

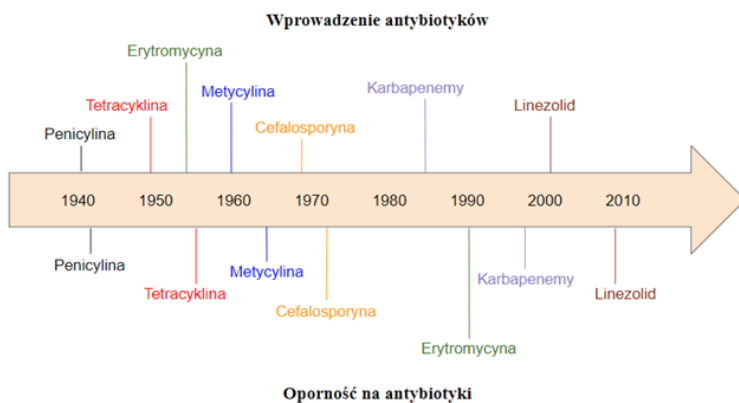
# Charakterystyka lekooporności bakterii ze szczególnym uwzględnieniem oporności typu KPC

## STRESZCZENIE

Jednym z głównych problemów współczesnej medycyny jest zjawisko lekooporności. Za najważniejszą przyczynę pojawiania się nowych mechanizmów oporności u drobnoustrojów uznaje się nieodpowiednie stosowanie antybiotyków. Powszechnie za najskuteczniejszą grupę środków przeciwdrobnoustrojowych uważa się należące do  $\beta$ -laktamów karbapenemy. Niestety w wyniku długotrwałej ekspozycji na wspomniane leki bakterie wykształciły kilka mechanizmów umożliwiających im przetrwanie. Najważniejszym z nich jest produkcja enzymów hydrolitycznych (karbapenemazy), które rozszczepiają pierścień  $\beta$ -laktamowy i inaktywują antybiotyki. Wspomniane enzymy są kodowane przez geny *bla*KPC, które są zlokalizowane w tzw. ruchomych elementach genetycznych, tj. plazmidach i transpozonach. Takie położenie wiąże się z łatwością ich przenoszenia między różnymi gatunkami bakterii w procesie horyzontalnego transferu genów.

## WPROWADZENIE

Szybkie tempo rozwoju zjawiska lekooporności wśród bakterii stało się poważnym problemem globalnym, a oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe stanowi jedno z największych wyzwań współczesnej medycyny i weterynarii [1]. Pojawienie się lekooporności zaobserwowano zaledwie rok po wprowadzeniu do użytku penicyliny. Sytuacja powtarzała się po wprowadzaniu na rynek każdej nowej klasy antybiotyków, a zjawisko oporności na antybiotyki narastało (Ryc. 1).



Rycina 1. Oś czasu ewolucji antybiotyków i oporności na nie.

Za główny powód stale wzrastającej liczby drobnoustrojów lekoopornych uważa się nadmierne przepisywanie antybiotyków przez lekarzy oraz zbyt częste i nieodpowiednie ich stosowanie podczas leczenia zarówno ludzi, jak i zwierząt. Zjawisko to stanowi ogromne zagrożenie zdrowia publicznego, ponieważ geny oporności mogą być łatwo przenoszone między patogenami ludzkimi i zwierzęcymi (może odbywać się to bezpośrednio poprzez łańcuch pokarmowy). Do pogłębienia omawianego problemu przyczynia się także rosnąca każdego roku mobilność ludności oraz produktów żywnościowych [2,3].

Obecnie największym zagrożeniem są tak zwane organizmy wielolekooporne (ang. *multidrug resistant organisms*, MDRO), do których zalicza się mikroorganizmy oporne na więcej niż jedną klasę środków przeciwdrobnoustrojowych. Istnieją różne rodzaje mechanizmów oporności obserwowanych u drobnoustrojów, takie jak naturalna oporność na określony antybiotyk, mutacje genetyczne lub oporność nabyta w wyniku np. horyzontalnego transferu (Ryc. 2). Do MDRO należą m.in.: *Staphylococcus aureus* oporny na metycylinę (MRSA), gatunki *Enterococcus* oporne na wankomycynę (VRE) oraz bakterie Gram-ujemne

mgr Michalina Gniewosz<sup>1</sup>,

dr Sylwia Andrzejczak-Grządko<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup>Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Zielonogórski

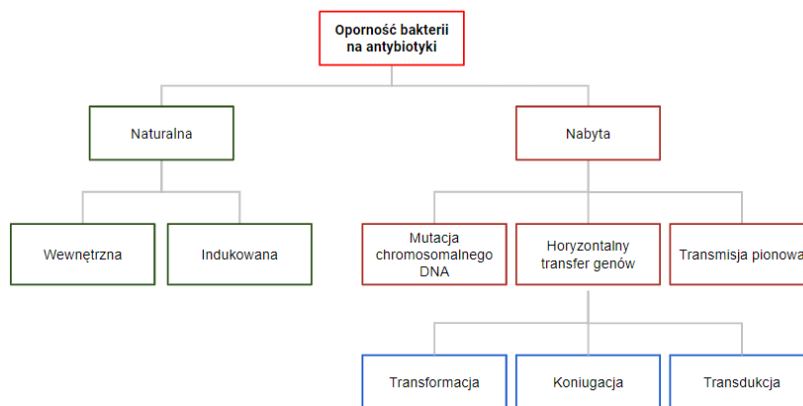
<sup>2</sup>Katedra Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Uniwersytet Zielonogórski

[https://doi.org/10.18388/pb.2021\\_555](https://doi.org/10.18388/pb.2021_555)

✉ autor korespondujący: s.andrzejczak-grzadko@wnb.uz.zgora.pl

Słowa kluczowe: antybiotykooporność, *Enterobacteriaceae*, karbapenemazy, KPC

Wykaz skrótów: MDRO – organizmy wielolekooporne (ang. *multidrug resistant organisms*); MRSA – gronkowiec złocisty oporny na metycylinę (ang. *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*); VRE – gatunki *Enterococcus* oporne na wankomycynę (ang. *vancomycin-resistant Enterococcus*); ESBL –  $\beta$ -laktamazy o rozszerzonym spektrum działania (ang. *extended-spectrum beta-lactamases*); CRE – *Enterobacteriaceae* oporne na karbapenemy (ang. *carbapenem-resistant Enterobacteriaceae*); IMI –  $\beta$ -laktamazy hydrolizujące imipenem (ang. *imipenemase*), NMC – karbapenemazy „niemetaliczne” (ang. *non-metallo carbapenemase*), KPC – karbapenemazy pochodzące od *Klebsiella pneumoniae* (ang. *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*), GES – laktamazy o rozszerzonym spektrum pochodzące z Gujany (ang. *Guyana extended-spectrum-lactamase*); SME – karbapenemazy pochodzące od *Serratia marcescens* (ang. *Serratia marcescens carbapenemase*); IMP – imipenemazy (ang. *imipenemase metallo- $\beta$ -lactamase*); GIM (ang. *German imipenemase*), VIM (ang. *Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase*), NDM (ang. *New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase*); SIM (ang. *Seoul imipenemase*); OXA – oksacylinazy (ang. *oxacillinase*); EDTA – kwas wersenowy (ang. *ethylenediaminetetraacetic acid*); PCR – reakcja łańcuchowa polimerazy (ang. *polymerase chain reaction*); MHT – zmodyfikowany test Hodge'a (ang. *modified Hodge test*); CDT – test dyskowy (ang. *combined disk test*), DDST – test synergii podwójnych dysków (ang. *double disc synergy test*)



Rycina 2. Podział oporności bakterii na antybiotyki.

wytwarzające beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum (ESBL). Jedną z najważniejszych grup, której dotyczy problem lekooporności, jest rodzina *Enterobacteriaceae* (pałeczki jelitowe) [4-6].

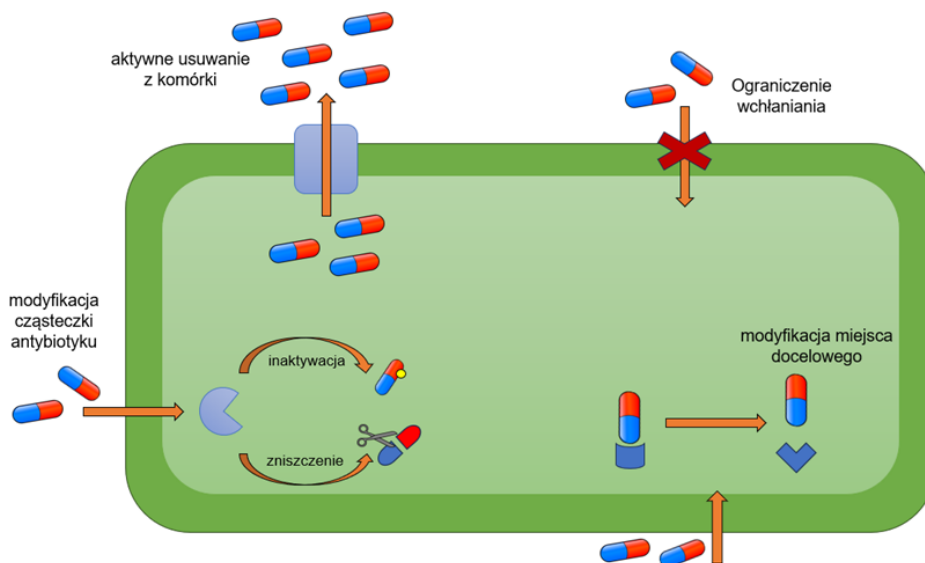
Szybkie rozprzestrzenianie się oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe w populacjach bakterii jest wynikiem kilku złożonych procesów. Do najważniejszych mechanizmów oporności na antybiotyki można zaliczyć:

- modyfikację cząsteczki antybiotyku – jest ona możliwa dzięki produkcji enzymów (np. beta-laktamaz), które inaktywują lub niszczą lek poprzez przyłączenie do jego struktury określonych ugrupowań chemicznych,
- ograniczanie wchłaniania – proces ten polega na zmniejszeniu wychwytu cząsteczki leku, co zapobiega jego dotarciu do celu wewnątrzkomórkowego lub peryplazmatycznego (szczególnie ważny w przypadku bakterii Gram-ujemnych),
- modyfikację miejsca docelowego – powszechnie stosowana przez bakterie strategia, która skutkuje zmniejszonym powinowactwem do cząsteczki antybiotyku; zmiany te

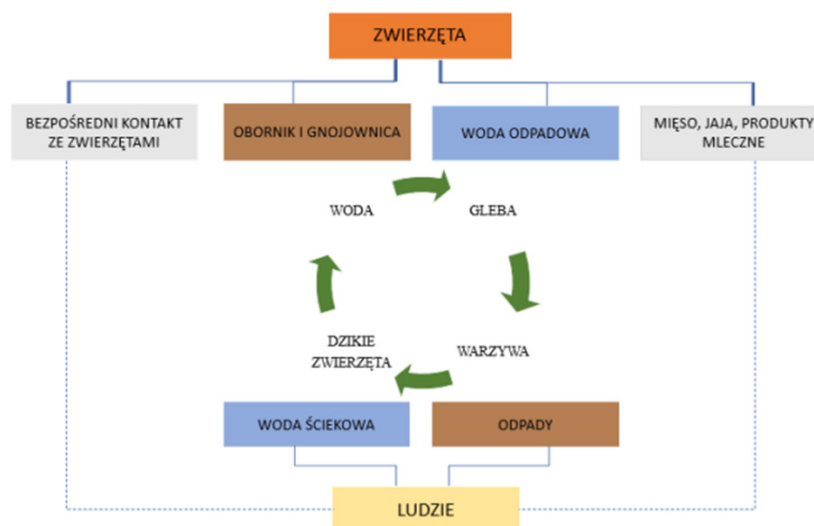
mogą obejmować: mutacje punktowe w genach kodujących miejsce docelowe, zmiany enzymatyczne miejsca wiązania (np. dodanie grup metylowych) oraz zastąpienie lub ominięcie pierwotnego celu,

- aktywne usuwanie z komórki – możliwe dzięki obecności w błonie komórkowej białek transportujących (ang. *efflux pumps*), które usuwają substancje toksyczne (w tym antybiotyki) z wnętrza komórek do środowiska zewnętrznego (Ryc. 3) [7-9].

Antybiotyki są szeroko stosowane w leczeniu, kontroli i profilaktyce chorób nie tylko u ludzi, ale także u zwierząt. Coraz częściej środki te są stosowane jako dodatek do pasz lub wody pitnej m.in. w celu stymulacji tempa wzrostu bydła [10]. Niestety nadmierne podawanie środków przeciwdrobnoustrojowych oraz zbyt krótki czas ich stosowania prowadzi do pojawiania się i ewolucji nowych szczepów bakterii lekoopornych [11]. Bliski kontakt zwierząt hodowlanych i domowych z człowiekiem ułatwia rozprzestrzenianie się genów oporności wśród bakterii. Drobnoustroje lekooporne mogą być przenoszone na ludzi głównie poprzez żywność, kontakt bezpośredni lub pośrednio przez szlaki środowiskowe – wodę, powietrze oraz glebę (Ryc. 4).



Rycina 3. Główne mechanizmy oporności na antybiotyki u bakterii.



Rycina 4. Model przenoszenia bakterii lekoopornych w środowisku naturalnym pomiędzy populacją ludzi a populacją zwierząt.

Coraz więcej danych pokazuje, że mimo braku bezpośredniego kontaktu z antybiotykami, dzikie zwierzęta są rezerwuarem bakterii lekoopornych. Za główny powód pojawiania się szczepów lekoopornych wśród dzikiej fauny uważa się nadmierną ingerencję człowieka w środowisko naturalne. Działalność ludzka przyczynia się m.in. do zmniejszania obszarów naturalnych siedlisk, przez co zwierzęta są zmuszone do poszukiwania pożywienia i schronienia bliżej domostw [12,13]. Jak podaje da Costa i in. [3] coraz częściej badacze identyfikują obecność mikroorganizmów wielolekoopornych (MDRO) u dzikich ptaków (np. mew) oraz ssaków (np. wilków, królików, nietoperzy, borsuków). Odkrycia te pokazują, że raz powstała oporność nie ogranicza się do niszy ekologicznej, w której pierwotnie się pojawiła. Za najważniejsze rezerwuary oraz wektory bakterii lekoopornych uważa się ptaki migrujące. Są one zdolne do przemieszczania się między różnymi krajami oraz kontynentami, dzięki czemu ułatwiają bakteriom rozprzestrzenianie i kolonizowanie nowych obszarów. Za główną drogę przenoszenia bakterii opornych pochodzenia ludzkiego na dzikie ptaki uważa się skażoną lekami wodę i żywność oraz odpady z wysypisk śmieci [14,15].

Antybiotyki karbapenemowe należą do  $\beta$ -laktamów i są powszechnie uważane za najskuteczniejsze w leczeniu zakażeń wywołanych przez najbardziej odporne bakterie. Ta klasa środków przeciwdrobnoustrojowych ma szersze spektrum działania, niż większość innych antybiotyków beta-laktamowych i jest skuteczna w walce przeciwko zarówno bakteriom Gram-dodatnim, jak i Gram-ujemnym. Niestety nadmierne stosowanie leków „ostatniej szansy” przyczynia się do coraz szybszego wzrostu liczby *Enterobacteriaceae* opornych na karbapenemy (CRE). Głównym mechanizmem oporności tych bakterii na karbapenemy jest produkcja enzymów – karbapenemaz, które są zdolne do ich inaktywacji. Wyróżnia się wśród nich klasy molekularne A, B, C i D, które różnią się między sobą nie tylko genetycznie i biochemicznie, ale także wykazują inne profile oporności. Geny kodujące karbapenemazy są zlokalizowane w tzw. ruchomych elementach genetycznych i mogą być

łatwo przenoszone między komórkami różnych gatunków bakterii (także tych odległych filogenetycznie), głównie za pośrednictwem horyzontalnego transferu genów [16-20].

#### CHARAKTERYSTYKA KARBAPENEMAZ

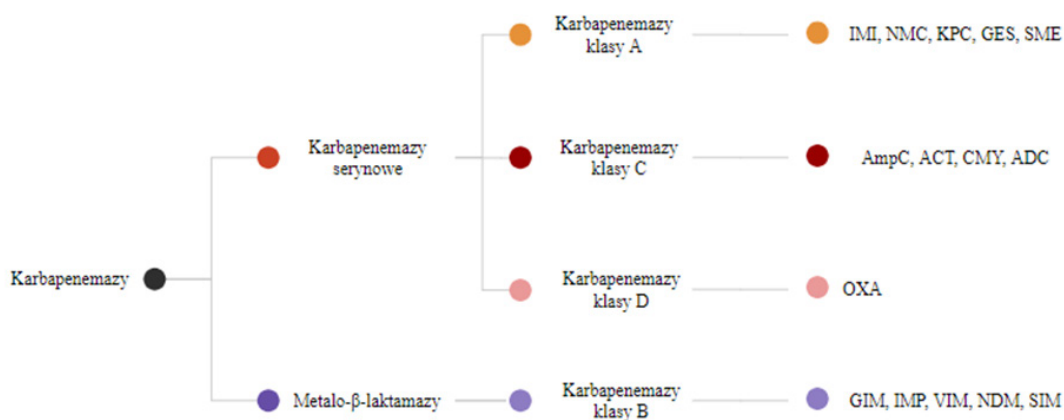
$\beta$ -laktamazy to bakteryjne enzymy hydrolityczne, z których wiele należy do dużej nadrodziny proteaz serynowych. Inaktywują one antybiotyki  $\beta$ -laktamowe poprzez katalityczne rozerwanie wiązania  $\beta$ -laktamowego [21,22]. Obecnie stosowane są dwa systemy klasyfikacji tych enzymów:

- system Bush-Jacoby-Medeiros (oparty na aktywności enzymów),
- system Amblera (oparty na informacjach sekwencyjnych) (Tab. 1)

Karbapenemazy to enzymy, które rozkładają antybiotyki karbapenemowe. Reprezentują one najbardziej wszechstronną rodzinę  $\beta$ -laktamaz i charakteryzują się wyjątkowo szerokim spektrum działania w porównaniu z innymi  $\beta$ -laktamazami. Karbapenemazy dzieli się na dwie główne grupy w oparciu o charakter ich miejsc aktywnych. Są to karbapenemazy serynowe należące do penicylinaz klasy A, cefalosporynaz klasy C i oksacylinaz klasy D oraz metalo- $\beta$ -laktamazy należące do karbapenemaz klasy B (Ryc. 5) [23].

Tabela 1. Porównanie systemów klasyfikacji  $\beta$ -laktamaz.

Klasyfikacja Bush-Jacoby-Medeiros	Klasyfikacja Amblera
Grupa I – cefalosporynazy (oporne na kwas klawulanowy)	Klasa A – penicylinyzy TEM, SHV, PC1, CTX-M, KPC
Grupa II – penicylinyzy (wrażliwe na kwas klawulanowy) 2a, 2b, 2be, 2br, 2c, 2d, 2e, 2f	Klasa B – metalo- $\beta$ -laktamazy (wymagają obecności Zn)
Grupa III – metalo- $\beta$ -laktamazy 3a, 3b, 3c	Klasa C – cefalosporynazy AmpC, P99
Grupa IV – różnorodne	Klasa D – oksacylina hydrolizująca enzymy



Rycina 5. Podział karbapenemaz wg klasyfikacji Amblera.

Karbapenemazy klasy A obejmują enzymy IMI – hydrolizujące imipenem (ang. *imipenemase*), NMC – karbapenemazy „niemetaliczne” (ang. *non-metallo carbapenemase*), KPC – karbapenemazy pochodzące od *Klebsiella pneumoniae* (ang. *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*), GES – laktamazy o rozszerzonym spektrum pochodzące z Gujany (ang. *Guyana extended-spectrum-lactamase*) i SME – karbapenemazy pochodzące od *Serratia marcescens* (ang. *Serratia marcescens carbapenemase*). Enzymy te hydrolizują karbapenemy, cefalosporyny, penicyliny i aztreonam. IMI, NMC i SME są kodowane chromosomalnie, podczas gdy GES i KPC są kodowane plazmidowo [23,24]. Najstarszymi opisanymi enzymami tej klasy są IMI i NMC-A wykryte w izolatach klinicznych *Enterobacter cloacae* w USA, Francji i Argentynie. Ich sekwencja aminokwasowa pokrywa się w 70% z enzymami SME (wszystkie zawierają konserwowane motywy miejsca aktywnego S-X-X-K, S-D-N i K-T-G β-laktamaz klasy A). Enzymy SME zostały zidentyfikowane wyłącznie u *S. marcescens*, a poznane warianty SME-1 – SME-5 różnią się od siebie w zakresie od jednej do trzech substytucji aminokwasowych. Od czasu zidentyfikowania pierwszego enzymu rodziny GES opisano ponad 40 jego wariantów, przy czym największą aktywność wobec karbapenemów wykazują GES-2 i GES-5. Najbardziej istotnymi klinicznie enzymami wśród karbapenemaz klasy A są KPC, ze względu na zdolność inaktywacji nie tylko karbapenemów, ale także większości β-laktamów [25-27].

Karbapenemazy klasy B obejmują metalo-β-laktamazy IMP – imipenemazy (ang. *imipenemase metallo-β-lactamase*) oraz GIM (ang. *German imipenemase*), VIM (ang. *Verona integron-encoded metallo-β-lactamase*), NDM (ang. *New Delhi metallo-beta-lactamase*) i SIM (ang. *Seoul imipenemase*). Ich aktywność hydrolityczna zależy od interakcji β-laktamów z jonami cynku w miejscach aktywnych tych enzymów. Karbapenemazy tej klasy hydrolizują karbapenemy i mają stosunkowo szeroki profil substratowy, który obejmuje cefalosporyny i penicyliny. Są one kodowane głównie w strukturach integronowych i są rozprzestrzeniane za pośrednictwem mobilnych elementów genetycznych, w szczególności plazmidów koniugacyjnych i transpozonów w horyzontalnym transferze genów [16,28]. Jedną z najistotniejszych klinicznie karbapenemaz tej klasy, NDM-1 została po raz pierwszy

wykryta w 2008 r. w *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*. Do tej pory opisano 15 wariantów tego enzymu, a większość z nich pochodzi z Azji. Karbapenemazę IMP-1 wyizolowano po raz pierwszy w 1991 roku w Japonii ze szczepu *S. marcescens*. Obecnie enzymy tej grupy wykrywane są u klinicznie ważnych pałeczek Gram-ujemnych m.in. *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.* i *Enterobacteriaceae* [25,26].

Do karbapenemaz klasy D należą głównie enzymy OXA – oksacylinazy (ang. *oxacillinases*). Są one kodowane głównie plazmidowo, ale mogą być także chromosomalnie. Enzymy te hydrolizują oksacylinę, metycylinę i kloksacylinę. Ich cechą charakterystyczną jest brak zahamowania aktywności przez inhibitory β-laktamaz np. klawulanian czy EDTA [16,29]. Spośród ponad 400 β-laktamaz klasy D, tylko niektóre warianty posiadają aktywność karbapenemaz. W oparciu o ich sekwencję aminokwasową, karbapenemazy klasy D zostały niedawno przeklasyfikowane na 12 podgrup, z których OXA-48 jest najbardziej rozpowszechnioną na świecie (najczęściej wykrywana karbapenemaza u *Enterobacteriaceae*). Po raz pierwszy została wyizolowana od *K. pneumoniae* w 2003 roku w Turcji i do tej pory zidentyfikowano 10 wariantów genu *bla*<sub>OXA-48</sub> [26,27].

β-laktamazy klasy C (cefalosporynazy AmpC) nadają oporność na penicylinę, oksyminocefalosporyny, cefamycyny (cefoksytynę i cefotetan) oraz zmiennie na aztreonam [25]. Kodowany plazmidowo enzym ACC-1, zidentyfikowany w komórkach różnych pałeczek tj. *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica* i *E. coli*, powoduje występowanie wrażliwości izolatów na cefoksytynę, przy jednoczesnej oporności na oksyminocefalosporyny [30]. Enzymy AmpC mogą być kodowane chromosomalnie, zarówno u enterobakterii tj. *E. cloacae* i *S. marcescens*, jak i innych pałeczek np. *Pseudomonas aeruginosa* [31]. Jak podaje Meletis opisano kilka cefalosporynaz AmpC wykazujących aktywność karbapenemaz tj. ACT-1, CMY-2, CMY-10, ADC-68, które są kodowane głównie plazmidowo [17]. Pierwszym tego typu enzymem była CMY-10, która jednocześnie była enzymem typu ESBL (ang. *extended-spectrum beta-lactamases*), wykazującym się rozszerzoną specyficznością substratową w stosunku do cefalosporyn o rozszerzonym spektrum [32]. Jousset i in. wykazali, że *E. cloacae* może kodować chromosomalnie enzym AmpC typu ACT-28 o nieznacznie zwiększonej

szzonej zdolności do hydrolizy imipenemu w porównaniu z ACT-1 [33]. Badania wskazują, że AmpC o aktywności karbapenemaz występują rzadko, natomiast ich wydajność jest stosunkowo niska i tylko nadprodukcja enzymu w połączeniu ze zmniejszoną przepuszczalnością błony bakterii przyczynia się do uzyskania oporności na antybiotyki [34,35].

#### OPORNOŚĆ TYPU KPC

Karbapenemazy KPC zostały po raz pierwszy opisane w 2001 roku w Karolinie Północnej (USA). Pierwszy enzym, KPC-1, wyizolowano z klinicznego szczepu *K. pneumoniae*. Analizy wykazały jego najbliższe podobieństwo do  $\beta$ -laktamaz hydrolizujących karbapenemy klasy A, w szczególności do SME-1 *S. marcescens* (45% identyczności). KPC-1 miała zdolność do hydrolizy  $\beta$ -laktamów z grupy penicylin, cefalosporyn, karbapenemów i monobaktamów. Zarówno kwas klawulanowy, jak i tazobaktam hamowały jej aktywność, przy czym tazobaktam był lepszym inhibitorem KPC-1, niż kwas klawulanowy. Podobieństwo KPC-1 do SME-1 na poziomie 45% oraz jeszcze mniejsze do enzymów IMI-1 i NMC-A sugerują, że KPC-1 wyewoluowała z innego typu enzymów, niż pozostałe trzy, bliżej spokrewnione karbapenemazy klasy A [36]. Jak dotąd najbliższym filogenetycznie spokrewnionym enzymem z KPC jest inna karbapenemaza klasy A, tj. SFC-1, wyizolowana z *S. fonticola* [37].

W ciągu kilku lat od identyfikacji pierwszej karbapenemazy opisywano następne warianty enzymów. W 2003 pojawiło się doniesienie o odmianie KPC-2 [38], jednak dokładne analizy wykazały, że KPC-1 i KPC-2 stanowią ten sam enzym, w związku z tym obecnie określa się oba jako KPC-2 [39]. Następujące szybko mutacje w genie kodującym ten typ enzymów spowodowały wystąpienie w krótkim czasie dalszych wariantów karbapenemaz tj. KPC-3 [40] i KPC-4 [41].

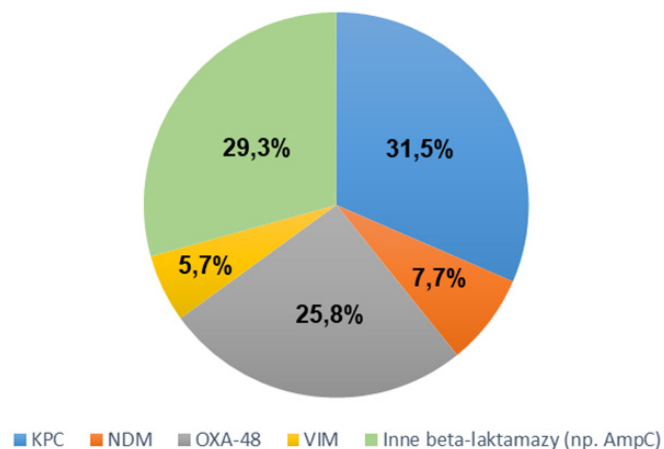
Pierwsze ognisko *K. pneumoniae* wytwarzającej KPC poza Stanami Zjednoczonymi odnotowano w 2005 roku w Izraelu [42]. Obecnie bardzo często donosi się o występowaniu KPC w różnych częściach globu, tj. w Azji, Ameryce Południowej i Europie [43]. KPC wykryto także u innych przedstawicieli rodziny *Enterobacteriaceae*, tj. *E. coli*, *K. oxytoca*, *S. enterica*, *S. marcescens*, *Citrobacter freundii* czy *Enterobacter* spp. Natomiast w roku 2007, ponownie w USA, pojawiły się pierwsze izolaty pałeczek spoza rodziny *Enterobacteriaceae* wykazujące ekspresję KPC, tj. *P. aeruginosa* [44].

Enzymy KPC-2 i KPC-3 są najczęściej izolowanymi karbapenemazami na całym świecie, jednak w ciągu dwudziestu lat zidentyfikowano kilkadziesiąt izotypów, będących coraz to nowymi wariantami znanych już enzymów [39,45-52].

Oporność typu KPC jest mechanizmem najczęściej identyfikowanym u bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* [53]. Rycina 6 przedstawia rozkład procentowy mechanizmów oporności u *K. pneumoniae* w Europie.

Spośród karbapenemaz grupy A, rodzina KPC ma największy potencjał rozprzestrzeniania się ze względu na lokalizację genów kodujących głównie na plazmidach [54].

#### *K. pneumoniae* oporne na karbapenemy (n = 1203)



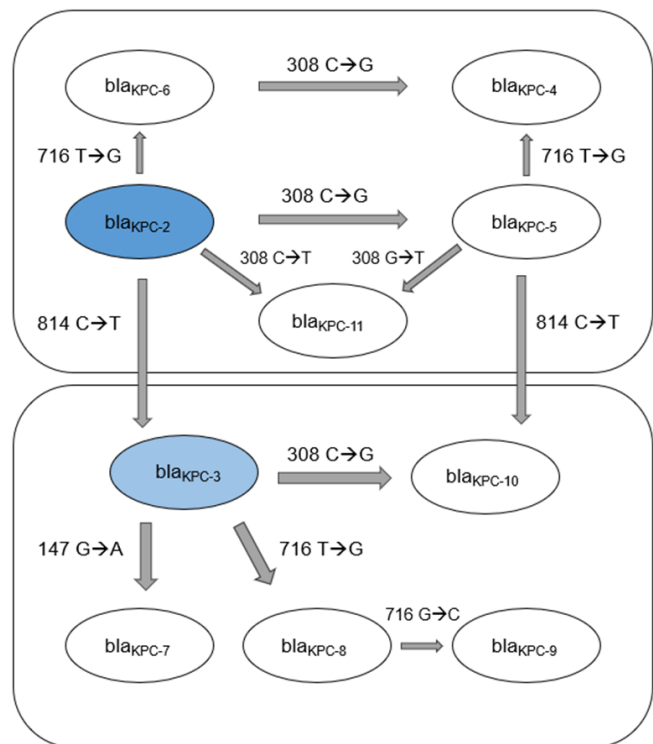
Rycina 6. Rozkład mechanizmów oporności na karbapenemy w badaniu *European Survey on Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae* (EuSCAPE) [53]

Enzymy KPC najczęściej izolowane są od *K. pneumoniae*, tj. mikroorganizmu, który znany jest ze swojej zdolności do gromadzenia i przenoszenia determinantów oporności [55-58]. W transmisji genów KPC pośredniczyć mogą nie tylko małe elementy genetyczne. Bardzo istotne jest również rozprzestrzenianie klonalne [59]. Jak podaje Bonnin i in. do rozprzestrzeniania się oporności typu KPC na świecie znacząco przyczynił się klon *K. pneumoniae* ST258 oraz ST512 (wariant pojedynczego locus). W Azji (szczególnie w Chinach) najczęściej zgłaszanym wariantem wśród izolatów tego szczepu jest ST11 (wariant sekwencji ST258) [60].

#### MOLEKULARNE MECHANIZMY OPORNOŚCI TYPU KPC

Karbapenemazy KPC są kodowane przez geny  $bla_{KPC}$ . Ich pierwotne źródło pozostaje nieznane, ale jest prawdopodobne, że mogą mieć pochodzenie starożytne i są związane z niezidentyfikowanym mikroorganizmem środowiskowym. Obecny „sukces” KPC jest przede wszystkim konsekwencją zdolności do transmisji oraz olbrzymią presją selekcyjną antybiotyków wprowadzanych do środowiska przez człowieka [61].

Geny  $bla_{KPC}$  mają duży potencjał do łatwego rozprzestrzeniania się między wieloma gatunkami drobnoustrojów [29]. Spowodowane jest to ich lokalizacją w transpozonie Tn4401 – mobilnym elemencie genetycznym, należącym do rodziny transpozonów prostych Tn3, który jest zdolny do insercji do różnych plazmidów bakterii [62]. Cechą charakterystyczną elementu Tn4401 jest polimorfizm struktury będący następstwem delekcji sekwencji w pobliżu genów  $bla_{KPC}$ . Skutkiem tego może być zmieniony poziom ekspresji, wynikający np. ze zmian w obrębie promotora [63-66]. Aktywne transpozony typu Tn4401 mają tendencję do duplikacji z wysoką częstotliwością, zarówno w obrębie plazmidów, jak i pomiędzy plazmidami i chromosomem bakteryjnym. Następstwem tego jest zwiększenie liczby kopii genów  $bla_{KPC}$  w komórce, które tym łatwiej są przenoszone na coraz to nowe plazmidy [67]. Geny  $bla_{KPC}$  zlokalizowane mogą być również na innych strukturach opisywanych jako struktury NTE<sub>KPC</sub> tj. „inne

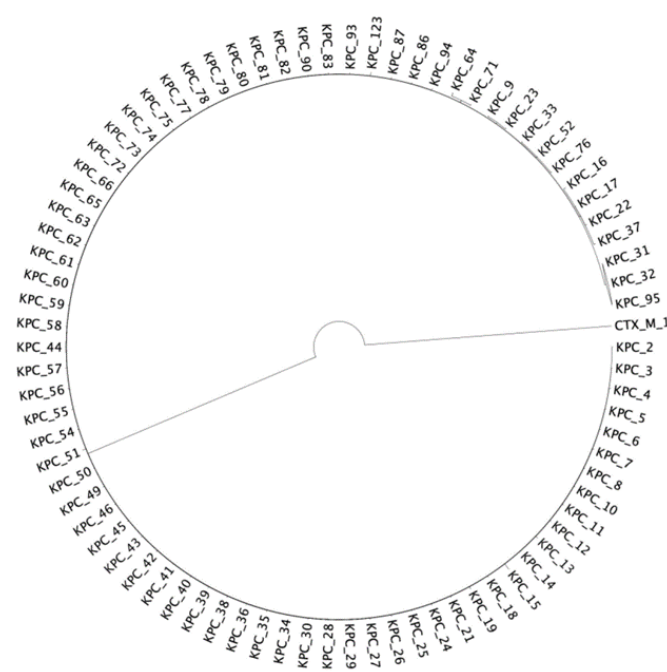


Rycina 7. Hipotetyczna ewolucja wariantów *bla*<sub>KPC</sub>, oparta na zmianach pojedynczych nukleotydów i proponowana kolejność ich różnicowania.

niż Tn4401", które w swojej budowie zawierają fragmenty Tn4401 oraz fragmenty innych elementów ruchomych [68]. Przypuszcza się, że mogły one ułatwić mobilizację *bla*<sub>KPC</sub> ze względu na ich mniejszy rozmiar i wyższe częstotliwości transpozycji [69].

Geny *bla*<sub>KPC</sub> są przenoszone przez wiele typów plazmidów m.in. IncA/C, ColE, IncFIA, IncI2, IncFII, IncL/M, IncN, IncP, IncR, IncU, IncW i IncX. Za najważniejsze w rozprzestrzenianiu genów kodujących karbapenemazy uważa się IncF, IncA/C i IncX, w tym specyficzne cząsteczki składające się z dwóch replikonów IncFIIK +IncFIBK, określanych jako typ pKpQIL [70,71]. Badania plazmidów przenoszących *bla*<sub>KPC</sub> pochodzących od *K. pneumoniae* pokazały, że zawierają one również kilka inne genów kodujących oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe, takie jak aminoglikozydy, chinolony, trimetoprim, sulfonamidy i tetracykliny. Odkrycia te zwiększają złożoność kontrolowania rozprzestrzeniania się tych plazmidów, ponieważ koselekcja prowadzi do przenoszenia oporności wielolekowej wśród członków *Enterobacteriaceae* [26,72,73]. Jak podkreśla Chen i in. w przeciwieństwie do innych genów karbapenemaz, *bla*<sub>KPC</sub> są obecne głównie w plazmidach u *Enterobacteriaceae*, jednak dostępne raporty zidentyfikowały je w chromosomie *P.aeruginosa*, co pokazuje, że geny te mogą transponować z plazmidu i integrować się z genomem gospodarza [74].

Geny kodujące KPC charakteryzują się niesynonimicznymi pojedynczymi podstawieniami nukleotydów w czterech kodonach (nukleotydy 147, 308, 716 i 814). Przyjmuje się, że mutacje genu *bla*<sub>KPC-2</sub> doprowadziły do pojawienia się kolejnych wariantów (Ryc. 7) [75].



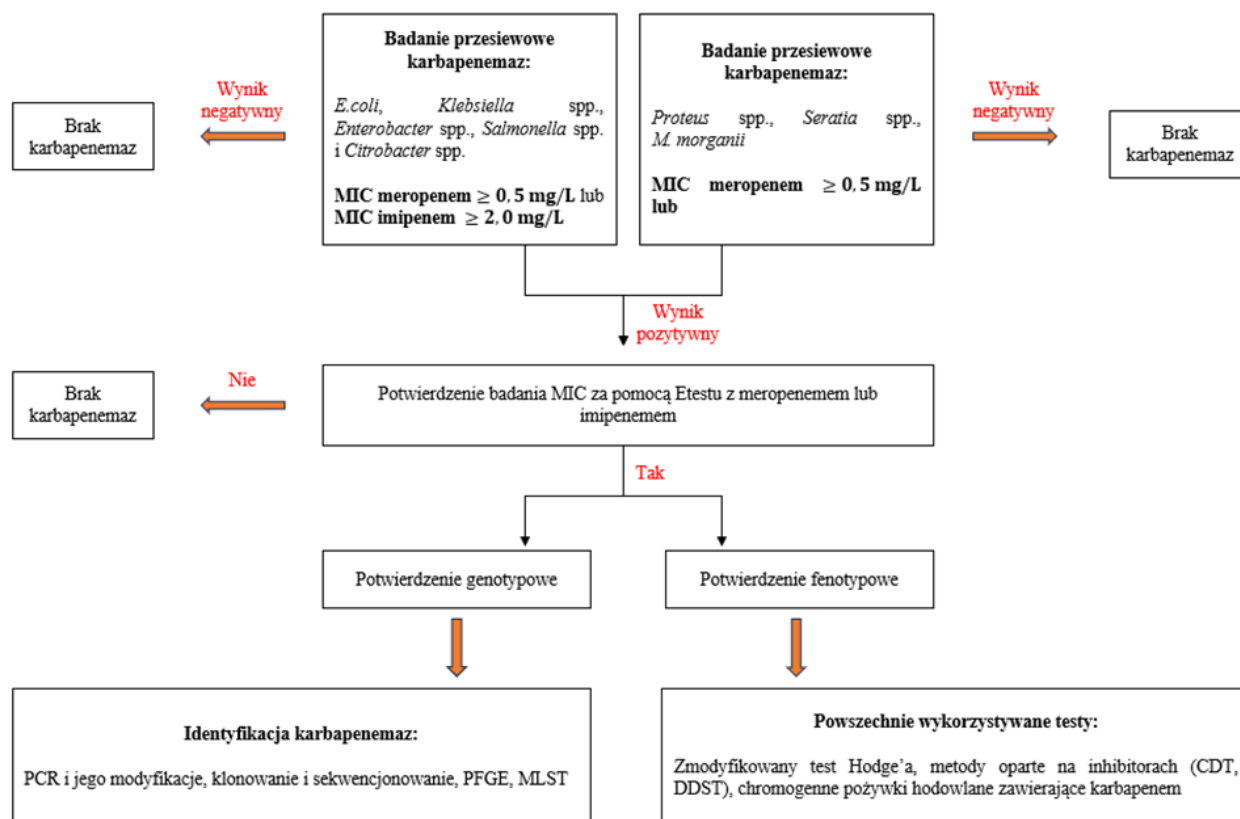
Rycina 8. Podrzewo KPC [76].

Garsevanyan i Barlow dopasowali 82 unikalnych sekwencji aminokwasów KPC, dzięki czemu zrekonstruowali drzewo filogenetyczne genów *bla*<sub>KPC</sub> (Ryc. 8) [76].

#### METODY IDENTYFIKACJI KARBAPENEMAZ

Odpowiednie wykrywanie opornych na karbapenemy *Enterobacteriaceae* ma kluczowe znaczenie dla opieki nad pacjentem oraz kontroli rozprzestrzeniania się w środowisku. Techniki molekularne są złotym standardem wykorzystywanym do identyfikacji, różnicowania oraz oceny częstości występowania różnych klas karbapenemaz. Większość z nich opiera się na reakcji PCR oraz jej modyfikacjach m.in. PCR w czasie rzeczywistym (ang. *real-time PCR*), po której może nastąpić sekwencjonowanie, jeśli jest to konieczne do dokładnej identyfikacji karbapenemazy [77]. Rutynowe wykrywanie enzymów w laboratoriach opiera się na zastosowaniu metod fenotypowych, które charakteryzuje wysoka czułość i swoistość [78]. Do najpopularniejszych należą:

- zmodyfikowany test Hodge'a (MHT, ang. *modified Hodge test*),
- metody oparte na inhibitorach, m.in. Etest, test dyskowy CDT (ang. *combined disk test*), test DDST (ang. *double disc synergy test*),
- metody hodowlane (opierające się na wykorzystaniu selektywnych podłoży hodowlanych z agarem chromogenym np. CHROMagarKPC),
- metody biochemiczne (spektrofotometria UV, spektrometria masowa) [78-80].



Rycina 9. Schemat wykrywania karbapenemaz u *Enterobacteriaceae*.

Ogólny schemat wykrywania karbapenemaz obejmuje etap przesiewowy, po którym następuje etap potwierdzenia fenotypowego i genotypowego przedstawiony na rycinie 9.

## PODSUMOWANIE

Od momentu odkrycia, antybiotyki pozwoliły uratować wiele istnień ludzkich na całym świecie. Niestety ich nadmierne stosowanie przyczynia się do pojawiania i ewolucji lekooporności wśród drobnoustrojów. Mikroorganizmy wykształciły różne mechanizmy oporności, a za najważniejszy można uznać zdolność do produkcji enzymów, które modyfikują strukturę leku tak, że staje się on nieaktywny. Szczególne zagrożenie dla zdrowia publicznego stanowią organizmy wielolekooporne (MDRO), które są niewrażliwe na wiele klas antybiotyków oraz bakterie odporne na „leki ostatniej szansy” (karbapenemy). Karbapenemazy należą do rodziny  $\beta$ -laktamaz. Wśród nich występują enzymy KPC, które charakteryzują się wyjątkowo szerokim spektrum działania. Są one kodowane przez geny *blaKPC*, które dzięki lokalizacji w mobilnych elementach genetycznych mogą być łatwo przekazywane między drobnoustrojami w procesie HGT. Coraz częściej karbapenemazy KPC są wykrywane wśród szczepów nie należących do rodziny *Enterobacteriaceae* – np. *Pseudomonas* spp. i *Acinetobacter* spp. Pokazuje to, że oporność na daną grupę antybiotyków może być przenoszona nie tylko między bakteriami tej samej rodziny, ale także międzygatunkowo. Coraz więcej danych pokazuje, że zarówno zwierzęta gospodarskie, jak i dzikie są rezerwuarami oraz wektorami bakterii lekoopornych.

Sytuacja ta spowodowana jest nadmiernym wykorzystywaniem leków przez człowieka (m.in. w weterynarii) oraz nieodpowiednią ich utylizacją. Niezwykle istotne jest zatem prowadzenie dalszych badań nad omawianym zjawiskiem lekooporności, które pozwolą pogłębić i poszerzyć wiedzę w danym temacie, ale także zwiększyć świadomość społeczeństwa poprzez odpowiednią edukację.

## PIŚMIENNICTWO:

- Sobierajski T, Mazińska B, Chajęcka-Wierzchowska W, Śmialek M, Hryniewicz W (2022) Antimicrobial and Antibiotic Resistance from the Perspective of Polish Veterinary Students: An Inter-University Study. *Antibiotics* (Basel) 11(1):115
- Landers TF, Cohen B, Wittum TE, Larson EL (2012) A Review of Antibiotic Use in Food Animals: Perspective, Policy, and Potential. *Public Health Rep* 127(1):4-22
- da Costa PM, Loureiro L, Matos AJ (2013) Transfer of multidrug-resistant bacteria between intermingled ecological niches: the interface between humans, animals and the environment. *Int J Environ Res Public Health* 10(1):278-294
- van Duin D, Paterson DL (2016) Multidrug-Resistant Bacteria in the Community: Trends and Lessons Learned. *Infect Dis Clin North Am* 30(2):377-390
- Parmanik A, Das S, Kar B, Bose A, Dwivedi GR, Pandey MM (2022) Current Treatment Strategies Against Multidrug-Resistant Bacteria: A Review. *Curr Microbiol* 79(12):388
- Gall E, Long A, Hall KK (2020) Infections Due to Other Multidrug-Resistant Organisms. In: Hall KK, Shoemaker-Hunt S, Hoffman L, et al. *Making Healthcare Safer III: A Critical Analysis of Existing and Emerging Patient Safety Practices* [Internet]. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US)
- Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Biondo C (2021) Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens* 10(10):1310

8. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G (2014) Textbook of Diagnostic Microbiology, W: St. Louis: Saunders. Antimicrobial agent mechanisms of action and resistance, str. 254–273
9. Munita JM, Arias CA (2016) Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr* 4(2):481–511
10. Economou V, Gousia P (2015) Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. *Infect Drug Resist* 8:49–61
11. Marshall BM, Levy SB (2011) Food animals and antimicrobials: Impacts on human health. *Clin Microbiol Rev* 24(4):718–733
12. Hassell JM, Ward MJ, Muloi D, Bettridge JM, Robinson TP, Kariuki S, Ogendo A, Kiiru J, Imboma T, Kang'ethe EK, Öghren EM, Williams NJ, Begon M, Woolhouse M, Fèvre EM (2019) Clinically relevant antimicrobial resistance at the wildlife-livestock-human interface in Nairobi: an epidemiological study. *Lancet Planetary Health* 3(6):259–269
13. Plaza-Rodríguez C, Alt K, Grobbel M, Hammerl JA, Irrgang A, Szabo I, Stingl K, Schuh E, Wiehle L, Pfefferkorn B, Naumann S, Kaesbohrer A, Tenhagen BA (2021) Wildlife as Sentinels of Antimicrobial Resistance in Germany? *Front Vet Sci* 7:627821
14. Bonnedahl J, Järhult JD (2014) Antibiotic resistance in wild birds. *Ups J Med Sci* 119(2):113–116
15. Elsohaby I, Samy A, Elmoslemay A, Alorabi M, Alkafay M, Aldowriej A, Al-Marri T, Elbehiry A, Fayed M (2021) Migratory Wild Birds as a Potential Disseminator of Antimicrobial-Resistant Bacteria around Al-Asfar Lake, Eastern Saudi Arabia. *Antibiotics (Basel)* 10(3):260
16. Queenan AM, Bush K (2007) Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 20(3):440–58
17. Meletis G (2016) Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *Ther Adv Infect Dis* 3(1):15–21
18. Cui X, Zhang H, Du H (2019) Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Detection and Antimicrobial Therapy. *Front Microbiol* 10:1823
19. Anderson R, Boerlin P (2020) Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in animals and methodologies for their detection. *Can J Vet Res* 84(1):3–17
20. Aurilio C, Sansone P, Barbarisi M, Pota V, Giaccari LG, Coppolino F, Barbarisi A, Passavanti MB, Pace MC (2022) Mechanisms of Action of Carbapenem Resistance. *Antibiotics (Basel)* 11(3):42
21. Helfand MS, Bonomo RA (2003) Beta-lactamases: a survey of protein diversity. *Curr Drug Targets Infect Disord* 3(1):9–23
22. Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, Colenso CK, Hirvonen VHA, Takebayashi Y, Spencer J (2019)  $\beta$ -Lactamases and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *J Mol Biol* 431(18):3472–3500
23. Aruhokama D (2020) Review of phenotypic assays for detection of extended spectrum  $\beta$ -lactamases and carbapenemases: a microbiology laboratory bench guide. *Afr Health Sci* 20(3):1090–1108
24. Nordmann P (2014) Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Overview of a major public health challenge. *Med Mal Infect* 44(2): 51–56
25. Jeon JH, Lee JH, Lee JJ, Park KS, Karim AM, Lee CR, Jeong BC, Lee SH (2015) Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *Int J Mol Sci* 16(5):9654–9692
26. Lee CR, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH (2016) Global Dissemination of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. *Front Microbiol* 7:895
27. Bonnin RA, Jousset AB, Emeraud C, Oueslati S, Dortet L, Naas T (2021) Genetic Diversity, Biochemical Properties, and Detection Methods of Minor Carbapenemases in Enterobacterales. *Front Med (Lausanne)* 7:616490
28. Hammoudi Halat D, Ayoub Moubareck C (2020) The Current Burden of Carbapenemases: Review of Significant Properties and Dissemination among Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics (Basel)* 9(4):186
29. Diene SM, Rolain JM (2014) Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect* 20(9):831–838
30. Bae DW, Jung YE, An YJ, Na JH, Cha SS (2019) Structural Insights into Catalytic Relevance of Substrate Poses in ACC-1. *Antimicrob Agents Chemother* 63(11):e01411–19
31. Jacoby GA (2009) AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 22(1):161–82
32. Kim JY, Jung HI, An YJ, Lee JH, Kim SJ, Jeong SH, Lee KJ, Suh PG, Lee HS, Lee SH, Cha SS (2006) Structural basis for the extended substrate spectrum of CMY-10, a plasmid-encoded class C beta-lactamase. *Mol Microbiol* 60(4):907–916
33. Jousset AB, Oueslati S, Bernabeu S, Takissian J, Creton E, Vogel A, Sauvadet A, Cotellon G, Gauthier L, Bonnin RA, Dortet L, Naas T (2019) False-Positive Carbapenem-Hydrolyzing Confirmatory Tests Due to ACT-28, a Chromosomally Encoded AmpC with Weak Carbapenemase Activity from *Enterobacter kobei*. *Antimicrob Agents Chemother* 63(5):e02388–18
34. Jeon JH, Hong MK, Lee JH, Lee JJ, Park KS, Karim AM, Jo JY, Kim JH, Ko KS, Kang LW, Lee SH (2014) Structure of ADC-68, a novel carbapenem-hydrolyzing class C extended-spectrum  $\beta$ -lactamase isolated from *Acinetobacter baumannii*. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 70:2924–2936
35. Hammoudi D, Ayoub Moubareck C, Aires J, Adame A, Barakat A, Fayad N, Hakime N, Houmani M, Itani T, Najjar Z, Suleiman M, Sarraf R, Karam Sarkis D (2014) Countrywide spread of OXA-48 carbapenemase in Lebanon: surveillance and genetic characterization of carbapenem-non-susceptible *Enterobacteriaceae* in 10 hospitals over a one-year period. *Int J Infect Dis* 29:139–144
36. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, Alberti S, Bush K, Tenover FC (2001) Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 45(4):1151–1161
37. Henriques I, Moura A, Alves A, Saavedra MJ, Correia A (2004) Molecular characterization of a carbapenem-hydrolyzing class A  $\beta$ -lactamase, SFC-1, from *Serratia fonticola* UTAD54. *Antimicrob Agents Chemother* 48(6):2321–2324
38. Smith Moland E, Hanson ND, Herrera VL, Black JA, Lockhart TJ, Hossain A, Johnson JA, Goering RV, Thomson KS (2003) Plasmid-mediated, carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-2, in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *J Antimicrob Chemother* 51(3):711–714
39. Wolter DJ, Kurpiel PM, Woodford N, Palepou MF, Goering RV, Hanson ND (2009) Phenotypic and enzymatic comparative analysis of the novel KPC variant KPC-5 and its evolutionary variants, KPC-2 and KPC-4. *Antimicrob Agents Chemother* 53(2):557–562
40. Woodford N, Tierno PM Jr, Young K, Tysall L, Palepou MF, Ward E, Painter RE, Suber DF, Shungu D, Silver LL, Inglima K, Kornblum J, Livermore DM (2004) Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing a new carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, KPC-3, in a New York Medical Center. *Antimicrob Agents Chemother* 48(12):4793–4799
41. Palepou MF, Woodford N, Hope R, Colman M, Glover J, Kaufmann ME, Lafong C, Reynolds R, Livermore DM (2005) Novel class A carbapenemase, KPC-4, in an *Enterobacter* isolate from Scotland, abstr 1134\_1101\_1120. *Abstr. 15th Eur. Cong. Clin. Microbiol. Infect. Dis., Copenhagen, Denmark*
42. Naas T, Cuzon G, Villegas MV, Lartigue MF, Quinn JP, Nordmann P (2008) Genetic Structures at the Origin of Acquisition of the beta-Lactamase blaKPC Gene. *Antimicrob Agents Chemother* 52 (4):1257–1263
43. Chen LF, Anderson DJ, Paterson DL (2012) Overview of the epidemiology and the threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPC) resistance. *Infect Drug Resist* (5):133–141
44. Villegas MV, Lolans K, Correa A, Kattan JN, Lopez JA, Quinn JP (2007) Colombian Nosocomial Resistance Study Group. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 51(4):1553–1555
45. Gaibani P, Amadesi S, Lazzarotto T, Ambretti S (2022) Complete Genome Sequence of a Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strain Carrying bla<sub>OXA181</sub> and bla<sub>KPC125</sub> Carbapenemase. *Microb Drug Resist* 28(9):916–920



46. Gaibani P, Amadesi S, Lazzarotto T, Ambretti S (2022) Genome characterization of a *Klebsiella pneumoniae* co-producing OXA-181 and KPC-121 resistant to ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam, imipenem/relebactam and cefiderocol isolated from a critically ill patient. *J Glob Antimicrob Resist* 30:262-264
47. Forero-Hurtado D, Corredor-Rozo ZL, Ruiz-Castellanos JS, Márquez-Ortiz RA, Abril D, Vanegas N, Lafaurie GI, Chambrone L, Escobar-Pérez J (2023) Worldwide Dissemination of bla<sub>KPC</sub> Gene by Novel Mobilization Platforms in *Pseudomonas aeruginosa*: A Systematic Review. *Antibiotics (Basel)* 12(4):658
48. Shi Q, Yin D, Han R, Guo Y, Zheng Y, Wu S, Yang Y, Li S, Zhang R, Hu F (2020) Emergence and Recovery of Ceftazidime-avibactam Resistance in bla<sub>KPC-33</sub>-Harboring *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 11 Isolates in China. *Clin Infect Dis* 71(Suppl 4):S436-S439
49. Galani I, Antoniadou A, Karaiskos I, Kontopoulou K, Giamarellou H, Souli M (2019) Genomic characterization of a bla<sub>KPC-23</sub>-producing *Klebsiella pneumoniae* ST258 clinical isolate resistant to ceftazidime-avibactam. *Clin Microbiol Infect* 25(6):763.e5-763.e8
50. Sun L, Chen W, Li H, Li L, Zou X, Zhao J, Lu B, Li B, Wang C, Li H, Liu Y, Cao B (2020) Phenotypic and genotypic analysis of KPC-51 and KPC-52, two novel KPC-2 variants conferring resistance to ceftazidime/avibactam in the KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 clone background. *J Antimicrob Chemother.* 75(10):3072-3074
51. Mueller L, Masseron A, Prod'Hom G, Galperine T, Greub G, Poirel L, Nordmann P (2019) Phenotypic, biochemical and genetic analysis of KPC-41, a KPC-3 variant conferring resistance to ceftazidime-avibactam and exhibiting reduced carbapenemase activity. *Antimicrob Agents Chemother* 63(12):e01111-19
52. Ribeiro PCS, Monteiro AS, Marques SG, Monteiro SG, Monteiro-Neto V, Coqueiro MMM, Marques ACG, Turri RJG, Santos SG, Bomfim MRQ (2016) Phenotypic and molecular detection of the bla<sub>KPC</sub> gene in clinical isolates from inpatients at hospitals in São Luis, MA, Brazil. *BMC Infect Dis* 16(1): 737
53. Nordmann P, Poirel L (2019) Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis* 69(Suppl 7):S521-S528
54. Guerra AM, Lira A, Lameirão A, Selaru A, Abreu G, Lopes P, Mota M, Novais Á, Peixe L (2020) Multiplicity of Carbapenemase-Producers Three Years after a KPC-3-Producing *K. pneumoniae* ST147-K64 Hospital Outbreak. *Antibiotics (Basel)* 9(11):806
55. Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, Quale J (2005) Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch Intern Med* 165(12):1430-1435
56. Bush K, Bradford PA (2020) Epidemiology of  $\beta$ -Lactamase-Producing Pathogens. *Clin Microbiol Rev* 33(2):e00047-19
57. Logan LK, Weinstein RA (2017) The Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: The Impact and Evolution of a Global Menace. *J Infect Dis* 215:S28-S36
58. Hansen GT (2021) Continuous evolution: perspective on the epidemiology of carbapenemase resistance among Enterobacterales and other Gram-negative bacteria. *Infect Dis Ther* 10(1):75-92
59. Munoz-Price LS, Quinn JP (2009) The spread of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases: a tale of strains, plasmids, and transposons. *Clin Infect Dis* 49(11):1739-1741
60. Bonnin RA, Jousset AB, Chiarelli A, Emeraud C, Glaser P, Naas T, Dortet L (2020) Emergence of New Non-Clonal Group 258 High-Risk Clones among *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae* Isolates, France. *Emerg Infect Dis* 26(6):1212-1220
61. Chen L, Mathema B, Chavda KD, DeLeo FR, Bonomo RA, Kreiswirth BN (2014) Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding. *Trends Microbiol.* 22(12):686-696
62. Santino I, Bono S, Nuccitelli A, Martinelli D, Petrucci C, Alari A (2013) Microbiological and Molecular Characterization of Extreme Drug-Resistant Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates. *Int J Immunopathol Pharmacol* 26(3):785-790
63. Gootz TD, Lescoe MK, Dib-Hajj F, Dougherty BA, He W, Della-Latta P, Huard RC (2009) Genetic organization of transposase regions surrounding bla<sub>KPC</sub> carbapenemase genes on plasmids from *Klebsiella* strains isolated in a New York City hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 53(5):1998-2004
64. Roth AL, Kurpiel PM, Lister PD, Hanson ND (2011) bla<sub>(KPC)</sub> RNA expression correlates with two transcriptional start sites but not always with gene copy number in four genera of Gram-negative pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 55(8):3936-3938
65. Mataseje LF, Boyd DA, Willey BM, Prayitno N, Kreiswirth N, Geloasia A, Poutanen SM, Low DE, Jenkins SG, Katz K, Mulvey MR (2011) Plasmid comparison and molecular analysis of *Klebsiella pneumoniae* harbouring bla(KPC) from New York City and Toronto. *J Antimicrob Chemother* 66(6):1273-1277
66. Cheruvanky A, Stoesser N, Sheppard AE, Crook DW, Hoffman PS, Weddle E, Carroll J, Sifri CD, Chai W, Barry K, Ramakrishnan G, Mathers AJ (2017) Enhanced *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase Expression from a Novel Tn4401 Deletion. *Antimicrob Agents Chemother* 61(6):e00025-17
67. Cuzon G, Naas T, Nordmann P (2011) Functional characterization of Tn4401, a Tn3-based transposon involved in bla<sub>KPC</sub> gene mobilization. *Antimicrob Agents Chemother* 55(11):5370-5373
68. Cerdeira LT, Cunha MPV, Francisco GR, Bueno MFC, Araujo BF, Ribas RM, Gontijo-Filho PP, Knöbl T, de Oliveira Garcia D, Lincopan N (2017) IncX3 plasmid harboring a non-Tn4401 genetic element (NTEKPC) in a hospital-associated clone of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* ST340/CG258. *Diagn Microbiol Infect Dis* 89(2):164-167
69. Tang Y, Li G, Shen P, Zhang Y, Jiang X (2022) Replicative transposition contributes to the evolution and dissemination of KPC-2-producing plasmid in *Enterobacterales*. *Emerg Microbes Infect* 11(1):113-122
70. García-Fernández A, Villa L, Carta C, Venditti C, Giordano A, Venditti M, Mancini C, Carattoli A (2012) *Klebsiella pneumoniae* ST258 producing KPC-3 identified in Italy carries novel plasmids and OmpK36/OmpK35 porin variants. *Antimicrob Agents Chemother* 56(4):2143-2145
71. Peirano G, Bradford PA, Kazmierczak KM, Chen L, Kreiswirth BN, Pitout JD (2017) Importance of Clonal Complex 258 and IncFK2-like Plasmids among a Global Collection of *Klebsiella pneumoniae* with bla<sub>KPC</sub>. *Antimicrob Agents Chemother* 61(4):e02610-16
72. Karampatakis T, Tsergouli K, Behzadi P (2023) Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Virulence Factors, Molecular Epidemiology and Latest Updates in Treatment Options. *Antibiotics (Basel)* 12(2):234
73. Kopotsa K, Osei Sekyere J, Mbelle NM (2019) Plasmid evolution in carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: a review. *Ann N Y Acad Sci* 1457(1):61-91
74. Chen L, Mathema B, Chavda KD, DeLeo FR, Bonomo RA, Kreiswirth BN (2014) Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding. *Trends Microbiol.* 22(12):686-696
75. Chen L, Mediavilla JR, Endimiani A, Rosenthal ME, Zhao Y, Bonomo RA, Kreiswirth BN (2011) Multiplex real-time PCR assay for detection and classification of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase gene (bla<sub>KPC</sub>) variants. *J Clin Microbiol* 49(2):579-585
76. Garsevanyan S, Barlow M (2023) The *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)  $\beta$ -Lactamase Has Evolved in Response to Ceftazidime Avibactam. *Antibiotics (Basel)* 13(1):40
77. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V (2012) European Network on Carbapenemases. Identification and screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect* 18(5):432-438
78. Wei M, Wang P, Wang S, Yang C, Gu LI (2021) Rapid Detection and Differentiation of KPC and MBL Carbapenemases among *Enterobacterales* Isolates by a Modified Combined-Disk Test. *Pol J Microbiol* 70(3):387-394
79. Bialvaei AZ, Kafil HS, Asgharzadeh M, Yousef Memar M, Yousefi M (2016) Current methods for the identification of carbapenemases. *J Chemother* 28(1):1-19
80. AlTamimi M, AlSalamah A, AlKhuilaifi M, AlAjlan H (2017) Comparison of phenotypic and PCR methods for detection of carbapenemase production by *Enterobacteriaceae*. *Saudi J Biol Sci* 24(1):155-161

# Characterization of KPC-type drug resistance in bacteria

Michalina Gniewosz<sup>1</sup>, Sylwia Andrzejczak-Grządko<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup>Faculty of Biological Science, University of Zielona Góra

<sup>2</sup>Department of Biotechnology, Institute of Biological Science, University of Zielona Góra

✉ corresponding author: s.andrzejczak-grzadko@wnb.uz.zgora.pl

**Keywords:** antibiotic resistance, Enterobacteriaceae, carbapenemases, KPC

## ABSTRACT

One of the main problems of modern medicine is the phenomenon of drug resistance. Inappropriate use of antibiotics is considered to be the most important reason for the emergence of new resistance mechanisms in microorganisms. Carbapenems, which belong to the  $\beta$ -lactams, are considered the most effective group of antimicrobial agents. Unfortunately, as a result of prolonged exposure to the aforementioned drugs, bacteria have developed several mechanisms for survival. The most important of these is the production of hydrolytic enzymes (carbapenemases), which cleave the  $\beta$ -lactam ring and inactivate the antibiotics. The mentioned enzymes are encoded by *bla*<sub>KPC</sub> genes, which are located in so-called mobile genetic elements (i.e. plasmids and transposons). Such localization is associated with their ease of transfer between different bacterial species in the process of horizontal gene transfer.

