



PNEUMONIE À PSEUDOMONAS AERUGINOSA : ASPECTS THÉRAPEUTIQUES

**Benoît Guery (1,2), Eric Kipnis (2,3), Guillaume Béraud (1),
Karine Faure (1,2)**

(1) Service de Gestion du Risque Infectieux et des Vigilances, CHRU
Lille

(2) Laboratoire Régional de Recherche en Pathologie Infectieuse, EA
2689, Faculté de Médecine de Lille

(3) Réanimation Chirurgicale, Pôle d'Anesthésie-Réanimation Huriez,
CHRU Lille

INTRODUCTION

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) est une bactérie à Gram négatif environnementale responsable d'un grand nombre d'infections nosocomiales. Ce pathogène est particulièrement associé aux infections dans certains groupes de patients à risques lors de situations aiguës [1] (pneumonies acquises sous ventilation mécanique) ou chroniques [2-4] (mucoviscidose, broncho-pneumonie chronique obstructive) [5]. La morbi-mortalité associée à cette infection reste, malgré l'utilisation de molécules actives, relativement élevée, pouvant atteindre 30 % de mortalité attribuable [6]. En 2000, la séquence complète du génome de *P. aeruginosa* a été publiée et révélait le plus large génome bactérien séquencé à ce jour (6.3 Mb). Ce génome contient un nombre important de gènes régulateurs impliqués dans le métabolisme, le transport, et la virulence [7].

1. PHYSIOPATHOLOGIE

La physiopathologie des infections des voies respiratoires à *P. aeruginosa* est un élément important qui dans le cadre de la multi-résistance croissante pourrait permettre d'ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques. Pour *P. aeruginosa*, celle-ci est multifactorielle, complexe et fait intervenir des facteurs liés à l'individu, et des facteurs de virulence bactériens dont la multiplicité peut expliquer le caractère invasif de ce pathogène.

1.1. FACTEURS LIÉS AUX PATIENTS

La clairance de *P. aeruginosa* des voies respiratoires nécessite la coordination de plusieurs effecteurs, dont l'épithélium du tractus respiratoire et les cellules phagocytaires résidentes et recrutées. Outre ce système immunitaire inné, la réponse immunitaire acquise est également essentielle à une défense effective. L'épithélium respiratoire joue le rôle de barrière physique et contribue à la clairance mucociliaire par les battements ciliaires. De plus, de nombreuses cascades de signalisation cellulaire conduisent à l'expression de mucines, de peptides antimicrobiens, de chémokines permettant le recrutement et l'activation des polynucléaires neutrophiles [8-10]. Plusieurs travaux expérimentaux ont montré le rôle essentiel des récepteurs de type Toll dans la clairance bactérienne pulmonaire [11, 12]. Bien que les macrophages alvéolaires soient les premiers éléments de réponse cellulaire par leur fonction phagocytaire, pro-inflammatoire et anti-bactérienne, leur rôle n'a pas été clairement défini dans l'infection pulmonaire aiguë à *P. aeruginosa*. A l'opposé, les polynucléaires neutrophiles jouent un rôle majeur [8, 13] ; de ce fait la neutropénie est un terrain idéal au développement d'une pneumonie sévère. La mise en jeu de tous ces mécanismes est intriquée avec la production de cytokines et chémokines.

Ainsi, toute dysfonction favorisant la progression, l'adhésion et/ou la prolifération de *P. aeruginosa* est un facteur prédisposant à la colonisation ou l'infection. Par exemple, l'intubation trachéale altère la barrière entre l'oropharynx et la trachée avec des perturbations de la clairance mucociliaire, une toux moins efficace et favorise l'entrée des pathogènes. Les anomalies de la barrière muqueuse, par exemple les mucites induites par la chimiothérapie anticancéreuse, représentent un autre facteur favorisant. Dans la mucoviscidose, le dysfonctionnement du récepteur CFTR au niveau de l'épithélium respiratoire et des glandes muqueuses aurait plusieurs implications dans la colonisation par *P. aeruginosa*, et notamment la production d'un mucus visqueux « déshydraté » interférant avec la clairance mucociliaire, induisant une lésion de la barrière épithéliale respiratoire et exposant de nouveaux récepteurs de surface [14-17]. De plus, ces patients présentent des perturbations qualitatives et quantitatives du surfactant, notamment de SP-A et SP-D qui sont impliquées dans la réponse immunitaire innée anti-pseudomonas [18].

1.2. FACTEURS LIÉS À LA BACTÉRIE

P. aeruginosa est caractérisé par la complexité des mécanismes de virulence dont il dispose intervenant à toutes les étapes du processus infectieux. La première étape de la pathogénicité fait intervenir l'adhésion initiale du pathogène au niveau de l'épithélium respiratoire. Cette adhésion implique le flagelle, les lectines (PAII et PAIII) ainsi que les pili de type IV [19-24]. Au décours de cette première phase, *P. aeruginosa* est capable de produire un grand nombre de facteurs de virulence par différents systèmes de sécrétion (Type I à III, et VI). Ces différents produits ont pour but d'induire une lésion tissulaire avec une atteinte épi et/ou endothéliale [25-27]. Les lectines ont en particulier montré in vitro un potentiel pathogène spécifique ou une capacité plus importante de génération de biofilm [28-31].

Parmi les facteurs de virulence, le système de sécrétion de type III (SSTT) tient un rôle particulier. Les exotoxines produites par le SSTT sont au nombre de quatre : ExoS, S, T et Y [32, 33]. ExoS et ExoU sont les plus toxiques mais elles

ont une présence mutuellement exclusive chez les différentes souches [34], ExoU semble cependant présenter une pathogénicité particulière. In vitro, Sawa et al ont montré son rôle dans la pathogénicité de *P. aeruginosa* [35]. Dans un modèle de pneumonie, la même équipe a montré qu'ExoU était associé à une décompartmentalisation de la réponse inflammatoire responsable du choc septique au sein de ce modèle [36]. Ces données ont pu être confirmées en clinique : Roy-Burman et al ont montré que les souches exprimant le SSTT étaient associées à un risque relatif de mortalité 6 fois plus élevé par rapport aux souches de phénotype négatif [37]. Ce risque relatif augmentait à 8,7 pour les patients infectés par une souche exprimant PcrV. Plusieurs autres études ont présenté des résultats concordants avec l'étude précédente chez les patients présentant une pneumonie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) à *P. aeruginosa* ou chez les brûlés [38, 39].

Le dernier aspect lié aux mécanismes de pathogénicité majeurs de *P. aeruginosa* est sa capacité à coordonner l'expression de nombreux gènes en fonction de la densité bactérienne via le quorum sensing [40, 41]. Deux systèmes sont présents chez *P. aeruginosa* : RhlI/R et LasI/R, ils régulent la production de multiples facteurs de virulence dont le SSTT et la production de lectines [42-45]. Tout comme pour le SSTT, le rôle du quorum sensing a été clairement démontré au sein de différents modèles et en clinique humaine [46-50].

2. LA RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

P. aeruginosa présente une résistance naturelle à un grand nombre de molécules antibiotiques : les amino-pénicillines, les céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème} ou 3^{ème} génération (céfotaxime, ceftriaxone), les anciennes fluoroquinolones (péfloxacin, norfloxacin), mais aussi les tétracyclines, et le cotrimoxazole. Associé à cela, *P. aeruginosa* se caractérise par son aptitude à développer une résistance à pratiquement toutes les molécules antibiotiques disponibles en thérapeutique aboutissant à l'extrême à la multirésistance ou « totorésistance ». La multirésistance est généralement complexe reposant sur l'association de plusieurs mécanismes (impermeabilité membranaire, enzymatique, mutation de cible et efflux actif, hyperexpression de céphalosporinase chromosomique constitutive, acquisition d'enzymes plasmidiques, la modification de perméabilité membranaire, la mutation de cible des fluoroquinolones) [51, 52].

3. LES OPTIONS THÉRAPEUTIQUES

Le rationnel d'utilisation des molécules dirigées contre *P. aeruginosa* repose sur les relations existant au sein du trio hôte/pathogène/antibiotique.

3.1. PATHOGENE ET MOLÉCULES

Concernant le pathogène tout d'abord, *P. aeruginosa* est associé à une fréquence importante d'émergence de résistants. Dans une étude regroupant 14 000 patients, *P. aeruginosa* était le pathogène associé au pourcentage le plus élevé d'émergence de résistants (15,4 %) [53]. Ces données sont cohérentes avec d'autres études qui ont montré in vivo et dans des modèles animaux, une fréquence importante d'émergence de résistance dans les infections liées à *P. aeruginosa* [54, 55].

Le choix de la molécule employée est un élément important de la prise en charge et ce quel que soit le niveau de sensibilité mesuré par la concentration minimale inhibitrice (CMI). L'un des premiers points est la sensibilité de celle-ci à l'effet inoculum, en effet certaines molécules comme la pipéracilline sont particulièrement sensibles et voient donc leur CMI augmenter en présence d'un inoculum large. Un second groupe est modérément touché (ticarcilline, ceftazidime, quinolones, céfépime). Les aminosides et l'imipénème sont par contre peu touchés par celui-ci [56]. De la même manière, l'utilisation préalable d'un agent est associée avec une augmentation de l'émergence de résistance à ce dernier, ceci a été clairement démontré avec l'imipénème à la fois en analyse monovariée et multivariée [57-59]. Un travail réalisé sur un collectif de 13 999 souches a ainsi permis de démontrer que l'une des combinaisons permettant de prévenir l'émergence de résistance était composée d'une association de type pipéracilline-tazobactam avec de la tobramycine, et que d'autre part, l'utilisation d'une quinolone était systématiquement associée à une augmentation de l'émergence de résistance [60]. Ceci peut s'expliquer par des arguments de pharmacodynamie que nous développerons dans le chapitre suivant.

3.2. PHARMACODYNAMIE

Le bon usage des anti-infectieux passe par une utilisation adéquate des molécules indexée sur leurs caractéristiques de pharmacodynamie. Deux classes de molécules peuvent être individualisées, les molécules concentration-dépendantes et temps-dépendantes. Parmi les concentration-dépendantes on distingue les aminosides et les fluoroquinolones.

Pour les aminosides, le principal critère d'efficacité est le rapport de la concentration au pic à la CMI du germe. Différentes études ont montré une relation directe entre ce rapport et l'efficacité clinique [61]. Cet élément est le premier argument plaidant pour une administration en dose unique. Le second aspect plaidant pour celle-ci est le phénomène de résistance adaptative qui correspond à une élévation régulière de la CMI de la population bactérienne sous l'action de l'administration répétée d'aminosides. Ce phénomène est réversible et correspond à une diminution de perméabilité de la bactérie. Dans un travail réalisé *in vitro*, Karlowsky et al ont montré qu'à dose journalière équivalente, un fractionnement de la dose était associé avec une augmentation significative de la CMI de *P. aeruginosa* à la tobramycine, une baisse de la bactéricidie, et une diminution de l'effet post-antibiotique [62]. Ceci fut confirmé dans un modèle d'endocardite chez le lapin, et chez l'homme dans la mucoviscidose [63, 64].

Les fluoroquinolones sont aussi des molécules concentration-dépendantes dont le critère d'efficacité principal est le rapport de l'aire sous la courbe à la CMI (AUC). En effet, plusieurs études ont montré un rapport direct entre une AUC supérieure à 100 et l'efficacité clinique. L'étude princeps de Forrest et al a été réalisée sur 64 patients traités par ciprofloxacine, le pourcentage de patients guéris cliniquement et avec éradication microbiologique était significativement plus élevé si l'AUC était supérieure à 125 [65]. Craig et al ont ensuite montré qu'une AUC inférieure à 100 était associée à une augmentation significative de l'émergence de mutants résistants qui, lorsque l'on se focalisait sur *P. aeruginosa*, passait de 25 % à 100 % [66]. Ces données ont été confirmées dans d'autres travaux [67].

Les bêta-lactamines sont des molécules temps dépendantes, le principal critère d'efficacité est le pourcentage de temps où la concentration est supérieure à la CMI du germe considéré. Ce pourcentage est situé pour la plupart des couples antibiotique/pathogène entre 40 et 60 % [66]. Il est cependant important de savoir que la concentration obtenue au-dessus de la CMI est aussi un facteur essentiel, en effet, l'exposition dans une fenêtre proche de la CMI permet de définir la notion de concentration subinhibitrice et de fenêtre de sélection de mutants résistants. La aussi les bêta-lactamines ne sont pas équivalentes : le céfépime ou l'imipénème sont associés avec une fréquence d'émergence de mutants plus basse [68]. L'existence de cette fenêtre de sélection permet de justifier de l'utilisation de certaines bêta-lactamines en perfusion continue permettant ainsi d'obtenir un temps au-dessus de la CMI de 100 % avec des valeurs 4 à 5 fois supérieure à celle-ci. Cette notion a été validée avec la ceftazidime. Dans un modèle expérimental de pneumonie à *Klebsiella* chez le rat, l'administration continue a permis de diminuer significativement la dose totale journalière protégeant 50 % des animaux de 13,06 mg.kg⁻¹.j⁻¹ à 1,08 mg.kg⁻¹.j⁻¹ [69]. Ces données ont été validées chez des patients de réanimation où l'administration continue de ceftazidime avec dose de charge était associée à une meilleure efficacité, et une baisse du coût [70-72]. Dans un autre travail réalisé par Lipman et al, les auteurs ont montré que dans les 40 heures suivant une dose de charge de 12 mg.kg⁻¹ de ceftazidime suivie de la perfusion continue de 6 g par 24 h, 100 % des patients obtenaient une concentration plasmatique supérieure à 40 mg.l⁻¹ (5 fois la CMI), le groupe traité par 3 bolus de 2 g toutes les 8 h n'atteignait cette concentration que dans 20 à 30 % des cas [73]. Récemment le doripénème administré sur une perfusion allongée de 4 h a montré un intérêt dans le cadre de la pneumonie acquise sous ventilation mécanique avec un avantage dans le sous-groupe des patients infectés par *P. aeruginosa* [74]. L'ensemble de ces données plaide pour optimisation des doses mais aussi des modes d'administration des antibiotiques dans les infections liées à *P. aeruginosa*.

3.3. MONOTHÉRAPIE OU ASSOCIATION

Les études prospectives randomisées comparant une monothérapie versus une association d'antibiotiques sont extrêmement rares ; par conséquent, les données cliniques sont insuffisantes pour aboutir une attitude consensuelle [75, 76]. Malgré la publication d'une méta-analyse suggérant la non prévention d'émergence de résistance par l'association β -lactamines et aminosides versus β -lactamines seules (Cochrane), il est bien établi que la thérapeutique anti-pyocyanique dans les cas sévères repose sur un petit nombre de molécules anti-infectieuses devant être administrées en association, pour en potentialiser l'action, et minimiser l'émergence de mutants résistants. Ceci est d'ailleurs suggéré par une étude qui se centre sur la durée de traitement, en effet, avec une antibiothérapie initiale adaptée, une durée de traitement de 8 jours n'est pas inférieure, en termes de succès, à une durée de 15 jours, à l'exception de *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et *Stenotrophomonas maltophilia* où le taux de rechute est plus élevé (40 % dans le bras 8 jours versus 25,4 % dans le bras 15 jours) [77].

3.4. LA MULTIRÉSISTANCE

L'émergence et la diffusion au niveau hospitalier de souches multirésistantes voire totorésistantes ont compliqué la prise en charge des patients [78].

Cette multirésistance correspond généralement comme nous l'avons souligné précédemment à une association de mécanismes. Plusieurs études ont tenté d'individualiser les facteurs favorisant l'émergence de la multirésistance. Dans une revue systématique, Falagas et al ont analysé 17 études multivariées et 8 monovariées [79]. Les résultats montrent que l'utilisation antérieure d'antibiotiques est un facteur favorisant (carbapénèmes, fluoroquinolones, céphalosporines de 3^{ème} génération et bêta-lactamines à spectre large), 3 autres facteurs sont retrouvés : la ventilation mécanique, le séjour en réanimation et à l'hôpital, et l'existence de co-morbidités. Face à ce challenge représenté par ces pathogènes, des molécules autrefois écartées ont été réintégrées dans l'arsenal thérapeutique. Dans un travail portant sur 23 patients, Linden et al ont utilisé la colistine en sauvetage thérapeutique avec des résultats favorables dans 14 cas [80]. Une étude prospective portant sur 185 patients a comparé 55 patients traités par colistine à 130 patients pris en charge sans cette molécule [81]. Si les résultats de mortalité étaient équivalents dans les deux groupes, les patients du groupe colistine avaient une antibiothérapie initiale inadéquate dans 100 % des cas (vs 8 %), et un délai de mise en route de l'antibiothérapie de 96 h (vs 12 h). L'une des principales limitations de l'utilisation de la colistine était liée à sa toxicité rénale et neurologique. Des travaux récents ont montré, toujours dans le contexte de la multirésistance, une tolérance tout à fait correcte de cette molécule au niveau rénal [82-84]. Des associations avec la colistine ont été testées *in vitro* sur des souches multirésistantes et ont montré un effet additif voire synergique (rifampicine, méropénème, doxycycline, azithromycine) [85]. L'association colistine-rifampicine a montré dans un modèle animal de péritonite sa supériorité par rapport à la colistine seule [86]. *In vitro*, Oie et al ont montré sur 7 isolats multirésistants une efficacité de la triple association ceftazidime, pipéracilline, amikacine, ou, ceftazidime, aztréonam, amikacine [87].

Si les options thérapeutiques sont de plus en plus limitées, la recherche physiopathologique a permis d'obtenir de nombreuses pistes qui sont actuellement explorées. Les lectines représentent l'un des premiers facteurs d'interaction entre *P. aeruginosa* et la cellule épithéliale. Ces lectines ont été associées à la virulence et à la constitution du biofilm [23, 28-30], une étude récente montre que l'inhibition de celles-ci par des sucres de haute affinité peut diminuer la lésion de la barrière alvéolo-capillaire [88]. Le système de sécrétion de type III est un acteur majeur de la lésion pulmonaire, des anticorps monoclonaux ont montré une efficacité dans le traitement de l'infection chez l'animal [89, 90], un protocole de phase II est actuellement en cours chez l'homme. Le quorum sensing régule la production de nombreux facteurs de virulence, les macrolides ont la capacité d'inhiber celui-ci. Plusieurs études ont montré une inhibition de virulence lors de l'administration de macrolides [91, 92]. Pour terminer, la vaccinologie anti-pyocyanique représente un domaine de recherche en plein essor avec des essais cliniques en cours [93, 94].

CONCLUSION

P. aeruginosa est un pathogène se caractérisant par sa virulence, ses multiples mécanismes de résistance, et son adaptabilité à l'hôte et l'environnement. Sa prise en charge devient actuellement de plus en plus problématique avec l'incidence croissante des souches multirésistantes. Ceci nous oriente donc soit vers d'anciennes molécules, de nouvelles associations, ou encore vers

des pistes thérapeutiques issues de la recherche fondamentale. Cet aspect est probablement très important dans un contexte international de carence en nouvelles molécules

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165(7):867-903
- [2] Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168(8):918-951
- [3] Pier GB. CFTR mutations and host susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *Curr Opin Microbiol* 2002;5(1):81-86
- [4] Saiman L, Siegel J. Infection control in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2004;17(1):57-71
- [5] Navon-Venezia S, Ben Ami R, Carmeli Y. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. *Curr Opin Infect Dis* 2005;18(4):306-313
- [6] Fagon JY, Chastre J, Vuagnat A, Trouillet JL, Novara A, Gibert C. Nosocomial pneumonia and mortality among patients in intensive care units. *JAMA* 1996;275(11):866-869
- [7] Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, Mizoguchi SD, Warriner P, Hickey MJ et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an opportunistic pathogen. *Nature* 2000;406(6799):959-964
- [8] Tsai WC, Strieter RM, Mehrad B, Newstead MW, Zeng X, Standiford TJ. CXCR2 is essential for protective innate host response in murine *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Infect Immun* 2000;68(7):4289-4296
- [9] Singh PK, Jia HP, Wiles K, Hesselberth J, Liu L, Conway BA et al. Production of beta-defensins by human airway epithelia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(25):14961-14966
- [10] Li JD, Dohrman AF, Gallup M, Miyata S, Gum JR, Kim YS et al. Transcriptional activation of mucin by *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide in the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(3):967-972
- [11] Faure K, Sawa T, Ajayi T, Fujimoto J, Moriyama K, Shime N et al. TLR4 signaling is essential for survival in acute lung injury induced by virulent *Pseudomonas aeruginosa* secreting type III secretory toxins. *Respir Res* 2004;5(1):1
- [12] Soong G, Reddy B, Sokol S, Adamo R, Prince A. TLR2 is mobilized into an apical lipid raft receptor complex to signal infection in airway epithelial cells. *J Clin Invest* 2004;113(10):1482-1489
- [13] Morissette C, Francoeur C, Darmond-Zwaig C, Gervais F. Lung phagocyte bactericidal function in strains of mice resistant and susceptible to *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun* 1996;64(12):4984-4992
- [14] Dosanjh A, Lencer W, Brown D, Ausiello DA, Stow JL. Heterologous expression of delta F508 CFTR results in decreased sialylation of membrane glycoconjugates. *Am J Physiol* 1994;266(2 Pt 1):C360-C366
- [15] FitzSimmons SC. The changing epidemiology of cystic fibrosis. *J Pediatr* 1993;122(1):1-9
- [16] Koch C, Hoiby N. Pathogenesis of cystic fibrosis. *Lancet* 1993;341(8852):1065-1069
- [17] Krivan HC, Ginsburg V, Roberts DD. *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas cepacia* isolated from cystic fibrosis patients bind specifically to gangliotetraosylceramide (asialo GM1) and gangliotriaosylceramide (asialo GM2). *Arch Biochem Biophys* 1988;260(1):493-496
- [18] Faure K, LeBerre R, Guery B. [*Pseudomonas aeruginosa* and Surfactant-associated Proteins A and D]. *Med Mal Infect* 2006;36(2):63-71
- [19] Comolli JC, Waite LL, Mostov KE, Engel JN. Pili binding to asialo-GM1 on epithelial cells can mediate cytotoxicity or bacterial internalization by *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun* 1999;67(7):3207-3214
- [20] Feldman M, Bryan R, Rajan S, Scheffler L, Brunnert S, Tang H et al. Role of flagella in pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection. *Infect Immun* 1998;66:43-51
- [21] Hahn HP. The type-4 pilus is the major virulence-associated adhesin of *Pseudomonas aeruginosa*—a review. *Gene* 1997;192(1):99-108

- [22] Kirkeby S, Hansen AK, d'Apice A, Moe D. The galactophilic lectin (PA-IL, gene LecA) from *Pseudomonas aeruginosa*. Its binding requirements and the localization of lectin receptors in various mouse tissues. *Microb Pathog* 2006
- [23] Mewe M, Tielker D, Schonberg R, Schachner M, Jaeger KE, Schumacher U. *Pseudomonas aeruginosa* lectins I and II and their interaction with human airway cilia. *J Laryngol Otol* 2005;119(8):595-599
- [24] Sonawane A, Jyot J, Ramphal R. *Pseudomonas aeruginosa* LecB is involved in pilus biogenesis and protease IV activity but not in adhesion to respiratory mucins. *Infect Immun* 2006;74(12):7035-7039
- [25] Mariencheck WI, Alcorn JF, Palmer SM, Wright JR. *Pseudomonas aeruginosa* elastase degrades surfactant proteins A and D. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;28(4):528-537
- [26] Azghani AO. *Pseudomonas aeruginosa* and epithelial permeability : role of virulence factor elastase and exotoxin A. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996;15:132-140
- [27] Wieland CW, Siegmund B, Senaldi G, Vasil ML, Dinarello CA, Fantuzzi G. Pulmonary inflammation induced by *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide, phospholipase C, and exotoxin A: role of interferon regulatory factor 1. *Infect Immun* 2002;70(3):1352-1358
- [28] Bajolet-Laudinat O, Girod-de Bentzmann S, Tournier JM, Madoulet C, Plotkowski MC, Chippaux C et al. Cytotoxicity of *Pseudomonas aeruginosa* internal lectin PA-I to respiratory epithelial cells in primary culture. *Infect Immun* 1994;62(10):4481-4487
- [29] Diggle SP, Stacey RE, Dodd C, Camara M, Williams P, Winzer K. The galactophilic lectin, LecA, contributes to biofilm development in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Microbiol* 2006;8(6):1095-1104
- [30] Laughlin RS, Musch MW, Hollbrook CJ, Rocha FM, Chang EB, Alverdy JC. The key role of *Pseudomonas aeruginosa* PA-I lectin on experimental gut-derived sepsis. *Ann Surg* 2000;232(1):133-142
- [31] Wu L, Holbrook C, Zaborina O, Ploplys E, Rocha F, Pelham D et al. *Pseudomonas aeruginosa* expresses a lethal virulence determinant, the PA-I lectin/adhesin, in the intestinal tract of a stressed host: the role of epithelia cell contact and molecules of the Quorum Sensing Signaling System. *Ann Surg* 2003;238(5):754-764
- [32] Galan JE, Collmer A. Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells. *Science* 1999;284(5418):1322-1328
- [33] Hueck CJ. Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animal and plants. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:379-433
- [34] Feltman H, Schulert G, Khan S, Jain M, Peterson L, Hauser AR. Prevalence of type III secretion genes in clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology* 2001;147(Pt 10):2659-2669
- [35] Sawa T, Yahr TL, Ohara M, Kurahashi K, Gropper MA, Wiener-Kronish JP et al. Active and passive immunization with the *Pseudomonas V* antigen protects against type III intoxication and lung injury. *Nat Med* 1999;5(4):392-398
- [36] Kurahashi K, Kajikawa O, Sawa T, Ohara M, Gropper MA, Frank DW et al. Pathogenesis of septic shock in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *J Clin Invest* 1999;104(6):743-750
- [37] Roy-Burman A, Savel RH, Racine S, Swanson BL, Revadigar NS, Fujimoto J et al. Type III protein secretion is associated with death in lower respiratory and systemic *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Infect Dis* 2001;183(12):1767-1774
- [38] Hauser AR, Cobb E, Bodi M, Mariscal D, Valles J, Engel JN et al. Type III protein secretion is associated with poor clinical outcomes in patients with ventilator-associated pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Crit Care Med* 2002;30(3):521-528
- [39] Holder IA, Neely AN, Frank DW. Type III secretion/intoxication system important in virulence of *Pseudomonas aeruginosa* infections in burns. *Burns* 2001;27(2):129-130
- [40] de Kievit TR, Iglewski BH. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect Immun* 2000;68(9):4839-4849
- [41] Pesci EC, Pearson JP, Seed PC, Iglewski BH. Regulation of las and rhl quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 1997;179(10):3127-3132
- [42] Blevess S, Soscia C, Nogueira-Orlandi P, Lazdunski A, Filloux A. Quorum sensing negatively controls type III secretion regulon expression in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *J Bacteriol* 2005;187(11):3898-3902

- [43] Hogardt M, Roeder M, Schreff AM, Eberl L, Heesemann J. Expression of *Pseudomonas aeruginosa* exoS is controlled by quorum sensing and RpoS. *Microbiology* 2004;150(Pt 4):843-851
- [44] Pearson JP, Pesci EC, Iglewski BH. Roles of *Pseudomonas aeruginosa* las and rhl quorum-sensing systems in control of elastase and rhamnolipid biosynthesis genes. *J Bacteriol* 1997;179(18):5756-5767
- [45] Winzer K, Falconer C, Garber NC, Diggle SP, Camara M, Williams P. The *Pseudomonas aeruginosa* lectins PA-IL and PA-IIL are controlled by quorum sensing and by RpoS. *J Bacteriol* 2000;182(22):6401-6411
- [46] Le Berre R, Nguyen S, Nowak E, Kipnis E, Pierre M, Ader F et al. Quorum-sensing activity and related virulence factor expression in clinically pathogenic isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(4):337-343
- [47] Lesprit P, Faurisson F, Join-Lambert O, Roudot-Thoraval F, Foglino M, Vissuzaine C et al. Role of the quorum-sensing system in experimental pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa* in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167(11):1478-1482
- [48] Ruimy R, Andreumont A. Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* : molecular mechanism, clinical impact, and inhibition. *Reanimation* 2004;13:176-184
- [49] Rumbaugh KP, Griswold JA, Iglewski BH, Hamood AN. Contribution of quorum sensing to the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* in burn wound infections. *Infect Immun* 1999;67(11):5854-5862
- [50] Rumbaugh KP, Griswold JA, Hamood AN. The role of quorum sensing in the in vivo virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbes Infect* 2000;2(14):1721-1731
- [51] Bert F, Lambert-Zechovsky N. [Current microbiological problems. Antibiotic resistance and therapeutic problems raised by *Pseudomonas aeruginosa*]. *Presse Med* 1999;28(8):451-458
- [52] Mesaros N, Nordmann P, Plesiat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y et al. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. *Clin Microbiol Infect* 2007;13(6):560-578
- [53] Fish DN, Piscitelli SC, Danziger LH. Development of resistance during antimicrobial therapy: a review of antibiotic classes and patient characteristics in 173 studies. *Pharmacotherapy* 1995;15(3):279-291
- [54] Thomas JK, Forrest A, Bhavnani SM, Hyatt JM, Cheng A, Ballow CH et al. Pharmacodynamic evaluation of factors associated with the development of bacterial resistance in acutely ill patients during therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42(3):521-527
- [55] Pechere JC, Marchou B, Michea-Hamzehpour M, Auckenthaler R. Emergence of resistance after therapy with antibiotics used alone or combined in a murine model. *J Antimicrob Chemother* 1986;17 Suppl A:11-18
- [56] Brook I. Inoculum effect. *Rev Infect Dis* 1989;11(3):361-368
- [57] Carmeli 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(6):1379-1382
- [58] Harris AD, Smith D, Johnson JA, Bradham DD, Roghmann MC. Risk factors for imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 2002;34(3):340-345
- [59] Harris AD, Samore MH, Lipsitch M, Kaye KS, Perencevich E, Carmeli Y. Control-group selection importance in studies of antimicrobial resistance: examples applied to *Pseudomonas aeruginosa*, Enterococci, and *Escherichia coli*. *Clin Infect Dis* 2002;34(12):1558-1563
- [60] Obritsch MD, Fish DN, MacLaren R, Jung R. National surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from intensive care unit patients from 1993 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(12):4606-4610
- [61] Moore RD, Lietman PS, Smith CR. Clinical response to aminoglycoside therapy: importance of the ratio of peak concentration to minimal inhibitory concentration. *J Infect Dis* 1987;155(1):93-99
- [62] Karlowsky JA, Zhanel GG, Davidson RJ, Hoban DJ. Postantibiotic effect in *Pseudomonas aeruginosa* following single and multiple aminoglycoside exposures in vitro. *J Antimicrob Chemother* 1994;33(5):937-947
- [63] Xiong YQ, Caillon J, Kergueris MF, Drugeon H, Baron D, Potel G et al. Adaptive resistance of *Pseudomonas aeruginosa* induced by aminoglycosides and killing kinetics in a rabbit endocarditis model. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41(4):823-826

- [64] Barclay ML, Begg EJ, Chambers ST, Thornley PE, Pattemore PK, Grimwood K. Adaptive resistance to tobramycin in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother* 1996;37(6):1155-1164
- [65] Forrest A, Nix DE, Ballou CH, Goss TF, Birmingham MC, Schentag JJ. Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37(5):1073-1081
- [66] Craig WA. Does the dose matter? *Clin Infect Dis* 2001;33 Suppl 3:S233-S237
- [67] Peloquin CA, Cumbo TJ, Nix DE, Sands MF, Schentag JJ. Evaluation of intravenous ciprofloxacin in patients with nosocomial lower respiratory tract infections. Impact of plasma concentrations, organism, minimum inhibitory concentration, and clinical condition on bacterial eradication. *Arch Intern Med* 1989;149(10):2269-2273
- [68] Carsenti-Etesse H, Cavallo JD, Roger PM, Ziha-Zarifi I, Plesiat P, Garrabe E et al. Effect of beta-lactam antibiotics on the in vitro development of resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect* 2001;7(3):144-151
- [69] Roosendaal R, Bakker-Woudenberg IA, van den Berg JC, Michel MF. Therapeutic efficacy of continuous versus intermittent administration of ceftazidime in an experimental *Klebsiella pneumoniae* pneumonia in rats. *J Infect Dis* 1985;152(2):373-378
- [70] Young RJ, Lipman J, Gin T, Gomersall CD, Joynt GM, Oh TE. Intermittent bolus dosing of ceftazidime in critically ill patients. *J Antimicrob Chemother* 1997;40(2):269-273
- [71] McNabb JJ, Nightingale CH, Quintiliani R, Nicolau DP. Cost-effectiveness of ceftazidime by continuous infusion versus intermittent infusion for nosocomial pneumonia. *Pharmacotherapy* 2001;21(5):549-555
- [72] Nicolau DP, McNabb J, Lacy MK, Quintiliani R, Nightingale CH. Continuous versus intermittent administration of ceftazidime in intensive care unit patients with nosocomial pneumonia. *Int J Antimicrob Agents* 2001;17(6):497-504
- [73] Lipman J, Gomersall CD, Gin T, Joynt GM, Young RJ. Continuous infusion ceftazidime in intensive care: a randomized controlled trial. *J Antimicrob Chemother* 1999;43(2):309-311
- [74] Chastre J, Wunderink R, Prokocimer P, Lee M, Kaniga K, Friedland I. Efficacy and safety of intravenous infusion of doripenem versus imipenem in ventilator-associated pneumonia: a multicenter, randomized study. *Crit Care Med* 2008;36(4):1089-1096
- [75] Cometta A, Baumgartner JD, Lew D, Zimmerli W, Pittet D, Chopart P et al. Prospective randomized comparison of imipenem monotherapy with imipenem plus netilmicin for treatment of severe infections in nonneutropenic patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38(6):1309-1313
- [76] Fink MP, Snyderman DR, Niederman MS, Leeper KV, Jr., Johnson RH, Heard SO et al. Treatment of severe pneumonia in hospitalized patients: results of a multicenter, randomized, double-blind trial comparing intravenous ciprofloxacin with imipenem-cilastatin. The Severe Pneumonia Study Group. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38(3):547-557
- [77] Chastre J, Wolff M, Fagon JY, Chevret S, Thomas F, Wermert D et al. Comparison of 8 vs 15 days of antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia in adults: a randomized trial. *JAMA* 2003;290(19):2588-2598
- [78] Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect* 2005;11 Suppl 4:17-32
- [79] Falagas ME, Kopterides P. Risk factors for the isolation of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: a systematic review of the literature. *J Hosp Infect* 2006; 64(1):7-15
- [80] Linden PK, Kusne S, Coley K, Fontes P, Kramer DJ, Paterson D. Use of parenteral colistin for the treatment of serious infection due to antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2003;37(11):e154-e160
- [81] Reina R, Estenssoro E, Saenz G, Canales HS, Gonzalvo R, Vidal G et al. Safety and efficacy of colistin in *Acinetobacter* and *Pseudomonas* infections: a prospective cohort study. *Intensive Care Med* 2005;31(8):1058-1065
- [82] Michalopoulos AS, Tsiodras S, Rellos K, Mentzelopoulos S, Falagas ME. Colistin treatment in patients with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria: the renaissance of an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect* 2005;11(2):115-121

- [83] Kallel H, Bahloul M, Hergafi L, Akrouf M, Ketata W, Chelly H et al. Colistin as a salvage therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant bacteria in the ICU. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28(4):366-369
- [84] Kasiakou SK, Michalopoulos A, Soteriades ES, Samonis G, Sermaides GJ, Falagas ME. Combination therapy with intravenous colistin for management of infections due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria in patients without cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(8):3136-3146
- [85] Timurkaynak F, Can F, Azap OK, Demirbilek M, Arslan H, Karaman SO. In vitro activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units. *Int J Antimicrob Agents* 2006
- [86] Cirioni O, Ghiselli R, Orlando F, Silvestri C, Mocchegiani F, Rocchi M et al. Efficacy of colistin/rifampin combination in experimental rat models of sepsis due to a multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strain. *Crit Care Med* 2007;35(7):1717-1723
- [87] Oie S, Uematsu T, Sawa A, Mizuno H, Tomita M, Ishida S et al. In vitro effects of combinations of antipseudomonal agents against seven strains of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2003;52(6):911-914
- [88] Chemani C, Imbert A, de Bentzmann S, Pierre M, Wimmerova M, Guery BP et al. Role of LecA and LecB lectins in *Pseudomonas aeruginosa* induced lung injury and effect of carbohydrates ligands. *Infect Immun* 2009
- [89] Faure K, Fujimoto J, Shimabukuro DW, Ajayi T, Shime N, Moriyama K et al. Effects of monoclonal anti-PcrV antibody on *Pseudomonas aeruginosa*-induced acute lung injury in a rat model. *J Immune Based Ther Vaccines* 2003;1(1):2
- [90] Shime N, Sawa T, Fujimoto J, Faure K, Allmond LR, Karaca T et al. Therapeutic administration of anti-PcrV F(ab')(2) in sepsis associated with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Immunol* 2001;167(10):5880-5886
- [91] Tateda K, Comte R, Pechere JC, Kohler T, Yamaguchi K, van Delden C. Azithromycin inhibits quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(6):1930-1933
- [92] Giamarellos-Bourboulis EJ, Antonopoulou A, Raftogiannis M, Koutoukas P, Tsaganos T, Tziortzioti V et al. Clarithromycin is an effective immunomodulator when administered late in experimental pyelonephritis by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Infect Dis* 2006;6:31
- [93] Cripps AW, Peek K, Dunkley M, Vento K, Marjason JK, McIntyre ME et al. Safety and immunogenicity of an oral inactivated whole-cell *Pseudomonas aeruginosa* vaccine administered to healthy human subjects. *Infect Immun* 2006;74(2):968-974
- [94] Sedlak-Weinstein E, Cripps AW, Kyd JM, Foxwell AR. *Pseudomonas aeruginosa*: the potential to immunise against infection. *Expert Opin Biol Ther* 2005;5(7):967-982