

# Revisión de la literatura

## *Pseudomonas Aeruginosa* y la Implicación de los Mecanismos de Resistencia

DE GANTE-MARTÍNEZ E<sup>1</sup>, DE GIBES-NUÑEZ JE<sup>2</sup>

### RESÚMEN

Debido a la creciente prevalencia de las infecciones nosocomiales, siendo la *Pseudomonas aeruginosa* uno de los agentes que con mayor frecuencia originan este tipo de entidades debido a la resistencia antimicrobiana que adquiere, cada vez cobran más importancia los mecanismos mediante los cuales se generan. Hay varios mecanismos implicados entre los que se describen vías moleculares, adaptación, mutaciones genéticas y que determinan la aparición de cepas multidrogorresistentes a diferentes clases de antibióticos como los betalactámicos, carbapenems, aminoglucósidos y fluoroquinolonas que forman parte de las opciones terapéuticas contra este patógeno. En esta revisión se describen los principales mecanismos que se han identificado para el desarrollo de resistencia bacteriana.

**Palabras clave:** *Pseudomonas aeruginosa*, resistencia antimicrobiana

### ABSTRACT

Due to the increasing prevalence of nosocomial infections, *Pseudomonas aeruginosa* being one of the agents that most often cause such entities due to antimicrobial resistance that becomes increasingly important mechanisms by which they are generated. There are several mechanisms involved are described including molecular pathways, adaptation, and genetic mutations that determine the emergence of multidrug strains to different classes of antibiotics such as beta lactam, carbapenems, aminoglycosides and fluoroquinolones that are part of the therapeutic options against this pathogen. In this review we describe the main mechanisms that have been identified for the development of bacterial resistance.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, antimicrobial resistance

### Epidemiología:

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) es un agente patógeno nosocomial, de amplia distribución mundial. Frecuentemente asociada con mayores tasas de mortalidad y elevados costos de los antibióticos. Puede sobrevivir en ambientes diferentes, incluyendo el suelo, las plantas y los animales.<sup>1</sup>

Las infecciones nosocomiales causadas por este organismo se estiman en un 10-15%, son a menudo difíciles de tratar por la resistencia intrínseca de la especie, una expresión constitutiva de  $\beta$ -lactamasa tipo AmpC y bombas de flujo, con una baja permeabilidad de su membrana externa. Así como su capacidad notoria para adquirir mecanismos de resistencia a múltiples familias de fármacos.<sup>2</sup>

Por citar un ejemplo en EUA, la *P. aeruginosa*, es un problema dentro de las infecciones nosocomiales, ya que en algunas series se ha reportado la segunda causa más común en las neumonías nosocomiales (17%), la tercera causa en infecciones de tracto urinario (7%), la cuarta causa de infección de herida quirúrgica (8%), la séptima causa de patógenos aislados en los

hemocultivos (2%) y de todos los sitios en general el quinto agente más comúnmente aislado (9%).<sup>3</sup>

La *P. aeruginosa*, ya sea por su hipermutabilidad y sus múltiples mecanismos de adaptación y resistencia intrínseca como adquirida, ha desarrollado cepas multidrogorresistentes, las cuales históricamente fueron descritas por primera vez en pacientes con fibrosis quística.<sup>4</sup>

### Resistencia farmacológica

En el tratamiento de las entidades infecciosas nosocomiales en las que la *P. aeruginosa* está implicada, se requiere frecuentemente la combinación de varios fármacos, de ahí que sea un factor contribuyente, entre otros, para el desarrollo de resistencia en esta bacteria.

El término de multirresistencia, es decir *P. aeruginosa* multidrogorresistente (MDRPA), a pesar de que no existe un total acuerdo en la comunidad médica, se define como el desarrollo de esta bacteria en cultivos, resistentes o intermedios a tres o más antibióticos de las siguientes clases:  $\beta$ -lactámicos

<sup>1</sup>Residente de tercer año de Medicina Interna, <sup>2</sup>Médico internista adscrito al servicio de Medicina Interna del Hospital General de Culiacán, "Dr. Bernardo J. Gastélum".

Enviar correspondencia, observaciones y sugerencias a la Dra. Elda de Gante Martínez, al Departamento de Medicina Interna del Hospital General de Culiacán, "Bernardo J. Gastélum", en Aldama y Nayarit S/N, Colonia Rosales, Culiacán, Sin. CP. 80230, teléfono 52 (667) 716-98-00 ext. 136. Correo electrónico: elda\_de\_gante@hotmail.com.

Artículo recibido el 02 de septiembre de 2011

Artículo aceptado para publicación el 22 de septiembre de 2011

Este artículo podrá ser consultado en Imbiomed, Latindex, Periódica y en [www.hgculiacan.com](http://www.hgculiacan.com)

carbapenémicos, aminoglucósidos y/o fluoroquinolonas. Sin embargo hay otras definiciones considerablemente diferentes en la literatura, que van desde la resistencia a una sola clase de antibióticos a la resistencia a todos los antibióticos probados (Figura 1). Por lo tanto la verdadera prevalencia no está bien establecida, probablemente por esta razón; además de que la resistencia a múltiples fármacos es un fenotipo heterogéneo, lo que podría resultar de los diferentes mecanismos de resistencia o su combinación. Algunos reportes lo estiman dentro de 0.6 hasta 32 % de acuerdo al tipo y localización del estudio<sup>3,5,6</sup> se ha descrito por ejemplo, en las unidades de cuidados intensivos (UCI) resistentes hasta en un 10-14%<sup>4,7</sup> cuya prevalencia va en incremento desde la última década.<sup>8</sup> Resulta obvio que la adquisición de cepas multirresistentes se asocia significativamente con largas estancias intrahospitalarias y un incremento en bacteriemias secundarias.<sup>4</sup>

De acuerdo al National Nosocomial Infection Surveillance System (2000) reportaron la prevalencia de MDRPA de 17% para imipenem, 27.3% para quinolonas y 26% para cefalosporinas de tercera generación.

En Europa, varían los reportes para imipenem, ceftazidima, piperacilina y ciprofloxacino. De 16-24% para imipenem, 2-16 % para ceftazidima, 5-26% para piperacilina y 8-37% a ciprofloxacino,<sup>9</sup> se ha reportado resistencia a amikacina hasta en un 40% de casos,<sup>8</sup> siendo las fuentes anatómicas principales en estudios europeos, de origen en tracto respiratorio (42%), orina (26%), sangre (14%), abdomen (11%) y piel y tejidos blandos (7%). El índice más alto de drogoresistencia, en todos los países sigue siendo para *P. aeruginosa*.<sup>9</sup> Se ha comprobado la transmisibilidad de las cepas, incluso en medios extrahospitalarios.<sup>9</sup> Se han demostrado la presencia de cultivos positivos en manos de pacientes clínicamente sanos en hasta en un 0.2%.<sup>10</sup>

En un estudio retrospectivo realizado en este hospital,<sup>11</sup> se encontró que hubo una resistencia para ceftazidima del 62.6%, ciprofloxacino 60.7%, amikacina 62.9%, imipenem 54.14% y piperacilina/tazobactam 19.2%.

La colonización crónica de *P. aeruginosa* en pacientes con fibrosis quística consiste en una adaptación única in vivo, que involucra la transformación de un fenotipo no mucóide en uno especial-mucoso, que contribuye al desarrollo de infección intratable y eventualmente fatal. Promueve la persistencia de la infección e inhibe la fagocitosis así como la penetración de antibióticos.<sup>12</sup> Se ha demostrado in vitro, (en cepas PAO1 silvestres) la mutación sin sentido del cluster de gen MUC (algU, mucA, mucB, mucD) resultando en una sobreproducción de mucopolisacáridos que confieren el genotipo.<sup>12</sup> Originalmente se creía que los pacientes adquirían del medio ambiente su único tipo de cepa y solo en circunstancias compartir la misma cepa (solo en caso de contacto estrecho).

En EUA y el Reino Unido, la *P. aeruginosa* aun es sensible a algunos  $\beta$ -lactámicos y aminoglucósidos en un 70 a 90 %, excepto en unidades de cuidados intensivos, quemados de gran extensión y en la fibrosis quística. Se ha encontrado relación con la resistencia a amikacina en los pacientes con fibrosis quística y para imipenem en las unidades de cuidados intensivos.<sup>7</sup> En muchas ocasiones la terapia está limitada solamente a colistina, un antimicrobiano con un bajo nivel de toxicidad.<sup>8</sup>

Una vez establecida la colonización por *P. aeruginosa*, es casi imposible erradicarla en un 10 a 15 % de los pacientes, sobre todo en pacientes ventilados mecánicamente.<sup>13</sup> La tasa de fatalidad en bacteriemia por *P. aeruginosa* es severa, variando desde 32 a 73% en UCI<sup>14</sup> y de manera intrahospitalaria en general con una tasa de mortalidad del 7.6%.<sup>15</sup> Todo ello, expresado en costos humanos y monetarios es cuantioso. Se ha estimado en algunos reportes en promedio/día en 2,059 dólares, sobre todo por la larga estancia intrahospitalaria, así como el costo del resto de la terapéutica.<sup>16</sup>

### Factores de riesgo

La exposición a cualquier antibiótico antipseudomona como monoterapia es el principal factor de riesgo para el desarrollo de resistencias, ya que predispone al paciente a la colonización por *P. aeruginosa* con resistencia intrínseca.<sup>6</sup>

Otros factores descritos son la hospitalización, exposición a terapia antimicrobiana y estados de inmunocompromiso.<sup>13</sup> El clínico debe estar alerta, pues los cultivos para *P. aeruginosa* emergen con resistencia después de periodos de tratamiento por 6-10 días, o administrados por segunda ocasión.<sup>16</sup> Por si fuera poco, otros predictores de mortalidad intrahospitalaria agravan el pronóstico para infecciones causadas por MDRPA: género masculino, presencia de fiebre, edad, DM, cáncer, falla cardíaca, hemodiálisis, leucocitosis, CID y choque.<sup>17</sup>

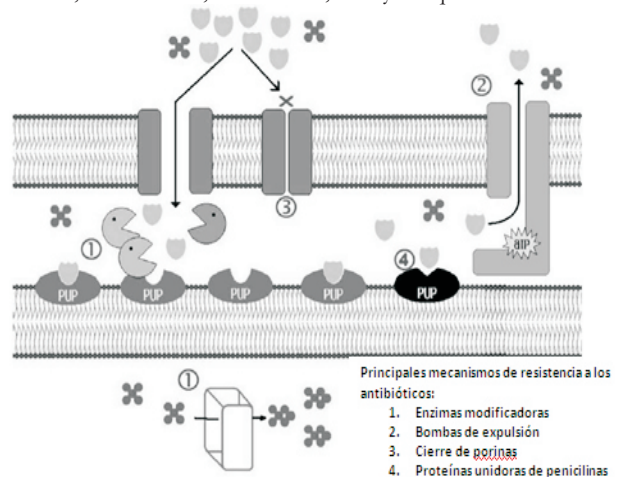


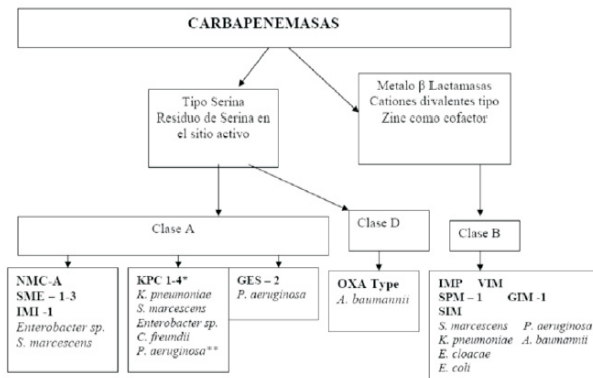
Figura 1. Mecanismos de resistencia antimicrobiana.<sup>18</sup>

### $\beta$ -lactamasas

*P. aeruginosa*, pareciera ser una especie más del género enterobacteria, sin embargo, expresa plásmidos en menor frecuencia que *Klebsiella pneumoniae*, incluso tiene menos resistencia inherente o innata que *S. maltophilia*. Lo que la hace única es la combinación de mecanismos ultra estructurales para la adquisición de resistencia a múltiples familias de fármacos, por varias vías, la más común, consiste en desarrollo  $\beta$ -lactamasas.<sup>19</sup>

Las  $\beta$ -lactamasas son enzimas que hidrolizan el anillo  $\beta$ -lactámico de los antibióticos, de esta manera destruyen el sitio activo e impiden su actividad. Se caracterizan por su capacidad de inhibir determinados subgrupos de  $\beta$ -lactámicos, es por esto que algunas subclasificaciones las denominan penicilinas, cefalosporinas o carbapemenasas dependiendo de la familia

de  $\beta$ -lactámicos que tengan mayor susceptibilidad a ser atacadas por la enzima. Así mismo, estas enzimas son susceptibles de ser afectadas por los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas como el clavulanato, el sulbactam y el tazobactam. (Figura 2)



**Figura 2.** Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae*: Carbapenemasas<sup>18</sup>

En el caso de la *P. aeruginosa*, posee 2 clases de  $\beta$ -lactamasas: Amp-C y las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Amp-C, esta codificado en el cromosoma de la bacteria y tiene la capacidad de ser inducida por los propios  $\beta$ -lactámicos, especialmente cefalotina y ampicilina. Cuando esto sucede, hay resistencia a las penicilinas y cefalosporinas (ceftazidima, cefepime); el grado de resistencia depende del grado de represión de la Amp-C.<sup>19</sup>

Las cepas de pseudomona, que exhiben metalo- $\beta$ -lactamasas (MBL) son generalmente MDR en su fenotipo, incluyendo  $\beta$ -lactámicos. Los dos tipos de MBL adquiridas más importantes son IMP y VIM identificadas sobre todo en Gram-negativos a nivel hospitalario. Las enzimas tipo VIM, representan el estrato más amplio de producción de  $\beta$ -lactamasas, detectadas en primera instancia en Europa, posteriormente Asia y las Américas<sup>5</sup> y reportadas en otras enterobacterias.<sup>20</sup>

La BLEE son codificadas por plásmidos, se adquieren mediante transporte de DNA extracromosomal y se manifiestan también por resistencia a penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. Las  $\beta$ -lactamasas más frecuentemente adquiridas por plásmidos son PSE-1 y la PSE-4. Otras BLEE incluyen la PER-1 que confiere franca resistencia a ceftazidima pero que pierde su poder al adicionar clavulanato. TEM, SHV y OXA son BLEE que generan resistencia pero sin afectar a carbapenémicos. Existen metalo- $\beta$ -lactamasas que confieren capacidad de hidrolizar las penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos pero no el aztreonam; estos son IMP y VIM recientemente descritas en Asia y Europa. Expresión de plásmidos que median la expresión de  $\beta$ -lactamasas, capaces de hidrolizar carbapenémicos de manera muy eficaz. Este último tipo de resistencias, fueron descritas primeramente en Japón, sin embargo tiene un alto potencial de diseminación.

La resistencia mediada por este mecanismo se debe sospechar ante un antibiograma que revele resistencia a todas las penicilinas y cefalosporinas anti-pseudomona.<sup>21,22</sup>

### Bombas de expulsión

Las bombas de expulsión son complejos enzimáticos de

membrana de las células que expulsan detergentes y sustancias alifáticas que de otra manera destruirían la bacteria, característica de la *P. aeruginosa* ya que posee estos complejos enzimáticos. Este complejo llamado MexAB-OprM, se compone de una proteína bomba en la membrana citoplasmática, una proteína ligadora en el espacio periplásmico y un canal de salida en la membrana externa. Tiene la capacidad de expulsar al exterior de la bacteria y contra un gradiente de concentración,  $\beta$ -lactámicos, cloranfenicol, quinolonas, macrólidos, novobiocina, sulfomanidas, tetraciclinas y trimetoprim. Estos sistemas de expulsión son los responsables de la impermeabilidad a la mayoría de los antibióticos.<sup>1,19,22</sup>

Existe una división de cinco clases (SMR, MFS, MATE, ABC y la RND). El transportador de la bomba de expulsión en *P. aeruginosa* pertenece a la familia de resistencia de la nodulación en división celular (RND). Se compone de tres partes: el transportador, el enlazador y el poro de la membrana externa que garantiza que el compuesto externado no se quede en el periplasma, por lo tanto, evitar su retorno al citosol. Hay 12 tipos de sistemas de expulsión RND incluyendo, por ejemplo: MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY-OprM, MexPQ-OPME, MexMN-OprM y MexVW-OprM que difieren en sus sustratos. (Cuadro 1)

**Cuadro 1.-** Sustratos y los reguladores generales de las grandes bombas de expulsión en *P. aeruginosa*<sup>1</sup>

| Bomba de expulsión | Sustratos                                                                                                                                                                                                                                             | Reguladores y la función            |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| MexAB-OprM         | $\beta$ -lactámicos inhibidores de la SDS, las fluoroquinolonas, tetraciclina, novobiocina, cloranfenicol, macrólidos, trimetoprim, triclosan, bromuro de etidio, hidrocarburos aromáticos, thiolactomycin, cerulenina, lactonas aciladas homoserina. | MexR (represor)                     |
| MexCD-OprJ         | $\beta$ -lactámicos, fluoroquinolonas, tetraciclinas, cloranfenicol, novobiocina, macrólidos, trimetoprim, triclosan, bromuro de etidio, SDS, hidrocarburos aromáticos, cristal violeta, acriflavina.                                                 | NfxB (represor)                     |
| MexEF-OprN         | Fluoroquinolonas, cloranfenicol, trimetoprim, triclosan, hidrocarburos aromáticos.                                                                                                                                                                    | MexS (represor)<br>MEXT (activador) |
| MexGH-OPRD         | Vanadio, lactonas aciladas homoserina                                                                                                                                                                                                                 | LASR? RhlR?<br>(Desconocido)        |
| MexXY              | Tetraciclina, eritromicina, aminoglucósidos, fluoroquinolonas                                                                                                                                                                                         | MexZ (represor)                     |

De estos diferentes tipos de bombas de expulsión, MexAB-OprM es la implicada en *P. aeruginosa* en resistencia intrínseca a fluoroquinolonas y la patogenicidad de este organismo. MexAB-OprM consta de tres subunidades: MexA, MexB y OprM. Los antibióticos son atrapados por MexB y trasladados a OprM externalizados y finalmente por el MexA. Mayores perfiles de resistencia de *P. aeruginosa* a las quinolonas, pueden resultar de mutaciones en los genes que codifican para la bomba de salida MexAB-OprM que regulan la resistencia a quinolonas y  $\beta$ -lactámicos.<sup>1</sup> (Figura 3)

Las quinolonas (fluoroquinolonas) y los aminoglucósidos son las principales clases de antibióticos utilizados en el tratamiento de infecciones causadas por *P. aeruginosa*. Las fluoroquinolonas actúan mediante la inhibición de la replicación del ADN y la transcripción a través de la inhibición de la ADN girasa y la topoisomerasa IV. El modo de acción de los aminoglucósidos depende de la inhibición de la síntesis de proteínas mediante la unión a la subunidad 30S ribosomal que resulta en mala lectura del ARNm por la inhibición de la transferencia de peptidil-tRNA en el ribosoma. Las bombas de expulsión, tienen también la capacidad de ser inducidas por antibióticos, especialmente ciprofloxacina. Incluso el uso de combinaciones de antibióticos  $\beta$ -lactámicos o con  $\beta$ -lactamasa o de diferentes clases de los aminoglucósidos es inútil en el

manejo de las infecciones por *pseudomonas*. Esto ha dirigido la atención a los nuevos agentes antimicrobianos, como los anticuerpos, fagos, péptidos selectivos, noveles  $\beta$ -lactámicos, u otras combinaciones noveles de  $\beta$ -lactamasas con penicilinas o cefalosporinas conocidas.<sup>1,19</sup>

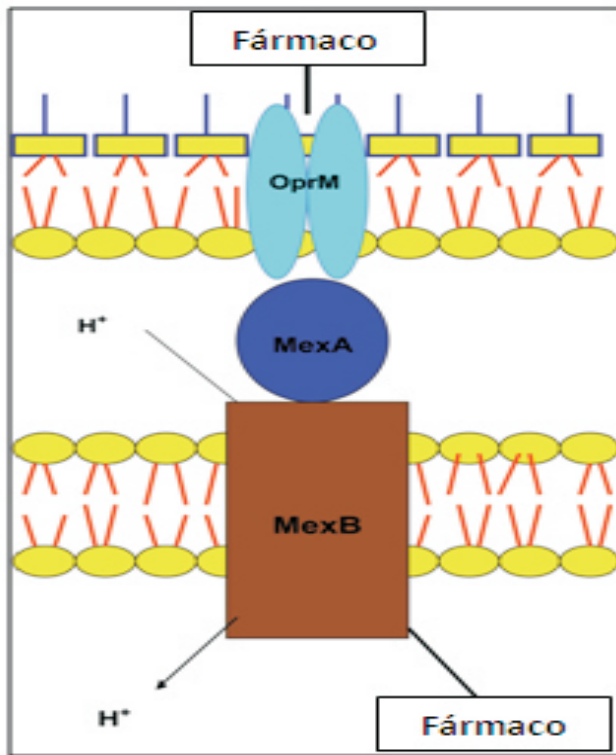


Figura 3.- Esquema de bombas de expulsión<sup>1</sup>

Además, los cambios mutacionales, incluso de una sola base nucleotídica en el ADN cromosómico de la bacteria pueden expresar estas bombas. La sobreexpresión de los subtipos de algunas de estas bombas confiere resistencia a los antibióticos de manera específica, por ejemplo: la MexEF-OprN, le da resistencia para quinolonas, algunos  $\beta$ -lactámicos (incluyendo meropenem e imipenem), la MexXY-OprM de igual manera modifica estos fármacos incluyendo además los aminoglucósidos pero no afecta al imipenem. La resistencia mediada por bombas de expulsión se sospecha por un antibiograma que demuestra resistencia a las penicilinas y cefalosporinas antipseudomonas, que también afecta la susceptibilidad a meropenem, imipenem o aminoglucósidos.<sup>19</sup>

### Porinas de membrana

Las porinas son proteínas que se ubican en la membrana externa de las bacterias y cumplen diversas funciones, su papel es facilitar la captación pasiva de aminoácidos básicos a través de la membrana externa. A pesar de que muchas bacterias Gram-negativas, tales como *pseudomonas* y otros microorganismos patógenos, no tienen porinas en general, la OprD es una porina que está presente en la *P. aeruginosa*. Estas bacterias dependen de los transportadores específicos de sustrato para la captación de pequeños compuestos solubles en agua. La familia OprD, nombre de la proteína prototipo de *P. aeruginosa*, es el más

grande de la familia de los transportadores de sustratos específicos que se conocen. En *P. aeruginosa*, la familia OprD tiene 19 miembros, lo que refleja la versatilidad metabólica notable de este organismo. Miembros de la familia OprD se cree que son responsables de la absorción de la mayoría de las pequeñas moléculas de *pseudomonas*, lo que subraya la importancia de esta familia para el funcionamiento de muchas bacterias Gram-negativas y otros patógenos humanos. También se encuentran en las bacterias más divergentes que tienen porinas y general, tales como *E. coli* y *Yersinia pestis*. La función de los miembros de la familia OprD de estas bacterias no se conoce todavía.

Todos los conocimientos actuales acerca de los miembros de la familia OprD ha sido obtenida de los estudios de *P. aeruginosa*. La resistencia es causada en parte por la poca permeabilidad de la membrana externa, debido a la ausencia de porinas clásicas como OmpF y OmpC. Así, el conocimiento sobre las estructuras y mecanismos de soporte de transporte de los miembros de la familia OprD podría ayudar al diseño de fármacos que pueden entrar en *P. aeruginosa* manera más eficiente.<sup>23,19,24</sup> (Figura 4)

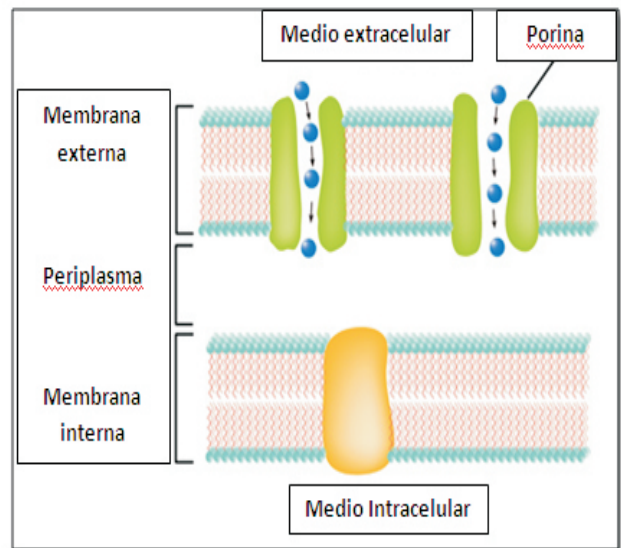


Figura 4.- D4. Porina en la membrana externa (Outer membrane porin D2) OprD.<sup>25</sup>

La afinidad y capacidad de difusión de imipenem a través de esta porina es casi 70 veces más alta que el de meropenem. La franca resistencia a meropenem exige dos mecanismos de resistencia ya mencionados: la mutación del gen que codifica la porina OprD y la activación de las bombas de expulsión que toman a meropenem como sustrato. Si hay resistencia de una cepa francamente a imipenem con susceptibilidad reducida o presentada a meropenem y sin afectar a otros  $\beta$ -lactámicos esta porina puede ser responsable del mecanismo de resistencia.<sup>26</sup> Hay otros mecanismos, podemos citar por ejemplo el sistema de secreción tipo III (SSTIII) ha sido recientemente reconocido como un factor importante en la virulencia de la *P. aeruginosa*. El SSTIII ha sido identificado en una gran variedad de patógenos de humanos, animales y plantas, incluyendo especies de *Bordetella*, *Chlamydia*, *Erwinia*, *E. coli*, *Ralstonia*, *Rhizobia*,

*Salmonella*, *Shigella*, *Xanthomonas*, *Yersinia* y *Pseudomonas*. Este se encarga de dirigir la secreción y translocación de diversas proteínas llamadas exoenzimas Exo U,S,T y Y. Se cree que estos exoproductos son inyectados directamente al citosol de la célula blanco, vía translocación de diversas proteínas codificadas por operones, pcrGVHpopBD, incluso algunas cepas aisladas en pacientes con fibrosis quística pueden expresar antígenos noveles que median la adhesión de la pseudomona a tejido pulmonar.<sup>20,27</sup>

Otros mecanismos de resistencia con menor frecuencia incluyen la resistencia a quinolonas asociadas a mutaciones de los sitios blancos. La inestabilidad genómica de algunas cepas les confiere más agresividad, documentadas sobre todo en pacientes con infecciones crónicas v. gr. fibrosis quística.<sup>28</sup> La mutación de la topoisomerasa tipo II, sitio blanco de la ciprofloxacina, confiere una resistencia aislada a esta quinolona.<sup>14</sup> Desde el punto de vista epidemiológico la mayor frecuencia de resistencia está dada por la presentación de las bombas de expulsión.<sup>27</sup>

## CONCLUSIONES

Como se mencionó en esta revisión existen múltiples

mecanismos que están implicados y el conocerlos facilita la producción de nuevas alternativas farmacológicas para el control de las infecciones provocadas por este patógeno. Los principales mecanismos como el cierre de porinas junto con la producción de betalactamasas son los de mayor relevancia y frecuentemente se presentan de manera simultánea. Basados en que actualmente la *P. aeruginosa*, cuya presentación en la variante multidrogoresistente, tiene cada vez mas prevalencia en las infecciones nosocomiales con altos costos institucionales y para el sistema de salud así como elevada morbi-mortalidad para los pacientes, es necesario insistir en el uso racional de los diferentes antimicrobianos para evitar de esta manera el propiciar directa o indirectamente la resistencia bacteriana, ya que es creciente la falta de respuesta clínicamente significativa. A pesar de que actualmente a nivel molecular y genético se están realizando investigaciones para el desarrollo de fármacos que interfieran directamente en cada tipo de mecanismo implicado, sigue siendo imprescindible conocer la epidemiología de cada hospital, los mecanismos de resistencia involucrados, controlar los factores de riesgo descritos y establecer conductas que permitan implementar estrategias costo-efectivas para el control de la multirresistencia.

## Referencias

1. Askoura M, Mottawea W, Abujamel T, Taher I. Efflux puma inhibitors (EPIs) as new antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa*. Libyan J Med. 2011; 13: 6.
2. Strateva T, Yordanov D. *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. J Med Microbiol. 2009; 58(Pt 9):1133-48.
3. Obritsch MD, Fish DN, MacLaren R, Jung R. Nosocomial infections due to multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiology and treatment options. Pharmacotherapy. 2005; 25(10):1353-64.
4. Paramythiotou E, Lucet JC, Timsit JF, Vanjak D, Paugam-Burtz C, Trouillet JL, et al. Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in intensive care units: role of antibiotics with antipseudomonal activity. Clin Infect Dis. 2004; 38(5):670-7.
5. Riccio ML, Pallecchi L, Docquier JD, Cresti S, Catania MR, Pagani L, et al. Clonal relatedness and conserved integron structures in epidemiologically unrelated *Pseudomonas aeruginosa* strains producing the VIM-1 metallo-(beta)-lactamase from different Italian hospitals. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(1):104-10.
6. El Amari EB, Chamot E, Auckenthaler R, Pechère JC, Van Delden C. Influence of previous exposure to antibiotic therapy on the susceptibility pattern of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremic isolates. Clin Infect Dis. 2001; 33(11):1859-64.
7. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare?. Clin Infect Dis. 2002 Mar 1; 34(5):634-40.
8. Lodise TP, Miller CD, Graves J, Furuno JP, McGregor JC, Lomaestro B, et al. Clinical prediction tool to identify patients with *Pseudomonas aeruginosa* respiratory tract infections at greatest risk for multidrug resistance. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Feb; 51(2):417-22.
9. Hanberger H, García-Rodríguez JA, Gobernado M, Goossens H, Nilsson LE, Struelens MJ. Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups. JAMA. 1999 Jan 6; 281(1):67-71.
10. Da Silva Filho LV, Levi JE, Bento CN, Rodrigues JC, Da Silva Ramos SR. Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a cystic fibrosis outpatient clinic. J Med Microbiol. 2001 Mar; 50(3):261-7.
11. Murillo Llanes J, Sosa Quintero LS, López Castro, M. Patrón de Resistencia Antimicrobiana de *Pseudomonas Aeruginosa* en el Hospital General de Culiacán. Arch Salud Sin. 2009; 3(2):6-11
12. Anthony M, Rose B, Pegler MB, Elkins M, Service H, Thamotharampillai K, et al. Genetic analysis of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the sputa of Australian adult cystic fibrosis patients. J Clin Microbiol. 2002 Aug; 40(8):2772-8.
13. Levine SA, Niederman MS. The impact of tracheal intubation on host defenses and risks for nosocomial pneumonia. Clin Chest Med. 1991 Sep; 12(3):523-43.
14. Siegman-Igra Y, Ravona R, Primerman H, Giladi M. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: an analysis of 123 episodes, with particular emphasis on the effect of antibiotic therapy. Int J Infect Dis. 1998 Apr-Jun; 2(4):211-5.
15. Carmeli Y, Troillet N, Karchmer AW, Samore MH. Health and economic outcomes of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Arch Intern Med. 1999 May 24; 159(10):1127-32.
16. Reinhardt A, Köhler T, Wood P, Rohner P, Dumas JL, Ricou B, et al. Development and persistence of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: a longitudinal observation in mechanically ventilated patients. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Apr; 51(4):1341-50.
17. Wang CY, Jerng JS, Chen KY, Lee LN, Yu CJ, Hsueh PR, et al. Pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients: clinical features, risk-factors and outcomes. Clin Microbiol Infect. 2006 Jan; 12(1):63-68.
18. Suárez CJ, Catan JN, Guzmán AM, Villegas MV. Al. Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. Infectio 2006; 10(2): 85-93

19. Gómez Alvarez CA, Leal Castro AL, Pérez de González MJ, Navarrete Jiménez ML. Mecanismos de resistencia en *pseudomonas aeruginosa*: entiendo a un peligroso enemigo. Rev. Fac. Med. (Bogotá), 2005; 53(1):27-34
20. Valenza G, Joseph B, Elias J, Claus H, Oesterlein A, Engelhardt K, et al. First survey of metallo-beta-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in a German university hospital. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Aug; 54(8):3493-7
21. Samore MH, Carmeli Y. Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and antibiotic susceptibility patterns. Clin Infect Dis. 1997 Nov; 25(5):1094-8.
22. Livermore DM, Woodford N. Carbapenemases: a problem in waiting?. Curr Opin Microbiol. 2000 Oct; 3(5):489-95.
23. Head NE, Yu H. Cross-sectional analysis of clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*: biofilm formation, virulence, and genome diversity. Infect Immun. 2004 Jan; 72(1):133-44.
24. Biswas S, Mohammad MM, Movileanu L, van den Berg B. Crystal structure of the outer membrane protein OprD from *Pseudomonas aeruginosa*. Structure. 2008 Jul; 16(7):1027-35.
25. Jun-Ichi Ito. Outer Membrane Porin D2 (OprD). Pdb:2odj:[http://www.pdbj.org/eprints/index\\_en.cgi?PDB%3A2ODJ](http://www.pdbj.org/eprints/index_en.cgi?PDB%3A2ODJ)
26. Epp SF, Köhler T, Plésiat P, Michéa-Hamzehpour M, Frey J, Pechère JC. C-terminal region of *pseudomonas aeruginosa* outer membrane porin OprD modulates susceptibility to meropenem. Antimicrob Agents Chemother. 2001 Jun; 45(6):1780-7.
27. Berthelot P, Attree I, Plésiat P, Chabert J, de Bentzmann S, Pozzetto B, et al. Genotypic and phenotypic analysis of type III secretion system in a cohort of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia isolates: evidence for a possible association between O serotypes and exo genes. J Infect Dis. 2003 Aug 15; 188(4):512-8.
28. Fothergill JL, White J, Foweraker JE, Walshaw MJ, Ledson MJ, Mahenthiralingam E, et al. Impact of *Pseudomonas aeruginosa* genomic instability on the application of typing methods for chronic cystic fibrosis infections. J Clin Microbiol. 2010 Jun; 48(6):2053-9