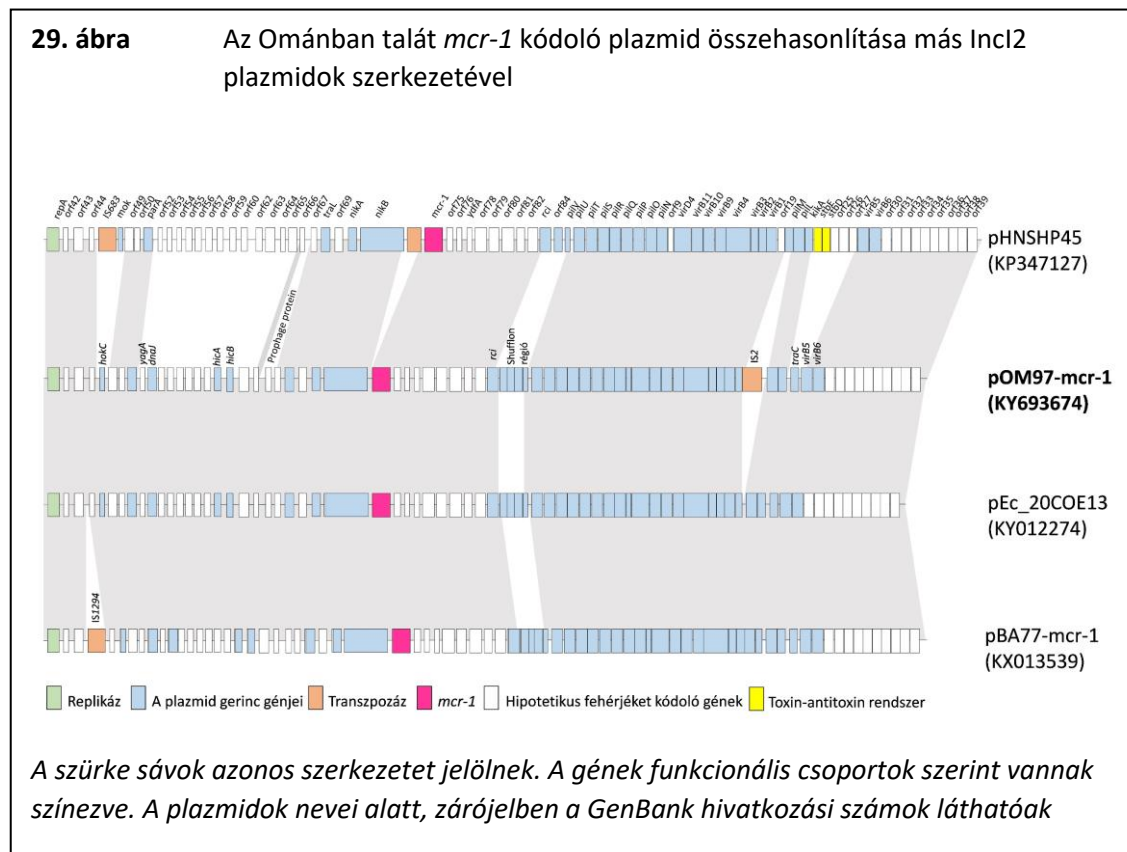
* Filogenetikai csoport ¹⁴⁴

Az ST131 típusú, számos virulencia faktort hordozó szaúdi törzsben (SA26) talált pMCR annak teljes szerkezetében is különbözött a másik három *mcr* plazmidtól. A nagy, IncHI2 típusú plazmid gerince hasonló volt az *mcr-1* -et nem tartalmazó, emberi mintából és csirkéből Kínában izolált *S. Typhimurium* plazmidokhoz (GenBank KT334335 és KM877269³⁵¹), továbbá egy sertésből izolált törzsben talált *mcr* plazmidhoz (GenBank KU341381)³⁵². Ugyanakkor a pSA26-*mcr-1* rezisztencia szigete, mely 13 (aminoglikozid, beta-laktám, fenikol, tetraciklin, szulfonamid, trimetoprim és makrolid) antibiotikum rezisztencia gént tartalmazott, jelentősen különbözött e plazmidok rezisztencia szigeteitől (**28. ábra, B**).

Ezt követően megvizsgáltunk 2014 és 2016 júniusa között egy ománi, az ellátás teljes spektrumát nyújtó kórházban izolált a Phoenix BD (Beckton Dickinson) rendszer által kolisztin rezisztensnek talált 21 *K. pneumoniae* és egy *E. coli* törzset az *mcr-1* és -2 gén jelenlétére. Az egyetlen *mcr-1* pozitív törzs egy *E. coli* ST10-es szekvencia típusú törzs (OM97) volt. Ezt egy korábban Indiában is kezelt beteg aorta aneurizma műtétet követő lázas állapota miatt vett hemokulturából izolálták. A törzs, bár kolisztin mellett (mikrodilúcióval MIC 4 mg/L), rezisztens volt amoxicillin-klavulánsavra, piperacillin-tazobaktámra, ciprofloxacinnal, amikacinra és trimetoprim-szulfametoxazolra, a széles spektrumú cefalosporinokkal, karbapenemekkel, gentamicinnel, tigeciklinnel szemben megőrizte érzékenységét. Bár korábban a beteg többféle széles spektrumú antibiotikumot kapott, kolisztinnel soha nem kezelték.

A törzs tartalmazott egy konjugatív IncI2 plazmidot (pOM97-*mcr-1*), mely a teljes szekvencia meghatározása alapján 63722 bp nagyságúnak bizonyult. Az *mcr-1* génen kívül a plazmid más antibiotikum rezisztencia gént nem tartalmazott. A gént közvetlenül körülvevő szekvenciák megegyeztek a korábban a Bahreinből izolált törzsben kimutatott pBA76-*mcr-1* és pBA77-*mcr-1* plazmidokéval (**XVI, 29. ábra A**). Míg a teljes plazmid szekvenciát figyelembe véve 82%-ban volt hasonló az elsőként leírt *mcr-1* -et kódoló pHNSHP45 plazmidhoz¹³¹, 97%-ban megegyezett a Kínában³⁵³, illetve Bahreinban (**XVI**) talált pEc_20COE13 és pBA77 plazmidokkal (**29. ábra**). Hasonlóan ezen utóbbi két plazmidhoz, a pOM97-*mcr-1* –ből hiányzott az *mcr-1* gén előtt helyet foglaló IS*Ap1* és a toxin-antitoxin rendszere génjei (*stbE* és *stbD*).

Fenti vizsgálataink során elsőként jelentettünk az Arab Félzigetről *mcr* gént hordozó plazmidokat igazolva, hogy e plazmidok a régió országaiban is megjelentek a helyi törzsek között.



4.4.2.2. CRE törzsek kolisztin rezisztenciája és annak genetikai háttere (XXIII, XXVI, XXVII, XXVIII)

CRE törzsek kolisztin rezisztenciáját három olyan nagyobb törzs-számot feldolgozó munka során vizsgáltuk, ahol a rezisztencia meghatározása már a jelenleg is elfogadott mikroleveshígítási módszerrel történt⁸³. Mindhárom esetben vizsgáltuk azt is, hogy a leggyakoribb *mcr* allélok közül melyeket hordozzák a törzsek. Az eredményeket a **39. táblázatban** foglaltuk össze. Látható, hogy a CRE törzsek 20% feletti kolisztin rezisztenciája ellenére ezért a tulajdonságért csak a rezisztens törzsek kevesebb, mint egy százaléka esetén tehető felelőssé a keresett *mcr* allélok valamelyike. A **XXVI** projektben 1 *E. coli* (*mcr-1*) és 1 *E. cloacae* (*mcr-4.3*) törzset, míg a **XXVIII**-ban mindössze 3 ilyen *E. coli* törzset (*mcr-1.1*) találtunk.

39. táblázat A kolisztin rezisztencia aránya, és az *mcr* allélok szerepe

Tanulmány	Év	Terület	Törzs (N)	Kolisztin R (%)	Módszer	Keresett <i>mcr</i> allél	<i>mcr</i> poz. (%)**	Talált allél
XXIII	2015-16	Dubai	89	24 (27,0%)	PCR	-1,-2,-3,-4	0	-
XXVI	2009-17	Arab-félsziget	1192	241 (20,2%)	PCR	-1,-2,-3,-4,-5	2 (0,82)	<i>mcr</i> -1, <i>mcr</i> -4.3
XXVIII	2018-19	EAE	504	119 (23,6%)	PCR	-1,-2,-3,-4,-5	3 (0,6)	<i>mcr</i> -1.1
			124*	36	WGS	-6,-7,-8,-9,-10	0	-

* A 124 WGS-val vizsgált törzs része a teljes, 504 törzset tartalmazó kollekciónak

** % a kolisztin rezisztens törzsek között

Két projekt esetén számos *K. pneumoniae* törzset vetettünk alá WGS vizsgálatnak, melyek között tehát *mcr* hordozót nem találtunk (**40. táblázat**). A WGS lehetővé tette, hogy elemezzük, hogy a régióban előforduló CRE törzsek között domináló faj esetén a kolisztin rezisztenciáért leggyakrabban felelőssé tehető kromoszómális gének közül melyek érintettek. Az első projekt kapcsán (**XXVII**) 39 *K. pneumoniae* ST14 törzs közül 13-at találtunk kolisztin rezisztensnek, és ezek közül 12-ben (94.9%) sikerült olyan, az *mgrB-PhoPQ-pmrAB* rendszer valamelyik komponensét érintő mutációt azonosítani, mely felelőssé tehető a rezisztens fenotípusért (**40. táblázat**). A második tanulmányban (**XXVIII**) a WGS vizsgálatnak alávetett 97, változatos szekvencia típusú *K. pneumoniae* törzsből 36 (37,1%) volt kolisztin rezisztens. Ezen kollekcióban a kolisztin rezisztens törzsek 80.6%-ban tudtuk a fenti génekből egy vagy több, a kolisztin rezisztenciát magyarázó mutációt, inzerciókat vagy deléciókat azonosítani (**40. táblázat**). A fennmaradó kolisztin rezisztens törzsek esetén a rezisztencia mechanizmusának további vizsgálata meghaladta a projektek kereteit.

40. táblázat Kolisztin rezisztens törzsek WGS alapján azonosított kromoszómális mutációi

Projekt	Törzs	Év	ST	Kolisztin MIC (mg/L)	Változás az érintett kromoszómális génekben *				
					<i>mgrB</i>	<i>PhoP</i>	<i>PhoQ</i>	<i>pmrA</i>	<i>pmrB</i>
XXVII.	ABC497	2015	14	16	VT **	VT	VT	VT	T157P
	ABC645	2015	14	32	VT	VT	I371F, G385S	VT	VT
	ABC681	2015	14	16	VT	VT	D274A, G385S	VT	VT
	MCH15	2016	14	4	INZ	VT	VT	VT	VT
	ABC229	2013	14	4	VT	VT	VT	VT	T157P
	ABC375	2014	14	>256	VT	VT	VT	VT	VT
	ABC716	2015	14	64	W20R	Q177R	VT	VT	VT
	DHKP6	2015	14	16	VT	VT	VT	VT	DEL
	RH45	2016	14	16	DEL	VT	VT	VT	VT
	SA121	2015	14	64	DEL	VT	VT	VT	VT
	SA165S	2015	14	64	DEL	VT	VT	VT	VT
SA166	2015	14	64	DEL4	VT	VT	VT	VT	
ABC220	2012	14	32	INZ	VT	VT	VT	VT	
XXVIII.	PFZ660	2018-19	11	16	TRUNC	VT	VT	VT	T246A, R256G
	PFZ727	2018-19	11	256	TRUNC	VT	VT	VT	T246A, R256G
	PFZ753	2018-19	11	32	TRUNC	VT	VT	VT	T246A, R256G
	PFZ156	2018-19	14	16	VT	VT	VT	VT	VT
	PFZ188	2018-19	14	32	VT	VT	VT	VT	D150H
	PFZ316S	2018-19	14	16	VT	VT	VT	VT	S85R
PFZ327	2018-19	14	8	C115S	VT	VT	VT	VT	

folyt.

folyt.

Projekt	Törzs	Év	ST	Kolisztin MIC (mg/L)	Változás az érintett kromozómális génekben *				
					<i>mgrB</i>	<i>PhoP</i>	<i>PhoQ</i>	<i>pmrA</i>	<i>pmrB</i>
	PFZ408	2018-19	14	16	VT	VT	VT	VT	VT
	PFZ453	2018-19	14	16	VT	VT	VT	VT	T157P
	PFZ479	2018-19	14	64	hiányzik	VT	VT	VT	T157P
	PFZ573	2018-19	14	32	VT	VT	VT	VT	VT
	PFZ59	2018-19	14	32	W58R	VT	VT	VT	VT
	PFZ599	2018-19	14	8	VT	VT	VT	VT	VT
	PFZ607	2018-19	14	32	INZ	VT	VT	VT	VT
	PFZ614	2018-19	14	16	VT	VT	VT	VT	VT
	PFZ643	2018-19	14	32	INZ	VT	VT	VT	VT
	PFZ671	2018-19	14	8	VT	VT	VT	VT	VT
	PFZ691	2018-19	14	32	INZ	VT	VT	VT	VT
	PFZ707	2018-19	14	64	INZ	VT	VT	VT	VT
	PFZ100	2018-19	147	64	VT	VT	VT	VT	T246A, R256G
	PFZ215	2018-19	147	4	hiányzik	VT	S56I	VT	T246A, R256G
	PFZ455	2018-19	147	32	INZ	VT	VT	VT	T246A and R256G
	PFZ52	2018-19	147	64	INZ	VT	VT	VT	T246A, R256G
	PFZ655	2018-19	147	64	VT	VT	A22V	VT	T246A, R256G
	PFZ77	2018-19	147	>256	G110T	VT	VT	VT	T246A, R256G
	PFZ83	2018-19	147	64	VT	VT	VT	VT	T246A, R256G
	PFZ682	2018-19	15	16	STOP	VT	VT	VT	VT
	PFZ687	2018-19	15	16	STOP	VT	VT	VT	VT
	PFZ24S	2018-19	231	8	I133S	VT	VT	VT	T246A
	PFZ360	2018-19	231	4	I133S	VT	VT	VT	T246A

folyt.

folyt.

Projekt	Törzs	Év	ST	Kolisztin MIC (mg/L)	Változás az érintett kromozómális génekben *				
					<i>mgrB</i>	<i>PhoP</i>	<i>PhoQ</i>	<i>pmrA</i>	<i>pmrB</i>
XXVIII. folyt.	PFZ363	2018-19	231	4	I133S	VT	VT	VT	T246A
	PFZ563	2018-19	ST231	32	TRUNC	VT	VT	VT	T246A
	PFZ67	2018-19	231	16	VT	VT	VT	G53V	T246A
	PFZ143S	2018-19	383	16	VT	VT	L257P	N131D, G144D, D149E, N219H	A5V, N105S, M175V, A228T, T246A
	PFZ147S	2018-19	383	16	VT	VT	L257P	N131D, G144D, D149E, N219H	A5V, N105S, M175V, A228T, T246A
	PFZ642	2018-19	383	128	VT	VT	G360E	N131D, G144D, D149E, N219H	A5V, N105S, M175V, A228T, T246A

* Érintett aminosav a vad típusban/a változás helye/az új aminosav (az aminosavak nemzetközi egy betűs rövidítése alapján);

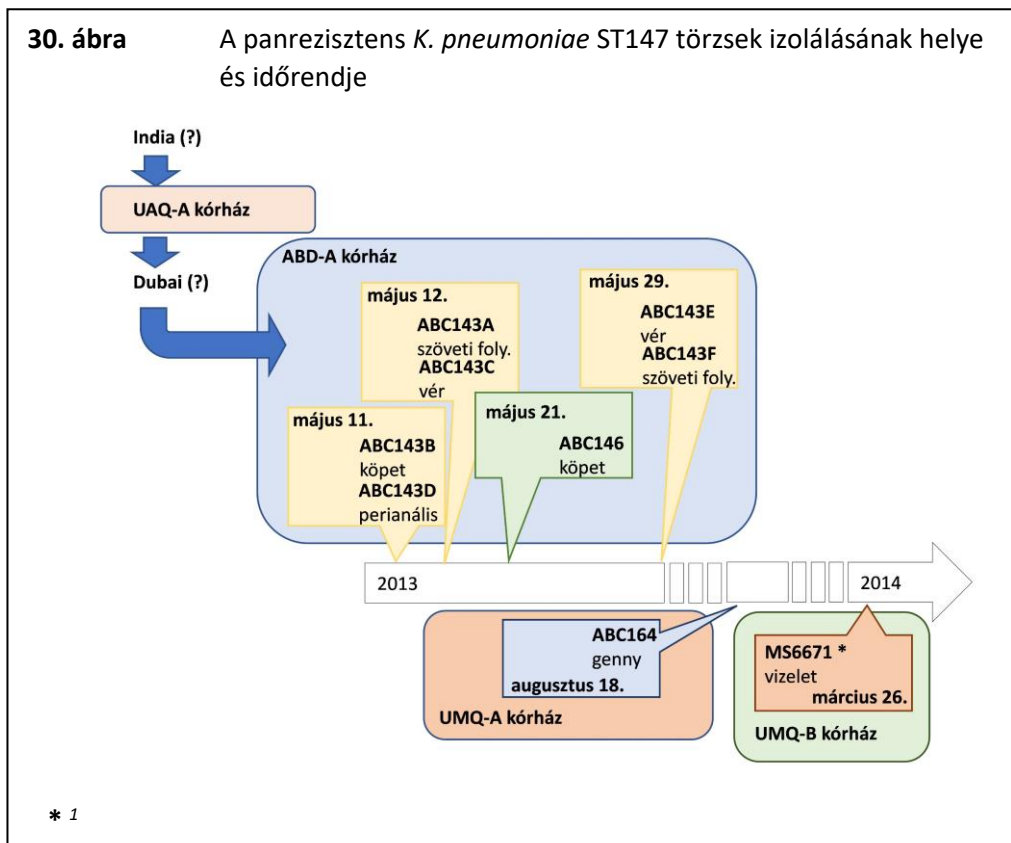
** VT – vad típus, , INZ – inszerció, DEL – deléció, TRUNC – megrövidült gén, STOP – korai stop kodon

Eredményeink alapján úgy tűnik, hogy a CR *K. pneumoniae* törzsek között megfigyelt magas kolisztin rezisztencia elsősorban kromozómális mutációkkal magyarázható (**39. táblázat**). A kromozómális eredetű kolisztin rezisztenciáért felelőssé tehető 5 leggyakoribb gén (*mgrB*, *PhoP*, *PhoQ*, *pmrA*, *pmrB*)³⁵⁴ érintettségét 49 kolisztin és karbapenem rezisztens *K. pneumoniae* törzs esetén WGS adatokból vizsgálva azt találtuk, hogy azoknál mindössze 7 esetben (14,3%) nem volt kimutatható valamilyen változás e gének valamelyikében. Gyakori volt, hogy egy génben több mutációt, vagy egy törzsben több génben meglévő mutációkat találtunk (**40. táblázat**). Egyrészt a vizsgált törzsek száma, másrészt az a tény, hogy csak erre az öt géntre koncentráltunk, nem tette lehetővé, hogy összefüggést keressünk az egyes mutációk és a kolisztin MIC értékei között.

4.4.2.3. Az első panrezisztens járvány az EAE-ben, - egy kolisztin rezisztenciát okozó ritka mutáció (**XIX**)

2013 májusában egy Abu Dhabi kórházból (ABD-A) 4, egy betegből származó PDR *K. pneumoniae* törzset kaptunk tipizálásra. A betegnek egy bélasztomózis varratéltelensége miatt kialakult peritonitise volt és egy Umm Al Qwain emirátusban lévő kórházból (UAQ-A) került, hivatalosan meg nem erősített információk szerint egy Dubai kórházon keresztül, átvételre az ABD-A kórházba. Szintén anekdotikus adatok szerint a beteget korábban Indiában kezelték. Egy héttel később, szintén az ABD-A kórházból egy másik betegtől is érkezett egy PDR *K. pneumoniae* törzs, majd nem sokkal később az első betegtől érkezett még további két izolátum. Augusztusban, az UAQ-A kórházból érkezett egy panrezisztens izolátum. Laboratóriumunk ezeket az izolátumokat vetette részletes vizsgálat alá és hasonlított egy, időközben egy második Umm Al Qwain -i kórházban (UAQ-B) izolált panrezisztens törzshöz (MS6671), melyről kiderült, hogy OXA-181 enzimet termel, és ST147 szekvencia típusú³⁵⁵ (**30. ábra**). A törzsek legfontosabb adatait a **41. táblázat** tartalmazza.

A PFGE mintázatuk alapján az egy betegből származó ABC143A-F törzsek azonosak voltak és az ABC146 és ABC164 törzsek is >90% hasonlóságot mutattak, míg az MS6671 mintegy 80%-ban volt hasonló az ABC143 izolátumokhoz.



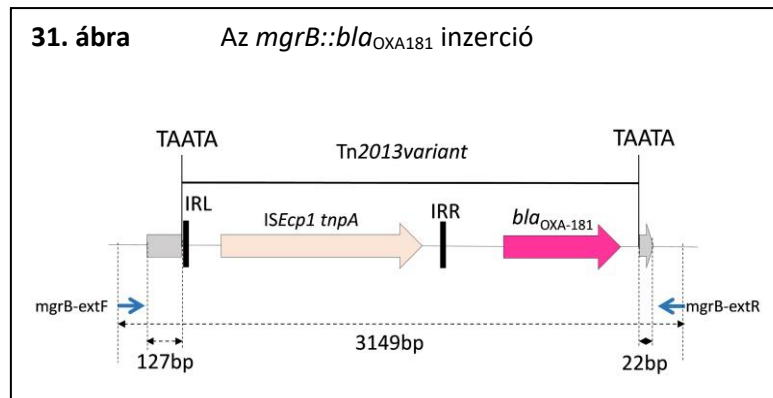
41. táblázat A panrezisztens *Klebsiella pneumoniae* ST147 törzsek genotípusa

Törzs	Rezisztencia gének									
ABC143A	<i>bla</i> _{NDM-5}	<i>bla</i> _{TEM-1B}	<i>rmtB</i>	<i>rmtF</i>	<i>bla</i> _{SHV-36}	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>bla</i> _{OXA-181}	<i>aac6'-1b-cr</i>	<i>qacΔE</i>	<i>cepA</i>
ABC143B	<i>bla</i> _{NDM-5}	<i>bla</i> _{TEM-1B}	<i>rmtB</i>	<i>rmtF</i>	<i>bla</i> _{SHV-36}	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>bla</i> _{OXA-181}	<i>aac6'-1b-cr</i>	<i>qacΔE</i>	<i>cepA</i>
ABC143C	<i>bla</i> _{NDM-5}	<i>bla</i> _{TEM-1B}	<i>rmtB</i>	<i>rmtF</i>	<i>bla</i> _{SHV-36}	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>bla</i> _{OXA-181}	<i>aac6'-1b-cr</i>	<i>qacΔE</i>	<i>cepA</i>
ABC143D	<i>bla</i> _{NDM-5}	<i>bla</i> _{TEM-1B}	<i>rmtB</i>	<i>rmtF</i>	<i>bla</i> _{SHV-36}	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>bla</i> _{OXA-181}	<i>aac6'-1b-cr</i>	<i>qacΔE</i>	<i>cepA</i>
ABC143E	<i>bla</i> _{NDM-5}	<i>bla</i> _{TEM-1B}	-	<i>rmtF</i>	<i>bla</i> _{SHV-36}	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>bla</i> _{OXA-181}	<i>aac6'-1b-cr</i>	<i>qacΔE</i>	<i>cepA</i>
ABC143F	-	<i>bla</i> _{TEM-1B}	-	<i>rmtF</i>	<i>bla</i> _{SHV-36}	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>bla</i> _{OXA-181}	<i>aac6'-1b-cr</i>	-	<i>cepA</i>
ABC146	<i>bla</i> _{NDM-5}	<i>bla</i> _{TEM-1B}	<i>rmtB</i>	<i>rmtF</i>	<i>bla</i> _{SHV-36}	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>bla</i> _{OXA-181}	<i>aac6'-1b-cr</i>	<i>qacΔE</i>	<i>cepA</i>
ABC164	<i>bla</i> _{NDM-5}	<i>bla</i> _{TEM-1B}	<i>rmtB</i>	<i>rmtF</i>	-	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>bla</i> _{OXA-181}	<i>aac6'-1b-cr</i>	<i>qacΔE</i>	<i>cepA</i>
MS6671*	-	<i>bla</i> _{TEM-1B}	-	<i>rmtF</i>	<i>bla</i> _{SHV-36}	<i>bla</i> _{CTX-M-15}	<i>bla</i> _{OXA-181}	<i>aac6'-1b-cr</i>	-	<i>cepA</i>

* 1

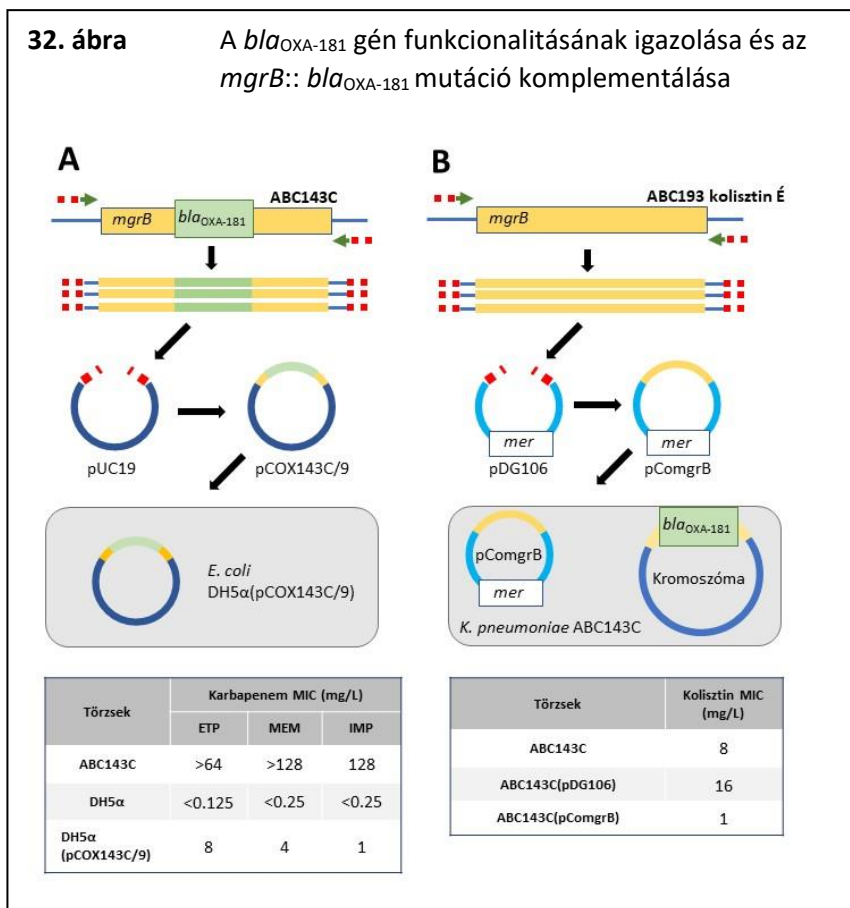
Lényegében ugyanezt a csoportosítást erősítette meg a törzsek Diversilab rep-PCR vizsgálata is (az adatokat nem ábrázoltuk). A törzsek mind ST147 típusúak voltak. Mindegyik törzs esetén megerősítettük a pan-rezisztenciát (abban az időben a ceftazidim-avibaktám érzékenységet még nem vizsgáltunk). A törzsek kolisztin érzékenysége 4 és >256 mg/L között változott.

A kolisztin rezisztencia okát kiderítendő a *mgrB* gént megcélzó PCR-rel egy, a vad típusnál várttól lényegesen nagyobb, kb. 3000 bp amplikont kaptunk, melyet megszekvenálva egy *ISEcp1* -hez kötött *bla_{OXA-181}* gént találtunk az *mgrB* génbe inzertálódva, hasonlóan az MS6671 törzs esetén leírtakhoz ¹ (31. ábra).

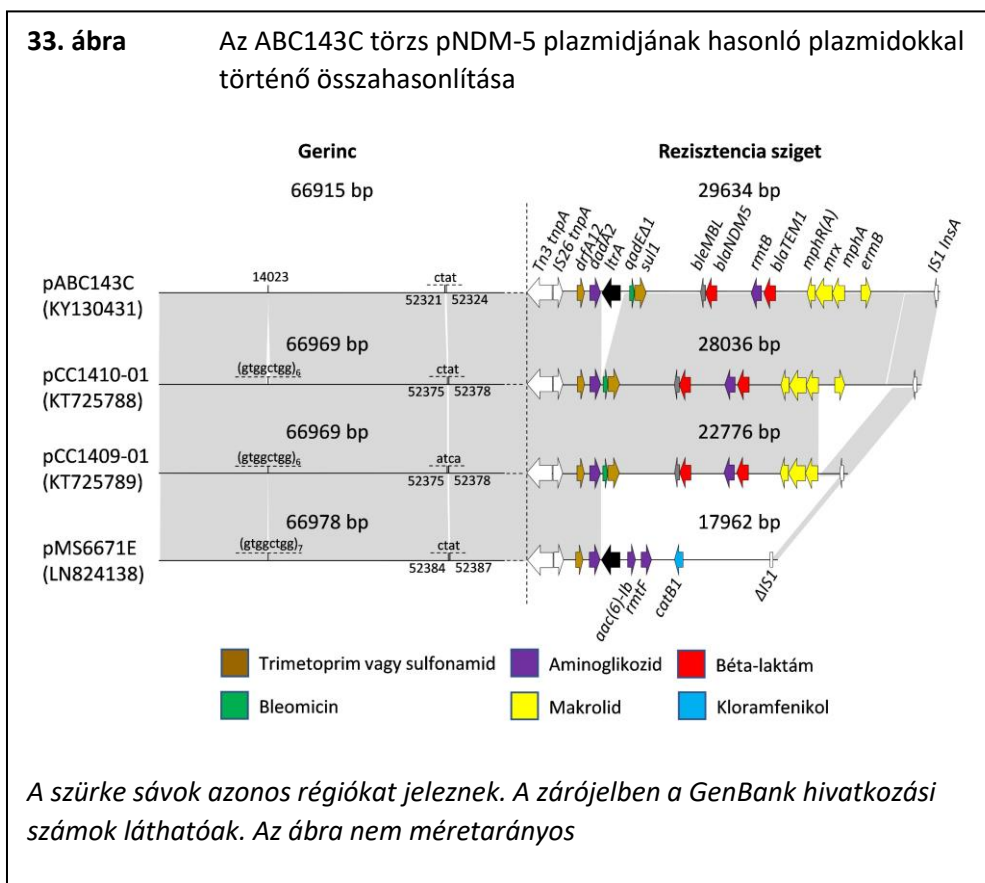


Azt igazolandó, hogy az inzertálódott gén megtartotta funkcionalitását, a teljes amplifikált *mgrB::bla_{OXA-181}* szakaszt pUC19 plazmidba klónozva (pCOX143C/9) *E. coli* DH5 α -ba transzformáltuk. A transzformáns karbapenemekkel szembeni MIC értéke jelentősen megnövekedett a recipienséhez képest, igazolva az inzertálódott karbapenemáz gén funkcionalitását (32. ábra A).

Kíváncsiak voltunk arra is, hogy valóban ez az inzerció tehető-e felelőssé a vad törzs kolisztin rezisztenciájáért. Egy vad típusú, karbapenem érzékeny törzsből az *mgrB* gént amplifikálva, majd az amplikont egy higany rezisztencia markert hordozó plazmidba (pDG106) ligálva (pComgrB) azzal transzformáltuk az ABC143C törzset. A funkcionális *mgrB* gén komplementálta a nem funkcionális mutánst, azaz a transzformáns visszanyerte kolisztin érzékenységét (32. ábra B).



Az MS6671 és az ABC143 sorozat egyik tagja (ABC143F) kivételével a törzsek egy kb. 100 kb nagyságú plazmidon hordozták a *bla*_{NDM-5} gént. Az ABC143C törzs plazmidjának teljes szekvenciáját meghatároztuk (pABC143C-NDM, GenBank KY130431). Ez egy 96549 bp méretű IncFII plazmid volt, melynek 66915 bp hosszú gerince és egy 26364 bp rezisztencia szigete volt. Utóbbin az *ermB*, *mph(A)*, *bla*_{TEM-1B}, *rmtB*, *bla*_{NDM-5}, *sul1*, *aadA2* és *dfrA12* rezisztencia gének helyezkedtek el. A plazmid számos, korábban szekvenált plazmidhoz mutatott nagyfokú hasonlóságot, ideértve a UAQ-B kórházban izolált MS6671 törzs IncFII plazmidját, ami azonban nem tartalmazta a *bla*_{NDM-5} gént (**41. táblázat, 33. ábra**). Még kifejezettebb volt a hasonlóság két másik pNDM-5 plazmid gerincéhez (pCC1410-1 és pCC1409-1, GenBank KT725788 és KT725789), melyek Dél-Koreából származó törzsekből származtak^{356,357}. Ugyanakkor a rezisztencia szigetek tekintetében a különbségek, különösen az MS6671 törzs IncFII plazmidja esetén, már sokkal kiterjedtebbek voltak, utóbbiból hiányzott a másik háromban meglévő *ermB*, *mph(A)*, *bla*_{TEM-1B}, *rmtB*, *bla*_{NDM-5}, és *sul1*, jóllehet tartalmazta a csak az emirátusi plazmidban meglévő *ltr* gént (**33. ábra**).

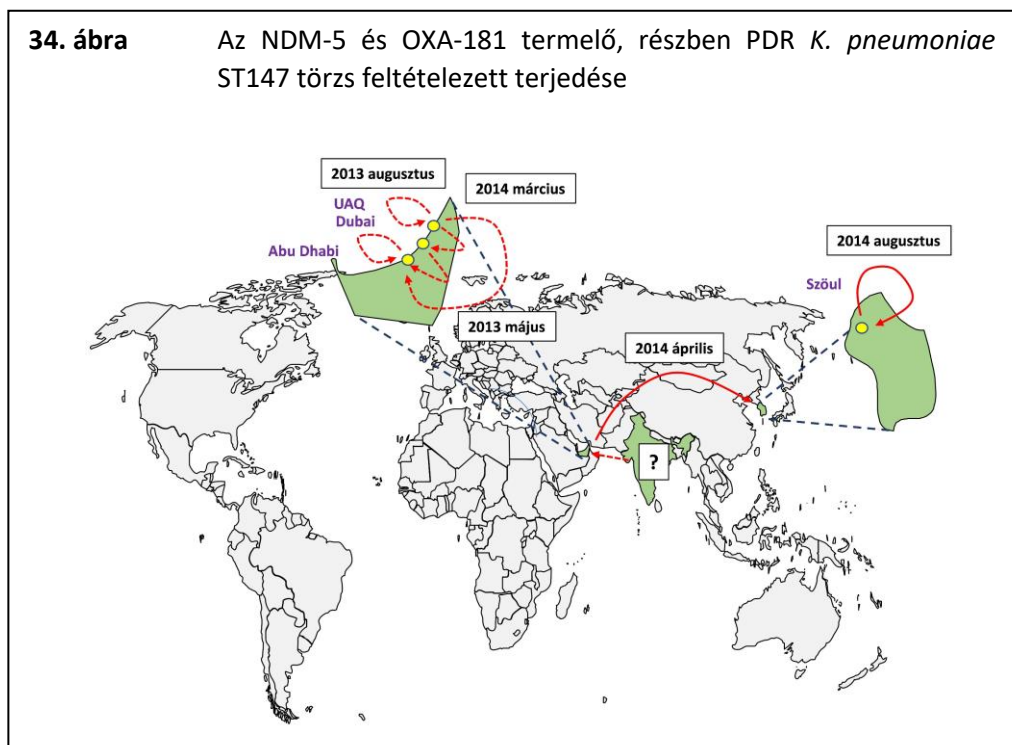


Ebben a projektben a kolisztin rezisztenciát eredményező kromoszómális mutációk egy különleges formáját igazoltuk az EAE-ban feldolgozott első pánrezisztens, több kórházat érintő *K. pneumoniae* ST147 járvány során. Az ST147 szerepe nem meglepő, jól ismert globális klón, mely különösen hajlamos különböző antibiotikum rezisztencia gének felvételére és jelentős járványok okozására ³²⁹. Az ST147 az országban előforduló domináns klónok egyike, amely már a CRE epidémia korai szakaszától jelen van (**XXVII, XXVIII, XXX, 24. ábra, 34. táblázat**). Vizsgálataink során igazoltuk, hogy a mások által korábban egyedi izolátumként leírt ³⁵⁵, de saját eredményeink szerint a járvány törzseihez hasonlóságot mutató MS6671 törzsben és a járvány törzseiben is meglévő *mbrB::bla_{OXA-181}* inzerációs mutáció egyrészt funkcionális karbapenemáz gént tartalmaz, másrészt ez a mutáció valóban képes kolisztin rezisztenciát létrehozni, azaz egy genetikai történés (a *bla_{OXA-181}* gén inzertálódása) két, különböző osztályba tartozó antibiotikum elleni rezisztenciát is létrehozhatott (**31. ábra**). Hasonló, *ISEcp1* által irányított inzerációt (*mgrB::bla_{CTX-M-15}*) korábban Franciaországban írtak el ³⁵⁸. Esetünkben lényeges különbség azonban, hogy a mutáció egy funkcionális karbapenemáz gén inzerációja révén jött létre. A járvány-törzs az OXA-181 mellett egy plazmid-kódolt *bla_{NDM-5}* gént is hordozott (**41. táblázat**). Feltételezésünk szerint a

kormoszómáisan inzertálódott *bla_{OXA-181}* gén tette lehetővé, hogy a plazmid-kódolt NDM-5 gén jelentős szelekciós hátrány nélkül elveszhetett, amint azt az ugyanazon betegből származó CR törzsek egyike (ABC143F) esetén láttuk. És feltehetően ugyanez a mechanizmus magyarázhatja, hogy a járvány után több hónappal izolált, a pNDM-5 plazmidot érintő, a gén mellett a rezisztencia sziget számos egyéb génjének elvesztését eredményező deléció után is az MS6671 törzs megtartsa karbapenem rezisztenciáját (**33. ábra**).

Sajnos a járvány index esetéről az ABD-A kórházba történt felvétele előtti időkből nem sok adatot tudtunk beszerezni. Informális csatornákon szerzett, hivatalosan meg nem erősített információk alapján a beteg korábban kórházi kezelést kapott Indiában, majd az UAQ-A kórházból, egy Dubai kórházban töltött pár nap után került felvételre az ABD-A kórházba. Az indiai, UAQ-A-béli és dubai kórházi tartózkodással kapcsolatos adatokhoz, mikrobiológiai eredményekhez nem jutottunk hozzá.

Feltételezésünk szerint a járványnak további, régióon túli kapcsolatai is lehetnek (**34. ábra**). A EAE-béli járványtörzs pNDM plazmidjához nagyon hasonlókat Dél-Koreából jelentették (**33. ábra**)^{355,356}. Mindkét koreai törzs szintén OXA-181 és NDM-5 termelő *K. pneumoniae* ST147 volt. Az elsőt (CC1409-1), mely kolisztin érzékeny volt, olyan betegből izolálták, akit 2014-ben egy pontosan meg nem nevezett Abu Dhabi kórházból szállítottak Szöulba³⁵⁷, míg a másodikat 4 hónappal később ugyanabban a szöuli kórházban izolálták, de ez már, ismeretlen mechanizmussal, kolisztin rezisztens volt. Az azonos ST, karbapenemáz termelés és a hordozott IncFII pNDM-5 közel azonossága alapján valószínűnek tarjuk az esetek közötti járványtani kapcsolatot (**34. ábra**). Az ennek megerősítéséhez szükséges vizsgálatokhoz megpróbáltuk a törzseket beszerezni Dél-Koreából, illetve felajánlottuk, hogy kiküldjük oda saját törzseinket, de minden megkeresésünk válasz nélkül maradt.



4.4.2.4. Az *mcr* gén brojlercsirkék ürülékéből izolált törzsekben (XXIX)

A négy, Al Ain városától 15-70 km, egymástól 30-90 km távolságra lévő, egymástól független tulajdonban lévő brojler farmról 2018 március-áprilisában gyűjtött 10-10, egyenként 3-3 széklet mintát tartalmazó kompozit minták vegyes tenyészetének kivonatán végzett *mcr*-1, -2, -3, -4 és -5 specifikus PCR 36 (90%) esetén adott pozitív eredményt. Telep PCR-ok segítségével 216 *mcr* pozitív törzset azonosítottunk, melyek közül faj, telepmorfológia és plazmid mintázat alapján végül 39-et választottunk ki, melyeknek meghatároztuk antibiotikum érzékenységét és teljes genom szekvenciáját. E törzsek tulajdonságait a **42. táblázatban** foglaltuk össze.

42. táblázat A brojlercsirke székletből izolált *mcr-1.1* pozitív törzsek és MCR plazmidjaik tulajdonságai

Farm	A vad törzs						pMCR					
	Törzs	Faj	MLST	cgMLST	Kolisztin MIC (mg/L)	Rezisztencia	Átvitel	Méret (kb)	RFLP minta	Inc*	Recipiens kolisztin MIC (mg/L)	Egyéb rezisztencia a plazmidon
A	FA1-1	<i>E. coli</i>	ST48	C6	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX	C	60	A1	Incl2	4	Nincs
	FA4-9	<i>E. coli</i>	ST48	C6	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX	Cm - T	60	A1	<i>Incl2</i>	4	Nincs
	FA5-1	<i>E. coli</i>	ST12220	C7	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	C	60	A1	Incl2	2	Nincs
	FA6-1	<i>E. coli</i>	ST12220	C7	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	T	60	A1	<i>Incl2</i>	4	Nincs
	FA7-9	<i>E. coli</i>	ST1290	S1	4	AMP, CPO, CTA, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, FOS	C	60	A1	<i>Incl2</i>	2	Nincs
	FB1-1	<i>E. coli</i>	ST1196	C5	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	T	60	A1	<i>Incl2</i>	4	Nincs
	FB2-1	<i>E. coli</i>	ST69	S3	4	AMP, NAL, CIP, TET, GEN, TOB	C	60	A2	<i>Incl2</i>	2	Nincs
B	FB3-1	<i>E. coli</i>	ST1140	S4	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, AMI, GEN, TOB	C	60	A1	<i>Incl2</i>	2	Nincs
	FB7-1	<i>E. coli</i>	ST1196	S5	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	T	35	NT	IncX4	2	Nincs
	FB7-5	<i>E. coli</i>	ST1140	S6	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	C	60	A1	<i>Incl2</i>	2	Nincs
	FB10-1	<i>E. coli</i>	ST101	S2	4	AMP, NAL, CIP, TET, DOX, CHL	Cm - T	60	A1	Incl2	2	Nincs

folyt.

folyt.

Farm	A vad törzs						pMCR					
	Törzs	Faj	MLST	cgMLST	Kolisztin MIC (mg/L)	Rezisztencia	Átvitel	Méret (kb)	RFLP minta	Inc*	Recipiens kolisztn MIC (mg/L)	Egyéb rezisztencia a plazmidon
	FC1-2-1	<i>E. coli</i>	ST1585	C1	4	AMP, CPO, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, GEN	C	60	A1	<i>Incl2</i>	2	Nincs
	FC1-3	<i>E. coli</i>	ST354	S8	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	C	>150	B1	IncHI2	2	AMP, TET, DOX, CHL
	FC2-9-1	<i>E. coli</i>	ST1196	C5	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	T	60	A1	IncI2	2	Nincs
	FC2-9-2	<i>E. coli</i>	ST533	S9	4	AMP, NAL, CIP, TET, DOX, CHL, GEN, TOB	T	60	A1	<i>Incl2</i>	8	Nincs
	FC3-1	<i>E. coli</i>	ST1485	C3	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	C	>150	B3	IncHI2	2	AMP, TET, DOX, CHL
	FC3-6	<i>E. albertii</i>	NA	NA	8	AMP, NAL, TET, DOX	C	60	A1	IncI2	2	Nincs
	FC4-8	<i>E. coli</i>	ST93	S10	8	AMP, NAL, CIP, CHL, GEN	C	60	A2	<i>Incl2</i>	4	Nincs
C	FC5-1	<i>E. coli</i>	ST1585	C1	4	AMP, CPO, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, GEN	C	60	A1	<i>Incl2</i>	2	Nincs
	FC5-2	<i>E. coli</i>	ST1485	C3	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	None	NA	NA	NA	NA	-
	FC5-3	<i>E. coli</i>	ST1485	C3	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	None	NA	NA	NA	NA	-
	FC6-1	<i>E. albertii</i>	NA	NA	8	AMP, NAL, CIP, TET, DOX	C	60	A1	<i>Incl2</i>	2	Nincs
	FC6-10-1	<i>E. coli</i>	ST1585	C1	4	AMP, CPO, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, GEN	C	60	A1	<i>Incl2</i>	2	Nincs
	FC9-1	<i>E. coli</i>	ST1585	C1	4	AMP, CPO, NAL, CIP, TET, DOX	C	60	A1	IncI2	2	Nincs
	FC9-8	<i>E. coli</i>	ST1485	C3	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	C	>150	B2	IncHI2	2	AMP, TET, DOX, CHL
	FC10-1	<i>E. coli</i>	ST162	S7	4	AMP, NAL, CIP, TET, DOX	C	60	A1	<i>Incl2</i>	2	Nincs

folyt.

folyt.

140

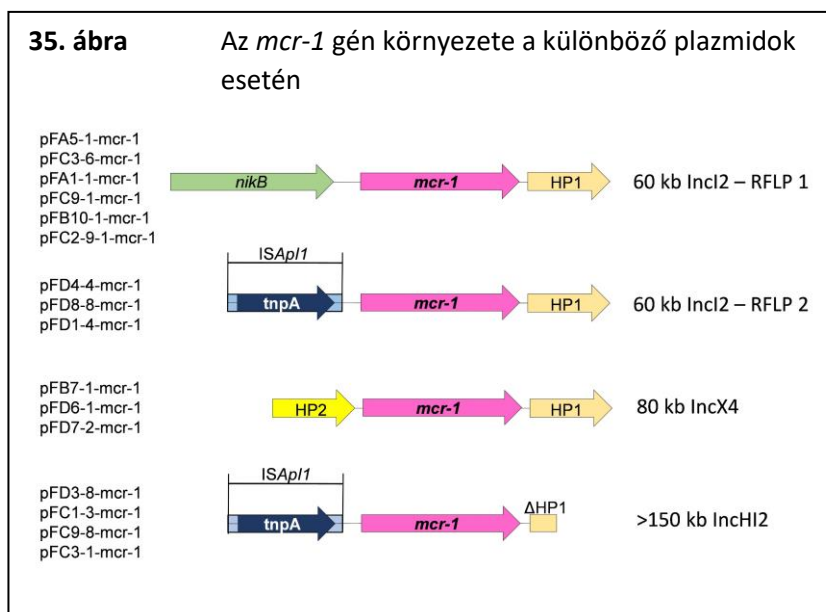
Farm	A vad törzs						pMCR					
	Törzs	Faj	MLST	cgMLST	Kolisztin MIC (mg/L)	Rezisztencia	Átvitel	Méret (kb)	RFLP minta	Inc*	Recipiens kolisztin MIC (mg/L)	Egyéb rezisztencia a plazmidon
	FD1-4	<i>E. coli</i>	ST101	C2	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	C	60	A2	Incl2	2	Nincs
	FD2-7	<i>E. coli</i>	ST165	S11	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, GEN, TOB	None	>150*	NA	NA	NA	-
	FD3-8	<i>E. coli</i>	ST354	C4	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	T	>150	B1	IncHI2	2	AMP, TET, CHL
	FD4-4	<i>E. coli</i>	ST1630	S12	4	AMP, NAL, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	C	60	A2	Incl2	2	Nincs
	FD5-2	<i>E. coli</i>	ST1011	S13	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN, TOB	None	NA	NA	NA	NA	-
	FD6-1	<i>K. pneumoniae</i>	ST340	NA	>256	AMP, CPO, CTZ, CTA, AZT, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	Cm - T	35	C1	IncX4	4	Nincs
D	FD6-2	<i>K. pneumoniae</i>	ST340	NA	>256	AMP, CPO, CTZ, CTA, AZT, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	Cm - T	35	C1	<i>IncX4</i>	4	Nincs
	FD7-1-1	<i>E. coli</i>	ST101	C2	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	C	60	A2	<i>Incl2</i>	4	Nincs
	FD7-2	<i>S. Minnesota</i>	ST548	NA	8	AMP, AMC, FOX, CPO, CTZ, CTA, CIP, TRS, TET, DOX, AMI, GEN, TOB	T	35	NT	IncX4	2	Nincs
	FD8-8	<i>E. coli</i>	ST101	C2	4	AMP, NAL, CIP, TET, DOX, CHL, GEN	Cm - T	60	A2	Incl2	4	Nincs
	FD9-7-1	<i>E. coli</i>	ST101	C2	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	Cm - T	60	A2	<i>Incl2</i>	4	Nincs
	FD10-2	<i>E. coli</i>	ST354	C4	4	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	T	>150	B1	<i>IncHI2</i>	2	AMP, TET, CHL
	FD10-8	<i>E. coli</i>	ST354	C4	8	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	T	>150	B1	<i>IncHI2</i>	4	AMP, TET, CHL

Lábjegyzet a 42. táblázathoz: *MLST: NA – nem alkalmazható (nincs kidolgozott MLST rendszer); cgMLST: C – cluster, S – singleton (lásd 36. ábra); Átvitel: C – konjugáció, T – transzformáció, Cm-T: többszörös plazidátvitel konjugációval, majd transzformáció,* Inc: vastagon szedve: az Inc típus a plazmid szekvencia alapján, dőlt betűkkel szedve: az Inc típus az azonos RFLP-t mutató, azonos molekula tömegű plazmid Inc típusa alapján.*

Minden törzs az *mcr-1.1* allélt hordozta. Az *mcr-1.1* gént minden törzsből megkíséreltük konjugációval átvinni. Amennyiben ez egyáltalán nem, vagy csak több plazmid együttes átvitele esetén sikerült, transzformációval próbáltunk csak pMCR-t hordozó származékokat előállítani. A 39-ből 20 esetben sikerült ezt konjugációval, hat esetben több plazmid együttes konjugációval és ezt követő transzformációval elérni. Kilenc esetben csak transzformációval sikerült pMCR-t tartalmazó származékot nyernünk. A 4 törzsben, amelyek esetén nem sikerült csak az *mcr* plazmidot tartalmazó derivátumot kapnunk, egy esetben (FD2-7 törzs) a plazmid gélek hibridizációjával tudtuk az *mcr-1.1* gént egy >150 kb nagyságú plazmidra lokalizálni, míg 3 esetben ez sem sikerült (**42. táblázat**).

A törzsekben, melyekből mobilizáltuk az MCR plazmidokat, azok mérete 35, 60 és >150 kb volt. Azon plazmidok esetén, amelyekből sikerült csak a pMCR-t tartalmazó származékot előállítani, RFLP vizsgálatot végeztünk *Hinc II*, *Nsi I* és *Nde I* enzimekkel történő emésztéssel, ami két plazmid kivételével sikeres volt. A 35 kb plazmidok esetén 1, a 60 kb plazmidok esetén 2 és a >150 kb plazmidok esetén 3 RFLP mintát tudunk elkülöníteni (*az adatokat nem ábrázoltuk*). A két, RFLP-vel nem vizsgálható plazmid és minden RFLP típusból legalább egy plazmid teljes szekvenciáját meghatároztuk. Minden 60 kb plazmid IncI2, a >150 kb plazmidok IncHI2, míg a 35 kb plazmidok IncX4 típusúak voltak. Az egyetlen *E. coli* ST típus az ST1196 volt, melynek reprezentánsai két különféle plazmidot is hordoztak: a FC2-9-1 törzs IncI2-t, az FB7-1 törzs IncX4-et. Az utóbbi *E. coli* törzs mellett ez a plazmid jelen volt a *K. pneumoniae* és *S. Minnesota* törzsekben is (**42. táblázat**).

Az *mcr-1* gén környezete a plazmidok Inc típusa szerint változott, az IncI2 episzómák esetén ezen belül eltérés volt az RFLP minta szerint is: az RFLP 2 típus esetén, csak úgy, mint az IncHI2 plazmidok esetén az *mcr-1* gén előtt egy komplett *ISApI1* elem volt található, mely hiányzott a másik két plazmid csoportnál (**35. ábra**).



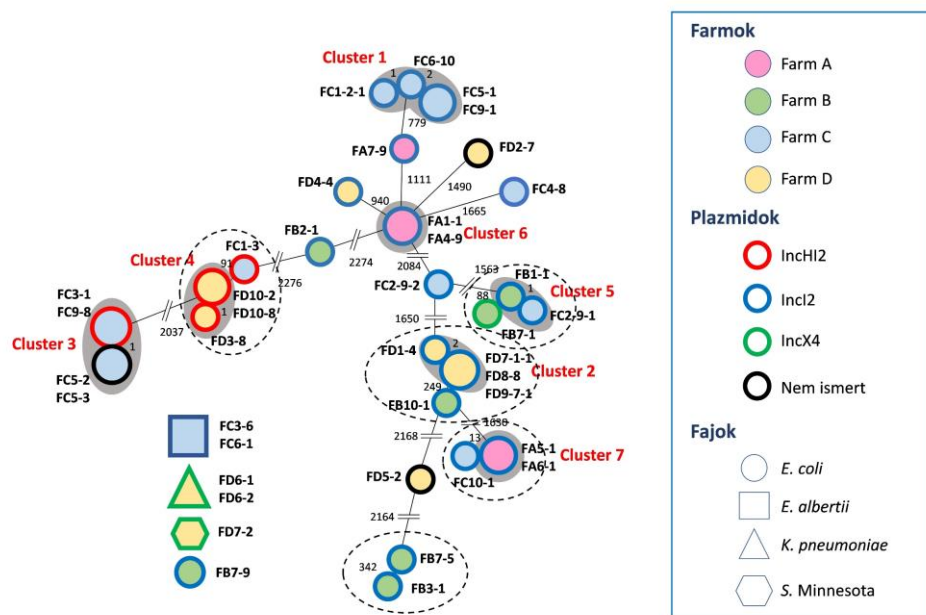
Az IncHI2 plazmidok az *mcr-1* gén mellett egy rezisztencia szigeten egyéb rezisztencia géneket is kódoltak. E szigetek szerkezetükben teljesen megegyeztek a korábban általunk a Saudi SA26 törzsben talált MCR plazmid rezisztencia szigetével (lásd **28. ábra B, XVI**)

A törzsek mindegyike számos virulencia faktort hordozott. Figyelemre méltó volt, hogy az izolátumok több, mint 50%-ában jelen voltak olyan gének (*hlyF*, *iroN*, *iutA*, *sitA*, *traT*), melyek egyaránt gyakoriak az madár-kórokozó (APEC) és humán extraintesztinális kórokozó *E. coli* (ExPEC) törzsekben ³⁵⁹. Ugyancsak fontos volt, hogy a 39 törzsből 9 hordozott valamilyen 3. generációs cefalosporin rezisztencia gént (*bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{SHV-12}, *bla*_{CMY-2}), egyharmaduk plazmid-kódolt fluorkinolon rezisztencia gént (*qnr*) és kettő pedig 16S riboszómális RNS metiláz kódoló gént (*rmtB*) (az adatok nincsenek ábrázolva).

A két *K. pneumoniae* törzs ST340 típusú volt és azonos cgMLST csoportba tartoztak, csakúgy, mint a két *E. albertii* izolátum. A 34 *E. coli* törzs 16 ST-t reprezentált, melyek közül nyolcat több törzs is képviselt, hármat közülük (ST101, ST354, ST1196) több farmon is megtaláltunk. cgMLST clustereket 7 ST típuson belül találtunk. Az 5. clustertől eltekintve minden cluster azonos farmról származó törzseket tartalmazott, de gyakori volt, hogy a cluster közvetlen közelében azonos ST típusú, egyéb farmról származó törzseket találtunk (**36. ábra**)

36. ábra

Az *mcr-1.1* törzsek eredete, fajta, MCR plazmidjaik Inc típusa és cgMLST csoportja



A szürke zónák a clustereket (≤ 10 allél differencia), a szaggatott vonalak a clusteren kívüli, de azonos ST típusú törzseket jelzik. Az ábra nem arányos a különböző allélok számával.

Figyelembe véve az izolált törzsek fajtát, szekvencia típusát, és MCR plazmidjaikat, az 39 izolátum 19 csoportra volt osztható, melyek eloszlását a **43. táblázat** mutatja. Látható, hogy voltak variánsok (pl. 4, 5, 7, 12), melyek több farmon is előfordultak, és minden farmon többféle variáns is megtalálható volt.

43. táblázat Az *mcr-1.1* pozitív törzsek faj, szekvencia típus és pMCR alapú variánsai és azok farmonkénti megoszlása

Variáns	Faj	MLST	Rezisztencia egyéb antibiotikumokkal szemben	pMCR							
				Méret (kb)	Inc	Egyéb rezisztencia a plazmidon	A	B	C	D	
1	<i>E. coli</i>	ST48	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX	60	Incl2	Nincs	2				
2	<i>E. coli</i>	ST69	AMP, NAL, CIP, TET, GEN, TOB	60	<i>Incl2</i>	Nincs		1			
3	<i>E. coli</i>	ST93	AMP, NAL, CIP, CHL, GEN	60	<i>Incl2</i>	Nincs				1	
4	<i>E. coli</i>	ST101	AMP, NAL, CIP, TET, DOX, CHL, (TRS), (GEN)	60	Incl2	Nincs		1			4
5	<i>E. coli</i>	CC162*	AMP, NAL, CIP, TET, DOX, (TRS), (CHL)	60	Incl2	Nincs	2			1	
6	<i>E. coli</i>	ST165	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, GEN, TOB	>150 ^{&}	NA	-					1
7	<i>E. coli</i>	ST354	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	>150	InchI2	AMP, TET, DOX, CHL				1	3
8	<i>E. coli</i>	ST533	AMP, NAL, CIP, TET, DOX, CHL, GEN, TOB	60	<i>Incl2</i>	Nincs				1	
9	<i>E. coli</i>	ST1011	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN, TOB	NA	NA	-					1
10	<i>E. coli</i>	ST1140	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, (AMI), (GEN), (TOB)	60	<i>Incl2</i>	Nincs		2			
11	<i>E. coli</i>	ST1196	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	35	IncX4	Nincs		1			
12	<i>E. coli</i>	ST1196	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	60	Incl2	Nincs		1	1		

folyt.

folyt.

Variáns	Faj	MLST	Kolisztin melletti rezisztencia	pMCR			A farmon talált törzsek száma				
				Méret (kb)	Inc	Egyéb rezisztencia a plazmidon	A	B	C	D	
13	<i>E. coli</i>	ST1290	AMP, CPO, CTA, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, FOS	60	<i>IncI2</i>	Nincs	1				
14	<i>E. coli</i>	ST1485	AMP, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL	>150	IncHI2	AMP, TET, DOX, CHL				4	
15	<i>E. coli</i>	ST1585	AMP, CPO, NAL, CIP, TET, DOX, (CPO), (TRS), (GEN)	60	IncI2	Nincs				4	
16	<i>E. coli</i>	ST1630	AMP, NAL, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	60	IncI2	Nincs					1
17	<i>E. albertii</i>	NA	AMP, NAL, TET, DOX, (CIP)	60	IncI2	Nincs				2	
18	<i>K. pneumoniae</i>	ST340	AMP, CPO, CTZ, CTA, AZT, NAL, CIP, TRS, TET, DOX, CHL, GEN	35	IncX4	Nincs					2
19	<i>S. Minnesota</i>	ST548	AMP, AMC, FOX, CPO, CTZ, CTA, CIP, TRS, TET, DOX, AMI, GEN, TOB	35	IncX4	Nincs					1
A variánsok (faj/ST/plazmid) száma farmonként							3	5	8	7	

* ideértve az ST162-t, és annak SLV-jét (ST12220); **Inc**: vastagon szedve: az Inc típus a plazmid szekvencia alapján, dőlt betűvel szedve: az Inc típus az azonos RFLP-t mutató, azonos molekula tömegű plazmid Inc típusa alapján. A zárójelben szereplő antibiotikumokkal szemben az adott ST nem minden tagja mutatott rezisztenciát. & A plazmid molekula tömege elektroforézist követő hibridizáció alapján lett megállítva

A helyi humán CRE-k között az *mcr* pozitív törzsek ritkasága, szemben a brojler mintákban talált változatosságukkal és gyakoriságukkal több lehetőséget is felvet. Bár a tágabb régióban már több közlemény született a témában ³⁶⁰⁻³⁶⁵ az Arab Fél-szigeten az élelmiszerként felhasznált állatokból izolált törzsek által hordozott *mcr* plazmidok előfordulásáról az egyetlen korábbi ilyen tanulmány Qatartól származott ³⁶⁶. Vizsgálatainkat 4 random kiválasztott farmon végeztük, ami bár nem jelenti, hogy az *mcr* gént hordozó törzsek más farmokon is ilyen változatosságban lennének jelen, de ismereteink szerint e farmok semmiben nem különböztek az ország egyéb hasonló létesítményeitől.

A molekuláris tipizálás az *mcr* gén farmok közötti terjedésének komplex lehetőségeit rajzolta fel. Egyrészt a clusterek, a cluster 5 kivételével, csak egy farmról származó törzseket tartalmaztak. Mindemellett azonban a farmok közötti átvitel irányába mutat, hogy a clusterek körül több esetben megtalálhatóak voltak a más farmokról származó, azonos ST-be tartozó törzsek. A fajok és szekvencia típusok változatossága mellett az *mcr* gént hordozó plazmidok kisebb változatossága (mindössze három Inc típust képviseltek) globális jelenség ³⁶⁷. Bár e többségükben konjugatív plazmidok horizontális terjedése valószínű, mindössze egyetlen esetben figyeltük meg, hogy egy *E. coli* típus (ST1196) különböző törzsei különböző plazmidokat hordoztak. Ugyanakkor, valószínűsítve a horizontális terjedést, az IncI2 plazmidok megtalálhatóak voltak az *E. coli* mellett az *E. albertii* törzsekben is, az IncX4 plazmidok pedig úgy a *K. pneumoniae*, mint a *S. Minnesota* izolátumokban (**42. táblázat**). Utóbbival kapcsolatban megemlítendő, hogy ismereteink szerint korábban ebben a szerotípusban még nem írták le az *mcr* gén előfordulását. Megjegyzendő, hogy az állati eredetű törzsek között kiugróan magas kolisztin MIC értéket mutató *K. pneumoniae* törzsek (**42. táblázat**) a pMCR hordozása mellett *pmrB* génjükben is hordoztak egy-egy T246A és R256G aminosav cserét (az adatokat nem ábrázoltuk).

Feltételezve, hogy az *mcr* gént hordozó törzsek brojlercsirkékben tapasztalt változatossága és gyakorisága nem korlátozódik e négy farmra, felmerül a kérdés, hogy mi magyarázza a gén humán CRE törzsek között tapasztalt relatív ritkaságát? Globálisan az *E. coli* faj képviselői a leggyakoribb pMCR hordozók, de a legtöbb allél számos *Enterobacterales* fajban, *K. pneumoniae*-ban, *Salmonella*-kban, sőt, nem-fermentáló törzsekben is fellelhető ³⁴⁸. Ennek fényében nem meglepő, hogy a régióban izolált humán, pMCR-hordozók *E. coli* törzsek voltak, míg a CRE között a kolisztin rezisztencia probléma elsősorban a csoporton belül domináló *K. pneumoniae* törzsekhez köthető. Véleményünk szerint a jelenleg rendelkezésre álló adatok némileg félrevezetőek: a humán izolátumok tekintetében azok döntően a CRE

törzsekre vonatkoznak, míg a régióban először leírt 5 humán *mcr* gént hordozó törzs közül csak egy NDM-1 termelő izolátum volt CRE (**XVI, XVIII**), illetve az állati izolátumok közül egy sem. Ez felveti annak lehetőségét, hogy nem a CRE csoport, hanem egyéb, esetleg MDR, de elsősorban karbapenemekre érzékeny törzsek, rejtve ugyan, de terjeszthetik a konjugatív pMCR különböző verzióit. A „rejtőzködés” lehetőségét az adja, hogy még olyan országokban is, ahol a kolisztin érzékenységet a megfelelő módszerekkel tesztelik, erre elsősorban karbapenem rezisztencia esetén kerül sor, mivel karbapenem érzékenység esetén a kolisztin parenterális alkalmazás gyakorlatilag nem jön szóba.

Az állati mintákban talált törzsek számos olyan gént tartalmaztak, melyek gyakran megtalálhatóak ExPEC törzsekben is, ami képessé teszi őket az emberek kolonizációjára. Hogy ilyen átvitel valóban megtörtént-e a Közel-Keleten arra nincsenek bizonyítékaink, azaz nincsenek olyan vizsgálatok, melyek az állati/élelmiszer eredetű törzsek és humán izolátumok azonosságát vizsgálták volna. De feltételezhetjük e kapcsolat valódiságát, hiszen kimutatták, hogy a *Hajj*-ra látogató zarándokok esetén hazatérésükkor gyakori az *mcr* pozitív, az esetek többségében nem karbapenem rezisztens törzsekkel való kolonizáltság^{368,369}.

A kromoszómális mechanizmusok humán törzsek közötti dominanciája ellenére úgy gondoljuk, a pMCR -ek által közvetített kolisztin rezisztencia jelentőségét nem szabad alulértékelni. A humán esetekből a régióban izolált plazmidok többsége az eredeti IncI2 plazmidhoz többé-kevésbé hasonló, az *mcr-1* génen kívül nem, vagy csak kevés rezisztencia gént tartalmazott (pl. *bla*_{CTX-M-64}, **38. táblázat**). Ugyanakkor az első Szaúd-Arábiában izolált, NDM termelő törzsben az *mcr-1* gén egy hatalmas, 13 rezisztencia gént magában foglaló szigetet is tartalmazó IncHI2 plazmidon (pSA26*mcr-1*) foglalt helyet, mely jelentős hasonlóságot mutatott más, *mcr*-t tartalmazó és nem tartalmazó plazmidokhoz^{351,352} (**28. ábra B**). Úgy véljük, az plazmidba történt *mcr* gén felvétel összefügghet azzal a ténnyel, hogy benne, szemben a többi, IncI2 plazmiddal, az *mcr* gént mindkét oldalról egy IS*Ap1* elem határolta. Ismereteink szerint ez volt az első eset, hogy az *mcr* gént komplett kompozit transzpozon részeként írták le (**28. ábra, A**). Érdekes, hogy a brojlercsirke eredetű, szintén IncHI2 plazmidokban az *mcr* gén környezete már eltért ettől, és az IS*Ap1* csak a gén előtt volt jelen (**35. ábra**) jóllehet a plazmidok rezisztencia szigete azonos volt a pSA26*mcr-1* -ével (**28. ábra B**).

Összefoglalva, véleményünk szerint a régióban aggasztóan magas kolisztin rezisztencia mögött meghúzódó komplex mechanizmusok folyamatos monitorozására van szükség, mely

nem korlátozódhat csak a CRE izolátumokra és ki kell terjeszteni haszonállatokból és élelmiszerekből kitenyésztett törzsekre is.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Elsőként szolgáltatunk az ESBL termelés genetikai hátterének részletes leírását enteroaggregatív *E. coli* törzsekben. E munka kapcsán először jelentettük a *bla*_{CTX-M-15} gén előfordulását az Arab-félszigetről. **(I)**
2. Elsőként mutattunk rá a régióban a salmonella és shigella törzsek között meglévő gyakori MDR fenotípusra és az előbbi kórokozó csoport esetén a gyakori ESBL termelésre és az abban az időben még érzékenynek tekintett, de gyakran sikertelen kezelést eredményező ciprofloxacín MIC tartomány elterjedtségére. **(III-V)**
3. Elsőként írtuk le salmonellák esetén nem sopradikus törzsek között észlelt CTX-M-15 termelést 5, egymáshoz nagyon hasonló makrorestrikciós mintát mutató B csoportú salmonella törzs kapcsán. **(IV)**
4. Egy neonatológiai intenzív osztályon több csecsemő halálához vezető járvány kapcsán az EAE-ban elsőként alkalmaztuk a járvány felderítését és kontrollját segítő molekuláris tipizáló eljárásokat és igazoltuk, hogy a kórokozó egy CTX-M-15-öt termelő *K. pneumoniae* ST348 törzs volt. **(VII)**
5. Elsőként igazoltuk, hogy az ESBL-t termelő húgyúti *E. coli* izolátumok között a core-típus megoszlás jelentősen eltér a korábban ilyen forrásból származó törzsek között leírtaktól és elsőként írtuk le ennek okaként, hogy a globálisan elterjedt *E. coli* ST131 törzsek LPS mag szerkezetét kódoló régió a korábban klinikai izolátumok között ritka K-12 típusénak felel meg. **(VIII, XXI)**
6. A régióban először alkalmazva molekuláris tipizáló eljárást egy kórház *S. maltophilia* izolátumainak vizsgálatára megállapítottuk, hogy a vizsgálat idején az elsősorban immunkompromittált betegekből izolált törzsek, a viszonylag jelentős prevalencia ellenére, döntően sporadikusak. **(II)**
7. Elsőként mutattuk ki, hogy *A. baumannii* -ban az eredetileg kromoszómális lokalizációban leírt *bla*_{PER-7} gén plazmidon is előfordulhat egy komplex, I. osztályú integronon belül. **(VI)**

8. Elsőként írtuk le az Emirátusokban, és az elsők között a régióban *A. baumannii* NDM-2 termelését. **(IX)**
9. Elsőként igazoltuk, hogy az Abu Dhabi kórházakban előforduló *A. baumannii* törzsek a gyakorlatilag minden kórházban előforduló 3 nagy globális klón, a *bla*_{OXA-69}-et termelő WW1, a *bla*_{OXA-64}-et termelő WW7 és a *bla*_{OXA-66}-ot termelő WW2 tagjai voltak, és először mutattunk rá a helyi kórházak közötti törzs-átvitel valószínűségére. **(XI)**
10. Egy szaúdi kórház osztályait vizsgálva igazoltuk, hogy a kórházi környezeti és klinikai mintákból származó karbapenem rezisztens *A. baumannii* törzsek (többnyire globális „high risk” klónok tagjaként) olyan mértékű volt az átfedés, mely valószínűsíti a szennyezett környezet szerepét a fertőzések kialakulásában. **(XXV)**
11. Elsőként igazoltuk az Emirátusokban NDM típusú karbapenemáz (NDM-1) jelenlétét egyszerre több, különböző fajba tartozó bélbaktérium esetén és adtuk az azt hordozó plazmidok és a gént keretező szekvenciák részletes leírását. **(XII)**
12. A régióban elsőként írtuk le az általában magas fokú karbapenem rezisztenciát eredményező NDM-7-es allél jelenlétét több országban és adtuk meg a gént hordozó plazmidok szerkezetének részletes molekuláris jellemzését. **(XVII)**
13. Az Arab-félsziget országaiban elsőként írtuk le VIM típusú karbapenemáz gén (VIM-4-es allél) részletes genetikai környezetét rámutatva annak a világ más pontjain talált izolátumokban találtakkal szemben mutatott jellegzetességeire. **(X)**
14. Az Arab-félsziget országaiban elsőként adtuk egy KPC típusú karbapenemáz gén (KPC-2-es allél) leírását, genetikai környezetének összehasonlító vizsgálatát, és igazoltuk plazmidon kódolt mobilis voltát. **(XIV)**
15. Igazoltuk, hogy az IncX3 plazmidok „load” régióiban tapasztalt variabilitás többnyire a hordozott karbapenemáz gén/allél-től függ. Igazoltuk, hogy az IncX3 plazmidok terjedéséért úgy az őket hordozó klónok, mint ezzel párhuzamosan a plazmidok horizontális átvitele a felelős. Igazoltuk, hogy az *bla*_{NDM} gén különböző alléljainak változatossága e plazmidokban részben a gén plazmidba történt inzertálódása utáni evolúció (pl. NDM-1, -4, -7), részben független inzerciók események következménye (NDM-5). **(XXIV)**

16. Elsőként igazoltuk nagy törzsszámok vizsgálatával a régióra jellemző karbapenemáz-típus eloszlást, azaz, hogy az OXA típusú enzimek gyakoriságát az NDM enzimek követik, hogy jellemzően gyakoriak a kettős karbapenemáz termelők, hogy ritka a VIM, és hogy a KPC enzimek, meglepő módon, csak elvétve fordulnak elő, ami összességében az MBL enzimek empirikus kezelést is befolyásoló nagyon magas arányát (>40%) eredményezi **(XIII, XV, XXIII, XXVI, XXVIII)**
17. Elsőként igazoltuk, hogy – szemben az általánosan elterjedt vélekedéssel – a régió vizsgált országaiban a helyi CRE esetek többsége nem volt külföldi utazáshoz, külföldi hospitalizációhoz köthető, rámutatva a terjedésben a helyi, autochton átvitel jelentőségére. **(XV)**
18. Elsőként írtuk le nagy törzsszám vizsgálatán alapulva a 16S aminoglikozid metiláz gének kiemelkedően gyakori előfordulását a régióban, azonosítva a leggyakoribb típusokat (*armA*, *rmtC* és *rmtF*) és leírva az ezek regionális eloszlásában fellelhető különbségeket. **(XV, XXVI, XXVIII)**
19. Elsőként tanulmányoztuk a régióban a kettős karbapenemáz termelő törzsek tulajdonságait és bemutattuk, hogy azok kiugróan magas helyi prevalenciájának kialakulásában egyaránt szerepet játszik a géneket hordozó törzsek klonális terjedése, másrészt a kódoló plazmidok és mobilis genetikai elemek horizontális átvitele. **(XXII)**
20. Két, méretében a régióban egyedülálló tanulmányban írtuk le a helyi CRE törzsek jellegzetes antibiotikum rezisztencia mintáit megállapítva a globális összehasonlításban is magas kolisztin, ceftazidim-avibaktám rezisztencia szintet és a klinikai gyakorlatban még nem elterjedt aztreonám-avibaktám kombináció *in vitro* hatásosságát. Ugyanakkor elsőként mutattunk rá, hogy egyrészt az MBL termeléstől független ceftazidim-avibaktám rezisztencia, másrészt a ritka aztreonám-avibaktám rezisztencia elsősorban nem a CRE törzsek között dominál *K. pneumoniae*, hanem az *E. coli* törzsek között várható. **(XXVI, XXVIII)**
21. Az EAE-ban és a teljes régióban először, és globálisan is az elsők között végeztünk egy országot lefedő, molekuláris tipizáló vizsgálatot a CRE törzsek vonatkozásában és rámutattunk az egyes kórházak között fellelhető jelentős különbségek mellett a törzsek kórházak közötti átvitelének valószínűségére. **(XXVIII)**

22. Elsőként mutattuk ki, hogy az EAE-ban a CRE törzsek epidemiológiáját alapvetően három nagy *K. pneumoniae* klón (ST14, ST231 és ST147) jelenléte határozza meg, melyek, általában, de különösen a legnagyobb (ST14) szignifikánsan rezisztensebb, mint a sporadikus izolátumok, és melyek megtalálhatóak az ország legtöbb, az ST14 esetén gyakorlatilag minden nagy kórházában. **(XXIII, XXVIII)**
23. Jóllehet, a rendelkezésünkre álló adatok alapján a jelenség okát nem tudtuk feltárni, elsőként igazoltuk, hogy az EAE-ban leggyakoribb, egyben legrezisztensebb klón (*K. pneumoniae* ST14) szignifikánsan gyakrabban fordul elő emirátusi betegekben, mint nem emirátusiakban. **(XXIII, XXVIII)**
24. Igazoltuk, hogy Abu Dhabiban a jelenlegi súlyos CRE endémiás helyzet nem néhány klón robbanás szerű elterjedésével magyarázható, hanem azok már a járvány első éveitől jelen voltak és arányukat tekintve folyamatosan növekedtek, rámutatva, hogy a helyzet kialakulását vélhetően egy időben megkezdett és folyamatosan végzett molekuláris tipizáláson alapuló surveillance kedvezően befolyásolhatta volna. **(XXX)**
25. A helyi *K. pneumoniae* ST14 izolátumok plazmidjainak és teljese genom szekvenciáinak vizsgálatával és az utóbbiak 173, a világ különböző pontjairól származó törzs genomjához történő hasonlításával igazoltuk
- a típus kiemelkedő képességét különféle antibiotikum rezisztenciát kódoló plazmidok felvételére
 - hogy a típuson belül a feltehetően újjól terjedő, az EAE-ban a korábbi KL2 toktípust fokozatosan kiszorító KL64-es törzsek az izolálás földrajzi helyétől függetlenül összefüggő csoportot alkotnak **(XXVII)**
26. Igazoltuk, hogy Kuvaitban a magas VIM prevalencia oka elsősorban egy, a *bla_{VIM}* gént hordozó IncA/C típusú plazmid, illetve részben egy, a gént tartalmazó In416 integron faji határokat átlépő terjedése volt. **(XX)**
27. Elsőként írtuk le az Arab-félsziget országaiban *mcr* gén jelenlétét kolisztin rezisztens törzsekben és adtuk az azokat hordozó plazmidok részletes szerkezeti leírását. **(XVI, XVIII)**
28. Igazoltuk, hogy bár a régióban humán izolátumokban megtalálhatóak az *mcr* gének, a *K. pneumoniae* CRE törzsek magas arányú kolisztin rezisztenciájáért elsősorban néhány kromozómális gén mutációi a felelősek **(XXIII, XXVI-XXVIII)**

29. Igazoltuk, hogy az első EAE-béli panrezisztens *K. pneumoniae* járványt okozó törzsben talált *mgrB::bla_{OXA-181}* inzerció kolisztin rezisztenciát okoz, és egyszersmind funkcionális karbapenemáz gént tartalmaz. A törzsek részletes molekuláris vizsgálata révén felvetettük a törzs nemzetközi terjedésének lehetőségét. **(XIX)**
30. Elsőként igazoltuk, hogy szemben a régió béli CRE törzsekben megfigyelt ritkaságukkal, az itt tenyésztett brojlercsirkékben az *mcr-1* gént hordozó törzsek és plazmidok elterjedtek és a törzsek rendkívül nagy változatosságot mutatnak. **(XXIX)**

6. A DOKTORI MŰ ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

(Levelező szerző)

- I. **Sonnevend, Á.**, Al-Dhaheri, K., Mag, T., Herpay, M., Kolodziejek J, Nowotny, N., Usmani, A., Sheikh, A.F., Pál, T.: 2006. CTX-M-15-producing multi-drug resistant enteroaggregative *Escherichia coli* in the United Arab Emirates. *Clin Microbiol Infect*, **12**:582-585 (Q1, IF: 3.254)
- II. Jumaa, P.A., **Sonnevend, Á.**, Pál, T., El Hag, M., Amith, R., Trad, O.: 2006. The molecular epidemiology of *Stenotrophomonas maltophilia* bacteraemia in a tertiary referral hospital in the United Arab Emirates 2000-2004 *Annals of Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2006, **5**:32-37. (Q1)
- III. Rotimi, V.O., Jamal, W., Pál, T., **Sonnevend, Á.**, Dimitrov, T.S., Albert, M.J. 2008. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella* spp. and isolates with reduced susceptibility to ciprofloxacin in Kuwait and the United Arab Emirates. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **60**:71-7. (D1, IF: 2.553)
- IV. Rotimi, V.O., Jamal, W., Pál, T., **Sonnevend, Á.**, Dimitrov, T.S., Albert, M.J. 2008. Emergence of CTX-M-15 type ESBL producing *Salmonella* spp. in Kuwait and the United Arab Emirates. *J Med Microbiol* **57**:881-886 (Q1, IF: 2,18)
- V. Jamal, W., Rotimi, V.O., Pál, T., **Sonnevend, Á.**, Dimitrov, T.S.: 2010. Comparative in vitro activity of tigecycline and other antimicrobial agents against *Shigella* species from Kuwait and the United Arab of Emirates. *J. Infect Public Health* **3**:35—42 (Q3)
- VI. Opazo, A., **Sonnevend, Á.**, Lopes, B., Hamouda, A., Ghazawi, A., Pál, T., Amyes, S.G.B. 2012. Plasmid-encoded PER-7 beta-lactamase responsible for ceftazidime resistance in *Acinetobacter baumannii* isolated in the United Arab Emirates. *J Antimicrob Chemother* **67**:1619-22 (D1, IF: 5.068)
- VII. Tamma, P.D., Savard, P., Meeks, A., Lee, J.M., Pál, T., **Sonnevend, Á.**, Perl, T.M. Milstone, A.M. 2012. An outbreak of Extended-spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a Neonatal Intensive Care Unit. *Inf Control Hosp Epidemiol* **33**:631-634 (D1, IF: 3.669)
- VIII. Szijártó, V., Pál, T., Nagy, G., Nagy, E., Ghazawi, A., Al-Haj, M., El Kurdi S., **Sonnevend Á.**: 2012. The rapidly emerging ESBL-producing *Escherichia coli* O25-ST131 clone carries LPS-core synthesis genes of the K-12 type. *FEMS Microb Lett.* **332**:131-136 (Q2, IF: 2.044)
- IX. Ghazawi, A., **Sonnevend, Á.**, Bonnin, R.A., Poirel, L., Nordmann, P., Hashmey, R., Tizvi, T.A., Hamadeh, M.B., Pál, T. 2012. NDM-2 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in the United Arab Emirates *Clin Microbiol Infect* **18**:E34-6. (D1, IF: 4.54)
- X. **Sonnevend, Á.**, Ghazawi, A., Yahfoufi, N., Al-Baloushi, A., Hashmey, R., Mathew, M., Tariq, W., Pál, T. 2012. VIM-4 carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* in the United Arab Emirates. *Clin Microbiol Infect* **18**:E494-6 (D1, IF: 4.54)
- XI. **Sonnevend, Á.**, Ghazawi, A., Al Munthari, N., Pitout, M., Hamadeh, M.B., Hashmey, R., Girgis, S., Sheikh, F.A., Al Haj, M., Nagelkerke, N., Pál, T. 2013. Characteristics of epidemic and sporadic strains of *Acinetobacter baumannii* isolated in Abu Dhabi hospitals. *J Med Microbiol.* **62**:582-590 (Q1, IF: 2.502)
- XII. **Sonnevend, Á.**, Al Baloushi, A., Ghazawi, A., Hashmey, R., Girgis, S., Hamadeh, M.B., Al Haj, M., Pál, T. 2013. Emergence and spread of NDM-1 producer

- Enterobacteriaceae* with contribution of IncX3 plasmids in the United Arab Emirates. *J Med Microbiol.* **62**:1044-1050 (Q1, IF: 2.502)
- XIII. Dash, N., Panigrahi, D., Al Zarouni, M., Darwish, D., Ghazawi, A., **Sonnevend, Á.**, Pál, T., Yasin, F., Al Hadi, S. 2014. High Incidence of New Delhi Metallo-Beta-Lactamase Producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Sharjah, United Arab Emirates. *Microb Drug Res.* **20**:52-56 (Q1, IF: 2.490)
- XIV. **Sonnevend, Á.**, Ghazawi, A., Darwish, D., AlDeesi, Z., Kadhum, A.F., Pál, T. 2015. Characterization of KPC-type carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in the Arabian Peninsula. *J Antimicrob Chemother.* **70**:1592-3 (D1, F: 4.919)
- XV. **Sonnevend, Á.**, Ghazawi, A., Hashmey, R., Jamal, W., Rotimi, W.O., Shibl, A., Al-Jardani, A., Al-Abri, S.S., Tariq, W.U.Z., Weber, S., Pál, T. 2015. Characterization of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* with high rate of autochthonous transmission in the Arabian Peninsula *PLOS One*, **10(6)**: e0131372. (Q1, IF:3.057)
- XVI. **Sonnevend, Á.**, Ghazawi, A., Alqahtani, M., Shibl, A., Jamal, W., Hashmey, R., Pál, T.: 2016. Plasmid-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* from the Arabian Peninsula. *Int J Inf Dis.* **50**:85-90 (Q1, IF: 2.532)
- XVII. Pál, T., Ghazawi, A., Darwish, D., Villa, L., Carattoli, A., Hashmey, A., Aldeesi, Z., Jamal, W., Rotimi, V., Al-Jardani, A., Al-Abri, S., **Sonnevend, Á.** 2017. Characterization of NDM-7 Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* Isolates in the Arabian Peninsula *Microbiol Drug Res* **23(7)**:871-878 (Q1, IF: 2.306)
- XVIII. Mohsin, J., Pál, T., Petersen, J.E., Darwish, D., Ghazawi, A., Ashraf, T., **Sonnevend, Á.** 2018. Plasmid-Mediated Colistin Resistance Gene *mcr-1* in an *Escherichia coli* ST10 Bloodstream Isolate in the Sultanate of Oman. *Microbiol Drug Res* **24(3)**:278-282. (Q1, IF: 2.306)
- XIX. **Sonnevend, Á.**, Ghazawi, A., Hashmey, R., Haidermota, A., Girgis, S., Alfaresi, M., Omar, M., Paterson, D.L., Zowawi, H.M., Pál, T. 2017. Multi-hospital occurrence of pan-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST147 with an *ISEcp1*-directed *bla*_{OXA-181} insertion into the *mgrB* gene in the United Arab Emirates *Antimicrob Agents Chemother* **61**:e00418-17. (D1, IF: 4.302)
- XX. **Sonnevend, Á.**, Yahfoufi, N., Ghazawi, A., Jamal, W., Rotimi, V., Pál, T. 2017. Contribution of horizontal gene transfer to the emergence of VIM-4 carbapenemase producer *Enterobacteriaceae* in Kuwait *Infect Drug Res.* **10**:469-478 (D1, IF: 3.779)
- XXI. Mutti, M., **Sonnevend, Á.**, Pál, T., Junttila, S., Ekker, H., Galik, B., Gyenesi, A., Nagy, G., Nagy, E., and Szijártó, V. 2018. Complete genome sequence of *Escherichia coli* 81009, a representative of the sequence type 131 C1-M27 clade with multi-drug resistance phenotype. *Genome* **6(8)**:e00056-18. (Q3)
- XXII. Al-Baloushi, A.E., Pál, T., Ghazawi, A., **Sonnevend Á.** 2017. Genetic support of carbapenemases in double carbapenemase producer *Klebsiella pneumoniae* isolated in the Arabian Peninsula *Acta Microbiol hung* **65(2)**:135-150 (Q3, IF:0.921)
- XXIII. Moubareck, C.A., Mouftah, A.F., Pál, T., Ghazawi, A., Halat, D.H., Nabi, A., AlSharhan, M.A., AlDeesi, Z.O., Peters, C.C., Celioglu, H., Sannegowda, M., Sarkis, D.K., **Sonnevend, Á.** 2018. Clonal emergence of *Klebsiella pneumoniae* ST14 co-producing OXA-48-type and NDM carbapenemases with high rate of colistin resistance in Dubai, United Arab Emirates. *Int. J. Antimicrob Agents.* **52(1)**:90-95 (D1, IF: 4.307)
- XXIV. Moufthah, S.F., Pál, T., Drawish, D., Ghazawi, A., Villa, L., Carattoli, A., **Sonnevend, Á.** 2019. Epidemic IncX3 plasmids spreading carbapenemase genes in the United Arab Emirates and worldwide. *Infect Drug Res* **12**:1729–1742 (Q1, IF: 3.443)

- XXV.** Al-Hamad, A., Pál, T., Leskafi, H., Abbas, H., Hejles, H., Alsubikhy, F., Darwish, D., Ghazawi, A., **Sonnevend, Á.** 2020 Molecular characterization of clinical and environmental carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in a hospital of the Eastern Region of Saudi Arabia. *J Infect Publ Health* **13(4)**:632-636 (Q1, IF: 2.487)
- XXVI.** **Sonnevend, Á.**, Ghazawi, A., Darwish, D., Barathan, G., Hashmey, R., Ashraf, Tanveer, A., Rizvi, T., Pál, T. 2020 In vitro efficacy of ceftazidime-avibactam, aztreonam-avibactam and other rescue antibiotics against carbapenem resistant *Enterobacterales* from the Arabian Peninsula. *Int J Inf Dis* **99**:253-259 (Q1, IF: 3.202)
- XXVII.** Mouftah, S.F., Pál, T., Higgins, P.G., Ghazawi, A., Idaghdour, Y., Alqahtani, M., Omrani, A.S., Rizvi, T.A., **Sonnevend, Á.** 2021. Diversity of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* ST14 and emergence of a subgroup with KL64 capsular locus in the Arabian Peninsula. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04384-2> (Q1, IF: 5.103)
- XXVIII.** **Sonnevend, Á.**, Abdulrazzaq, N., Ghazawi, A., Thomsen, J., Bharathan, G., Makszin, L., Rizvi, T.A., Pál, T. 2022. The first nation-wide surveillance of carbapenem resistant *Enterobacterales* in the United Arab Emirates – increased association of *Klebsiella pneumoniae* CC14 clone with Emirati patients *Int J Infect Dis* – **120**:103–112 (D1, IF: 8.4)
- XXIX.** **Sonnevend, Á.**, Alali, W.Q., Mahmoud, S.A., Ghazawi, A., Bharathan, G., Melegh, Sz., Rizvi, T.A., Pál, T. 2022. Molecular Characterization of MCR-1 Producing *Enterobacterales* Isolated in Poultry Farms in the United Arab Emirates *Antibiotics (Basel)* **11(3)**: 305. (Q1, IF: 4.8)
- XXX.** Pál, T., Butt, A.B., Ghazawi, A., Thomsen, J., Rizvi, T.A., **Sonnevend, Á.** 2022. Early Years of Carbapenem-Resistant *Enterobacterales* Epidemic in Abu Dhabi *Antibiotics (Basel)* 2022 **11(10)**: 1435 (Q1, IF: 4.8)

7. A DOKTORI MŰBEN FEL NEM HASZNÁLT KÖZLEMÉNYEK

7.1. A PhD DISSZERTÁCIÓBAN FELDOLGOZOTT KÖZLEMÉNYEK

1. Suerbaum S, Lohrengel M, **Sonnevend A**, Ruberg F, Beuerle B, Kist M. 2001. Allelic diversity and recombination in *Campylobacter jejuni*. *J. Bacteriol.* **183**:2553-2559
2. **Sonnevend A**, Pál T. 2006. Heterogeneity of non-serotypable *Campylobacter jejuni* isolates *Acta Microbiol. Immunol. Hun.* **53**:171-181
3. **Sonnevend A**, Rotimi VO, Kolodziejek J, Usmani A, Nowotny N, Pál T. 2006. High level of ciprofloxacin resistance and its molecular background among *Campylobacter jejuni* strains isolated in the United Arab Emirates. *J Med Microbiol.* **55**:1533-8.

7.2. EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

1. Conlon JM, **Sonnevend A**, Patel M, Camasamudram V, Nowotny N, Zilahi E, Iwamuro S, Nielsen PF, Pal T. 2003. A melittin-related peptide from the skin of the Japanese frog, *Rana tagoi*, with antimicrobial and cytolytic properties. *Biochem Biophys Res Commun.* **306**:496-500.
2. Conlon JM, **Sonnevend A**, Patel M, Davidson C, Nielsen PF, Pal T, Rollins-Smith LA. 2003. Isolation of peptides of the brevinin-1 family with potent candidacidal activity from the skin secretions of the frog *Rana boylei*. *J Pept Res.* **62**:207-13.
3. **Sonnevend A**, Knoop FC, Patel M, Pal T, Soto AM, Conlon JM. 2004. Antimicrobial properties of the frog skin peptide, ranatuerin-1 and its [Lys-8]-substituted analog. *Peptides* **25**:29-36.
4. Conlon JM, **Sonnevend A**, Patel M, Al-Dhaheri K, Nielsen PF, Kolodziejek J, Nowotny N, Iwamuro S, Pal T. 2004. A family of brevinin-2 peptides with potent activity against *Pseudomonas aeruginosa* from the skin of the Hokkaido frog, *Rana pirica*. *Regul Pept.* **118**:135-41.
5. Conlon JM, **Sonnevend A**, Davidson C, Smith DD, Nielsen PF. 2004. The ascaphins: a family of antimicrobial peptides from the skin secretions of the most primitive extant frog, *Ascaphus truei*. *Biochem Biophys Res Commun.* **320**:170-5.
6. Bevier CR, **Sonnevend A**, Kolodziejek J, Nowotny N, Nielsen PF, Conlon JM. 2004. Purification and characterization of antimicrobial peptides from the skin secretions of the mink frog (*Rana septentrionalis*). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* **139**:31-8.
7. Conlon JM, **Sonnevend A**, Davidson C, Demandt A, Jouenne T. 2005. Host-defense peptides isolated from the skin secretions of the Northern red-legged frog *Rana aurora aurora*. *Dev Comp Immunol.* **29**:83-90.
8. Rollins-Smith LA, King JD, Nielsen PF, **Sonnevend A**, Conlon JM. 2005. An antimicrobial peptide from the skin secretions of the mountain chicken frog *Leptodactylus fallax* (Anura:Leptodactylidae). *Regul Pept.* **124**:173-8.
9. Conlon JM, **Sonnevend A**, Jouenne T, Coquet L, Cosquer D, Vaudry H, Iwamuro S. 2005. A family of acyclic brevinin-1 peptides from the skin of the Ryukyu brown frog *Rana okinavana*. *Peptides* **26**:285-90.

10. Kerényi, M., Allison, H.E., Bártai, I., Sonnevend, A, Emődy, L., Plavetczky, N., Pál, T. 2005. Occurrence of *hlyA* and *sheA* genes in extraintestinal *Escherichia coli* strains. *J Clin Microbiol.* **43**:2965-8.
11. Pál, T, Sonnevend, A, Galadari, S., and Conlon, J.M. 2005. Design of potent, non-toxic antimicrobial agents based upon the structure of the frog skin peptide, pseudin-2. *Regul Pept.* **129**:85-91.
12. Szabó, E., Skedsmo, A., Sonnevend, Á., Al-Dhaferi, K., Emődy, L., Usmani, A., Pál, T. 2005. Curli expression of enterotoxigenic *Escherichia coli* *Folia Microbiologica* **50**:40-6.
13. Conlon JM, Abraham B, Galadari S, Knoop FC, **Sonnevend A**, Pal T. 2005. Antimicrobial and cytolytic properties of the frog skin peptide, kassinatuerin-1 and its l- and d-lysine-substituted derivatives. *Peptides.* **26**:2104-10.
14. Conlon JM, Abraham B, **Sonnevend A**, Jouenne T, Cosette P, Leprince J, Vaudry H, Bevier CR. 2005. Purification and characterization of antimicrobial peptides from the skin secretions of the carpenter frog *Rana virgatipes* (*Ranidae, Aquarana*) *Regul Pept.* **131**:38-45.
15. King JD, Al-Ghaferi, Abraham B, **Sonnevend A**, Leprince J, Nielsen PF, Conlon JM. 2005. Pentadactylin: an antimicrobial peptide from the skin secretions of the South American bullfrog *Leptodactylus pentadactylus*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* **141**:393-7.
16. **Sonnevend A**, Czirók É, Pál T. 2005. Yersinia Yop-specific IgA antibodies in Hungarian blood donors *Folia Microbiologica* **50**:269-272
17. Conlon JM, Al-Ghaferi N, Abraham B, **Sonnevend A**, Coquet L, Leprince J, Jouenne T, Vaudry H, Iwamuro S. 2006. Antimicrobial peptides from the skin of the *Tsushima* brown frog *Rana tsushimensis*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* **143**:42-49
18. Pál T, Abraham B, **Sonnevend A**, Jumaa P and Conlon JM. 2006. Brevinin-1BYa: a naturally occurring peptide from frog skin with broad spectrum anti-bacterial and anti-fungal properties. *Int.J.Antimicrob.Agents* **27**:525-529
19. Conlon JM, Al-Ghaferi N, Abraham B, **Sonnevend A**, King JD, Nielsen PF. 2006. Purification and properties of laticeptin, an antimicrobial peptide from skin secretions of the Santa Fe frog *Leptodactylus laticeps* . *Protein and Peptide Letters* **13**:355-359.
20. Urban E, Nagy E, Pal T, **Sonnevend A**, Conlon JM. 2007. Activities of four frog skin-derived antimicrobial peptides (temporin-1DRa, temporin-1Va and the melittin-related peptides AR-23 and RV-23) against anaerobic bacteria. *Int J Antimicrob Agents.* **29**:317-21.
21. Conlon JM, **Sonnevend A**. 2010. Antimicrobial peptides in frog skin secretions. *Methods Mol Biol.* **618**:3-14.
22. Conlon JM, Ahmed E, Pal T, **Sonnevend A**. 2010. Potent and rapid bactericidal action of alyteserin-1c and its [E4K] analog against multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *Peptides.* **31**:1806-10.
23. Hossain MA, Guilhaudis L, **Sonnevend A**, Attoub S, van Lierop BJ, Robinson AJ, Wade JD, Conlon JM. 2011. Synthesis, conformational analysis and biological properties of a dicarba derivative of the antimicrobial peptide, brevinin-1BYa. *Eur Biophys J.* **40**:555-64.
24. Conlon JM, **Sonnevend A**. 2011. Clinical applications of amphibian antimicrobial peptides *J Medical Sciences* **4**:40-46
25. **Sonnevend A**, Kovács J, Pál T, Akawi N, Nagelkerke N, Schneider G. 2011. Lack of correlation between the C257-to-T mutation in the *gyrA* gene and clinical severity of *Campylobacter jejuni* infection in a region of high incidence of ciprofloxacin resistance *Scand J Infect Dis.* **43**:905-11.
26. **Sonnevend A**, Blair I, Alkaabi M, Jumaa P , al Haj M, Ghazawi A , Akawi N, Jouhar FS, Hamadeh MB, Pál T. 2012. The change in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

- clones at a tertiary care hospital in the United Arab Emirates over a five-year *period* *J Clinical Pathology* **65**:178-82
27. Conlon JM, **Sonnevend A**, Pal T, Vila-Fares X. 2012. Efficacy of six frog skin-derived antimicrobial peptides against colistin-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agent* **39**:317-20.
 28. Conlon JM, Mechkarska M, Arafat K, Attoub S, **Sonnevend A**. 2012. Analogues of the frog skin peptide alyteserin-2a with enhanced antimicrobial activities *J Pept Science* **18(4)**:270-5.
 29. Conlon JM, Mechkarska M, Prajeep M, **Sonnevend A**, Coquet L, Leprince J, Jouenne T, Vaudry H, King JD. 2012. Host-defense peptides in skin secretions of the tetraploid frog *Silurana epittropicalis* with potent activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *Peptides* **37**:113-9.
 30. Attoub S, Mechkarska M, **Sonnevend A**, Radosavljevic G, Jovanovic I, Lukic ML, Conlon JM. 2013. Esculentin-2CHa: a host-defense peptide with differential cytotoxicity against bacteria, erythrocytes and tumor cells *Peptides* **39**:95-102.
 31. Mechkarska M, Prajeep M, Radosavljevic GD, Jovanovic IP, Al-Baloushi A, **Sonnevend A**, Lukic ML, Conlon JM. 2013. An analog of the host-defense peptide hymenochirin-1B with potent broad-spectrum activity against multidrug-resistant bacteria and immunomodulatory properties *Peptides* **50**:153-9.
 32. Stulik L, Malafa S, Hudcova J, Rouha H, Henics BZ, Craven DE, **Sonnevend A**, Nagy E. 2014. α -Hemolysin Activity of Methicillin-Susceptible *S. aureus* Predicts Ventilator-Associated Pneumonia. *Am J Resp Critical Care Medicine* **190**:1139-48.
 33. Guachalla LM, Ramoni K, Varga C, Mutti M, Ghazawi A, Pál T, Nagy E, **Sonnevend Á**, Nagy G, Szijártó V. 2018. Retained activity of an O25b specific monoclonal antibody against Mcr-1 producing *Escherichia coli* ST13. *Antimicrob Agents Chemother.* **62(7)**. pii: e00046-18
 34. Al Alkeem F, Loney T, Aziz F, Blair I, **Sonnevend Á**, Sheek-Hussein M. 2019. Prevalence and factors associated with infectious intestinal diseases in Ras Al Khaimah, United Arab Emirates, 2017: A population-based cross-sectional study *Int J Infect Dis* **85**:188-194.
 35. Mutuku C, Melegh S, Kovacs K, Urban P, Virág E, Heninger R, Herczeg R, **Sonnevend Á**, Gyenesei A, Fekete C, Gazdag Z. 2022. Characterization of β -Lactamases and Multidrug Resistance Mechanisms in *Enterobacterales* from Hospital Effluents and Wastewater Treatment Plant. *Antibiotics* (Basel). **11(6)**:776. doi:10.3390/antibiotics11060776. PMID: 35740182
 36. Kovács K, Nyul A, Lutz Z, Mestyán G, Gajdács M, Urbán E, **Sonnevend Á**. 2022. Incidence and Clinical Characteristics of Anaerobic Bacteremia at a University Hospital in Hungary: A 5-Year Retrospective Observational Study. *Antibiotics* (Basel). **11(10)**:1326. doi: 10.3390/antibiotics11101326. PMID:36289984

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsősorban is hálás köszönetem Dr. Czirók Évának, aki a klinikai mikrobiológián túl elindított kutatói pályámon.

Mélységesen hálás vagyok Prof. Miodrag Lukic-nak, aki munkatársnak alkalmazott az Egyesült Arab Emírátsok Egyetemén. Az ő kezdeti támogatása elengedhetetlen volt a dolgozathoz vezető kutatásokhoz.

Köszönöm az emírátsusi, kuvaiti, ománi, bahreini és szaúd-arábiai, valamint a bécsi, baltimore-i, római, kölni, firenzei, edinbourgh-i, pécsi és budapesti kutató és klinikus kollégáknak: Prof. Michael Conlon-nak, Prof. Norbert Nowotny-nak, Dr. Pauline Jumaa-nak, Dr. Martin Pitout-nak, Dr. Rayhan Hashmey-nak, Dr. Jens Thompsen-nek, Dr. Stefan Weber-nek, Dr. Nihar Dash-nak, Dr. Najiba Abdulrazack-nak, Dr. Carole A. Moubareck-nek, Dr. Youssef Idaghdour-nak, Prof. Wafaa Jamal-nak, Prof. Vincent Rotimi-nek, Prof. Manaf Al-Qahtani-nak, Dr. Jalila Mohsin-nak, Dr. Seif Al-Abri-nak, Prof. Eskild Petersen-nek, Prof. Atef Shibl-nek, Dr. Arif Al-Hamad-nak, Dr. Ali Omrani-nak, Dr. Szijártó Valériának, Dr. Nagy Gábornak, Dr. Pranita Tamma-nak, Prof. Alessandra Carattoli-nak, Prof. Gian Maria Rossolini-nek, Dr. Paul Higgins-nek, Dr. Andres Opazo-nak, Prof. Sebastian Amyes-nek, Dr. Melegh Szilviának, Dr. Herpay Máriának és Dr. Mag Tündének a közös munka lehetőségét.

Nagy hálával tartozom a Dr. Akela Ghazawi-nak a laboratóriumi munkában nyújtott rengeteg technikai segítségéért. Köszönet Mohammed Al-Hajnak laboratóriumi munkájáért. Hálás köszönetem Prof. Farah Mustafá-nak és Prof. Tahir Rizvi-nek a molekuláris biológiai munkákban adott észrevételeikért, tanácsaikért. Köszönettel tartozom emírátsusi MSc és PhD hallgatóimnak, Somaya M. Farag-nak, Dania Darvich-nak, Sara M. Ali-nak, Noura Al-Zarouni-nak, Amna Al-Baloushi-nak és Shaimaa F. Mouftah-nak a kísérletekbe fektetett energiáért és figyelemért.

Hálásan köszönöm a PTE Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet Bakteriológiai és Kórházhigiénés Laboratóriumában dolgozó minden munkatársamnak, valamint jelenlegi PhD hallgatóimnak a dolgozat írása alatt mutatott türelmüket, segítségüket és megértésüket.

Köszönöm az Egyesült Arab Emírátsok Egyetemének, az Egyetem Orvoskarának, a UAE National Research Foundation-nak, a Terry Fox Foundation-nak, és az MSD, Pfizer és Becton

Dickinson cégeknek, illetve a PTE ÁOK Kispál Gyula ösztöndíjának, hogy munkámat vezető, illetve társkutatóként támogatták.

Nem lehetek elég hálás családomnak: édesanyámnak és édesapámnak, testvéremnek és családjának, gyermekeimnek, Borbálának, ifjabb Tibornak és az ő családjának, hogy az évek során elfogadták távollétemet, a munkára - és nem rájuk - fordított energiámat, ily módon járulva hozzá a dolgozat létrejöttéhez.

Végül, de nem utolsósorban, mérhetetlenül hálás vagyok férjemnek, Tibornak, aki mind a kutatómunkában, mind a magánéletben társként segített, akinek soha nem szűnő biztatása, esetenként nógatása nélkül sem kutatóvá nem váltam volna, sem ez az értekezés, vagy az alapjául szolgáló közlemények nem születtek volna meg.

9. IRODALOM

1. Britannica. Arabia. (<https://www.britannica.com/place/Arabia-peninsula-Asia/Land>)
2. Wikipedia. Arab-félsziget. (<https://hu.wikipedia.org/wiki/Arab-f%C3%A9lsziget>).
3. HarryTurtledoveWiki. Arabian Peninsula. (Food and Drug Administration Food and Drug Administration).
4. Guideoftheworld. United Arab Emirates Regions Map. (<https://www.guideoftheworld.com/united-arab-emirates-map.html>).
5. CIA. The World Factbook. (<https://www.cia.gov/the-world-factbook/>).
6. GoGlobe. Expats in Middle East — Statistics and Trends. (<https://go-globe.ae/expats-middle-east/>).
7. Gödri I, Horváth, V. Nemzetközi vándorlás. In: Monostori J, Óri, P., Spéder Zs., ed. Demográfiai portré 2021. Budapest, Hungary 2021:227-250.
8. WorldBank. GDP per capita. (https://data.worldbank.org/indicator/NY.GDP.PCAP.PP.CD?year_high_desc=true).
9. UAEgovernment. The seven emirates. (<https://u.ae/en/about-the-uae/the-seven-emirates>).
10. GMIblogger. United Arab Emirates Population Statistics 2022. (<https://www.globalmediainsight.com/blog/uae-population-statistics/#uae2022>).
11. Statista. 2023. (<https://statista.com>).
12. Theglobaleconomy.com. Tourist arrivals - Country rankings. (https://www.theglobaleconomy.com/rankings/tourist_arrivals/).
13. OAG. Which is the Busiest Airport in the World? (<https://www.oag.com/busiest-airports-world>).
14. Armand-Lefevre L, Andremont A, Ruppe E. 2018. Travel and acquisition of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Med Mal Infect* **48(7)**:431-441.
15. Hassing RJ, Alsma J, Arcilla MS, et al. 2015. International travel and acquisition of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*: a systematic review. *Euro Surveill* **20(47)**.
16. Kantele A, Laaveri T, Mero S, et al. Antimicrobials increase travelers' risk of colonization by extended-spectrum betalactamase-producing *Enterobacteriaceae*. 2015. *Clin Infect Dis* **60(6)**:837-846.
17. Arcilla MS, van Hattem JM, Haverkate MR, et al. 2017. Import and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* by international travellers (COMBAT study): a prospective, multicentre cohort study. *Lancet Infect Dis* **17(1)**:78-85.
18. Ruppe E, Andremont A, Armand-Lefevre L. 2018. Digestive tract colonization by multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* in travellers: An update. *Travel Med Infect Dis* **21**:28-35.
19. Paulo MS, Loney T, Lapao LV. 2019. How do we strengthen the health workforce in a rapidly developing high-income country? A case study of Abu Dhabi's health system in the United Arab Emirates. *Hum Resour Health* **17(1)**:9.
20. WHO. The Global Health Observatory. (<https://www.who.int/data/gho/data/countries/country-details/GHO/hungary?countryProfileId=d811d7c6-e11c-4595-a1c9-52a7bdf988e7>).
21. Koornneef E, Robben P, Blair I. 2017. Progress and outcomes of health systems reform in the United Arab Emirates: a systematic review. *BMC Health Serv Res* **17(1)**:672.
22. MOHAP. Health Statistics - 2019 Manpower & Services Certified. Ministry of Health and Prevention, UAE, 2021. (<https://mohap.gov.ae/en/open-data/mohap-open-data>).
23. Hannawi S, Al Salmi I. Health workforce in the United Arab Emirates: analytic point of view. 2014. *Int J Health Plann Manage* **29(4)**:332-41.
24. MOHAP. UAE National Health Workforce Account (NHWA). Report 2019-2020. 2021. (<https://mohap.gov.ae/en/open-data/mohap-open-data>).
25. Abou-Shaaban M, Ali AA, Rao PG, Majid A. 2016. Drug utilization review of cephalosporins in a secondary care hospital in United Arab Emirates. *Int J Clin Pharm* **38(6)**:1367-1371.
26. Sharif S, Al-Shaqra M, Hajjar H, et al. 2008. Patterns of drug prescribing in a hospital in Dubai, United Arab Emirates. *Libyan J Med* **3(1)**:10-12.
27. Alshehhi HS, Ali AA, Jawhar DS, et al. 2021. Assessment of implementation of antibiotic stewardship program in surgical prophylaxis at a secondary care hospital in Ras Al Khaimah, United Arab Emirates. *Sci Rep* **11(1)**:1042.
28. Mahmood RK, Gillani SW, Saeed MW, et al. 2020. Systematic Review: Study of the Prescribing Pattern of Antibiotics in Outpatients and Emergency Departments in the Gulf Region. *Front Pharmacol* **11**:585051.
29. Alothman A, Al Thaqafi A, Al Ansary A, et al. Prevalence of infections and antimicrobial use in the acute-care hospital setting in the Middle East: Results from the first point-prevalence survey in the region. 2020. *Int J Infect Dis* **101**:249-258.
30. Nasef R, El Lababidi R, Alatoom A, et al. 2020. The Impact of Integrating Rapid PCR-Based Blood Culture Identification Panel to an Established Antimicrobial Stewardship Program in the United Arab of Emirates. *Int J Infect Dis* **91**:124-128.

31. Sadeq AA, Shamseddine JM, Babiker ZOE, et al. 2021. Impact of Multidisciplinary Team Escalating Approach on Antibiotic Stewardship in the United Arab Emirates. *Antibiotics* (Basel) **10**(11).
32. Alnajjar MS, Aldeyab MA, Scott MG, et al. 2019. Influence of primary care antibiotic prescribing on incidence rates of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalised patients. *Infection* **47**(5):781-791.
33. John LJ, Cherian M, Sreedharan J, Cherian T. 2014. Patterns of antimicrobial therapy in acute tonsillitis: A cross-sectional hospital-based study from UAE. *An Acad Bras Cienc* **86**(1):451-457.
34. Al-Saleh S, Abu Hammour K, Abu Hammour W. 2020. Influencing factors of knowledge, attitude, and practice regarding antibiotic use in children with upper respiratory tract infections in Dubai. *J Eval Clin Pract* **26**(1):197-202.
35. Abasaheed AE, Vlcek J, Abuelkhair MA, et al. 2013. A comparative study between prescribed and over-the-counter antibiotics. *Saudi Med J* **34**(10):1048-1054.
36. Dameh M, Green J, Norris P. 2010. Over-the-counter sales of antibiotics from community pharmacies in Abu Dhabi. *Pharm World Sci* **32**(5):643-650.
37. Abdulrahman Jairoun A, Saleh Al-Hemyari S, Jairoun M. 2020. Antibiotics dispensing between legal idealism and implementation: Closing the implementation gap between local regulation and practice. *Res Social Adm Pharm* **16**(9):1328-1329.
38. Shehnaz SI, Agarwal AK, Khan N. A systematic review of self-medication practices among adolescents. 2014. *J Adolesc Health* **55**(4):467-483.
39. Shehnaz SI, Khan N, Sreedharan J, et al. 2013. Self-medication and related health complaints among expatriate high school students in the United Arab Emirates. *Pharm Pract (Granada)* **11**(4):211-218.
40. Abasaheed A, Vlcek J, Abuelkhair M, Kubena A. 2009. Self-medication with antibiotics by the community of Abu Dhabi Emirate, United Arab Emirates. *J Infect Dev Ctries* **3**(7):491-497.
41. Abduekarem AR, Othman AM, Abuelkhair ZM, et al. 2019. Prevalence Of Self-Medication With Antibiotics Among Residents In United Arab Emirates. *Infect Drug Resist* **12**:3445-3453.
42. Jamsheer A, Rafay AM, Daoud Z, et al. 2016. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2011-13 in the Gulf States. *J Antimicrob Chemother* **71** Suppl 1:i45-61.
43. Aly M, Balkhy HH. 2012. The prevalence of antimicrobial resistance in clinical isolates from Gulf Corporation Council countries. *Antimicrob Resist Infect Control* **1**(1):26.
44. Al-Hattawi K, Ison CA. 1996. Characteristics of gonococci isolated from men with urethritis in Dubai. *Epidemiol Infect* **116**(1):15-20.
45. Senok A, Al-Zarouni M, Al-Najjar J, et al. 2007. Antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* isolates in the United Arab Emirates: 2004-2006. *J Infect Dev Ctries* **1**(3):296-302.
46. Jumaa PA, Hateley PM, Bacon S, et al. 2007. Experience applying the UK meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) guidelines in a tertiary referral hospital in the United Arab Emirates 1999-2002: same guidelines, different cultures. *J Hosp Infect* **67**(4):323-328.
47. Al-Zarouni M, Senok A, Rashid F, et al. 2008. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in the United Arab Emirates. *Med Princ Pract* **17**(1):32-36.
48. Sonnevend A, Blair I, Alkaabi M, et al. 2012. Change in meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones at a tertiary care hospital in the United Arab Emirates over a 5-year period. *J Clin Pathol* **65**(2):178-182.
49. Alfaresi MS, Elkoush AA, Alshehhi HM, Abdulsalam AI. 2011. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in the United Arab Emirates. *Med Princ Pract* **20**(2):177-180.
50. Al-Zarouni M, Senok A, Al-Zarooni N, et al. 2012. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: in vitro susceptibility to fosfomycin, nitrofurantoin and tigecycline. *Med Princ Pract* **21**(6):543-7.
51. Al-Muhairi S, Zoubeidi T, Ellis M, et al. 2006. Demographics and microbiological profile of pneumonia in United Arab Emirates. *Monaldi Arch Chest Dis* **65**(1):13-18.
52. Narchi H, Al-Hamdan MA. 2010. Antibiotic resistance trends in paediatric community-acquired first urinary tract infections in the United Arab Emirates. *East Mediterr Health J* **16**(1):45-50.
53. Alatoon A, Elsayed H, Lawlor K, et al. 2017. Comparison of antimicrobial activity between ceftolozane-tazobactam and ceftazidime-avibactam against multidrug-resistant isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Infect Dis* **62**:39-43.
54. Trad O, Jumaa PA, Afify Z. 2003. The changing pattern of bloodstream infection in pediatric oncology patients in the United Arab Emirates. *Pediatr Hematol Oncol* **20**(4):281-289.
55. Al Jalaf M, Fadali H, Alanee R, et al. 2018. Methicillin resistant *Staphylococcus Aureus* in emergency department patients in the United Arab Emirates. *BMC Emerg Med* **18**(1):12.
56. Al-Kaabi MR, Tariq WU, Hassanein AA. 2011. Rising bacterial resistance to common antibiotics in Al Ain, United Arab Emirates. *East Mediterr Health J* **17**(6):479-484.
57. McCormack JG, Barnes M. 1983. Nosocomial infections in a developing Middle East hospital. *Infect Control* **4**(5):391-395.

58. Damjanovic V, Furtado M, Patmore M. 1984. Antibiotic sensitivity of enteropathogenic bacteria isolated from patients in a Sharjah hospital. *J Hyg (Lond)* **92(2)**:205-208.
59. Jumaa PA, Neringer R. 2005. A survey of antimicrobial resistance in a tertiary referral hospital in the United Arab Emirates. *J Chemother* **17(4)**:376-379.
60. Al-Dhaheeri AS, Al-Niyadi MS, Al-Dhaheeri AD, Bastaki SM. 2009. Resistance patterns of bacterial isolates to antimicrobials from 3 hospitals in the United Arab Emirates. *Saudi Med J* **30(5)**:618-623.
61. Zowawi HM, Balkhy HH, Walsh TR, Paterson DL. 2013. beta-Lactamase production in key gram-negative pathogen isolates from the Arabian Peninsula. *Clin Microbiol Rev* **26(3)**:361-380.
62. Bindayna K, Khanfar HS, Senok AC, Botta GA. 2010. Predominance of CTX-M genotype among extended spectrum beta lactamase isolates in a tertiary hospital in Saudi Arabia. *Saudi Med J* **31(8)**:859-863.
63. Al-Agamy MH, Shibl AM, Tawfik AF. 2009. Prevalence and molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Riyadh, Saudi Arabia. *Ann Saudi Med* **29(4)**:253-257.
64. Al-Obeid S, Bremont S, Jabri L, et al. 2008. *Klebsiella pneumoniae* LO10 producing extended-spectrum beta-lactamase SHV-12 in Saudi Arabia. *J Chemother* **20(6)**:709-713.
65. Tawfik AF, Alswailem AM, Shibl AM, Al-Agamy MH. 2011. Prevalence and genetic characteristics of TEM, SHV, and CTX-M in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Saudi Arabia. *Microb Drug Resist* **17(3)**:383-388. .
66. Potron A, Poirel L, Elhag K, et al. 2009. VEB-6 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Proteus mirabilis* from Sultanate of Oman. *Int J Antimicrob Agents* **34(5)**:493-494.
67. Dashti AA, Jadaon MM, Gomaa HH, et al. 2010. Transmission of a *Klebsiella pneumoniae* clone harbouring genes for CTX-M-15-like and SHV-112 enzymes in a neonatal intensive care unit of a Kuwaiti hospital. *J Med Microbiol* **59(Pt 6)**:687-692.
68. Al Sweih N, Al Hashem G, Jamal W, Rotimi V. 2010. National surveillance of antimicrobial susceptibility of CTX-M-positive and -negative clinical isolates of *Escherichia coli* from Kuwait government hospitals. *J Chemother* **22(4)**:254-258.
69. Ensor VM, Jamal W, Rotimi VO, et al. 2009. Predominance of CTX-M-15 extended spectrum beta-lactamases in diverse *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from hospital and community patients in Kuwait. *Int J Antimicrob Agents* **33(5)**:487-489.
70. Al Hashem G, Al Sweih N, Jamal W, Rotimi VO. 2011. Sequence analysis of *bla*_(CTX-M) genes carried by clinically significant *Escherichia coli* isolates in Kuwait hospitals. *Med Princ Pract* **20(3)**:213-219.
71. Ranjan Dash N, Albataineh MT, Alhourani N, et al. 2018. Community-acquired urinary tract infections due to extended-spectrum beta -lactamase-producing organisms in United Arab Emirates. *Travel Med Infect Dis* **22**:46-50.
72. Kader AA, Kumar AK. 2004. Prevalence of extended spectrum beta-lactamase among multidrug resistant gram-negative isolates from a general hospital in Saudi Arabia. *Saudi Med J* **25(5)**:570-574.
73. Guerin F, Henegar C, Spiridon G, et al. 2005. Bacterial prostatitis due to *Pseudomonas aeruginosa* harbouring the *bla*_{VIM-2} metallo-β-lactamase gene from Saudi Arabia. *J Antimicrob Chemother* **56(3)**:601-602.
74. Mugnier P, Poirel L, Pitout M, Nordmann P. 2008. Carbapenem-resistant and OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* isolates in the United Arab Emirates. *Clin Microbiol Infect* **14(9)**:879-882.
75. Jamal W, Rotimi VO, Albert MJ, et al. 2011. Emergence of nosocomial New Delhi metallo-beta-lactamase-1 (NDM-1)-producing *Klebsiella pneumoniae* in patients admitted to a tertiary care hospital in Kuwait. *Int J Antimicrob Agents* **39(2)**:183-184.
76. Poirel L, Carbonnelle E, Bernabeu S, et al. 2012. Importation of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* from Kuwait. *J Antimicrob Chemother* **67(8)**:2051-2052.
77. Poirel L, Al Maskari Z, Al Rashdi F, et al. 2011. NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated in the Sultanate of Oman. *J Antimicrob Chemother* **66(2)**:304-306.
78. Dortet L, Poirel L, Al Yaqoubi F, Nordmann P. 2012. NDM-1, OXA-48 and OXA-181 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Sultanate of Oman. *Clin Microbiol Infect* **18(5)**:E144-148.
79. Mugnier PD, Bindayna KM, Poirel L, Nordmann P. 2009. Diversity of plasmid-mediated carbapenem-hydrolysing oxacillinases among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Kingdom of Bahrain. *J Antimicrob Chemother* **63(5)**:1071-1073.
80. DOH. Selected Annual Trends for Antimicrobial Resistance in Abu Dhabi Emirate. 2017. (7-9) (<https://www.doh.gov.ae/en/resources/publications>).
81. EUCAST. EUCAST System for Antimicrobial Abbreviations. 2018. (https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Disk_abbreviations/EUCAST_system_for_antimicrobial_abbreviations.pdf)
82. MOHAP. Surveillance of Antimicrobial Resistance Annual Report 2019. National AMR Surveillance Report. Abu Dhabi: United Arab Emirates Ministry of Health and Prevention, 2021. (<https://mohap.gov.ae/assets/e9d46624/nationalreport-amr-surveillanceuae%202019mohap.pdf.aspx>)

83. Tsuji BT, Pogue JM, Zavascki AP, et al. 2019. International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins: Endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA), International Society for Anti-infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP). *Pharmacotherapy* **39(1)**:10-39.
84. WHO. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report 2021. World Health Organization, 2021. (<https://www.who.int/publications/i/item/9789240027336>).
85. MOH Oman. Oman antimicrobial resistance surveillance system (OMASS) report: 2017. 2018. (<https://www.moh.gov.om/documents/236878/0/OMASS+2017/ca052ace-691a-1919-7b96-41f79539660a>).
86. General Directorate. Summary Report of Antibiogram Data from MOH Hospitals (2017). 2017. (<https://gdipc.sa/wp-content/uploads/2021/05/Antibiogram-report-2017-1.pdf>).
87. Balkhy HH, Assiri AM, Mousa HA, et al. 2016. The strategic plan for combating antimicrobial resistance in Gulf Cooperation Council States. *J Infect Public Health* **9(4)**:375-385.
88. Mohammed S. Vision 2021, UAE. (<https://www.vision2021.ae/en>).
89. Ministry of Health and Prevention U. National Strategy and Action Plan for Combatting Antimicrobial Resistance (NAP-AMR). 2019. (https://cdn.who.int/media/docs/default-source/antimicrobial-resistance/amr-spc-npm/nap-library/uae_nap-amr-english.pdf?sfvrsn=83bb9e84_1&download=true)
90. Director General. Emergence of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE). Circular No. DG 46/13. In: Chief Executive Officer Health Authority Abu Dhabi UAE, ed. 2013.
91. Martínez-Murcia AJ, Acinas, S.G., Rodríguez-Valera, F. 1955. Evaluation of prokaryotic diversity by restrictase digestion of 16S rDNA directly amplified from hypersaline environments *FEMS Microbiol Ecol* **17**:247-256.
92. Watanabe K, Kodama Y, Harayama S. 2001. Design and evaluation of PCR primers to amplify bacterial 16S ribosomal DNA fragments used for community fingerprinting. *J Microbiol Methods* **44(3)**:253-262.
93. Al-Hamad A, Maxwell S. 2008. How clean is clean? Proposed methods for hospital cleaning assessment. *J Hosp Infect* **70(4)**:328-334.
94. Alali WQ, Thakur S, Berghaus RD, et al. 2010. Prevalence and distribution of Salmonella in organic and conventional broiler poultry farms. *Foodborne Pathog Dis* **7(11)**:1363-1371.
95. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement M100-S22. In: Institute CaLS, ed. Vol. 32. No. 3. 2012.
96. EUCAST. Clinical breakpoint table v.5.0. 2015. (https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents)
97. EUCAST. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E) As recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group 2016. (https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf)
98. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Steering C. 2006. EUCAST technical note on tigecycline. *Clin Microbiol Infect* **12(11)**:1147-1149.
99. Wyeth Pharmaceutical Inc. Tygacil package insert. 2010. (https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/021821s021lbl.pdf)
100. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, et al. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* **18(3)**:268-281.
101. Rafailidis PI, Kofteridis D. 2022. Proposed amendments regarding the definitions of multidrug-resistant and extensively drug-resistant bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther* **20(2)**:139-146.
102. Zou L, Meng J, McDermott PF, et al. 2014. Presence of disinfectant resistance genes in *Escherichia coli* isolated from retail meats in the USA. *J Antimicrob Chemother* **69(10)**:2644-2649.
103. Cohen Stuart J, Leverstein-Van Hall MA, Dutch Working Party on the Detection of Highly Resistant M. 2010. Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. *Int J Antimicrob Agents* **36(3)**:205-210.
104. van der Zwaluw K, de Haan A, Pluister GN, et al. 2015. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PLoS One* **10(3)**:e0123690.
105. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 29th edition. Wayne, PA, USA: Clinical Laboratory Standard Institution; 2019.
106. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. 2012. Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis* **18(9)**:1503-1507.
107. Carlone GM, Thomas ML, Rumschlag HS, Sottnek FO. 1986. Rapid microprocedure for isolating detergent-insoluble outer membrane proteins from *Haemophilus* species. *J Clin Microbiol* **24(3)**:330-332.
108. Fraser CM, Fleischmann RD. 1997. Strategies for whole microbial genome sequencing and analysis. *Electrophoresis* **18(8)**:1207-1216.

109. Cao V, Lambert T, Nhu DQ, et al. 2002. Distribution of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Vietnam. *Antimicrob Agents Chemother* **46(12)**:3739-3743.
110. Mugnier PD, Poirel L, Nordmann P. 2009. Functional analysis of insertion sequence ISAbal1, responsible for genomic plasticity of *Acinetobacter baumannii*. *J Bacteriol* **191(7)**:2414-2418.
111. Perez-Perez FJ, Hanson ND. 2002. Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol* **40(6)**:2153-2162.
112. Libisch B, Poirel L, Lepsanovic Z, et al. 2008. Identification of PER-1 extended-spectrum beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates of the international clonal complex CC11 from Hungary and Serbia. *FEMS Immunol Med Microbiol* **54(3)**:330-338.
113. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. 2011. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis* **70(1)**:119-123.
114. Poirel L, Dortet L, Bernabeu S, Nordmann P. 2011. Genetic features of *bla*_{NDM-1}-positive *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother* **55(11)**:5403-5407.
115. Poirel L, Potron A, Nordmann P. 2012. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother* **67(7)**:1597-1606.
116. Potron A, Nordmann P, Lafeuille E, et al. 2011. Characterization of OXA-181, a carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactamase from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* **55(10)**:4896-4899.
117. Turton JF, Kaufmann ME, Warner M, et al. 2004. A prevalent, multiresistant clone of *Acinetobacter baumannii* in Southeast England. *J Hosp Infect* **58(3)**:170-179.
118. Turton JF, Woodford N, Glover J, et al. 2006. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the *bla*_{OXA-51-like} carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol* **44(8)**:2974-2976.
119. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, et al. 2006. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents* **27(4)**:351-353.
120. Evans BA, Hamouda A, Towner KJ, Amyes SG. 2008. OXA-51-like beta-lactamases and their association with particular epidemic lineages of *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect* **14(3)**:268-275.
121. Lartigue MF, Poirel L, Nordmann P. 2004. Diversity of genetic environment of *bla*_(CTX-M) genes. *FEMS Microbiol Lett* **234(2)**:201-207.
122. Segal H, Garny S, Elisha BG. 2005. Is IS(ABA-1) customized for *Acinetobacter*? *FEMS Microbiol Lett* **243(2)**:425-429.
123. Bercot B, Poirel L, Nordmann P. 2011. Updated multiplex polymerase chain reaction for detection of 16S rRNA methylases: high prevalence among NDM-1 producers. *Diagn Microbiol Infect Dis* **71(4)**:442-445.
124. Davis MA, Baker KN, Orfe LH, Shah DH, Besser TE, Call DR. 2010. Discovery of a gene conferring multiple-aminoglycoside resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* **54(6)**:2666-2669.
125. Hidalgo L, Hopkins KL, Gutierrez B, et al. 2013. Association of the novel aminoglycoside resistance determinant RmtF with NDM carbapenemase in *Enterobacteriaceae* isolated in India and the UK. *J Antimicrob Chemother* **68(7)**:1543-1550.
126. Fritsche TR, Castanheira M, Miller GH, et al. 2008. Detection of methyltransferases conferring high-level resistance to aminoglycosides in enterobacteriaceae from Europe, North America, and Latin America. *Antimicrob Agents Chemother* **52(5)**:1843-1845.
127. Han HS, Koh YJ, Hur JS, Jung JS. 2004. Occurrence of the strA-strB streptomycin resistance genes in *Pseudomonas* species isolated from kiwifruit plants. *J Microbiol* **42(4)**:365-368.
128. Clark NC, Olsvik O, Swenson JM, et al. 1999. Detection of a streptomycin/spectinomycin adenyltransferase gene (*aadA*) in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* **43(1)**:157-160.
129. Akers KS, Chaney C, Barsoumian A, et al. 2010. Aminoglycoside resistance and susceptibility testing errors in *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex. *J Clin Microbiol* **48(4)**:1132-1138.
130. Cattoir V, Poirel L, Rotimi V, et al. 2007. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance *qnr* genes in ESBL-producing enterobacterial isolates. *J Antimicrob Chemother* **60(2)**:394-397.
131. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, et al. 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis* **16(2)**:161-168.
132. Xavier BB, Lammens C, Ruhel R, et al. 2016. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. *Euro Surveill* **21(27)**.
133. Yin W, Li H, Shen Y, et al. 2017. Novel Plasmid-Mediated Colistin Resistance Gene *mcr-3* in *Escherichia coli*. *mBio* **8(3)**.
134. Carattoli A, Villa L, Feudi C, et al. 2017. Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. *Euro Surveill* **22(31)**.
135. Borowiak M, Fischer J, Hammerl JA, et al. 2017. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *J Antimicrob Chemother* **72(12)**:3317-3324.
136. Rebelo AR, Bortolaia V, Kjeldgaard JS, et al. 2018. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* and *mcr-5* for surveillance purposes. *Euro Surveill* **23(6)**.

137. Pass MA, Odedra R, Batt RM. Multiplex PCRs for identification of *Escherichia coli* virulence genes. *J Clin Microbiol* 2000;38(5):2001-4. DOI: 10.1128/JCM.38.5.2001-2004.2000.
138. Johnson JR, Stell AL. 2000. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *J Infect Dis* **181(1)**:261-272.
139. Maurer JJ, Brown TP, Steffens WL, Thayer SG. 1998. The occurrence of ambient temperature-regulated adhesins, curli, and the temperature-sensitive hemagglutinin tsh among avian *Escherichia coli*. *Avian Dis* **42(1)**:106-118.
140. Brisse S, Fevre C, Passet V, et al. 2009. Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. *PLoS One* **4(3)**:e4982.
141. Turton JF, Perry C, Elgohari S, Hampton CV. 2010. PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets. *J Med Microbiol* **59(Pt 5)**:541-547.
142. Amor K, Heinrichs DE, Frirdich E, et al. 2000. Distribution of core oligosaccharide types in lipopolysaccharides from *Escherichia coli*. *Infect Immun* **68(3)**:1116-1124.
143. Blanco M, Alonso MP, Nicolas-Chanoine MH, et al. 2009. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases in Lugo (Spain): dissemination of clone O25b:H4-ST131 producing CTX-M-15. *J Antimicrob Chemother* **63(6)**:1135-1141.
144. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. 2000. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol* **66(10)**:4555-4558.
145. Carattoli A, Miriagou V, Bertini A, et al. 2006. Replicon typing of plasmids encoding resistance to newer beta-lactams. *Emerg Infect Dis* **12(7)**:1145-1148.
146. Johnson TJ, Bielak EM, Fortini D, et al. 2012. Expansion of the IncX plasmid family for improved identification and typing of novel plasmids in drug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Plasmid* **68(1)**:43-50.
147. Poiriel L, Bonnin RA, Nordmann P. 2012. Genetic features of the widespread plasmid coding for the carbapenemase OXA-48. *Antimicrob Agents Chemother* **56(1)**:559-562.
148. Cannatelli A, D'Andrea MM, Giani T, et al. 2013. In vivo emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-type carbapenemases mediated by insertional inactivation of the PhoQ/PhoP *mgrB* regulator. *Antimicrob Agents Chemother* **57(11)**:5521-5526.
149. Kado CI, Liu ST. 1981. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J Bacteriol* **145(3)**:1365-1373.
150. Macrina FL, Kopecko DJ, Jones KR, et al. 1978. A multiple plasmid-containing *Escherichia coli* strain: convenient source of size reference plasmid molecules. *Plasmid* **1(3)**:417-420.
151. Threlfall EJ, Rowe B, Ferguson JL, Ward LR. 1986. Characterization of plasmids conferring resistance to gentamicin and apramycin in strains of *Salmonella typhimurium* phage type 204c isolated in Britain. *J Hyg (Lond)* **97(3)**:419-426.
152. Barton BM, Harding GP, Zuccarelli AJ. 1995. A general method for detecting and sizing large plasmids. *Anal Biochem* **226(2)**:235-240.
153. Basta T, Keck A, Klein J, Stolz A. 2004. Detection and characterization of conjugative degradative plasmids in xenobiotic-degrading *Sphingomonas* strains. *J Bacteriol* **186(12)**:3862-3872.
154. Carattoli A, Hasman H. 2020. PlasmidFinder and In Silico pMLST: Identification and Typing of Plasmid Replicons in Whole-Genome Sequencing (WGS). *Methods Mol Biol* **2075**:285-294.
155. Gambill BD, Summers AO. 1985. Versatile mercury-resistant cloning and expression vectors. *Gene* 39(2-3):293-297.
156. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* **24(8)**:1596-1599.
157. Seifert H, Schulze A, Baginski R, Pulverer G. 1994. Comparison of four different methods for epidemiologic typing of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* **32(7)**:1816-1819.
158. Denton M, Kerr KG. 1998. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev* **11(1)**:57-80.
159. Gautom RK. 1997. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for typing of *Escherichia coli* O157:H7 and other gram-negative organisms in 1 day. *J Clin Microbiol* **35(11)**:2977-2980.
160. Bartual SG, Seifert H, Hippler C, et al. 2005. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* **43(9)**:4382-4390.
161. Diancourt L, Passet V, Verhoef J, et al. 2005. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J Clin Microbiol* **43(8)**:4178-4182.
162. Wirth T, Falush D, Lan R, et al. 2006. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Mol Microbiol* **60(5)**:1136-1151.
163. Colodner R. 2005. Extended-spectrum beta-lactamases: A challenge for clinical microbiologists and infection control specialists. *American Journal of Infection Control* **33(2)**:104-107.
164. Nataro JP, Deng Y, Cookson S, et al. 1995. Heterogeneity of enteroaggregative *Escherichia coli* virulence demonstrated in volunteers. *J Infect Dis* **171(2)**:465-468.
165. Kong H, Hong X, Li X. 2015. Current perspectives in pathogenesis and antimicrobial resistance of enteroaggregative *Escherichia coli*. *Microb Pathog* **85**:44-49.

166. Threlfall EJ. 2002. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections. *FEMS Microbiol Rev* **26(2)**:141-148.
167. Bennish ML, Salam MA. 1992. Rethinking options for the treatment of shigellosis. *J Antimicrob Chemother* **30(3)**:243-247.
168. Vasilev V, Japheth R, Yishai R, Andorn N. 2004. Antimicrobial resistance of *Shigella flexneri* serotypes in Israel during a period of three years: 2000-2002. *Epidemiol Infect* **132(6)**:1049-1054.
169. Kim S, Kim J, Kang Y, et al. 2004. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in members of the genus *Shigella* in the Republic of Korea. *J Clin Microbiol* **42(11)**:5264-5269.
170. Biedenbach DJ, Toleman M, Walsh TR, Jones RN. 2006. Analysis of *Salmonella* spp. with resistance to extended-spectrum cephalosporins and fluoroquinolones isolated in North America and Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis* **54(1)**:13-21.
171. Hakanen A, Kotilainen P, Huovinen P, et al. 2001. Reduced fluoroquinolone susceptibility in *Salmonella enterica* serotypes in travelers returning from Southeast Asia. *Emerg Infect Dis* **7(6)**:996-1003.
172. Hammami A, Arlet G, Ben Redjeb S, et al. 1991. Nosocomial outbreak of acute gastroenteritis in a neonatal intensive care unit in Tunisia caused by multiply drug resistant *Salmonella wien* producing SHV-2 beta-lactamase. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **10(8)**:641-646.
173. Koeck JL, Arlet G, Philippon A, et al. 1997. A plasmid-mediated CMY-2 beta-lactamase from an Algerian clinical isolate of *Salmonella senftenberg*. *FEMS Microbiol Lett* **152(2)**:255-260.
174. Su LH, Wu TL, Chia JH, et al. 2005. Increasing ceftriaxone resistance in *Salmonella* isolates from a university hospital in Taiwan. *J Antimicrob Chemother* **55(6)**:846-852.
175. Heinrichs DE, Yethon JA, Whitfield C. 1998. Molecular basis for structural diversity in the core regions of the lipopolysaccharides of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. *Mol Microbiol* **30(2)**:221-232.
176. Appelmek BJ, An YQ, Hekker TA, et al. 1994. Frequencies of lipopolysaccharide core types in *Escherichia coli* strains from bacteraemic patients. *Microbiology (Reading)* **140(Pt 5)**:1119-1124.
177. Gibb AP, Barclay GR, Poxton IR, di Padova F. 1992. Frequencies of lipopolysaccharide core types among clinical isolates of *Escherichia coli* defined with monoclonal antibodies. *J Infect Dis* **166(5)**:1051-1057.
178. Gibbs RJ, Stewart J, Poxton IR. 2004. The distribution of, and antibody response to, the core lipopolysaccharide region of *Escherichia coli* isolated from the faeces of healthy humans and cattle. *J Med Microbiol* **53(Pt 10)**:959-964.
179. Karim A, Poirel L, Nagarajan S, Nordmann P. 2001. Plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-3 like) from India and gene association with insertion sequence *ISEcp1*. *FEMS Microbiol Lett* **201(2)**:237-241.
180. Kahali S, Sarkar B, Rajendran K, et al. 2004. Virulence characteristics and molecular epidemiology of enteroaggregative *Escherichia coli* isolates from hospitalized diarrheal patients in Kolkata, India. *J Clin Microbiol* **42(9)**:4111-4120.
181. Sobieszczanska B, Kowalska-Krochmal B, Mowszet K, Pytrus T. 2003. [Susceptibility to antimicrobial agents of enteroaggregative *Escherichia coli* strains isolated from children with diarrhea]. *Przegl Epidemiol* **57(3)**:499-503. (lengyelül)
182. Kantele A, Laaveri T. 2022. Extended-spectrum beta-lactamase-producing strains among diarrhoeagenic *Escherichia coli*-prospective traveller study with literature review. *J Travel Med* **29(1)**.
183. Burger R. 2012. EHEC O104:H4 in Germany 2011: Large outbreak of bloody diarrhea and haemolytic uraemic syndrome by Shiga toxin-producing *E. coli* via contaminated food. In: Hoffnes ER, Relman DA, Olsen LA, Hutton R, Mack AI. (eds): Improving food safety through a one health approach - a workshop summary. The National Academic Press, Washington, D.C. 2012. pp. 115-130.
184. Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA, et al. 2011. Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. *PLoS One* **6(7)**:e22751.
185. Aarestrup FM, Wiuff C, Molbak K, Threlfall EJ. 2003. Is it time to change fluoroquinolone breakpoints for *Salmonella* spp.? **47(2)**:827-829.
186. Murray A, Coia JE, Mather H, Brown DJ. 2005. Ciprofloxacin resistance in non-typhoidal *Salmonella* serotypes in Scotland, 1993-2003. *J Antimicrob Chemother* **56(1)**:110-114.
187. CLSI. Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing: Document M100-S15. W. 2005.
188. Jamal WY, Pal T, Rotimi VO, Chugh TD. 1998. Serogroups and antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Salmonella* species from a teaching hospital in Kuwait. *J Diarrhoeal Dis Res* **16(3)**:180-186.
189. Miriagou V, Tassios PT, Legakis NJ, Tzouveleki LS. 2004. Expanded-spectrum cephalosporin resistance in non-typhoid *Salmonella*. *Int J Antimicrob Agents* **23(6)**:547-555.
190. Tassios PT, Gazouli M, Tzelepi E, et al. 1999. Spread of a *Salmonella typhimurium* clone resistant to expanded-spectrum cephalosporins in three European countries. *J Clin Microbiol* **37(11)**:3774-3777.
191. Moubareck C, Doucet-Populaire F, Hamze M, et al. 2005. First extended-spectrum-beta-lactamase (CTX-M-15)-producing *Salmonella enterica* serotype typhimurium isolate identified in Lebanon. *Antimicrob Agents Chemother* **49(2)**:864-865.

192. Weill FX, Perrier-Gros-Claude JD, Demartin M, et al. 2004. Characterization of extended-spectrum-beta-lactamase (CTX-M-15)-producing strains of *Salmonella enterica* isolated in France and Senegal. *FEMS Microbiol Lett* **238(2)**:353-358.
193. Frost I, Van Boeckel TP, Pires J, et al. 2019. Global geographic trends in antimicrobial resistance: the role of international travel. *J Travel Med* **26(8)**.
194. Rossi F, Baquero F, Hsueh PR, et al. 2006. In vitro susceptibilities of aerobic and facultatively anaerobic Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: 2004 results from SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends). *J Antimicrob Chemother* **58(1)**:205-210.
195. Baquero F, Hsueh PR, Paterson DL, et al. 2009. In vitro susceptibilities of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: 2005 results from Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Surg Infect (Larchmt)* **10(2)**:99-104.
196. Gastmeier P, Loui A, Stamm-Balderjahn S, et al. 2007. Outbreaks in neonatal intensive care units - they are not like others. *Am J Infect Control* **35(3)**:172-176.
197. Peirano G, Pitout JDD. 2019. Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*: Update on Molecular Epidemiology and Treatment Options. *Drugs* **79(14)**:1529-1541.
198. Mshana SE, Hain T, Domann E, et al. 2013. Predominance of *Klebsiella pneumoniae* ST14 carrying CTX-M-15 causing neonatal sepsis in Tanzania. *BMC Infect Dis* **13**:466.
199. Carlos CC, Masim MAL, Lagrada ML, et al. 2021. Genome Sequencing Identifies Previously Unrecognized *Klebsiella pneumoniae* Outbreaks in Neonatal Intensive Care Units in the Philippines. *Clin Infect Dis* **73(Suppl_4)**:S316-S324.
200. Chaudhuri RR, Henderson IR. 2012. The evolution of the *Escherichia coli* phylogeny. *Infect Genet Evol* **12(2)**:214-226.
201. Matsumura Y, Pitout JD, Gomi R, et al. 2016. Global *Escherichia coli* Sequence Type 131 Clade with *bla*_(CTX-M-27) Gene. *Emerg Infect Dis* **22(11)**:1900-1907.
202. Pitout JD, DeVinney R. 2017. *Escherichia coli* ST131: a multidrug-resistant clone primed for global domination. *F1000Res* **6**.
203. Holst O. 2007. The structures of core regions from enterobacterial lipopolysaccharides - an update. *FEMS Microbiol Lett* **271(1)**:3-11.
204. Currie CG, Mc CK, Poxton IR. 2001. Mucosal and systemic antibody responses to the lipopolysaccharide of *Escherichia coli* O157 in health and disease. *J Med Microbiol* **50(4)**:345-354.
205. Szijarto V, Hunyadi-Gulyas E, Emody L, et al. 2013. Cross-protection provided by live *Shigella* mutants lacking major antigens. *Int J Med Microbiol* **303(4)**:167-175.
206. Cross AS, Opal S, Cook P, et al. 2004. Development of an anti-core lipopolysaccharide vaccine for the prevention and treatment of sepsis. *Vaccine* **22(7)**:812-817.
207. Bailat S, Heumann D, Le Roy D, et al. 1997. Similarities and disparities between core-specific and O-side-chain-specific antilipopolysaccharide monoclonal antibodies in models of endotoxemia and bacteremia in mice. *Infect Immun* **65(2)**:811-814.
208. Di Padova FE, Brade H, Barclay GR, et al. 1993. A broadly cross-protective monoclonal antibody binding to *Escherichia coli* and *Salmonella* lipopolysaccharides. *Infect Immun* **61(9)**:3863-3872.
209. Lukasiewicz J, Jachymek W, Niedziela T, et al. 2002. Comparison of serological specificity of anti-endotoxin sera directed against whole bacterial cells and core oligosaccharide of *Escherichia coli* J5-tetanus toxoid conjugate. *Acta Biochem Polonica* **49(3)**:721-734.
210. Al Zarouni NEA. 2016. Virulence factors, clonality, antibiotic and disinfectant resistance of Enterobacteriaceae isolated in the Arabian Peninsula. PhD Thesis. Department of Medical Microbiology and Immunology. Al Ain: UAE University. (https://scholarworks.uaeu.ac.ae/all_theses/398/)
211. Taati Moghadam M, Mirzaei M, Fazel Tehrani Moghaddam M, et al. 2021. The Challenge of Global Emergence of Novel Colistin-Resistant *Escherichia coli* ST131. *Microb Drug Resist* **27(11)**:1513-1524.
212. Enoch DA, Birkett CI, Ludlam HA. 2007. Non-fermentative Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* **29 Suppl 3**:S33-41.
213. Brooke JS. 2021. Advances in the Microbiology of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev* **34(3)**:e0003019.
214. Brooke JS. 2012. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. *Clin Microbiol Rev* **25(1)**:2-41.
215. Mojica MF, Humphries R, Lipuma JJ, et al. 2022. Clinical challenges treating *Stenotrophomonas maltophilia* infections: an update. *JAC Antimicrob Resist* **4(3)**:dlac040.
216. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* **21(3)**:538-582.
217. Diancourt L, Passet V, Nemec A, et al. 2010. The population structure of *Acinetobacter baumannii*: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool. *PLoS One* **5(4)**:e10034.
218. Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, et al. 2006. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Genet* **2(1)**:e7.

219. Evans BA, Amyes SG. 2014. OXA beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* **27(2)**:241-63.
220. Rodriguez-Martinez JM, Nordmann P, Ronco E, Poirel L. 2010. Extended-spectrum cephalosporinase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* **54(8)**:3484-3488.
221. Philippon A, Arlet G, Labia R, Iorga BI. 2022. Class C beta-Lactamases: Molecular Characteristics. *Clin Microbiol Rev* **35(3)**:e0015021.
222. Bonnin RA, Potron A, Poirel L, et al. 2011. PER-7, an extended-spectrum beta-lactamase with increased activity toward broad-spectrum cephalosporins in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* **55(5)**:2424-2427.
223. Walsh TR, Weeks J, Livermore DM, Toleman MA. 2011. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect Dis* **11(5)**:355-362.
224. Karthikeyan K, Thirunarayan MA, Krishnan P. 2010. Coexistence of *bla*_{OXA-23} with *bla*_{NDM-1} and *armA* in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from India. *J Antimicrob Chemother* **65(10)**:2253-2254.
225. Chen Y, Zhou Z, Jiang Y, Yu Y. 2011. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. *J Antimicrob Chemother* **66(6)**:1255-1259.
226. Pfeifer Y, Wilharm G, Zander E, et al. 2011. Molecular characterization of *bla*_{NDM-1} in an *Acinetobacter baumannii* strain isolated in Germany in 2007. *J Antimicrob Chemother* **66(9)**:1998-2001.
227. Kaase M, Nordmann P, Wichelhaus TA, et al. 2011. NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt. *J Antimicrob Chemother* **66(6)**:1260-1262.
228. Bonnin RA, Rotimi VO, Al Hubail M, et al. 2013. Wide dissemination of GES-type carbapenemases in *Acinetobacter baumannii* isolates in Kuwait. *Antimicrob Agents Chemother* **57(1)**:183-188.
229. Al-Sweih NA, Al-Hubail M, Rotimi VO. 2012. Three distinct clones of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* with high diversity of carbapenemases isolated from patients in two hospitals in Kuwait. *J Infect Public Health* **5(1)**:102-108.
230. Afzal-Shah M, Woodford N, Livermore DM. 2001. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, molecular class D beta-lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* **45(2)**:583-588.
231. Chia PY, Sengupta S, Kukreja A, et al. 2020. The role of hospital environment in transmissions of multidrug-resistant gram-negative organisms. *Antimicrob Resist Infect Control* **9(1)**:29.
232. Doughari HJ, Ndakidemi PA, Human IS, Benade S. 2011. The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter spp.*: an overview. *Microbes Environ* **26(2)**:101-112.
233. Meade E, Slattery MA, Garvey M. 2021. Biocidal Resistance in Clinically Relevant Microbial Species: A Major Public Health Risk. *Pathogens* **10(5)**.
234. Groschel MI, Meehan CJ, Barilar I, et al. 2020. The phylogenetic landscape and nosocomial spread of the multidrug-resistant opportunist *Stenotrophomonas maltophilia*. *Nat Commun* **11(1)**:2044.
235. Sanyal SC, Mokaddas EM. 1999. The increase in carbapenem use and emergence of *Stenotrophomonas maltophilia* as an important nosocomial pathogen. *J Chemother* **11(1)**:28-33.
236. Nzeako BC, Al Daughari H, Al Lamki Z, Al Rawas O. 2006. Nature of bacteria found on some wards in Sultan Qaboos University Hospital, Oman. *Br J Biomed Sci* **63(2)**:55-58.
237. Sannathimmappa MB, Nambiar V, Aravindakshan R, Al-Kasaby NM. 2021. *Stenotrophomonas maltophilia*: An emerging opportunistic nosocomial pathogen in a tertiary care hospital in Al Batinah North Governorate, Oman. *Sultan Qaboos Univ Med J* **21(1)**:e66-e71.
238. Alsuhaibani M, Aljarbou A, Althawadi S, et al. 2021. *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia in children: risk factors and mortality rate. *Antimicrob Resist Infect Control* **10(1)**:19.
239. Saeed NK, Farid E, Jamsheer AE. 2015. Prevalence of opportunistic infections in HIV-positive patients in Bahrain: a four-year review (2009-2013). *J Infect Dev Ctries* **9(1)**:60-69.
240. Xia R, Guo X, Zhang Y, Xu H. 2010. *qnrVC*-like gene located in a novel complex class 1 integron harboring the *ISCR1* element in an *Aeromonas punctata* strain from an aquatic environment in Shandong Province, China. *Antimicrob Agents Chemother* **54(8)**:3471-3474.
241. Hamed SM, Hussein AFA, Al-Agamy MH, et al. 2022. Genetic Configuration of Genomic Resistance Islands in *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates From Egypt. *Front Microbiol* **13**:878912.
242. Espinal P, Fugazza G, Lopez Y, et al. 2011. Dissemination of an NDM-2-producing *Acinetobacter baumannii* clone in an Israeli rehabilitation center. *Antimicrob Agents Chemother* **55(11)**:5396-5398.
243. Ayoub Moubareck C, Hammoudi Halat D, Nabi A, et al. 2021. Detection of OXA-23, GES-11 and NDM-1 among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Dubai: A preliminary study. *J Glob Antimicrob Resist* **24**:27-28.
244. Saleem M, Syed Khaja AS, Hossain A, et al. 2022. Molecular Characterization and Antibiogram of *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates Recovered from the Patients with Ventilator-Associated Pneumonia. *Healthcare (Basel)* **10(11)**.
245. Espinal P, Poirel L, Carmeli Y, et al. 2013. Spread of NDM-2-producing *Acinetobacter baumannii* in the Middle East. *J Antimicrob Chemother* **68(8)**:1928-1930.
246. Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, Seifert H. 2010. Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* **65(2)**:233-238.

247. Karah N, Sundsfjord A, Towner K, Samuelsen O. 2012. Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. *Drug Resist Updat* **15(4)**:237-247.
248. Zander E, Nemec A, Seifert H, Higgins PG. 2012. Association between beta-lactamase-encoding *bla*_(OXA-51) variants and DiversiLab rep-PCR-based typing of *Acinetobacter baumannii* isolates. *J Clin Microbiol* **50(6)**:1900-1904.
249. Hamouda A, Evans BA, Towner KJ, Amyes SG. 2010. Characterization of epidemiologically unrelated *Acinetobacter baumannii* isolates from four continents by use of multilocus sequence typing, pulsed-field gel electrophoresis, and sequence-based typing of *bla*_(OXA-51-like) genes. *J Clin Microbiol* **48(7)**:2476-2483.
250. Peymani A, Higgins PG, Nahaei MR, et al. 2012. Characterisation and clonal dissemination of OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* in Tabriz, northwest Iran. *Int J Antimicrob Agents* **39(6)**:526-528.
251. Karah N, Dwibedi CK, Sjostrom K, et al. 2016. Novel Aminoglycoside Resistance Transposons and Transposon-Derived Circular Forms Detected in Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. *Antimicrob Agents Chemother* **60(3)**:1801-1818.
252. Evans BA, Hamouda A, Abbasi SA, et al. 2011. High prevalence of unrelated multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Pakistani military hospitals. *Int J Antimicrob Agents* **37(6)**:580-581.
253. Mugnier PD, Poirel L, Naas T, Nordmann P. 2010. Worldwide dissemination of the *bla*_{OXA-23} carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis* **16(1)**:35-40.
254. Pournaras S, Gogou V, Giannouli M, et al. 2014. Single-locus-sequence-based typing of *bla*_{OXA-51-like} genes for rapid assignment of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates to international clonal lineages. *J Clin Microbiol* **52(5)**:1653-1657.
255. Moubareck C, Bremont S, Conroy MC, et al. 2009. GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* **53(8)**:3579-3581.
256. Lopes BS, Al-Agamy MH, Ismail MA, et al. 2015. The transferability of *bla*_{OXA-23} gene in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Saudi Arabia and Egypt. *Int J Med Microbiol* **305(6)**:581-588.
257. Wibberg D, Salto IP, Eikmeyer FG, et al. 2018. Complete Genome Sequencing of *Acinetobacter baumannii* Strain K50 Discloses the Large Conjugative Plasmid pK50a Encoding Carbapenemase OXA-23 and Extended-Spectrum beta-Lactamase GES-11. *Antimicrob Agents Chemother* **62(5)**.
258. Vijayakumar R, Sandle T, Al-Aboody MS, et al. 2018. Distribution of biocide resistant genes and biocides susceptibility in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* - A first report from the Kingdom of Saudi Arabia. *J Infect Public Health* **11(6)**:812-816.
259. Cuzon G, Bonnin RA, Nordmann P. 2013. First identification of novel NDM carbapenemase, NDM-7, in *Escherichia coli* in France. *PLoS One* **8(4)**:e61322.
260. Rahman M, Shukla SK, Prasad KN, et al. 2014. Prevalence and molecular characterisation of New Delhi metallo-beta-lactamases NDM-1, NDM-5, NDM-6 and NDM-7 in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* from India. *Int J Antimicrob Agents* **44(1)**:30-37.
261. Lee CS, Vasoo S, Hu F, Patel R, Doi Y. 2014. *Klebsiella pneumoniae* ST147 coproducing NDM-7 carbapenemase and RmtF 16S rRNA methyltransferase in Minnesota. *J Clin Microbiol* **52(11)**:4109-4110.
262. Mizuno Y, Yamaguchi T, Matsumoto T. 2014. A first case of New Delhi metallo-beta-lactamase-7 in an *Escherichia coli* ST648 isolate in Japan. *J Infect Chemother* **20(12)**:814-816.
263. Seara N, Oteo J, Carrillo R, et al. 2015. Interhospital spread of NDM-7-producing *Klebsiella pneumoniae* belonging to ST437 in Spain. *Int J Antimicrob Agents* **46(2)**:169-173.
264. Nordmann P, Naas T, Poirel L. 2011. Global spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis* **17(10)**:1791-1798.
265. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, et al. 2013. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis* **13(9)**:785-796.
266. Leavitt A, Carmeli Y, Chmelnitsky I, et al. 2010. Molecular epidemiology, sequence types, and plasmid analyses of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Israel. *Antimicrob Agents Chemother* **54(7)**:3002-3006.
267. Dashti AA, Vali L, Jadaon MM, El-Shazly S, Amyes SG. 2011. The emergence of carbapenem resistance in ESBL-producing *Escherichia coli* O25B-ST131 strain from community acquired infection in Kuwait. *BMC Proceedings* **5(Suppl 6)**:O27
268. Al-Agamy MH, Shibl AM, Elkhizzi NA, et al. 2013. Persistence of *Klebsiella pneumoniae* clones with OXA-48 or NDM carbapenemases causing bacteraemias in a Riyadh hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* **76(2)**:214-216.
269. Shibl A, Al-Agamy M, Memish Z, et al. 2013. The emergence of OXA-48- and NDM-1-positive *Klebsiella pneumoniae* in Riyadh, Saudi Arabia. *Int J Infect Dis* **17(12)**:e1130-3.
270. Zowawi HM, Sartor AL, Balkhy HH, et al. 2014. Molecular characterization of carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the countries of the Gulf cooperation council: dominance of OXA-48 and NDM producers. *Antimicrob Agents Chemother* **58(6)**:3085-3090.
271. Tumbarello M, Losito AR, Giamarellou H. 2018. Optimizing therapy in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections. *Curr Opin Infect Dis* **31(6)**:566-577

272. Poirel L, Goutines J, Aires-de-Sousa M, Nordmann P. 2018. High Rate of Association of 16S rRNA Methylases and Carbapenemases in *Enterobacteriaceae* Recovered from Hospitalized Children in Angola. *Antimicrob Agents Chemother* **62(4)**.
273. Khajuria A, Prahara AK, Kumar M, Grover N. 2014. Emergence of *Escherichia coli*, Co-Producing NDM-1 and OXA-48 Carbapenemases, in Urinary Isolates, at a Tertiary Care Centre at Central India. *J Clin Diagn Res* **8(6)**:DC01-4.
274. NNK. Nemzeti Bakteriológiai Surveillance 2019. (<https://www.nnk.gov.hu/index.php/mikrobiologiai-referencia-laboratoriumi-foosztaly/nemzeti-bakteriologiai-surveillance-nbs/category/26-nemzeti-bakteriologiai-surveillance-nbs>).
275. Dunn SJ, Connor C, McNally A. 2019. The evolution and transmission of multi-drug resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: the complexity of clones and plasmids. *Curr Opin Microbiol* **51**:51-56.
276. San Millan A. 2018. Evolution of Plasmid-Mediated Antibiotic Resistance in the Clinical Context. *Trends Microbiol* **26(12)**:978-985.
277. Partridge SR, Kwong SM, Firth N, Jensen SO. 2018. Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. *Clin Microbiol Rev* **31(4)**: e00088-17
278. Jamal W, Rotimi VO, Albert MJ, et al. 2013. High prevalence of VIM-4 and NDM-1 metallo-beta-lactamase among carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *J Med Microbiol* **62(Pt 8)**:1239-1244.
279. Nordmann P, Poirel L, Walsh TR, Livermore DM. 2011. The emerging NDM carbapenemases. *Trends Microbiol* **19(12)**:588-595.
280. Damjanova I, Toth A, Paszti J, et al. 2008. Expansion and countrywide dissemination of ST11, ST15 and ST147 ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-type beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemic clones in Hungary in 2005-the new 'MRSAs'? *J Antimicrob Chemother* **62(5)**:978-985.
281. Lee CR, Lee JH, Park KS, et al. 2016. Global Dissemination of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. *Front Microbiol* **7**:895.
282. Sanikhani R, Moeinirad M, Shahcheraghi F, et al. 2021. Molecular epidemiology of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: a systematic review and meta-analysis. *Iran J Microbiol* **13(3)**:257-265. DOI: 10.18502/ijm.v13i3.6384.
283. Ho PL, Li Z, Lo WU, et al. 2012. Identification and characterization of a novel incompatibility group X3 plasmid carrying bla NDM-1 in *Enterobacteriaceae* isolates with epidemiological links to multiple geographical areas in China. *Emerg Microbes Infect* **1(11)**:e39.
284. Chen L, Peirano G, Lynch T, et al. 2015. Molecular Characterization by Using Next-Generation Sequencing of Plasmids Containing blaNDM-7 in *Enterobacteriaceae* from Calgary, Canada. *Antimicrob Agents Chemother* **60(3)**:1258-1263.
285. Gottig S, Hamprecht AG, Christ S, et al. 2013. Detection of NDM-7 in Germany, a new variant of the New Delhi metallo-beta-lactamase with increased carbapenemase activity. *J Antimicrob Chemother* **68(8)**:1737-1740.
286. Wang LH, Liu PP, Wei DD, et al. 2016. Clinical isolates of uropathogenic *Escherichia coli* ST131 producing NDM-7 metallo-beta-lactamase in China. *Int J Antimicrob Agents* **48(1)**:41-45.
287. Colion C, Miriagou V, Carattoli A, et al. 2007. Characterization of the IncA/C plasmid pCC416 encoding VIM-4 and CMY-4 beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* **60(2)**:258-262.
288. Caltagirone M, Bitar I, Piazza A, et al. 2015. Detection of an IncA/C plasmid encoding VIM-4 and CMY-4 beta-lactamases in *Klebsiella oxytoca* and *Citrobacter koseri* from an inpatient cardiac rehabilitation unit. *New Microbiologica* **38**:387-392.
289. Shevchenko OV, Mudrak DY, Skleenova EY, et al. 2012. First detection of VIM-4 metallo-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Russia. *Clin Microbiol Infect* **18(7)**:E214-7.
290. Ktari S, Arlet G, Mnif B, et al. 2006. Emergence of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates producing VIM-4 metallo-beta-lactamase, CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase, and CMY-4 AmpC beta-lactamase in a Tunisian university hospital. *Antimicrob Agents Chemother* **50(12)**:4198-4201.
291. Kristof K, Toth A, Damjanova I, et al. 2010. Identification of a bla_{VIM-4} gene in the internationally successful *Klebsiella pneumoniae* ST11 clone and in a *Klebsiella oxytoca* strain in Hungary. *J Antimicrob Chemother* **65(6)**:1303-1305.
292. Ikonomidis A, Spanakis N, Poulou A, et al. 2007. Emergence of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* carrying VIM-4 metallo-beta-lactamase and SHV-2a extended-spectrum beta-lactamase in a conjugative plasmid. *Microb Drug Resist* **13(4)**:221-226.
293. Papagiannitsis CC, Giakkoupi P, Vatopoulos AC, et al. 2010. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* of a novel sequence type (ST383) producing VIM-4, KPC-2 and CMY-4 beta-lactamases. *Int J Antimicrob Agents* **36(6)**:573-574.
294. Kassis-Chikhani N, Frangeul L, Drieux L, et al. 2013. Complete nucleotide sequence of the first KPC-2- and SHV-12-encoding IncX plasmid, pKpS90, from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* **57(1)**:618-620.

295. Ho PL, Cheung YY, Lo WU, et al. 2013. Molecular Characterization of an Atypical IncX3 Plasmid pKPC-NY79 Carrying bla KPC-2 in a *Klebsiella pneumoniae*. *Curr Microbiol* **67(4)**:493-498.
296. Guo X, Chen R, Wang Q, et al. Global prevalence, characteristics, and future prospects of IncX3 plasmids: A review. *Front Microbiol* 2022;13:979558. DOI: 10.3389/fmicb.2022.979558.
297. Wang Y, Tong MK, Chow KH, et al. 2018. Occurrence of Highly Conjugative IncX3 Epidemic Plasmid Carrying bla (NDM) in *Enterobacteriaceae* Isolates in Geographically Widespread Areas. *Front Microbiol* **9**:2272.
298. Chen L, Mathema B, Chavda KD, et al. 2014. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding. *Trends Microbiol* **22(12)**:686-696.
299. Roer L, Overballe-Petersen S, Hansen F, et al. 2018. *Escherichia coli* Sequence Type 410 Is Causing New International High-Risk Clones. *mSphere* **3(4)**.
300. Boyd SE, Holmes A, Peck R, et al. 2022. OXA-48-Like beta-Lactamases: Global Epidemiology, Treatment Options, and Development Pipeline. *Antimicrob Agents Chemother* **66(8)**:e0021622.
301. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. 2014. Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *Biomed Res Int* **2014**:249856.
302. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al. 2001. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* **45(4)**:1151-1161.
303. Navon-Venezia S, Leavitt A, Schwaber MJ, et al. 2009. First report on a hyperepidemic clone of KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* in Israel genetically related to a strain causing outbreaks in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* **53(2)**:818-820.
304. Memish ZA, Assiri A, Almasri M, et al. 2015. Molecular characterization of carbapenemase production among gram-negative bacteria in Saudi Arabia. *Microb Drug Resist* **21(3)**:307-314.
305. Al-Agamy MH, Aljallal A, Radwan HH, Shibl AM. 2018. Characterization of carbapenemases, ESBLs, and plasmid-mediated quinolone determinants in carbapenem-insensitive *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Riyadh hospitals. *J Infect Public Health* **11(1)**:64-68.
306. Al-Zahrani IA, Alsiri BA. 2018. The emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates producing OXA-48 and NDM in the Southern (Asir) province, Saudi Arabia. *Saudi Med J* **39(1)**:23-30.
307. Zaman TU, Alrodayyan M, Albladi M, et al. 2018. Clonal diversity and genetic profiling of antibiotic resistance among multidrug/carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from a tertiary care hospital in Saudi Arabia. *BMC Infect Dis* **18(1)**:205.
308. Alqahtani M, Tickler IA, Al Deesi Z, et al. 2021. Molecular detection of carbapenem resistance genes in rectal swabs from patients in Gulf Cooperation Council hospitals. *J Hosp Infect* **112**:96-103.
309. Al-Farsi HM, Camporeale A, Ininbergs K, et al. 2020. Clinical and molecular characteristics of carbapenem non-susceptible *Escherichia coli*: A nationwide survey from Oman. *PLoS One* **15(10)**:e0239924.
310. Abid FB, Tsui CKM, Doi Y, et al. 2021. Molecular characterization of clinical carbapenem-resistant *Enterobacterales* from Qatar. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **40(8)**:1779-1785.
311. Yang W, Hu F. 2022. Research Updates of Plasmid-Mediated Aminoglycoside Resistance 16S rRNA Methyltransferase. *Antibiotics (Basel)* **11(7)**.
312. Doi Y, Wachino JI, Arakawa Y. 2016. Aminoglycoside Resistance: The Emergence of Acquired 16S Ribosomal RNA Methyltransferases. *Infect Dis Clin North Am* **30(2)**:523-537.
313. Giakkoupi P, Pappa O, Polemis M, et al. 2009. Emerging *Klebsiella pneumoniae* isolates coproducing KPC-2 and VIM-1 carbapenemases. *Antimicrob Agents Chemother* **53(9)**:4048-4050.
314. Karthikeyan K, Toleman M, Giske CG, et al. 2010. First report of the co-existence of blaOXA-48 or blaOXA-48-like gene with blaNDM-1 in *Enterobacteriaceae* from India. Paper No. S187 ECCMID Vienna, Austria 2010.
315. Meletis G, Chatzidimitriou D, Malisiovas N. 2015. Double- and multi-carbapenemase-producers: the excessively armored bacilli of the current decade. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **34(8)**:1487-1493.
316. Villa L, Poirel L, Nordmann P, et al. 2012. Complete sequencing of an IncH plasmid carrying the bla_{NDM-1}, bla_{CTX-M-15} and qnrB1 genes. *J Antimicrob Chemother* **67(7)**:1645-1650.
317. Potron A, Rondinaud E, Poirel L, et al. 2013. Genetic and biochemical characterisation of OXA-232, a carbapenem-hydrolysing class D beta-lactamase from *Enterobacteriaceae*. *Int J Antimicrob Agents* **41(4)**:325-329.
318. Doi Y, Hazen TH, Boitano M, et al. 2014. Whole-genome assembly of *Klebsiella pneumoniae* coproducing NDM-1 and OXA-232 carbapenemases using single-molecule, real-time sequencing. *Antimicrob Agents Chemother* **58(10)**:5947-5953.
319. Wang Y, Wang J, Wang R, Cai Y. 2019. Resistance to ceftazidime-avibactam and underlying mechanisms. *J Glob Antimicrob Resist* **22**:18-27.
320. Sherry N, Howden B. 2018. Emerging Gram negative resistance to last-line antimicrobial agents fosfomycin, colistin and ceftazidime-avibactam - epidemiology, laboratory detection and treatment implications. *Expert Rev Anti Infect Ther* **16(4)**:289-306.
321. Emeraud C, Escaut L, Boucly A, et al. 2019. Aztreonam plus Clavulanate, Tazobactam, or Avibactam for Treatment of Infections Caused by Metallo-beta-Lactamase-Producing Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* **63(5)**.

322. Marshall S, Hujer AM, Rojas LJ, et al. 2017. Can Ceftazidime-Avibactam and Aztreonam Overcome beta-Lactam Resistance Conferred by Metallo-beta-Lactamases in *Enterobacteriaceae*? *Antimicrob Agents Chemother* **61(4)**. DOI: 10.1128/AAC.02243-16.
323. Shaw E, Rombauts A, Tubau F, et al. 2018. Clinical outcomes after combination treatment with ceftazidime/avibactam and aztreonam for NDM-1/OXA-48/CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* infection. *J Antimicrob Chemother* **73(4)**:1104-1106.
324. Mauri C, Maraolo AE, Di Bella S, et al. 2021. The Revival of Aztreonam in Combination with Avibactam against Metallo-beta-Lactamase-Producing Gram-Negatives: A Systematic Review of In Vitro Studies and Clinical Cases. *Antibiotics (Basel)* **10(8)**.
325. Wu S, Zong Z. 2022. Aztreonam-avibactam: an option against carbapenem-resistant *Enterobacterales* with emerging resistance. *Precis Clin Med* **5(4)**:pbac029.
326. Kaye KS, Naas T, Pogue JM, Rossolini GM. 2023. Cefiderocol, a Siderophore Cephalosporin, as a Treatment Option for Infections Caused by Carbapenem-Resistant *Enterobacterales*. *Infect Dis Ther* **12(3)**:777-806.
327. Pitout JDD, Peirano G, Kock MM, et al. 2019. The Global Ascendancy of OXA-48-Type Carbapenemases. *Clin Microbiol Rev* **33(1)**:e00102-19.
328. Shankar C, Jacob JJ, Sugumar SG, et al. 2021. Distinctive Mobile Genetic Elements Observed in the Clonal Expansion of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in India. *Microb Drug Resist* **27(8)**:1096-1104.
329. Peirano G, Chen L, Kreiswirth BN, Pitout JDD. 2020. Emerging Antimicrobial-Resistant High-Risk *Klebsiella pneumoniae* Clones ST307 and ST147. *Antimicrob Agents Chemother* **64(10)**:e01148-20.
330. Safavi M, Bostanshirin N, Hajikhani B, et al. 2020. Global genotype distribution of human clinical isolates of New Delhi metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*; A systematic review. *J Glob Antimicrob Resist* **23**:420-429.
331. Wyres KL, Lam MMC, Holt KE. 2020. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nat Rev Microbiol* **18(6)**:344-359.
332. Al-Marzooq F, Ngeow YF, Tay ST. 2015. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* producing dual carbapenemases (NDM-1 and OXA-232) and 16S rRNA methylase (*armA*) isolated from a Malaysian patient returning from India. *Int J Antimicrob Agents* **45(4)**:445-446.
333. Bousquet A, Duprilot M, Moissenet D, et al. 2014. First case of multidrug-resistant *bla*_{NDM-1} and *bla*_{OXA-232} carrying *Klebsiella pneumoniae* and its probable cross-transmission in a French hospital. *Int J Antimicrob Agents* **44(5)**:469-470.
334. Daw Elbait G, Henschel A, Tay GK, Al Safar HS. 2021. A Population-Specific Major Allele Reference Genome From The United Arab Emirates Population. *Front Genet* **12**:660428.
335. Alsultan AA, Evans BA, Elsayed EA, et al. 2013. High frequency of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in patients with diabetes mellitus in Saudi Arabia. *J Med Microbiol* **62(Pt 6)**:885-888.
336. Punnose J, Agarwal MM, El Khadir A, et al. 2002. Childhood and adolescent diabetes mellitus in Arabs residing in the United Arab Emirates. *Diabetes Res Clin Pract* **55(1)**:29-33.
337. Navon-Venezia S, Kondratyeva K, Carattoli A. 2017 *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev* **41(3)**:252-275.
338. Dai P, Hu D. 2022. The making of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *J Clin Lab Anal* **36(12)**:e24743.
339. Choi M, Hegerle N, Nkeze J, et al. 2020. The Diversity of Lipopolysaccharide (O) and Capsular Polysaccharide (K) Antigens of Invasive *Klebsiella pneumoniae* in a Multi-Country Collection. *Front Microbiol* **11**:1249.
340. Papagiannitsis CC, Dolejska M, Izdebski R, et al. 2016. Characterisation of IncA/C2 plasmids carrying an In416-like integron with the *bla*_{VIM-19} gene from *Klebsiella pneumoniae* ST383 of Greek origin. *Int J Antimicrob Agents* **47(2)**:158-162.
341. Luzzaro F, Docquier JD, Colinon C, et al. 2004. Emergence in *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* clinical isolates of the VIM-4 metallo-beta-lactamase encoded by a conjugative plasmid. *Antimicrob Agents Chemother* **48(2)**:648-650.
342. Paterson DL, Bonomo RA. 2019. Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens: The Urgent Need for 'Old' Polymyxins. *Adv Exp Med Biol* **1145**:9-13.
343. Zhang S, Abbas M, Rehman MU, et al. 2021. Updates on the global dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli*: An emerging threat to public health. *Sci Total Environ* **799**:149280.
344. Giamarellou H. 2016. Epidemiology of infections caused by polymyxin-resistant pathogens. *Int J Antimicrob Agents* **48(6)**:614-621.
345. Bradford PA, Kazmierczak KM, Biedenbach DJ, et al. 2015. Correlation of beta-Lactamase Production and Colistin Resistance among *Enterobacteriaceae* Isolates from a Global Surveillance Program. *Antimicrob Agents Chemother* **60(3)**:1385-1392.
346. Jeannot K, Bolard A, Plesiat P. 2017. Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms. *Int J Antimicrob Agents* **49(5)**:526-535.
347. Zong Z, Feng Y, McNally A. 2021. Carbapenem and Colistin Resistance in *Enterobacter*: Determinants and Clones. *Trends Microbiol* **29(6)**:473-476.

348. Mmatli M, Mbelle NM, Osei Sekyere J. 2022. Global epidemiology, genetic environment, risk factors and therapeutic prospects of *mcr* genes: A current and emerging update. *Front Cell Infect Microbiol* **12**:941358.
349. Nang SC, Li J, Velkov T. 2019. The rise and spread of *mcr* plasmid-mediated polymyxin resistance. *Crit Rev Microbiol* **45**(2):131-161.
350. Collignon PJ, Conly JM, Andremont A, et al. 2016. World Health Organization Ranking of Antimicrobials According to Their Importance in Human Medicine: A Critical Step for Developing Risk Management Strategies to Control Antimicrobial Resistance From Food Animal Production. *Clin Infect Dis* **63**(8):1087-1093.
351. Lian X, Wang X, Liu X, et al. 2019. *oqxAB*-Positive IncHI2 Plasmid pHXY0908 Increase *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Strains Tolerance to Ciprofloxacin. *Front Cell Infect Microbiol* **9**:242.
352. Zhi C, Lv L, Yu LF, et al. 2016. Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis* **16**(3):292-293.
353. Quan J, Li X, Chen Y, et al. 2017. Prevalence of *mcr-1* in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* recovered from bloodstream infections in China: a multicentre longitudinal study. *Lancet Infect Dis* **17**(4):400-410.
354. Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. 2014. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol* **5**:643.
355. Zowawi HM, Forde BM, Alfaresi M, et al. 2015. Stepwise evolution of pandrug-resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Sci Rep* **5**:15082.
356. Shin J, Baek JY, Cho SY, et al. 2016. *bla_{NDM-5}*-Bearing IncFII-Type Plasmids of *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 147 Transmitted by Cross-Border Transfer of a Patient. *Antimicrob Agents Chemother* **60**(3):1932-1934.
357. Cho SY, Huh HJ, Baek JY, et al. 2015. *Klebsiella pneumoniae* co-producing NDM-5 and OXA-181 carbapenemases, South Korea. *Emerg Infect Dis* **21**(6):1088-1089.
358. Jayol A, Nordmann P, Desroches M, et al. 2016. Acquisition of Broad-Spectrum Cephalosporin Resistance Leading to Colistin Resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* **60**(5):3199-3201.
359. Belanger L, Garenaux A, Harel J, et al. 2011. *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. *FEMS Immunol Med Microbiol* **62**(1):1-10.
360. Hmede Z, Kassem, II. 2018. The Colistin Resistance Gene *mcr-1* Is Prevalent in Commensal *Escherichia coli* Isolated from Preharvest Poultry in Lebanon. *Antimicrob Agents Chemother* **62**(11).
361. Al-Mir H, Osman M, Drapeau A, et al. 2021. WGS Analysis of Clonal and Plasmidic Epidemiology of Colistin-Resistance Mediated by *mcr* Genes in the Poultry Sector in Lebanon. *Front Microbiol* **12**:624194.
362. Moawad AA, Hotzel H, Neubauer H, et al. 2018. Antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* from healthy broilers in Egypt: emergence of colistin-resistant and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Gut Pathog* **10**:39.
363. Sadek M, Ortiz de la Rosa JM, Abdelfattah Maky M, et al. 2021. Genomic Features of MCR-1 and Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing *Enterobacterales* from Retail Raw Chicken in Egypt. *Microorganisms* **9**(1).
364. Javed H, Saleem S, Zafar A, et al. 2020. Emergence of plasmid-mediated *mcr* genes from Gram-negative bacteria at the human-animal interface. *Gut Pathog* **12**(1):54.
365. Azam M, Mohsin M, Johnson TJ, et al. 2020. Genomic landscape of multi-drug resistant avian pathogenic *Escherichia coli* recovered from broilers. *Vet Microbiol* **247**:108766.
366. Eltai NO, Abdfarag EA, Al-Romaihi H, et al. 2018. Antibiotic Resistance Profile of Commensal *Escherichia coli* Isolated from Broiler Chickens in Qatar. *J Food Prot* **81**(2):302-307.
367. Matamoros S, van Hattem JM, Arcilla MS, et al. 2017. Global phylogenetic analysis of *Escherichia coli* and plasmids carrying the *mcr-1* gene indicates bacterial diversity but plasmid restriction. *Sci Rep* **7**(1):15364.
368. Leangapichart T, Gautret P, Brouqui P, et al. 2016. Acquisition of *mcr-1* Plasmid-Mediated Colistin Resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during Hajj 2013 and 2014. *Antimicrob Agents Chemother* **60**(11):6998-6999.
369. Hoang VT, Dao TL, Ly TDA, et al. 2021. Acquisition of multidrug-resistant bacteria and encoding genes among French pilgrims during the 2017 and 2018 Hajj. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **40**(6):1199-1207.

10. FÜGGELÉK

10.1. A DOKTORI MŰBEN SZEREPLŐ PROJEKTEK KAPCSÁN NYILVÁNOS ADATBÁZISOKBAN ELHELYEZETT SZEKVENCIAIÁK

44. táblázat A GenBank-ban elhelyezett parciális szekvenciák

Közlemény	Szekvencia/gén	GenBank szám
I	<i>Escherichia coli</i> plasmid pBP971-95 insertion sequence ISEcp1, partial sequence; and beta-lactamase CTX-M-15 gene, complete cds	AY960984.1
VI	<i>Acinetobacter baumannii</i> plasmid pAB154 class 1 integron Int1 (int1), Arr2 (arr2), CmlA7 (cmlA7), Sul1 (sul1), ISCR1 (ISCR1), extended-spectrum beta-lactamase PER-7 (blaPER-7), and putative glutathione-S-transferase (gst) genes, complete cds, and transposon ACICU_01244, partial sequence.	JQ639792.1
VIII	<i>Escherichia coli</i> strain 81009 LPS core gene locus, complete sequence	JQ241150.1
IX	<i>Acinetobacter baumannii</i> strain AG132 phosphorybosyl anthranilate isomerase (trpF), bleomycin resistance protein (BRP), and metallo-beta-lactamase NDM-2 (blaNDM-2) genes, complete cds; and insertion sequence ISAbA125, complete sequence	JN112341.1
X	<i>Enterobacter cloacae</i> strain ABC104 class I integron, partial sequence	JX275775.1
XI	<i>Acinetobacter baumannii</i> strain NM114 beta-lactamase OXA-51-like protein gene, complete cds	JX865391.1
	<i>Acinetobacter baumannii</i> strain NM61 beta-lactamase OXA-51-like protein gene, complete cds	JX865392.1
	<i>Acinetobacter baumannii</i> strain NM69 beta-lactamase OXA-51-like protein gene, complete cds	JX865393.1
	<i>Acinetobacter baumannii</i> strain NM83 beta-lactamase OXA-51-like protein gene, complete cds	JX865394.1
XII	<i>Enterobacter cloacae</i> plasmid pABC40 insertion sequence IS5 IS5 transposase and trans-activator (insH) gene, complete cds; insertion sequence ISAbA125, complete sequence; metallo beta lactamase NDM-1 (blaNDM-1) and bleomycin resistance protein (brp) genes, complete cds; and phosphoribosyl anthranilate isomerase (trpF) gene, partial cds.	KC149524.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pABC53 insertion sequence IS3000 transposase (tnpA Tn3) gene, complete cds; insertion sequence ISAbA125, complete sequence; and metallo beta lactamase NDM-1 (blaNDM-1), bleomycin resistance protein (brp), and phosphoribosyl anthranilate isomerase (trpF) genes, complete cds.	KC149525.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pABC83 insertion sequence ISAbA125, complete sequence; insertion sequence ISEc33 transposase (tnpA) gene, complete cds; insertion sequence ISAbA125, complete sequence; metallo beta lactamase NDM-1 (blaNDM-1) and bleomycin resistance protein (brp) genes, complete cds; and phosphoribosyl anthranilate isomerase (trpF) gene, partial cds.	KC149526.1
	<i>Escherichia coli</i> plasmid pABC85 insertion sequences ISAbA125, IS903, and ISAbA125, complete sequence; metallo beta lactamase NDM-1 (blaNDM-1) and bleomycin resistance protein (brp) genes, complete cds; and phosphoribosyl anthranilate isomerase gene, partial cds	KC149527.1
XIV	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain ABC220 plasmid pABC220 hypothetical protein gene, complete cds; transposon Tn4401b, complete sequence; and disrupted umuD gene, partial sequence	KM983022.1
XIX	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain ABC143C mgrB gene, partial sequence; insertion sequence ISEcp1 transposase (tnpA) gene, complete cds; and class D beta-lactamase (blaOXA-181) gene, complete cds	KY426739.1

folyt.

folyt.

Közlemény	Szekvencia/gén	GenBank szám
XX	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain KKp4 plasmid pKKp4-VIM, complete sequence	MF582638.1
	<i>Enterobacter cloacae</i> strain ABC104 class I integron, partial sequence	JX275775.1
	<i>Enterobacter cloacae</i> strain OM69 plasmid pOM69-VIM sequence	MF178139.1
XXI	<i>Escherichia coli</i> strain 81009 chromosome, complete genome	CP021179.1
	<i>Escherichia coli</i> strain 81009 plasmid pEC-81009, complete sequence	CP021180.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pABC106-NDM IS3000 transposase (tnpA), metallo-beta-lactamase (blaNDM-1), and bleomycin resistance protein (bleMBL) genes, complete cds; and anthranilate isomerase (trpF) gene, partial cds	MF774792.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pABC120-NDM transposase (tnpA), metallo-beta-lactamase (blaNDM-1), and bleomycin resistance protein (bleMBL) genes, complete cds; and anthranilate isomerase (trpF) gene, partial cds	MF774793.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pABC137-NDM IS5 transposase (insH), metallo-beta-lactamase (blaNDM-1), and bleomycin resistance protein (bleMBL) genes, complete cds	MF774794.1
XXII	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pOMABC109-NDM IS3000 transposase (tnpA), metallo-beta-lactamase (blaNDM-1), bleomycin resistance protein (bleMBL), and anthranilate isomerase (trpF) genes, complete cds	MF774795.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pSA54-NDM ribosomal methylase RmtC (rmtC), metallo-beta-lactamase (blaNDM-1), and bleomycin resistance protein (bleMBL) genes, complete cds; and anthranilate isomerase (trpF) gene, partial cds	MF774796.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pABC137-OXA transposon Tn1999, partial sequence	MF774788.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pSA54-OXA transposon Tn1999 variant, partial sequence	MF774790.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pABC106-OXA transposon Tn1999.2, partial sequence	MF774787.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ISEcp1 transposase (tnpA) and class D carbapenemase (blaOXA-181) genes, complete cds	MF774789.1

45. táblázat A GenBank-ban elhelyezett teljes plazmid szekvenciák

Közlemény	Szekvencia/gén	GenBank szám
XVI	<i>Escherichia coli</i> strain BA76 plasmid pBA76-MCR-1, complete sequence	KX013540.1
	<i>Escherichia coli</i> strain BA77 plasmid pBA77-MCR-1, complete sequence	KX013539.1
	<i>Escherichia coli</i> strain ABC149 plasmid pABC149-MCR-1, complete sequence	KX013538.1
	<i>Escherichia coli</i> strain SA26 plasmid pSA26-MCR-1, complete sequence	KU743384.1
XVII	<i>Escherichia coli</i> strain KW53T plasmid pKW53T-NDM, complete sequence	KX214669.1
	<i>Escherichia coli</i> strain OM26 plasmid pOM26-1, complete sequence	KP776609.1
	<i>Escherichia coli</i> strain ABC133 plasmid pABC133-NDM, complete sequence	KX214671.1
	<i>Escherichia coli</i> strain ABC218 plasmid pABC218-NDM, complete sequence	KX214670.1
XVIII	<i>Escherichia coli</i> strain OM97 plasmid pOM97-mcr, complete sequence	KY693674.1
XIX	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pABC143C-NDM, complete sequence	KY130431.1
XXII	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pABC120-OXA, complete sequence	MF774791.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> plasmid pABC120-OXA, complete sequence	MF774791.1
XXIV	<i>Escherichia coli</i> strain ABC239 plasmid pABC239-OXA-181, complete sequence	MK412916.1
	<i>Escherichia coli</i> strain ABC264 plasmid pABC264-OXA-181, complete sequence	MK412917.1
	<i>Escherichia coli</i> strain ABC356 plasmid pABC356, complete sequence	MK412918.1
	<i>Escherichia coli</i> strain ABC381 plasmid pABC381-OXA-181, complete sequence	MK412919.1
	<i>Escherichia coli</i> strain ABC233 plasmid pABC233-NDM-5, complete sequence	MK372390.1
	<i>Escherichia coli</i> strain ABC384 plasmid pABC384-NDM-5, complete sequence	MK372389.1
	<i>Escherichia coli</i> strain ABC54 plasmid pABC54-NDM-1, complete sequence	MK372382.1
	<i>Escherichia coli</i> strain BC836 plasmid pBC836-NDM-1, complete sequence	MK372387.1
	<i>Escherichia coli</i> strain ABC280 plasmid pABC280-NDM-5, complete sequence	MK372392.1
	<i>Escherichia coli</i> strain ABC268 plasmid pABC268-NDM-5, complete sequence	MK372391.1
	<i>Enterobacter cloacae</i> strain ABC40 plasmid pABC40-NDM-1, complete sequence	MK372380.1
	<i>Enterobacter cloacae</i> strain ABC302 plasmid pABC302-NDM-4, complete sequence	MK372388.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain BC-13-947 plasmid pBC947-OXA-181, complete sequence	MK412920.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain ABC260 plasmid pABC260-OXA-181, complete sequence	MK412915.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain ABC369 plasmid pABC369-NDM-5, complete sequence	MK372393.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain ABC137 plasmid pABC137-NDM-1	MK372384.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain ABC220 plasmid pABC220-KPC-2, complete sequence	MK412914.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain ABC52 plasmid pABC52-NDM-1, complete sequence	MK372381.1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain BC700 plasmid pBC700-NDM-1, complete sequence	MK372386.1
	<i>Citrobacter freundii</i> strain ABC80 plasmid pABC80-NDM-1, complete sequence	MK372383.1
<i>Morganella morganii</i> strain ABC140 plasmid pABC140-NDM-1, complete sequence	MK372385.1	

46. táblázat Az European Nucleotide Archiveban elhelyezett teljes baktérium genom readok

Közlemény	Project cím	Törzsek száma	Project szám
XXVII	Comparison of carbapenemase producing <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST14 isolated in the Arabian Peninsula	39	PRJEB44852
XXVIII	Nation-wide surveillance of carbapenem resistant <i>Enterobacteriaceae</i> in the United Arab Emirates	100	PRJEB50277
XXIX	Diversity of MCR-1 producing <i>Enterobacterales</i> isolated in poultry farms in the United Arab Emirates	39	PRJEB49171