

Pseudomonas aeruginosa resistente a carbapenémicos: susceptibilidad a ceftolozano-tazobactam y ceftazidima-avibactam en el entorno hospitalario. Monterrey, Nuevo León, México. 2017-2018.

✉ Claudia Elena Guajardo-Lara¹, Nayelly Noheми Hernández-Galván¹, Juan Jacobo Ayala-Gaytán^{2,4}, Salvador Bruno Valdovinos-Chávez^{3,4}

- ✉ 1. Laboratorio de microbiología clínica, Sistema TecSalud, Monterrey, Nuevo León, México
- 2. Unidad de infectología y vigilancia epidemiológica, Hospital San José y Hospital Zambrano Hellion, Sistema TecSalud, Monterrey, Nuevo León, México
- 3. División de Medicina, Hospital Metropolitano "Dr. Bernardo Sepúlveda", Monterrey, Nuevo León, México
- 4. Escuela Nacional de Medicina y Ciencias de la Salud TecSalud, Tecnológico de Monterrey, Monterrey, Nuevo León, México

✉ **Autor para correspondencia:** Dr. Juan Jacobo Ayala Gaytán, Unidad de infectología y vigilancia epidemiológica, Hospital San José y Hospital Zambrano Hellion, Sistema TecSalud, Monterrey, Nuevo León, México. Ignacio Morones Prieto 3000 Pte., Monterrey, Nuevo León, México, CP 64710. Tel. +52(81)83471010. Ext. 4060 and 4061, Email: jjag50@hotmail.com

RESUMEN

Pseudomonas aeruginosa ha sido considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) de importancia para la investigación de nuevos antibióticos. Revisamos la susceptibilidad *in vitro* y la producción de carbapenemasas a ceftolozano-tazobactam (C-T) y ceftazidima-avibactam (CZA), en *P. aeruginosa* no susceptible a carbapenémicos. Se recolectaron aislados clínicos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos. La susceptibilidad a C-T y CZA se determinó mediante el método de Kirby-Bauer, además, se utilizó la técnica de inhibición de carbapenémicos modificada. Cuarenta y siete de 330 cepas (14,2%) fueron resistentes a carbapenémicos (> 90% fueron multidrogo-resistentes [MDR]), 30 (63,8%) fueron susceptibles a CZA y 12 (25,2%) a C-T. Se detectaron carbapenemasas en 11 de 37 cepas (29,7%) y metalo- β -lactamasas (MBL) en diez. Las cepas de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos fueron MDR con susceptibilidad a C-T y CZA de menos del 80%.



Palabras Claves:

Pseudomonas aeruginosa;
carbapenemasas; ceftolozano-
tazobactam; ceftazidima-
avibactam.

Keywords:

Pseudomonas aeruginosa;
carbapenemases; ceftolozane-
tazobactam; ceftazidime-
avibactam

ABSTRACT

World Health Organization (WHO) had considered the importance of *Pseudomonas aeruginosa* for the investigation of new antibiotics. We reviewed the *in vitro* susceptibility and the production of carbapenemases of ceftolozane-tazobactam (C-T) and ceftazidime-avibactam (CZA), to *P. aeruginosa* not susceptible to carbapenems.

Clinical isolates of *P. aeruginosa* resistant to carbapenems were collected. Susceptibility to C-T and CZA was determined by Kirby-Bauer method additionally we used the modified carbapenem inhibition technique.

Forty-seven out of 330 strains (14,2%) were resistant to carbapenems (>90% multidrug-resistant [MDR]), 30 (63,8%) were susceptible to CZA, and 12 (25,2%) to C-T. Carbapenemases were detected in 11 out of 37 strains (29,7%), and metallo- β -lactamases (MBL) in ten.

Strains of carbapenem-resistant *P. aeruginosa* were MDR and susceptibility to C-T and CZA of less than 80%.

Copyright © 2020. Este es un artículo open-access distribuido bajo los términos de la *Creative Commons Attribution License (CC BY)*. El uso, distribución o reproducción en otros foros esta permitido, siempre que el/los Autor/es y el/los dueño/s de los derechos de autor sean acreditados y que la publicación original sea citada, en concordancia con la práctica académica aceptada. No usar, distribuir o reproducir si no se cumplen con estos términos.

Conflicto de interés. Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Financiamiento. La elaboración de este estudio no contó con fuentes de financiación específicas.

Reconocimiento. Los autores quieren expresar su agradecimiento a Marcelo Díaz-Conde, MD; Enlace de ciencia médica en Pfizer, Ciudad de México, México, por su apoyo técnico y la revisión crítica del borrador. La asistencia editorial fue proporcionada por Reprints Unlimited, México.



INTRODUCCIÓN

Pseudomonas aeruginosa es uno de los microorganismos gram-negativos clínicamente más relevantes aislados en el laboratorio de microbiología. Este microorganismo provoca un gran número de infecciones y tiene una importante capacidad de adaptación, propagación y persistencia en el medio ambiente. Además, *P. aeruginosa* es uno de los patógenos “ESKAPE” (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* y especies de *Enterobacter*), destacando su impacto en las infecciones hospitalarias y su capacidad para “evadir” a la actividad de los antibióticos. Sin embargo, la característica más preocupante es la resistencia intrínseca y la facilidad con la que *P. aeruginosa* desarrolla nuevos mecanismos de resistencia a los antibióticos, incluso a los carbapenémicos, que son los antibióticos más utilizados en el tratamiento de este tipo de infecciones. En consecuencia, en los últimos años, se han descrito cada vez más cepas resistentes a múltiples fármacos o multidrogo-resistentes (MDR), incluida la resistencia a los carbapenémicos. (1)

Hay cuatro mecanismos principales de resistencia de *P. aeruginosa* a carbapenémicos: i) sobreproducción de bombas de expulsión, ii) sobreproducción de β -lactamasa AmpC, iii) reducción de la expresión de OprD y iv) producción de carbapenemasas; (2) de estas se describen las clase A (KPC y SME), B metalo- β -lactamasa (MBL) y D oxacilinasas. (3) Aunque la prevalencia de cepas productoras de MBL ha aumentado en todo el mundo, los mecanismos intrínsecos de resistencia a los carbapenémicos son los más frecuentes, destacando la presencia de alteraciones en la OprD. (4)

P. aeruginosa puede adquirir resistencia a través de mutaciones cromosómicas y la adquisición de genes resistentes a los antibióticos, (1) éste microorganismo tiene uno de los genomas bacterianos más grandes y posee una variedad significativa de genes adquiridos por transferencia horizontal, que a menudo se encuentran dentro de integrones y elementos genéticos móviles como transposones, secuencias de inserción, islas genómicas, fagos, plásmidos y elementos integradores y elementos conjugativos (1).

Dada esa complejidad, se han desarrollado cepas resistentes, extensamente resistentes a fármacos (XDR) y pan-drogorresistentes (PDR). A su vez, esto ha provocado un incremento de la morbilidad y la mortalidad a causa de este agente microbiano en todo el mundo. (1)

P. aeruginosa es considerada por la OMS como un microorganismo de vital importancia para el desarrollo de nuevos antibióticos [5]. Por esta razón, han surgido antimicrobianos como ceftolozano-tazobactam (C-T) y ceftazidima-avibactam (CZA) entre otros. (5-7)

En el presente estudio se revisó la susceptibilidad in vitro a estos nuevos antibióticos de cepas aisladas de *P. aeruginosa* no susceptibles a los carbapenémicos y se determinó la producción de carbapenemasas.

MATERIAL Y MÉTODOS

En la ciudad de Monterrey, México, el Sistema TecSalud incluye dos hospitales docentes privados de tercer nivel de atención, el Hospital San José TecSalud y el Hospital Zambrano Hellión, ambos hospitales cuentan con una dotación de 400 camas. El Sistema TecSalud cuenta con un laboratorio central de microbiología, donde se registraron aislamientos clínicos no duplicados de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos entre septiembre de 2017 hasta octubre de 2018.

Para la identificación del género y especie de las bacterias, se utilizó espectrometría de masas, MALDI-TOF (Bruker Daltonics Inc., Billerica, Massachusetts). Mientras que para las pruebas de susceptibilidad, se utilizó el sistema automático BD Phoenix (BD Diagnostics, Sparks, Maryland). De acuerdo con las directrices del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), se consideró que una cepa no era susceptible a imipenem y/o meropenem si la concentración mínima inhibitoria (MIC) era $\geq 4 \mu\text{g} / \text{mL}$. (8)

El nivel de resistencia de las cepas de *P. aeruginosa* se clasificó según el consenso de 2011 del Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC) y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de EE. UU. (CDC) para MDR, XDR y PDR. (9)

La susceptibilidad a C-T y CZA se determinó mediante el método de difusión en disco de Kirby-Bauer; mientras que; la presencia de carbapenemasas, se realizó a través del método de inhibición de carbapenems modificado (MICm) según el CLSI y recomendado por Workneh, y col. (8,10) Aquellas cepas con fenotipo resistentes fueron evaluadas mediante la prueba Xpert Carba-R - Cepheid, aprobada por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA). (11)

RESULTADOS

El laboratorio de microbiología entrega cada año a los servicios de los hospitales del TecSalud la información sobre prevalencia de microorganismos aislados y las susceptibilidades encontradas, en los gérmenes aislados de pacientes hospitalizados. En el periodo estudiado de 14 meses entre los años 2017 y 2018; de los microorganismos gram-negativos aislados (2060), *E. coli* predominó con 618 aislamientos clínicos, representando el 30% de los gram-negativos, seguido por *P. aeruginosa*, con 330 aislamientos representando 16% de los aislamientos gram-negativos, destacándose resistencia a carbapenémicos en más del 30%, sobre todo en cepas relativas a infecciones asociadas a la atención en las Unidades de Cuidados Intensivos.

Tabla I.

Susceptibilidad de aislamientos clínicos de *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos (N = 330).

<i>P. aeruginosa</i>	# de cepas	Porcentaje
Susceptible a Carbapenémicos	283	85,8
No susceptibles a Carbapenémicos	47	14,2
Total	330	100

De las 330 cepas no duplicadas de *P. aeruginosa* que se aislaron, de pacientes hospitalizados y ambulatorios, un 14,2% (47/330) no fueron susceptibles a los carbapenémicos (Tabla I), un 70,2% (33/47) de estas cepas resistentes fueron consideradas XDR y 21,3% (10/47) MDR (Tabla II). Por otro lado, un 63,8% (30/47) de las cepas resistentes a carbapenémicos fueron susceptibles a C-T (25,5%) y a CZA un 25,5% (12/47) (Tabla II).

Tabla II.

Comportamiento de la resistencia de cepas de *P. aeruginosa* drogo-resistente (N = 47).

Cepas de <i>P. aeruginosa</i>	N (%)
Susceptible a C-T	12 (25,5%)
No susceptible	5 (10,6%)
XDR	33 (70,2%)
MDR	10 (21,3%)
Sólo a carbapenémicos	4 (8,5%)
Susceptible a C-T	12 (25,5%)
Susceptible a CZA	30 (63,8%)

C-T: Ceftolozane-Tazobactam
 CZA: Ceftazidime-Avibactam
 XDR Drogo-resistencia extendida
 MDR Mutidrogo-resistencia

De las 47 cepas resistentes a carbapenémicos, sólo se pudieron analizar 37/47, (78,7%), para lo que se utilizó MICm (Tabla III), 29,7% (11/37) fueron fenotípicamente positivas para la producción de carbapenemasas y 27% (10/37) para metalobetalactamasas (MBL). En las 37 cepas analizadas con MICm, se hizo la confirmación con Cepheid Xpert Carba-R, 10 produjeron MBL, 6 con MBL tipo imipenemasa (IMP), dos fueron del tipo codificado por integrones de Verona (VIM) y otras dos del tipo (KPC) de *K. pneumoniae*.

Tabla III.

Cepas analizadas en éste estudio con el método modificado de inhibición de carbapenémicos (MICm), (8-10) (N = 37). Aquellas cepas con fenotipos resistentes fueron evaluadas mediante la prueba Xpert Carba-R – Cepheid. (11)

Cepas de <i>P. aeruginosa</i>	N (%)
No productoras de carbapenemasas	26 (70,3%)
Productoras de carbapenemasas	11 (29,7%)
No productoras de Metalo-betalactamasas (MBL)	27 (73 %)
Productoras de Metalo-betalactamasas (MBL)	10 (27%)

De las cepas analizadas con MICm, 75,6% (28/37), fueron resistentes a C-T, (17/28 no producían carbapenemasas) y 37,8% (14/37) fueron resistentes a CZA (3/14 no producían carbapenemasas) (Tabla IV).

Tabla IV.

Comportamiento de la resistencia selectiva a C-T (75,6%) y a CZA, de las cepas de *P. aeruginosa* analizadas con MICm (N = 37).

Cepas de <i>P. aeruginosa</i>	N	%
Resistentes a C-T	28	75,6%
• No productoras de carbapenemasas	17	
Resistentes a CZA	14	37,8%
• No productoras de carbapenemasas	3	

MICm: Método modificado de inhibición de carbapenémicos
 C-T: Ceftolozane-Tazobactam
 CZA: Ceftazidime-Avibactam

DISCUSIÓN

C-T y CZA son los antibióticos betalactámicos disponibles más potentes. Entre sus múltiples cualidades se incluye una rápida acción bactericida, incluso contra bacterias multirresistentes, lo que los hace atractivos para el tratamiento de infecciones graves y nosocomiales como las causadas por *P. aeruginosa*. (12,13)

Imipenem apareció a mediados de la década de 1980 y meropenem una década después. Ambos antibióticos se consideran relativamente intercambiables, a diferencia de ertapenem otro carbapenémico, que no es útil contra *P. aeruginosa*. (14)

En pocos años, *P. aeruginosa* ha desarrollado resistencia

a estos antibióticos. Así, en Europa en 2002, la resistencia al imipenem fue del 19%, aumentando al 30% en 2007. En América del Norte y Asia, la resistencia varía entre el 15 y el 30%. (14-17)

En 2018, se publicó el informe Red-PUCRA de 14 hospitales en México, que demostró resistencia de *P. aeruginosa* al meropenem en más del 33% de los casos. (19) En otro informe nacional, basado en la vigilancia en 47 hospitales en 20 estados de México, se encontró que hasta el 40% de *P. aeruginosa* es resistente a los carbapenémicos. (20) Esta proporción es similar a la que se obtuvo cuando se seleccionaron las cepas causantes de infección nosocomial en los hospitales involucrados en este estudio. Por otro lado, el porcentaje de resistencia en pacientes ambulatorios fue menor (14,2%).

En el estudio actual, el porcentaje de resistencia en las cepas aisladas fue muy alto. Según la clasificación utilizada, solo el 9% de las cepas no se consideraron MDR o XDR. Todos los aislamientos fueron susceptibles a la colistina, por lo que no se notificaron organismos PDR, predominando las cepas XDR (9).

En el año 2017, el CDC notificó alrededor de 32,600 casos de pacientes hospitalizados con un estimado de 2,700 muertes. (21) En Italia, el 37,2% de los aislados clínicos de *P. aeruginosa* fueron MDR, (22) resultados inferiores a los reportados en el presente estudio, ya que en este caso sólo se seleccionaron cepas de *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos.

La susceptibilidad in vitro demostrada en este estudio a C-T (25,5%) y a CZA (63,8%) en cepas de *P. aeruginosa* es inferior respectivamente al 85 y al 90% de lo reportado en otros informes. (6,20-22) Haidar y col. y Pfaller y col., informaron porcentajes ligeramente más bajos en cepas no sensibles al meropenem. (23, 24) Lo anterior se explica por la baja prevalencia de cepas productoras de carbapenémicos, especialmente MBL. En Italia, Giani y col. (22), utilizaron la resistencia a C-T como indicador de la producción de carbapenemasas, encontrando que de 935 aislamientos, 48 de las cepas de *P. aeruginosa* producían carbapenemasas, (5,1%) en general y 3% MBL. Nasser y col. encontraron una prevalencia del 69,4% de β -lactámicos de amplio espectro y del 42,9% de MBL en *P. aeruginosa* no susceptible a cefalosporinas de amplio espectro (25). En México, los informes publicados varían entre un 3,4% a 32,5% (26,27), resultados similares al presente informe.

Tanto C-T como CZA son modificaciones químicas o funcionales de antibióticos que se han utilizado durante muchos años, a los que las bacterias se han adaptado y desarrollado mecanismos de resistencia. Se han mejorado para anular mecanismos de resistencia específicos con patrones de distribución geográfica, que pueden cambiar con el tiempo.

En este informe se encontró una alta tasa de MBL, lo que explica la baja susceptibilidad a CZA ya que solo tres (8%)

de las cepas resistentes no produjeron carbapenemasas. Por otro lado, para la C-T probablemente otros mecanismos distintos a la MBL deben estar presentes porque 17 de las cepas resistentes (46%) no produjeron MBL. (23,28)

En *P. aeruginosa*, la pérdida de la porina OprD es el mecanismo más común de resistencia al imipenem, que no confiere resistencia a la ceftazidima. Sin embargo, en las cepas estudiadas, más del 80% no fueron susceptibles a esta última, lo que, de acuerdo con Valenza y col., nos permite utilizarlo como marcador fenotípico para detectar MBL. (29)

Finalmente, las pautas británicas recomiendan tratar las infecciones bacterianas gramnegativas MDR con antibióticos que sean efectivos en al menos el 80% de las veces en que sean prescritos. Si bien las infecciones causadas en el mismo sitio y por las mismas bacterias que no sean MDR, deben recibir un tratamiento diferente al que se deba utilizar para las infecciones por cepas MDR. Además en dichas pautas no recomiendan el uso de C-T para infecciones causadas por *P. aeruginosa* productora de AmpC, MBL / BLEE o carbapenemasas. La CZA no debe utilizarse para los productores de MBL. (30) Sobre el uso de C-T Y CZA en presencia de metalobetalactamasa independiente del género bacteriano, sólo sería indicado en presencia de serin-carbapenemasas tipo KPC y OXA; no tiene actividad frente a las carbapenemasas de clase B (metalobetalactamasas). La combinación de ambas restablece la actividad amenazada del betalactámico ocasionada por la emergencia y expansión, en diferentes especies de *Enterobacteriaceae*, con serinobetalactamasas que hidrolizan a la ceftazidima. La excelente actividad in vitro frente a enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido, betalactamasas de clase C o carbapenemasas tipos KPC y OXA-48, hace de CZA un recurso con elevado potencial para el tratamiento de infecciones por enterobacterias MDR. De igual forma, la actividad de CZA frente a *P. aeruginosa* es muy superior a la de la mayoría de los betalactámicos disponibles, siendo solo comparable a la de C-T.

CONCLUSIONES

Este estudio mostró que aproximadamente el 14% de las cepas aisladas de *P. aeruginosa* no eran susceptibles a los carbapenémicos y más del 90% de estas cepas fueron MDR. La susceptibilidad identificada a C-T y a CZA es mucho menor que el 80% recomendado por las guías para el tratamiento empírico de infecciones causadas por cepas de *P. Aeruginosa* MDR. A su vez, se detectó una alta tasa de producción de carbapenemasas, la mayoría correspondiente a MBL, la existencia de cepas resistentes debido a la producción de metalobetalactamasas y otros mecanismos poco frecuentes obliga a la prudencia en su posicionamiento para uso clínico.

REFERENCIAS

1. Botelho J, Grosso F, Peixe L. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* - Mechanisms, epidemiology and evolution. *Drug Resist Updat* 2019; 44:26-47. <https://doi.org/10.1016/j.drup.2019.07.002>
2. Rostami S, Sheikh AF, Shoja S, Farahani A, Tabatabaiefar MA, Jolodar A, et al. Investigating of four main carbapenem-resistance mechanisms in high-level carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *J. Chin Med Assoc* 2018; 81:127-32. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.08.016>
3. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: The versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20:440-58. <https://doi.org/10.1128/cmr.00001-07>
4. Yin S, Chen P, You B, Zhang Y, Jiang B, Huang G, et al. Molecular typing and carbapenem resistance mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a Chinese burn center from 2011 to 2016. *Front Microbiol* 2018; 9:1135. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01135>
5. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 2018; 18:318-27. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
6. van Duin D, Bonomo RA. Ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam: Second-generation β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations. *Clin Infect Dis* 2016; 63:234-41. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw243>
7. Gentile I, Maraolo AE, Borgia G. What is the role of the new β -lactam/ β -lactamase inhibitors ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam? *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2016;14:875-8. <https://doi.org/10.1080/14787210.2016.1233060>
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th ed. www.clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/ (2020)
9. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18:268-81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
10. Workneh M, Yee R, Simner PJ. Phenotypic methods for detection of carbapenemase production in carbapenem-resistant organisms: what method should your laboratory choose? *Clin Microbiol News* 2019; 41:11-22.
11. Muñoz C, Zumarán C, González T, Wozniak A, Castillo C, García P. Test evaluation and strategy proposal to detect and to characterize carbapenemase-producing gram negative bacilli. *Rev Chilena Infectol* 2017; 34:326-32. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182017000400326>
12. Karaiskos I, Giamarellou H. Carbapenem-sparing strategies for ESBL producers: When and how. *Antibiotics (Basel)* 2020; 9, pii: E61. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020061>
13. Xipell M, Bodro M, Marco F, Martínez JA, Soriano A. Successful treatment of three severe MDR or XDR *Pseudomonas aeruginosa* infections with ceftolozane/tazobactam. *Future Microbiol* 2017; 12:1323-6. <https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0018>
14. Fraenkel CJ, Ullberg M, Bernander S, Ericson E, Larsson P, Rydberg J, et al. In vitro activities of three carbapenems against recent bacterial isolates from severely ill patients at Swedish hospitals. *Scand J Infect Dis* 2006; 38:853-9. <https://doi.org/10.1080/00365540600684371>
15. van der Bij AK, Mol M, van Westreenen M, Goessens WH, Pitout JD. The laboratory diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* that produce metallo- β -lactamases in a Dutch tertiary care centre. *Scand J Infect Dis* 2011; 43:596-602. <https://doi.org/10.3109/00365548.2011.574148>
16. Rhomberg PR, Jones RN. Summary trends for the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection Program: a 10-year experience in the United States (1999-2008). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 65:414-26. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.08.020>
17. Wang H, Chen M, Ni Y, Liu Y, Sun H, Yu Y, et al. Antimicrobial resistance among clinical isolates from the Chinese Meropenem Surveillance Study (CMSS), 2003-2008. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35:227-34. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.11.010>
18. Dietl B, Martínez LM, Calbo E, Garau J. Update on the role of ceftazidime-avibactam in the management of carbapenemase-producing Enterobacterales. *Future Microbiol* 2020; 15:473-84. <https://doi.org/10.2217/fmb-2020-0012>
19. PUCRA [University Plan for the Control of Antimicrobial Resistance] in Mexico www.puis.unam.mx/slider_docs/reporte-ucradigital.pdf. 2020
20. Garza-González E, Morfín-Otero R, Mendoza-Olazarán S, Bocanegra-Ibarias P, Flores-Treño S, Rodríguez-Noriega E, et al. A snapshot of antimicrobial resistance in Mexico. Results from 47 centers from 20 states during a six-month period. *PLoS One* 2019; 14:e0209865. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209865>
21. CDC. Antibiotic resistance threats in the United States, 2019. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC 2019.
22. Giani T, Arena F, Pollini S, Di Pilato V, D'Andrea MM, Henrici De Angelis LH, et al. Italian nationwide survey on *Pseudomonas aeruginosa* from invasive infections: activity of ceftolozane/tazobactam and comparators, and molecular epidemiology of carbapenemase producers. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73:664-71. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx453>
23. Haidar G, Philips NJ, Shields RK, Snyder D, Cheng S, Potoski BA, et al. Ceftolozane-tazobactam for the treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections: Clinical effectiveness and evolution of resistance. *Clin Infect Dis* 2017; 65:110-20. <https://doi.org/10.1093/cid/cix182>
24. Pfaller MA, Shorridge D, Sader HS, Gales A, Castanheira M, Flamm RK. Ceftolozane-tazobactam activity against drug-resistant Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* causing healthcare-associated infections in Latin America: report from an antimicrobial surveillance program (2013-2015).



- Braz J Infect Dis 2017; 21:627-37.<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2017.06.008>
25. Nasser M, Gayen S, Kharat AS. Prevalence of the β -lactamase and antibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the Arab Region. *J Glob Antimicrob Resist* 2020; 22:152-60.<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.01.011>
 26. Haidar G, Philips NJ, Shields RK, Snyder D, Cheng S, Potoski BA, et al. Emergence of *Pseudomonas aeruginosa* strains producing metallo- β -lactamases of the IMP-15 and VIM-2 types in Mexico. *Clin. Microbiol. Infect* 2010; 16:126-31. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02780.x>
 27. Garza-Ramos U, Morfin-Otero R, Sader HS, Jones RN, Hernandez E, Rodriguez-Noriega E, et al. Metallo-beta-lactamase gene bla(IMP-15) in a class 1 integron, In95, from *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from a hospital in Mexico. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:2943-6. <https://doi.org/10.1128/aac.00679-07>
 28. Fraile-Ribot PA, Cabot G, Mulet X, Periañez L, Martín-Pena ML, Juan C, et al. Mechanisms leading to in vivo ceftolozane/tazobactam resistance development during the treatment of infections caused by MDR *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73:658-63. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx424>
 29. Valenza G, Joseph B, Elias J, Claus H, Oesterlein A, Engelhardt K, et al. First survey of metallo-beta-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in a German university hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:3493-7. <https://doi.org/10.1128/aac.00080-10>
 30. Hawkey PM, Warren RE, Livermore DM, McNulty CAM, Enoch DA, Otter JA, et al. Treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria: report of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy/Healthcare Infection Society/British Infection Association Joint Working Party. *J Antimicrob Chemother* 2018;73(Suppl 3):iii2–iii78.<https://doi.org/10.1093/jac/dky027>