

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT
BIOINFORMAATIKA ÕPPETOOL

**Eestis isoleeritud *Klebsiella pneumoniae* kliiniliste tüvede antibiootikumiresistentsuse
tuvastamine sekveneerimisandmetest programmiga DeepARG**

Bakalaureusetöö

12 EAP

Kethel Monso

Juhendaja PhD Age Brauer

Tartu 2025

Eestis isoleeritud *Klebsiella pneumoniae* kliiniliste tüvede antibiootikumiresistentsuse tuvastamine sekveneerimisandmetest programmiga DeepARG

Antibiootikumiresistentsus on üheks suurimaks globaalseks probleemiks, põhjustades patsientide pikemajalist ravi, kõrgemat suremust ning suuremaid ravikulusid. Ligikaudu kolmandik gramnegatiivsete bakterite põhjustatud haigustest on seotud *Klebsiella pneumoniae*'ga. Käesolevas töös analüüsitakse DeepARG programmi võimekust ennustada Eestis levivate *K. pneumoniae* tüvede resistentsusfenotüüpe, võrreldes programmiga ResFinder. Töö tulemusena järeldati, et üldiselt on kõige spetsiifilisem DeepARG-LS mudel ning kõige sensitiivsemad on DeepARG-SS ja ResFinder. Programmide PPV sõltus palju antibiootikumist.

Märksõnad: antibiootikumiresistentsus, *Klebsiella pneumoniae*, bioinformaatika

CERCS: B110 (Bioinformaatika, meditsiiniinformaatika, biomatemaatika, biomeetrika)

Detection of antibiotic resistance from sequencing data in clinical strains of *Klebsiella pneumoniae* isolated in Estonia using the DeepARG program

Antibiotic resistance is one of the biggest global problems, causing longer treatment times, higher mortality rates and higher medical costs. Approximately one third of diseases caused by gram-negative bacteria are associated with *Klebsiella pneumoniae*. This work analyzes the ability of the DeepARG program to predict resistance phenotypes of *K. pneumoniae* strains circulating in Estonia, compared to the ResFinder program. The results of the work concluded that in general, the DeepARG-LS model is the most specific, and DeepARG-SS and ResFinder are the most sensitive. The PPV of the programs depended heavily on the antibiotic.

Märksõnad: antibiotic resistance, *Klebsiella pneumoniae*, bioinformatics

CERCS: B110 (Bioinformatics, medical informatics, biomathematics, biometrics)

SISUKORD	3
KASUTATUD LÜHENDID	4
SISSEJUHATUS	6
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	7
1.1. Antibiootikumiresistentsuse olemus	7
1.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> resistentsusmehhanismid	8
1.2.1 Levinud antibiootikumid <i>K. pneumoniae</i> infektsiooni raviks	9
1.2.2 <i>K. pneumoniae</i> resistentsusmehhanismid	10
1.2.3 <i>K. pneumoniae</i> resistentsusgeenid	12
1.3. Antibiootikumiresistentsuse tuvastamine	14
1.3.1 Laboratoorsed meetodid	14
1.3.2 Bioinformaatilised meetodid	15
1.3.3 DeepARG	17
2. EKSPERIMENTAALOSA	20
2.1. Töö eesmärgid	20
2.2. Materjal ja metoodika	20
2.2.1 Andmed	20
2.2.2 DeepARG programmi rakendamine	21
2.2.3 Resistentsusfenotüübi määramine MIK väärtuste põhjal	22
2.2.4 Resistentsusfenotüübi määramine ennustatud ARGide põhjal	22
2.2.5 Programmide ennustustäpsuse hindamine	23
2.3. Tulemused	24
2.4. Arutelu	31
KOKKUVÕTE	35
SUMMARY	36
TÄNUSÕNAD	38
KIRJANDUSE LOETELU	39
KASUTATUD VEEBIAADRESSID	54
LISA	55
LIHTLITSENTS	67

KASUTATUD LÜHENDID

AMR – antimikroobne resistentsus

ARG – antibiootikumi resistentsusgeen

BLAST – *Basic Local Alignment Search Tool*

CARD – *The Comprehensive Antibiotic Resistance Database*

cKP – klassikaline (*classic*) *Klebsiella pneumoniae*

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CRKP – karbapeneem-resistentne (*carbapenem-resistant*) *Klebsiella pneumoniae*

ESBL – laiendatud toimespektriga beetalaktamaas (*extended-spectrum beta-lactamase*)

EUCAST – Euroopa Antimikroobse Tundlikkuse Testimise Komitee (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*)

FN – valenegatiivne (*false negative*)

FP – valepositiivne (*false positive*)

HGT – horisontaalne geenülekanne (*horizontal gene transfer*)

hvKP – hüpervirulentne (*hypervirulent*) *Klebsiella pneumoniae*

I – *susceptible, increased exposure*

MBL – metallo-beetalaktamaas

MIK – minimaalne inhibeeriv kontsentratsioon

PPV – positiivne prognoosväärtus (*Positive Predictive Value*)

RGI – *Resistance Gene Identifier*

TN – tõeselt negatiivne (*true negative*)

TP – tõeselt positiivne (*true positive*)

SISSEJUHATUS

Antimikroobset resistentsust (AMR) võib defineerida kui „mikroobide võime muutuda vastupanuvõimeliseks seni toiminud antimikroobsetele preparaatidele“ (Terviseamet, 2024). Antibiootikumid on antimikroobsed ühendid, mida kasutatakse haigusttekitavate bakterite surmamiseks või nende paljunemise takistamiseks organismis. Kui aga bakter osutab antibiootikumi toimele vastupanu, siis on tegu antibiootikumiresistentsusega (Patel jt., 2023). Antibiootikumiresistentsus on üheks suurimaks ülemaailmseks probleemiks (WHO, 2023a). Tervishoius on resistentsuse tagajärgedeks suurenenud ravikulud, patsientide pikemajaline haiglaravi või isegi surmaga lõppev infektsioon (Naghavi jt., 2024).

Antibiootikumiresistentset *K. pneumoniae*'t seostatakse üle 600 000 surmaga aastas ning umbes kolmandik gramnegatiivsete bakterite infektsioonidest on seotud just *K. pneumoniae*'ga (Pierre, 2024 ; Podschun ja Ullmann, 1998). Kolmanda generatsiooni tsefalosporiinide suhtes ja karbapeneemide suhtes resistentsed *K. pneumoniae*'d (CRKP) on 2024. aasta WHO prioriteetsete patogeenide bakterite nimekirjas (WHO, 2024a).

Antibiootikumide resistentsusgeenide (ARG) tuvastamiseks kasutatakse aina rohkem bioinformaatilisi meetodeid, et uurida bakterite potentsiaalset vastuvõtlikkust eri antibiootikumide suhtes (Adamu jt., 2025 ; Guo jt., 2025 ; Vanstokstraeten jt., 2023). DeepARG on programm, mis võimaldab ennustada antibiootikumidele resistentsust põhjustavaid gene sekveneerimisandmetest. DeepARGi eesmärk on leida üles võimalikult palju tõeseid ARGe ning hoida valenegatiivsete tulemuste hulk madal (Arango-Argoty jt., 2018). Kliiniliselt on see oluline, et vältida ebaefektiivsete antibiootikumide kasutamist ning toimivate antibiootikumide raviplaanist välja jätmist. Varasemalt ei ole DeepARG programmi *Klebsiella* tüvede peal palju uuritud ning Eestis levivate *K. pneumoniae* tüvede peal ei ole seda teadaolevalt üldse tehtud (Arango-Argoty jt., 2018 ; Marini jt., 2022).

Käesoleva töö eesmärgiks on analüüsida, kui täpselt võimaldab DeepARG programm ennustada Eestis levivate *K. pneumoniae* tüvede resistentsusfenotüüpe, võrreldes programmiga ResFinder.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1. Antibiootikumiresistentsuse olemus

Antibiootikumiresistentsus on probleemiks nii inimeste, taimede kui ka loomade seas, olenemata riigi majanduslikust seisukorrast (WHO, 2023a). 2024. aasta uuringu kohaselt oli 2021. aastal bakteriaalne antimikroobne resistentsus seotud 4,71 miljoni surmaga, millest 1,14 miljoni puhul oli see ka otseseks põhjuseks. 2050. aastal võivad aga need arvud sama uuringu kohaselt ulatuda vastavalt 1,91 ning 8,22 miljonini (Naghavi jt., 2024). Lisaks tervishoiule on antibiootikumiresistentsusel negatiivne mõju ka majandusele, toiduturvalisusele, põllumajandusele ning elusloodusele (WHO, 2023a).

Resistentsust antibiootikumidele põhjustavad nii selektsioon, genoomis aset leidvad eri mutatsioonid kui ka resistentsusgeenide olemasolu. Kui bakter muteerub, siis kandub mutatsioon edasi järgmisele põlvkonnale ning selektsiooni tõttu jääb kohasem tunnus alles (Woodford ja Ellington, 2007). Lisaks on bakteritel levinud horisontaalne geeniülekanne (HGT), mille käigus vahetatakse geneetilist materjali, sealhulgas eri antibiootikumide resistentsusgeene (Haavisto, 2023).

Resistentsed bakterid levivad eri viisidel, sest nende kandjateks võivad olla nii inimesed, loomad kui ka taimed. Seejuures võivad inimesed levitada baktereid üksteisele otsesel kontaktil või kaudselt läbi saastunud objektide. Lisaks võivad mikroobid inimestele üle kanduda toidu ning joogi kaudu või kokkupuutel loomadega (ECDC, 2014), mistõttu on oluline järgida hügieeninõudeid. Probleemiks on ka antibiootikumijääkide levik keskkonnas ning reovees, millesse panustab asjaolu, et märkimisväärne osa raviainest jääb organismis metaboliseerimata (Polianciuc jt., 2020). Eri maailma osade vahel soodustavad levikut rahvusvaheline kaubandus, migratsioon ja reisimine (van der Bij ja Pitout, 2012). Näiteks 2010-2014 ei olnud Eestist leitud *K. pneumoniae* tüve ST307, kuid käesolevas töös kasutatud tüvedest olid 14,7% just ST307 (Tenson jt., 2024).

Inimeste tegevustest tulenevaid tegureid, mis panustavad resistentsuse tekkesse, on mitmeid. Peamiseks neist on antibiootikumide vale kasutamine. Selleks võib olla nii tervishoiutöötaja poolt määratud ravimikuuri enneaegne lõpetamine, ebaefektiivsete antibiootikumide kasutamine või ülemäärane tarvitamine (Blaser jt., 2021). 2024. aasta artiklis uuriti

antibiootikumide väärkasutust ning leiti, et 45% uuritavatest on varasemalt lõpetanud ravimikuuri enneaegselt (Shah jt., 2024). Eestis kasutatakse kliiniliselt antibiootikume vähem kui Euroopas keskmiselt (Tenson jt., 2024), kuid siiski on tegureid, mis võivad AMRi süvendada. 2024. aasta Ravimiameti statistika aastaraamatu kohaselt on alates 2022. aastast tõusulainel laiatoimeliste antibiootikumide kasutamine. Samuti kirjutatakse patsientidele sageli välja ravimeid, mida WHO hinnangul peaks kasutama teisejärguliselt (WHO, 2023b ; Sepp ja Sammul, 2024). Kitsaskohaks on ka hingamisteede haigused, sest peamiselt ei ole need bakteriaalsed, vaid ligikaudu 80% hooajalistest külmetushaigustest on põhjustatud viiruse poolt. Seetõttu ei ole võimalik eelmainitud infektsioone antibiootikumidega ravida ning ravimi väärkasutamine süvendab AMRi (Ravimiamet, 2023).

1.2. *Klebsiella pneumoniae* resistentsusmehhanismid

Klebsiella pneumoniae on pulgakujuline gramnegatiivne aeroob/fakultatiivne anaeroob, mis kuulub perekonda *Enterobacteriaceae* (Ashurst ja Dawson, 2023 ; Schober jt., 2024). Tegu on patogeeniga, mille levimiseks ühelt organismilt teisele on tarvis otsest kontakti, sest bakteril puudub liikumisvõime. Lisaks on *K. pneumoniae* mesofiil, mille optimaalne kasvutemperatuur kattub inimese kehatemperatuuriga (Schober jt., 2024).

K. pneumoniae on tavapäraselt ohutu bakter ning seda leidub nii keskkonnas kui ka organismi limaskestadel, näiteks inimese soolestikus (WHO, 2024b). Bakteri levimisel teistesse organismi osadesse, nagu veri, haavad, hingamisteed või kuseteed, võib mikroorganism osutada eluohtlikuks. Peamisteks haigusteks, mida antud mikroorganism põhjustab, on eri kuseteede infektsioonid, pneumoonia ehk kopsupõletik, meningiit ehk ajukelmepõletik, verenakkused, aga ka muud haavainfektsioonid (Paczosa ja Mecsas, 2016).

K. pneumoniae't saab patogeensuse alusel jagada klassikaliseks (cKP) ning hüpervirulentseks (hvKP). Kui cKPD tuntakse peamiselt niinimetatud haiglabakterina, siis hvKP põhjustab infektsioone lisaks haiglakeskkonnale ka üldiselt tervetel inimestel (Russo jt., 2018). Antud tüvede puhul on ravivõimalused rohkem piiratud, sest hvKPD seostatakse suurenenud virulentsuse, haigestumise ning suremusega (WHO, 2024b). WHO hinnangul on CRKP ning kolmanda generatsiooni tsefalosporiinide suhtes resistentsed *K. pneumoniae*'d keskmisest kõrgema suremuse, resistentsuse ning ülekandevõimega (WHO, 2024a). Eestis on märgatud järjest rohkem ESBL-positiivseid tüvesid, mille puhul on samuti ravivõimalused piiratud

(Tenson jt., 2024). Kirjandust analüüsidest leidsid Tenson ja teised (2024), et ESBL-positiivsetest enterobakteritest, mille hulka kuulub ka *K. pneumoniae*, on kuni 70% aminoglükosiidide, 70 ja 77-88% trimetoprim/sulfametoksasooli ning 90% fluorokinoloonide suhtes resistentsed (Azargun jt. 2018, Wiener jt. 2016, Khan jt. 2020, Xercavins jt. 2020, Teklu jt. 2019).

1.2.1 Levinud antibiootikumid *K. pneumoniae* infektsiooni raviks

K. pneumoniae infektsioonide raviks kasutatakse erinevaid antibiootikume, sõltuvalt patsiendi haigusloost. Samuti on ravi toimimiseks oluline, et bakter ei oleks manustatava antibiootikumi suhtes resistentne. Levinud antibiootikumide klassid, mida kasutatakse *K. pneumoniae* infektsioonide ravimiseks, on aminoglükosiidid, beetalaktaamid, fluorokinoloonid, diaminopürimidiinid ning sulfoonamiidid (Paul jt., 2022). Antud loetelu ei ole täielik, kuid käesolev töö keskendub just neile sagedamini kasutatavatele rühmadele.

Aminoglükosiidide klassi antibiootikumid toimivad translatsiooni inhibeerijatena. Ravimolekulid seonduvad organismis bakterite ribosoomi 30S või 50S subühikule. Peale seondumist ei saa toimuda translatsiooniks vajalik peptidüül-tRNA translokatsioon A-saidist P-saiti. Seega toimub valgusünteesi ajal mRNA valesi lugemine ning bakter ei suuda sünteesida enda eluks ja kasvuks vajalikke valke. Levinud aminoglükosiidid on amikatsiin, tobramütsiin ning gentamütsiin (Kotra jt., 2000 ; Mingeot-Leclercq jt., 1999).

Beetalaktaamid on kõige laialdasemalt kasutatavad antibiootikumid ning neid saab klassifitseerida penitsilliinideks, tsefalosporiinideks, monobaktaamideks ja karbapeneemideks (Tabel 1). Enamik beetalaktaame takistab bakterite rakuseina sünteesi, põhjustades sellega rakusurma (Tipper ja Strominger, 1965). Resistentsel bakteritel on beetalaktamaaside inaktiveerimiseks olemas spetsiaalsed ensüümid nimega beetalaktamaasid, mistõttu kombineeritakse efektiivsemaks raviks preparaate. Lisatakse beetalaktamaaside tööd inhibeerivaid antibiootikume, näiteks klavulaanhapet (amoksitsilliin + klavulaanhape) ja tasobaktaami (piperatsilliin + tasobaktaam) (Falcone jt., 2020 ; van Honacker jt., 2021).

Fluorokinoloonide klassi antibiootikumid inhibeerivad nukleiinhapete sünteesi, mõjutades bakteriaalse DNA guraasi tööd (Hooper ja Jacoby, 2015). Antud ensüüm on oluline DNA negatiivseks superspiralisatsiooniks (Geneetika, 2014) ning selle töö häirimisel sureb

bakterirakk, sest DNA on kahjustatud ja seetõttu replikatsioon takistatud. Levinud fluorokinoloonid on tsiprofloksatsiin, norfloksatsiin ning levofloksatsiin (Falcone jt., 2020).

Diaminopürimidiinide klassi antibiootikumid inhibeerivad teatud metaboolseid radasid. Raviainet manustades on bakteriaalse DNA süntees häiritud, sest pärsitakse protsessiks vajaliku ensüümi dihidrofolaaadi reduktaasi tööd (Baccanari ja Kuyper, 2022).

Sulfoonamiidid takistavad dihidropteroaadi süntaasi tööd, mille tulemusel on häiritud tetrahüdfoolhappe ehk THFi biosüntees. THF on aga oluline teatud aminohapete ning nukleotiidide sünteesiks (Antunes jt., 2005). Levinud sulfoonamiidiks on sulfametoksasool, mida kasutatakse tihti koos trimetoprimiga, mis on diaminopürimidiin. Kombineeritult takistavad need antibiootikumid bakteritel foolhappe ainevahetust (Murri jt., 2017).

Tabel 1. Beetalaktaamide klassifikatsioon koos näidetega. Kolmanda põlvkonna tsefalosporiinid on tähistatud tärniga (Bui jt., 2024 ; Falcone jt., 2020 ; Thomsen jt., 2023 ; van Honacker jt., 2021).

Penitsilliinid	Amoksitsilliin Klavulaanhape Ampitsilliin Piperatsilliin Tasobaktaam
Tsefalosporiinid	Tsefepiim Tsefiksiim* Tseftasidiim* Tseftriaksoon* Tsefuroksiim Tsefaleksiin
Monobaktaamid	Astreonaam
Karbapeneemid	Ertapeneem Imipeneem Meropeneem

1.2.2 *K. pneumoniae* resistentsusmehhanismid

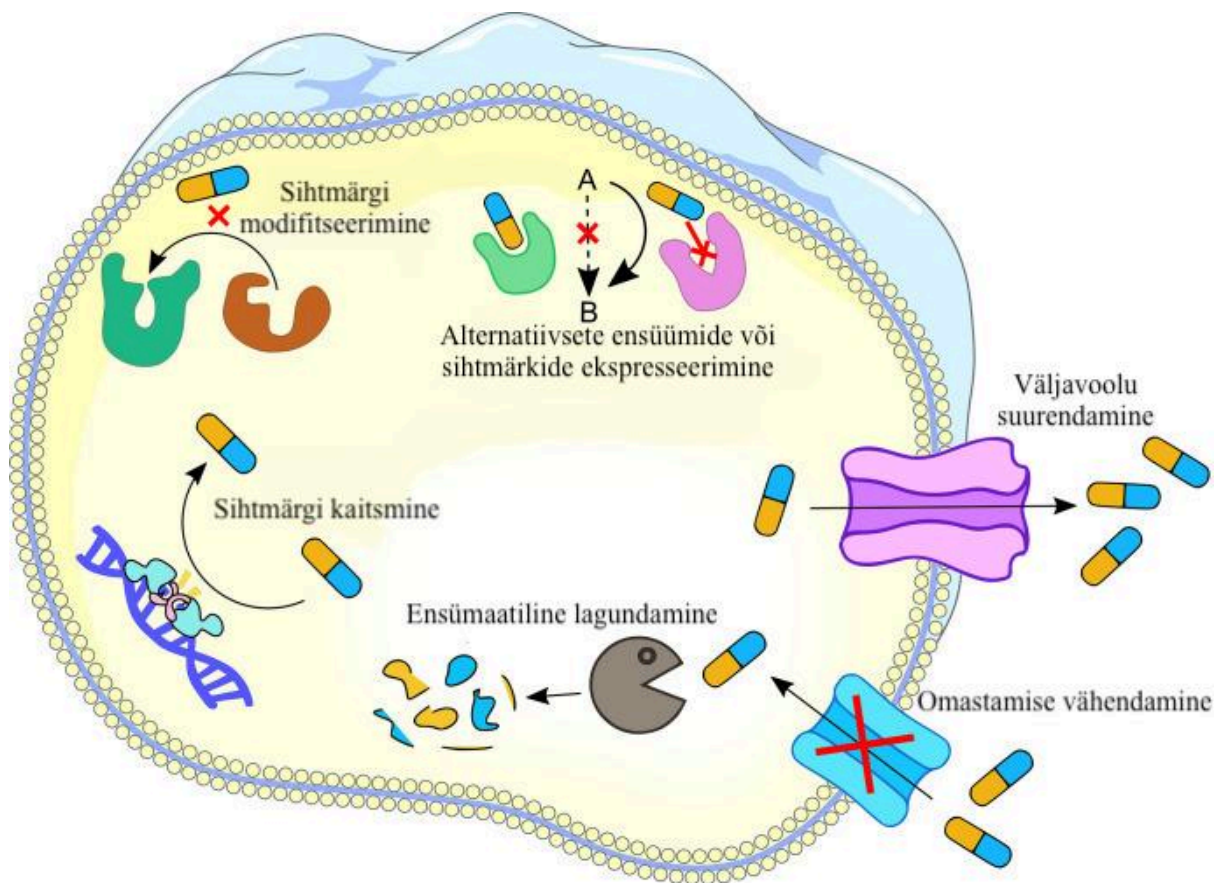
Tänaseks on *K. pneumoniae* puhul kujunenud resistentsus kõigile tüüpilisteks raviks kasutatavatele antibiootikumidele (Li jt., 2023). Resistentsust antibiootikumide vastu saab jagada loomulikuks ja omandatud resistentsuseks. Loomulik resistentsus on kas alati liigis esindatud või toimub ekspressioon peale antibiootikumiga kokkupuudet. Muteerumine ning

HGT on näited omandatud resistentsusest (Martinez, 2014). Joonisel 1 on ülevaade erinevatest loomuliku ja omandatud resistentsuse kujunemisega seotud mehhanismidest.

Antibiootikumi toimimiseks peab ühend saama bakterirakku. *K.pneumoniae* rakukesta ehitus on üheks põhjuseks, miks antibiootikumi sisenemine rakku on keerulisem kui näiteks grampositiivsetel bakteritel (Pierre, 2024). Viimastel on vaid üks membraan, samas kui gramnegatiivsed bakterid on kahemembraansed: neil on nii sise- kui ka välismembraan. Seega on teine membraan ühendi sisenemiseks lisatakistus (Berg, 2015). Samas on teada, et *K. pneumoniae* välismembraanis on poriinid, mille vahendusel toimub teatud molekulide transport, sealhulgas beetalaktaamide difundeerumine. Kanalite ekspressiooni muutmine või nende puudumine võib põhjustada resistentsust (Tsai jt., 2011). On leitud seoseid membraanporiinide kaotamise ning karbapeneemi (Webster jt., 2010) ja tsefalosporiinide resistentsuse vahel (Doménech-Sánchez jt., 2003). Lisaks vähendab raviaine sisenemise efektiivsust bakterite võime moodustada biokile ehk mikroobide kogumit. Biokile käitub füüsilise barjäärina (Ramakrishnan jt., 2024), milles olevad bakterid vajavad kuni 1000 korda tugevamat antibiootikumi kontsentratsiooni, et avalduks soovitud mõju (Ceri jt., 1999).

Eri antibiootikumide resistentsusega (ingl *multidrug resistance*) on seotud mitmed väljavoolupumbad (ingl *efflux pump*). Nende eesmärk on bakterile kahjulike ainete rakust välja pumpamine, sealhulgas antibiootikumidest lahti saamine (Hussein jt., 2024). Osad pumbad on pidevalt ekspresseeritud, kuid teiste puhul on tarvis kindlaid tingimusi, mis nende avaldumist indutseeriks või toimuks üleekspressioon (Dodan jt., 2023).

Antibiootikumi sihtmärgi kaitsmine või modifitseerimine toimub läbi eri mehhanismide. Üheks viisiks on sihtmärgi asendamine mõne muu ühendiga, millega ravimolekul seejärel seondub. Samuti põhjustavad teatud punktmutatsioonid muutuseid sihtmärgis, mis omakorda vähendab antibiootikumiga seondumise afiinsust (Gaurav jt., 2023). Ravimolekulide modifitseerimine põhjustab samuti resistentsust. Levinud modifikatsioonideks on atsetüleerimine, fosforüleerimine, glükosüleerimine ning adenüleerimine (Varela jt., 2021). Ensümaatiline inaktivatsioon toimub ka läbi ravimolekuli lagundamise (Gaurav jt., 2023). Seega on resistentsuse tekkel oluline roll mitmetel molekulaarsetel mehhanismidel.



Joonis 1. Loomuliku ja omandatud resistentsuse kujunemises osalevad mehhanismid: sihtmärgi modifitseerimine, alternatiivsete ensüümide või sihtmärkide ekspresseerimine, väljavoolu suurendamine, omastamise vähendamine, ensümaatiline lagundamine, sihtmärgi kaitsmine (kohandatud Gaurav jt., 2023).

1.2.3 *K. pneumoniae* resistentsusgeenid

Antibiootikumide resistentsusgeenid (ARG) on nukleotiidsed järjestused, millelt valgude kodeerimise tulemusel osutab bakter potentsiaalselt antibiootikumi toimele vastupanu (Ballén jt., 2021). Peamiselt asuvad ARGid plasmiidides, aga neid leidub ka bakteri kromosoomis ja mobiilsetel geneetilistel elementidel nagu näiteks transposoonidel. Seetõttu HGT ajal, kui vahetatakse geneetilist materjali, toimub bakterite vahel ka ARGide levik: nii liigisiselt kui ka eri liikide vahel (Teixeira jt., 2023).

Aminoglükosiidide vastu põhjustab resistentsust bakterite võime antud antibiootikume inaktiveerida. Selleks on olemas eri geeniperekondade poolt kodeeritavad ensüümid, mis on võimelised kindlat rühma ühelt molekulit teisele üle kandma (Tabel 2). Beetalaktaami vastu põhjustavad resistentsust beetalaktamaasid, mida jagatakse Ambleri klassifikatsiooni (Ambler, 1980) kohaselt nelja klassi (Tabel 3). Antud ensüümid suudavad avada beetalaktaamidele iseloomuliku neljaatomilise rõnga, mille tõttu toimub antibiootikumi

inaktivatsioon (Wang jt., 2017). Laiatoimelisi beetalaktamaase (ESBL) kodeerivad geenid põhjustavad resistentsust tsefalosporiinidele, enamikele penitsilliinidele ning astreonaamile (Tamma jt., 2022). Karbapenemaasid on võimelised lisaks hüdroolüüsima karbapeneeme (Thomsen jt., 2023). Fluorokinoloonide vastu põhjustavad resistentsust (Tabel 4) plasmiidseid geenid *qnrB* ja *qnrS* (kodeerivad Qnr valke), mis kaitsevad antibiootikumi eest, sest mimikeerivad DNA-d. *Aac(6')-Ib-cr* annab lisaks aminoglükosiididele ka fluorokinoloonidele resistentsuse, sest atsetüleerib neid. Kromosomaalsete mutatsioonide tagajärgede näideteks on antibiootikumi häiritud seondumine güraasiga (kodeeritud geeni *gyrA* poolt) või antibiootikumi põhjustatud DNA sünteesi inhibeerimise toimumise takistamine (seotud topoisomeraas IV subühikut A kodeeriva geeniga *parC*) (Sani jt., 2023). Eelnimetatud geenides tekkinud mutatsioonide olemasolu ei põhjusta iseseisvalt tugevat resistentsust, kuid koos teiste mehhanismidega on fluorokinoloonidele vastupanu suurem (Rodríguez-Martínez jt., 2011) (Tabel 4). Diaminopürimidiinide resistentsust põhjustavad eri *dfpA* geenid, mis kodeerivad antibiootikumi toimele tundetuid dihidrofolaaadi reduktaase. Sulfoonamiididele vastupanu põhjustavad eri *sul* geenid, mis kodeerivad antibiootikumi toimele tundetuid dihidropteroaadi süntaase. Mõlema antibiootikumiklassi vastase resistentsuse puhul ekspresseeritakse bakteris vastavate ensüümide selliseid variante, millega diaminopürimidiinid ja sulfoonamiidid ei saa interakteeruda. Seega toimub sihtmärgi asendamine (Skold, 2001).

Tabel 2. Aminoglükosiidide vastu resistentsust põhjustavad geeniperekonnad (Cox jt., 2015 ; Poole, 2005 ; Ramirez ja Tolmasky, 2010 ; Rather jt., 1992 ; Schmitt jt., 2009).

Geeniperekond	Kodeeritav ensüüm	Inaktivatsiooni mehhanism
<i>aac(6')</i>	N-atsetüültransferaas	Ühendi 6' aminorühma atsetülatsioon
<i>aac(3)</i>	N-atsetüültransferaas	Ühendi 3' aminorühma atsetülatsioon
<i>ant(2'')</i>	O-nukleotidüültransferaas	AMP-rühma ülekande ATP substraadilt ühendi 2''-hüdrosüülrühmale
<i>ant(3'')</i>	O-nukleotidüültransferaas	AMP-rühma ülekande ATP substraadilt ühendi 3''-hüdrosüülrühmale
<i>armA</i>	Metüültransferaas	Metüülrühma ülekande S-adenosüül-L-metioniinilt 16S rRNAle

Tabel 3. Ambleri klassifikatsioonil põhinevad beetalaktamaaside klassid ja nende näited (Ambler, 1980 ; Sawa jt., 2020 ; Wang jt., 2009).

Klass A	ESBL CTX-M ESBL TEM ESBL SHV Karbapenemaas KPC OKP LEN LAP
Klass B	Karbapenemaasid MBL (metallo-beetalaktamaasid)
Klass C	AmpC DHA
Klass D	ESBL OXA Karbapenemaas OXA-48

Tabel 4. Fluorokinolonide vastu resistentsust põhjustavate geenide näited.

Resistentsusgeenid	<i>qnrB</i> <i>qnrS</i> <i>aac(6')-Ib-cr</i>
Punktmutatsioonid	<i>parC</i> <i>gyrA</i>

1.3. Antibiootikumiresistentsuse tuvastamine

1.3.1 Laboratoorsed meetodid

Antibiootikumiresistentsuse tuvastamiseks on tarvis uurida antibiootikumi mõju bakterile: kas mikroorganism avaldab vastupanu (resistentne) või on toimele tundlik (sensitiivne). Seega määravad traditsioonilised laboratoorsed meetodid bakteri fenotüübilise resistentsusprofili. Levinud meetodid antimikroobse tundlikkuse testimiseks on puljonglahjendus, agar-lahjendus ning disk-difusioon, mille puhul hinnatakse bakteri kasvuvõimet antibiootikumi juuresolekul (Emiliov jt., 2019 ; Fröding jt., 2016 ; Tam jt., 2022). Testimiseks on tarvis proovi nakkusallikast, näiteks veremürgituse puhul verest, seedeelundkonna infektsiooni korral väljaheidetest või kuseteede nakkuse korral uriinist (Giuliano jt., 2019).

Kõikide eelmainitud meetodite puhul kasutatakse vastavaid MIK väärtuseid koos murdepunktidega, et määrata, kas bakter on antibiootikumi suhtes resistentne (R), sensitiivne (S) või tundlik suuremas kontsentratsioonis (I – *susceptible, increased exposure*). Viimase

puhul võib antibiootikum olla raviks efektiivne, kui kohandada annustamist või suurendada kontsentratsiooni (EUCAST, 2019). MIK ehk minimaalne inhibeeriv kontsentratsioon on madalaim kogus antibiootikumi, mis takistab kasvu ning murdepunktiks on lahjendus, millest alates mikroob vastupanu osutab. Antud väärtus sõltub nii antibiootikumist, bakterist, infektsiooni tüübist kui ka muudest teguritest (Kowalska-Krochmal ja Dudek-Wicher, 2021). Kaks peamist organisatsiooni, mis väljastavad ja uuendavad regulaarselt MIK murdepunktide tabelleid, on EUCAST ning CLSI (CLSI, 2024 ; EUCAST, 2025).

Fenotüübilise resistentsusprofiili määramine on küll hästi standardiseeritud ning lihtsalt teostatav, kuid aeganõudev, sest vajab patogeeni isoleerimist ja kultiveerimist (Damerum jt., 2023 ; Gajic jt., 2022). Samuti ei testita kõiki erinevaid antibiootikume, vaid valik tehakse infektsioonist sõltuvalt. Patsiendilt võetakse proov, mis saadetakse laborisse, kus omakorda võtavad meetodid aega kuni 48 tundi – protsess kestab kokku mitmeid päevi (Gajic jt., 2022). Eluliselt ohtlike infektsioonide puhul on iga tund ilma ravita patsiendile kriitiline. Uuringud on näidanud, et sepsise ehk veremürgistuse puhul tõstab antibiootikumide manustamisega viivitamine suremust (Philippon jt., 2025 ; van Zanten, 2014).

1.3.2 Bioinformaatilised meetodid

Lisaks fenotüübilise resistentsusprofiili määramisele hakati 1990. aastate alguses kasutama ka genotüübilisi meetodeid. Molekulaarsetest meetoditest kasutati polümeraasi ahelreaktsiooni ning DNA hübridisatsiooni (Courvalin, 1991). Tänapäeval kasutatakse aina rohkem eri sekveneerimistehnoloogiaid, et uurida bakterite potentsiaalset vastuvõtlikkust antibiootikumide suhtes (Adamu jt., 2025 ; Guo jt., 2025 ; Vanstokstraeten jt., 2023). Võrreldes fenotüübiliste meetoditega on võimalik tuvastada resistoomi ning resistentsusgene ka nende antibiootikumide vastu, mida laboris ei testita. See tähendab, et saab koguda rohkem informatsiooni nii bakteriaalse puhangu kui ka AMRi leviku kohta (Elliott jt., 2021). Sekveneerimiseks ei pea bakter olema lihtsasti isoleeritav ega kultiveeritav, mistõttu on võimalik resistentsust tuvastada ka uudsematel patogeenidel (Damerum jt., 2023).

Sekveneerimisandmetest saadud geneetilise info tõlgendamiseks kasutatakse bioinformaatilisi meetodeid, mis seisnevad peamiselt järjestuste joondamises ning andmebaasides olevate geenidega võrdlemises (Davies jt., 2023). Lisaks on olemas ka masinõppe meetodeid, mis ei põhine joondamisel, vaid otsivad genoomist üldiseid mustreid, mis sobituks varasemalt

loodud muustritega. Sobivuse korral on fenotüüp resistentne ning vastasel juhul sensitiivne. Sellisteks on näiteks Kover ning PhenotypeSeeker (Aun jt., 2018 ; Drouin jt., 2016). Eri uuringud on näidanud, et fenotüübiline ning sekveneerimisandmetest ennustatud resistentsusprofiil võivad olla kooskõlas (Vanstokstraeten jt., 2023 ; Zankari jt., 2012). Samas on üheks suureks probleemiks asjaolu, et eri bioinformaatilised tööriistad ning andmebaasid annavad mõnevõrra erinevaid tulemusi samu tüvesid uurides. Põhjuseks võivad olla nii vead klassifikatsioonis, referentsgenoomides kui ka algoritmides. Mõjuteguriks võib olla ka sekveneerimisandmete kvaliteet (Davies jt., 2023 ; Doyle jt., 2020). Lahenduseks on pakutud välja kindlate kvaliteedinäitajate loomine sekveneerimisandmetele ning standardiseeritud ARG andmebaas (Ellington jt., 2017).

Antibiootikumiresistentsuse tuvastamiseks geenijärjestustest on olemas erinevaid bioinformaatilisi tööriistu ning andmebaase. Peamisteks, mida kasutatakse, on CARD (*The Comprehensive Antibiotic Resistance Database*) ning ResFinder/PointFinder (Alcock jt., 2023 ; Florensa jt., 2022). Lisaks nendele on olemas ka muid andmebaase, näiteks ARGminer (Arango-Argoty jt., 2020), NDARO (NCBI, i.a.) ja ARDB (Liu ja Pop, 2009). Alates 2009. aastast ei uuendata ARDB andmebaasi. Valik on mõistlik teha uuringust sõltuvalt, sest eri andmebaasid võivad keskenduda eri tüüpi resistentsusgeenidele ning tööriista efektiivsus sõltub suuresti referentsandmetest (Papp ja Solymosi, 2022).

Nii CARD kui ka ResFinder hõlmavad infot ARGide, geeniproductide, resistentsusmehhanismide ning -fenotüüpide kohta. Mõlemaid andmebaase uuendatakse regulaarselt ning kureeritakse teadlaste poolt. Järjestuste joondamiseks ehk homoloogia otsimiseks kasutatakse näiteks BLAST-algoritmi (*Basic Local Alignment Search Tool*), kuid ka teisi algoritme (Alcock jt., 2023 ; Florensa jt., 2022). RGI (*Resistance Gene Identifier*) on CARDi tööriist, mille eesmärk on tulemustele annotatsiooni lisamine (Alcock jt., 2023). ResFinder/PointFinder on nii andmebaas kui ka tööriist, kasutades sarnaselt CARDile referentsjärjestusi ARGide ennustamiseks (Florensa jt., 2022).

Enamjaolt tuvastatakse ARGe sekveneeritud bakteriisolaadi kogu genoomsest DNAST. Samas kasutatakse järjest enam ka metagenoomset sekveneerimist, kus järjestatakse ära kogu proovis leiduv DNA. Kliinilises kontekstis on patogeenide DNA metagenoomsetes proovides (näiteks vereproovis) tihtipeale fragmenteerunud, mistõttu on ka sekveneerimisest saadud geenijärjestused lühikesed (Berglund jt., 2019 ; Diao jt., 2025 ; Li jt., 2022 ; Zhou jt., 2025).

Seega on üheks variandiks enne bioinformaatilist analüüsi sekveneeritud fragmendid kontiigideks assambleerida, kasutades spetsiaalseid programme (Nurk jt., 2017). Lisaetappe mittenõudev variant on ARGide ennustamine otse metagenoomsetest andmetest, näiteks Illumina sekveneerimistehnoloogiast tulevate lühikeste järjestuste põhjal. Samas on teada, et assambleeritud kontiigide puhul on programmi sisendiks rohkem informatsiooni, mis võib anda usaldusväärsemaid tulemusi (Arango-Argoty jt., 2018). Käesolevas töös ei kasutatud metagenoomseid proove, vaid isolaatide järjestusi.

1.3.3 DeepARG

DeepARG on programm, mille eesmärk on ARGide ennustamine sekveneerimisandmetest. Võrreldes teiste eelmainitud programmidega, kasutab DeepARG geeni tuvastamiseks parima vaste (ingl *best hit*) leidmise asemel uuritava järjestuse identsuse kauguse jaotust kõikide andmebaasis olevate ARGide suhtes. Parima vaste kasutamine annab paratamatult palju valenegatiivseid tulemusi. See tähendab, et geeni, mis on tegelikult ARG, ei loeta resistentsusgeeniks. Põhjuseks võib olla järjestuse ning referentsgeeni omavaheline madal katvus või identsus, mis tuleneb asjaolust, et ei sekveneerita kogu ARGi või on tegemist referentsgeeni uue seni kirjeldamata variandiga. Seetõttu jäävad tuvastamata ka uudsed ning vähem konserveerunud geenid. DeepARGi eesmärk on seda probleemi lahendada, leides üles võimalikult palju tõeseid ARGe ning hoides valenegatiivsete tulemuste hulk madal.

DeepARG programmil on kaks süvaõppel põhinevat mudelit: DeepARG-LS ning DeepARG-SS. Esimene neist on mõeldud geenide täispikkuses järjestuste ja assambleeritud kontiigide ning teine lühikeste sekveneerimislugemite analüüsimiseks, sealhulgas metagenoomsete andmete jaoks.

Mudelite jaoks loodi ka vastav andmebaas nimega DeepARG-DB, milles olevate referentsjärjestuste vastu joondamine toimub, kasutades DIAMOND-algoritmi (Arango-Argoty jt., 2018). Andmebaasis olevad geenid pärinevad CARD, ARDB ning UNIPROT andmebaasidest (Apweiler, 2004 ; Jia jt., 2017 ; Liu ja Pop, 2009). Kui CARD ning ResFinder seovad ennustatud geeniga enamjaolt konkreetse antibiootikumi, siis DeepARGi mudelid ennustavad kategooria, kuhu antibiootikum, millele geen resistentsust põhjustab, kuulub. Oluline on mainida, et DeepARG ei suuda tuvastada ühenukleotiidsetest polümorfismidest ja mutatsioonidest tingitud resistentsust, nagu näiteks teevad seda RGI või

ResFinder'i juurde kuuluv PointFinder (Alcock jt., 2023 ; Arango-Argoty jt., 2018 ; Florensa jt., 2022).

DeepARGi autorid testisid mudelite ennustusvõimet vaid teadaolevate ARGide, pseudoARGide ning simuleeritud metagenoomi pealt ning selle põhjal puudub ülevaade, kui hästi suudab antud programm ennustada reaalelu täisgenoomide järjestustelt. Programmi autorid hindasid mudelite ennustusvõimet PPV (positiivne prognoosväärus), sensitiivsuse ning F1 skoori põhjal. Kõrge sensitiivsus tähendab, et mudel leiab edukalt üles kõik resistentsed tüved ning valenegatiivsete ennustuste osakaal on väike. Kliiniliselt on see oluline, sest aitab vältida raviotsuste puhul ebaefektiivsete antibiootikumide kasutamist. DeepARGi autorid ei käsitlenud enda uuringus spetsiifilisust, kuid tegu on samuti kliiniliselt olulise parameetriga (Arango-Argoty jt., 2018). Kõrge spetsiifilisus (Marini jt., 2022) tähendab, et mudel tuvastab õigesti tundlikud tüved ning valepositiivsete osakaal on väike. See aitab vältida nende antibiootikumide raviplaanist väljajätmist, mis tegelikult toimiksid. Kõrge PPV tähendab, et mudeli poolt resistentseks ennustatud tüved on tõepoolest resistentsed. See võimaldab saada üldisema hinnangu kasutatava meetodi kohta – kas tulemusi kliiniliste otsuste tegemiseks usaldada või mitte.

Arango-Argoty ja teised järeldasid, et mõlemad DeepARGi mudelid suudavad ARGe üldiselt ennustada kõrge PPV ($>0,97$) ning sensitiivsusega ($>0,90$). See viitab asjaolule, et identtsuse kauguste kasutamisel on eelis, sest parima vaste põhimõtte kasutamise korral oli sama andmestiku puhul üldine sensitiivsus 0,51. Ennustamisvõime oli kehvem antibiootikumide puhul, mille ARGide kohta oli vähem infot ning sulfoonamiidide klassil (Arango-Argoty jt., 2018).

DeepARG-SS mudeli ennustamisvõimet on varasemalt uuritud ka kliiniliste isolaatide peal. Marini ja teised kasutasid Euroopa, Aasia ning Lõuna- ja Põhja-Ameerika eri bakteritüvede sekveneerimisandmeid, millest suur osa olid *Klebsiella* perekonna isolaadid. Leiti, et ResFinder ennustab enamjaolt paremini kui DeepARG-SS. Fluorokinoloonide ja aminoglükosiidide resistentsusgeene ennustasid mõlemad programmid halvasti. Nende antibiootikumiklasside puhul oli DeepARG-SSi sensitiivsus 1, kuid spetsiifilisus 0. ResFinderil oli mõnevõrra madalam sensitiivsus, kuid spetsiifilisus ligikaudu 0,3. Beetalaktaamide resistentsuse puhul oli DeepARG-SSi sensitiivsus 0,87 ning spetsiifilisus 0,8. Samas ResFinderil vastavalt 1 ja 0. DeepARG-SS sensitiivsus diaminopürimidiinide

resistentsuse ennustamisel oli 0 ning spetsiifilisus 1. ResFinderil oli sama klassi puhul mõlemad väärtused ligikaudu 0,91 (Marini jt., 2022).

2. EKSPERIMENTAALOSA

2.1. Töö eesmärgid

Käesoleva töö üldiseks eesmärgiks oli analüüsida, kas programm DeepARG sobib Eestis levivate *Klebsiella pneumoniae* kliiniliste isolaatide resistentsusfenotüüpide ennustamiseks.

Töö alameesmärgid olid:

- 1) Tuvastada programmiga DeepARG antibiootikumiresistentsuse geenid Eestis kogutud kliinilistes *K. pneumoniae* tüvedes, kasutades nii DeepARG-LS kui DeepARG-SS mudeleid.
- 2) Määrata DeepARG ja ResFinder programmide poolt leitud geenide põhjal tüvede resistentsusfenotüübid.
- 3) Võrrelda ennustatud resistentsusfenotüüpe laboratoorselt määratud fenotüüpidega ning arvutada programmide sensitiivsus, spetsiifilisus ja PPV.
- 4) Hinnata DeepARGi sobivust Eestis kogutud *K. pneumoniae* resistentsusfenotüüpide määramiseks võrreldes ResFinder programmiga.

2.2. Materjal ja meetodika

2.2.1 Andmed

Ekspimentaalselt analüüsitud bakteritüved koguti 2019.-2022. aastal RITA projekti „Antibiootikumiresistentsuse levikuteed ja resistentsuse ohjamise võimalused“ raames. Uuringusse kaasati patsiente, kellelt eraldati mõni järgmistest enterobakteritest: metitsilliin-resistentne *S. aureus*, vankomütsiin-resistentne *E. faecium*, ESBL-positiivne *E. coli* kompleks, ESBL-positiivne *K. pneumoniae* kompleks. Patsiendid olid kas hospitaliseeritud või ambulatoorsed ning vastavalt isoleeriti bakterid kas verest või uriinist. Iga resistentsuse mikroobitüvega patsiendi kohta kaasati samast tervishoiuasutusest tundliku tüvega patsient või ambulatoorselt järjestikune tundliku tüvega patsient. Uuringut hõlmavaid raviasutusi oli kaheksa: Ida-Tallinna Keskhaigla, Ida-Viru Keskhaigla, Lääne-Tallinna Keskhaigla, Narva Haigla, Põhja-Eesti Regionaalhaigla, Pärnu Haigla, SYNLAB Eesti, Tartu Ülikooli Kliinikum. Käesolevas töös kasutati kogutud liikidest vaid *K. pneumoniae* tüvesid ning olemas olid nii eelnevalt assambleeritud genoomid kui ka toorlugemid. Igale kasutatud tüvele olid laboratoorselt mõõdetud MIK väärtused (Lisa). Antibiootikumid, mille MIK

väärtuseid käesolevas töös kasutati, olid järgmised: amikatsiin, gentamütsiin, tobramütsiin, amoksitsilliin/klavulaanhape, ampitsilliin, piperatsilliin, piperatsilliin/tasobaktaam, ertapeneem, imipeneem, meropeneem, tsefepiim, tsefiksiim, tseftasidiim, tseftriaksoon, tsefuroksiim, tsefaleksiin, astreonaam, tsiprofloksatsiin, levofloksatsiin, norfloksatsiin, trimetoprim, trimetoprim/sulfametoksasool. Analüüsimiseks kasutati 97 tüve. Kõikide analüüsitavate tüvede jaoks oli eelnevalt Age Braueri poolt ennustatud ARGid programmiga ResFinder.

2.2.2 DeepARG programmi rakendamine

DeepARG andmebaasi allalaadimisel ja programmi kasutamisel järgisin juhiseid veebilehel <https://github.com/gaarangoa/deeparg>.

Selleks, et veenduda andmete korrektsuses, oli tarvis üle kontrollida, kas kõigi tüvede jaoks on olemas laboris ennustatud fenotüüp. Samuti eemaldasim uurimusest saastunud tüved ning tüved, millel oli fenotüüp, kuid puudusid sekveneerimisandmed. Projekti raames koguti 122 tüve, millest analüüsi jäi 97.

DeepARG-LS mudeliga ennustamiseks kasutasin eelnevalt assambleeritud genome.

Programmi käivitamise käsuks oli:

```
deeparg predict -d deeparg_data_path --model LS --type nucl --input /path/file.fasta --out /path/to/out/file.out
```

Programmi väljundiks oli neli faili, millest analüüsiks vajalikud ARGide nimed ning klassid olid leitavad *.mapping.ARG failis. Edasiseks analüüsiks kasutasin ARGe, mille identsus oli vähemalt 80%.

DeepARG-SS mudeliga ennustamiseks kasutasin sekveneerimise toorlugemeid, mida polnud assambleeritud. Iga tüve kohta oli sekveneeritud neli paarislugemite raamatukogu (neli *forward* ning neli *reverse*), mis oli tarvis kokku liita nii, et lõpuks jäi alles üks *forward* lugemite fail ning üks *reverse* lugemite fail.

Seejärel puhastasin lugemid programmiga fastp (Chen jt., 2018), et eemaldada adapterjärjestused ning lühikesed ja madala kvaliteediga lugemid. Kvaliteediskoori lävendiks

oli 30 ning minimaalseks vajalikuks pikkuseks 80 aluspaari. Programmi käivitamise käsuks oli:

```
fastp --in1 *R1.fastq --in2 *R2.fastq --out1 *R1_paired.fastq --out2 *R2_paired.fastq  
--cut_front --cut_right -M 30 -l 80 --detect_adapter_for_pe
```

Puhastatud lugemeid kasutasin DeepARG-SS mudeliga ennustamiseks. Referentsjärjestuse ning potentsiaalse ARGi identsuse alampiiriks oli 80%. Programmi käivitamise käsuks oli:
deeparg predict --model SS --type nucl --input /path/file.fasta --out /path/to/out/file.out -d
deeparg_data_path --arg-alignment-identity 80

Analoogselt DeepARG-LS mudelile, on resistentsusgeenid ja klassid leitavad *.mapping.ARG failis.

2.2.3 Resistentsusfenotüübi määramine MIK väärtuste põhjal

Varasemalt oli laboris määratud mikroobitüvedele kindel MIK väärtus eri antibiootikumide puhul. Käesolevas töös kasutasin fenotüübi määramiseks (resistentne või tundlik) EUCAST 2025 MIK väärtuste ja murdepunktide andmeid (Lisa).

2.2.4 Resistentsusfenotüübi määramine ennustatud ARGide põhjal

Nii DeepARG-LS, DeepARG-SS kui ka ResFinderi poolt tuvastatud ARGide põhjal määrasin uurimistöös vaatluse all olevate antibiootikumide puhul igale tüvele ka *in silico* ennustatud fenotüübi. Genotüübi andmete tõlgendamisel ehk fenotüübiga seostamisel kasutasin ARGidega seotud fenotüübi infot nii ResFinderi kui ka CARD andmebaasist ning vajadusel otsisin lisainfot kirjandusest. Uurimuses kasutasin vaid geene, millega oli võimalik resistentsusfenotüüpi kindlalt seostada ning millele oli laboratoorne tõestus, et vastav geen põhjustab tõepoolest konkreetse antibiootikumi suhtes resistentsust. Seetõttu jäid analüüsist välja programmide poolt ennustatud geenid, mis kodeerivad väljavoolupumpasid ja poriine. Lisaks jäid välja geenid, millega seotud fenotüübiks oli andmebaasides „multiresistentne“ ja seetõttu ei olnud võimalik neid konkreetsete antibiootikumidega seostada. Analüüsis jätsin arvestamata ka need ARGid, mille puhul ei suutnud programmid tuvastada ARGi täpset alleelset varianti, et teha usaldusväärne otsus seotud fenotüübi kohta (teatud beetalaktamaaside puhul). Kuna DeepARGi eesmärk ei olnud tuvastada ühenukleotiidsetest

polümorfismidest tingitud resistentsust (Arango-Argoty jt., 2018), siis ei arvestanud ka ResFinderi lisatööriista PointFinderi ennustatud punktmutatsioonidega.

2.2.5 Programmide ennustatavuse hindamine

Iga kolme *in silico* ennustusviisi (DeepARG-LS, DeepARG-SS, ResFinder) puhul võrdlesin, kas ARGide tuvastamise kaudu määratud ning laboris määratud fenotüüp langesid kokku või mitte. Andsin igale mikroobitüvele ühe järgmistest tõlgendustest: TP (tõeselt positiivne), FP (valepositiivne), TN (tõeselt negatiivne), FN (valenegatiivne) (Tabel 5).

Saadud tõlgenduste põhjal arvutasin iga antibiootikumi puhul igale kolmele ennustusviisile sensitiivsuse, spetsiifilisuse ning positiivse prognoosväärtuse (PPV) järgnevate valemite abil:

$$\text{Sensitiivsus} = \frac{TP}{TP+FN}$$

$$\text{Spetsiifilisus} = \frac{TN}{TN+FP}$$

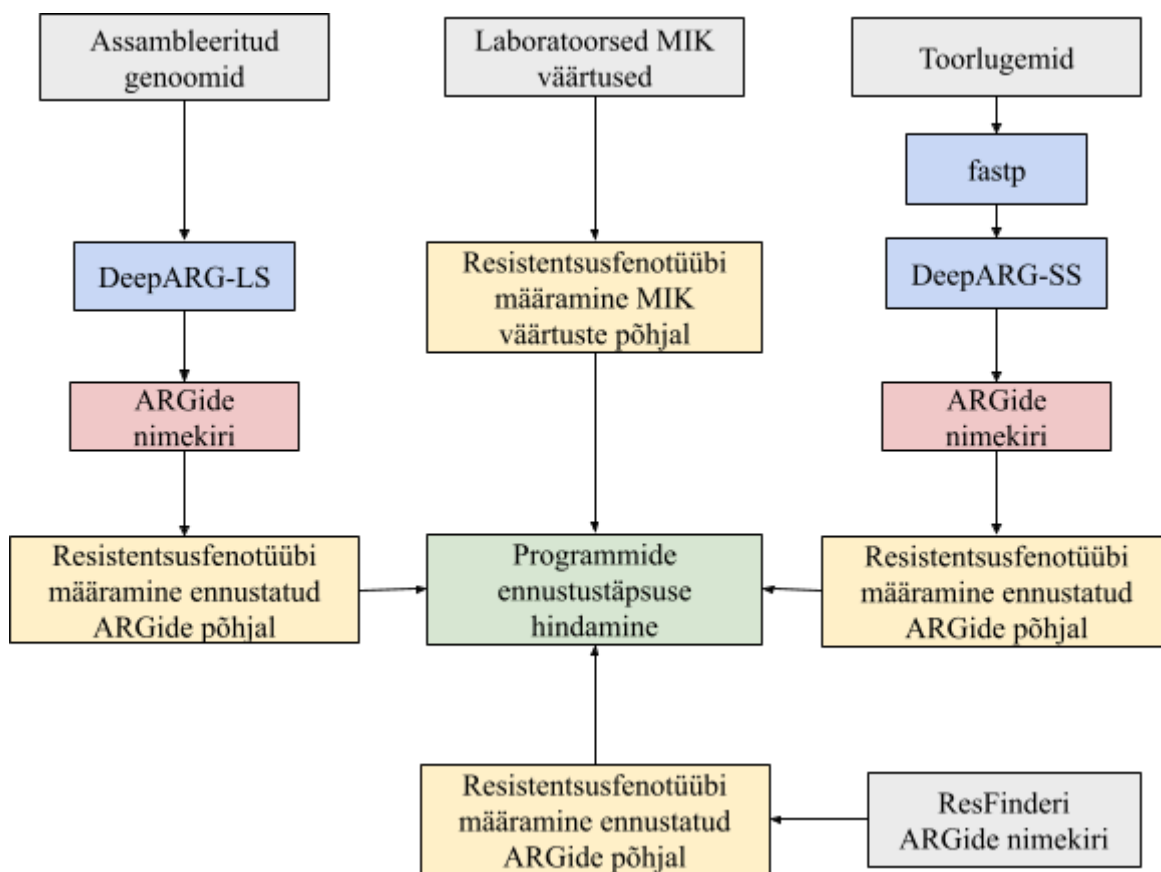
$$PPV = \frac{TP}{TP+FP}$$

Seega tuli iga antibiootikumi jaoks kokku üheksa väärtust, välja arvatud juhul, kui ei olnud sensitiivsust ja PPVd võimalik arvutada, sest puudusid tõeselt positiivsed tüved.

Seejärel koostasid kõikide analüüsis olnud antibiootikumide kohta histogrammid, kus on esindatud nii DeepARG-LS, DeepARG-SS kui ka ResFinderi sensitiivsus, spetsiifilisus ning PPV. Töövoe kirjeldus on näidatud kokkuvõtlikult joonisel 2.

Tabel 5. Tõlgendust mõjutavad asjaolud. TP – tõeselt positiivne, FP – valepositiivne, TN – tõeselt negatiivne, FN-valenegatiivne.

Tõlgendus	Resistentsusega seotud ARGi tuvastamine	Laboratoorne fenotüüp resistentne
TP	Jah	Jah
FP	Jah	Ei
TN	Ei	Ei
FN	Ei	Jah



Joonis 2. Töövoog. Andmed on tähistatud hallilt, kasutatud programmid siniselt. DeepARG mudelite ennustatud ARGid on tähistatud punasega. Resistentsusfenotüübid määrati laboratoorsete MIK väärtuste põhjal ning eraldi iga kolme programmi puhul vastavate ennustatud ARGide põhjal. Seejärel hinnati DeepARG-LSi, DeepARG-SSi ja ResFinderi ennustustäpsust eraldi, võrdluseks kasutati MIK väärtuste põhjal määratud resistentsusfenotüüpi.

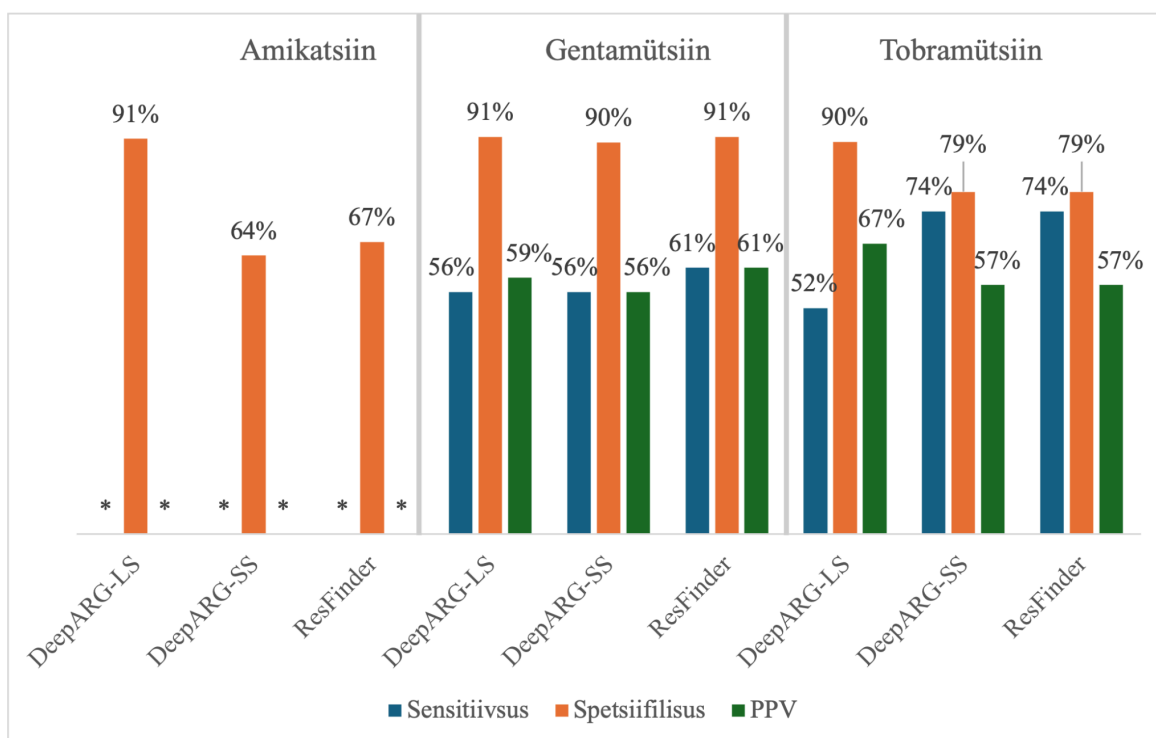
2.3. Tulemused

Tulemuste tõlgendamisel lähtuti sellest, et >90% on väga hea, 80-90% on hea, 70-80% on aktsepteeritav ning <70% on kehv.

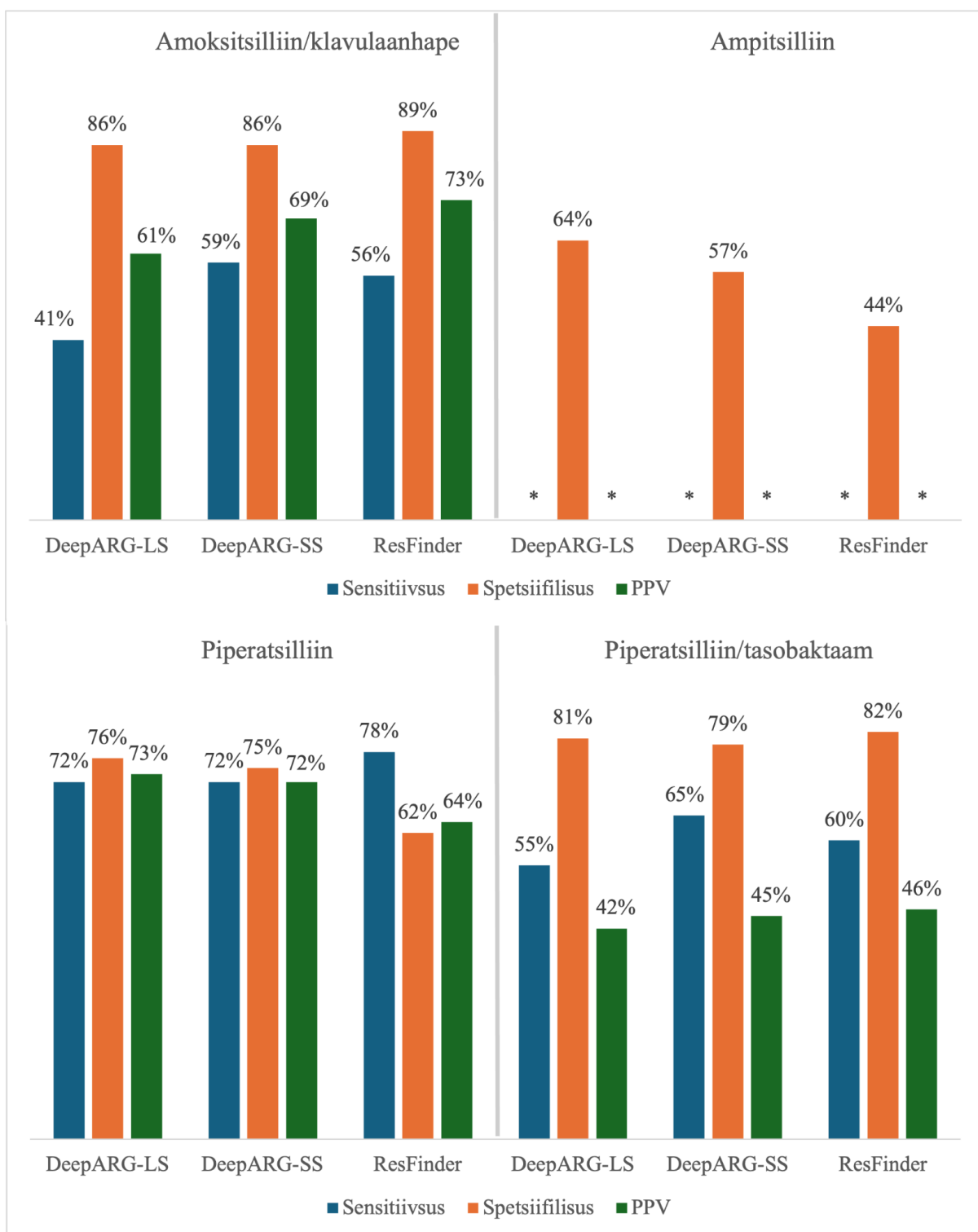
Valdavalt on DeepARG mudelite spetsiifilisused head ning teatud juhtudel paremad kui ResFinderil. Nii DeepARG-LS kui ka DeepARG-SS olid ResFinderist kõrgema spetsiifilisusega penitsilliinide ampitsilliinil ning piperatsilliinil (Joonis 4) ja kõigil analüüsitud fluorokinoloonidel (Joonis 9), diaminopürimidiinidel ja sulfoonamiidil (Joonis 10). Lisaks võib DeepARG-LS mudeli puhul näha ResFinderist kõrgemat spetsiifilisust aminoglükosiidide amikatsiinil ning tobramütsiinil (Joonis 3), tsefalosporiinide tseftasidiimil, tseftriaksoonil (Joonis 5) ning tsefepiimil (Joonis 6) ja monobaktaami astreonaamil (Joonis 8).

Kombineeritud penitsilliinide preparaatide (amoksitsilliin/klavulaanhape ning

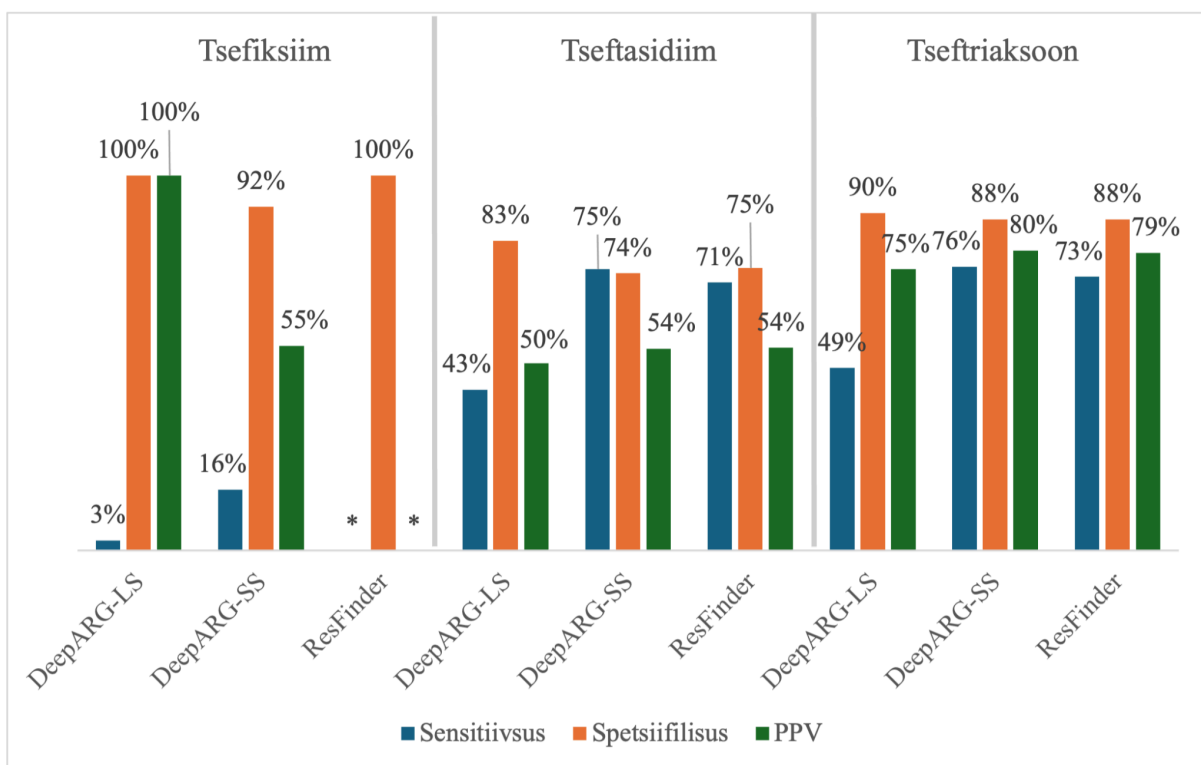
pipratsilliin/tasobaktaam) (Joonis 4) ja karbapeneemide (Joonis 7) puhul oli ResFinderi spetsiifilisus DeepARG mudelite omast kõrgem. Siiski olid erinevused mõne protsendi suurused, välja arvatud DeepARG-SS mudel, mille karbapeneemide spetsiifilisus oli sõltuvalt antibiootikumist 88-89% ning ResFinderil 100% (Joonis 7). Suurimaid erinevusi võib märgata amikatsiini (Joonis 3) ja diaminopürimidiinide trimetoprimi (Joonis 10) puhul, kus DeepARG-LSi spetsiifilisus oli väga hea (vastavalt 91 ja 92%), kuid ResFinderil kehv (vastavalt 67 ja 68%). Kui võrrelda DeepARG mudeleid omavahel, siis on kõikide antibiootikumide puhul DeepARG-LS spetsiifilisem.



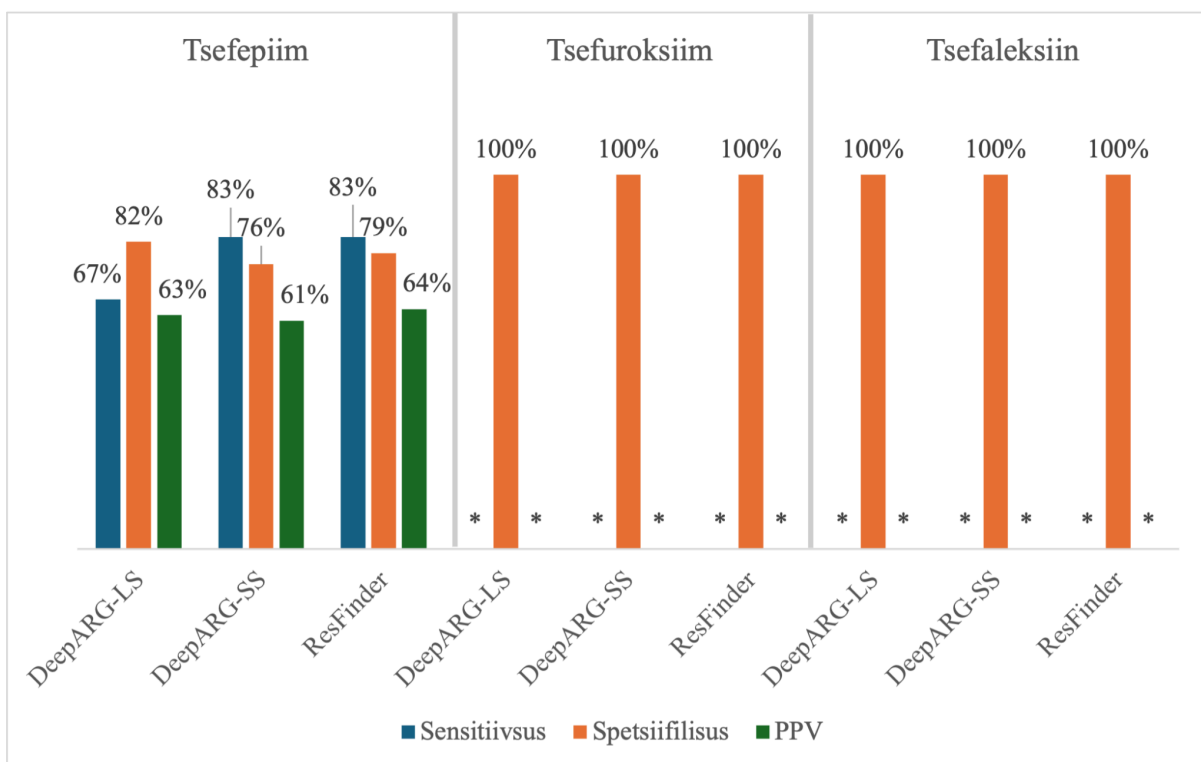
Joonis 3. Programmi DeepARG mudelite LS ja SS ning programmi ResFinder aminoglükosiidide resistentsuse ennustamise edukuse hindamine *K. pneumoniae* tüvedes. * tähistab puudulikku väärtust tõeste positiivsete puudumise tõttu.



Joonis 4. Programmi DeepARG mudelite LS ja SS ning programmi ResFinder penitsilliinide resistentsuse ennustamise edukuse hindamine *K. pneumoniae* tüvedes. * tähistab puudulikku väärtust tõeste positiivsete puudumise tõttu.

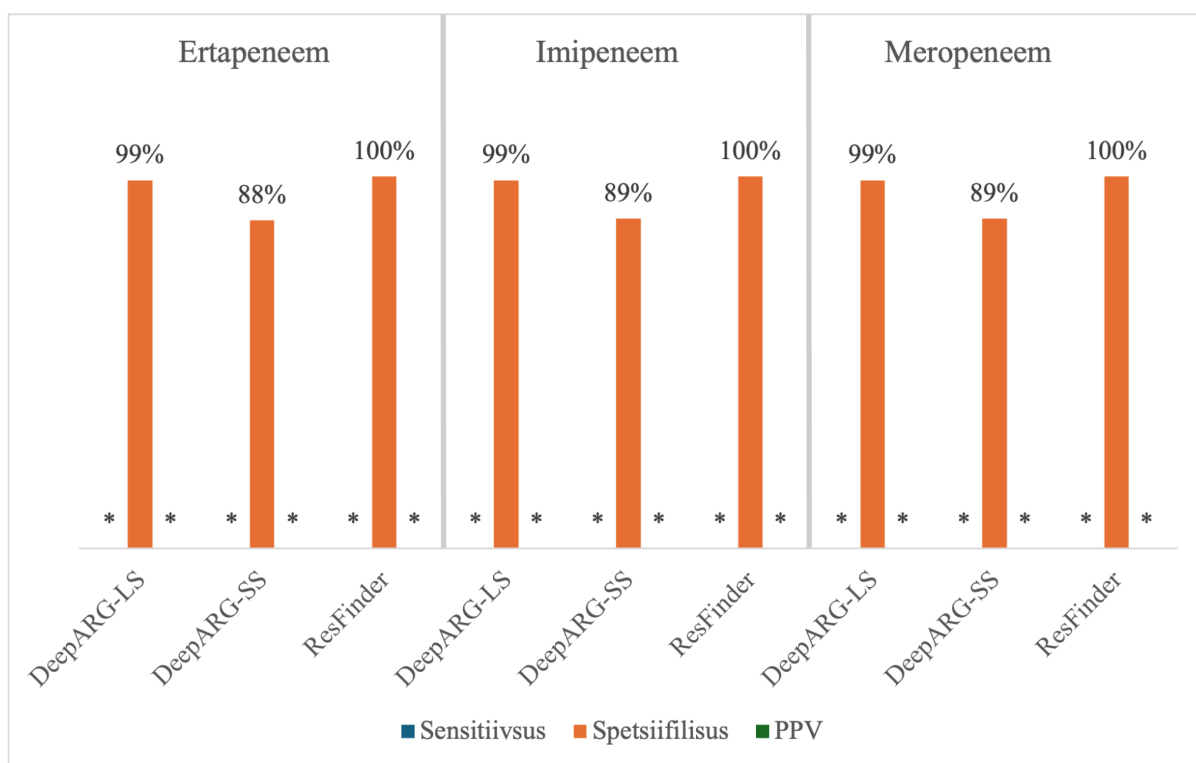


Joonis 5. Programmi DeepARG mudelite LS ja SS ning programmi ResFinder kolmanda generatsiooni tsefalosporiinide resistentsuse ennustamise edukuse hindamine *K. pneumoniae* tüvedes. * tähistab puudulikku väärtust tõeste positiivsete puudumise tõttu.

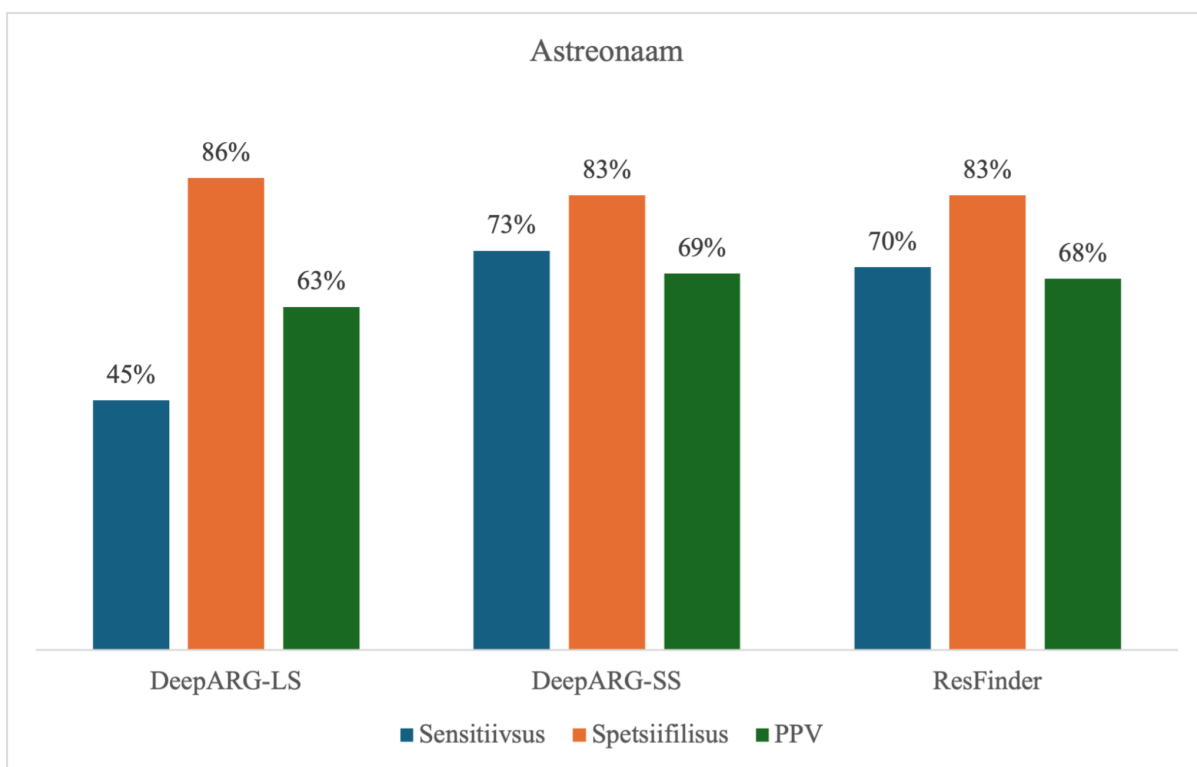


Joonis 6. Programmi DeepARG mudelite LS ja SS ning programmi ResFinder tsefalosporiinide resistentsuse ennustamise edukuse hindamine *K. pneumoniae* tüvedes. * tähistab puudulikku väärtust tõeste positiivsete puudumise tõttu.

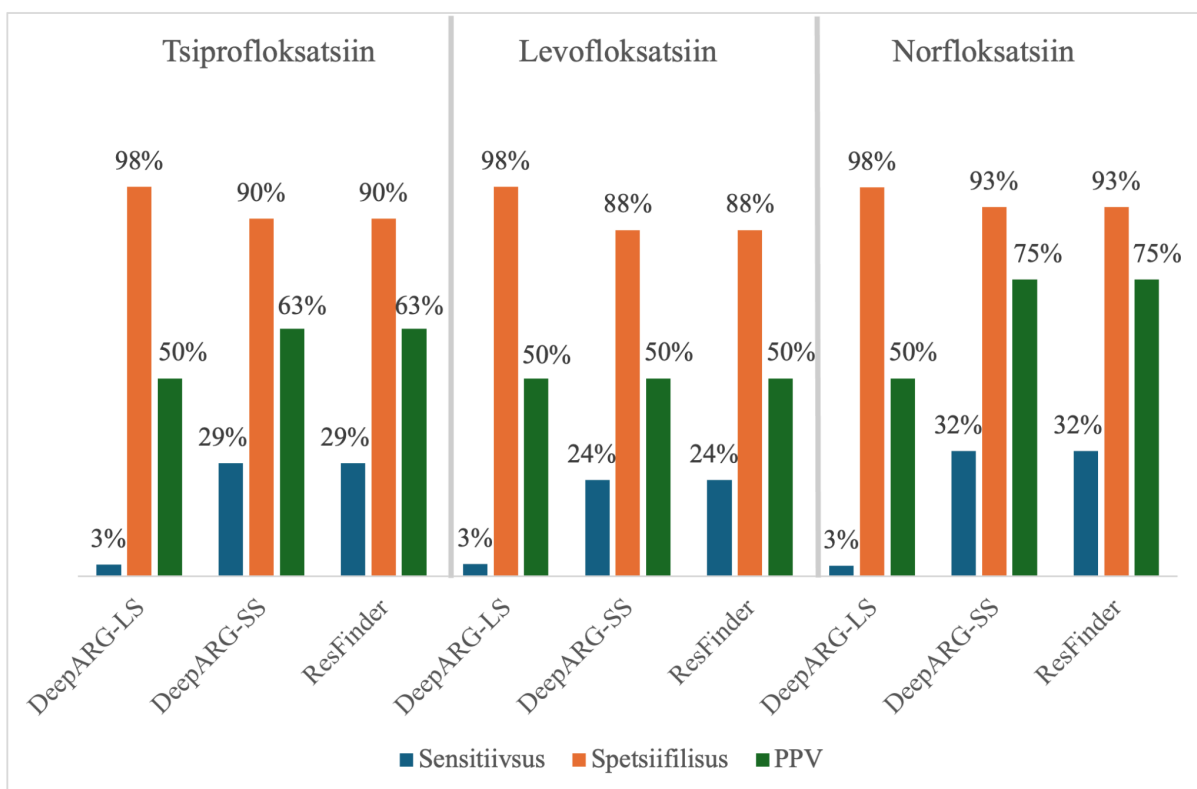
Teatud antibiootikumide puhul ei olnud tõeste positiivsete tüvede puudumise tõttu võimalik sensitiivsust arvutada: amikatsiin (Joonis 3), ampitsilliin (Joonis 4), tsefiksiim (ResFinder) (Joonis 5), tsefuroksiim ja tsefaleksiin (Joonis 6), karbapeneemid (Joonis 7), diaminopürimidiinid ja sulfoonamiidid (Joonis 10). Sensitiivsusest lähtudes ei andnud DeepARG üldiselt ResFinderist paremaid tulemusi. Valdavalt olid kas aktsepteeritavad või kehvad tulemused kõigi kolme programmi puhul. Kõige kõrgema sensitiivsuse (83%) saavutasid nii DeepARG-LS kui ka ResFinder tsefepiimi puhul (Joonis 6). Kõige kehvemad tulemused olid fluorokinolonide puhul, kus DeepARG-LS sai sensitiivsuseks 3% ning DeepARG-LS ja ResFinder 29-32% antibiootikumist sõltuvalt (Joonis 9). Võrreldes spetsiifilisusega, oli DeepARGi mudelite erinevus tunduvalt suurem. Gentamütsiini (Joonis 3) ja piperatsilliini (Joonis 4) puhul olid mudelite spetsiifilisused sama väärtusega, kuid kõigil teistel juhtudel oli DeepARG-SS tunduvalt sensitiivsem (10-32% võrra).



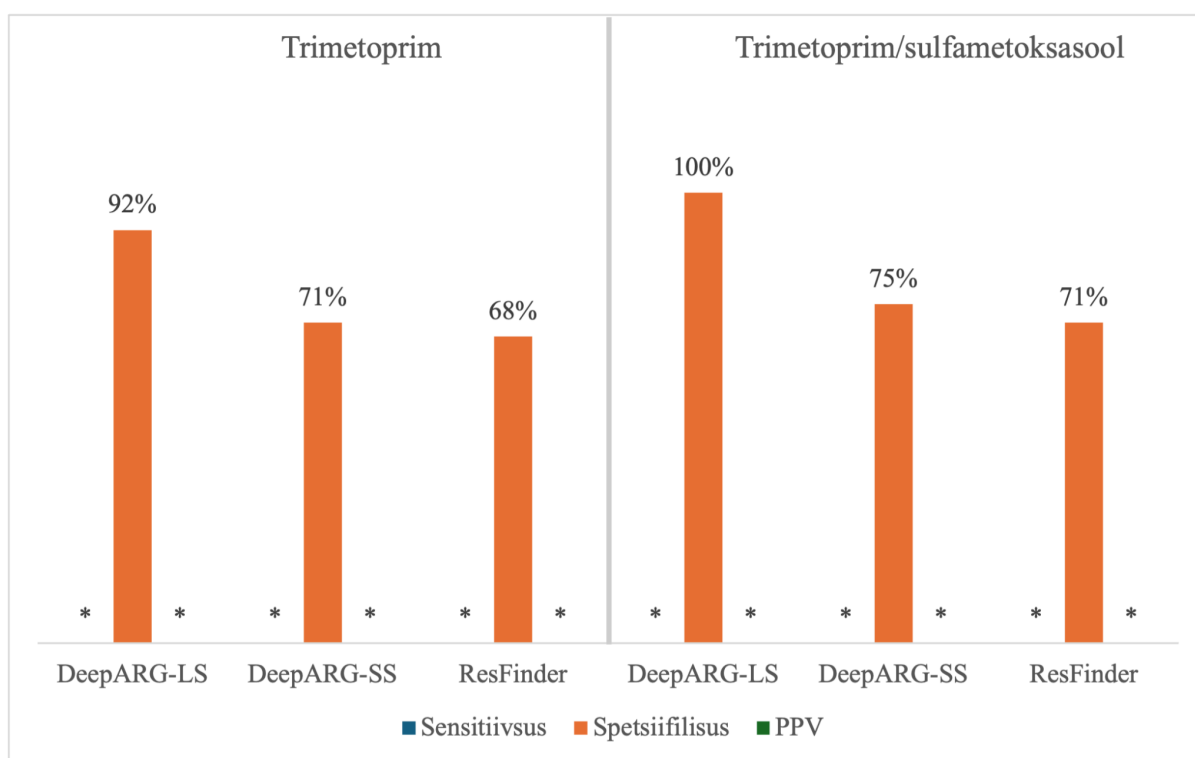
Joonis 7. Programmi DeepARG mudelite LS ja SS ning programmi ResFinder karbapeneemide resistentsuse ennustamise edukuse hindamine *K. pneumoniae* tüvedes. * tähistab puudulikku väärtust tõeste positiivsete puudumise tõttu.



Joonis 8. Programmi DeepARG mudelite LS ja SS ning programmi ResFinder monobaktaami resistentsuse ennustamise edukuse hindamine *K. pneumoniae* tüvedes.



Joonis 9. Programmi DeepARG mudelite LS ja SS ning programmi ResFinder fluorokinoloonide resistentsuse ennustamise edukuse hindamine *K. pneumoniae* tüvedes.



Joonis 10. Programmi DeepARG mudelite LS ja SS ning programmi ResFinder diaminopürimidiinide ja sulfoonamiidi resistentsuse ennustamise edukuse hindamine *K. pneumoniae* tüvedes. * tähistab puudulikku väärtust tõeste positiivsete puudumise tõttu.

Analoogselt sensitiivsusele ei olnud eelmainitud antibiootikumidele tõeste positiivsete tüvede puudumise tõttu võimalik PPVd arvutada. Kõikide aminoglükosiidide puhul oli PPV kehv (Joonis 3). Penitsilliinide puhul oli piperatsilliinil DeepARGi PPV aktsepteeritav, kuid ResFinderil kehv. Samas piperatsilliin/tasobaktaami kombinatsiooni puhul olid kõikide programmide PPVd kehvad (langus ligi 20-30%). Piperatsilliini PPVle vastupidine olukord oli amoksitsilliin/klavulaanhappe kombinatsiooni puhul, kus ResFinderi PPV oli aktsepteeritav, kuid DeepARGi mudelite omad kehvad (Joonis 4). Aktsepteeritavad PPVd olid ka tsefalosporiinide tseftriaksoonil (kõikide programmide puhul) (Joonis 5) ning fluorokinolonide norfloksatsiinil (DeepARG-SS ja ResFinder) (Joonis 9). Kõige suurem vastuolu oli tsefalosporiinide tsefiksiimil, mille puhul ei suutnud ResFinder ühtegi tüve resistentseks määrata, kuid DeepARG-LSi PPV oli 100%. Samas on oluline mainida, et samal antibiootikumil oli DeepARG-LSi sensitiivsus kõigest 3% (Joonis 5). Kui võrrelda DeepARG mudelite PPVsid omavahel, siis ei ole selget trendi, kuid enamjaolt on nad sarnased ning tulemus sõltub uuritavast antibiootikumist. Suurim erinevus on tsefiksiimi puhul, kus DeepARG-LSi PPV oli 100% ning DeepARG-SSil 55% (Joonis 5). Vastupidiselt oli norfloksatsiinil DeepARG-SSi PPV suurem (vastavalt 75 ja 50%). Üldine kokkuvõte programmide spetsiifilisusest, sensitiivsusest ja PPVst iga antibiootikumiklassi kohta on tabelis 6.

Tabel 6. Üldine kokkuvõte programmide spetsiifilisusest, sensitiivsusest ja PPVst iga antibiootikumiklassi kohta. K tähistab kõrgeimat ennustusvõimet ning M madalaimat. LS tähistab DeepARG-LS mudelit, SS tähistab DeepARG-SS mudelit ning Res tähistab ResFinderit. Sulgudes olevate programmide ennustusvõime oli lähedane tabelis oleva programmiga. - tähistab väärtuse puudumist.

	Spetsiifilisus		Sensitiivsus		PPV	
	K	M	K	M	K	M
Aminoglükosiidid	LS	SS(Res)	Res	LS	LS(Res)	SS
Penitsilliinid ja monobaktaam	LS	Res(SS)	SS(Res)	LS	SS(Res)	LS
Tsefalosporiinid	LS	SS(Res)	SS	LS	LS/SS/Res	LS/SS/Res
Karbapeneemid	Res(LS)	SS	-	-	-	-
Fluorokinoloonid	LS	SS/Res	SS/Res	LS	SS/Res	LS
Diaminopürimidiinid ja sulfoonamiid	LS	Res	-	-	-	-

2.4. Arutelu

Käesoleva töö eesmärgiks oli analüüsida, kas DeepARG programm sobib Eestis levivate *Klebsiella pneumoniae* kliiniliste isolaatide resistentsusfenotüüpide ennustamiseks. Praktilise osa tulemused viitavad sellele, et uuritavatest programmidest kõige spetsiifilisemaks osutus DeepARG-LS. Samas kõige sensitiivsemateks olid nii DeepARG-SS kui ka ResFinder. Programmide PPV sõltus palju antibiootikumist. DeepARG-LSi kõrge spetsiifilisus viitab sellele, et mudel suudab efektiivselt üles leida tõeselt negatiivsed ehk sensitiivseid tüvesid ei määrata liialt resistentseteks. Antud asjaolu on oluline patsiendi ravi määramisel, sest valeinformatsiooni tõttu võib toimiv antibiootikum jääda manustamata. Aeg, mis kulub teise sobiva ravimi leidmiseks, võib osutuda eluohtlikuks (Philippon jt., 2025 ; van Zanten, 2014). Lisaks võidakse seetõttu valida muu laiatoimeline antibiootikum. Eesti statistika näitab, et juba on laiatoimeliste antibiootikumide kasutamine tõusuteel (Sepp ja Sammul, 2024), kuid see paratamatult süvendab AMRi probleemi. Tulemused näitasid, et nii DeepARG-SS kui ka ResFinder olid kõrgema sensitiivsusega kui DeepARG-LS. Seega on DeepARG-LS mudeli kasutamisega suurem oht, et bakterit peetakse antibiootikumile sensitiivseks, kui ta seda tegelikult ei ole. Analoogselt madalale spetsiifilisusele, tähendab see, et kaasneb ajakulu ning ebaefektiivsete antibiootikumide kasutamine panustab AMRi. Laboris määrati neli tüve ertapeneemi suhtes resistentseks, kuid ükski programm antud tüvedele vastavat ARGi ei

leidnud ehk tegu oli valenegatiivsetega. Karbapeneemide suhtes resistentsete bakterite ennustamine sensitiivseteks on probleemiks, sest tegu on prioriteetsete bakterpatogeenidega. Analoogselt leidis kõikide mudelite puhul valenegatiivseid kolmanda põlvkonna tsefalosporiinide suhtes, mis on samas patogeenide nimekirjas (WHO, 2024a).

Käesoleva uuringu tulemused ei kattunud Marini ja teiste tulemustega. Käesolev töö leidis, et ResFinder ning DeepARG-SS ennustavad kohati samaväärselt. Mõlema puhul on madalam spetsiifilisus kui DeepARG-LS mudelil, kuid sensitiivsus kõrgem. Samas Marini ja teiste ResFinder'i ning DeepARG-SS ennustused ei olnud samaväärsed, vaid varieerusid palju. Näiteks järeltas nende uuring, et beetalaktaamide resistentseuse puhul oli DeepARG-SSi spetsiifilisus 0,8 ja ResFinderil 0. Lisaks leidsid nad, et aminoglükosiidide ja fluorokinoloonide DeepARG-SSi ning ResFinder'i spetsiifilisused on väga madalad (vastavalt 0 ja 0,3), kuid käesolev töö leidis, et kõikidel programmidel olid enamjaolt aktsepteeritavad spetsiifilisused. Samas leidsid Marini ja teised, et eelnimetatud antibiootikumiklasside sensitiivsused olid mõlema programmi puhul kõrged, kuid käesolevas töös olid ResFinder'i ja DeepARG-SSi sensitiivsused valdavalt aktsepteeritavad või kehvad ja näiteks fluorokinoloonide puhul väga kehvad (umbes 30%). Siiski on oluline meeles pidada, et Marini ja teised ei uurinud vaid *Klebsiella*'sid ning tegu ei olnud just Eestis levivate tüvedega. See võib olla põhjuseks, miks programmide tulemused niivõrd erinevad. Kui Arango-Argoty ja teised järeltasid, et mõlemad mudelid (DeepARG-LS ja DeepARG-SS) ennustavad üldiselt kõrge PPV ja sensitiivsusega, siis käesolev uuring leidis, et enamike antibiootikumide puhul on need väärtused pigem madalad (aktsepteeritavad või kehvad). Samas olid ka ResFinder'i ennustustel madalad väärtused, mis võib viidata sellele, et Eestis levivate *K. pneumoniae* tüvede sekveneerimisandmetest ei ole nende programmidega ja vastavaid andmebaase kasutades usaldusväärne resistentseust ennustada. Omavahelised erinevused ResFinder'i ning DeepARGi ennustustes olid oodatavad, sest paratamatult on andmebaasidel erinev ülesehitus ja kasutatava tööriista efektiivsus sõltub sellest (Davies jt., 2023 ; Doyle jt., 2020 ; Papp & Solymosi, 2022).

Võrreldes kahte DeepARGi mudelit selgub, et DeepARG-SS on sensitiivsem ning DeepARG-LS on spetsiifilisem. Toorlugemeid kasutades ennustatakse ARGe järjestuste fragmentide pealt, mistõttu määrab mudel piisava homoloogia korral geeni ARGiks. Seetõttu on valenegatiivsete hulk madal, kuid samas tõuseb ka valepositiivsete arv, sest fragmendi identsus ei tähenda tegelikkuses, et antud fragment on päriselt osa vastavast ARGist.

Assambleeritud genoomides on geenid eelduslikult täispikkade järjestustena, mistõttu ei otsusta mudel enam üksikute fragmentide järgi, vaid kogu geenijärjestuse. Seetõttu on valepositiivsete arv madalam. Kuid paratamatult võivad ebakvaliteetse assambleerimise käigus osa ARGidest kaduma minna või jäävad geenid poolikult assambleerituks, mistõttu DeepARG-LS mudel neid ei tuvasta – tõuseb valenegatiivsete hulk. PPV omakorda sõltub tegelike resistentsete ning tegelike sensitiivsete tüvede omavahelisest suhtest andmestikus. See tähendab, et kui mõne antibiootikumi puhul oli vähe resistentseid tüvesid, siis on lõpptulemus sellest mõjutatud ning täpsust võidakse ülehinnata. Rohkem tasakaalus andmestik aitaks seda parandada.

Valedel ennustustel võib olla mitmeid põhjendusi. On tõenäosus, et sekveneerimisandmetes oli vigu (Davies jt., 2023 ; Doyle jt., 2020) või laboris ennustati fenotüüp valesti. Samuti on MIK väärtuste interpreteerimine kitsaskoht, sest mõjutavaid tegureid on mitmeid. Näiteks on osad väärtused seotud kindlate infektsiooniallikate või antibiootikumi manustamisviisidega (Kowalska-Krochmal ja Dudek-Wicher, 2021). Valepositiivsete tulemuste põhjuseks võib olla asjaolu, et homoloogia järjestuste vahel on piisavalt suur ning programm loeb seetõttu geeni ARGiks (Alcock jt., 2023 ; Florensa jt., 2022). Resistentse tekkeks on olulised eri molekulaarsed mehhanismid, mis võivad olla häiritud ning seetõttu ei osuta bakter vastupanu (Gaurav jt., 2023). Ehk ARG võib olla olemas, kuid ei ole funktsionaalne. Valenegatiivsete tulemuste põhjuseid võib olla mitu. Käesolev töö ei arvestanud tulemuste tõlgendamisel väljavoolupumpadest (Hussein jt., 2024), poriinidest (Tsai jt., 2011) ning mutatsioonidest (Gaurav jt., 2023 ; Sani jt., 2023) tingitud resistentsust. Samuti ei arvestatud multiresistentsusega seotuid geene. See tähendab, et tüvel võis resistentsust põhjustada mõni nendest mehhanismidest, kuid arvestatava ARGi puududes, sai tüvi tõlgenduseks valenegatiivne. See on tõenäoline just fluorokinoloonide puhul, sest antud klassi resistentsusega on tihti seotud eri punktmutatsioonid, mida DeepARG ei ole võimeline tuvastama (Arango-Argoty jt., 2018 ; Sani jt., 2023). Lisaks on fluorokinoloonide resistentsusega seotud mitmed väljavoolupumbad (Hussein jt., 2024). Analoogselt on beetalaktaamide resistentsusega seotud teatud poriinid (Doménech-Sánchez jt., 2003 ; Webster jt., 2010), kuid programm ei suuda tuvastada muutusi poriinide läbilaskvuses või nende kaotust. Kuigi uuritud tüved olid peamiselt karbapeneemidele sensitiivsed, siis leidis neli ertapeneemile resistentset tüve, mille puhul ühtegi karbapenemaasi kodeerivat geeni programm ei leidnud. Seega võis nendel tüvedel resistentsust põhjustada kanalite ekspressiooni muutus (Tsai jt., 2011 ; Webster jt., 2010).

Teatud juhtudel leidsid programmid ühe kindla geeni asemel geeni eri alleelid. Sel juhul oli võimalik kindlalt resistentsus määrata vaid juhul, kui kõik alleelid põhjustasid samade antibiootikumide vastu resistentsust. Vastasel juhul määrati tüvi tundlikuks ebapiisava annotatsiooni tõttu. Tegelikult võis aga järjestuseks olla ARG, mis põhjustab antibiootikumile vastupanu, kuid kindluse mõttes lähtuti valepositiivsete tulemuste vältimisest. Teatud antibiootikumide puhul ei olnud võimalik PPVd ega sensitiivsust arvutada, sest laboris ei olnud ükski tüvedest resistentne. Seetõttu ei olnud ka võimalik tõeselt positiivseid leida, mida arvutamiseks tarvis. Selleks, et paremini uurida programmide ennustamisvõimet nende antibiootikumide puhul, oleks tarvis andmeid resistentse fenotüübiga tüvede kohta. Kliiniliselt kasutatakse ka teisi antibiootikume, mida käesolev töö ei käsitlenud fenotüübi puudumise või ebamäärasuse tõttu. Edaspidi oleks kasulik uurida, kuidas programm on võimeline ennustama teiste antibiootikumiklasside resistentsusgeene.

Ainult genotüübilist informatsiooni usaldades võib antud uuringu põhjal patsiendile manustatav ravi osutada ebaefektiivseks. Näiteks tüvi HKPSPB076, mis on resistentne enamike uuritavate antibiootikumide suhtes, kuid ResFinder ning DeepARG-SS leidsid ainult ühe beetalaktaami ARGi. See tähendab, et suure tõenäosusega ei oleks bakter ravile allunud.

Varasemalt on teada, et sekveneerimisandmetest ennustatud ning laboris määratud resistentsusprofiil korreleeruvad (Vanstokstraeten jt., 2023 ; Zankari jt., 2012). Käesolev töö näitas, et on ka palju erisusi laboris tuvastatud fenotüüpide ning geenide põhjal ennustatud resistentsusfenotüüpide vahel. Tulemuste põhjal ei saa järeldada, et üks DeepARGi mudel on parem kui teine ning usaldusväärsete ennustuste jaoks tuleks kasutada mõlemat ning tulemusi omavahel võrrelda ja sobitada. Samuti ei saa kindlalt väita, kas ResFinder või DeepARG on usaldusväärsem. Töö tulemuste põhjal tundub mõistlik kombineerida erinevaid programme ning võrrelda tulemusi. Kolme programmi põhjal kokkulangevad ennustused tunduvad usaldusväärsemad, kui ainult ühe mudeli kasutamine ning erijuhtude puhul oleks soovitatav läheneda tüvepõhiselt, võttes arvesse asjaolu, et resistentsust võivad põhjustada ka muud tegurid, mida programmid tuvastada ei suuda. Kliiniliselt on oluline jätkata fenotüüpide tuvastamisega laboratoorselt, et patsient saaks võimalikult efektiivse ravi.

KOKKUVÕTE

Antibiootikumiresistentsus on üheks suurimaks globaalseks probleemiks, mille tagajärjel ei allu bakterid tavapärasele ravile. See põhjustab pikenenud haiglaravi, suuremaid ravikulusid ning kõrgemat suremust. Ligikaudu kolmandik gramnegatiivsete bakterite infektsioonidest on põhjustatud *Klebsiella pneumoniae* poolt, mistõttu on tema resistentsuse uurimine oluline. Bioinformaatilised meetodid võimaldavad analüüsida, kas bakter on potentsiaalset vastuvõtlik antibiootikumi toimele. DeepARG programm võimaldab sekveneerimisandmetest ennustada antibiootikumidele resistentsust põhjustavaid geene, säilitades mudelite kõrge spetsiifilisuse ning sensitiivsuse. Kliiniliselt on see oluline raviks õige antibiootikumi valimisel. Teadaovalt ei ole varasemalt DeepARG programmi Eestis levivate *K. pneumoniae* tüvede peal uuritud.

Käesoleva töö eesmärgiks oli analüüsida DeepARG programmi ennustamise võimekust, kasutades Eestis levivate *K. pneumoniae* tüvede resistentsusfenotüüpe ning võrrelda tulemusi programmiga ResFinder. Eksperimentaalsena käigus tuvastati DeepARG programmi mudelite abil tüvede antibiootikumide resistentsusgeenid, mille põhjal oli võimalik määrata resistentsusprofiil. Võrdluseks määrati ka ResFinderi poolt leitud geenide resistentsusfenotüübid. Programmide ennustatud resistentsusfenotüüpide võrdlemisel laboratoorselt tuvastatud fenotüüpidega leiti programmide sensitiivsused, spetsiifilisused ning PPVd. Selgus, et DeepARG-LS on üldiselt kõige spetsiifilisem, kuid kõige sensitiivsemateks olid nii DeepARG-SS kui ka ResFinder. Programmide PPV sõltus palju antibiootikumist. Seetõttu võimaldaks eri programmide kasutamine saada rohkem informatsiooni, mille põhjal teha usaldusväärsemaid järeldusi. Samas on resistentsusfenotüüpide erisuste tõttu kliiniliselt oluline patsiendile sobiva ravi valikul läbi viia laboratoorne antibiootikumitundlikkuse testimine.

Detection of antibiotic resistance from sequencing data in clinical strains of *Klebsiella pneumoniae* isolated in Estonia using the DeepARG program

Kethel Monso

Summary

Antibiotic resistance means that bacteria are not susceptible to the effects of an antibiotic. It is one of the biggest global problems, resulting in prolonged hospital stays, higher medical costs and higher mortality rates. Nearly a third of infections with gram-negative bacteria are associated with *Klebsiella pneumoniae* and this bacterium is associated with over 600 000 deaths per year due to antibiotic resistance. Bioinformatic methods allow us to assess the potential susceptibility of bacteria to antibiotics by predicting antibiotic resistance genes from sequencing data. One example of such a program is DeepARG, which aims to keep the number of false negatives low (high specificity) and the number of true positives high (high sensitivity). The clinical significance is that patients are not given ineffective antibiotics and effective drugs are not left unused. As far as we know, DeepARG has not been tested on *K. pneumoniae* strains circulating in Estonia.

The aim of this work was to analyze how accurately the DeepARG program allows predicting resistance phenotypes of *K. pneumoniae* strains circulating in Estonia, compared to the ResFinder program. During the experimental part, antibiotic resistance genes of bacterial strains were identified using the DeepARG program models DeepARG-SS and DeepARG-LS. Based on these, it was possible to determine the corresponding resistance phenotypes. In addition, the resistance phenotypes of the genes found by ResFinder were determined for comparison. The resistance phenotypes of all three programs were compared with the phenotypes identified in the laboratory, and one of the following interpretations was assigned to each strain: true positive, false positive, true negative, false negative. Based on these interpretations, it was possible to calculate the specificity, sensitivity and PPV for each antibiotic for each program. Thus, a total of 9 values were obtained for each antibiotic based on the three programs. PPV stands for positives per value and depends on the ratio of actual resistant strains to actual sensitive strains. The DeepARG authors used this value, but in the present work, if there were few resistant strains for some antibiotics, then the final result is affected by it. The results showed that the most sensitive programs were ResFinder and DeepARG-SS model, but the sensitivities of the programs were mostly either acceptable (>70%) or poor (<70%). The specificities were mostly good and above the acceptable limit.

Of the three, the most specific was the DeepARG-LS model, but in some cases the specificity of ResFinder was higher. When comparing the DeepARG models, DeepARG-LS was more specific for all antibiotics, but the models did not differ as much as in the case of sensitivities. The PPV depended heavily on the antibiotic, but in most cases the results were poor or acceptable (<80%). These results show that there is no specific program that would be the most reliable for each antibiotic. Using different programs allows one to get more information on which to draw more reliable conclusions. However, due to many differences in resistance phenotypes, it is important to perform antibiotic susceptibility testing when selecting the appropriate treatment for the patient.

TÄNUSÕNAD

Soovin tänada enda juhendajat Age Brauerit, kelle toetus käesoleva töö valmimisel on olnud hindamatu väärtusega ning kes ei ole mind kunagi minu muredega omapead jätnud. Tänu temale olen avastanud enda jaoks bioinformaatika – valdkonna, mis tekitab minus uudishimu ja julgust katsetada. Lisaks soovin tänada bioinformaatika õppetooli kollektiivi, kellega olen saanud põnevat koostööd teha.

KIRJANDUSE LOETELU

- Adamu, S., Ali, M. B., Desa, M. N. M., Neoh, H., Masri, S. N., Joseph, N., & Jamaluddin, T. Z. M. T. (2025). Whole-genome sequencing of extended spectrum beta lactamases (ESBLs)-producing *Klebsiella pneumoniae* (kp) isolates from selected hospitals in Malaysia. *BMC Genomics*, *26*(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-025-11215-7>
- Alcock, B. P., Huynh, W., Chalil, R., ... Kwong, M. (2023). CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research*, *51*(D1), D690–D699. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac920>
- Ambler, R. P. (1980). The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *289*(1036), 321–331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
- Antunes, P., Machado, J., Sousa, J. C., & Peixe, L. (2005). Dissemination of Sulfonamide Resistance Genes (sul1, sul2, and sul3) in Portuguese *Salmonella enterica* Strains and Relation with Integrons. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *49*(2), 836–839. <https://doi.org/10.1128/aac.49.2.836-839.2005>
- Apweiler, R. (2004). UniProt: the Universal Protein knowledgebase. *Nucleic Acids Research*, *32*(90001), 115D119. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh131>
- Arango-Argoty, G. A., Guron, G. K. P., Garner, E., Riquelme, M. V., Heath, L. S., Pruden, A., Vikesland, P. J., & Zhang, L. (2020). ARGminer: a web platform for the crowdsourcing-based curation of antibiotic resistance genes. *Bioinformatics*, *36*(9), 2966–2973. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa095>
- Arango-Argoty, G., Garner, E., Pruden, A., Heath, L. S., Vikesland, P., & Zhang, L. (2018). DeepARG: a deep learning approach for predicting antibiotic resistance genes from metagenomic data. *Microbiome*, *6*(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0401-z>

- Ashurst, J. V., & Dawson, A. (2023). *Klebsiella Pneumonia*. Nih.gov; StatPearls Publishing. Kasutatud 05.05.2025 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519004/>
- Azargun, R., Sadeghi, M. R., Soroush Barhaghi, M. H., Samadi Kafil, H., Yeganeh, F., Ahangar Oskouee, M., & Ghotaslou, R. (2018). The prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance and ESBL-production in Enterobacteriaceae isolated from urinary tract infections. *Infection and Drug Resistance, Volume 11*, 1007–1014. <https://doi.org/10.2147/idr.s160720>
- Aun, E., Brauer, A., Kisand, V., Tenson, T., & Remm, M. (2018). A k-mer-based method for the identification of phenotype-associated genomic biomarkers and predicting phenotypes of sequenced bacteria. *PLOS Computational Biology, 14*(10), e1006434. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006434>
- Baccanari, D. P., Kuyper, L. F. (2022). Basis of selectivity of antibacterial diaminopyrimidines. *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy), 5*(6). Kasutatud 18.05.2025 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8195830/>
- Ballén, V., Gabasa, Y., Ratia, C., Ortega, R., Tejero, M., & Soto, S. (2021). Antibiotic Resistance and Virulence Profiles of *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated From Different Clinical Sources. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 11*. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.738223>
- Berg, E. G. (2015). *A New Spin On The Old Gram Stain*. *Chemical & Engineering News*. Kasutatud 01.05.2025 <https://cen.acs.org/articles/93/web/2015/04/New-Spin-Old-Gram-Stain.html>
- Berglund, F., Österlund, T., Boulund, F., Marathe, N. P., Larsson, D. G. J., & Kristiansson, E. (2019). Identification and reconstruction of novel antibiotic resistance genes from metagenomes. *Microbiome, 7*(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0670-1>

- Blaser, M. J., Melby, M. K., Lock, M., & Nichter, M. (2021). Accounting for variation in and overuse of antibiotics among humans. *BioEssays*, 43(2), 2000163. <https://doi.org/10.1002/bies.202000163>
- Bui, T., Patel, P., & Preuss, C. V. (2024). *Cephalosporins*. *StatPearls*. StatPearls Publishing. Kasutatud 19.05.2025 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551517/>
- Ceri, H., Olson, M. E., Stremick, C., Read, R. R., Morck, D., & Buret, A. (1999). The Calgary Biofilm Device: New Technology for Rapid Determination of Antibiotic Susceptibilities of Bacterial Biofilms. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(6), 1771–1776. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.6.1771-1776.1999>
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., & Gu, J. (2018). fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 34(17), i884–i890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2024). *Breakpoint implementation toolkit*. Kasutatud 03.05.2025 <https://clsi.org/resources/breakpoint-implementation-toolkit/>
- Courvalin, P. (1991). Genotypic approach to the study of bacterial resistance to antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35(6), 1019–1023. <https://doi.org/10.1128/aac.35.6.1019>
- Cox, G., Stogios, P. J., Savchenko, A., & Wright, G. D. (2015). Structural and Molecular Basis for Resistance to Aminoglycoside Antibiotics by the Adenylyltransferase ANT(2'')-Ia. *MBio*, 6(1). <https://doi.org/10.1128/mbio.02180-14>
- Damerum, A., Malka, S., Lofgren, N., Vecere, G., & Krumbeck, J. A. (2023). Next-generation DNA sequencing offers diagnostic advantages over traditional culture testing. *American Journal of Veterinary Research*, 1–9. <https://doi.org/10.2460/ajvr.23.03.0054>
- Davies, T. J., Swann, J., Sheppard, A. E., ... Stoesser, N. (2023). Discordance between different bioinformatic methods for identifying resistance genes from short-read genomic

- data, with a focus on *Escherichia coli*. *Microbial Genomics*, 9(12).
<https://doi.org/10.1099/mgen.0.001151>
- Diao, Z., Zhao, Z., Han, Y., Chen, Y., Huang, T., Feng, L., Ma, Y., Li, J., & Zhang, R. (2025). A Comprehensive Assessment of Metagenomic cfDNA Sequencing for Microbe Detection. *Clinical Chemistry*. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaf044>
- Dodan, H., Hiromura, M., Ni, R. T., Matsubara, F., Kuroda, T., & Ogawa, W. (2023). Mutation in *crrB* encoding a sensor kinase increases expression of the RND-type multidrug efflux pump KexD in *Klebsiella pneumoniae*. *Gene*, 878, 147543–147543.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.147543>
- Doménech-Sánchez, A., Martínez-Martínez, L., Hernández-Allés, S., Carmen Conejo, M., Pascual, A., Tomás, J. M., Albertí, S., & Benedí, V. J. (2003). Role of *Klebsiella pneumoniae* OmpK35 Porin in Antimicrobial Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(10), 3332–3335. <https://doi.org/10.1128/aac.47.10.3332-3335.2003>
- Doyle, R. M., O’Sullivan, D. M., Aller, S. D., ... Huggett, J. F. (2020). Discordant bioinformatic predictions of antimicrobial resistance from whole-genome sequencing data of bacterial isolates: an inter-laboratory study. *Microbial Genomics*, 6(2).
<https://doi.org/10.1099/mgen.0.000335>
- Drouin, A., Giguère, S., Déraspe, M., Marchand, M., Tyers, M., Loo, V. G., Bourgault, A.-M., Laviolette, F., & Corbeil, J. (2016). Predictive computational phenotyping and biomarker discovery using reference-free genome comparisons. *BMC Genomics*, 17(1).
<https://doi.org/10.1186/s12864-016-2889-6>
- Ellington, M. J., Ekelund, O., Aarestrup, F. M., ... Samuelson, Ø. (2017). The role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility testing of bacteria: report from the EUCAST Subcommittee. *Clinical Microbiology and Infection*, 23(1), 2–22.
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.11.012>

- Elliott, T. M., Harris, P. N., Roberts, L. W., Doidge, M., Hurst, T., Hajkovicz, K., Forde, B., Paterson, D. L., & Gordon, L. G. (2021). Cost-effectiveness analysis of whole-genome sequencing during an outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Stewardship & Healthcare Epidemiology*, *1*(1). <https://doi.org/10.1017/ash.2021.233>
- Emiliov, T., Rodríguez-Avial, I., López-Díaz, M. D. C., & Culebras, E. (2019). Comparative evaluation of plazomicin MICs obtained using agar dilution versus broth microdilution methods and impact of inoculum size against ESBL-producing *Escherichia coli*, carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *95*(3), 114867. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2019.07.005>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2025). *Clinical Breakpoints and Dosing of Antibiotics*. Kasutatud 06.05.2025 https://www.eucast.org/clinical_breakpoints
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2019). *New S, I and R definitions*. Kasutatud 06.05.2025 <https://www.eucast.org/newsiandr>
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2014). *Antibiotic resistance: How does antibiotic resistance spread?*. Kasutatud 03.05.2025 <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antibiotic-resistance-how-does-antibiotic-resistance-spread>
- Falcone, M., Daikos, G. L., Tiseo, G., ... Menichetti, F. (2020). Efficacy of Ceftazidime-avibactam Plus Aztreonam in Patients With Bloodstream Infections Caused by Metallo- β -lactamase-Producing Enterobacterales. *Clinical Infectious Diseases*, *72*(11), 1871–1878. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa586>
- Florensa, A. F., Kaas, R. S., Clausen, P. T. L. C., Aytan-Aktug, D., & Aarestrup, F. M. (2022). ResFinder – an open online resource for identification of antimicrobial resistance genes

- in next-generation sequencing data and prediction of phenotypes from genotypes. *Microbial Genomics*, 8(1). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000748>
- Fröding, I., Vondracek, M., & Giske, C. G. (2016). Rapid EUCAST disc diffusion testing of MDR *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: inhibition zones for extended-spectrum cephalosporins can be reliably read after 6 h of incubation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(4), dkw515. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw515>
- Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Mitic Culafic, D., Trudic, A., Ranin, L., & Opavski, N. (2022). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. *Antibiotics*, 11(4), 427. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040427>
- Gaurav, A., Bakht, P., Saini, M., Pandey, S., & Pathania, R. (2023). Role of bacterial efflux pumps in antibiotic resistance, virulence, and strategies to discover novel efflux pump inhibitors. *Microbiology Society*, 169(5). <https://doi.org/10.1099/mic.0.001333>
- Geneetika. (2014). *DNA güraas (ingl. DNA gyrase)*. Kasutatud 03.05.2025 <https://geneetika.ee/encyclopedia/dna-guraas/>
- Giuliano, C., Patel, C. R., & Kale-Pradhan, P. B. (2019). A Guide to Bacterial Culture Identification And Results Interpretation. *Pharmacy and Therapeutics*, 44(4), 192-200. Kasutatud 03.05.2025 <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6428495/>
- Guo, Y., Lu, J., Jin, P., Qiu, Z., Yu, F., Zhu, Y., & Huang, J. (2025). Genomic characterization of multidrug-resistant tuberculosis in Shanghai, China: antibiotic resistance, virulence and transmission. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 7(3), dlaf064. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlaf064>
- Haavisto, V. (2023). *Plasmids and the Spread of Antibiotic Resistance Genes*. American Society for Microbiology. Kasutatud 30.04.2025 <https://asm.org/Articles/2023/January/Plasmids-and-the-Spread-of-Antibiotic-Resistance-G>

- Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2015). Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1354(1), 12–31. <https://doi.org/10.1111/nyas.12830>
- Hussein, R. A., AL-Kubaisy, S. H., & Al-Ouqaili, M. T. S. (2024). The influence of efflux pump, outer membrane permeability and β -lactamase production on the resistance profile of multi, extensively and pandrug resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Infection and Public Health*, 17(11), 102544. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2024.102544>
- Jia, B., Raphenya, A. R., Alcock, B., ... Johnson, T. A. (2017). CARD 2017: expansion and model-centric curation of the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Research*, 45(D1), D566–D573. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1004>
- Khan, N., Panda, P. S., Rastogi, M., Sharma, S., Rana, N., Faridi, M., & Mehndiratta, M. M. (2020). Coexistence of fluoroquinolone resistance and ESBL production in urinary isolates. *International Journal of Community Medicine and Public Health*, 7(10), 3936. <https://doi.org/10.18203/2394-6040.ijcmph20204357>
- Kotra, L. P., Haddad, J., & Mobashery, S. (2000). Aminoglycosides: Perspectives on Mechanisms of Action and Resistance and Strategies to Counter Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(12), 3249–3256. <https://doi.org/10.1128/aac.44.12.3249-3256.2000>
- Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens*, 10(2), 165. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>
- Li, B., Hong, C., Fan, Z., ... Jalan, R. (2022). Prognostic and therapeutic significance of microbial cell-free DNA in plasma of people with acute decompensation of cirrhosis. *Journal of Hepatology*, 78(2), 322–332. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2022.10.008>

- Li, Y., Kumar, S., Zhang, L., Wu, H., & Wu, H. (2023). Characteristics of antibiotic resistance mechanisms and genes of *Klebsiella pneumoniae*. *Open Medicine*, *18*(1), 20230707. <https://doi.org/10.1515/med-2023-0707>
- Liu, B., & Pop, M. (2009). ARDB--Antibiotic Resistance Genes Database. *Nucleic Acids Research*, *37*(Database), D443–D447. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn656>
- Marini, S., Mora, R. A., Boucher, C., Robertson Noyes, N., & Prospero, M. (2022). Towards routine employment of computational tools for antimicrobial resistance determination via high-throughput sequencing. *Briefings in Bioinformatics*, *23*(2). <https://doi.org/10.1093/bib/bbac020>
- Martinez, J. L. (2014). General Principles of Antibiotic Resistance in Bacteria. *Drug Discovery Today: Technologies*, *11*(1740-6749), 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2014.02.001>
- Mingeot-Leclercq, M.-P., Glupczynski, Y., & Tulkens, P. M. (1999). Aminoglycosides: Activity and Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *43*(4), 727–737. <https://doi.org/10.1128/aac.43.4.727>
- Murri, R., Fiori, B., Spanu, T., ... Fantoni, M. (2017). Trimethoprim–sulfamethoxazole therapy for patients with carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: retrospective single-center case series. *Infection*, *45*(2), 209–213. <https://doi.org/10.1007/s15010-016-0968-x>
- Naghavi, M., Vollset, S. E., Ikuta, K. S., ... Altay, U. (2024). Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance 1990–2021: a Systematic Analysis with Forecasts to 2050. *The Lancet*, *404*(10459), 1199–1226. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(24\)01867-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(24)01867-1)
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). (n.d.). *National Database of Antibiotic Resistant Organisms (NDARO)*. Kasutatud 20.05.2025 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/antimicrobial-resistance/>

- Nurk, S., Meleshko, D., Korobeynikov, A., & Pevzner, P. A. (2017). metaSPAdes: a new versatile metagenomic assembler. *Genome Research*, 27(5), 824–834. <https://doi.org/10.1101/gr.213959.116>
- Paczosa, M. K., & Mecsas, J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 629–661. <https://doi.org/10.1128/membr.00078-15>
- Papp, M., & Solymosi, N. (2022). Review and Comparison of Antimicrobial Resistance Gene Databases. *Antibiotics*, 11(3), 339. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030339>
- Patel, P., Wermuth, H. R., Calhoun, C., & Hall, G. A. (2023). *Antibiotics. StatPearls*. StatPearls Publishing. Kasutatud 03.05.2025 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535443/>
- Paul, M., Carrara, E., Retamar, P., ... Tacconelli, E. (2022). European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine). *Clinical Microbiology and Infection*, 28(4), 521–547. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.11.025>
- Philippon, A.-L., Lebal, S., Cancellà de Abreu, M., Gerlier, C., Mirò, O., Simon, T., & Freund, Y. (2025). Association between time to antibiotic and mortality in patients with suspected sepsis in the Emergency Department: post hoc analysis of the 1-BED randomized clinical trial. *European Journal of Emergency Medicine : Official Journal of the European Society for Emergency Medicine*, 32(2), 109–115. <https://doi.org/10.1097/MEJ.0000000000001212>
- Pierre, G. (2024). *Meet Klebsiella Pneumoniae*. GARDP. Kasutatud 01.05.2025 <https://gardp.org/stories/meet-klebsiella-pneumoniae/>

- Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clinical Microbiology Reviews*, *11*(4), 589–603. <https://doi.org/10.1128/cmr.11.4.589>
- Polianciuc, S. I., Gurzău, A. E., Kiss, B., Ștefan, M. G., & Loghin, F. (2020). Antibiotics in the environment: causes and consequences. *Medicine and Pharmacy Reports*, *93*(3). <https://doi.org/10.15386/mpr-1742>
- Poole, K. (2005). Aminoglycoside Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *49*(2), 479–487. <https://doi.org/10.1128/aac.49.2.479-487.2005>
- Ramakrishnan, R., Nair, A. V., Parmar, K., Rajmani, R. S., Dipshikha Chakravorty, & Das, D. (2024). Combating biofilm-associated *Klebsiella pneumoniae* infections using a bovine microbial enzyme. *Npj Biofilms and Microbiomes*, *10*(1). <https://doi.org/10.1038/s41522-024-00593-7>
- Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010). Aminoglycoside Modifying Enzymes. *Drug Resistance Updates*, *13*(6), 151–171. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2010.08.003>
- Rather, P. N., Munayyer, H., Mann, P. A., Hare, R. S., Miller, G. H., & Shaw, K. J. (1992). Genetic analysis of bacterial acetyltransferases: identification of amino acids determining the specificities of the aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase Ib and IIa proteins. *Journal of Bacteriology*, *174*(10), 3196–3203. <https://doi.org/10.1128/jb.174.10.3196-3203.1992>
- Ravimiamet. (2023). *Antibiootikumide vastutustundlik kasutamine – miks on see oluline?*. Kasutatud 22.05.2025 <https://ravimiamet.ee/uudised/antibiootikumide-vastutustundlik-kasutamine-miks-see-oluline>
- Rodríguez-Martínez, J. M., Velasco, C., Pascual, Á., Cano, M. E., Martínez-Martínez, L., Martínez-Martínez, L., & Pascual, Á. (2011). Plasmid-mediated quinolone resistance: an

- update. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 17(2), 149–182.
<https://doi.org/10.1007/s10156-010-0120-2>
- Russo, T. A., Olson, R., Fang, C.-T., ... Ratner, A. (2018). Identification of Biomarkers for Differentiation of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from Classical *K. pneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(9). <https://doi.org/10.1128/jcm.00776-18>
- Sani, G. S., Ghane, M., & Babaekhou, L. (2023). Fluoroquinolone-resistance mechanisms and molecular epidemiology of ciprofloxacin-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Iran. *Folia Microbiologica*, 68(4), 633–644. <https://doi.org/10.1007/s12223-023-01042-2>
- Sawa, T., Kooguchi, K., & Moriyama, K. (2020). Molecular Diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and Antimicrobial Resistance. *Journal of Intensive Care*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40560-020-0429-6>
- Schmitt, E., Galimand, M., Panvert, M., Courvalin, P., & Mechulam, Y. (2009). Structural Bases for 16 S rRNA Methylation Catalyzed by ArmA and RmtB Methyltransferases. *Journal of Molecular Biology*, 388(3), 570–582.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2009.03.034>
- Schober, I., Koblitiz, J., Sardà Carbasse, J., ... Reimer, L. C. (2024). BacDive in 2025: the core database for prokaryotic strain data. *Nucleic Acids Research*, 53(D1), D748–D756.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkae959>
- Shah, J., Trautner, B. W., Olmeda, K., Laytner, L. A., Faustinella, F., Paasche-Orlow, M. K., & Grigoryan, L. (2024). A survey of patient practices regarding leftover antibiotics reveals a potential source of antibiotic overuse. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 68(8). <https://doi.org/10.1128/aac.00469-24>
- Skold, O. (2001). Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Veterinary Research*, 32(3/4), 261–273. <https://doi.org/10.1051/vetres:2001123>
- Tam, V. H., Merlau, P. R., Hudson, C. S., Kline, E. G., Eales, B. M., Smith, J., Sofjan, A. K., & Shields, R. K. (2022). Optimal ceftazidime/avibactam dosing exposure against

- KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(11), 3130–3137. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac294>
- Tamma, P. D., Aitken, S. L., Bonomo, R. A., Mathers, A. J., van Duin, D., & Clancy, C. J. (2022). Infectious Diseases Society of America 2022 Guidance on the Treatment of Extended-Spectrum β -lactamase Producing Enterobacterales (ESBL-E), Carbapenem-Resistant Enterobacterales (CRE), and *Pseudomonas aeruginosa* with Difficult-to-Treat Resistance (DTR-*P. aeruginosa*). *Clinical Infectious Diseases*, 75(2). <https://doi.org/10.1093/cid/ciac268>
- Teixeira, M., Pillay, S., Urhan, A., & Abeel, T. (2023). SHIP: identifying antimicrobial resistance gene transfer between plasmids. *Bioinformatics*, 39(10). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btad612>
- Teklu, D. S., Negeri, A. A., Legese, M. H., Bedada, T. L., Woldemariam, H. K., & Tullu, K. D. (2019). Extended-spectrum beta-lactamase production and multi-drug resistance among Enterobacteriaceae isolated in Addis Ababa, Ethiopia. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0488-4>
- Tenson, T., Telling, K., Mitt, P., ... Allas, Ü. (2024). Antibiotic Resistance Spread and Resistance Control Options; Estonian Experience. *MedRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)*. <https://doi.org/10.1101/2024.04.02.24304316>
- Terviseamet. (2024). *Antimikroobne resistentsus*. Kasutatud 29.04.2025 <https://www.terviseamet.ee/nakkushaigused/info-nakkushaiguste-kohta/antimikroobne-resistentsus-amr>
- Thomsen, J., Abdulrazzaq, N. M., Everett, D. B., Menezes, G. A., Senok, A., & Ayoub Moubareck, C. (2023). Carbapenem resistant Enterobacterales in the United Arab Emirates: a retrospective analysis from 2010 to 2021. *Frontiers in Public Health*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1244482>

- Tipper, D. J., & Strominger, J. L. (1965). Mechanism of action of penicillins: a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 54(4), 1133–1141. <https://doi.org/10.1073/pnas.54.4.1133>
- Tsai, Y.-K., Fung, C.-P., Lin, J.-C., Chen, J.-H., Chang, F.-Y., Chen, T.-L., & Siu, L. K. (2011). Klebsiella pneumoniae Outer Membrane Porins OmpK35 and OmpK36 Play Roles in both Antimicrobial Resistance and Virulence. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(4), 1485–1493. <https://doi.org/10.1128/aac.01275-10>
- van der Bij, A. K., & Pitout, J. D. D. (2012). The role of international travel in the worldwide spread of multiresistant Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(9), 2090–2100. <https://doi.org/10.1093/jac/dks214>
- van Honacker, E., Vandendriessche, S., Coorevits, L., Verhasselt, B., & Boelens, J. (2021). Impact of the introduction of EUCAST’s concept of “area of technical uncertainty.” *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 41(2), 203–207. <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04364-6>
- van Zanten, A. R. H. (2014). The Golden Hour of Antibiotic Administration in Severe Sepsis. *Critical Care Medicine*, 42(8), 1931–1932. <https://doi.org/10.1097/ccm.0000000000000363>
- Vanstokstraeten, R., Piérard, D., Crombé, F., De Geyter, D., Wybo, I., Muyltermans, A., Seyler, L., Caljon, B., Janssen, T., & Demuyser, T. (2023). Genotypic resistance determined by whole genome sequencing versus phenotypic resistance in 234 Escherichia coli isolates. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27723-z>
- Varela, M. F., Stephen, J., Lekshmi, M., Ojha, M., Wenzel, N., Sanford, L. M., Hernandez, A. J., Parvathi, A., & Kumar, S. H. (2021). Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *Antibiotics*, 10(5), 593. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050593>

- Wang, C.-X., Huang, Z.-M., Mi, Z.-H., & Chen, G.-Q. (2009). A *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate producing the LAP-2 β -lactamase in China. *the Journal of Hospital Infection/Journal of Hospital Infection*, 71(2), 189–190.
<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2008.09.003>
- Wang, W.-J., Wang, Q., Zhang, Y., Lu, R., Zhang, Y.-L., Yang, K.-W., Lei, J.-E., & He, Y. (2017). Characterization of β -lactamase activity using isothermal titration calorimetry. *Biochimica et Biophysica Acta. G, General Subjects/Biochimica et Biophysica Acta. General Subjects (Online)*, 1861(8), 2031–2038.
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2017.04.011>
- Webster, D. P., Gaulton, T., Woodford, N., Pike, R., Turton, J., Perry, C., & Bowler, I. C. J. W. (2010). Emergence of carbapenem resistance due to porin loss in an extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae* strain during meropenem therapy. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 36(6), 575–576.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.08.003>
- World Health Organization (WHO). (2023a). *Antimicrobial Resistance*. Kasutatud 30.10.2024
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- World Health Organization (WHO). (2024a). *WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024*. Kasutatud 19.05.2025
<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>
- World Health Organization (WHO). (2024b). *Antimicrobial Resistance, Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* - Global situation*. Kasutatud 04.05.2025
<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON527>
- World Health Organization (WHO). (2023b). *AWaRe classification of antibiotics for evaluation and monitoring of use, 2023*. Kasutatud 10.05.2025
<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MHP-HPS-EML-2023.04>

- Wiener, E. S., Heil, E. L., Hynicka, L. M., & Johnson, J. K. (2016). Are Fluoroquinolones Appropriate for the Treatment of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Gram-Negative Bacilli? *Journal of Pharmacy Technology*, 32(1), 16–21. <https://doi.org/10.1177/8755122515599407>
- Woodford, N., & Ellington, M. J. (2007). The emergence of antibiotic resistance by mutation. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(1), 5–18. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01492.x>
- Zankari, E., Hasman, H., Kaas, R. S., Seyfarth, A. M., Agerso, Y., Lund, O., Larsen, M. V., & Aarestrup, F. M. (2012). Genotyping using whole-genome sequencing is a realistic alternative to surveillance based on phenotypic antimicrobial susceptibility testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(4), 771–777. <https://doi.org/10.1093/jac/dks496>
- Zhou, Z., Ma, Y., Zhang, D., ... Chen, P. (2025). Microbiome and fragmentation pattern of blood cell-free DNA and fecal metagenome enhance colorectal cancer micro-dysbiosis and diagnosis analysis: a proof-of-concept study. *MSystems*. <https://doi.org/10.1128/msystems.00276-25>
- Xercavins, M., Jiménez, E., Padilla, E., Riera, M., Freixas, N., Calbo, E., & Linares Pérez, J. (2020). High clonal diversity of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from clinical samples in a non-outbreak situation. A cohort study. *Antimicrob Resist Infect Control*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0661-9>

KASUTATUD VEEBIAADRESSID

<https://github.com/gaarangoa/deeparg>

https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_15.0_Breakpoint_Tables.pdf

LISA

Bakteritüvede jaoks laboris määratud MIK väärtused. Valge taustaga kastides kasutatav antibiootikum koos vastavate murdepunktidega (S – sensitiivne, R – resistentne). Resistentseid tüved on tähistatud oranžilt, sensitiivsed tüved on tähistatud kollaselt.

Tüvi	Amikatsiin S ≤ 8 R > 8	Gentamütsiin S ≤ 2 R > 2	Tobramütsiin S ≤ 2 R > 2	Amoksisilliin/klavulaanhape S ≤ 8 R > 8
HKPRIB011	4	1	4	32
HKPRLB003	4	1	1	2
HKPRLB013	4	1	4	32
HKPRLB027	4	4	4	8
HKPRLB029	4	2	2	4
HKPRLB033	4	1	4	32
HKPRPB039	4	1	1	2
HKPRPB045	4	4	4	32
HKPRPB053	4	1	1	2
HKPRPB063	4	1	1	2
HKPRPB069	8	4	4	32
HKPRPB075	4	1	1	2
HKPRPB078	4	1	1	2
HKPRRB005	4	4	4	32
HKPRRB007	4	1	1	32
HKPRRB008	4	4	4	32
HKPRRB009	4	1	1	32
HKPRRB023	4	4	4	32
HKPRSU013	4	1	1	32
HKPRSU052	4	1	1	16
HKPRSU056	8	4	4	32
HKPRSU064	4	4	4	8
HKPRSU106	4	4	4	32
HKPRSU122	4	4	4	32
HKPRSU126	4	4	4	32
HKPRSU128	4	1	1	8
HKPRSU130	4	2	2	16
HKPRSU132	4	4	4	32
HKPRSU134	4	4	4	8
HKPRSU136	4	1	1	8
HKPRSU138	4	1	4	32
HKPRSU140	4	1	4	32
HKPRSU142	4	1	4	32
HKPRSU144	4	1	1	16
HKPRVB009	4	1	4	32
HKPRVB011	4	1	1	32
HKPRVB013	4	1	2	32
HKPRVB023	4	1	1	32
HKPSIB012	4	1	1	2
HKPSIB028	4	1	1	2
HKPSLB011	4	1	1	2
HKPSLB014	4	2	2	4
HKPSLB028	4	2	2	4
HKPSLB034	4	2	4	2
HKPSLB038	4	1	1	32
HKPSLB040	4	1	1	2
HKPSLB041	4	1	1	2
HKPSNB804	4	1	1	2
HKPSPB042	4	1	1	2
HKPSPB046	4	4	4	32
HKPSPB054	4	4	4	32
HKPSPB068	4	4	4	32
HKPSPB072	4	1	4	32
HKPSPB076	4	4	4	32

HKPSPB080	4	4	4	32
HKPSPB082	4	1	1	2
HKPSRB006	4	1	1	4
HKPSRB010	4	1	1	2
HKPSRB011	4	1	1	2
HKPSRB016	4	1	1	2
HKPSRB025	4	1	1	2
HKPSSU014	4	1	1	2
HKPSSU047	4	1	1	2
HKPSSU053	4	1	1	2
HKPSSU057	4	1	1	2
HKPSSU065	4	1	1	2
HKPSSU107	4	1	1	2
HKPSSU123	4	1	1	2
HKPSSU125	4	1	1	2
HKPSSU127	4	1	1	2
HKPSSU131	4	1	1	2
HKPSSU133	4	1	1	2
HKPSSU135	4	1	1	2
HKPSSU137	4	1	1	2
HKPSSU139	4	1	1	2
HKPSSU141	4	1	1	2
HKPSSU143	4	1	1	2
HKPSSU145	4	1	1	2
HKPSSU147	4	1	1	2
HKPSSU149	4	1	1	8
HKPSSU151	4	1	1	2
HKPSSU153	4	2	1	16
HKPSSU155	4	1	1	2
HKPSSU157	4	1	1	2
HKPSSU159	4	1	1	2
HKPSSU161	4	1	1	2
HKPSSU163	4	1	1	2
HKPSSU165	4	1	1	2
HKPSSU167	4	1	1	2
HKPSTB018	4	1	1	2
HKPSTB020	4	1	1	2
HKPSVB010	4	1	1	2
HKPSVB012	4	1	1	2
HKPSVB018	4	1	1	2
HKPSVB024	4	1	1	4
HKPSVB026	4	1	1	2
HKPSVB028	4	1	1	2

Tüvi	Ampitsilliin S ≤ 8 R > 8	Piperatsilliin S ≤ 8 R > 8	Piperatsilliin/tasobaktaam S ≤ R > 8	Ertapeneem S ≤ 0,5 R > 0,5
HKPRIB011	8	64	64	0,5
HKPRLB003	8	4	4	0,25
HKPRLB013	8	64	8	0,25
HKPRLB027	8	64	4	0,25
HKPRLB029	8	64	4	0,25
HKPRLB033	8	64	32	0,5
HKPRPB039	8	8	4	0,25
HKPRPB045	8	64	4	0,25
HKPRPB053	8	8	4	0,25
HKPRPB063	8	4	4	0,25
HKPRPB069	8	64	16	0,25
HKPRPB075	8	4	4	0,25
HKPRPB078	8	8	4	0,25
HKPRRB005	8	64	32	0,25
HKPRRB007	8	64	4	0,25
HKPRRB008	8	64	64	0,5
HKPRRB009	8	64	4	0,25
HKPRRB023	8	64	64	0,25
HKPRSU013	8	64	64	0,5
HKPRSU052	8	64	4	0,25
HKPRSU056	8	64	16	0,5
HKPRSU064	8	64	16	0,25
HKPRSU106	8	64	8	0,25
HKPRSU122	8	64	4	0,25
HKPRSU126	8	64	32	1
HKPRSU128	8	64	4	0,25
HKPRSU130	8	64	4	0,25
HKPRSU132	8	64	64	0,5
HKPRSU134	8	64	4	0,25
HKPRSU136	8	64	4	0,25
HKPRSU138	8	64	4	0,25
HKPRSU140	8	64	64	0,5
HKPRSU142	8	64	16	1
HKPRSU144	8	64	4	0,25
HKPRVB009	8	64	8	0,25
HKPRVB011	8	64	64	0,5
HKPRVB013	8	64	64	1
HKPRVB023	8	64	4	0,25
HKPSIB012	8	4	4	0,25
HKPSIB028	8	4	4	0,25
HKPSLB011	8	8	4	0,25
HKPSLB014	8	64	4	0,25
HKPSLB028	2	4	4	0,25
HKPSLB034	8	4	4	0,25
HKPSLB038	8	64	64	0,25
HKPSLB040	8	4	4	0,25
HKPSLB041	8	8	4	0,25
HKPSNB804	8	4	4	0,25
HKPSPB042	8	8	4	0,25
HKPSPB046	8	64	64	1
HKPSPB054	8	64	64	0,25
HKPSPB068	8	64	64	0,25
HKPSPB072	8	64	8	0,25
HKPSPB076	8	64	16	0,25

HKPSPB080	8	64	64	0,25
HKPSPB082	8	4	4	0,25
HKPSRB006	8	16	4	0,25
HKPSRB010	8	4	4	0,25
HKPSRB011	8	4	4	0,25
HKPSRB016	8	4	4	0,25
HKPSRB025	8	8	4	0,25
HKPSSU014	8	8	4	0,25
HKPSSU047	8	4	4	0,25
HKPSSU053	8	8	4	0,25
HKPSSU057	8	4	4	0,25
HKPSSU065	8	4	4	0,25
HKPSSU107	8	8	4	0,25
HKPSSU123	8	4	4	0,25
HKPSSU125	8	4	4	0,25
HKPSSU127	8	16	4	0,25
HKPSSU131	8	8	4	0,25
HKPSSU133	8	4	4	0,25
HKPSSU135	8	4	4	0,25
HKPSSU137	8	4	4	0,25
HKPSSU139	8	4	4	0,25
HKPSSU141	8	8	4	0,25
HKPSSU143	8	8	4	0,25
HKPSSU145	8	4	4	0,25
HKPSSU147	8	8	4	0,25
HKPSSU149	8	16	4	0,25
HKPSSU151	8	4	4	0,25
HKPSSU153	8	64	4	0,25
HKPSSU155	8	8	4	0,25
HKPSSU157	8	8	4	0,25
HKPSSU159	8	8	4	0,25
HKPSSU161	8	16	4	0,25
HKPSSU163	8	64	4	0,25
HKPSSU165	8	4	4	0,25
HKPSSU167	8	4	4	0,25
HKPSTB018	8	8	4	0,25
HKPSTB020	8	4	4	0,25
HKPSVB010	8	4	4	0,25
HKPSVB012	8	4	4	0,25
HKPSVB018	8	4	4	0,25
HKPSVB024	8	4	4	0,25
HKPSVB026	8	4	4	0,25
HKPSVB028	8	4	4	0,25

Tüvi	Imipeneem $S \leq 2 R > 4$	Meropeneem $S \leq R > 8$	Tsefepiim $S \leq 1 R > 4$	Tsefiksiim $S \leq 1 R > 1$
HKPRIB011	0,25	0,125	16	2
HKPRLB003	0,25	0,125	1	0,5
HKPRLB013	0,5	0,125	16	2
HKPRLB027	0,25	0,125	16	2
HKPRLB029	0,25	0,125	4	2
HKPRLB033	0,5	0,125	16	2
HKPRPB039	0,25	0,125	1	0,5
HKPRPB045	0,5	0,125	16	2
HKPRPB053	0,25	0,125	1	0,5
HKPRPB063	0,25	0,125	1	0,5
HKPRPB069	0,25	0,125	16	2
HKPRPB075	0,5	0,125	1	0,5
HKPRPB078	0,25	0,125	1	0,5
HKPRRB005	0,25	0,125	16	2
HKPRRB007	0,25	0,125	1	0,5
HKPRRB008	0,25	0,125	16	2
HKPRRB009	0,5	0,125	4	2
HKPRRB023	0,5	0,125	16	2
HKPRSU013	0,25	0,125	1	2
HKPRSU052	0,5	0,125	16	2
HKPRSU056	0,5	0,125	16	2
HKPRSU064	0,25	0,125	16	2
HKPRSU106	0,5	0,125	4	2
HKPRSU122	0,25	0,125	16	2
HKPRSU126	0,25	0,125	16	2
HKPRSU128	0,25	0,125	16	2
HKPRSU130	2	0,125	16	2
HKPRSU132	0,25	0,125	16	2
HKPRSU134	0,25	0,125	2	1
HKPRSU136	0,25	0,125	16	2
HKPRSU138	0,25	0,125	2	2
HKPRSU140	0,25	0,125	16	2
HKPRSU142	0,25	0,5	16	2
HKPRSU144	0,5	0,125	16	2
HKPRVB009	0,25	0,125	16	2
HKPRVB011	0,5	0,125	16	2
HKPRVB013	0,25	0,125	1	2
HKPRVB023	0,5	0,125	16	2
HKPSIB012	0,5	0,125	1	0,5
HKPSIB028	0,25	0,125	1	0,5
HKPSLB011	0,25	0,125	1	0,5
HKPSLB014	0,25	0,125	4	2
HKPSLB028	0,25	0,125	1	0,5
HKPSLB034	1	0,125	1	0,5
HKPSLB038	0,5	0,125	8	0,5
HKPSLB040	0,25	0,125	1	0,5
HKPSLB041	0,25	0,125	1	0,5
HKPSNB804	0,25	0,125	1	0,5
HKPSPB042	0,5	0,125	1	0,5
HKPSPB046	4	0,125	4	2
HKPSPB054	0,5	0,125	16	2
HKPSPB068	0,5	0,125	16	2
HKPSPB072	0,5	0,125	16	2
HKPSPB076	0,5	0,125	16	2

HKPSPB080	0,25	0,125	16	2
HKPSPB082	0.5	0.125	1	0.5
HKPSRB006	0,5	0,125	1	0,5
HKPSRB010	1	0,125	1	0,5
HKPSRB011	0,25	0,125	1	0,5
HKPSRB016	0,5	0,125	1	0,5
HKPSRB025	0.25	0.125	1	0.5
HKPSSU014	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU047	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU053	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU057	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU065	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU107	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU123	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU125	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU127	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU131	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU133	1	0,125	1	0,5
HKPSSU135	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU137	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU139	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU141	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU143	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU145	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU147	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU149	0,5	0,125	1	0,5
HKPSSU151	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU153	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU155	0,25	0,125	1	1
HKPSSU157	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU159	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU161	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU163	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU165	0,25	0,125	1	0,5
HKPSSU167	0.5	0.125	1	0.5
HKPSTB018	0.5	0.125	1	0.5
HKPSTB020	0.25	0.125	1	0.5
HKPSVB010	0,5	0,125	1	0,5
HKPSVB012	0,25	0,125	1	0,5
HKPSVB018	0,5	0,125	1	0,5
HKPSVB024	0,5	0,125	1	0,5
HKPSVB026	0.5	0.125	1	0.5
HKPSVB028	0.25	0.125	1	0.5

Tüvi	Tseftasidiim S ≤ 1 R < 4	Tseftriaksoon S ≤ 1 R > 2	Tsefuroksiim S ≤ 8 R > 8	Tsefaleksiin S ≤ 16 R > 16
HKPRIB011	16	4	8	16
HKPRLB003	0,5	0,5	4	4
HKPRLB013	16	4	8	16
HKPRLB027	4	4	8	16
HKPRLB029	4	4	8	16
HKPRLB033	16	4	8	16
HKPRPB039	0,5	0,5	4	4
HKPRPB045	2	4	8	16
HKPRPB053	0,5	0,5	4	4
HKPRPB063	0,5	0,5	4	4
HKPRPB069	16	4	8	16
HKPRPB075	0,5	0,5	4	4
HKPRPB078	0,5	0,5	4	4
HKPRRB005	16	4	8	16
HKPRRB007	2	0,5	8	16
HKPRRB008	16	4	8	16
HKPRRB009	2	4	8	16
HKPRRB023	16	4	8	16
HKPRSU013	16	4	8	16
HKPRSU052	4	4	8	16
HKPRSU056	16	4	8	16
HKPRSU064	2	4	8	16
HKPRSU106	16	4	8	16
HKPRSU122	2	4	8	16
HKPRSU126	16	4	8	16
HKPRSU128	16	4	8	16
HKPRSU130	16	4	8	16
HKPRSU132	16	4	8	16
HKPRSU134	0,5	4	8	16
HKPRSU136	16	4	8	16
HKPRSU138	1	4	8	16
HKPRSU140	16	4	8	16
HKPRSU142	16	4	8	16
HKPRSU144	16	4	8	16
HKPRVB009	16	4	8	16
HKPRVB011	16	4	8	16
HKPRVB013	16	4	8	16
HKPRVB023	16	4	8	16
HKPSIB012	0,5	0,5	2	4
HKPSIB028	0,5	0,5	4	4
HKPSLB011	0,5	0,5	4	4
HKPSLB014	2	4	8	16
HKPSLB028	0,5	0,5	4	8
HKPSLB034	0,5	0,5	4	8
HKPSLB038	0,5	0,5	8	4
HKPSLB040	0,5	0,5	4	8
HKPSLB041	0,5	0,5	4	4
HKPSNB804	0,5	0,5	2	4
HKPSPB042	0,5	0,5	4	4
HKPSPB046	8	0,5	8	16
HKPSPB054	16	4	8	16
HKPSPB068	16	4	8	16
HKPSPB072	16	4	8	16
HKPSPB076	16	4	8	16

HKPSPB080	16	4	8	16
HKPSPB082	0,5	0,5	2	4
HKPSRB006	0,5	0,5	2	4
HKPSRB010	0,5	0,5	2	4
HKPSRB011	0,5	0,5	2	4
HKPSRB016	0,5	0,5	2	4
HKPSRB025	0,5	0,5	2	4
HKPSSU014	0,5	0,5	8	8
HKPSSU047	0,5	0,5	4	4
HKPSSU053	0,5	0,5	4	4
HKPSSU057	0,5	0,5	4	4
HKPSSU065	0,5	0,5	4	4
HKPSSU107	0,5	0,5	8	8
HKPSSU123	0,5	0,5	2	4
HKPSSU125	0,5	0,5	2	4
HKPSSU127	0,5	0,5	4	16
HKPSSU131	0,5	0,5	4	4
HKPSSU133	0,5	0,5	2	4
HKPSSU135	0,5	0,5	4	4
HKPSSU137	0,5	0,5	4	4
HKPSSU139	0,5	0,5	2	4
HKPSSU141	0,5	0,5	4	4
HKPSSU143	0,5	0,5	4	8
HKPSSU145	0,5	0,5	4	8
HKPSSU147	0,5	0,5	4	4
HKPSSU149	0,5	0,5	4	8
HKPSSU151	0,5	0,5	2	4
HKPSSU153	0,5	0,5	2	4
HKPSSU155	0,5	0,5	4	4
HKPSSU157	0,5	0,5	2	4
HKPSSU159	0,5	0,5	2	4
HKPSSU161	0,5	0,5	4	8
HKPSSU163	0,5	0,5	2	4
HKPSSU165	0,5	0,5	4	4
HKPSSU167	0,5	0,5	4	8
HKPSTB018	0,5	0,5	4	4
HKPSTB020	0,5	0,5	4	4
HKPSVB010	0,5	0,5	2	4
HKPSVB012	0,5	0,5	2	4
HKPSVB018	0,5	0,5	4	8
HKPSVB024	0,5	0,5	2	4
HKPSVB026	0,5	0,5	4	4
HKPSVB028	0,5	0,5	4	8

Tüvi	Astreonaam S ≤ 1 R > 4	Tsiprofloksatsiin S ≤ 0,25 R > 0,5	Levofloksatsiin S ≤ 0,5 R > 1	Norfloksatsiin S ≤ 0,5 R > 0,5
HKPRIB011	16	1	2	2
HKPRLB003	1	0,25	0,5	0,5
HKPRLB013	16	1	2	2
HKPRLB027	8	0,25	0,5	1
HKPRLB029	4	1	2	2
HKPRLB033	16	1	2	2
HKPRPB039	1	0,25	0,5	0,5
HKPRPB045	16	1	2	2
HKPRPB053	1	0,25	0,5	0,5
HKPRPB063	1	0,25	0,5	0,5
HKPRPB069	16	1	2	2
HKPRPB075	1	0,25	0,5	0,5
HKPRPB078	1	0,25	0,5	0,5
HKPRRB005	16	1	2	2
HKPRRB007	1	0,25	0,5	0,5
HKPRRB008	16	1	2	2
HKPRRB009	8	0,25	0,5	0,5
HKPRRB023	16	1	2	2
HKPRSU013	16	0,5	1	2
HKPRSU052	16	0,25	0,5	0,5
HKPRSU056	16	1	2	2
HKPRSU064	4	1	2	2
HKPRSU106	16	1	2	2
HKPRSU122	16	0,5	0,5	1
HKPRSU126	16	1	2	2
HKPRSU128	16	1	1	2
HKPRSU130	16	1	2	2
HKPRSU132	16	1	2	2
HKPRSU134	1	1	2	2
HKPRSU136	16	1	1	2
HKPRSU138	1	1	2	2
HKPRSU140	16	1	2	2
HKPRSU142	16	1	2	2
HKPRSU144	16	1	2	2
HKPRVB009	16	1	2	2
HKPRVB011	16	1	2	2
HKPRVB013	16	1	2	2
HKPRVB023	16	1	2	2
HKPSIB012	1	0,25	0,5	0,5
HKPSIB028	1	0,25	0,5	0,5
HKPSLB011	1	0,25	0,5	0,5
HKPSLB014	16	1	2	2
HKPSLB028	1	0,25	0,5	0,5
HKPSLB034	1	0,25	0,5	0,5
HKPSLB038	1	0,25	0,5	0,5
HKPSLB040	1	0,25	0,5	0,5
HKPSLB041	1	0,25	0,5	0,5
HKPSNB804	1	0,25	0,5	0,5
HKPSPB042	1	0,25	0,5	0,5
HKPSPB046	2	1	2	2
HKPSPB054	16	1	2	2
HKPSPB068	16	1	2	2
HKPSPB072	16	1	2	2
HKPSPB076	16	1	2	2

HKPSPB080	16	1	2	2
HKPSPB082	1	0,25	0,5	0,5
HKPSRB006	1	0,25	0,5	0,5
HKPSRB010	1	0,25	0,5	0,5
HKPSRB011	1	0,25	0,5	0,5
HKPSRB016	1	0,25	0,5	0,5
HKPSRB025	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU014	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU047	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU053	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU057	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU065	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU107	1	1	2	2
HKPSSU123	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU125	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU127	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU131	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU133	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU135	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU137	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU139	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU141	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU143	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU145	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU147	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU149	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU151	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU153	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU155	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU157	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU159	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU161	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU163	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU165	1	0,25	0,5	0,5
HKPSSU167	1	0,25	0,5	0,5
HKPSTB018	1	0,25	0,5	0,5
HKPSTB020	1	0,25	0,5	0,5
HKPSVB010	1	0,25	0,5	0,5
HKPSVB012	1	0,25	0,5	0,5
HKPSVB018	1	0,25	0,5	0,5
HKPSVB024	1	0,25	0,5	0,5
HKPSVB026	1	0,25	0,5	0,5
HKPSVB028	1	1	2	2

Tüvi	Trimetoprim S ≤ 4 R > 4	Trimetoprim/sulfametoksasool S ≤ 2 R > 4
HKPRIB011	4	4
HKPRLB003	1	1
HKPRLB013	4	4
HKPRLB027	1	1
HKPRLB029	4	4
HKPRLB033	4	4
HKPRPB039	1	1
HKPRPB045	4	4
HKPRPB053	1	1
HKPRPB063	1	1
HKPRPB069	4	4
HKPRPB075	1	1
HKPRPB078	1	1
HKPRRB005	4	4
HKPRRB007	1	1
HKPRRB008	4	4
HKPRRB009	1	1
HKPRRB023	4	4
HKPRSU013	1	1
HKPRSU052	4	4
HKPRSU056	4	4
HKPRSU064	4	4
HKPRSU106	4	1
HKPRSU122	4	4
HKPRSU126	4	4
HKPRSU128	1	1
HKPRSU130	4	4
HKPRSU132	4	4
HKPRSU134	4	1
HKPRSU136	4	4
HKPRSU138	1	1
HKPRSU140	4	4
HKPRSU142	4	4
HKPRSU144	1	1
HKPRVB009	4	4
HKPRVB011	4	4
HKPRVB013	1	1
HKPRVB023	4	4
HKPSIB012	1	1
HKPSIB028	1	1
HKPSLB011	1	1
HKPSLB014	4	4
HKPSLB028	1	1
HKPSLB034	4	4
HKPSLB038	1	1
HKPSLB040	1	1
HKPSLB041	1	1
HKPSNB804	1	1
HKSPB042	1	1
HKSPB046	1	1
HKSPB054	4	4
HKSPB068	4	4
HKSPB072	4	4
HKSPB076	4	4

HKPSPB080	4	4
HKPSPB082	1	1
HKPSRB006	1	1
HKPSRB010	1	1
HKPSRB011	1	1
HKPSRB016	1	1
HKPSRB025	1	1
HKPSSU014	1	1
HKPSSU047	1	1
HKPSSU053	1	1
HKPSSU057	1	1
HKPSSU065	1	1
HKPSSU107	4	1
HKPSSU123	1	1
HKPSSU125	1	1
HKPSSU127	1	1
HKPSSU131	1	1
HKPSSU133	1	1
HKPSSU135	1	1
HKPSSU137	1	1
HKPSSU139	1	1
HKPSSU141	1	1
HKPSSU143	1	1
HKPSSU145	1	1
HKPSSU147	1	1
HKPSSU149	1	1
HKPSSU151	1	1
HKPSSU153	1	1
HKPSSU155	1	1
HKPSSU157	1	1
HKPSSU159	1	1
HKPSSU161	1	1
HKPSSU163	1	1
HKPSSU165	1	1
HKPSSU167	1	1
HKPSTB018	1	1
HKPSTB020	1	1
HKPSVB010	1	1
HKPSVB012	1	1
HKPSVB018	1	1
HKPSVB024	1	1
HKPSVB026	4	4
HKPSVB028	1	1

LIHTLITSENTS

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kethel Monso,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose **Eestis isoleeritud *Klebsiella pneumoniae* kliiniliste tüvede antibiootikumiresistentsuse tuvastamine sekveneerimisandmetest programmiga DeepARG**, mille juhendaja on Age Brauer, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada Tartu Ülikooli digitaalarhiivi kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni;
2. annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni;
3. olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;
4. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Kethel Monso

26.05.2025