

Pseudomonas aeruginosa antibiootikumiresistentsus 21. sajandil

Silver Türk¹, Irja Lutsar¹

Eesti Arst 2015;
94(9):530–537

Saabunud toimetusse:
20.04.2015
Avaldamiseks vastu võetud:
20.05.2015
Avaldatud internetis:
31.10.2015

¹ Tartu Ülikooli
mikrobioloogia instituut

Kirjavahetajaautor:
Silver Türk
silver.turk@ut.ee

Võtmesõnad:
Pseudomonas aeruginosa,
antibiootikumiresistentsus,
ravi

Pseudomonas aeruginosa on patogeen, mis tõmbab tähelepanu eelkõige oma võimega muutuda antibiootikumide suhtes resistentseks. See protsess on aastakümneid olnud kiirem meie võimest vastata uute antibiootikumidega. Ülevaateartiklis on keskendatud pärast põgusat infektsioonitüüpide ja Eesti resistentusmäärade tutvustamist resistentusmehhanismidele, nende olulisuse selgitamisele ning seejärel *P. aeruginosa* infektsioonide raviviisidele. Osa raviviise on jõudnud kliinilisse praktikasse või on vajaduse korral kohe rakendatavad (diagnostika, ravimite annustamise ja kombineerimise vallas, mittefarmakoloogiline ravi).

PSEUDOMONAS AERUGINOSA INFEKTSIOONIDE ETIOLOOGIA JA OLULISUS

Pseudomonas aeruginosa (edaspidi ka lihtsalt pseudomonas) on keskkonnas laialdaselt levinud obligaatsest aeroobne gramnegatiivne mittefermenteeriv pulkbakter. On ka teisi pseudomonaseliike (*P. putida*, *P. oryzihabitans*, *P. fulva*), mis on võimelised tekitama oportunistlike infektsioone, aga neid ei ole selles ülevaates käsitletud. *P. aeruginosa* põhjustab haavandite ja põletuste infektsiooni, tsüstilise fibroosiga (CF) patsientide kopsu kolonisatsiooni ja sellest tulenevat tüüpilist kroonilist kopsupõletikku, fookuliiti, väliskõrvapõletikku ehk otitis externa't ehk nn ujujakõrva ning haiglainfektsioone, millest kõige tüüpilisemad on kopsupõletik, kuseteede põletik ja põletushaava infektsioon (1–6). Tervetel põhjustab pseudomonas infektsioone harva, lastel haruharva.

P. aeruginosa infektsioonid on võimalik jaotada kliinilise pildi alusel ägedateks ja kroonilisteks. Esimesi põhjustab toksilisi aineid tootev vabalt ujuv vorm (liikuv fenotüüp), teisi väga vastupidav biokilet moodustav vorm (paikne fenotüüp). Vabalt ujuva ja biokilevormi vaheline ümberlülitumine sõltub geeni RetS ekspressioonist (7). RetS-i ekspressioonist tuleneb vabalt ujuv, repressioonist biokilevorm.

P. aeruginosa on USAs kümne osariigi andmete põhjal sageduselt kuues tekitaja (8), ülejäänud Läänemaailmas üldiselt sageda-

semgi (3). Euroopa Haiguste Ennetamise ja Tõrje Keskuse (*European Centre for Disease Prevention and Control*, ECDC) andmebaasi andmetel on *P. aeruginosa* üks Euroopa olulisemast viiest haiglainfektsioonide põhjustajast (1). Euroopas ja Vahemere maades on *P. aeruginosa* väljaspool intensiivravi osakondi (IRO) sageduselt kolmas tekitaja, IROdes teine ja kopsupõletike vallas esimene tekitaja (3, 9). Eestis on *P. aeruginosa* oluliselt vähem levinud: 2006. aasta kohortuuringu andmetel oli osakaal hospitaalinfektsioonides kõigest 10% (10). *P. aeruginosa* nosokomiaalsete infektsioonide tekke sagedus korreleerub väliskeskonna temperatuuriga (11), ka CF-patsiendid saavad *P. aeruginosa* nakkuse kergemini soojemas kliimas ja suvel (12). Kas see, et Eestis on *P. aeruginosa* levik suhteliselt vähene, johtub rohkem meie jahedast kliimast ja lühikestest suvedest või hoopis heast haiglahügieenist, ei ole teada.

P. aeruginosa põhjustatud haiglainfektsioonidepuhune suremus on 2/3 võrra suurem kui haiglainfektsioonide korral keskmiselt, 30 päeva suremus vastavalt 25% vs. 15% (13), 28 päeva suremus bakterieemiasse on samuti ca 25%, kusjuures aasta jooksul lähenes suremuse määr 50%-ni (14). *P. aeruginosa* bakterieemia esineb sagedamini meestel ja eakamatel ning tavalisim sissetungivärat on urotrakt (esinemissagedus 100 000 inimaasta kohta meestel 10,8; naistel 3,7 (14)).

Biokileinfektsioone (s.t. rakuvälise maatriksiga seotud infektsioone, mis kipuvad olema

ravi ja immuunsüsteemi suhtes resistentsemad) põhjustab *P. aeruginosa* kesk- ja väliskõrvas, põletushaavades, haavanditel, kusepõie kateetritel, CF-patsientide kopsus, harvem meditsiinilistel implantaatidel (2, 6, 15). USA CF-seltsi uuema statistika järgi oli keskmine *P. aeruginosa*'ga koloniseeritute osakaal kaks aastakümnet tagasi 61%, nüüd 49% (16), samal ajal kasvas *S. aureus*'e (nüüd koloniseerib 69%) ja *Stenotrophomonas maltophilia* (14%) osakaal. Pseudomonase kolonisatsioon on täiskasvanutel tunduvalt rohkem levinud kui lastel.

Pseudomonas infitseerib ka haavandeid. Jalahaavandi infitseerijana esineb *P. aeruginosa* sagedamini diabeetikutel kui mittediabeetikutel: 61% vs. 19% (17). Põletushaavade puhul on pseudomonase osatähtsus varieeruv kas geograafilistel või muudel põhjustel, kindlasti on tegu osakaalult kui mitte päris esimese, siis kindlasti ühe olulisema tekitajaga (4–5).

Riskiteguritega patsientide puhul on reaalsem, et keskkonnas olev pseudomonas võib neid nakatada. Pseudomonas võib levida näiteks ühiskondlikus kasutuses pesemisvahendite või -ruumide abil (18), aga tasub teadlik olla ka sellest, et pseudomonaseid võib leiduda ka pudelivees, eriti karboniseerimata pudelivees. On uuritud, kas on vahet karboniseeritud ja karboniseerimata mineraalveel (19). Karboniseeritud vee proovidest sisaldas pseudomonast 4%, karboniseerimata vee proovidest 55%. Tõenäoliselt vee karboniseerimine vähendab vee sobivust pseudomonasele seeläbi, et vähendab vee hapnikusisaldust (hapnik on üks pseudomonasele sobilik elektroonaktseptor, teine on nitraat) ja suurendab happelisust (madalam pH on pseudomonasele ebasoodsam).

PSEUDOMOONASE RESISTENTSUSMEHHAANISMID

Põhimõtteliselt on olemas kolme tüüpi resistentsust: loomulik (konstitutiivne), omandatud ja adaptiivne. Loomulik resistentsus sisaldab rakuseina tüüpi või tüüpiliselt ekspresseeritavaid poore ja pumпасid. Omandatud resistentsus levib plasmiidide või faagide vahendusel või tekib järk-järgult toimuvate mutatsioonide tulemusel. Adaptiivne ehk indutseeritud resistentsus on mikroobide füsioloogiline vastus keskkonnale. Indutseeritud resistentsus ei pärandu geneetiliselt, see on ühe mikroobi indivi-

duaalne (aga biokiledest rääkides mingil määral ka kollektiivne) võime tulla toime stressiga oma elustsükli jooksul. Indutseeritud resistentsust on võimalik põhjustada iatrogeenselt mitteküllaldase raviga (mitte-toimiv doos või kuuri kestus) (20).

Kuna hiljutises eestikeelses *Enterobacteriaceae*-teemalises ülevaates (21) on põgusalt käsitletud antibiootikumitolerantsuse ja persistorite olemust ning rolli ravi ebaõnnestumistes, siis selles ülevaates neid mehhanisme põhjalikult käsitletud ei ole – need mitteliigispetsiifilised mehhanismid on üle kantavad ka pseudomonasele.

P. aeruginosa antibiootikumiresistentsuse mehhanismid on järgmised (modifitseeritud Fothergilli jt (34) järgi):

- Rakuväline maatriks seob antibiootikume.
- Ravimite sissepääs rakku on tõkestatud.
- Kujuneb efluks (ravimid pääsevad periplasmi, aga pumbatakse sealt välja).
- Ravimid pääsevad periplasmi, aga lammutatakse.
- Tekivad mutatsioonid, mis muudavad valgud ravimitele kättesaamatuks.

On leitud, et rakuväline maatriks seob tobramütsiini: 1% alginaadi (üks olulisemaid pseudomonase polüsahhariide) juuresolekul väheneb diskdifusiooni testis tobramütsiini inhibitsioonitsooni raadius kolmandiku võrra (23), lisaks sellele seob ravimit rakuväline DNA (2). Sellest võib järeldada, et kroonilistele, limaga infektsioonikolletele on vaja toimida suurema tobramütsiinikontsentratsiooniga.

Aluseliste aminohapete ja ühtlasi karbapeneemide sissepääsu võimaldava poriini OprD ekspressiooni vähenemine (adaptiivne mehhanism) või mutatsioonidest tulenev struktuuri muutus viib pahatihti selleni, et karbapeneemravi ei toimi (24). Meropenem sõltub OprD-st ainult osaliselt, kuna pääseb rakku ka teisiti (25). Kuigi mõned valitud poriinid on hästi kirjeldatud, puudub poriinidest ja nende regulatsioonist täielik ülevaade. Hiljutine *P. aeruginosa* genoomi sekveneerimine on toonud selle ilmekalt esile – ainuüksi OprD-sarnaseid poriine on 19 (26). OprD kadumine on mehhanismiks 95% doripeneemiresistentsetel ja 46% tseftasidiimiresistentsetel tüvedel (27, 28).

Efluks annab kliinilist resistentsust peamiselt siis, kui on takistatud ka ravimi sissepääs rakku (28). On teada vähemalt kuus efluksüsteemi, mis kaitsevad pseu-

domoonast pea kõikide ravimite eest. Need on MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprJ, MexXy, MexJK-OprM ja MexVW-OprM (20). Tegelikult on neid veel rohkem, sealhulgas OpmG (26). Ainuüksi MexAB-OprM mõjutab tundlikkust aminoglükosiidide ja β -laktaamide suhtes ning osaleb kolistiini-tolerantsuse tekkes (2, 26). Doripeneemiresistentsetel tüvedel on leitud OprM efluksi 20% tüvedel, tseftasidiimiresistentsetel rohkem (27, 28).

Kõige olulisemad antibiootikumide lammutavad ensüümid on β -laktamaasid: AmpC, ESBL (laiendatud spektriga beetalaktamaas) ja karbapenemaasid. AmpC on tsefalosporinaas, mis on pseudomoonase kromosoomis tavaliselt kolme koopiana. Kui AmpC on aktiivne, siis ekspresseerub enamasti üks koopia. AmpC tsefalosporiin lammutab väga kergesti I ja II põlvkonna tsefalosporiine ja ampitsilliini, raskemini tseftasidiimi, astreonaami või piperatsilliini. Viimaste suhtes tekib resistentsus siis, kui rakud panevad AmpC tootmisele väga suurt rõhku (*AmpC overexpression*) (29). AmpC derepressiooni (AmpC⁺⁺⁺) leiti ligi pooltel doripeneemi- või tseftasidiimiresistentsetel tüvedel (27, 28). AmpC⁺⁺⁺-ga kaasnevad muud resistentsused. Näiteks leiti Hispaania AmpC⁺⁺⁺ tüvedelt poole sagedamini fluoro-kinolooniresistentsust (29). Karbapenemaas ja ESBL levivad pseudomoonasel plasmiididega. Karbapenemaaside (sageli metallo- β -laktamaaside) erivõime lõhustada inhibiitoreid põhineb enamasti sellel, et see purustab β -laktaame metalliiooni abil ilma kovalentse sideme tekketa; ilma kovalentse sideme tekketa need inhibiitorid ei toimi (30). Ensümaatilistest mehhanismidest on olulised veel aminoglükosiidide modifitseerivad ensüümid (31).

Euroopas levinud karbapeneemiresistentsus põhineb siiani peamiselt poriinide sulgumisel, kuigi karbapenemaasid levivad kiiresti. Doripeneemiresistentsete tüvede puhul on leitud karbapenemaasi algul 12%-l, hiljem 30% tüvedel (27). AmpC-l, ESBLil ja karbapenemaasil on üksteise ees eeliseid:

1. AmpC eelis ESBLi ees on see, et AmpC on raskesti inhibeeritav ning selle lõhustatavate antibiootikumide valik on laiem. AmpC eelis karbapenemaaside ees on võime üleekspressioonil lammutada astreonaami.
2. ESBLi eelis AmpC ees on see, et III põlvkonna tsefalosporiinid on ESBLi jaoks

väga head substraadid, eelis karbapenemaaside ees on võime lammutada astreonaami.

3. Karbapenemaasid lammutavad peaaegu kõiki β -laktaame, isegi inhibiitoreid, ainus erand on astreonaam.

On olemas tüved, mis on karbapeneemiresistentsed, aga tseftasidiimi-tsefepiimi suhtes tundlikud. See fenotüüp on karbapenemaasita tüvedel, mis raskendavad ravimite sissepääsu raku (via OprD) ja eritavad neid välja (32). Lisaks eelnevatele juurdepääsu takistavatele mehhanismidele on võimalik, et mutatsioonide tõttu muutuvad sihtmärgid, millele antibiootikum toimima on mõeldud. Vastavaks näiteks on penitsilliini siduvate valkude või topoisomeraaside muteerumine (22, 33) ja rakumembraani laengu muutmine (2). Mitu kvantitatiivselt väikest tundlikkust mõjutavat mutatsiooni võivad kombineerudes tekitada kvalitatiivse muutuse, s.t resistentsuse.

Vahest kõige raskem on ravida biokile-infektsioone. Biokile puhul on kõige olulisem, et laboris *in vitro* tundlik mittebiokile on üsna suure tõenäosusega *in vivo* biokilena ikkagi väga raskesti ravitav (antibiootikumitolerantsuse ja persistorite tõttu) (2). On küll kasutusel minimaalse biokilet inhibeeriva ja minimaalse biokilet hävitava kontsentratsiooni määramise meetodikad (34), aga neid meetodeid kliinilises praktikas ei kasutata, tõenäoliselt töömahukuse ja ajakulu tõttu. Põhjalik ülevaade just *P. aeruginosa* biokilede kohta on Tolker-Nielsen 2014. aasta monograafias (2). *P. aeruginosa* biokile puhul on oluline nüanss, et biokile pindmises osas asetsevaid rakke on kergem tappa ühtede, sügavamas osas asetsevaid rakke teiste bakterivastaste ainete abil (2).

Kokkuvõtteks: pseudomoonasele on iseloomulik AmpC tsefalosporinaas ja alatine võimalus AmpC⁺⁺⁺ fenotüübiks, järkjärguline kohanemisvõime aminoglükosiidide suhtes (30) ja biokile (2).

RESISTENTSUSE LEVIK EESTIS JA MUJAL

Eesti pseudomoonased on Euroopa keskmisest vähem resistentsed β -laktaamide ja aminoglükosiidide suhtes, aga resistentsamad fluoro-kinoloonide suhtes (vt tabel 1). Eesti andmete puhul tuleb siiski antibiootikumiresistentsuse andmetesse suhtuda mõningas kriitikaga, kuna analüüsitud tüvede arv on väike ja resistentsusmäärade

fluktuatsioonid aastati on küllaltki suured. Näiteks on 2011. aasta tseftasidiimitundlikkuse andmetes ainult neli tüve, millest vaid pooled olid tundlikud. *P. aeruginosa* antibiootikumitundlikkust on Eestis eraldi uuritud 2003. ja 2006. aastal (10, 36). Hiljuti on küll üks uuring hõlmanud naaberriiki Lätit, kus analüüsiti ligi 100 tüve (35). Tundlikkus karbapeneemide suhtes oli Lätis ligilähedaselt sama mis Eestis, aga flurokinoloonide ja tseftasidiimi suhtes olid tundlikud ainult 1/2 ja 2/3 tüvedest.

PSEUDOMOONASEINFEKTSIOONI TÄNAPÄEVANE RAVI

Mis puutub ravirežiimidesse ja manustamiskeskemidesse, siis teaduskirjanduse andmed ei ole päris ühesugused. Tartu Ülikooli Kliinikumi ravijuhendis on pseudomoonaseinfektsioonide etioloogiliseks ravimiseks määratud sõltuvalt infektsioonist järgmised ravimid: tseftasidiim, tsefepiim, piperatsilliin-tasobaktaam, tsiprofloksatsiin; mõnel juhul lisandub gentamütsiin; mõnel juhul ravitakse antibiogrammi alusel (37). Resistentsust esineb kõikide antibiootikumide, ka kolistiini vastu (38).

Karbapenemaasiresistentsuse tuvastamine võib olla kriitilise tähtsusega. Seda saab kindlaks teha uut tüüpi odava, kiire ja tundliku meetodiga (MALDI-TOF ehk *Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight*) (39).

Kui antibiootikumitundlikkus läheneb piiripealsele, on vaja annustamist optimeerida. Näiteks, kui tsefepiimi tundlikkus on 4–8 µg/ml, siis see on veel tundlik, aga märk sellest, et bakteril on latentne AmpC ja efluksiresistentsus. Sel puhul on vaja halvema vältimiseks annustamist optimeerida (40). Simulatsioonide ja retrospektiivsete uuringute põhjal on tihti mõttekam manustada β-laktaame laadimisannuse ja pidevinfusiooniga kui korduvate boolusdoosidena, kuna nii suureneb aeg, mil ravimi kontsentratsioon veres on üle terapeutilise doosi. Paraku on prospektiivseid juhulikustatud kliinilisi katseid vähe ja nende tulemusi on raske ühemõtteliselt tõlgendada (41). Kuna juhulikustatud katseid on vähe ja nende korraldamine ei pruugi igas olukorras mõttekas olla, siis peakski usaldama simulatsioone ja retrospektiivset tagasisidet. Kiire kuluga infektsiooni puhul on tegelikult kõige otstarbekam alustada laadimisannusega, et toimiv kontsentratsioon saavutataks kiiresti ning seejärel jätkata pidevinfusiooniga, et toimiv kontsentratsioon püsiks. Lähtuvalt uuematest kliinilistest ja farmakokineetilistest uuringutest on monoterapiaks β-laktaamidega antud järgmised soovitusel (40, 42):

Tabel 1. Invasiivsete tüvede resistentsusmäärad ECDC uusima raporti kohaselt Euroopa Liidus (kaalutud keskmine) ja Eestis (1).

	Euroopa Liit	Eesti
Piperatsilliin-tasobaktaam (PIP-TAZ)	16,2%	11,8%
Fluorokinoloonid	20%	25%
Tseftasidiim	12,2%	0%
Aminoglükosiidid	15,9%	9,5%
Karbapeneemid	17,6%	10%

1) 1 g imipeneemi või doripeneemi iga 6 tunni järel 2tunnise infusioonina;

2) 0,5; 1 või 2 g doripeneemi iga 8 tunni järel 3–4 tunni jooksul;

3) 2 g meropeneemi iga 8 tunni järel 3- või 8tunnise infusioonina;

4) 2 g tsefepiimi iga 6 või 8 tunni järel 3tunnise infusioonina või 6 g (0,5 g ühekordse doosina) pidevinfusioonina;

5) 22,5 g PIP-TAZ-i pidevinfusioonina.

Tsüstilise fibroosi ravi on viimaste aastakümnete jooksul muutunud. USAs on 60% CF-patsientidele ordineeritud desoksüribonukleas ehk DNKas (vähendab sekreedi viskoossust), β-adrenomimeetikum (laiendab bronhe) ja hüpertooniline soolalahus (stimuleerib sekretsiooni hingamisteedes) ning antibakteriaalne profülaktika (tobramütsiin ja/või asitromütsiin), 40%-le ordineeritakse astreonaami (16). Kui CF-patsiendil ei ole pseudomoonase kolonisatsiooni, siis ideaalis peaks iga kuu tegema hingamisteedest külvi, kuna mõistlik tõenäosus pseudomoonast kopsust välja ravida on ainult kolonisatsiooni algusjärgus (43). USA andmetel (44) on 10% CF-tüvesid vähemalt ühe aine suhtes resistentsed ning koloniseerivate mikroobide seas on arvestuslikult vähemalt üks mutant, kes on resistentne tobramütsiini suhtes (inhaleeritava vormi MIC (minimaalne inhibeeriv kontsentratsioon) >128 µg/ml).

Koloniseeritud CF-patsientidel kasutatakse antibiootikumide inhaleeritavaid vorme (45): kolistiin, levofloksatsiin, amikatsiin, fosfomütsiin-tobramütsiin ja astreonaam. Inhaleeritava ravimivormi pluss on tsiprofloksatsiini näitel see, et veres saadakse väike kontsentratsioon (C_{max} 0,182 µg/ml), aga kopsusekreedis

väga suur (C_{max} 367 µg/ml). See vähendab süsteemset toksilisust. Inhaleeritavad antibiootikumid on kujunenud CF ravi standardiks, aga neid on eksperimentaalselt kasutatud bronhiektasias, atüüpiliste mükobakteriinfektsioonide ja ventilaatorpneumoonia raviks (46). Ventilaatorpneumoonia vastu on katsetatud isegi probiootikume, aga need vähendasid ainult *P. aeruginosa* kui tekitaja osakaalu (peaaegu kolm korda) (47), suremuses statistiliselt olulist muutust ei leitud.

Probiootikumide mõju sõltub patsiendi taustast ja probiootikumist. Probiootikum „Synbiotic 2000 Forte“ on juhuslikustatud katses vähendanud infektsioonide, sh ventilaatorpneumoonia tekke tõenäosust traumatoloogia-kirurgiapatsientidel (47). Probiootikumide toimemehhanismid on lokaalne lühikese ahelaga rasvhapete tootmine, patogeeni virulentsuse vähendamine või immuunmodulatsioon; nende eelis antibiootikumide ees on see, et nad ei tekitavad resistentsust (47). Kuna probiootikumid ei ole platseebost või tavapärasest dekontaminatsioonist halvemad, siis on ootuspärane, et neid on hakatud kliinilises praktikas kasutama ja on tekkimas kliiniline kogemus, mis täpsustab, millised probiootikumid on kõige efektiivsemad ja millistele patsientidele täpselt.

Virulentsusvastastest ainetest on uuritud küüslauku, mille ekstrakti (656 mg) toimet väheneb virulentsusfaktori hulk, aga kliinilist kasu CF-patsientidele ses juhuslikustatud katses ei ilmnenud (48). Norra teadlased on uurinud küüslaugu toimemehhanisme: see muudab algul põletiku ägedamaks, parandab neutrofiilide fagotsütoosivõimet ning muudab *P. aeruginosa* biokile tundlikumaks fagotsütoosile, reaktiivsetele hapnikuosakestele ja tobramütsiinile, s.t aitab kaasa eradikatsioonile (49). Kuigi asitromütsiin on tuntud antibiootikumina, on see pseudomonaseinfektsiooni puhul pigem virulentsusevastane aine, mis ennetab CF-patsientide kopsatalitluse halvenemist, põletuste infitseerumist ning tüvespetsiifiliselt ventilaatorpneumooniat (50, 51). Nii küüslauk kui ka asitromütsiin toimivad virulentsusmehhanismile, mis on kõige laiemalt tuntud termini *quorum sensing* all.

Kuigi toopiliste preparaatide kohta on ilmunud väga palju artikleid, on vähe kvaliteetseid artikleid, millele saaks kindlalt toetuda. Toopilised hõbedal, joodil, metüleensinisel, biguaaniidil, peroksiididel,

klooramfenikoolil, antibiootikumidel, aaloel või meel põhinevad ravimid on *de facto* kasutusel, aga tõendeid nende konkretselt pseudomonasevastase toime kohta on vähevõitu. *P. aeruginosa* vastast toimet on eraldi uuritud hõbedal, meel ja haavageelil. Ravi hõbesulfadiasiiniga on standardiks, kasutatakse ka aaloet, aga vähemalt II astme põletuste ravis on mesi ja hüdrogeelid neist tõhusamad, kuid meeravi reservatsiooniks see, et need ei ole ühetaolised (52–55). *P. aeruginosa* vastu on mõeldud haavageel Dispersin, mis toimib bakteriitsidelt tseftasidiimiga võrreldaval kontsentratsioonil (56).

Kui pseudomonas on koloniseerinud kehasise implantaadi või kopsu ja moodustanud küpse biokile, siis puhtalt antibiootikumide abil on eradikatsioon peaaegu võimatu (15). Infitseeritud jalahaavandi ravimisel on edu tõenäosus samuti väiksem (33%) kui infitseerimata haavandi korral (73%) (57). Jalahaavandi ravis on 16 väikese juhuslikustatud uuringu kokkuvõttena näidatud, et erinevad elekterravi viisid on aidanud haaval paraneda (58). See võib olla osalt tingitud elektrokeemilisest bakterivastastest toimest. Elekterravi puhul on oluline, et see on odav ja ohutu. Kliinilisse testimisse on jõudnud ka fotodünaamiline ravi, mis vähendab *P. aeruginosa* hulka haavanditel (59) ja loomkatses ka põletushaavadel (60). Fotodünaamiline UTI (urotrakti infektsiooni) ravi valgust juhtiva kateetriga ilma antibiootikumide kasutamata võib osutada heaks lahenduseks UTI ravimisel (61). Biokile ravimiseks sobivad need raviskeemid, mida kasutatakse koloniseeritud CF-patsientidel.

Monoteraapia või kombinatsiooniteraapia?

Pseudomonas aeruginosa puhul tekib antibiootikumide sünergiatele mõeldes küsimus, kas antibiootikumide kombinatsioon võiks olla efektiivsem kui monoteraapia. Loogika on lihtne: mitteantagonistliku kombinatsiooni puhul on suurem tõenäosus, et ravi osutub adekvaatseks, aga teiselt poolt pole vahet, kas ravitulemus saavutatakse ühe või mitme ravimi toimetel. Ravijuhendites ongi ette nähtud kasutada ravimikombinatsioone ventilaatorpneumoonia empiirilises ravis (62) ning spetsiifiliselt CFi (43) ja kesknärvisüsteemi infektsioonide puhul (37), kuna see on parim strateegia multiresistentsete mikroobide vastu (62), kuigi see võibki olla multiresistentsete tüvede

tekkepõhjus. Panresistentse tüve puhul on mõtet kasutada kombinatsioonravi, kuna see (kombinatsiooni sünergia) võib olla ainus võimalus. Zavascki jt analüüsi kohaselt pole mõtet kasutada kombinatsioonravi, kui mikroob on tundlik valikravimite suhtes (40). Hu jt bakterieemia metaanalüüsi ja Kimi jt andmetel pole kombinatsioonteraapia ja monoterapiat vahet, Kim jt leidsid sama, aga selle erandiga, et neutropeeniaga patsientide puhul oli kombinatsioonteraapia tõhusam (63, 64). Kokkuvõtteks, akuutsete komplitseerumata infektsioonide raviks soovitatakse monoterapiat, biokileinfektsioonide ja komplitseeritud juhtude raviks kombinatsioonravi.

Kui CF-patsiente jälgitakse mikrobioloogiliselt soovitustest lähtudes (43), siis on tõenäoline, et koloniseeriv pseudomoonas leitakse varakult. Sel juhul soovitatakse kohe alustada ravi 15–20 mg/kg suukaudse tsiprofloksatsiiniga (toimib biokile pindmistele rakkudele) ning inhaleeritava kolistiiniga (toimib biokile süvamistele rakkudele) või tobramütsiiniga (43). Karbapenemaasitüüpi resistentsuse puhul on soovitatud kolistiini, aminoglükosiidi ja fosfomütsiini või siis kolistiini ja fluorkinolooni kombinatsiooni (41) või siis astreonaami β -laktamaasi inhibiitoriga (31). Lisaks soovitatutele on teada, et β -laktaamid kombineeruvad sünergiate tõttu hästi tsiprofloksatsiiniga (65, 66).

Empiiriliselt teraapialt võib antibioogrammi tulemuste selgumisel minna üle toimivale monoterapiale (67, 68). Pauli jt metaanalüüsi (68) andmetel võiks tundlikkuse korral minna β -laktaami ja aminoglükosiidi kombinatsioonilt üle β -laktaami monoterapiale, kuna aminoglükosiidid on nefrotoksilised ja nende kasutamisel tekib kerge tendents üldsuremuse kasvule. Kui siiski peab kasutama aminoglükosiididega kombinatsiooni, siis tasub teada, et fosfomütsiin kaitseb neere ja kõrvu aminoglükosiidi kõrvaltoimete eest ja see ei sobi mitte ainult kuseteede-, vaid ka kopsuinfektsioonide raviks (69, 70).

Aminoglükosiidide kõrvaltoimete eest loomudel on olnud kaitsva toimega ka küüslauguekstrakt (71). Pseudomoonase ravis on fosfomütsiinil sünergia tseftasidiimi, imipeneemi, piperatsilliini ja astreonaamiga, s.t just pseudomoonasevastaste antibiootikumidega. Kui eeldada, et β -laktaame peab kombineerima aminoglükosiididega, siis ei

ole päris selge, kas plussid kaaluvad üles miinused ja kas kombinatsioonile tuleks lisada fosfomütsiin.

Praeguse seisuga ei ole lootust, et lähitulevikus tuleb turule vaktsiin, mis paneks inimorganismi ise efektiivsemalt pseudomoonase vastu võitlema (45). Peptidomeetiline antibiootikum on alles jõudmas II faasi uuringuteni, II faasi kliinilistes uuringutes on uurimisel või juba uuritud monokloonseid antikehi, sh *panobacumab*'i, millest loodetakse ravimit antibiootikumiresistentse pseudomoonase vastu (45).

Ekspimentaalsed ravimeetodid

Kuigi siinse ülevaate eesmärk ei ole käsitleda prekliinilisi raviviise, mis on eelneva kliinilise testimiseta kliinilises praktikas kasutamiseks sobimatud kemikaalid, ekstraktid, viirused või probiootikumid, tuleks siiski ära märkida, et galliumnitraat (72) ja tüvespetsiifiliselt ka bakteriofaagid (73–75) on loomkatsetes olnud väga tõhusad akuutse infektsiooni ravimid. III faasi kliinilises testimises on tseftolosaan, mis võiks toimida paremini efluksmehhanismile ja koos inhibiitoriga ka AmpC või ESBLi ensüümiga kaitstud bakteritele (76). II faasi kliinilised katsed läbis uus aminoglükosiid, inimesele vähem toksiline ja bakterile raskemini lammutatav, aga aminoglükosiidiresistentsete tüvede MIC on selle ravimi suhtes ikkagi suurem (77). Kliiniliselt on testitud uut inhibiitorit avibaktaami. Tseftasidiim-avibaktaam toimis 94% tüvedele, imipeneem 82% tüvedele (78). Metallo- β -laktamaaside probleemi avibaktaam siiski ei lahenda.

Kliiniliselt (I ja II faas) on uuritud faage kroonilise kõrvapõletikuga patsientidel. Faagid läbisid efektiivsuse testi (79). Biokile vastu toimivad *in vitro* juba tuntud molekulidest ambroksool (rögalahtisti), laktoferriin (piima globuliin) ja niklosamiid (paelussivastane aine) (45). Tsüstilise fibroosi ravis loodetakse tulevikus kasutada tsüsteamiini, mis on mukolüütilise, biokilevastase ja antibiootikumsünergilise toimega (80). DiGiandomenico jt (81) leidsid hiirekatses, et üks antikeha ei ravinud, küll aga kahe antikeha kombinatsioon. Üks huvitava efektiga antikeha ei ole veel jõudnud kliiniliste katseteni. See on Mab166, mis takistab pseudomoonasel peremeesorganismi rakkude perforimist hiire mudelis (82). Ühesõnaga, teadlased on tuvastanud mitmeid eksperimentaalseid ravimeetodeid, mis on

jõudnud väikestesse kliinilistesse katsetesse, aga vähe on suurfirmadele või väga hästi rahastatud teadusrühmadele jõukohaseid suuri meditsiiniuuringuid, mis on vähemalt ravimite puhul uute raviviiside kliinilisse praktikasse juurutamise eelduseks.

VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Autoritel puudub huvide konflikt.

TÄNUAVALDUS

Uuringu rahastajad on Sihtasutus Eesti Teadusagentuur (projekt IUT34-19) ning Haridus- ja Teadusministeerium (grant KOGU-HUMB).

SUMMARY

Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in the 21st century

Silver Türk¹, Irja Lutsar¹

Pseudomonas aeruginosa is perhaps best known for its ability to become resistant to antibiotics. This process has been faster than our ability to respond with new antibiotics for decades. After a quick glance over the infections caused by *P. aeruginosa* and over resistance data for Estonia, the review focuses on antibiotic resistance mechanisms, their relevance and new solutions. Some new treatments have been introduced to clinical practice or are currently applicable if needed (diagnostics, dosing regimens, drug combinations, nonpharmacological treatments). Many more technologies await in the laboratory for further testing but some have reached clinical stages. These studies are briefly discussed.

REFERENCES/KIRJANDUS

1. European Centre for Disease Prevention and Control. http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/database/Pages/database.aspx.
2. Tolker-Nielsen T. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: from molecular biofilm biology to new treatment possibilities. *APMIS* 2014;122:1–51.
3. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalized in intensive care units in United States and European hospitals (2009–2011). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014;78:443–8.
4. Posluszny JA Jr, Conrad P, Halzer M, et al. Surgical burn wound infections and their clinical implications. *J Burn Care Res* 2011;32:324–33.
5. Peng DZ, Liu XL, Liu ZY, et al. Analysis of distribution characteristics and drug resistance of 2748 strains of pathogens isolated from burn patients. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi* 2012;28:87–95.
6. Roland PS, Stroman DW. Microbiology of acute otitis externa. *Laryngoscope* 2002;112:1166–77.
7. Goodman AL, Kulasekara B, Rietsch A, et al. A signaling network reciprocally regulates genes associated with acute infection

and chronic persistence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Dev Cell* 2004;7:745–54.

8. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *N Engl J Med* 2014;370:1198–208.
9. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of gram-negative organisms isolated from patients hospitalized with pneumonia in US and European hospitals: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2009–2012. *Int J Antimicrob Agents* 2014;43:328–34.
10. Lõivukene K, Sepp E, Adamson V, et al. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* in Estonian intensive care units in comparison with European data. *Sc J Inf Dis* 2006;38:1001–8.
11. Perencevich EN, McGregor JC, Shardell M, et al. Summer Peaks in the incidences of gram-negative bacterial infection among hospitalized patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:1124–31.
12. Psoter KJ, Rosenfeld M, De Roos AJ, et al. Differential geographical risk of initial *Pseudomonas aeruginosa* acquisition in young US children with cystic fibrosis. *Am J Epidemiol* 2014;179:1503–13.
13. Huttunen R, Attman E, Aittoniemi J, et al. Nosocomial bloodstream infections in a Finnish tertiary care hospital: a retrospective cohort study of 2175 episodes during the years 1999–2001 and 2005–2010. *Scand J Infect Dis* 2014;10:1–7.
14. Al-Hasan MN, Wilson HW, Lahr BD, et al. Incidence of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: a population-based study. *Am J Med* 2008;121:702–8.
15. Fernandes A, Dias M. The microbiological profiles of infected prosthetic implants with an emphasis on the organisms which form biofilms. *J Clin Diagn Res* 2013;7:219–23.
16. Cystic Fibrosis Foundation, Bethesda, MD. *CyFPatient Registry, Annual data report 2013*. <http://www.cff.org/treatments/CareCenterNetwork/PatientRegistryReport/>.
17. Trivedi U, Parameswaran S, Armstrong A, et al. Prevalence of multiple antibiotic resistant infections in diabetic versus nondiabetic wounds. *J Pathog* 2014;2014:173053.
18. Sakurai-Komada N, Hirano M, Nagata I, et al. Risk of transmission of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* through use of mobile bathing service. *Environ Health Prev Med* 2006;11:31–7.
19. Korzeniewska E, Filipkowska Z, Domeradzka S, Włodkowski K. Microbiological quality of carbonated and non-carbonated mineral water stored at different temperatures. *Pol J Microbiol* 2005;54 Suppl:27–33.
20. Fernández L, Hancock REW. Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clin Microbiol Rev* 2012;25:661–81.
21. Türk S. *Escherichia coli* ja *Klebsiella pneumoniae* β-laktaamiresistentsus XXI sajandi teisel kümnendil. *Eesti Arst* 2015;94:147–52.
22. Fothergill JL, Winstanley C, James CE. Novel therapeutic strategies to counter *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012;10:219–35.
23. Nichols WW, Dorrington SM, Slack MP, Walmsley HL. Inhibition of tobramycin diffusion by binding to alginate. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32:518–23.
24. Li H, Luo YF, Williams BJ, et al. Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: from antibiotic resistance to novel therapies. *Int J Med Microbiol* 2012;302:63–8.
25. Köhler T, Michea-Hamzehpour M, Epp SF, Pecheur JC. Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux systems. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:424–7.
26. Hancock RE, Brinkman FS. Function of pseudomonas porins in uptake and efflux. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:17–38.
27. Castanheira M, Deshpande LM, Costello A, et al. Epidemiology and carbapenem resistance mechanisms of carbapenem-nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* collected during 2009–11 in 14 European and Mediterranean countries. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:1804–14.
28. Castanheira M, Mills JC, Farrell DJ, Jones RN. Mutation-driven β-lactam resistance mechanisms among contemporary ceftazidime-nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* isolates from U.S. hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:6844–50.
29. Cabot G, Ocampo-Sosa AA, Tubau F, et al. Overexpression of AmpC and efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from bloodstream infections: prevalence and impact on resistance in a Spanish multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:1906–11.
30. Poole K. Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:479–87.
31. Shakil S, Azhar EI, Tabrez S, et al. New Delhi metallo-β-lactamase (NDM-1): an update. *J Chemother* 2011;23:263–5.
32. Zeng ZR, Wang WP, Huang M, et al. Mechanisms of carbapenem resistance in cephalosporin-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* in China. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014;78:268–70.

¹ Department of Microbiology, University of Tartu, Estonia.

Correspondence to: Silver Türk silver.turk@ut.ee

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, antibacterial resistance, treatment

33. Alvarez-Ortega C, Wiegand I, Olivares J, et al. The intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to β -lactams. *Virulence* 2011;2:144–6.
34. Dosler S, Karaaslan E. Inhibition and destruction of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by antibiotics and antimicrobial peptides. *Peptides* 2014;62:32–7.
35. Balode A, Punda-Polić V, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility of gram-negative and gram-positive bacteria collected from countries in Eastern Europe: results from the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.) 2004–2010. *Int J Antimicrob Agents* 2013;41:527–35.
36. Lõivukene K, Sepp E, Adamson V, et al. *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ja *Klebsiella pneumoniae* tähtsus ja antibiootikumitundlikkus Eesti haiglate intensiivravi osakondades. *Eesti Arst* 2004;83:526–34.
37. Sihtasutus Tartu Ülikooli Kliinikum. Matti Maimets. Antibiootikumravi juhend. http://www.kliinikum.ee/sisekliinik/attachments/050_ab_tkl-98v3.pdf
38. Johansen HK, Moskowitz SM, Ciofu O, et al. Spread of colistin resistant non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* among chronically infected Danish cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2008;7:391–7.
39. Chong PM, McCorrister SJ, Unger MS, et al. MALDI-TOF MS detection of carbapenemase activity in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* compared against the Carba-NP assay. *J Microbiol Methods* 2015;111:21–3.
40. Zavascki AP, Carvalhaes CG, Picão RC, Gales AC. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010;8:71–93.
41. Lutsar I, Telling K, Metsvaht T. Treatment option for sepsis in children in the era of antibiotic resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2014;12:1237–52.
42. Goff DA, Nicolau DP. When pharmacodynamics trump costs: an antimicrobial stewardship program's approach to selecting optimal antimicrobial agents. *Clin Ther* 2013;35:766–71.
43. Cantón R, Cobos N, de Gracia J, et al. Antimicrobial therapy for pulmonary pathogenic colonisation and infection by *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:690–703.
44. Macdonald D, Cuthbertson L, Doherty C, et al. Early *Pseudomonas aeruginosa* infection in individuals with cystic fibrosis: is susceptibility testing justified? *J Antimicrob Chemother* 2010;65:2373–5.
45. Savoia D. New perspectives in the management of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Future Microbiol* 2014;9:917–28.
46. Flume PA, VanDevanter DR. Clinical applications of pulmonary delivery of antibiotics. *Adv Drug Deliv Rev* 2014.
47. Wang J, Liu XX, Ariani F, et al. Probiotics for preventing ventilator-associated pneumonia: a systematic review and meta-analysis of high-quality randomized controlled trials. *PLoS One* 2013;8:e83934.
48. Smyth AR, Cifelli PM, Ortori CA, et al. Garlic as an inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing in cystic fibrosis—a pilot randomized controlled trial. *Pediatr Pulmonol* 2010;45:356–62.
49. Bjarnsholt T, Jensen PØ, Rasmussen TB, et al. Garlic blocks quorum sensing and promotes rapid clearing of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Microbiology* 2005;151(Pt 12):3873–80.
50. Southern KW, Barker PM, Solis-Moya A, Patel L. Macrolide antibiotics for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;11:CD002203.
51. van Delden C, Köhler T, Brunner-Ferber F, et al. Azithromycin to prevent *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia by inhibition of quorum sensing: a randomized controlled trial. *Intensive Care Med* 2012;38:1118–25.
52. Yaghoobi R, Kazerouni A, Kazerouni O. Evidence for clinical use of honey in wound healing as an anti-bacterial, anti-inflammatory anti-oxidant and anti-viral agent: a review. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2013;8:100–4.
53. Malik KI, Malik MA, Aslam A. Honey compared with silver sulphadiazine in the treatment of superficial partial-thickness burns. *Int Wound J* 2010;7:413–7.
54. Dat AD, Poon F, Pham KB, et al. Aloe vera for treating acute and chronic wounds. *Sao Paulo Med J* 2014;132:382.
55. Thomas S. Hydrocolloid dressings in the management of acute wounds: a review of the literature. *Int Wound J* 2008;5:602–13.
56. Gawande PV, Leung KP, Madhyastha S. Antibiofilm and antimicrobial efficacy of DispersinB®-KSL-W peptide-based wound gel against chronic wound infection associated bacteria. *Curr Microbiol* 2014;68:635–41.
57. Høgsberg T, Bjarnsholt T, Thomsen JS, et al. Success rate of split-thickness skin grafting of chronic venous leg ulcers depends on the presence of *Pseudomonas aeruginosa*: a retrospective study. *PLoS One* 2011;6:e20492.
58. Thakral G, Lafontaine J, Najafi B, et al. Electrical stimulation to accelerate wound healing. *Diabet Foot Ankle* 2013;16:4.
59. Lei X, Liu B, Huang Z, Wu J. A clinical study of photodynamic therapy for chronic skin ulcers in lower limbs infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Arch Dermatol Res* 2015;307:49–55.
60. Hashimoto MC, Prates RA, Kato IT, et al. Antimicrobial photodynamic therapy on drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*-induced infection. An in vivo study. *Photochem Photobiol* 2012;88:590–5.
61. Wainwright M, Stanforth A, Jones R, et al. Photoantimicrobials as a potential local approach to geriatric UTIs. *Lett Appl Microbiol* 2010;50:486–92.
62. Eggimann P, Revelly JP. Should antibiotic combinations be used to treat ventilator-associated pneumonia? *Semin Respir Crit Care Med* 2006;1:68–81.
63. Hu Y, Li L, Li W, et al. Combination antibiotic therapy versus monotherapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: a meta-analysis of retrospective and prospective studies. *Int J Antimicrob Agents* 2013;42:492–6.
64. Kim YJ, Jun YH, Kim YR, et al. Risk factors for mortality in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia; retrospective study of impact of combination antimicrobial therapy. *BMC Infect Dis* 2014;14:161.
65. Hayami H, Goto T, Kawahara M, Ohi Y. Activities of β -lactams, fluoroquinolones, amikacin and fosfomycin alone and in combination against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from complicated urinary tract infections. *J Infect Chemother* 1999;5:130–8.
66. Kresken M, Körber-Irrgang B, Läufer J, et al. *In vitro* activities of ceftobiprole combined with amikacin or levofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa*: evidence of a synergistic effect using time-kill methodology. *Int J Antimicrob Agents* 2011;38:70–5.
67. Garnacho-Montero J, Sa-Borges M, Sole-Violan J, et al. Optimal management therapy for *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia: an observational, multicenter study comparing monotherapy with combination antibiotic therapy. *Crit Care Med* 2007;35:1888–95.
68. Paul M, Lador A, Grozinsky-Glasberg S, Leibovici L. Beta lactam antibiotic monotherapy versus beta lactam-aminoglycoside antibiotic combination therapy for sepsis. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;1:CD003344.
69. Yoshiyama Y, Yazaki T, Wong PC, et al. The effect of fosfomycin on glycopeptide antibiotic-induced nephrotoxicity in rats. *J Infect Chemother* 2001;7:24.
70. Mirakhor A, Gallagher MJ, Ledson MJ, et al. Fosfomycin therapy for multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2003;2:19–24.
71. Nasri H, Nematbakhsh M, Rafieian-Kopaei M. Ethanol extract of garlic for attenuation of gentamicin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Iran J Kidney Dis* 2013;7:376–82.
72. Kaneko Y, Thoendel M, Olakanmi O, et al. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity. *J Clin Invest* 2007;117:877–88.
73. Debarbieux L, Leduc D, Maura D, et al. Bacteriophages can treat and prevent *Pseudomonas aeruginosa* lung infections. *J Infect Dis* 2010;201:1096–104.
74. McVay CS, Velásquez M, Fralick JA. Phage therapy of *Pseudomonas aeruginosa* infection in a mouse burn wound model. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:1934–8.
75. Coulter LB, McLean RJ, Rohde RE, Aron GM. Effect of bacteriophage infection in combination with tobramycin on the emergence of resistance in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Viruses* 2014;6:3778–86.
76. Hong MC, Hsu DI, Bounthavong M. Ceftolozane/tazobactam: a novel antipseudomonal cephalosporin and β -lactamase-inhibitor combination. *Infect Drug Resist* 2013;6:215–23.
77. Zhanel GG, Lawson CD, Zelenitsky S, et al. Comparison of the next-generation aminoglycoside plazomicin to gentamicin, tobramycin and amikacin. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012;10:459–73.
78. Levasseur P, Girard AM, Claudon M, et al. In vitro antibacterial activity of the ceftazidime-avibactam (NXL104) combination against *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:1606–8.
79. Wright A, Hawkins CH, Anggård EE, Harper DR. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. *Clin Otolaryngol* 2009;34:349–57.
80. Charrier C, Rodger C, Robertson J, et al. Cysteamine (Lynovex®), a novel mucocactive antimicrobial & antibiofilm agent for the treatment of cystic fibrosis. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:189.
81. DiGiandomenico A, Keller AE, Gao C, et al. A multifunctional bispecific antibody protects against *Pseudomonas aeruginosa*. *Sci Transl Med* 2014;6:262ra155.
82. Warrener P, Varkey R, Bonnell JC, et al. A novel anti-PcrV antibody providing enhanced protection against *Pseudomonas aeruginosa* in multiple animal infection models. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:4384–91.