

Estudio del efecto sinérgico de Aztreonam y Ceftazidima/Avibactam en cepas multirresistentes productoras de metalo- β -lactamasas causantes de infección/colonización en el Área Sanitaria de Guadalajara.

Laura del Hierro Marlasca^{1, 2, a}, Sara Pérez de Madrid Jiménez^{2, b}

1. Unidad de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología de Sistemas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad de Alcalá, 28871 Alcalá de Henares, Madrid, España. 2. Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de Guadalajara, España.

a. lauradelhierro99@gmail.com b. sperezde@sescam.jccm.es

Palabras clave: metalo- β -lactamasas; aztreonam; ceftazidima/avibactam; cefiderocol; enterobacterias; *Pseudomonas* spp.; sinergia

Resumen

Las infecciones causadas por bacilos gramnegativos multirresistentes se han visto incrementadas a nivel mundial en los últimos años, causando un grave problema de salud pública. La OMS en 2017 incluyó en la lista de patógenos prioritarios las cepas productoras de carbapenemasas, enzimas capaces de hidrolizar los antibióticos carbapémicos. Los bacilos gramnegativos productores de metalo- β -lactamasas (MBL), un tipo de carbapenemasa, hidrolizan todos los β -lactámicos, a excepción del aztreonam. Sin embargo, la frecuente asociación de las MBL a otros tipos de β -lactamasas hace que el aztreonam rara vez sea efectivo *in vitro*. Por tanto, es un antibiótico que actualmente, en monoterapia, no está recomendado en las guías clínicas para tratar las infecciones causadas por estos microorganismos, suponiendo un gran reto terapéutico debido a la falta de antibióticos activos. Las alternativas terapéuticas para tratar de forma empírica que existen se limitan al uso de cefiderocol (amplio espectro), o a la combinación de aztreonam con avibactam (recientemente aprobado y sin comercializar), llevándonos a estudiar otras opciones terapéuticas. En este sentido, el objetivo del presente trabajo es evaluar la eficacia de la combinación de aztreonam y ceftazidima/avibactam, dos antibióticos ya comercializados y en uso, en infecciones causadas por bacterias productoras de MBL. Se realizó el estudio de sinergia de aztreonam y ceftazidima/avibactam en 45 cepas de bacilos gramnegativos multirresistentes procedentes de infecciones y colonizaciones, recogidas desde febrero de 2020 hasta mayo de 2024 en el Área Sanitaria de Guadalajara. El test de sinergia se realizó mediante el método de proporción fija usando tiras de gradiente de concentración. Nuestros resultados muestran un efecto sinérgico de ambos antibióticos frente a enterobacterias, por lo que se podría emplear como tratamiento empírico y como alternativa al cefiderocol; sin embargo, en *Pseudomonas* spp. este efecto sinérgico es menor, por lo que su uso no estaría justificado en nuestro medio.

Cita: del Hierro Marlasca, Laura; Pérez de Madrid Jiménez, Sara (2024) Estudio del efecto sinérgico de Aztreonam y Ceftazidima/Avibactam en cepas multirresistentes productoras de metalo- β -lactamasas causantes de infección/colonización en el Área Sanitaria de Guadalajara. *dianas* 13 (2): e202409fp04. ISSN 1886-8746 (electronic) journal.dianas.e202409fp04 <https://dianas.web.uah.es/journal/e202409fp04>.
URI <http://hdl.handle.net/10017/15181>

Copyright: © del-Hierro-Marlasca L, Pérez-de-Madrid-Jiménez S. Algunos derechos reservados. Este es un artículo open-access distribuido bajo los términos de una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Introducción

Las infecciones causadas por cepas de bacilos gramnegativos (BGN) multirresistentes se han visto incrementadas en los últimos años, lo cual supone un grave problema en cuanto a términos de salud pública. Estas infecciones suelen ser graves y tener un peor pronóstico en comparación con aquellas causadas por microorganismos sensibles [1, 2]. Cada año se producen más de 2,8 millones de infecciones resistentes a los antibióticos en EE. UU., y más de 35.000 personas mueren como resultado [3]. Las cifras se estiman similares en Europa, con 33.000 muertes al año causadas por bacterias multirresistentes [4].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha calificado la resistencia antimicrobiana como un problema sanitario urgente. Se estima que, si no se toman medidas para evitarlo, en el año 2050 el número de muertes mundiales anuales aumentará a 10 millones de personas, superando el cáncer. [5].

El aumento de estas resistencias, sumado a la disminución, como consecuencia de ello, del número de opciones terapéuticas frente a dichas resistencias, hace que sea difícil encontrar un tratamiento eficaz [2, 6].

Las principales resistencias de estos organismos frente a los antibióticos son producidas por enzimas β -lactamasas, siendo las más importantes: β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), enzimas de tipo AmpC cromosómicas o plasmídicas (clase C), y carbapenemasas (resistentes a la mayoría de β -lactámicos,

incluyendo carbapenémicos) [7]. Los carbapenémicos son antibióticos β -lactámicos capaces de unirse a las proteínas de unión de penicilinas (o *penicillin-binding proteins*, PBPs) e inhibir la síntesis de pared celular bacteriana [8]. La resistencia a este tipo de antibióticos puede deberse a enzimas como carbapenemasas o alteraciones en la permeabilidad de la pared por mutaciones en porinas o en bombas de expulsión activa [9].

Dentro del grupo de las carbapenemasas encontramos dos tipos, las que presentan una serina en su centro activo, que pertenecen a la clase A (KPC) y clase D (OXA-48); y las que contienen un ion de zinc, también llamadas metalo- β -lactamasas (MBL) o de clase B. En este último grupo se incluyen IMP, NDM y VIM [10-12].

Las enzimas tipo VIM (*Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase*) fueron las primeras carbapenemasas identificadas en Verona, Italia. Actualmente se sabe que el gen que la codifica (*bla*VIM) se encuentra en integrones de clase I formando casetes de genes, generalmente alojados en transposones junto con más genes adicionales que codifican resistencia a diferentes tipos de antibióticos. Estos transposones movilizan los integrones hasta plásmidos, transmitiendo así sus genes de manera horizontal [1, 7].

Las enzimas tipo NDM (*New Delhi Metallo- β -lactamase*) se aislaron por primera vez en un paciente sueco de origen indio que había sido previamente hospitalizado en Nueva Delhi. Desde entonces se ha diseminado rápidamente, y se han encontrado 12 variantes. Los *bla*NDM se transportan principalmente en plásmidos conjugativos de diferentes tamaños. El origen del gen *bla*NDM es desconocido, pero al contrario que la anterior, no está relacionada con estructuras similares a integrones. Estas cepas frecuentemente coproducen otras β -lactamasas como AmpC plasmídicas, BLEE y carbapenemasas adicionales (tipo VIM, OXA-48), u otros tipos de resistencia a otros antimicrobianos [1, 7, 13].

Las enzimas tipo IMP (imipenemasas) fueron las primeras MBLs codificadas por un plásmido que se detectaron, y actualmente, hay más de 40 variantes. De igual manera que en el caso de *bla*VIM, *bla*IMP se encuentra como un casete genético integrado en integrones de clase I y clase III, éstos últimos suelen localizarse en transposones y en plásmidos conjugativos. Además, se puede expresar junto con otras estructuras que confieren diferentes tipos de resistencias [7].

Las causas de la rápida expansión de bacterias productoras de carbapenemasas pueden tener un origen multifactorial. Los viajes a zonas endémicas con una elevada prevalencia de estas carbapenemasas, y un mal uso de los antibióticos carbapenémicos juegan un papel importante en esta expansión. En este último caso, el tratamiento inadecuado con carbapenémicos puede aumentar la presión selectiva de las bacterias aumentando su diseminación. Frente a esta preocupante expansión, la OMS publicó en 2017 la primera lista de “patógenos prioritarios” resistentes a antibióticos, que incluyen 12 familias de bacterias peligrosas para la salud humana. Esta lista, actualizada recientemente en 2024, incluye a las enterobacterias productoras de carbapenemasas dentro del grupo de prioridad crítica [14, 15].

Actualmente, frente a las pocas opciones terapéuticas que nos dejan estas cepas multirresistentes, han salido al mercado nuevos tipos de antibióticos, como el cefiderocol, el cual es una cefalosporina de última generación efectiva frente a la mayoría de β -lactamasas y que presenta un amplio espectro de acción [16]. Sin embargo, este antimicrobiano también se está viendo afectado por algunas cepas productoras de carbapenemasas, como las NDM [17]. Este hecho, podría disminuir el arsenal terapéutico del que disponemos para tratar infecciones causadas por estos microorganismos.

Puesto que el abuso de los antibióticos influye altamente en la presión selectiva haciendo que se propaguen las cepas multirresistentes, se están estudiando otras posibilidades. Una de ellas es la terapia combinada de aztreonam, el cual es un antibiótico de espectro reducido; con avibactam, que es un inhibidor de β -lactamasas que no posee un anillo β -lactámico, y que, por tanto, es efectivo frente a las metalo- β -lactamasas. Esta combinación ha sido recientemente aprobada por la Agencia Europea del Medicamento (EMA); sin embargo, su comercialización y distribución puede verse alargada en el tiempo hasta llegar a los hospitales, donde tanto los trámites como su aprobación por la Comisión de Infecciones de cada hospital puede demorar su uso.

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es estudiar la sinergia de dos fármacos ya comercializados y en uso actualmente en los hospitales, el aztreonam y la ceftazidima/avibactam en bacilos gramnegativos productores de metalo- β -lactamasas.

Material y métodos

En la presente investigación, se emplearon 45 cepas de bacterias multirresistentes que se incluyeron en un estudio observacional y retrospectivo. Se incluyeron 33 enterobacterias pertenecientes a distintos géneros y especies, y 12 del género *Pseudomonas* (tabla 1). Todas ellas son bacilos gramnegativos que presentaron

algún tipo de metalo- β -lactamasa, ya bien sea VIM, IMP o NDM, aislados de infecciones o colonizaciones de pacientes, recogidas desde el mes de febrero de 2020 hasta mayo de 2024.

ORDEN ENTEROBACTERALES	FAMILIA MORGANELLACEAE	<i>Proteus sp.</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
	FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE	<i>Klebsiella sp.</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
			<i>Klebsiella pneumoniae</i>
		<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
			<i>Enterobacter hormaechei</i>
		<i>Escherichia sp.</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Citrobacter sp.</i>	<i>Citrobacter freundii</i>		
ORDEN PSEUDOMONADALES	FAMILIA PSEUDOMONADACEAE	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		

Tabla 1.- Clasificación de las bacterias empleadas en el presente estudio.

Descongelación de las muestras

Para la conservación de las cepas de estudio, se emplearon tubos criogénicos que se congelan a -80°C . De esta manera, previamente a la realización del experimento, fue necesario descongelar las cepas que eran de nuestro interés. Para ello, sacamos 2 bolas y las frotamos sobre un medio de cultivo Agar Sangre, el cual es un medio enriquecido no selectivo. Estas placas se cultivaron durante 18-24h a $35-37^{\circ}\text{C}$ hasta su crecimiento.



Figura 1.- (A). Tubos para congelación. (B). Placa de agar sangre con el inóculo descongelado, extendido y crecido.

Identificación

En primer lugar, las cepas crecidas en cultivo puro se identificaron con espectrometría de masas de alto vacío (MALDI-TOF), el cuál presenta un detector (TOF) acoplado a la fuente de MALDI (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*). Este equipo tiene integrado un software de análisis de espectros que indica tanto el género como la especie de la bacteria presente en la muestra.

A continuación, se realizó ensayo de inmunocromatografía NG·Test Carba-5 (NG·Biotech) para la detección de las carbapenemasas KPC, OXA-48, VIM, IMP y NDM en una colonia bacteriana procedente de cada cultivo puro.

Sinergias y estudio de la sensibilidad antimicrobiana

El estudio de la sensibilidad frente a antimicrobianos se realizó y determinó mediante tiras de gradiente de concentración (ATM 0,016-256 mg/L: Ettest; Liofilchem y CZA 0,016-256/4 $\mu\text{g/mL}$: Ettest; bioMérieux).

La sinergia se estudió por el método de la proporción fija con superposición de tiras de gradiente de concentración siguiendo el procedimiento PNT-CA-03 de la SEIMC.

Para ello, en primer lugar se inoculó una placa de agar Müller-Hinton con un inóculo estandarizado ajustado a 0,5 en la escala de McFarland, lo que equivale a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Éste es un índice que mide la turbidez de una suspensión bacteriana, de manera que no haya un exceso ni un déficit de bacterias.

Una vez hecho el inóculo, se colocó la tira del antibiótico aztreonam (ATM) y lo más separada posible, la tira del antibiótico ceftazidima/avibactam (CZA). Se hicieron por duplicado por cada muestra, ya que una placa fue para determinar las concentraciones mínimas inhibitorias de cada antibiótico individualmente, y en la otra se realizó la sinergia. Se incubó la placa a 35-37°C, la primera durante 18-20h, y la segunda 1 hora para que los antibióticos difundieran por el agar.

Tras este tiempo, se retiraron ambas tiras de las placas sobre las que se realizó el test de sinergia (no las placas control) con ayuda de unas pinzas y se desecharon, de manera que sobre la impronta dejada por las tiras, se colocaron nuevas tiras. Sobre la impronta del antibiótico ATM se colocó una tira de CZA, y viceversa, sobre la impronta de CZA se colocó una tira de ATM. Se dejaron incubar nuevamente las placas durante 18-20h a 35-37%.

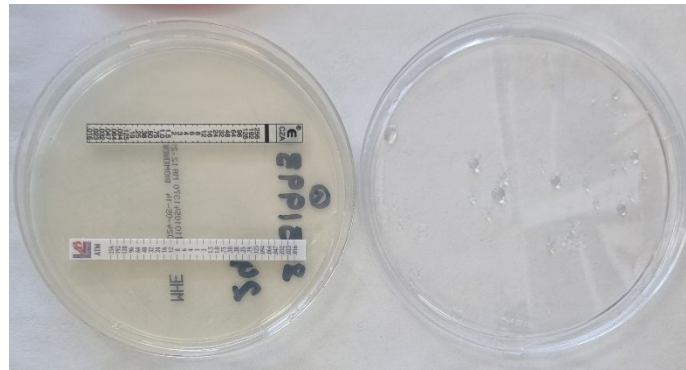


Figura 2.- Método de la proporción fija

Análisis de los resultados

Tras las horas de incubación necesarias, se leyeron las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de todas las placas. La CMI es la concentración mínima de un antibiótico necesaria para que inhiba el crecimiento bacteriano. Con este dato, se calculó la concentración inhibitoria fraccional (CIF) que compara la CMI de la sinergia respecto a las CMI's individuales de cada antibiótico en ambas combinaciones. El sumatorio de ambos CIF da como resultado el índice de la concentración inhibitoria fraccional (ICIF).

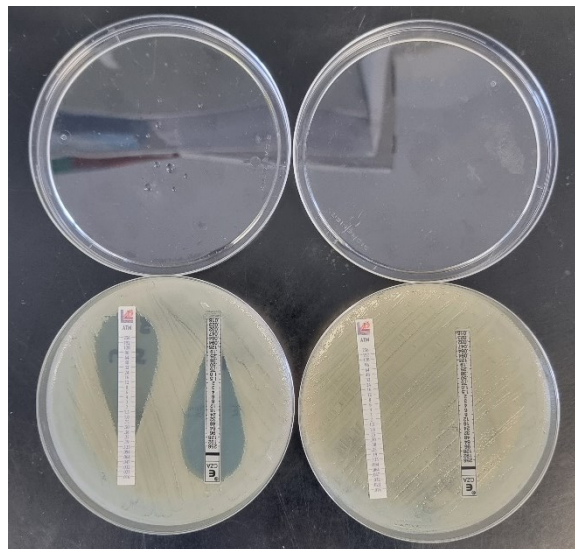


Figura 3.- Muestra con valores de ICIF que refieren efecto sinérgico.

La obtención de valores de ICIF por debajo de 0,5 se consideró efecto sinérgico, los valores entre 0,5 y 4 se consideró efecto indiferente, y la obtención de valores por encima de 4 se consideró efecto antagonista [6].

Resultados

Los BGN-MBL empleados en el estudio fueron mayoritariamente causantes de infecciones: un 26,7% (12/45) procedían de muestras respiratorias; un 15,5% (7/45) de orinas; un 11,1% (5/45) de piel y partes blandas, un 6,7% (3/45) de muestras intraabdominales, un 2,2% (1/45) fueron hemocultivos y otras muestras 6,7% (3/45). Y un 31,1% (14/45) fueron aislados procedentes de colonizaciones, tanto faríngeas como rectales.

Como se muestra en el gráfico 1, del total de bacilos gramnegativos portadores de metalo- β -lactamasas (BGN-MBL), el 68,9% (31/45) resultaron ser VIM; el 6,7% (3/45) fueron NDM; el 6,7% (3/45) , IMP; y un 17,8% presentaron dos tipos diferentes de carbapenemasas, de los cuales un 6,7% (3/45) fueron NDM + OXA-48, otro 6,7% (3/45) eran VIM + OXA-48; el 2,2% (1/45) eran VIM + KPC y un 2,2% (1/45) fueron NDM + KPC.

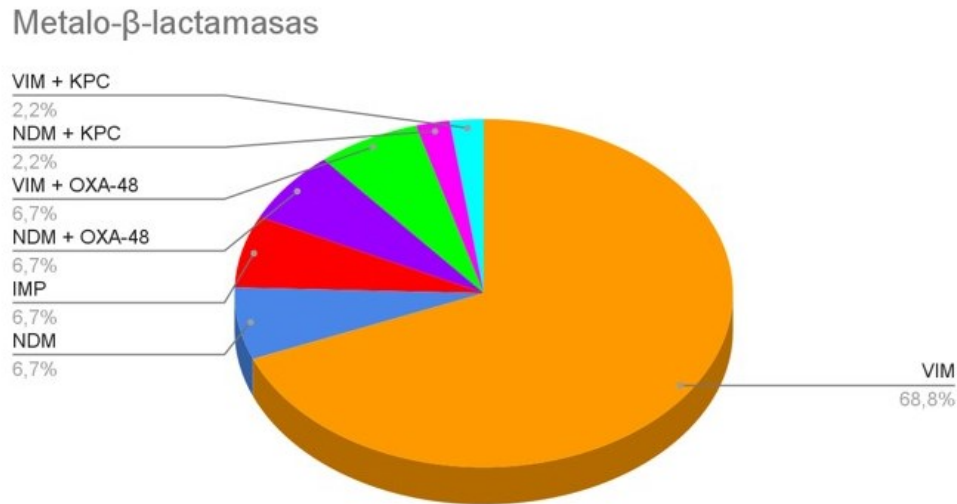


Gráfico 1.- Distribución de las cepas portadoras de metalo- β -lactamasas estudiadas.

En la Tabla 2 se pueden observar la distribución de las distintas carbapenemasas en función de si son Enterobacteriales o Pseudomonadales.

	ENTEROBACTERIALES Nº aislados (%)	PSEUDOMONADALES Nº aislados (%)
VIM	22 (66,7)	9 (75)
NDM	3 (9,1)	0 (0)
IMP	1 (3)	2 (16,7)
NDM + OXA-48	3 (9,1)	0 (0)
VIM + OXA-48	3 (9,1)	0 (0)
NDM + KPC	1 (3)	0 (0)
VIM + KPC	0 (0)	1 (8,3)
Total =	33 (100)	12 (100)

Tabla 2.- Distribución de las carbapenemasas en función del orden taxonómico al que pertenecen las cepas portadoras.

De las 45 muestras estudiadas, 25 de ellas resultaron tener un efecto sinérgico positivo, un 55,6% del total, frente a las 20 muestras con un efecto indiferente, que representarían un 44,4%.

Puesto que se encontraron diferencias importantes respecto al orden al que pertenecían los aislados, se dividieron en dos grupos: Enterobacteriales y Pseudomonadales (Gráfico 2). De esta manera, en el orden Enterobacteriales encontramos 22 muestras con un efecto sinérgico (48,9%) y 11 muestras que mostraron un efecto indiferente (24,4%) frente al total de aislados en los dos grupos. Del orden Pseudomonadales

solamente 3 aislados mostraron sinergia entre ambos antibióticos (6,7%), frente a las 9 muestras que presentaron un efecto indiferente (20%). Cabe destacar que ninguna tuvo un efecto antagónico (0%).

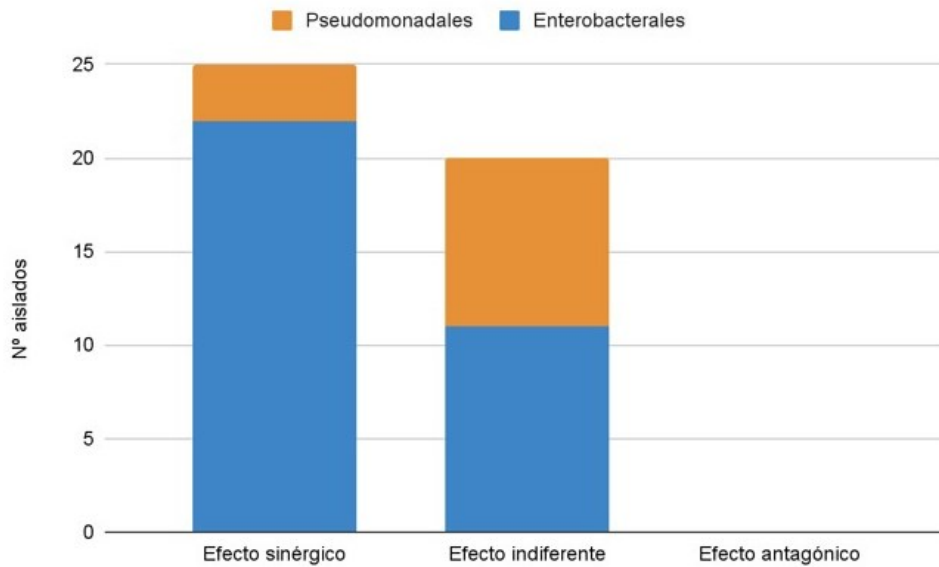


Gráfico 2.- Resultados de los estudios de sinergia de la combinación de aztreonam (ATM) y ceftazidima/avibactam (CZA) en Enterobacteriales y Pseudomonadales.

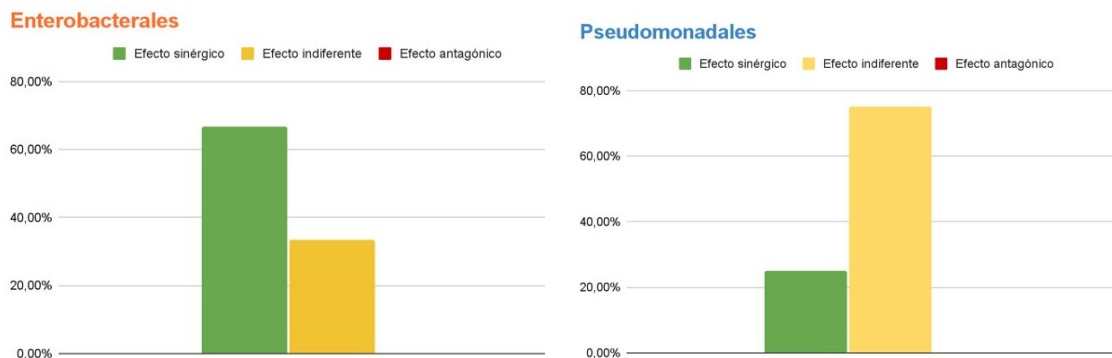


Gráfico 3.- (A). Comparación de los efectos producidos por la combinación de aztreonam (ATM) y ceftazidima/avibactam (CZA) en Enterobacteriales. (B). Comparación de los efectos producidos por la combinación de aztreonam (ATM) y ceftazidima/avibactam (CZA) en Pseudomonadales.

Con respecto al total en cada orden (Gráfico 3), veríamos que dentro del grupo de las enterobacterias el 66,7% presentan un efecto sinérgico positivo, mientras que solo el 33,3% tienen un efecto indiferente. Mientras que en *Pseudomonas* spp. solamente el 25% tienen efecto sinérgico frente al 75% que tienen efecto indiferente.

Discusión

Las resistencias pueden expresarse en una amplia variedad de microorganismos existentes en la naturaleza, aunque, en concreto las bacterias gramnegativas son las más propensas a mostrar múltiples resistencias a un elevado número de antibióticos [15]. Dentro de estos distintos tipos de resistencias, podemos encontrar la producción de MBL, enzimas que hidrolizan una gran parte de los antibióticos β -lactámicos existentes.

Hay tres tipos principales de MBL: VIM, NDM e IMP que difieren en su estructura química. Los microorganismos portadores de estas enzimas son fáciles de identificar y los procedimientos para determinar la sensibilidad a los antimicrobianos y detectar los tipos de resistencias están estandarizados y son altamente fiables [15].

En condiciones ideales, las MBL son inhibidas por quelantes de zinc (como el EDTA) y aztreonam [7], pero no son inhibidas por ácido clavulánico y similares, como sí que ocurre en otras clases de β -lactamasas. Sin embargo, estas carbapenemasas a menudo presentan otros tipos de enzimas como las BLEE, lo que les confiere resistencia también a aztreonam, por lo que no es recomendable usarlo en monoterapia, ni como terapia empírica frente a la sospecha de infecciones causadas por estos microorganismos [1, 7, 13, 17].

El cefiderocol es un potente antibiótico recientemente comercializado que es efectivo frente a estas carbapenemasas. Sin embargo, ya se están empezando a detectar resistencias en algunas cepas [17], y su

uso debe ser más restringido y reservarse con el fin de evitar el aumento de éstas. Es razonable, por lo tanto, emplear una combinación de fármacos alternativa para el tratamiento empírico de las infecciones por estos bacilos gramnegativos multirresistentes en individuos con infecciones graves [2].

El aislamiento de bacterias en tejidos o zonas habitualmente estériles implica infección. Por el contrario, su aislamiento en lugares no estériles, como heridas o muestras respiratorias, requieren de un estudio clínico para la colonización de la infección [2]. En nuestro estudio, hemos tenido en cuenta ambos grupos, separándolos en función del tipo de muestra.

Un gran porcentaje de las cepas estudiadas mostraron un efecto sinérgico, frente a un menor número que resultaron tener un efecto indiferente. Una parte de las cepas que no mostraron efecto sinérgico presentaban previamente bajas CMI's al aztreonam, de manera que al añadir avibactam y calcular el ICIF de la combinación, no había una disminución destacada de CMI y no aportaba ningún efecto sinérgico significativo, resultando en un efecto indiferente. El aztreonam por sí solo es estable en presencia de MBL, pero es muy frecuente que además presenten otros tipos de β -lactamasas como las BLEE [17-18], y no hay evidencia científica que avale el uso de aztreonam en monoterapia para el tratamiento de estas infecciones [19].

El grupo de los Pseudomonadales, presenta una resistencia basal debida a la escasa permeabilidad de su membrana externa (mucho menor que la de las enterobacterias), además expresa varios sistemas de expulsión activa que eliminan los antimicrobianos que logran entrar en el microorganismo, también produce distintos tipos de β -lactamasas, entre ellas la de tipo AmpC cromosómica, otras adquiridas como las del grupo PSE, OXA y BLEE (menos frecuentes que en enterobacterias), y carbapenemasas, en especial las de clase B estudiadas, como VIM y IMP [2, 17].

A pesar de los resultados obtenidos, la terapia combinada de ATM con CZA podría ser empleada como tratamiento empírico frente a Enterobacterias gramnegativas. Sin embargo, debido a las múltiples resistencias habituales en los BGN pertenecientes al género *Pseudomonas*, no se recomendaría su uso como terapia empírica. De acuerdo a esto, estimamos que 22 de los pacientes de los cuales se aislaron las muestras, se podrían haber beneficiado de este tratamiento.

Nuestro análisis se trata de un estudio *in vitro*, que de acuerdo a otros estudios, ha demostrado una alta actividad antimicrobiana del ATM combinado con CZA en cepas de Enterobacteriales productoras de MBL, mientras que en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa*, no mostraron interacciones sinérgicas. Además, en las series de casos publicados, las enterobacterias productoras de MBL fueron resistentes a ATM y CZA solos, pero susceptibles a su combinación. En el caso de *P. aeruginosa* fue resistente en ambos casos debido a mecanismos de resistencia distintos a metalo- β -lactamasas. En estos casos, aparentemente no se observaron efectos adversos frente a este tratamiento [17, 20, 21].

En otros estudios *in vivo* se ha demostrado la eficacia de la combinación de ambos compuestos, llevando a una mejoría y recuperación rápidas desde el momento de la administración de la terapia [22]. Además se encontró una disminución del riesgo de mortalidad y fallo clínico en pacientes tratados con CZA/ATM comparado con aquellos pacientes que recibieron otros tratamientos [6, 21].

En nuestra investigación encontramos algunas limitaciones que deben ser consideradas para futuros estudios. Entre ellas destacan el número reducido de muestras, ya que eran las disponibles hasta el momento. Además, sería interesante detectar de manera genotípica la presencia de otros tipos de β -lactamasas, ya que se ha demostrado que influye de manera significativa en la eficacia del tratamiento combinado.

Conclusiones

En el presente trabajo, se evidencia la gran opción terapéutica del uso de aztreonam en combinación con ceftazidima/avibactam como tratamiento empírico frente a enterobacterias. Por el contrario, no resulta tan efectivo en el caso de *Pseudomonas* spp.

El uso de esta combinación puede ser una buena alternativa para evitar el abuso de cefiderocol, de manera que éste se reserve como antibiótico de última línea.

Agradecimientos

Me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento en especial a mi tutora Sara Pérez de Madrid, por su dedicación y apoyo a lo largo de todo el proyecto. Agradecer también la atención y ayuda a todo el equipo de técnicos del laboratorio del Hospital Universitario de Guadalajara, así como a todos los facultativos especialistas adjuntos del departamento. Sin todos ellos, no hubiera sido posible llegar al punto en el que estamos.

Referencias

1. Munita, J. M., & Arias, C. A. 2016. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology spectrum*, 4(2).
2. Fariñas, M. C., & Martínez-Martínez, L. 2013. Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multiresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 31(6): 402–409.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC. 2019.
4. Cassini, A., Högberg, L. D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G. S., Colomb-Cotinat, M., Kretzschmar, M. E., Devleeschauwer, B., Cecchini, M., Ouakrim, D. A., Oliveira, T. C., Struelens, M. J., Suetens, C., Monnet, D. L., & Burden of AMR Collaborative Group (2019). Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *The Lancet. Infectious diseases*, 19(1): 56–66.
5. Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J. I., Morfin-Otero, M. D. R., Torres-López, F. J., & Alcántar-Curiel, M. D. 2020. Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta medica de Mexico*, 156(2): 171–178.
6. Sempere, A., Viñado, B., Los-Arcos, I., Company, D., Larrosa, N., Fernández-Hidalgo, N., Rodríguez-Pardo, D., González-López, J. J., Nuvials, X., Almirante, B., & Escolà-Vergé, L. (2022). Ceftazidime-Avibactam plus Aztreonam for the Treatment of Infections by VIM-Type-Producing Gram-Negative Bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 66(10), e0075122. <https://doi.org/10.1128/aac.00751-22>
7. Martínez-Martínez, L., & González-López, J. J. 2014. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: types and molecular epidemiology. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 32 (Suppl 4): 4–9.
8. Calvo, J., & Martínez-Martínez, L. 2009. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 27(1): 44–52.
9. Potter, R. F., D'Souza, A. W., & Dantas, G. 2016. The rapid spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, 29: 30–46.
10. Logan, L. K., & Weinstein, R. A. 2017. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. *The Journal of infectious diseases*, 215(suppl_1): S28–S36.
11. Martínez, M. J., García, M. I., Sánchez, E. G., & Sánchez, J. E. 2010. Los carbapenems disponibles: Propiedades y diferencias. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 28 (Suppl 2): 53–64.
12. Bush K. 2018. Past and Present Perspectives on β -Lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(10), e01076-18.
13. Jean, S. S., Harnod, D., & Hsueh, P. R. 2022. Global Threat of Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacteria. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 823684.
14. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization; 2024.
15. Karam, G., Chastre, J., Wilcox, M. H., & Vincent, J. L. 2016. Antibiotic strategies in the era of multidrug resistance. *Critical care (London, England)*, 20(1): 136.
16. Doi Y. 2019. Treatment Options for Carbapenem-resistant Gram-negative Bacterial Infections. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 69(Suppl 7): S565–S575.
17. Khan, A., Erickson, S. G., Pettaway, C., Arias, C. A., Miller, W. R., & Bhatti, M. M. (2021). Evaluation of Susceptibility Testing Methods for Aztreonam and Ceftazidime-Avibactam Combination Therapy on Extensively Drug-Resistant Gram-Negative Organisms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 65(11), e0084621.

18. Bakthavatchalam, Y. D., Walia, K., & Veeraraghavan, B. 2022. Susceptibility testing for aztreonam plus ceftazidime/avibactam combination: A general guidance for clinical microbiology laboratories in India. *Indian journal of medical microbiology*, 40(1): 3–6.
19. Pintado, V., Ruiz-Garbajosa, P., Aguilera-Alonso, D., Baquero-Artigao, F., Bou, G., Cantón, R., Grau, S., Gutiérrez-Gutiérrez, B., Larrosa, N., Machuca, I., Martínez Martínez, L., Montero, M. M., Morte-Romea, E., Oliver, A., Paño-Pardo, J. R., & Sorlí, L. 2023. Executive summary of the consensus document of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC) on the diagnosis and antimicrobial treatment of infections due to carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed.)*, 41(6), 360–370.
20. Mauri, C., Maraolo, A. E., Di Bella, S., Luzzaro, F., & Principe, L. 2021. The Revival of Aztreonam in Combination with Avibactam against Metallo- β -Lactamase-Producing Gram-Negatives: A Systematic Review of In Vitro Studies and Clinical Cases. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(8): 1012.
21. Marshall, S., Hujer, A. M., Rojas, L. J., Papp-Wallace, K. M., Humphries, R. M., Spellberg, B., Hujer, K. M., Marshall, E. K., Rudin, S. D., Perez, F., Wilson, B. M., Wasserman, R. B., Chikowski, L., Paterson, D. L., Vila, A. J., van Duin, D., Kreiswirth, B. N., Chambers, H. F., Fowler, V. G., Jr, Jacobs, M. R., ... Bonomo, R. A. 2017. Can Ceftazidime-Avibactam and Aztreonam Overcome β -Lactam Resistance Conferred by Metallo- β -Lactamases in Enterobacteriaceae?. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(4), e02243-16.
22. Davido, B., Fellous, L., Lawrence, C., Maxime, V., Rottman, M., & Dinh, A. 2017. Ceftazidime-Avibactam and Aztreonam, an Interesting Strategy To Overcome β -Lactam Resistance Conferred by Metallo- β -Lactamases in Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(9), e01008-17.