ARTIGO ORIGINAL / *ORIGINAL ARTICLE*

Susceptibilidade aos agentes antimicrobianos de isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* de um hospital central de Portugal

/ O. M. Cardoso
/ R. Leitão
Laboratório de Microbiologia, Centro de Estudos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

/ A. Alves
Laboratório de Microbiologia do Centro Hospitalar de Coimbra

Correspondência:
Olga Maria A. R. C. Cardoso
Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
Couraça dos Apóstolos 51 r/c esq
3000-432 COIMBRA
Telefone: 239 852567
Fax: 239 952569
e-mail: ocardoso@ci.uc.pt

Os autores agradecem à FCT o suporte financeiro através do POCTI (FEDER).

/ Resumo

Introdução: *Pseudomonas aeruginosa* é um patogénico nosocomial importante que causa diversos tipos de infecção podendo apresentar uma elevada morbilidade e mortalidade. Para que se possam aplicar linhas orientadoras na terapêutica deste agente, o médico deve ter conhecimento de elementos de resistência e epidemiologia.
Objectivo: Determinar susceptibilidade de isolados de *P. aeruginosa* para entender perfis de resistência para melhor se instituir a terapia tanto empírica como efectiva.
Métodos: De Abril 2003 - Abril 2006 foram recolhidos 1099 isolados de *P. aeruginosa* no Centro Hospitalar de Coimbra. Isolados nosocomiais (N=685) e de ambulatório (N=414) foram obtidos de: expectoração, urina, exsudado, sangue e outros.
Resultados: Meropenemo foi o melhor agente (90,0%), seguido de piperacilina-tazobactam, piperacilina, amicacina, ceftazidima, imipenemo, aztreonamo, ciprofloxacina e gentamicina (65,9%). Isolados nosocomiais responderam à piperacilina- tazobactam (85,1%), meropenemo (84,4%), ceftazidima (79,4%) e imipenemo (74,7%). Os isolados de ambulatório mostraram sensibilidade superior a 90%, excepto à ciprofloxacina (77,3%) e gentamicina (78,7%). Cem isolados (9,1%), de infecções nosocomiais, eram multi-resistentes sendo 70% provenientes de produtos respiratórios.
Conclusão: Isolados de *P. aeruginosa* respondem bem ao meropenemo, os nosocomiais à piperacilina-tazobactam, os de ambulatório aos β-lactâmicos em geral. Estudos de vigilância são importantes no combate e controlo do desenvolvimento e disseminação das resistências.

Palavras-chave: *Pseudomonas aeruginosa*; susceptibilidade; vigilância

/ Abstract

Introduction: Pseudomonas aeruginosa is an important nosocomial pathogen causing a wide spectrum of infections and leading to substantial morbidity and mortality. In order to apply optimal therapeutic guidelines physicians must be aware of recent resistance surveillance, and epidemiological data.
Objective: *Determine antimicrobial susceptibility of P. aeruginosa isolates in order to assist the determination of guidelines for empirical regimens and infection control measures.*

Methods: *From April 2003 - April 2006 were collected in Centro Hospitalar de Coimbra 1099 P. aeruginosa isolates. Nosocomial isolates (N=685) and ambulatory ones (N=414) were obtained from sputum, urine, exudates, blood and other sources.*

Results: *Overall, meropenem was the best agent (90.0%), followed by piperacillin - tazobactam, piperacillin, amikacin, ceftazidime, imipenem, aztreonam, ciprofloxacin, and gentamicin (65.9%). Nosocomial isolates responded to piperacillin - tazobactam (85.1%), meropenem (84.4%), ceftazidime (79.4%), and imipenem (74.7%). Ambulatory isolates presented susceptibility superior to 90%, except ciprofloxacin (77.3%) and gentamicin (78.7%). One hundred isolates (9.1%), from nosocomial infections, demonstrated multidrug resistance, and 70% were from respiratory products.*

Conclusion: *P. aeruginosa isolates responded well to meropenem, nosocomial isolates to piperacillin - tazobactam, and ambulatory ones to β-lactams in general. Studies of surveillance can be helpful in fight to control the development and spread of resistance.*

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa; susceptibility; surveillance*

/ Introdução

Pseudomonas aeruginosa é um bacilo de Gram negativo pouco exigente em termos nutricionais, podendo ser encontrado em diversos ambientes húmidos e em ambiente hospitalar. Esta bactéria é considerada um patogénico oportunista que raramente causa infecções em indivíduos saudáveis. No entanto, em infecções nosocomiais é considerado um importante agente infeccioso, sendo considerado a nível europeu o terceiro patogénico mais isolado em Unidades de Cuidados Intensivos.[1]

Na terapêutica de infecções causadas por *P. aeruginosa*, os agentes antimicrobianos mais utilizados são os ß-lactâmicos (imipenemo, meropenemo, aztreonamo, ceftazidima, piperacilina, piperacilina com tazobactam e ticarcilina), embora os aminoglicosídeos (amicacina, tobramicina e gentamicina) e as fluorquinolonas também sejam indicados.[2] A co-administração de agentes antimicrobianos de grupos diferentes é aconselhada para reduzir as probabilidades de selecção de mutantes resistentes durante a terapia.[3] Os aminoglicosídeos são muito utilizados em regime combinado com um ß-lactâmico.[4] O aumento da frequência de estirpes multi-resistentes nos últimos anos e a ausência de novos agentes eficazes levou à reutilização de antibióticos considerados muito tóxicos, como as polimixinas e a colistina, que estão a surgir como opção terapêutica em isolados muito resistentes.[2,5]

Na terapia empírica a escolha do agente antimicrobiano deve basear-se nos perfis de susceptibilidade observados na área geográfica e hospital em causa.[6]

O objectivo principal deste trabalho foi estudar as susceptibilidades de isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* obtidos em diferentes enfermarias pertencentes ao Centro Hospitalar de Coimbra, com o intuito de perceber quais os perfis de resistência para melhor se poder instituir a terapia, tanto empírica como efectiva.

/ Materiais e métodos

As estirpes bacterianas

O Centro Hospitalar de Coimbra (CHC) é um hospital central situado no centro de Portugal servindo esta região. É constituído por um hospital principal (Hospital dos Covões), hospital pediátrico (Hospital Pediátrico de Coimbra), maternidade (Maternidade Bissaia Barreto) e ainda recebe amostras clínicas de um hospital público periférico (Hospital de Pombal).

O período de recolha decorreu de Abril de 2003 até Abril de 2006, em que apenas um isolado de cada doente foi incluído no estudo. Os isolados foram considerados de ambulatório quando o doente trazia a infecção da comunidade ou adquiria a infecção num período de 48 horas após a hospitalização. Os doentes que apareceram infectados 72 horas após o internamento foram considerados como tendo uma infecção nosocomial. Assim, obtiveram-se 685 amostras de infecções nosocomiais e 414 de ambulatório. Isolados obtidos de doentes com fibrose cística não foram incluídos no estudo.

A colheita das amostras decorreu segundo os protocolos de cada hospital. O isolamento e identificação foram executados no Laboratório de Microbiologia do CHC em que se utilizou o sistema MicroScan WalkAway (Dadebehring), e em alguns casos o sistema API32GN e API PSE.

As amostras das infecções nosocomiais eram provenientes essencialmente de expectoração (46,3%), urina (17,1%), exsudados (15,6%), sangue (4,5%) e de outros produtos (16,5%). As amostras das infecções da comunidade foram obtidas a partir dos mesmos produtos com as seguintes percentagens: expectoração (30,9%), urina (35,5%), exsudados (13,5%), sangue (4,6%) e de outros produtos (15,5%). Quadro I. A discriminação dos vários exsudados, assim como a dos "outros produtos" encontra-se representada no Quadro II.

Susceptibilidade aos agentes antimicrobianos

As susceptibilidades foram determinadas pelo sistema MicroScan WalkAway (Dadebehring). Este sistema inclui como agentes antimicrobianos para esta espécie bacteriana os seguintes antibióticos: piperacilina, piperacilina com tazobactam, aztreonamo, cefotaxima, ceftazidima, imipenemo, meropenemo, gentamicina,

QUADRO I – PRODUTOS A PARTIR DOS QUAIS SE ISOLARAM *P.AERUGINOSA* OBTIDOS DE DOENTES ATENDIDOS NO CENTRO HOSPITALAR DE COIMBRA

	Expectoração N (%)	Urina N (%)	Exsudados N (%)	Sangue N (%)	Outros N (%)
Hospital N=685	317 (46,3%)	117 (17,1%)	107 (15,6%)	31 (4,5%)	113 (16,5%)
Ambulatório N=414	128 (30,9%)	147 (35,5%)	56 (13,5%)	19 (4,6%)	64 (15,5%)
Total N=1099	445 (40,5%)	**264 (24,0%)**	**163 (14,8%)**	50 (4,6%)	177 (16,1%)

QUADRO II – DISCRIMINAÇÃO DOS EXSUDADOS PURULENTOS NAS RESPECTIVAS CATEGORIAS, ASSIM COMO A DOS "OUTROS PRODUTOS"

	Produto	Hospital (N=107) (%)	Ambulatório (N=56) (%)
Exsudados	Ferida	60 (56,1%)	34 (60,7%)
	Escara	36 (33,7%)	6 (10,7%)
	Pé	6 (5,6%)	2 (3,6%)
	Meato	3 (2,8%)	1 (1,7%)
	Auricular	_	2 (3,6%)
	Ocular	_	3 (5,4%)
	Vaginal	1 (0,9%)	5 (8,9%)
	Faríngeo	1 (0,9%)	3 (5,4%)
	Produto	**Hospital (N=113) (%)**	**Ambulatório (N=64) (%)**
Outros produtos	Aspirado brônquico	37 (32,7%)	12 (18,7%)
	Secreções	20 (17,7%)	17 (26,6%)
	Aspirado traqueal	18 (15,9%)	4 (6,2%)
	Lavagem brônquica	1 (0,9%)	4 (6,2%)
	Líquido punção sinuvial	3 (2,7%)	1 (1,6%)
	Líquido punção vesical	2 (1,8%)	6 (9,4%)
	Líquido peritoneal	6 (5,3%)	_
	Líquido de abcesso	2 (1,8%)	_
	Cateter	16 (14,1%)	1 (1,6%)
	Fezes	4 (3,5%)	18 (28,1%)
	Tecido necrosado	1 (0,9%)	_
	Fragmento tíbia	_	1 (1,6%)

amicacina, tobramicina e ciprofloxacina. Para os isolados das urinas o sistema ainda inclui a norfloxacina e a fosfomicina. Neste último ano o painel começou a utilizar também a cefepima, mas os resultados desse agente não irão ser tidos em conta.

Consoante os resultados obtidos pelo sistema, os isolados foram classificados em sensíveis, resistentes ou de susceptibilidade intermédia, sendo estes últimos considerados resistentes para melhor se poderem tratar os resultados e concluir qual a melhor terapêutica a instituir. Este sistema tem em consideração as normas preconizadas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute[7] (conhecido como National Committee for Clinical Laboratory Standards).

Isolados de *P. aeruginosa* multi-resistentes foram definidos com base na resistência à piperacilina, ceftazidima, imipenemo e ciprofloxacina. Isolados resistentes a três ou quatro destes agentes foram considerados multi-resistentes (MDR-Multidrug Resistant).[8,9] A resistência aos aminoglicosídeos não foi considerada neste caso, visto que estes agentes na sua maioria não são utilizados em monoterapia nas infecções provocadas por esta bactéria.

/ Resultados

As susceptibilidades da totalidade dos isolados (N=1099) relativamente aos antimicrobianos mais utilizados foram as seguintes: meropenemo, 90,0%; piperacilina com tazobactam, 89,0%; piperacilina, 86,2%; amicacina, 85,6%; ceftazidima, 85,0%; imipenemo, 82,4%; aztreonamo, 81,7%; ciprofloxacina, 69,2% e gentamicina, 65,9%. Figura 1.

Os isolados de infecções nosocomiais (N=685) eram mais resistentes a todos os agentes testados que os das infecções da comunidade (N=414). Assim, 85,1% dos isolados hospitalares eram sensíveis à piperacilina com tazobactam, seguindo-se o meropenemo (84,8%) e piperacilina (81,5%). A ceftazidima inibiu 79,4% destes isolados, o aztreonamo 75,0% e o imipenemo foi o pior ß-lactâmico (74,7%). O

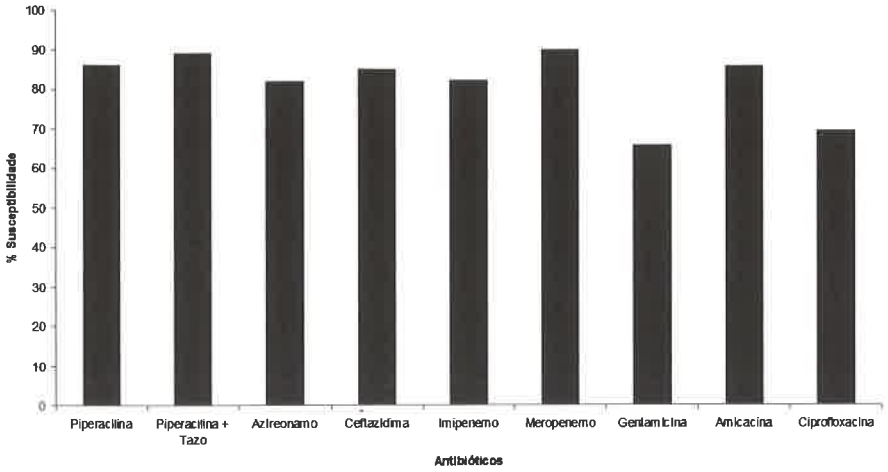

Figura 1: Susceptibilidade (%) aos agentes antimicrobianos de isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* (N=1099).

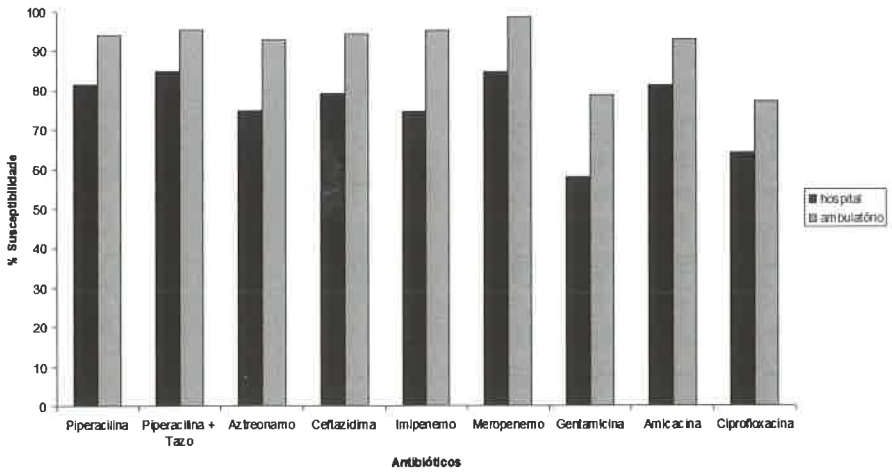

Figura 2: Susceptibilidade (%) aos agentes antimicrobianos de isolados nosocomiais (N=685) e de ambulatório (N=414) de *P. aeruginosa*.

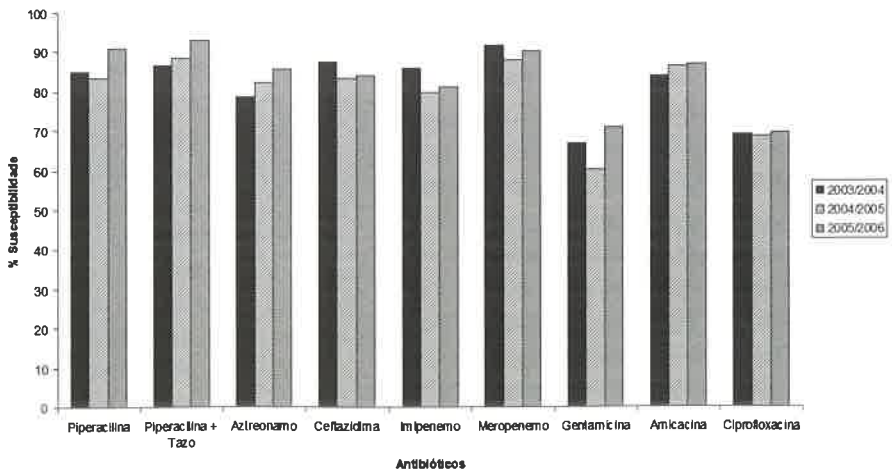

Figura 3: Comparação das susceptibilidades aos agentes antimicrobianos dos isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* (N=1099) durante três anos (Abril de 2003 a Abril de 2006).

aminoglicosídeo, amicacina demonstrou boa actividade (81,3%), mas a gentamicina foi o pior agente (58,1%). A fluorquinolona, ciprofloxacina, apresentou também fraca actividade (64,2%). Os isolados de ambulatório exibiram uma percentagem de susceptibilidade superior a 90%, excepto para a ciprofloxacina (77,3%) e gentamicina (78,7%). O meropenemo foi o melhor agente (98,6%) seguido de piperacilina com tazobactam (95,4%), imipenemo (95,2%), ceftazidima (94,2%), piperacilina (94,0%) e aztreonamo e amicacina com a mesma actividade (92,8%). Figura 2.

Ao longo destes três anos, em relação ao total dos isolados (N=1099) observou-se um aumento de susceptibilidade a alguns agentes antimicrobianos nomeadamente piperacilina com tazobactam, aztreonamo e amicacina. Em relação aos ß-lactâmicos que se utilizam com mais frequência nesta bactéria, como a ceftazidima, imipenemo e meropenemo, verificou-se uma oscilação na sensibilidade. A ciprofloxacina manteve-se estável ao longo destes anos sendo pior agente que os ß-lactâmicos e amicacina. Figura 3.

A susceptibilidade à ceftazidima, imipenemo e meropenemo dos isolados hospitalares (N=685) obtidos neste período de tempo diminui ao longo do tempo. No entanto, a piperacilina com tazobactam e o aztreonamo aumentaram a sua actividade. Estes isolados relativamente à piperacilina tiveram um comportamento oscilante (diminuição no primeiro ano e aumento no segundo), observando-se o oposto com a amicacina. A ciprofloxacina demonstrou menos actividade que os ß-lactâmicos (cerca de 64% ± 1% de susceptibilidade ao longo destes anos). Figura 4.

A sensibilidade dos isolados obtidos em ambulatório em relação aos antibióticos (N=414) foi superior a 90% ao longo destes três anos, com excepção da gentamicina e ciprofloxacina. A actividade da amicacina apresentou uma flutuação, aumentando e diminuindo ao longo deste período. Figura 5.

Neste estudo encontraram-se 100 isolados considerados multi-resistentes (9,1%) que

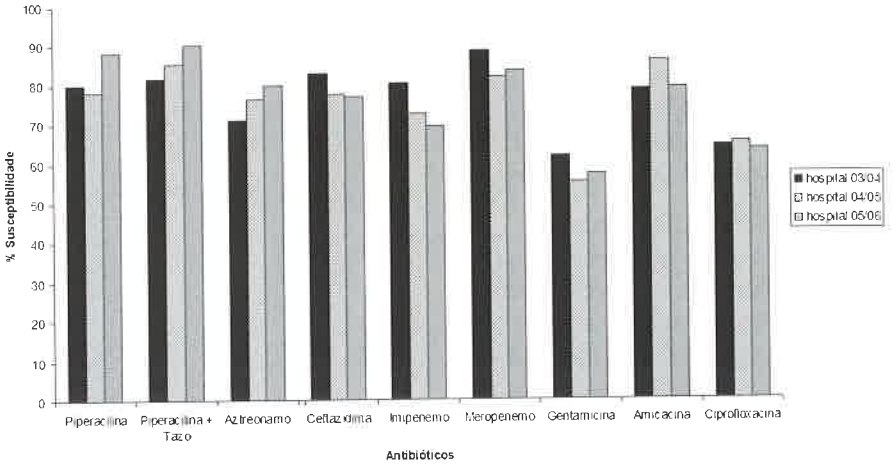

Figura 4: Comparação das susceptibilidades (%) aos agentes antimicrobianos de isolados nosocomiais (N=685) de *P. aeruginosa* durante três anos.

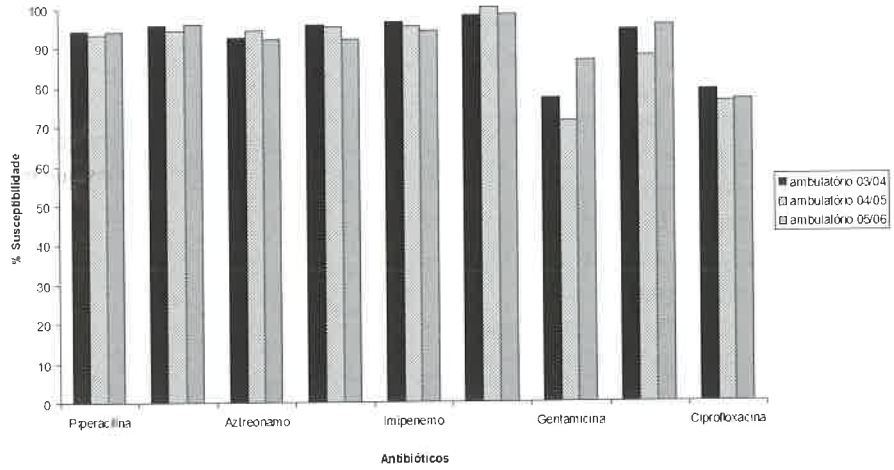

Figura 5: Comparação da susceptibilidade (%) aos agentes antimicrobianos de isolados de ambulatório de *P. aeruginosa* (N=414) durante os três anos.

segundo a definição dada na secção de materiais e métodos correspondem a isolados resistentes a três ou quatro antibióticos (piperacilina, ceftazidima, imipenemo e ciprofloxacina). Estes isolados eram provenientes de infecções nosocomiais distribuídas pelas várias enfermarias do CHC. A maioria dos isolados foram obtidos a partir de produtos do tracto respiratório (70,0%), 15% eram de exsudados, 9% de urina e 6% de sangue. Vinte por cento destes isolados eram resistentes a todos os agentes considerados. Entre os isolados que apresentaram resistência à ceftazidima, imipenemo e piperacilina, a ciprofloxacina demonstrou alguma actividade (32,9%, 33,8%, 31,8%, respectivamente eram sensíveis à ciprofloxacina). Os isolados resistentes à ciprofloxacina respondiam melhor à ceftazidima (27,4% eram sensíveis). Quadro III.

/ Discussão

Nos últimos anos tem havido um esforço no sentido de melhorar a administração dos agentes antimicrobianos, devido ao grande aumento que se tem verificado das resistências com o uso indiscriminado

QUADRO III – ACTIVIDADE DOS AGENTES ANTIMICROBIANOS, PIPERACILINA, CEFTAZIDIMA, IMIPENEMO E CIPROFLOXACINA CONTRA ISOLADOS DE *P. AERUGINOSA* MULTI-RESISTENTES

		% Isolados (nº) sensíveis a:			
	Isolados resistentes	**Piperacilina**	**Ceftazidima**	**Imipenemo**	**Ciprofloxacina**
Piperacilina	82	-	24,4 (20)	18,3 (15)	32,9 (27)
Ceftazidima	80	22,5 (18)	-	18,8 (15)	33,8 (27)
Imipenemo	85	21,2 (18)	23,5 (20)	-	31,8 (27)
Ciprofloxacina	73	24,7 (18)	27,4 (20)	20,5 (15)	-

destes agentes. Recentemente observou-se que o uso precoce e adequado de antibióticos nas septicémias graves levava a uma diminuição acentuada da morbilidade e da mortalidade.[9,10] É importante minimizar o desenvolvimento de múltiplas resistências prevenindo o abuso dos antibióticos e estabelecer uma combinação de fármacos eficaz para as *P. aeruginosa* multi-resitentes.[11]

É do conhecimento público que os mecanismos de resistência expressos pelas bactérias de Gram negativo patogénicas podem variar significativamente de país para país e em geral reflectem as diferentes práticas de prescrição e aderência às políticas de controlo da infecção dentro de cada país, de cada instituição e de cada enfermaria.[12]

Um dos objectivos deste trabalho foi perceber o comportamento de isolados de *P. aeruginosa* do nosso hospital com o intuito de se criarem melhores regras para a terapêutica destas infecções. Ao longo destes três anos observou-se um aumento de sensibilidade à piperacilina com tazobactam, aztreonamo e amicacina. Em relação à ceftazidima, imipenemo e meropenemo houve um comportamento semelhante entre eles mas diferente dos anteriores, ou seja, uma diminuição de susceptibilidade do primeiro para o segundo ano, e uma melhoria de actividade do segundo para o terceiro ano. Este comportamento também foi observado para a gentamicina e ciprofloxacina. Um estudo realizado em 2003 em 9 hospitais de Portugal mostrou sensibilidades semelhantes às obtidas neste trabalho no CHC naquele período de tempo, com excepção da gentamicina e da ciprofloxacina, o que poderá ser devido ao facto de os nossos resultados relativos a um ano serem de Abril a Abril do ano seguinte.[13] Comparando com os países nossos vizinhos como a França, Espanha e Itália, verificou-se que não havia grande variação nas susceptibilidades para a maioria dos agentes testados.[14-16] Num estudo feito em hospitais belgas também se observou uma diminuição acentuada da sensibilidade aos agentes antimicrobianos, mas a taxa de perda de actividade era variável.[17]

Tendo em atenção a susceptibilidade dos isolados nosocomiais verificou-se um aumento de sensibilidade à piperacilina com tazobactam e ao aztreonamo. Os outros ß-lactâmicos utilizados nestes tipos de infecções perderam actividade, como seja a ceftazidima e o imipenemo, em que o segundo perdeu 10,9% de actividade do primeiro para o último ano. Estudos de susceptibilidade realizados na Europa pelo programa MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) demonstraram que o meropenemo era o melhor agente seguido da piperacilina com tazobactam, o mesmo acontecendo com outro estudo (SENTRY).[18,19] No nosso caso, o melhor agente foi a piperacilina com o tazobactam seguido do meropenemo. Nos estudos citados o imipenemo aparece em terceiro lugar, mas no Centro Hospitalar de Coimbra é o pior agente no grupo dos ß-lactâmicos. Os isolados da América do Norte são bem mais sensíveis que os europeus.[19]

Um estudo feito pelo ESAC (European Surveillance of Antimicrobial Consumption) demonstrou que Portugal, juntamente com Espanha e Itália, era dos países da Europa em que o uso de quinolonas era mais elevado, sendo incorrectamente utilizadas com certa frequência em infecções do tracto respiratório.[20] Assim, o uso indiscriminado destes agentes poderá estar na génese da baixa susceptibilidade apresentada pelos nossos isolados quer sejam de infecções nosocomiais quer sejam de infecções de ambulatório. Os estudos MYSTIC e SENTRY também revelam valores baixos para as fluorquinolonas embora sejam mais elevados que os nossos.[18,19] Nos Estados Unidos da América também se tem observado um decréscimo na actividade das fluorquinolonas e a uma velocidade maior do que das outras classes de antibióticos tanto em infecções hospitalares como nas da comunidade.[21]

A incidência de isolados multi-resistentes é elevada relativamente a outros estudos,[11,22] mas dentro dos resultados observados na Europa.[23] Implementação de medidas de controlo das infecções é crucial quando se percebe que estão presentes estirpes com múltiplas resistências. Além destas medidas será importante desenhar regimes terapêuticos que evitem o desenvolvimento de mais resistências durante a terapia. O desenvolvimento de resistências cruzadas também deve ser considerado, e neste contexto os carbapenemos parecem seleccionar resistência às cefalosporinas, embora o oposto não se observe.[24]

Para os clínicos, a escolha dos antibióticos para a terapêutica empírica em infecções por *Pseudomonas* deve ser influenciada pelas informações regionais e pelos perfis de resistência observados no

local.[19] Como nenhum dos antibióticos usados nas infecções nosocomiais não atingiu 90% de susceptibilidade as recomendações para o tratamento empírico não é fácil, embora a piperacilina com tazobactam e o meropenemo pareçam ser uma boa escolha para a terapia inicial. No entanto a monoterapia não parece muito aconselhável pela possibilidade de fazer emergir estirpes resistentes durante o tratamento. Por este motivo, uma terapia combinada parece ser a mais acertada, em que se utiliza um ß-lactâmico (carbapenemo ou piperacilina com tazobactam) e um aminoglicosídeo (amicacina) quando se suspeita de *P. aeruginosa* e a infecção é grave.[25] Entre os isolados de ambulatório todos os ß-lactâmicos serão uma boa escolha, até este momento, pois esses isolados ainda são sensíveis a esta classe de antibióticos.

Em conclusão, os estudos de vigilância da sensibilidade aos antibióticos são importantes para desenvolver uma terapia empírica mais racional e para levar a esforços no sentido de controlar e prevenir a disseminação de estirpes resistentes, especialmente se essas estirpes denotarem uma propensão para adquirir resistência, como a *P. aeruginosa* que é reconhecida como uma importante ameaça de saúde pública.

/ Bibliografia

1. Vicent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HÁ, White J, Nicolas-Chanion MH, Wolff M, Spencer RC, Hemmer M. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European prevalence of infection in intensive care (EPIC) study. J Am Med Association 1995; 274: 639-644.

2. Giamarellou H. Prescribing guidelines for severe *Pseudomonas* infections. J Antimicrob Chemother. 2002; 49: 229-233.

3. Rossoloni GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Microbiol Infect. 2005; 11 (Suppl.4): 17-32.

4. Carmelli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, Samore MH. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43: 1379-1382.

5. Stein A, Raoult D. Colistin: an antimicrobial for 21st century? Clin Infect Dis. 2002; 35: 901-902.

6. Jones RN, Kirby JT, Beach ML, Biendenbach DJ, Pfaller MA. Geographic variations in activity of broad-spectrum ß-lactams against *Pseudomonas aeruginosa*: summary of the worldwide SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2000). Diag Microbiol Infect Dis. 2002; 43: 239-243.

7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 12th informational Supplement M100-S13. NCCLS, Wayne, PA, USA 2003.

8. Harris A, Torres-Viera C, Venkataraman L, DeGirolami P, Samore M, Carmeli Y. Epidemiology and clinical outcomes of patients with multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Infect Dis. 1999; 28: 1128-1133.

9. Kollef M. Appropriate empirical antibacterial therapy for nosocomial infections: getting it right the first time. Drugs 2003; 63: 2157-2168.

10. Masterton R., Drusano G., Paterson D L, Park G. Appropriate antimicrobial treatment in nosocomial infections-the clinical challenges. J Hosp Infect. 2003; 55 (Suppl. 1): 1-12.

11. Oie S, Uematsu T, Sawa A, Mizuno H, Tomita M, Ishida S, Okano Y, Kamiya A. In vitro effects of combination of antipseudomonal agents against seven strains of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother. 2003; 52: 911-914.

12. Turner PJ. MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) a global overview. J Antimicrob Chemother. 2000; 46: 9-23.

13. Melo-Cristino J, Alves AF, Amorim JM, Diogo J, Lito LM, Lopes P, Marques J, Marques T, Martins F, Monteiro L, Nascimento I, Pessanha MA, Piedade J, Ramos MH, Ribeiro G, Rodrigues A, Salgado MJ, Sobral L, Spencer O. Estudo multicêntrico de resistência aos antimicrobianos em nove hospitais portugueses. Rev. Port. D. Infec. 2006; 2: 7-15.

14. Groupe d'Etude de la Resistance de *P. aeruginosa* aux Beta-lactamines (GERPB) Evolution de la resistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* en France de 1994 à 1998. Lettre de l'Infectiologue 2000; XV: 18-23.

15. Bonfiglio G, Garciotto V, Russo G, Stefani S, Schito GC, Debbia E, Nicoletti G. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: an italian survey. J Antimicrob Chemother. 1998; 41: 307-310.

16. Bouza E, Garcia-Garrote F, Cercenado E, Marin M, Diaz, MS. *Pseudomonas aeruginosa*: a survey of resistance in 136 hospitals of Spain. Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43: 981-982.

17. Van Eldere J. Multicentre surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections. J Antimicrob Chemother. 2003; 51: 347-352

18. Mendes C, Turner P, MYSTIC Study Group (Europe) Unit Differences in pathogen occurrence arising from MYSTIC Program European database (1997-2000). Diagn Microbiol Infect Dis. 2001; 41: 191-196.

19. Jones R, Kirby J, Beach M, Biedenbach D, Pfaller M. Geographic variations in activity of broad-spectrum ß-lactams against *Pseudomonas aeruginosa*: summary of the worldwide SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2000). Diagn Microbiol Infect Dis. 2002; 43: 239-243.

20. Ferech M, Coenen S, Malhotra-Kumar S, Dvorakova K, Hendrickx E, Suetens C, Goossens H on Behalf of the ESAC Project Group. European Surveillance of antimicrobial consumption (ESAC): outpatient quinolone use in Europe. J Antimicrob Chemother. 2006; 58: 423-427.

21. Karlowsky J, Draghi D, Jones M, Thornsberry C, Friedland I, Sham D. 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.

22. Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50: 43-48.

23. Desphande L, Frittsche T, Jones R. Molecular epidemiology of selected multidrug-resistant bacteria: A global report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Diagn Microbiol Infect Dis. 2004; 49: 231-236.

24. Juan C, Gutiérriez O, Oliver A, Ayestarán J, Borrell N, Pérez J. Contribution of clonal dissemination and selection of mutants during therapy to *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial resistance in an intensive care unit setting. Clin Microbiol Infect. 2005; 11: 887-892.

25. Fluit A, Verhoef J, Schmitz F, and the European SENTRY Participants. Antimicrobial resistance in European isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Eur J Microbiol Infect Dis. 2000; 19: 370-374.