

Received: 2012.06.18
Accepted: 2013.09.20
Published: 2013.12.16

Oporność *Pseudomonas aeruginosa* na antybiotyki

Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to antibiotics

Katarzyna Wolska, Barbara Kot, Małgorzata Piechota, Aneta Frankowska

Zakład Mikrobiologii, Instytut Biologii Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach

Streszczenie

Największym problemem w leczeniu zakażeń szpitalnych jest narastająca lekooporność, wywołujących je drobnoustrojów, ograniczająca liczbę skutecznych antybiotyków. Pałeczki *Pseudomonas aeruginosa* są przyczyną wielu groźnych zakażeń szpitalnych występujących głównie u pacjentów z grup wysokiego ryzyka. Najbardziej narażeni są chorzy z obniżoną odpornością, a także z rozległymi ranami chirurgicznymi i oparzeniowymi. Zakażenia mają najczęściej charakter zakażeń wtórnych wywołanych przez szczepy wielolekooporne. W związku z dużą aktywnością przeciwbakteryjną antybiotyki beta-laktamowe, aminoglikozydy i fluorochinolony są lekami powszechnie stosowanymi w szpitalach, zarówno w profilaktyce, jak i leczeniu zakażeń *P. aeruginosa*. Jednak nieracjonalne ich stosowanie wiąże się z selekcją i rozprzestrzenianiem szczepów opornych na te antybiotyki. Oporność *P. aeruginosa* na antybiotyki jest wypadkową wielu niezależnych od siebie współwystępujących mechanizmów. Są to przede wszystkim: zmniejszenie przepuszczalności osłon komórkowych, rozwój systemu efflux i wytwarzanie enzymów rozkładających oraz inaktywujących antybiotyki. W pracy zwrócono szczególną uwagę na określenie mechanizmów oporności odpowiedzialnych za to zjawisko.

Słowa kluczowe: aminoglikozydy • beta-laktamy • chinolony • oporność • *Pseudomonas aeruginosa*

Summary

The main problem in the treatment of nosocomial infections is the increasing drug resistance of microorganisms that cause them, limiting the number of effective antibiotics. *Pseudomonas aeruginosa* bacilli are the cause of many serious hospital-acquired infections occurring primarily in patients within high-risk groups. The most vulnerable are those with weakened immune systems, as well as those with extensive surgical wounds and burn wounds. Infections are usually of the nature of secondary infections, caused by multidrug strains.

Due to the high antimicrobial activity, beta-lactams, aminoglycosides and quinolones are drugs commonly used in hospitals, both in prevention and treatment of infections with *P. aeruginosa*. However, their irrational use is associated with selection and spread of strains resistant to these antibiotics. Resistance of *P. aeruginosa* to antibiotics is the result of a number of independent co-occurring mechanisms. These are: reducing the membrane permeability, the efflux system, and production of enzymes inactivating and degrading antibiotics. The paper devotes special attention to the determination of resistance mechanisms responsible for this phenomenon.

Keywords: aminoglycosides • beta-lactams • *Pseudomonas aeruginosa* • quinolone • resistance

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1080803>

Word count: 4998
Tables: 1
Figures: –
References: 95

Adres autorki: dr Katarzyna Wolska, Zakład Mikrobiologii, Instytut Biologii, Wydział Przyrodniczy, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, ul. Prusa 12, 08-110 Siedlce, e-mail: kwolska@uph.edu.pl

Wykaz skrótów: **AAC** – acetylotransferaza aminoglikozydowa (aminoglycoside acetyltransferase); **AmpC** – beta-laktamaza klasy C wg Amblera (beta-lactamase class C according to Ambler); **ANT** – nukleotydo-transferaza aminoglikozydowa (aminoglycoside nucleotidyltransferase), **APH** – fosfotransferaza aminoglikozydowa (aminoglycoside phosphotransferase); **CCOS** – szczepy wrażliwe jedynie na kolistynę i karbapenemy (colistin-carapenem-only-sensitive strains); **CF** – mukowiscydoza (cystic fibrosis); **COS** – szczepy wrażliwe jedynie na kolistynę (colistin-only-sensitive strains); **EDTA** – kwas etylenodiaminotetraoctowy (ethylenediamintetraacetic acid); **ESBL** – enzymy o rozszerzonym zakresie substratowym (extended spectrum of beta-lactamases); **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolysaccharide); **MBL** – metalo-beta-laktamaza (metalo-beta-lactamase); **Mex** – system efflux MDR (multidrug efflux systems); **MIC** – minimalne stężenie hamujące (minimal inhibitory concentration); **Opr** – białko porynowe (outer protein); **PBP** – białko wiążące penicylinę (protein binding penicillin); **PDR** – szczepy odporne na wszystkie antybiotyki (pandrug resistant strains).

WPROWADZENIE

Pseudomonas aeruginosa to oksydazododatnie, niefermentujące laktozy, o małych wymaganiach odżywczych Gram-ujemne pałeczki. Wykazują zdolność przeżycia w różnych, niekiedy skrajnych warunkach; pałeczki *P. aeruginosa* wzrastają w środowisku ubogim w składniki odżywcze (woda destylowana) i w szerokim zakresie temperatur (4–44°C). Izolowano je z wód głębinowych kopalni węgla i wody morskiej o znacznym zasoleniu. Identyfikacja fenotypowa tego gatunku jest prosta, ponieważ pałeczki *P. aeruginosa* wytwarzają barwnik fenazydowy zwany picyjaniną o barwie niebieskiej. *P. aeruginosa* jest oportunistycznym patogenem, który rzadko wywołuje zakażenia u osób zdrowych (np. wrzodzące zapalenie rogówki oka, złośliwe zapalenie ucha zewnętrznego – „ucho pływaka”). Zakażenia dotyczą przeważnie pacjentów hospitalizowanych w oddziałach: intensywnej terapii, oparzeniowym i chirurgicznym [32]. Najbardziej narażeni na zakażenie *P. aeruginosa* są pacjenci z mukowiscydozą (CF – cystic fibrosis), neutropenią, immunosupresją lub uszkodzonymi barierami anatomicznymi [28]. Kolonizacja u pacjentów pałeczek *P. aeruginosa* wzrasta wraz z czasem hospitalizacji chorych i może wynosić nawet 81% [49]. Skolonizowani chorzy są ważnym źródłem rozprzestrzeniania się tych bakterii w środowisku szpitalnym. Rezerwuarem pałeczek *P. aeruginosa* w szpitalach są miejsca wilgotne, w których może dojść do zanieczyszczenia sprzętu szpitalnego, dezynfektantów, leków i płynów infuzyjnych [32].

Zakres szpitalnych zakażeń *P. aeruginosa* u człowieka jest rozległy, od powierzchniowych do szybko postępującej sepsy. Pałeczki *P. aeruginosa* są odpowiedzialne za szpitalne zakażenia układu oddechowego (pacjenci intubowani oraz

chorzy z zapaleniem płuc, u których stosuje się sztuczną, długotrwałą wentylację), układu moczowego, głównie u pacjentów z założonym na stałe cewnikiem moczowym, ran (szczególnie chorzy oparzeni), zakażenia pacjentów po zabiegach operacyjnych i z założonymi cewnikami naczyniowymi oraz zakażenia pacjentów z nowotworami [32]. Pałeczki *P. aeruginosa* mają wiele czynników zjadliwości, wśród nich wyróżnia się związane z powierzchnią komórki bakteryjnej: lipopolisacharydy (LPS), fimbrie, rzęski, śluz, lektyny oraz uwalniane na zewnątrz komórki: egzotoksynę A, egzoenzym S, T, U i Y, alkaliczną proteazę, proteazę typu IV, elastazę typu A i B, neuraminidazę, fosfolipazę hemolityczną i niehemolityczną oraz barwnik picyjaninę. Każdy z tych czynników wirulencji wywołuje inne objawy patologiczne w zależności od miejsca anatomicznego, w którym przebiega proces zapalny oraz wpływa, poprzez różnorodne mechanizmy, na supresję układu immunologicznego gospodarza [32,49,79]. Pałeczki *P. aeruginosa* charakteryzuje duża naturalna oporność oraz zdolność nabywania nowych mechanizmów oporności na antybiotyki. Różnorodność mechanizmów oporności u bakterii *P. aeruginosa* czyni je trudnymi do eradykacji ze środowiska szpitalnego. Stąd śmiertelność pacjentów związana z zakażeniami *P. aeruginosa* jest wysoka w porównaniu z zakażeniami o innej etiologii [16].

OPORNOŚĆ *P. AERUGINOSA* NA ANTYBIOTYKI

Oporność pałeczek *P. aeruginosa* na antybiotyki jest uwarunkowana współwystępowaniem kilku niezależnych od siebie mechanizmów, m.in. aktywnego usuwania antybiotyku z komórki, tzw. systemem efflux (efflux pumps

of multi-drug resistance), zmniejszonej przepuszczalności błony zewnętrznej i inaktywacji enzymatycznej antybiotyku. Oprócz oporności naturalnej, u szczepów *P. aeruginosa* łatwo dochodzi do rozwoju oporności nabytej w wyniku mutacji genów kodowanych chromosomalnie oraz przez nabywanie genów oporności na antybiotyki w procesie zwanym horyzontalnym transferem genów [53].

Do czynników przeciwbakteryjnych o znacznej aktywności wobec *P. aeruginosa* zalicza się następujące antybiotyki: karboksypenicyliny, ureidopenicyliny, cefalosporyny, monobaktamy, karbapenemy, aminoglikozydy i fluorochinolony [21].

Piperacylina i tikarcylina (ureidopenicyliny) są często stosowane w terapii zakażeń wywołanych przez te bakterie, chociaż tikarcylina w zakażeniach *P. aeruginosa* jest mniej aktywna niż piperacylina. Mimo że większość cefalosporyn jest nieskutecznych wobec tego patogenu, to jednak ceftazydym (III generacja cefalosporyn) i cefepim (IV generacja cefalosporyn), charakteryzują się potencjalnie dużą aktywnością w stosunku do szczepów klinicznych *P. aeruginosa*. Analiza wrażliwości szczepów *P. aeruginosa* izolowanych w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym im. L. Rydygiera w Krakowie w 2005 roku wykazała największą skuteczność *in vitro* ceftazydymu. Brak aktywności antybiotyku odnotowano tylko u 4,5% szczepów [63]. Oporność *P. aeruginosa* na ceftazydym występuje jedynie w oddziałach szpitalnych, gdzie antybiotyk jest nagminnie stosowany, to jest w oddziałach leczących chorych z CF, chorych hematologicznych, oparzonych oraz w oddziałach intensywnej terapii [21]. Ciągłe jednak odsetki szczepów *P. aeruginosa* opornych na ceftazydym nie są wysokie. W leczeniu zakażeń o etiologii *P. aeruginosa* można stosować aztreonam (monobaktam), który w odróżnieniu od penicylin nie wykazuje reakcji alergicznych. Doskonalszym antybiotykiem w leczeniu zakażeń wywołanych przez wielolekooporne szczepy (MDR – multidrug resistant strains) *P. aeruginosa* wytwarzające beta-laktamazy pozostają karbapenemy. Spośród tej grupy antybiotyków, meropenem wykazuje nieznacznie większą skuteczność niż imipenem. Z fluorochinolonów wymienia się ciprofloksacynę, lewofloksacynę i gatifloksacynę, ale najlepszą aktywność wobec *P. aeruginosa* ma ciprofloksacyna. Antybiotykami aktywnymi wobec *P. aeruginosa* są także aminoglikozydy: gentamycyna, tobramycyna i amikacyna [32]. W związku z tym, że amikacyna jest słabym substratem dla enzymów modyfikujących aminoglikozydy, dlatego wykazuje zwykle lepszą aktywność niż inne leki z tej grupy [85]. Uważa się, że leczenie skojarzone np. cefalosporyny o szerokim zakresie działania i aminoglikozydy (amikacyna), w mniejszym stopniu wpływa na rozwój oporności niż stosowanie jednego antybiotyku. Mimo to liczba szczepów niewrażliwych na te antybiotyki wzrasta [56] do tego stopnia, że wykorzystuje się polimyksyny, leki, których stosowanie jest ograniczone ze względu na działanie nefro- i neurotoksyczne. Z grupy tych antybiotyków w leczeniu zakażeń wywołanych wielolekoopornymi szczepami *P. aeruginosa* stosuje się przede wszystkim kolistynę. Jednak i na ten antybiotyk notuje się rozwój i rozprzestrzenianie się

szczepów opornych [22,58]. Mechanizmem oporności *P. aeruginosa* na polimyksyny jest nadmierne wytwarzanie białka porynowego błony zewnętrznej – OprH, blokującego wychwyty antybiotyku [22].

Chociaż większość szczepów pozostaje wrażliwa na leczenie antybiotykami i antybiotykooporność dotyczy nielicznej grupy szczepów, to niepokoi to, że grupa ta powiększa się. Badania, które były przeprowadzone na prawie 14 tys. szczepów izolowanych od pacjentów oddziału intensywnej terapii w USA, wskazują na wzrost liczby szczepów wielolekoopornych *P. aeruginosa*, z 4 w 1993 r. do 14% w 2002 roku [64]. W latach 2005-2006 w grupie 448 szczepów izolowanych od pacjentów szpitala dziecięcego w Chinach stwierdzono 24,1% szczepów MDR [18]. W piśmiennictwie występuje kilka definicji szczepów MDR *P. aeruginosa*. Karlovsky i wsp. [46] oraz Obritsch i wsp. [64] określają szczepy MDR jako odporne na trzy lub więcej następujących antybiotyków: ceftazydym, ciprofloksacyna, gentamycyna, tobramycyna i imipenem. Według Hausera i Srirama [32] szczepy MDR są odporne na piperacylinę, ceftazydym, imipenem, gentamycynę i ciprofloksacynę. Inni autorzy podają, że są to szczepy niewrażliwe na 5 spośród 7 grup antybiotyków: penicyliny (karboksypenicyliny, ureidopenicyliny), cefalosporyny III generacji, monobaktamy, karbapenemy, fluorochinolony, aminoglikozydy i polimyksyny (kolistyna) [23]. Zdaniem tych autorów szczepy MDR są wrażliwe jedynie na kolistynę i karbapenemy (CCOS – colistin-carbapenem-only-sensitive). Szczepy zdefiniowane jako wrażliwe na kolistynę (COS – colistin-only-sensitive) są odporne na wszystkie antybiotyki z wyjątkiem kolistyny. Natomiast szczepy PDR (pandrug resistant) określane są jako odporne na 7 grup antybiotyków łącznie z kolistyną. Inni autorzy definiują szczepy MDR jako te, które są odporne na trzy lub więcej antybiotyków, np.: amikacyna, cefepim, piperacylina z tazobaktamem, tikarcylina z kwasem klawulanowym oraz tobramycyna, i wskazują 29,5% takich szczepów izolowanych od pacjentów hospitalizowanych w oddziale intensywnej terapii [25].

NATURALNA OPORNÓŚĆ *P. AERUGINOSA* NA ANTYBIOTYKI

Wszystkie szczepy *P. aeruginosa* niezależnie od źródła izolacji mają ten sam fenotyp naturalnej oporności na antybiotyki (penicylina G, aminopenicyliny, cefalosporyny I i II generacji, makrolidy, tetracykliny, chloramfenikol, chinolony, sulfonamidy, trimetoprim). Za to zjawisko odpowiadają trzy mechanizmy oporności [40, 85]:

- zaburzenie barier przepuszczalności (zamknięcie kanałów porynowych, przez które antybiotyk wnika do komórki),
- aktywne usuwanie antybiotyku z komórki (system efflux MDR),
- enzymy rozkładające bądź modyfikujące antybiotyki.

Wykazano, że za niewielką przepuszczalność błony zewnętrznej *P. aeruginosa* odpowiada białko porynowe OprF, przez które mogą wnikać tylko niskocząsteczkowe związki o wielkości 5 tys. Da (1/100 przepuszczalności błony zewnętrznej *Escherichia coli*) [85]. Zdecydowanie większą rolę

w rozwoju naturalnej oporności odgrywa wypompowywanie antybiotyku poza komórkę, czyli tzw. systemy efflux (błonowe białka transportowe). Są one stałym elementem komórki nabytym podczas rozwoju ewolucyjnego bakterii, a nie konsekwencją stosowania antybiotyków. Obecne we wszystkich drobnoustrojach, a ich liczba w komórce jest wprost proporcjonalna do wielkości genomu. Transportery pałeczek *P. aeruginosa* należą do rodziny RND (resistance-nodulation-division) i grupy Mex (broadly-specific multidrug efflux systems). Jako źródło energii do aktywnego eksportu leków z komórki wykorzystują siłę protonomotoryczną. „Pompy” wielolekowe są kodowane przez geny chromosomalne. Każdy system aktywnie usuwa antybiotyki z komórki bakteryjnej należące do różnych grup chemicznych. Najlepiej poznanymi są: MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY-OprM, MexGMI-OpD i MexVW. Zwłaszcza trzy pierwsze odgrywają istotną rolę w oporności *P. aeruginosa* na antybiotyki [1,40,53,90].

Szczepy *P. aeruginosa* zawierają chromosomalny gen kodujący beta-laktamazę typu AmpC, należącą do strukturalnej klasy C wg Amblera i funkcjonalnej grupy 1 wg Bush. Enzym występuje u pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz pałeczek niefermentujących i wykazuje aktywność wobec cefalosporyn III generacji. Ekspresja beta-laktamazy jest indukowana przez niektóre beta-laktamy, głównie cefoksytynę i imipenem. Aktywność cefalosporynazy AmpC nie jest hamowana przez inhibitory beta-laktamaz (kwas klawulanowy, sulbaktam, tazobaktam) [53,85].

NABYTA OPORNOŚĆ *P. AERUGINOSA* NA ANTYBIOTYKI

Nabyta oporność może być wynikiem mutacji lub nabywania genów oporności [53]. Mutacje genów odgrywają decydującą rolę w środowisku, w którym nie dochodzi do kontaktu komórek bakteryjnych, natomiast horyzontalny transfer genów między szczepami tego samego gatunku bakterii, różnymi gatunkami, a także rodzajami czy rodzinami zachodzi w ekosystemach bogatych w drobnoustroje [66].

Oporność na beta-laktamy

Antybiotyki beta-laktamowe stanowią najliczniejszą i najczęściej stosowaną w terapii grupę antybiotyków. Docelowym miejscem wiązania beta-laktamów są białka wiążące penicylinę (PBP – protein binding penicillin). Mutacje w PBP prowadzą do utraty powinowactwa antybiotyku do miejsca działania [21]. Chociaż zmiany w białkach wiążących penicylinę, głównie PBP-1 i PBP-3 są związane z opornością na beta-laktamy u *P. aeruginosa*, to liczba doniesień, których autorzy opisują ten typ mutantów wśród klinicznych szczepów, jest niewielka [52]. Świadczy to o tym, że zmiany w PBP odgrywają drugorzędą rolę w rozwoju oporności *P. aeruginosa* na te leki.

Pałeczki *P. aeruginosa* zawierają chromosomalną cefalosporynazę typu AmpC, która jest wytwarzana jedynie w obecności antybiotyku (indukcja). Niebezpieczna sytuacja pojawia się, gdy dochodzi do derepresji kodującego

go genu, polegającej na ciągłym wytwarzaniu beta-laktamazy na wysokim poziomie (bez konieczności indukcji przez antybiotyk). Mutanty nadmiernie wytwarzające ten enzym wykazują oporność na cefalosporyny I, II i III generacji, wszystkie penicyliny, w tym z inhibitorami oraz na aztreonam. Derepresja tej beta-laktamazy spowodowała znamienny wzrost zakażeń wywołanych przez *P. aeruginosa*. Całkowita derepresja genu *ampC* u *P. aeruginosa* występuje znacznie rzadziej niż wśród pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* [62]. Często natomiast stwierdza się derepresję częściową wywołaną przez kompleksową regulację ekspresji genu *ampC* [30]. Liczne czynniki transkrypcyjne, w skład których wchodzi *ampR*, *ampDE*, *ampG* oraz trzy różne geny *ampD* pośredniczą w tej regulacji. Uważa się, że wysoki poziom ekspresji *ampC* jest wynikiem 3-stopniowego mechanizmu obejmującego mutacje w trzech genach kodujących beta-laktamazę. Ekspresja *ampC* jest skoordynowana z represją trzech homologów *ampD* (*ampD*, *ampDh2*, *ampDh3*). Pierwszy etap obejmuje ekspresję indukowaną, która występuje powszechnie u dzikich szczepów *P. aeruginosa* i odpowiada za naturalną oporność. Drugi etap to ekspresja hiperindukowana charakteryzująca się opornością *P. aeruginosa* na beta-laktamy (pojedyncze mutanty *ampD*); kolejny wysoki poziom ekspresji hiperindukcyjnej o znacznej oporności na beta-laktamy, charakterystyczny dla szczepów klinicznych (podwójne mutanty *ampDampDh2*) i ostatni bardzo wysoki poziom, ponad tysiąc razy większy w porównaniu do dzikiego szczepu, ekspresji derepresyjnej (potrójne mutanty *ampDampDh2ampDh3*) [45]. Nadmierne wytwarzanie AmpC jest najczęstszym mechanizmem prowadzącym do oporności *P. aeruginosa* na penicyliny (piperacylina, tikarcylicyna) i cefalosporyny (ceftazydim, cefepim) [5,44]. Jest to także ważny mechanizm (73% szczepów MDR) odpowiedzialny za zmniejszenie wrażliwości klinicznych szczepów *P. aeruginosa* na meropenem (MIC 4 µg/ml) [34]. Istotną przyczyną nadekspresji AmpC u szczepów klinicznych tego gatunku jest inaktywacja *ampD* albo przez mutacje, albo przez insercję dodatkowej sekwencji DNA [5, 43].

Mutanty szczepów *P. aeruginosa* wykazujące wzrost ekspresji AmpC, bardzo często jednocześnie charakteryzują się nadmiernym wytwarzaniem białek transportowych [92]. U szczepów klinicznych *P. aeruginosa* opisano liczne systemy MDR usuwające beta-laktamy i biorące udział w oporności nabytej na te antybiotyki [1,53]. Stwierdzono, np. nadmierne wytwarzanie systemu MexAB-OprM i MexXY [35]. Livermoore [53] wymienia dodatkowo system MexCD-OprJ istotny w nabywaniu oporności na antybiotyki beta-laktamowe. Wśród 11 i 36% szczepów *P. aeruginosa* izolowanych z krwi wykazano nadekspresję odpowiednio systemu efflux MexAB-OprM i MexXY-OprM. Były one odpowiedzialne za oporność na tikarcylinę u szczepów *P. aeruginosa* izolowanych z 13 szpitali we Francji [12]. Stała nadekspresja cefalosporynazy C i systemu MexXY-OprM u szczepów *P. aeruginosa* wywołujących bakteriemie, wpłynęła na oporność szczepów nie tylko na liczne beta-laktamy, m.in. cefalosporyny III generacji oraz cefepim, ale również na fluorochinolony i aminoglikozydy [35].

Oprócz nadmiernego wytwarzania systemu efflux MDR i enzymu AmpC, zmniejszenie przepuszczalności błony zewnętrznej jest ważnym mechanizmem oporności *P. aeruginosa* na karbapenemy [77]. Oporność na imipenem jest często związana z mutacjami, które inaktywują gen *oprD* lub zmniejszają jego ekspresję. Stwierdzono, że utrata białka porynowego OprD, biorącego udział w transporcie antybiotyku do komórki, jest podstawowym mechanizmem oporności *P. aeruginosa* na karbapenemy. Dotyczy to oporności szczepów na imipenem (MIC 8–32 µg/ml) oraz zmniejszonej ich wrażliwości na meropenem (MIC 2–4 µg/ml) [65,85]. Dong i wsp. [18] stwierdzili, że brak genu *oprD2* był podstawą oporności szczepów *P. aeruginosa* izolowanych od chorych dzieci na karbapenemy. Do podobnych wniosków doszli Henrichfreise i wsp. [34], którzy zauważyli, że 82% szczepów opornych na imipenem nie wykazywało białka OprD. Stwierdzono związek między zmniejszoną regulacją genu *oprD* i nadekspresją genu *mexEF-OprN* a opornością szczepów na imipenem [95]. Podobnie rozwój oporności na meropenem *P. aeruginosa* wymaga dwóch mutacji: nadekspresji systemu wypływu i eliminacji białka OprD [53].

Poza opisanymi czynnikami mającymi wpływ na rozwój naturalnej i nabytej oporności szczepów *P. aeruginosa* na beta-laktamy, istotne znaczenie ma również horyzontalny transfer genów kodujących beta-laktamazy [53,85].

Liczne beta-laktamazy są penicylinazami, ale bez aktywności wobec oksyiminocefalosporyn i karbapenemów. Są to beta-laktamazy typu PSE (*Pseudomonas*-specyficzne enzymy) [(PSE-1 (CARB-2), PSE-4 (CARB-1)], najwcześniej odkryte enzymy u *P. aeruginosa*. Należą do strukturalnej klasy A i funkcjonalnej grupy 2c [8]. Profil substratowy enzymów obejmuje: karboksypenicyliny, ureidopenicyliny i cefsulodynę. Są wrażliwe na inhibitory beta-laktamaz (kwas klawulanowy, tazobaktam, sulbaktam) [85]. PSE-1 jest powszechnie występującą beta-laktamazą kodowaną plazmidowo wśród klinicznych szczepów *P. aeruginosa* opornych na beta-laktamy. Ponad 58% szczepów klinicznych izolowanych z francuskich szpitali miało gen *bla_{PSE-1}* [6]. Enzym hydrolizuje karbenicylinę i chociaż przypuszczano, że jest swoisty dla *P. aeruginosa*, okazało się, że jest także rozpowszechniony wśród innych gatunków bakterii [33].

Mutacje punktowe w genach kodujących klasyczne enzymy, doprowadziły do powstania enzymów o rozszerzonym profilu substratowym (ESBL – extended spectrum of beta-lactamases). Są one wytwarzane głównie przez szczepy szpitalne i częstość izolacji tych drobnoustrojów związana jest z nadmiernym stosowaniem antybiotyków. Problem ten dotyczy w większym stopniu szpitali specjalistycznych, wykonujących skomplikowane zabiegi terapeutyczne i badania diagnostyczne [21]. Enzymy ESBL należą do strukturalnej klasy A i funkcjonalnej grupy 2b [8]. Ich obecność warunkuje oporność *P. aeruginosa* nie tylko na karboksypenicyliny i ureidopenicyliny, ale także na cefalosporyny o szerokim zakresie działania (ceftazydym, cefepim, cefpirom) i aztreonam. Wykazują niewiel-

kie powinowactwo do karbapenemów. Ich aktywność jest hamowana przez kwas klawulanowy i tazobaktam [85].

Pierwsze enzymy ESBL zidentyfikowano i opisano w latach 90 XX w. Oprócz beta-laktamaz typu TEM i SHV, dobrze poznanych u rodziny *Enterobacteriaceae*, u *P. aeruginosa* występują również enzymy typu PER, VEB, GES/IBC i BEL [53,85]. Wykazują małe podobieństwo genetyczne, natomiast łączy je podobny profil substratowy. Wymienia się różne warianty enzymów typu TEM i SHV. Najważniejsze z nich to beta-laktamazy TEM-21, TEM-24 i SHV-2a. Są one aktywne wobec penicylin, cefalosporyn III i IV generacji oraz monobaktamów. Jest prawdopodobne, że geny *bla_{TEM}* i *bla_{SHV}* występujące u *P. aeruginosa* zostały przeniesione w wyniku transferu horyzontalnego od różnych gatunków enterobakterii [59,61].

Pierwszym zidentyfikowanym i dokładnie scharakteryzowanym ESBL u *P. aeruginosa* był enzym typu PER-1. Jest on częściowo hamowany przez inhibitory beta-laktamaz i imipenem. Enzym jest odpowiedzialny za wysoki poziom oporności *P. aeruginosa* na ceftazydym. Wykazuje natomiast małą efektywność wobec piperacyliny oraz brak aktywności wobec karbapenemów [53]. Szczep kliniczny *P. aeruginosa* wytwarzający enzymy typu PER-1 często izoluje się w Turcji, Włoszech, Belgii i Polsce [85]. W latach 1998–1999 zanotowano w OIT szpitala we Włoszech epidemię wywołaną przez szczepy *P. aeruginosa* odporne na piperacylinę, aztreonam, ceftazydym i cefepim, u których stwierdzono gen *bla_{PER-1}* [55].

Po raz pierwszy wyizolowano szczep *P. aeruginosa* wytwarzający enzym typu VEB we Francji w 1998 r. Cztery lata później w Tajlandii stwierdzono u 93% szczepów *P. aeruginosa* izolowanych od chorych hospitalizowanych i opornych na ceftazydym, gen *bla_{VEB-2}* [29, 85]. Enzymy typu VEB mają taki sam zakres substratowy, jak PER-1.

Beta-laktamaza typu GES (Guiana extended spectrum) po raz pierwszy została wykryta u szczepu klinicznego *P. aeruginosa* we francuskiej Gujanie [20]. Warianty tego enzymu (GES-1 i GES-2) stwierdzono także we Francji, Brazylii oraz Afryce Pd. GES-1 ma niski poziom aktywności katalitycznej wobec większości substratów i łatwo ulega zahamowaniu w obecności kwasu klawulanowego i imipenemu. W odróżnieniu od innych ESBL wykazuje duże powinowactwo do cefalosporyn II generacji. Enzym typu GES-2 (pochodna GES-1) ma natomiast swoistość karbapenemazy. Jest 100 razy bardziej efektywny niż GES-1 w hydrolizie imipenemu. Mimo to, jest to znacznie mniejsza aktywność niż metalo-enzymów klasy B [11,75]. Nowe pochodne GES-1 (GES-5 i GES-9) wykazują większą aktywność wobec penicylin i cefalosporyn o szerokim zakresie działania oraz aztreonamu. Ich aktywność enzymatyczna jest hamowana przez kwas klawulanowy, tazobaktam i imipenem. Gen *bla_{GES-5}* jest umiejscowiony w integracie klasy 1, który ma dodatkowo gen *aacA4* kodujący oporność na aminoglikozydy. Gen *bla_{GES-9}* jest również w integracie klasy 1, który ma dwie kopie sekwencji insercyjnej z rodziny IS1111. IBC-2 (obecnie GES-8) to inny wariant

enzymu GES-1. Wytwarzanie tej beta-laktamazy skutkuje opornością na ceftazydym i inne oksyiminocefalosporyny. Enzym jest wrażliwy na działanie kwasu klawulanowego, tazobaktamu i imipenemu [71].

Kolejny ESBL klasy A został opisany w Belgii i nazwany BEL-1. Enzym hydrolizuje szerokie spektrum cefalosporyn i aztreonam, jego aktywność jest hamowana przez kwas klawulanowy, tazobaktam, cefoksytynę, moksalaktam i imipenem. Kodujący enzym gen *bla*_{BEL-1} jest częścią integronu klasy 1, In 120, zlokalizowanego w transpozonie chromosomu, który zawiera trzy inne kasy genowe [72].

Nowe odkryte enzymy należące do klasy strukturalnej A – typu KPC, wykazują w odróżnieniu od pozostałych ESBL dużą aktywność wobec karbapenemów. Występują u licznych gatunków z rodziny *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella enterica*, *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Serratia marcescens*) [27,74]. Enzymy te są kodowane przez gen plazmidowy. W 2007 roku w Kolumbii zostały po raz pierwszy stwierdzone u trzech szczepów *P. aeruginosa* wyizolowanych od pacjentów z zapaleniem płuc. Szczepy wykazywały duży stopień oporności na imipenem i meropenem (MIC \geq 256 μ g/ml) oraz nie wytwarzały metalo-beta-laktamaz z rodziny IMP i VIM. Były wrażliwe tylko na amikacynę i kolistynę [89].

Enzymy oksacylinazy (OXA) należą do klasy strukturalnej D i grupy funkcjonalnej 2d [8]. Klasyczne enzymy OXA (OXA-1, OXA-2, OXA-10) zwykle nadają oporność na amoksylicynę i cefalotynę oraz mają wysoki poziom aktywności hydrolitycznej wobec kloksacyliny, oksacyliny i metycyliny. Hydrolizują również, ale w mniejszym stopniu, karboksypenicyliny i ureidopenicyliny. Oksacylinazy o szerokim działaniu (zwłaszcza pochodne OXA-10) hydrolizują ceftazydym, ale również cefotaksym, cefepim, aztreonam i moksalaktam. Z wyjątkiem OXA-18, aktywność tych enzymów nie jest hamowana przez inhibitory beta-laktamaz i w związku z tym nie dają się zidentyfikować metodami fenotypowymi stosowanymi w laboratoriach. Większość oksacylinaz o szerokim zakresie działania jest kodowana przez geny umiejscowione w plazmidach lub w integronie. Cecha ta powoduje, że łatwo dochodzi do rozprzestrzeniania się tych enzymów [15,94].

Inna ważna grupa beta-laktamaz występująca wśród klinicznych szczepów *P. aeruginosa* to karbapenemazy zwane inaczej metalo-beta-laktamazami (MBL – metalo-beta-laktamases) (w centrum aktywnym jest Zn²⁺). Według Amblera należą do klasy strukturalnej B [8]. Warunkują one oporność bakterii na wszystkie beta-laktamy w tym karbapenemy [62]. Tylko monobaktam aztreonam nie jest hydrolizowany przez MBL. Cechą charakterystyczną metalo-enzymów, która odróżnia je od beta-laktamaz serynowych (penicylinaz i oksacylinaz) jest ich podatność na inhibitory EDTA. Nie ulegają one natomiast inaktywacji pod wpływem inhibitorów beta-laktamaz, tj. kwasu klawulanowego, tazobaktamu czy sulbaktamu [48]. Dotąd opisano u *P. aeruginosa* pięć nabytych grup strukturalno-ewolucyjnych enzymów MBL, tj. IMP, VIM, SPM, GIM oraz SIM [85].

Nie tak dawno zidentyfikowano w Indiach wśród pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* wyizolowanych od chorych hospitalizowanych, enzymy NDM1 kodowane plazmidowo. Obecnie wykrywa się je w wielu innych krajach (Pakistan, Bangladesz, Singapur, USA, Kanada, kraje bałkańskie), również wśród szczepów *P. aeruginosa* [43].

Najliczniejszą grupę metalo-beta-laktamaz stanowią enzymy z rodziny IMP i VIM. Są kraje, gdzie enzymy te są wykrywane nawet u 20% klinicznych szczepów *P. aeruginosa*, ale są również takie, gdzie rzadko dochodzi do ich identyfikacji [26]. Od kiedy wiadomo, że wykazują fenotyp „pan-resistant”, rozprzestrzenianie ich stało się bardzo niebezpieczne [57]. Największe obawy związane z łatwością nabywania przez bakterie oporności na karbapenemy budzi pojawienie się szczepów szpitalnych mających geny oporności na ruchomych fragmentach DNA (plazmidach, integronach i transpozonach). Pierwszy ruchomy gen plazmidowy kodujący MBL został opisany w Japonii w 1988 roku i nadawał oporność *P. aeruginosa* na imipenem oraz liczne cefalosporyny [91]. Od tego czasu wykryto u pałeczek *P. aeruginosa* liczne warianty beta-laktamazy z rodziny IMP, głównie w Azji oraz kilku rejonach Ameryki i Europy [18,47,67,80,86]. Enzym hydrolizuje penicyliny, cefalosporyny i imipenem. Producenci IMP-1 wykazują oporność na penicyliny, cefalosporyny i inhibitory beta-laktamaz i zróżnicowany poziom oporności na imipenem (MIC od 4 do > 128 μ g/ml) [4]. Geny kodujące IMP-1 znajdują się głównie w klasie 1 i 3 integronów i na plazmidach oraz transpozonach, które niosą geny oporności również na inne klasy antybiotyków [47,86].

Kolejną rodziną MBL są metalokarbapenemazy VIM. Pierwszy enzym tej rodziny, VIM-1, został opisany w Weronie w 1997 r., stąd pochodzi skrót nazwy enzymu (veronese imipenemase) [50]. Jest on kodowany przez geny kasetowe zlokalizowane w klasie 1 integronów, która zawiera dodatkowo geny kodujące enzymy modyfikujące aminoglikozydy (*aacA4*) [73]. Szczepy, które mają gen *bla*_{VIM-1}, charakteryzują się wysokim poziomem oporności na karbapenemy (MIC>128 μ g/ml) [92]. Opisano różne enzymy z rodziny VIM, które są rozpowszechnione wśród szczepów MDR *P. aeruginosa* [24,68,70].

Oporność na aminoglikozydy

Aminoglikozydy są antybiotykami stosowanymi w leczeniu zakażeń *P. aeruginosa*, przede wszystkim zapalenia płuc u pacjentów z CF. Leki te są bakteriobójcze i wykazują synergizm z innymi antybiotykami [76].

Oporność na antybiotyki aminoglikozydowe u pałeczek *P. aeruginosa* polega przede wszystkim na enzymatycznej modyfikacji leku oraz na działaniu transporterów błonowych MDR aktywnie usuwających antybiotyków z komórki [76]. Stwierdzono, że u szczepów klinicznych opornych na aminoglikozydy może występować, chociaż rzadko, gen *rmtA* odpowiedzialny za kodowanie metylotransferazy jednostki 16S rRNA. Jest to szczególnie niepokojące, ze względu na umiejscowienie genu na ruchomych fragmen-

tach DNA. Wytwarzanie metylazy skutkuje opornością *P. aeruginosa* na wszystkie aminoglikozydy podawane pozajelitowo (amikacyna, tobramycyna, isepamicyna, kanamycyna, arbekacyna, gentamycyna) (MIC>1024µg/ml) [93]. Pochodną tej metylazy jest enzym RmtD, zidentyfikowany u szczepu *P. aeruginosa* „pan-resistant” wyizolowanego od pacjenta z Brazylii w 2005 r. Enzym nadaje oporność na aminoglikozydy z grupy deoksystreptaminy (amikacyna, tobramycyna, gentamycyna) [17].

Inaktywacja aminoglikozydów polega na ich modyfikacji przez enzymy, które fosforylują [fosfotransferaza aminoglikozydowa (APH)], adenylują [nukleotydotransferaza aminoglikozydowa (ANT)] oraz acetylują [acetylotransferaza aminoglikozydowa (AAC)] antybiotyki. Enzymy modyfikujące aminoglikozydy są kodowane plazmidowo oraz występują na innych ruchomych elementach DNA, które niosą dodatkowe determinanty oporności [76].

Fosforylacja aminoglikozydów wywołana jest działaniem APH (3') na grupę 3'-OH antybiotyku. Enzymy APH (3')-I oraz APH (3')-II nadają oporność szczepom *P. aeruginosa* na kanamycynę, APH (2'') - na gentamycynę i tobramycynę, a APH (3')-VI inaktywuje amikacynę i izepamicynę [87].

Adenylacja aminoglikozydów jest także opisywana wśród opornych szczepów *P. aeruginosa*. Powszechnie występującą nukleotydotransferazą jest ANT (2'')-I [83]. Enzym modyfikuje gentamycynę, tobramycynę, dibekacynę i kanamycynę.

Inny sposób inaktywacji aminoglikozydów to ich acetylacja. Enzymy AAC (3) i (AAC (6')) modyfikujące grupę odpowiednio 3 i 6' aminową (-NH₂) razem z ANT (2''), reprezentują najczęstsze determinanty enzymatyczne odpowiedzialne za oporność *P. aeruginosa* na aminoglikozydy [76]. AAC (3)-I działa głównie na streptomycynę i gentamycynę [78], natomiast AAC (6')-II nadaje oporność na tobramycynę, gentamycynę i netylmocynę [82]. Geny *aac(3)* i *aac(6')* są związane z transpozonami i/lub integronami zawierającymi dodatkowo geny dla ESBL lub MBL oraz geny kodujące inne enzymy modyfikujące antybiotyki aminoglikozydowe [20, 81].

Wśród 23% szczepów klinicznych *P. aeruginosa* charakteryzujących się nabytą opornością na aminoglikozydy stwierdzono u 36,5% wytwarzanie AAC (6')-I, u 21,1% - ANT (2'')-I, u 7,7% - AAC (3)-II, u 5,8% - AAC (3)-I i u 1,9% szczepów - enzymów: AAC(6')-II oraz AAC (7) [19]. Prawie 47% szczepów klinicznych *P. aeruginosa* serotypu O12 wytwarzało AAC (6')-II; pozostałe szczepy serotypu O12 wytwarzały AAC (6')-II z współwystępowaniem barier przepuszczalności lub AAC (6')-II i APH (3')-II lub oba enzymy jednocześnie z barierami przepuszczalności. Z kolei szczepy *P. aeruginosa* o serotypie O11 charakteryzowały się obecnością ANT (2'') lub ANT (2'') i APH (3')-II bądź obu tych enzymów jednocześnie z barierami przepuszczalności [69]. W Japonii zidentyfikowano szczep MDR *P. aeruginosa*, który charakteryzował się nową klasą 1 integronu, In 113, obecną na chromosomie. Zawierał geny kasetowe

bla_{IMP} oraz nowy gen oporności na aminoglikozydy *aac(6')-I-ae* wykazujący aktywność 6'-N-AAC; enzym ten odpowiadał za oporność szczepów na amikacynę, dibekacynę, isepamicynę, kanamycynę, netylmocynę, sisomocynę i tobramycynę [81].

Oprócz inaktywacji enzymatycznej, oporność na aminoglikozydy jest wynikiem działania systemu wpływu MDR. Stwierdzono, że system MDR typu MexXY-OprM może aktywnie usuwać aminoglikozydy. Nawet minimalne stężenia aminoglikozydów w środowisku, indukują ekspresję genu *mexXY*, odpowiedzialnego za przejściowy i odwracalny fenotyp oporności na aminoglikozydy [35,76]. Sugeruje się, że u większości szczepów opornych na aminoglikozydy dochodzi do stałej nadekspresji systemu MexXY [34,41]. Zmiany w systemie efflux MexXY-OprM stanowią istotny mechanizm oporności na aminoglikozydy wśród szczepów *P. aeruginosa* izolowanych od chorych z CF [37].

Oporność na fluorochinolony

Fluorochinolony wnikają do komórki w wyniku biernej dyfuzji przez kanały porynowe (OmpF) i prowadzą do uszkodzenia struktury lipopolisacharydu na skutek działania chelatującego jony magnezu, które warunkują integralność LPS. Szczepy *P. aeruginosa* odporne na fluorochinolony są izolowane najczęściej od pacjentów leczonych z powodu zakażeń układu moczowego, zakażeń dróg oddechowych (CF) oraz zapaleń kości. Znacznie więcej szczepów opornych na fluorochinolony stwierdza się w lecznictwie otwartym niż w szpitalu, ze względu na ich powszechne zastosowanie w ambulatoryjnym leczeniu zakażeń układu moczowego [21].

Mimo że występują plazmidy niosące geny oporności na fluorochinolony, to mutacje w genach chromosomalnych są główną przyczyną oporności *P. aeruginosa* na te syntetyczne związki [3]. Mutacje w genie *gyrA*, prowadzące do zmiany jednego aminokwasu w podjednostce A enzymu gyrazy DNA (GyrA), odgrywają szczególnie istotną rolę w oporności szczepów klinicznych [2]. Ponad 90% szczepów MDR *P. aeruginosa* wykazywało modyfikację w GyrA [34]. Dodatkowe mutacje w genie *gyrB* (podjednostka B gyrazy) lub *parC* (topoizomeraza IV) podwyższają oporność na fluorochinolony [2,51].

Mutacje w genach *gyrA*, *parC* oraz *mexR* były podstawowym mechanizmem nabywania oporności na fluorochinolony przez szczepy *P. aeruginosa* izolowane z wymazu z rany i z moczu [51]. Na modelowym przykładzie zapalenia płuc u szczura wywołanym przez *P. aeruginosa*, wykazano, że nadużywanie ciprofloksacyny sprzyja nadekspresji systemu typu MexEF-OprN, a trovafloksacyny - MexCD-OprJ [42]. Nadmierne wytwarzanie tych dwóch systemów było charakterystyczne dla szczepów *P. aeruginosa* odpowiedzialnych za zapalenie płuc u pacjentów z CF [39]. Systemy: MexAB-OprM i MexXY-OprM miały również swój udział w oporności klinicznych szczepów *P. aeruginosa* na fluorochinolony [76]. Nadekspresja czterech

wymienionych systemów efflux wraz z modyfikacją genu *gyrA* wpłynęła na brak wrażliwości szczepów *P. aeruginosa* izolowanych od pacjentów z CF oraz z innymi schorzeniami płuc [34].

GENETYCZNE PODSTAWY OPORNOŚCI NA ANTYBIOTYKI

Oporność na antybiotyki u bakterii może być konsekwencją mutacji genów chromosomalnych (lub genów regulatorów), albo nabywania genów oporności od innego drobnoustroju w procesie horyzontalnego transferu genów. Oporność nabyta w wyniku mutacji dotyczy bakterii, które wzrastają w miejscu zakażenia bez kontaktu z innymi drobnoustrojami, potencjalnymi dawcami genów oporności. Hipermutacje są wynikiem licznych mutacji, które prawdopodobnie są korzystne dla szybkiej adaptacji bakterii do heterogennego i zmieniającego się środowiska, np. płuca u przewlekle chorych z CF [66]. Jeden klon bakterii może powodować zakażenie płuc i kolonizować je przez lata [60]. Podczas zakażenia klon rozwija się i nabywa całkowitą oporność na antybiotyki [9]. Różne i liczne mutacje są niezbędne do rozwoju fenotypu MDR. Szczep w celu nabycia oporności na jedną grupę antybiotyków nierzadko podlega licznym mutacjom, np. oporność na fluorochinolony jest uwarunkowana trzema mutacjami w docelowych genach. Istnieje zatem korelacja między hipermutacją a MDR patogennych bakterii, w tym *P. aeruginosa* [14].

Stwierdzono, że 36% pacjentów z CF jest kolonizowanych przez hiperzmutowane szczepy *P. aeruginosa*, które występowały przez wiele lat w ich płucach [66]. Henrichfreise i wsp. wykazali 50% hiperzmutowanych szczepów *P. aeruginosa* wyizolowanych od chorych z CF [34]. Ci sami autorzy zauważyli 30% hiperzmutowanych szczepów *P. aeruginosa* izolowanych od pacjentów z innymi niż CF przewlekłymi chorobami płuc. Podobne zależności u pacjentów z rozstrzeniemiem oskrzelowym i przewlekłym zapaleniem płuc odnotowali inni badacze [56]. Cao i wsp. stwierdzili wśród 120 badanych szczepów *P. aeruginosa*, 37,5% szczepów hiperzmutowanych, które wytwarzały beta-laktamazy typu ESBL, AmpC i MBL [10]. Zmutowane szczepy izolowane od pacjentów z ostrymi zakażeniami należą do rzadkości [31]. Wydaje się, że hipermutacja jest związana z rozwojem oporności na antybiotyki u chorych z przewlekłymi zakażeniami. Mutacje bowiem wymagają długiej obecności bakterii w organizmie człowieka [56].

Pałeczki *P. aeruginosa* są wolno żyjącymi bakteriami zdolnymi do wzrostu w wielu różnych ekosystemach. Z wyjątkiem beta-laktamazy chromosomalnej AmpC, obecnej u wszystkich szczepów *P. aeruginosa* oraz enzymu modyfikującego aminoglikozydy chromosomalnie kodowanego u szczepów PAO1 i PA14, pozostałe enzymy inaktywujące antybiotyki pałeczki *P. aeruginosa* nabywają od innych bakterii w procesie horyzontalnego transferu genów. Ten mechanizm jest szczególnie niebezpieczny, powoduje bowiem szybkie rozprzestrzenianie się genów oporności umiejscowionych na plazmidach bądź w innych elementach ruchomych, takich jak transpozony i integrony, które

mogą być przekazywane nie tylko w obrębie jednego gatunku drobnoustroju, lecz także międzygatunkowo. Plazmidy zawierające geny oporności na antybiotyki są dobrze poznane u *P. aeruginosa* [38]. Enzymy modyfikujące aminoglikozydy są często związane z transpozonomi i/lub integronami. Te pozachromosomalne nośniki genów zawierają dodatkowo inne determinanty oporności, np. geny kodujące ESBL i MBL [73]. Integrony charakteryzują się dużą zdolnością włączania i usuwania sekwencji kodujących w obrębie tzw. ruchomej kasety [84]. Stwarza to możliwość przenoszenia całych, dużych fragmentów DNA, które zawierają kasety z genami oporności na różne klasy antybiotyków. Integrony mogą być umiejscowione zarówno na plazmidach, jak i w chromosomie. Jednocześnie obecność różnorodnych determinantów oporności w integronach wpływa na rozwój oporności *P. aeruginosa* na liczne antybiotyki, w tym na aminoglikozydy i beta-laktamy [85]. Stwierdzono, że integrony klasy 1 są rozpowszechnione zwłaszcza wśród klinicznych szczepów *P. aeruginosa*. Chen i wsp. zidentyfikowali u 38% szczepów klinicznych pochodzących z Chin klasę 1 integronów, która zawierała pięć genów kasetowych: *aadB*, *aac6-II*, *bla*_{PSE-1'}, *dfrA17* i *aadA5* [14].

Kombinacja różnych mutacji, a także nabywanie genów oporności jest podstawą rozwoju licznych fenotypów MDR u *P. aeruginosa*. Stwierdzono, że szczepy MDR mogą wykazywać obecność transpozonu zawierającego gen kodujący PER-1 oraz chromosomalnej klasy 1 integronu zawierającego dwie kasety genów kodujących ANT (2') i ANT (3'). Mutacje w *parC* i *gyrA* oraz dodatkowo nadmierne wytwarzanie systemu efflux MDR – MexXY, wyjaśniają oporność na fluorochinolony. Ponadto stała nadekspresja MexXY przyczynia się także do oporności na amikacynę [2,53,69]. Wszystko to wskazuje, że oporność *P. aeruginosa* na wiele antybiotyków jest osiągnięta stopniowo, kolejno przez nabywanie różnych genów oporności (transfer genów, głównie w środowisku nieklinicznym) oraz liczne mutacje (podczas przewlekłych zakażeń).

PODSUMOWANIE

P. aeruginosa jest groźnym patogenem bakteryjnym ze względu na niewielkie wymagania odżywcze, dużą zdolność przystosowania się do środowiska, tworzenie różnych czynników zjadliwości i dysponowanie różnymi mechanizmami chorobotwórczości. Bakterie te są ważną i częstą przyczyną zakażeń szpitalnych, szczególnie u pacjentów z grup wysokiego ryzyka. Jedną z podstawowych przyczyn związaną z leczeniem zakażeń wywołanych przez *P. aeruginosa* jest oporność na szeroki zakres antybiotyków. Do antybiotyków, które stosuje się w zwalczaniu tych zakażeń zaliczane są przede wszystkim antybiotyki beta-laktamowe, aminoglikozydy i fluorochinolony. Jednak łatwość z jaką te bakterie nabywają w szpitalach oporność na używane przez długi czas i w dużych ilościach antybiotyki, powoduje poważne problemy epidemiologiczne w szerzeniu się zakażeń oraz problemy terapeutyczne. Dlatego tak ważne jest poznanie mechanizmów powstawania u tych bakterii oporności na antybiotyki.

Tabela 1. Podstawowe mechanizmy oporności na antybiotyki u szczepów klinicznych *P. aeruginosa*

Mechanizmy oporności																
Bariery przepuszczalności						Enzymy inaktywujące antybiotyki						Zmiany w miejscu działania				
System efflux						Beta-laktamazy						Enzymy modyfikujące aminoglikozydy	Mutacje w topoizomerazach	Metylacja rybosomalna		
Antybiotyki	Brak OprD	MexAB	MexCD	MexEF	MexXY	Nadekspresja AmpC	Penicyliny o wąskim zakresie	Oksacyliny o szerokim zakresie	ESBL	MBL	AAC (3)-I	AAC (6')-I	ANT (2'')-I	GEN NET TOB AMK	TOB	
Beta-laktamy																
Penicyliny		+	(+)		(+)	+	+	+	+							
Cefalosporyny		+			+	+	(+)	(+)	+	+						
Aztreonam		+	+			+		+	+							
Imipenem	+				(+)					(+)						
Meropenem	(+)	+								(+)						
Aminoglikozydy						+					GEN					+
Fluorochinolony		+	+	+	+											+

AMK – amikacyna; GEN – gentamycyna; TOB – tobramycyna.

PIŚMIENICTWO

- [1] Aires J.R., Kohler T., Nikaido H., Plesiat P.: Involvement of an active efflux system in the natural resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999; 43: 2624-2628
- [2] Akasaka T., Tanaka M., Yamagushi A., Sato K.: Type II topoisomerase mutations in fluoroquinolone-resistant clinical strains *Pseudomonas aeruginosa* isolated in 1998 and 1999: role of target enzyme in mechanism of fluoroquinolone resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001; 45: 2263-2268
- [3] Algun U., Arisoy A., Gunduz T., Ozbakkaloglu B.: The resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains to fluoroquinolone group of antibiotics. *Ind. J. Med. Microbiol.*, 2004; 22: 112-114
- [4] Arakawa Y., Shibata N., Shibayama K., Kurosawa H., Yagi T., Fujiwara H., Goto M.: Convenient test for screening metallo-β-lactamase-producing Gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J. Clin. Microbiol.*, 2000; 38: 40-43
- [5] Bagge N., Ciofu O., Hentzer M., Campbell J.I., Givskov M., Hoiby N.: Constitutive high expression of chromosomal β-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* caused by a new insertion sequence (IS1669) located in ampD. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2002; 46: 3406-3411
- [6] Bert F., Branger C., Lambert-Zechovsky N.: Identification of PSE and OXA β-lactamase genes in *Pseudomonas aeruginosa* using PCR-restriction fragment length polymorphism. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2002; 50: 11-18
- [7] Bradford P.A.: Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001; 14: 933-951
- [8] Bush K., Jacoby G.A., Medeiros A.A.: A functional classification scheme for β-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1995; 39: 1211-1233
- [9] Canton R., Cobos N., de Gracia J., Baquero F., Honorato J., Gartner S., Alvarez A., Salcedo A., Oliver A., Garcia-Quetglas E.: Antimicrobial therapy for pulmonary pathogenic colonization and infection by *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2005; 11: 690-703
- [10] Cao W., Yao D., Zheng R.: Resistance by hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* and beta-lactamases production. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2009; 34: 54-58
- [11] Castanheira M., Toleman M.A., Jones R.N., Schmidt F.J., Walsh T.R.: Molecular characterization of a β-lactamase gene, blaGIM-1, encoding a new subclass of metallo-β-lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004; 48: 4654-4661
- [12] Cavallo J.D., Plesiat P., Couetdic G., Leblanc F., Fabre R.: Mechanisms of β-lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: prevalence of OprM-overproducing strains in a French multicentre study (1997). *J. Antimicrob. Chemother.*, 2002; 50: 1039-1043
- [13] Chen J., Su Z., Liu Y., Wang S., Dai X., Li Y., Peng S., Shao Q., Zhang H., Wen P., Yu J., Huang X., Xu H.: Identification and characterization of class 1 integrons among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients in Zhenjiang. *China Int. J. Infect. Dis.*, 2009; 13: 717-721
- [14] Chopra I., Ó Neill A.J., Adams J., Paterson D.L.: Coproduction of novel 16S rRNA methylase and metallo-β-lactamase SPM-1 in a panresistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate from Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006; 51: 852-856
- [15] Danel F., Hall L.M., Duke B., Gur D., Livermore D.M.: OXA-17, a further extended-spectrum variant of OXA-10 β-lactamase, isolated from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999; 43: 1362-1366

- [16] Deplano A., Denis O., Poirel L., Hocquet D., Nonhoff C., Byl B., Nordmann P., Vincent J.L., Struelens M.J.: Molecular characterization of an epidemic clone of panantibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Microbiol., 2005; 43: 1198-1204
- [17] Doi Y., de Olivera Garcia D., Adams J., Paterson D.L.: Coproduction of novel 16S rRNA methylase and metallo- β -lactamase SPM-1 in a pan-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate from Brazil. Antimicrob. Agents Chemother., 2006; 51: 852-856
- [18] Dong F., Xu X.W., Song W.Q., Lü P., Yu S.J., Yang Y.H., Shen X.Z.: Characterization of multidrug-resistant and metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a paediatric clinic in China. Chin. Med. J., 2008; 121: 1611-1616
- [19] Dubois V., Arpin C., Dupart V., Scavelli A., Coulangue L., André C., Fischer I., Grobost F., Brochet J.P., Lagrange I., Dutilh B., Jullin J., Noury P., Larribet G., Quentin C.: β -lactam and aminoglycoside resistance rates and mechanisms among *Pseudomonas aeruginosa* in French general practice (community and private healthcare centres). J. Antimicrob. Chemother., 2008; 62: 316-323
- [20] Dubois V., Poirel L., Marie C., Arpin C., Nordmann P., Quentin C.: Molecular characterization of a novel class 1 integron containing bla(GES-1) and a fused product of aac3-lb/aac6'-lb gene cassettes in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother., 2002; 46: 638-645
- [21] Dzierżanowska D.: Antybiotykoterapia praktyczna. Wyd. III, Alfa-Medica Press Bielsko-Biała, 2001
- [22] Falagas M.E., Kasiakou S.K.: Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin. Infect. Dis., 2005; 40: 1333-1341
- [23] Falagas M.E., Koletsi P.K., Bliziotis I.A.: The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) Acinetobacter baumannii and *Pseudomonas aeruginosa*. J. Med. Microbiol., 2006; 55: 1619-1629
- [24] Fiett J., Baraniak A., Mrówka A., Fleischer M., Drulis-Kawa Z., Namuik Ł., Samet A., Hryniewicz W., Gniadkowski M.: Molecular epidemiology of acquired-metallo- β -lactamase-producing bacteria in Poland. Antimicrob. Agents Chemother., 2006; 50: 880-886
- [25] Flamm R.K., Weaver M.K., Thornsberrry C., Jones M.E., Karlovsky J.A., Sahn D.E.: Factors associated with relative rates of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates tested in clinical laboratories in the United States from 1999 to 2002. Antimicrob. Agents Chemother., 2004; 48: 2431-2436
- [26] Gales A.C., Menezes L.C., Silbert S., Sader H.S.: Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo- β -lactamase. J. Antimicrob. Chemother., 2003; 52: 699-702
- [27] Ge C., Wei Z., Jiang Y., Shen P., Yu Y., Li L.: Identification of KPC-2-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in China. Antimicrob. Chemother., 2011; 66: 1184-1186
- [28] Gilligan P.H.: Microbiology of airway disease in patients with cystic fibrosis. Clin. Microbiol. Rev., 1991; 4: 35-51
- [29] Girlich D., Naas T., Leelaporn A., Poirel L., Fennewald M., Nordmann P.: Nosocomial spread of the integron-located veb-1-like cassette encoding an extended-spectrum β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* in Thailand. Clin. Infect. Dis., 2002; 34: 603-611
- [30] Giwercman B., Lambert P.A., Rosdahl V.T., Shand G.H., Hoiby N.: Rapid emergence of resistance in *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients due to in vivo selection of stable partially derepressed beta-lactamase producing strains. J. Antimicrob. Chemother., 1990; 26: 247-259
- [31] Gutierrez O., Juan C., Perez J.L., Oliver A.: Lack of association between hypermutation and antibiotic resistance development in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from intensive care unit patients. Antimicrob. Agents Chemother., 2004; 48: 3573-3575
- [32] Hauser A.R., Sriram P.: Severe *Pseudomonas aeruginosa* infections. Tackling the conundrum of drug resistance. Postgrad. Med., 2005; 117: 41-48
- [33] Hedges R.W., Matthew M.: Acquisition by *Escherichia coli* of plasmid-borne beta lactamases normally confined to *Pseudomonas* spp. Plasmid, 1979; 2: 269-278
- [34] Henrichfreise B., Wiegand I., Pfister W., Wiedemann B.: Resistance mechanisms of multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from Germany and correlation with hypermutation. Antimicrob. Agents Chemother., 2007; 51: 4062-4070
- [35] Hocquet D., Nordmann P., El Garch F., Cabanne L., Plesiat P.: Involvement of the MexXY-OprM efflux system in emergence of cefpime resistance in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother., 2006; 50: 1347-1351
- [36] Hocquet D., Vogne C., El Garch F., Vejux A., Gotoh N., Lee A., Lovomskaya O., Plesiat P.: MexXY-OprM efflux pump is necessary for a adaptive resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. Antimicrob. Agents Chemother., 2003; 47: 1371-1375
- [37] Islam S., Oh H., Jalal S., Karpati F., Ciofu O., Hoiby N., Wretling B.: Chromosomal mechanisms of aminoglycosides resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. Clin. Microbiol. Infect., 2009; 15: 60-66
- [38] Jacoby G.A.: Resistance plasmids of *Pseudomonas aeruginosa*. W: The Bacteria, red. I. C. Gunsalus, J. R. Sokatch, L. N. Ornston, Academic Press, Orlando, 1986, s. 265-293
- [39] Jalal S., Ciofu O., Hoiby N., Gotoh N., Wretling B.: Molecular mechanisms of fluoroquinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. Antimicrob. Agents Chemother., 2000; 44: 710-712
- [40] Jarmuła A., Oblak E., Wawrzycka D., Gutowicz J.: Oporność wielolekowa związana z aktywnym usuwaniem leków z komórek drobnoustrojów Efflux-mediated antimicrobial multidrug resistance. Postępy Hig. Med. Dośw., 2011; 65: 216-227
- [41] Jo J.T., Brinkman F.S., Hancock R.E.: Aminoglycoside efflux in *Pseudomonas aeruginosa*: involvement of novel outer membrane proteins. Antimicrob. Agents Chemother., 2003; 47: 1101-1111
- [42] Join-Lambert O.F., Michea-Hamzehpour M., Kohler T., Chau F., Fau-risson F., Dautrey S., Vissuzaine C., Carbon C., Pechere J.: Differential selection of multidrug efflux mutants by trovafloxacin and ciprofloxacin in an experimental model of *Pseudomonas aeruginosa* acute pneumonia in rats. Antimicrob. Agents Chemother., 2001; 45: 571-576
- [43] Jovcic B., Lepsanovic Z., Suljagic V., Rackov G., Begovic L., Kojic M.: Emergence of NDM-1 metallo- β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Serbia. Antimicrob. Agents Chemother., 2011; 55: 3929-3931
- [44] Juan C., Macia M.D., Gutierrez O., Vidal C., Perez J.L., Oliver A.: Molecular mechanisms of beta-lactam resistance mediated by AmpC hyperproduction in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. Antimicrob. Agents Chemother., 2005; 49: 4733-4738
- [45] Juan C., Moya B., Perez J.L., Oliver A.: Stepwise upregulation of the *Pseudomonas aeruginosa* chromosomal cephalosporinase conferring high-level beta-lactam resistance involves three AmpD homologues. Antimicrob. Agents Chemother., 2006; 50: 1780-1787
- [46] Karlovsky J.A., Draghi D.C., Jones M.E., Thornsberrry C., Friedland I.R., Sahn D.E.: Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. Antimicrob. Agents Chemother., 2003; 47: 1681-1688
- [47] Laraki N., Galleni M., Thamm I., Riccio M.L., Amicosante G., Frere J.M., Rossolini G.M.: Structure of In31, a blaIMP containing *Pseudomonas aeruginosa* integron phylogenically related to In5, which carries an unusual array of gene cassettes. Antimicrob. Agents Chemother., 1999; 43: 890-901

- [48] Laudy A.E.: Karbapenemazy – enzymy mogące hydrolizować szerokie spectrum β -laktamów. Zakażenia, 2003; 4: 32-38
- [49] Laughlin R.S., Mush M.W., Hollbrook C.J., Rocha M., Chang E.B., Alverdy J.C.: The key role of *Pseudomonas aeruginosa* PA-I lectin experimental gut-derived sepsis. Ann. Surg., 2000; 232: 133-142
- [50] Lauretti L., Riccio M.L., Mazzariol A., Cornaglia G., Amicosante G., Fontana R., Rossolini G.M.: Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo- β -lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. Antimicrob. Agents Chemother., 1999; 43: 1584-1590
- [51] Lee J.K., Lee Y.S., Park Y.K., Kim B.S.: Alterations in the GyrA and GyrB subunits of topoisomerase II and the ParC and ParE subunits of topoisomerase IV in ciprofloxacin-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Int. J. Antimicrob. Agents, 2005; 25: 290-295
- [52] Liao X., Hancock R.E.: Cloning and characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* pbpB gene encoding penicillin-binding protein 3. Antimicrob. Agents Chemother., 1995; 39: 1871-1874
- [53] Livermore D.M.: Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? Clin. Infect. Dis., 2002; 34: 634-640
- [54] Llanes C., Neuwirth C., El Garch F., Hocquet D., Plesiat P.: Genetic analysis of a multiresistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* producing PER-1 β -lactamase. Clin. Microbiol. Infect., 2006; 12: 270-278
- [55] Luzarro F., Mentengoli E., Perilli M., Lombardi G., Orlandi V., Orsatti A., Amicosante G., Rossolini G.M., Toniolo A.: Dynamics of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing the PER-1 extended-spectrum β -lactamase. J. Clin. Microbiol., 2001; 39: 1865-1870
- [56] Macia M.D., Blanquer D., Togores B., Sauleda J., Perez J.L., Oliver A.: Hypermutation is a key factor in development of multiple-antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains causing chronic lung infections. Antimicrob. Agents Chemother., 2005; 49: 3382-3386
- [57] Maltezou H.C.: Metallo- β -lactamases in Gram-negative bacteria: introducing the era of panresistance? Int. J. Antimicrob. Agents, 2008; 33: e1-e7
- [58] McGowan J.E.Jr.: Resistance in nonfermenting Gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. Am. J. Infect. Control, 2006; 34: S29-S37
- [59] Mugnier P., Dubrous P., Casin I., Arlet G., Collatz E.: A TEM-derived extended-spectrum beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother., 1996; 40: 2488-2493
- [60] Munck A., Bonacorsi S., Mariani-Kurkdjian P., Lebourgeois M., Gerardin M., Brahimi N., Navarro J., Bingen E.: Genotypic characterization of *Pseudomonas aeruginosa* strains recovered from patients with cystic fibrosis after initial and subsequent colonization. Pediatr. Pulmonol., 2001; 32: 288-292
- [61] Neonakis I.K., Scoulica E.V., Dimitriou S.K., Gikas A.I., Tselentis Y.J.: Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases produced by clinical isolates in a university hospital in Greece: detection of SHV-5 in *Pseudomonas aeruginosa* and prevalence of SHV-12. Microb. Drug Resist., 2003; 9: 161-165
- [62] Normark B.H., Normark S.: Evolution and spread of antibiotic resistance. J. Intern. Med., 2002; 252: 91-106
- [63] Nowak P., Targosz A., Budak A., Oleksiak D., Gęza G., Skalkowska M.: Wrażliwość na chemioterapeutyki oraz występowanie metalo- β -laktamaz u szpitalnych szczepów *Pseudomonas aeruginosa*. Med. Dośw. Mikrobiol., 2006; 58: 231-237
- [64] Obritsch M.D., Fish D.N., MacLaren R., Jung R.: National surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from intensive care units patients from 1993 to 2002. Antimicrob. Agents Chemother., 2004; 48: 4606-4610
- [65] Ochs M.M., McCusker M.P., Bains M., Hancock R.E.: Negative regulation of the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane porin OprD selective for imipenem and basic amino acids. Antimicrob. Agents Chemother., 1999; 43: 1085-1090
- [66] Oliver A., Canton R., Campo P., Baquero F., Blazquez J.: High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. Science, 2000; 288: 1251-1254
- [67] Pagani L., Colino C., Migliavacca R., Labonia M., Docquier J.D., Nucleo E., Spalla M., Li Bergoli M., Rossolini G.M.: Nosocomial outbreak caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing IMP-13 metallo-beta-lactamase. J. Clin. Microbiol., 2005; 43: 3824-3828
- [68] Pagniez G., Radice M., Cuirolo A., Rodriguez O., Rodriguez H., Vay C., Famiglietti A., Gutkind G.: Prevalence of metallo-beta-lactamase in carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* at an university hospital of Buenos Aires City. Rev. Argent. Microbiol., 2006; 38: 33-37
- [69] Patzer J., Dzierżanowska D.: The incidence of serotype O12 and multiresistance amongst *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. J. Antimicrob. Chemother., 1997; 34: 165-170
- [70] Patzer J., Toleman M.A., Deshpande L.M., Kaminska W., Dzierżanowska D., Bennet P.M., Jones R.N., Walsh T.R.: *Pseudomonas aeruginosa* strains harbouring an unusual blaVIM-4 gene cassette isolated from hospitalized children in Poland (1998-2001). J. Antimicrob. Chemother., 2004; 53: 451-456
- [71] Poirel L., Brinas L., Fortineau N., Nordmann P.: Integron-encoded GES-type extended-spectrum β -lactamase with increased activity toward aztreonam in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother., 2005; 49: 3593-3597
- [72] Poirel L., Brinas L., Verlinde A., Ide L., Nordmann P.: BEL-1, a novel clavulanic acid-inhibited extended-spectrum β -lactamase, and the class 1 integron In 120 in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother., 2005; 49: 3743-3748
- [73] Poirel L., Nordmann P.: Acquired carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases and their genetic support. Curr. Pharm. Biotechnol., 2002; 3: 117-127
- [74] Poirel L., Nordmann P., Lagrutta E., Cleary T., Munoz-Price L.S.: Emergence of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in the United States. Antimicrob. Agents Chemother., 2010; 54: 3072
- [75] Poirel L., Wiedhagen G.F., De Champs C., Nordmann P.: A nosocomial outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* isolates expressing the extended-spectrum β -lactamase GES-2 in South Africa. J. Antimicrob. Chemother., 2002; 49: 561-565
- [76] Poole K.: Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother., 2005; 49: 479-487
- [77] Quale J., Bratu S., Gupta J., Landman D.: Interplay of efflux system ampC, and oprD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Antimicrob. Agents Chemother., 2006; 50: 1633-1641
- [78] Riccio M.L., Docquier J.D., Dell'Amico E., Luzzaro F., Amicosante G., Rossolini G.M.: Novel 3-N-aminoglycoside acetyltransferase gene, aac(3)-Ic, from *Pseudomonas aeruginosa* integron. Antimicrob. Agents Chemother., 2003; 47: 1746-1748
- [79] Rusiecka-Ziółkowska J., Fleischer M., Staroszczyk J.: Właściwości immunologiczne Gram-ujemnych pałeczek *Pseudomonas aeruginosa*. Postępy Hig. Med. Dośw., 2007; 61: 95-98
- [80] Sacha P., Żórawski M., Hauschild T., Wieczorek P., Jaworowska J., Jakoniuk P., Tryniszewska E.: The presence of blaIMP genes on plasmids DNA isolated from multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains at University Hospital in Białystok (Poland) – first report. Folia Histochem. Cytobiol., 2007; 45: 405-408
- [81] Sekiguchi J., Asagi T., Miyoshi-Akiyama T., Fujino T., Kobayashi I., Morita K., Kikuschi Y., Kuratsuji T., Kirikae T.: Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain that caused in a neurosurgery ward and its

aac(6)-Iae gene cassette encoding a novel aminoglycoside acetyltransferase. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005; 49: 3734-3742

- [82] Shaw K.J., Cramer C.A., Rizzo M., Mierzwa R., Gewain K., Miller G.H., Hare R.S.: Isolation, characterization, and DNA sequence analysis of an aac(6)-II gene from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1989; 33: 2052-2062
- [83] Shaw K.J., Hare R.S., Sabatelli F.J., Rizzo M., Cramer C.A., Naples L., Kocsi S., Munayyer H., Mann P., Miller G.H., Verbist L., van Landuyt H., Glupczynski Y., Catalano M., Woloj M.: Correlation between aminoglycoside resistance profiles and DNA hybridization of clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1991; 35: 2253-2261
- [84] Stokes H.W., Hall R.M.: A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Mol. Microbiol.*, 1989; 3: 1669-1683
- [85] Strateva T., Yordanov D.: *Pseudomonas aeruginosa* – a phenomenon of bacterial resistance. *J. Med. Microbiol.*, 2009; 58: 1133-1148
- [86] Toleman M.A., Biedenbach D., Bennett D., Jones R.N., Walsh T.R.: Genetic characterization of a novel metallo-beta-lactamase gene, bla-IMP-13, harboured by a novel Tn5051-type transposon disseminating carbapenemase genes in Europe: report from the SENTRY worldwide antimicrobial surveillance programme. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2003; 52: 583-590
- [87] Torres C., Perlin M.H., Baquero F., Lerner D.L., Lerner S.A.: High-level amikacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* associated with a 3'-phosphotransferase with high affinity for amikacin. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 2000; 15: 257-263
- [88] Tsakris A., Pournaras S., Woodford N., Palepou M.F., Babini G.S., Douboyas J., Livermore D.M.: Outbreak of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1 carbapenemase in Greece. *J. Clin. Microbiol.*, 2000; 38: 1290-1292
- [89] Villegas M.V., Lolans K., Correa A., Kattan J.N., Lopez J.A., Quinn J.P., Colombian Nosocomial Resistance Study Group: First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007; 51: 1553-1555
- [90] Wasząnik A., Grinholc M., Bielawski K.P.: Czynne usuwanie leku z komórki jako jeden z mechanizmów oporności bakterii na środki przeciwdrobnoustrojowe i metody jego zwalczania. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 123-133
- [91] Watanabe M., Iyobe S., Inoue M., Mitsuhashi S.: Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1991; 35: 147-151
- [92] Wolter D.J., Hanson N.D., Lister P.D.: AmpC and OprD are not involved in the mechanism of imipenem hypersusceptibility among *Pseudomonas aeruginosa* isolates overexpressing the mexCD-oprJ efflux pump. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005; 49: 4763-4766
- [93] Yamane K., Doi Y., Yokoyama K., Yagi T., Kurokawa H., Shibata N., Shibayama K., Kato H., Arakawa Y.: Genetic environments of the rmtA gene in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004; 48: 2069-2074
- [94] Yan J.J., Tsai S.H., Chuang C.L., Wu J.J.: OXA-type beta-lactamases among extended-spectrum cephalosporin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a university hospital in southern Taiwan. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 2006; 39: 130-134
- [95] Yoneyama H., Nakae T.: Mechanism of efficient elimination of protein D2 in outer membrane of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1993; 37: 2385-2390

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.