

<https://doi.org/10.18233/apm.v45i4.1955>

Mecanismos moleculares y epidemiología de la resistencia a ceftazidima-avibactam: un análisis integral

Molecular mechanisms and epidemiological trends of ceftazidime-avibactam resistance: an in-depth analysis.

Héctor Emmanuel Acosta Méndez,^{1,2} Jocelin Merida Vieyra,¹ Gerardo Aparicio Ozores,² Maria Magdalena Urzua Abad,^{1,2} Alejandra Aquino Andrade¹

Resumen

En 2015, se aprobó el uso de ceftazidima/avibactam (CZA) para el tratamiento de infecciones complicadas: urinarias, intrabdominales y neumonías adquiridas en hospitales, causadas por bacilos Gramnegativos multidrogoresistentes. Su aprobación para uso pediátrico fue en 2019. A pesar de su efectividad inicial, la resistencia a CZA ha ido en aumento, alcanzando un 10% a nivel global. Este artículo ofrece una revisión exhaustiva de los mecanismos de acción de la CZA. Se detallan las principales formas de adquisición de resistencia a este antimicrobiano, como las mutaciones en la carbapenemasa KPC y betalactamasas de espectro extendido (BLEE), sobreexpresión en bombas de eflujo y modificación de porinas. También se revisan investigaciones experimentales para entender las causas de este fenómeno y se destaca la emergencia de resistencia durante el tratamiento con CZA, subrayando la importancia de la epidemiología de esta resistencia para determinar los casos en los que CZA es la mejor opción terapéutica.

PALABRAS CLAVE: Ceftazidima-avibactam, mecanismos de resistencia a antimicrobianos, pediatría, evolución de la resistencia antimicrobiana, infecciones por bacilos Gramnegativos, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa.

Abstract

In 2015, ceftazidime/avibactam (CZA) was approved for the treatment of complicated infections: urinary, intra-abdominal and hospital-acquired pneumonias caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli. Its approval for pediatric use was in 2019. Despite its initial effectiveness, resistance to CZA has been increasing, reaching 10% globally. This article provides a comprehensive review of the mechanisms of action of CZA. The main resistance mechanism to this antimicrobial, such as mutations in KPC carbapenemase and extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs), overexpression of efflux pumps, and porin modification, are detailed. Experimental research is also reviewed to understand the causes of this phenomenon and the emergence of resistance during treatment with CZA is highlighted, underlining the importance of the epidemiology of this resistance to determine the cases in which CZA is the best therapeutic option.

KEYWORDS: Ceftazidime-avibactam, antimicrobial resistance mechanisms, pediatrics, evolution of antimicrobial resistance, Gram-negative bacilli infections, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase.

¹ Laboratorio de Microbiología Molecular, Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, Ciudad de México.

² Laboratorio de Bacteriología Médica, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México.

Recibido: 13 de diciembre 2023

Aceptado: 11 de junio 2024

Correspondencia

Alejandra Aquino Andrade
aaquinoa@pediatria.gob.mx

Este artículo debe citarse como: Acosta-Méndez HE, Merida-Vieyra J, Aparicio-Ozores G, Urzua-Abad MM, Aquino-Andrade A. Mecanismos moleculares y epidemiología de la resistencia a ceftazidima-avibactam: un análisis integral. Acta Pediatr Méx 2024; 45 (4): 326-342.

INTRODUCCIÓN

Se estima que, en 2019, ocurrieron 13.7 millones de muertes a causa de enfermedades infecciosas; 4.9 millones de ellas se asociaron con la resistencia antimicrobiana (RAM) y 1.27 millones fueron atribuidas a ésta. El 45.3% de las muertes atribuibles a la RAM se debieron a infecciones por bacilos Gramnegativos como *Pseudomonas aeruginosa* (84,600) y enterobacteriales, entre los que destacan *Escherichia coli* (219,000), *Klebsiella pneumoniae* (193,000), *Citrobacter* spp. (10,600), *Enterobacter* spp. (46,100), *Proteus* spp. (11,500) y *Serratia* spp. (10,700).^{1,2}

Los tratamientos para las infecciones por bacilos Gramnegativos en pacientes pediátricos se basan en esquemas con algún antibiótico betalactámico;³ sin embargo, los estudios de las series de enterobacteriales señalan que la resistencia a cefalosporinas de tercera (C3G) y cuarta generación (C4G) varía del 20 al 70% y a carbapenémicos de 10-90%. Por otro lado, en *P. aeruginosa* la resistencia a carbapenémicos se encuentra entre el 10-50%.⁴ ⁵ La resistencia a betalactámicos, en estos microorganismos se debe a la producción de betalactamasas, modificación de proteínas de unión a penicilina (*penicilin-binding proteins*, PBPs), alteración de porinas y bombas de eflujo.⁶ Todos estos mecanismos de resistencia limitan el tratamiento efectivo con betalactámicos; sin embargo, en los últimos años se han introducido a la práctica clínica nuevos compuestos, principalmente betalactámicos con inhibidores de betalactamasas como: ceftazidima-avibactam (CZA), ceftolozano-tazobactam (C/T), meropenem-vaborbactam (MEV) e imipenem-relebactam (IMR).^{7,8}

El objetivo de esta revisión es examinar detalladamente la epidemiología y los mecanismos moleculares relacionados con la resistencia a CZA, con el propósito fundamental de aportar

conocimientos significativos que contribuyan a la prevención efectiva de la resistencia a CZA en diversos entornos epidemiológicos.

APROBACIÓN Y CONSIDERACIONES CLÍNICAS DE CZA

La CZA fue aprobada en 2015 para su uso en adultos por la Administración de Alimentos y Medicamentos (*Food & Drug Administration*, FDA) en EE. UU., en 2016, por la Agencia de Medicinas Europea (*European Medicines Agency*, EMA) y en 2019, para el tratamiento de infecciones en niños mayores a 3 meses.⁹

En los estudios realizados con CZA en poblaciones pediátricas, Franzese y colaboradores investigaron su uso en pacientes de 3 meses a 18 años para tratar infecciones intraabdominales complicadas (IIAc), infecciones del tracto urinario complicadas (ITUc) y neumonías de adquisición hospitalaria (NAH). Los esquemas de dosificación aplicados fueron 50-12.5 mg/kg cada 8 horas para niños de 6 meses a 18 años (máximo de 2000-500 mg) y 40-10 mg/kg para niños de 3 a 6 meses, ambos por infusión intravenosa de 2 horas, con dosis ajustadas a la función renal; estas dosis mostraron eficacia clínica.

En el estudio de fase I, se encontró consistencia en la seguridad y farmacocinética de CZA en niños hospitalizados con infecciones, con dosis de 2000-500 mg en mayores de 12 años, 50-12.5 mg/kg en menores de 12 años con menos de 40 kg, todos por infusión intravenosa de 2 h. En un estudio de fase II, CZA se comparó con cefepime (FEP) en niños con ITUc. Las dosis de CZA se ajustaron según el peso y la edad, con dosis 2000 mg de ceftazidima (CAZ) y 500 mg de AVI para pacientes de más de 40 kg y 50 mg/kg de CAZ y 12.5 mg/kg de AVI para aquellos de menos de 40 kg, administradas por infusión intravenosa durante 2 h, cada 8 h. En comparación, FEP se administró

siguiendo las pautas locales estándar de cada centro. Este estudio concluyó que ambos tratamientos eran igualmente efectivos. Finalmente, en un estudio de fase II adicional, se comparó CZA más metronidazol con meropenem (MEM) en niños con IAAC, con dosis de 2000 mg de CAZ y 500 mg de AVI para niños de más de 40 kg y 50 mg/kg de CAZ y 12.5 mg/kg de AVI para menores de 40 kg, con tasas de respuesta clínica y microbiológica favorables en ambos grupos.¹⁰⁻¹³

Actualmente, se están realizando estudios para evaluar su uso en neonatos (NCT04126031) y para enterobacteriales multidrogosresistentes (MDR) (NCT0585071).¹⁴ Se han descrito resoluciones clínicas y microbiológicas favorables en el tratamiento de pacientes pediátricos con ITuc, bacteriemias e IAAC por bacilos Gramnegativos MDR.¹⁵

En México, la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) en el Compendio Nacional de Insumos para la Salud, publicado en abril de 2020, establece como indicaciones para CZA, la NAH, que incluye neumonía asociada a ventilador, ocasionada por *K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos y con susceptibilidad a CZA, en adultos.¹⁶

La CZA es un antibiótico útil para tratar algunas infecciones por bacilos Gramnegativos resistentes a antibióticos betalactámicos, particularmente los productores de betalactamasas del tipo: *K. pneumoniae* carbapenemasa (KPC), betalactamasa Guiana de espectro extendido (GES), AmpC y algunas oxacilinasas (OXA); sin embargo, la resistencia a CZA se ha reportado en estudios de vigilancia, en ensayos *in vitro* y su emergencia durante el tratamiento clínico.¹⁵ Los puntos de corte de la categoría resistente en CLSI y EUCAST son $>16/4$ $\mu\text{g/L}$ y ≥ 4 $\mu\text{g/L}$, respectivamente.

PROCESOS CELULARES ESTRATEGICOS EN LA RESISTENCIA A CZA

Los antibióticos betalactámicos, incluyendo a la CZA, inhiben la síntesis de la pared celular a través de la unión con las PBPs; por lo que para abordar los mecanismos moleculares involucrados en la resistencia a CZA es indispensable conocer los aspectos más generales de la síntesis de la pared celular, las funciones de las PBPs así como la estructura y clasificación de las betalactamasas.

Síntesis de la pared celular

El componente principal de la pared celular es el peptidoglicano (PG), que es un polímero de azúcares (ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina) y aminoácidos que proporciona rigidez y protección a la célula bacteriana.^{17,18} La polimerización y síntesis de la capa de PG ocurren por reacciones de transglicosilación (unión de los residuos de azúcares) y transpeptidación (entrelazamiento de las cadenas lineales). La transpeptidación es el blanco principal de los betalactámicos.¹⁷⁻¹⁹

Las PBPs son fundamentales para la construcción y mantenimiento de la pared celular bacteriana. Se dividen en PBPs de masa molecular alta (Clase A y B), y PBPs de masa molecular baja (Clase C).²⁰ Las PBPs de la Clase A, como PBP1a, son multifuncionales, con actividades de glicosiltransferasa (GTasa) y transpeptidasa (TPasa) participan en la polimerización y entrecruzamiento de las cadenas de peptidoglicano. Las PBPs de la Clase B, como PBP1 y PBP2b, son monofuncionales y se centran en la actividad de TPasa, vital en la división celular y la formación del septo de esporulación. Las PBPs de la Clase C son de bajo peso molecular y se subdividen en varios tipos, como tipo-4 y tipo-5. Estas enzimas, como PBP4a y PBP5, están más involucradas en

la maduración y reciclaje del PG. Los subtipos como PBP6 y PBP6b, que son estrictamente carboxipeptidasas, están involucrados en la maduración del PG.²¹ *E. coli* posee 12 PBPs y *P. aeruginosa*, 8.²⁰ La CAZ se une primariamente a PBP3 en Gramnegativos, debido al anillo aminotriazol, a diferencia de los carbapenémicos que se unen a todas las PBPs y que tiene mayor afinidad por PBP2 y PBP4;²² en *K. pneumoniae* a concentraciones bajas se une a PBP3 y PBP1a/b en concentraciones altas.²³ Por otro lado, en *E. coli* el AVI se une a PBP2 y en *P. aeruginosa* a PBP2 y PBP3.^{24,25}

Betalactamasas y el bucle omega

Las betalactamasas son enzimas que rompen el enlace amida de los antibióticos betalactámicos. Se clasifican por su estructura o sus características funcionales. La clasificación de Ambler las agrupa en cuatro clases de acuerdo con la secuencia de aminoácidos; A, C y D son serinbetalactamasas (poseen un residuo de serina en el sitio activo) y la clase B agrupa metalobetalactamasas (MBL) que usan zinc como cofactor. La clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros, las divide en grupos¹⁻³ con base en su capacidad de hidrólisis de los distintos grupos de betalactámicos y en la inhibición de su actividad por el ácido clavulánico o el EDTA. Por otro lado, el grupo 1 incluye las cefalosporinas (como AmpC); el 2, las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) de las familias: TEM (Temoneira), SHV (sulfhidrilo variable), CTX-M (cefotaximasa-Munich), OXA (oxacilinas) y carbapenemasas, KPC; el grupo 3 abarca las MBL: VIM (MBL Verona codificada en integrón), IMP (imipenemasa) y NDM (MBL Nueva Delhi).²⁶⁻²⁸

Figura 1

Todas las serinbetalactamasas poseen una estructura denominada bucle omega, que se asemeja a la letra mayúscula griega Ω y es esencial para estabilizar la unión enzima-sustrato. Este bucle es responsable de la reacción de hidrólisis durante

la degradación del betalactámico. El aminoácido E166 es un residuo catalítico altamente conservado entre las betalactamasas y es esencial para la activación de una molécula de agua en la reacción de desacilación del antibiótico.²⁹

El bucle Ω de las enzimas TEM contiene 16 residuos de aminoácidos (R164 a D179), y se localiza en la parte inferior del sitio activo de la enzima³⁰. En KPC-2, el bucle Ω abarca los aminoácidos 164-179, está adyacente al residuo catalítico S70 y es estabilizado por un puente salino entre R164 y D179.^{31,32} En las betalactamasas GES, este bucle se localiza entre los residuos 159 a 182,³³ mientras que en las proteínas CTX-M se encuentra entre 161-179²⁹ y en las SHV entre 164-179.³⁰

ESPECTRO DE HIDRÓLISIS E INHIBICIÓN DE CZA

La CAZ consiste en un núcleo de cefalosporina que incluye el anillo betalactámico en su centro, destacan tres sustituyentes en su estructura: un grupo metilpiridinium (posición 3) que provee la actividad antipseudomonas; un anillo aminotriazol (posición 7) que es responsable de la actividad contra bacilos Gramnegativos, también le confiere la característica de ser un sustrato pobre para betalactamasas de espectro reducido como: TEM, SHV y OXA, y el grupo carboxipropil-oximino que incrementa la actividad antipseudomonas, tiene poca actividad contra enterobacteriales y Grampositivos.²²

El avibactam (AVI) es un inhibidor de betalactamasa que pertenece a la clase de diazabicyclooctanos (DBO), no contiene un centro betalactámico. AVI forma un enlace covalente a través de acilación reversible con la serina del sitio activo de la betalactamasa a diferencia del ácido clavulánico y el tazobactam, AVI no se hidroliza, sino que se separa lentamente y recupera su estructura original, por lo que recibe el nombre de inhibidor no suicida.^{25,34}

Clasificación por sitio catalítico	Grupo funcional	Actividad	Enzimas clínicamente relevantes	Inhibición por CZA
Serin-betalactamasas	Grupo A	Cefalosporinas espectro original	TEM-1, SHV-1, SHV-10	Sí
		Cefalosporinas espectro extendido	TEM, SHV, CTX-M, GES	Sí
		Carbapenemasas	KPC, SME, GES carbapenemasa	Sí
	Grupo C	Cefalosporinas	AmpC, CMY	Sí
	Grupo D	Oxacilinas	OXA-1	Sí
		Carbapenemasas	OXA-23, OXA-48	Sí

Figura 1. Betalactamasas y CZA.

TEM: Betalactamasa de Temoneira; SHV: Betalactamasa Sulfidriilo Variable; CTX-M: Betalactamasa de cefotaxima-Munich; GES: Betalactamasa de espectro extendido de Guiana; KPC: Carbapenemasa de *Klebsiella pneumoniae*; SME: Carbapenemasa de *Serratia marcescens*; AmpC: Betalactamasa AmpC; CMY: Cefoxitina de Maseru/Yamaguchi; OXA: Oxacilina (De enterobacterales y *P. aeruginosa*, no de *Acinetobacter baumannii*).

La CAZ es hidrolizada por BLEE, carbapenemasas de las clases B y C, pero no por todas las de la clase D, mientras que el AVI inhibe las betalactamasas de la clase A, C y algunas de la D.³⁵ **Figura 1**

MECANISMOS DE RESISTENCIA A CZA

La resistencia a CZA en bacterias puede deberse principalmente a cambios en betalactamasas, porinas y en menor medida a la sobreexpresión de bombas de eflujo.

Papel de las betalactamasas en la resistencia a CZA

CZA no es activa en cepas productoras de MBL, pero suele serlo en cepas productoras de KPC, IMI-1, BLEE, betalactamasas del tipo OXA-48 y cepas resistentes a carbapenémicos no produc-

toras de carbapenemasas; sin embargo, se han descrito mutaciones puntuales en betalactamasas KPC, AmpC, CTX-M, SHV, VEB y OXA que pueden generar fenotipos de resistencia.³⁶⁻³⁸

Variantes de KPC

Las betalactamasas KPC son serinproteasas con actividad de carbapenemasas. CZA es una opción de tratamiento para cepas productoras de esta enzima; sin embargo, los cambios en la secuencia de aminoácidos de estas proteínas son el mecanismo de resistencia a CZA más frecuente.

El primer reporte de resistencia a CZA se informó en el 2015, en EE. UU., en un aislamiento de *K. pneumoniae* ST258 productor de KPC-3 (32/4 µg/mL) la cual estaba mediada por el aumento de 3.8 veces en la expresión de KPC-3.³⁹ En otros

trabajos se ha relacionado con sobreproducción de KPC-3 debido a múltiples copias del gen.⁴⁰

A partir de este reporte se ha informado de varios aislamientos que sobreproducen o presentan cambios KPC-2 o KPC-3, estos cambios se presentan principalmente en el bucle Ω , en el residuo D179; junto a otras modificaciones dan lugar a nuevos alelos de KPC, como KPC-49 (C487A), KPC-115 (Δ E169, Δ S170 y L168P), KPC-31 (D179Y), KPC-28 (H274Y), KPC-34, KPC-36 (ins276-EAV-277) y KPC-53 (ins168-EL-169) relacionadas a la resistencia a CZA (Figura 2).^{37,41-44} La variante KPC-115 perdió la capacidad de hidrolizar carbapenémicos y ganó la de hidrolizar a CZA; y cabe mencionar que esto es independiente de otros mecanismos como la pérdida de porinas que también

aumentan la concentración inhibitoria mínima (CIM) de CZA.^{37, 42}

Variantes de oxacilinasas

Recientemente, se reportó en la unidad de cuidados intensivos pediátrica de un hospital español, que algunas cepas de *P. aeruginosa* tratadas con CZA produjeron las variantes de OXA-10: OXA-14 (G157D), OXA-794 (W154C), OXA-795 (Δ F153-W154), OXA-824 (N143K) y OXA-681 (Δ I159, E160L) que proveen resistencia a CZA.³⁶ Por otra parte, se vio que, durante el tratamiento de un paciente con cáncer de colon y posterior infección de herida quirúrgica, *P. aeruginosa* adquirió resistencia a ceftazidima, CZA y ceftolozano-tazobactam por OXA-539, que es una OXA-2 con duplicación de D149.⁴⁵

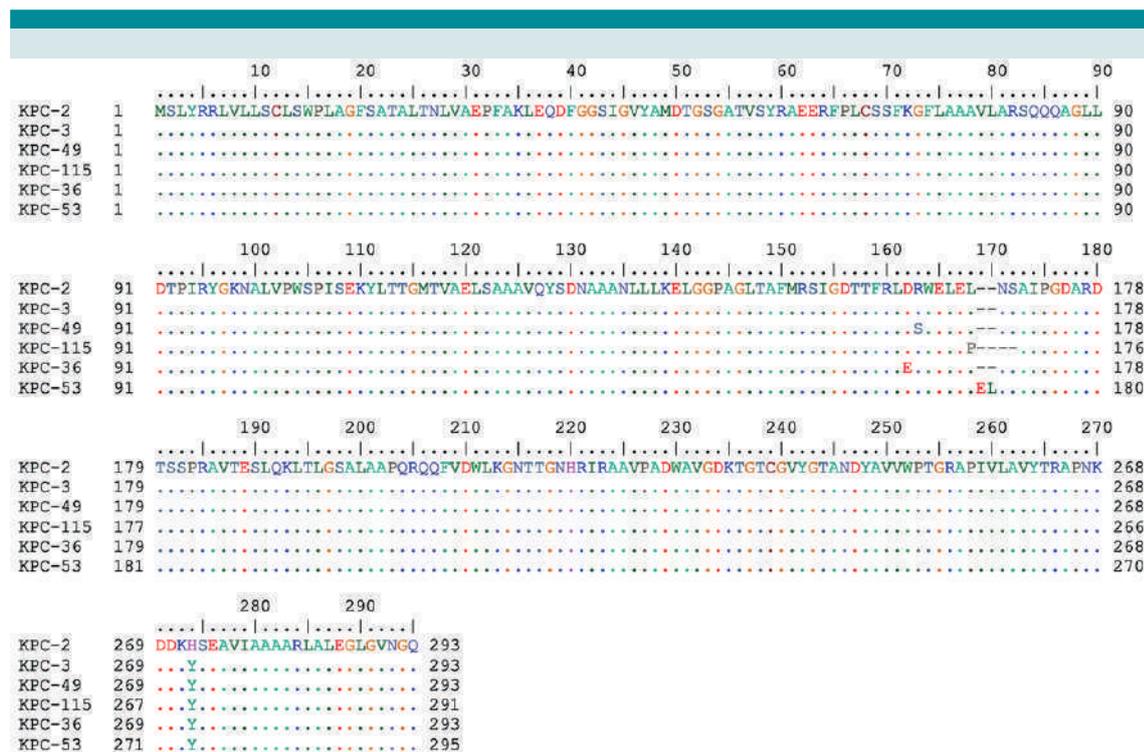


Figura 2. Alineamiento de variantes de KPC. Las variantes de KPC que se relacionan con la resistencia a CZA muestran modificaciones en el bucle Ω como se observa en el alineamiento.

AmpC

En los últimos años, han incrementado los reportes de resistencia a CZA mediado por enzimas AmpC cromosómica y plasmídicas. En EE. UU, se detectó un aislamiento de *E. coli* ST410 con CMY-185, localizada en un plásmido conjugativo, con 4 cambios respecto a CMY-2: A114E, Q120K, V211S y N346Y; se propuso que la posición Y346 fue la responsable de inhibir la unión a AVI debido al impedimento estérico entre la cadena lateral de Y346 y el grupo sulfato de avibactam.⁴⁶ En China, en 6 aislamientos de *K. pneumoniae* con CIM a CZA de 128 µg/mL, se detectaron las enzimas KPC-2 y CMY-72, esta última tuvo una eliminación de tres aminoácidos (K290, V291 y A292) y el cambio N346I.⁴⁷ En *E. coli* ST457 se localizó a CMY-178, que difiere de CMY-172 por una sustitución en la posición 70 (A70T), y con una CIM a CZA de 64/4 µg/mL.⁴⁸

En un aislamiento de *P. aeruginosa* obtenido de un paciente con fibrosis quística, se presentó una CIM a CZA ≥ 512 µg/mL y se observó la sobreexpresión de AmpC (2,350 veces) que se relacionó a cambios en AmpC (F121L, G222S), AmpD (G46D) y AmpR (D135N).⁴⁹

Variantes de BLEE

En 2019, en Suiza, se observó una cepa de *K. pneumoniae* obtenida de una muestra de orina de un paciente hospitalizado previamente en Grecia, con la mutación K234R en la betalactamasa vietnamita de espectro extendido (VEB-1), que dio origen a VEB-25 y le confirió un fenotipo de resistencia a CZA ya que este residuo de lisina es crítico para la actividad inhibitoria de AVI.^{38,50,51}

En Alemania se analizaron cinco aislamientos de *K. pneumoniae* productoras de OXA-48 y CTX-M-14, la cual tenía cambios ($\Delta 170D27$, $\Delta 170D264$ y $\Delta 170$), que generaban la sobreexpresión de CTX-M-14 y la resistencia a CZA entre

8 y 32 µg/mL.⁵² De un paciente con bacteriemia tratado con CZA durante una semana, se aisló a *K. pneumoniae* ST11 productora de KPC-2 y se encontró un plásmido con SHV-12, cuya recombinación e integración le confirió un promotor adicional que aumentó la expresión de SHV-12 y de factores de virulencia, así como la CIM a CZA a 32 µg/mL.⁵³

Disminución de la concentración de CZA

Bombas de eflujo

P. aeruginosa posee diferentes bombas de eflujo de la familia resistencia-nodulación-división (RND), entre las que se incluyen: MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY-OprM, MexJK-OprM, MexHI-OpmD, MexPQ-OpmE, MexMN-OprM y MexVW-OprM. Estas bombas están constituidas de tres componentes: una proteína ubicada en la membrana interna, un canal en la membrana externa y la proteína accesoria del espacio periplásmico. La proteína de la membrana interna captura los sustratos presentes en el citoplasma y los transporta hacia el exterior de la célula mediante la proteína de la membrana externa.⁵⁴ MexAB-OprM contribuye a la resistencia intrínseca de varios antimicrobianos, como: fluoroquinolonas, betalactámicos, tetraciclina, macrólidos, cloranfenicol, novobiocina, trimetoprim y sulfonamidas. Esta bomba se expresa de forma constitutiva en cepas silvestres y su sobreexpresión es responsable de la aparición de aislamientos multidrogoresistentes.⁵⁵

La expresión de MexAB-OprM se regula principalmente por tres genes: *mexR*, *nalC* y *nalD*. El gen *mexR* se localiza río arriba del operón *mexAB-oprM* y codifica la proteína represora MexR, la cual se une como homodímero entre la región intergénica de *mexR* y *mexA*. Esto resulta en represión transcripcional de *mexAB-oprM*. Mutaciones en *mexR* ocasionan pérdida de dimerización de la proteína MexR, lo que provoca que no se pueda unir a la región inter-

génica dando como resultado la hiperexpresión de MexAB-OprM.^{56,57}

El gen *nalC* codifica la proteína NalC, la cual actúa como un represor del operón PA3720-PA3719. Mutaciones en *nalC* ocasionan la sobreexpresión de PA3720-PA3719. PA3719 inhibe a MexR y permite la transcripción de *mexAB-oprM*.^{56,57}

El gen *nalD* codifica para la proteína NalD, la cual actúa como represor secundario. Esta se une a una secuencia entre *mexAB-oprM* y el sitio de unión a *mexR* cercano al promotor de *mexA*. Mutantes de *nalD* causan la sobreexpresión de MexAB-OprM.^{56,57}

En una colección de 54 aislamientos de *P. aeruginosa* obtenidos entre 2005 y 2008, la adición de los inhibidores de bombas de eflujo fenil-arginina- β -naftilamida (PABN) y carbonil-cianuro-m-clorofenilhidrazona (CCCP) redujo la CIM de CZA en nueve cepas de $>32/4$ a $<0.06/4$ $\mu\text{g}/\text{mL}$. En cepas de *P. aeruginosa* con CIM a CZA $\geq 16/4$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ obtenidas de pacientes con fibrosis quística, se encontraron mutaciones en *mexA* (G82T, C360G y G616T) y *mexB* [$\Delta 1\text{nt}$ (T1854), $\Delta 1\text{nt}$ (T1889), $\Delta 2\text{nt}$ (1947-1948) y C1126G].⁵⁸ En una colección de cepas de *P. aeruginosa* con CIM a CZA de 64/4 mg/L obtenidas de cinco países en América Latina, se detectaron mutaciones en los genes reguladores de la bomba MexABOprM. En NalD (G71E, $\Delta 1$ -95aa, $\Delta 1$ -85aa y $\Delta 1$ -150aa, cambios en el marco de lectura). En NalC (G71E, E153Q, A186T, S209R, $\Delta 1$ -68aa y codón de paro prematuro). En MexR ($\Delta 1$ -4aa, $\Delta 1$ -26aa, $\Delta 1$ -42aa y V126E). Además, se encontraron mutaciones en MexB (G957D, S1041E y V1042A).⁵⁹

AcrAB

AcrAB-TolC es una bomba de eflujo que pertenece a la familia RND. Está compuesta de una proteína trimérica en la membrana externa

(TolC), una proteína transportadora en la membrana interna (AcrB) y la proteína adaptadora en el espacio periplásmico (AcrA).⁶⁰ Reportes indican que AcrAB-TolC parece no estar implicada en la resistencia a CZA. En 24 cepas de *K. pneumoniae* con KPC-2, la adición del inhibidor PABN no disminuyó la CIM de CZA más de dos diluciones. Además, no hubo diferencia estadísticamente significativa en los niveles de expresión de *acrB* y *ramA* (regulador).⁶¹ En otro trabajo que incluyó cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Klebsiella aerogenes*, tampoco se encontró disminución de la CIM en presencia de inhibidores.⁶² En contraste, en una cepa de *K. pneumoniae* obtenida de un paciente con bacteriemia, se observó una delección de 10 Kb aproximadamente en una región que incluye los genes *ramR-ramA*, los cuales regulan la expresión del operón *acrAB*. Esta mutación incrementó la CIM a CZA de 4/4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a 32/4 $\mu\text{g}/\text{mL}$.⁴¹ En un estudio que incluyó ocho cepas de enterobacteriales con CIM a CZA de 16/4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, se detectaron mutaciones en *E. coli*: AcrA (T104A) y AcrB (R290G, N596H, A504D); *K. pneumoniae*: AcrB (V375A, R716L) y *E. cloacae*: AcrB (V742I). En una cepa de *E. cloacae* con CIM a CZA de 32/4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ obtenida de un paciente con infección de vías urinarias, se detectó la mutación F396L en la proteína AcrB.⁶³

Porinas

La modificación de las porinas es una estrategia bacteriana que limita la difusión del antibiótico dentro de la célula. Las porinas OmpK35 y OmpK36, son canales de porina no selectivos responsables de la entrada rápida de betalactámicos.⁶⁴ OmpK35/36 permiten la difusión de AVI a través de la membrana externa de *K. pneumoniae*.⁶⁵ Las mutaciones de los genes codificantes de porinas en OmpK36 134-135GD y un codón de paro prematuro en OmpK35 contribuyen a la resistencia a CZA, porque las variantes cambian el tamaño y la conformación de poros;⁶⁶ sin embargo, su alteración no es una vía inicial para el desarrollo de resistencia a CZA, la pérdida de

porinas asociada con una mayor expresión de bla_{KPC} , son mecanismos implícitos para los fenotipos resistentes a CZA.⁶⁷ Cepas con cualquiera de estos mecanismos solos, son más susceptibles a CZA.⁶⁸ Nelson y cols., describieron que aislados con OmpK35 no funcional y mutaciones en OmpK36 con una mayor expresión de bla_{KPC-3} y bla_{SHV-12} pueden provocar resistencia a CZA de 32 µg/mL.⁴¹

Las cepas con bla_{KPC} silvestre y con al menos uno de los genes de OmpK35 u OmpK36 mutados o eliminados muestran resistencia (>8 µg/mL) a CZA en *K. pneumoniae*.⁶⁹ Cepas con bla_{KPC-3} silvestre y con OmpK35 truncado y OmpK36 silvestre dan como resultado un aumento en la CIM a CZA (≥ 256 µg/mL).⁷⁰ Se describió que cepas de *K. pneumoniae* con bla_{KPC-2} mutado, pero con el gen de OmpK36 silvestre eran resistentes a CZA (16 µg/mL), mientras que cepas con un mayor número de copias de bla_{KPC-3} con OmpK35 y OmpK36 truncadas eran resistentes a CZA (>32 µg/mL).⁷¹

Castanheira y cols. describieron un aislamiento que mostraba resistencia a CZA (16 µg/mL), albergaba bla_{KPC-2} y tenía inserciones en OmpK36 y un codón de paro interno en OmpK35. Se reportó que mutaciones en el gen de la porina OmpK36 y una OmpK35, además de albergar genes de bla_{KPC-2} , bla_{SHV-11} , bla_{SHV-12} muestran resistencia a CZA (32 µg/mL).⁷²

Además de OmpK35 y OmpK36, *K. pneumoniae* puede expresar otras porinas alternas que contribuyen a la resistencia a antimicrobianos como LamB, esta es una maltoporina, la cual se encarga del transporte de maltosa y maltodextrinas y se encuentra ubicado en la membrana externa de *E. coli* y *K. pneumoniae*. Las mutaciones en la maltoporina LamB en cepas de *K. pneumoniae* productoras de KPC contribuyen parcialmente a la resistencia a CZA (mutantes de LamB disminuyen la CIM de CZA de 512 µg/mL a 256 µg/mL).⁷³

RESISTENCIA EXPERIMENTAL

Los estudios experimentales sobre la RAM ayudan a predecir como la aparición de nuevas variantes de betalactamasas con sustituciones de aminoácidos impactan en el mecanismo enzimático y que pueden amenazar la eficacia del tratamiento a medida que se va introduciendo un nuevo antimicrobiano y de las consecuentes limitaciones de la eficacia contra el surgimiento de las nuevas variantes⁷⁴. Las betalactamasas KPC pueden inhibirse con AVI; sin embargo, las variantes de KPC-2 y KPC-3 que albergan sustituciones en la posición D179 son resistentes a la combinación CZA³¹. Barnes y cols. diseñaron dos variantes de KPC-2 (D179N y D179Y) mediante mutagénesis dirigida, y con estudios cristalográficos concluyeron que la variante D179N mantiene su bucle Ω en una posición mayoritariamente parecida a la de KPC-2 silvestre y es la única variante cuyo fenotipo de resistencia es más parecido a la de KPC-2 silvestre⁷⁵. Además, se describió que la variante D179N fue resistente a imipenem (IPM) como KPC-2 silvestre, pero D179N fue sensible a la combinación IMR⁷⁶. Mientras que la variante D179Y no confiere resistencia a IPM y MEM, pero en presencia de IPM, vuelve a restaurar la actividad de carbapenemasa; la secuenciación de esta mutante reveló la reversión de D179Y a la secuencia de tipo silvestre⁷⁷. Sin embargo, no todas las variantes D179 dan como resultado resistencia a CZA, la mutante D179E resultó ser sensible a CZA.⁷⁶ Winkler y cols. realizaron mutagénesis dirigida en las posiciones 164, 167, 169 además de la posición 179, ubicadas en el bucle Ω de KPC-2 y observaron que estas variantes eran resistentes a CZA.⁷⁴ Lo cual concuerda con Hemarajata y cols. que expresaron KPC-2 de *K. pneumoniae* con una mutación L169P presente en el bucle Ω y demostraron que esta mutación también confería resistencia a CZA.⁷⁸

Por otro lado, se ha visto que sustituciones en residuos altamente conservados en KPC-2 como

N132G, no provocan resistencia a CZA debido a que hay una reducción en la eficiencia de actividad de la betalactamasa por AVI.⁷⁹ En otro estudio, Haidar y cols., observaron que mutantes de KPC-3 en la posición 179 eran resistentes a CZA, pero sensibles a carbapenémicos, lo mismo que sucede con KPC-2, estas mutantes reducen su actividad de carbapenemasa y se comportan como BLEE.⁸⁰

De otro modo, no solo las mutantes en D179 son resistentes. Mutantes con plásmidos que albergaban dos copias (una de bla_{KPC-2} y bla_{KPC-33} la cual presenta susceptibilidad reducida a CZA) y tres copias de bla_{KPC-2} , también muestran resistencia a CZA. El plásmido con las dos copias ($bla_{KPC-2} + bla_{KPC-33}$) permite que la cepa no solo sea resistente a CZA sino también a los carbapenémicos. Las múltiples copias de bla_{KPC-2} permiten compensar una mutación en una copia de bla_{KPC-2} .⁸¹

Compain y cols. hicieron variantes de CTX-M-15 en el bucle Ω . La sustitución P167S se asoció con aumentos de 4 veces la CIM de CAZ-AVI. La mutante L169Q sensible en un inicio, se cultivó en presencia de CZA y esto provocó la adquisición de resistencia a CZA.⁸²

CMY-2 es una betalactamasa de tipo AmpC que es sensible a CZA, Shropshire y cols. realizaron mutantes con combinaciones dobles o triples de las siguientes sustituciones: A114E, Q120K, V211S, N346Y. Únicamente las mutantes que contienen la sustitución N346Y mostraron resistencia a CZA de 32 a 256 veces más altas que la cepa con CMY-2 silvestre. La mutación única de N346Y, no se asocia a una susceptibilidad reducida en CMY-2. Por lo tanto, se necesita de una mutación adicional a N346Y para mostrar resistencia a CZA.⁴⁶

EPIDEMIOLOGÍA DE LA RESISTENCIA A CZA IN VITRO

La resistencia a CZA varía de acuerdo con el tiempo de evaluación, región y uso del antimicro-

crobio. El programa ATLAS, en su estudio de seis países de América Latina entre 2015 y 2017, reportó resistencia a CZA del 1.8% en enterobacteriales y del 16.3% en *P. aeruginosa*. Estos porcentajes reflejan la presencia de resistencia particularmente en las cepas productoras de carbapenemasas y MBL.⁸³ En comparación, el programa SENTRY registró una menor resistencia a CZA en la Unión Europea, con un 10.3% en *P. aeruginosa* y un 1.4% en enterobacteriales, y aún menor en EE. UU. durante el mismo periodo de 2016 a 2019, con un 3.6% en *P. aeruginosa* y 0.07% en enterobacteriales, destacando variaciones regionales significativas.⁸⁴ **Cuadro 1**

El análisis de cepas de *K. pneumoniae* en China, entre 2017 y 2018, mostró que un 23.3% presentaron resistencia a CZA, con la identificación de carbapenemasas KPC-2, NDM-1 y NDM-5.⁸⁵ Posteriormente, en un período de seguimiento de 2017 a 2019, en seis países de América Latina, el programa ATLAS reportó la resistencia a CZA de enterobacteriales en 1.9% y 13.1% en *P. aeruginosa*.⁸⁶

En India, entre 2018 y 2021, las cepas de *P. aeruginosa* mostraron una resistencia a CZA del 21.8%, con una proporción significativa de productoras de carbapenemasas.⁸⁷ En América Latina, durante 2016-2017, se detectó resistencia a CZA en *E. coli* en un 2.1% y en *K. pneumoniae* en un 7.9%, reflejando la influencia de la producción de carbapenemasas como mecanismo predominante.⁸⁸ Además, durante el mismo período, la presencia de MBL se encontró en un número limitado de cepas de enterobacteriales y *P. aeruginosa*.⁵⁹

El reporte del programa ATLAS, de 2015 a 2020, indicó un incremento de la resistencia a CZA en enterobacteriales del 0.7% al 2.8% y en *P. aeruginosa* del 13.4% al 14%.⁸⁹ Este cambio refleja una tendencia ascendente en la resistencia a lo largo del tiempo en la región de América Latina.

Cuadro 1. Epidemiología de resistencia a CZA

Región	Periodo	Especies	Aislamientos	Frecuencia de R	Mecanismo	Tipo de infección	Cita
U.E	2016-2019	Enterobacterales <i>P. aeruginosa</i>	2,458 6773	1.4% 10.3%	KPC-2, KPC-3, OXA-48, NDM-1, VIM	ITR	85
EE. UU.	2016-2019	Enterobacterales <i>P. aeruginosa</i>	4318 8600	0.07% 3.6%	KPC-2, KPC-3, OXA-48, SME, NDM-1, VIM	ITR	85
China	2017-2018	<i>K. pneumoniae</i>	43	23.30%	KPC-2, NDM-1, NDM-5	ITR, ITS	86
India	2018-2021	<i>P. aeruginosa</i>	1368	21.80%	NDM, VIM, KPC, IMP, GES	ITS	88
AL	2015-2017	Enterobacterales <i>P. aeruginosa</i>	7729 2053	1.8%, 16.3%	CB, MBL	IIA, IPTB, ITR, ITS, ITU	84
AL	2016-2017	<i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i>	2252	2.1% 7.9%	CB (KPC más frecuente)	Desconocido	89
AL	2016-2017	Enterobacterales <i>P. aeruginosa</i>	2727 492	2.2%, 22.1%	MBL	Desconocido	59
AL	2017-2019	Enterobacterales <i>P. aeruginosa</i>	10,937	1.9%, 13.1%	KPC, OXA-48, GES- CB, VIM, IMP, NDM	IIA, IPTB, ITR, ITS, ITU	87
AL	2015-2020	Enterobacterales <i>P. aeruginosa</i>	15,215 4614	1.7%, 14%	CB, MBL	IIA, IPTB, ITR, ITS, ITU	90
México	2015-2017	Enterobacterales <i>P. aeruginosa</i>	1855 524	21.4%, 14.9%	BLEE, SCB	IIA, IPTB, ITR, ITS, ITU	84
México	2018-2019	<i>P. aeruginosa</i>	19	27.30%	BLEE, CB	IIA, IPTB, ITR, ITS, ITU	91
México	2015-2020	Enterobacterales <i>P. aeruginosa</i>	3713 1185	1.4% 3.4%	CB, MBL	IIA, IPTB, ITR, ITS, ITU	59, 90

U.E.: Unión europea, EE. UU.: Estados Unidos de Norteamérica, AL: América Latina, R: resistencia, CB: carbapenemasas, MBL: metalobetalactamasas, KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, OXA: oxacilinasas, NDM: metalobetalactamasa de Nueva Delhi, VIM: metalo-betalactamasa de Verona codificada en integrón, IMP: imipenemasa, GES: betalactamasas de espectro extendido de la Guiana, GES-CB: betalactamasa de espectro extendido de la Guiana tipo carbapenemasa, ITR: infección de tracto respiratorio, ITS: infección de torrente sanguíneo, IIA: intraadrenal, IPTB: Infección de piel y tejidos blandos, ITU: infección de tracto urinario.

En México, específicamente dentro del marco del programa ATLAS de 2015 a 2020, se observó que la resistencia a CZA en enterobacterales fue del 1.4%, con un incremento al 3.4% en *P. aeruginosa* cuando se comparan los periodos 2015-2017 y 2018-2020.^{59,89} Un estudio adicional mostró resistencia del 21.4% en enterobacterales y del 14.9% en *P. aeruginosa*, subrayando la relevancia de los productores de BLEE y carbapenemasas.⁸³ Además, un análisis nacional, durante 2018-2019, reveló resistencia en *P. aeruginosa* del 27.3%.⁹⁰

MICROEVOLUCIÓN *IN VIVO*

La resistencia *in vivo* se presenta en pacientes tratados con CZA y también en los que no han tenido presión de selección; el mayor número de reportes involucran aislamientos de *K. pneumoniae* con KPC, variantes de KPC-3 con mutaciones en el bucle Ω , aumento en el número de copias de los genes KPC, disminución de la expresión de KPC, incluso cambios en la secuencia de BLEE y del tipo OXA. **Cuadro 1**

La resistencia a CZA asociada al aumento en el número de copias de los genes KPC se observó en aislamientos de *K. pneumoniae* productores de KPC-2 obtenidos de un paciente con trasplante de pulmón; después de 13 a 22 días de inicio de tratamiento se detectaron variantes de KPC-2: KPC-33(D179Y), KPC-51(D179N, Y241H, H274N) y KPC-52 (D179Y, iV262). En uno de los aislamientos se detectaron paralelamente los genes de KPC-2 y KPC-33 con una CIM a CZA de 256 µg/mL.⁴²

En Italia, se reportó un caso de subpoblaciones de *K. pneumoniae* una con KPC-3 (WT) con una CIM a CZA de 8 µg/mL y carbapenémicos (≥ 32 µg/mL); y dos con una variante de KPC-3 (D179Y); una población tenía alta resistencia a CZA (≥ 256 µg/mL) y CIM bajas a carbapenémicos (IPM 0.25 µg/mL y MEM 8 µg/mL) y la segunda CIM altas a carbapenémicos (≥ 32 µg/mL).⁷⁰

En Grecia, se informó de aislamientos con KPC-2 portadores de variantes de la BLEE VEB-14, que después de tratamiento con CZA presentaron el cambio K234R dando lugar a VEB-25.⁵⁰ La combinación de KPC-2 y VEB-25 se reportó recientemente en un aislamiento en Suiza, el estudio epidemiológico no reveló alguna relación con los aislamientos en Grecia y a diferencia de ese informe el paciente no recibió tratamiento con CZA.³⁸ La emergencia de aislamientos resistentes aún sin presión de selección por tratamiento también se presentó en un paciente con ITU, en 2017, en China, que recibió tratamiento con PTZ y cefoperazona sulbactam, durante 15 días, y posteriormente se aisló una *K. pneumoniae* con duplicación del gen KPC-2, de la ST4496, que está relacionada estrechamente con la ST11.⁹¹

El mecanismo más común de resistencia a CZA *in vivo* son las variantes de KPC, se sugiere que las porinas como OmpK35, OmpK36 y OmpK37 pueden tener un papel en este fenotipo; sin embargo, los resultados no son concluyentes.⁴³

En América Latina, los reportes de resistencia son escasos, en Argentina se registró un brote de *K. pneumoniae* con las variantes KPC-31 (D179T) y KPC-115 (Δ D169, Δ S170 y L168P) en pacientes con COVID-19; en estos aislamientos no se logró detectar fenotípicamente a KPC.³⁷

En un paciente chino se observó un fenómeno particular, la resistencia dinámica, quien inicialmente se trató con CZA y amikacina por una neumonía causada por *K. pneumoniae* ST11 con KPC-2, sensible a CZA (0.5 µg/mL) y resistente a IPM (32µg/mL) y a MEM (128µg/mL), después de 14 días de tratamiento, se aisló la misma especie, pero con KPC-33 (D179Y) y resistente a CZA (64µg/mL) y sensible a IPM y MEM (0.06µg/mL y 2 µg/mL, respectivamente); se modificó el tratamiento por un esquema de 15 días con IPM + colistina; en el aislamiento obtenido después de este periodo no se mantuvo la resistencia a CZA (3µg/mL) sin presión de selección, pero sí a carbapenémicos (IPM 128 µg/mL, MEM 512 µg/mL).⁹²

Un mecanismo que se ha reportado con menor frecuencia es la disminución en la expresión de KPC-3; en dos aislamientos se detectó por inmunoensayo KPC-3, pero una de ellas dio la prueba CarbaNP negativa, la secuenciación reveló que tenía dos eliminaciones de D167 y L168.⁹³ **Cuadro 2**

A través del análisis de la secuenciación del genoma completo se ha comprobado que los aislamientos de *K. pneumoniae* resistentes a CZA *in vivo* no comparten un origen clonal, pero sí se ha observado que la ST11 y ST relacionadas podrían estar involucradas en la resistencia *in vivo* a CZA.⁴³

P. aeruginosa también desarrolla resistencia *in vivo*, pero mediada por variantes de OXA-10 como: OXA-14 (G157D), OXA-794 (W154C), OXA-795 (Δ F153-W154) y OXA-824 (N143L)³⁶ (**cuadro 2**).

Cuadro 2. Reportes de resistencia a CZA *in vivo*

País	A/R	Paciente (n)	Días tx	Mecanismo	ST	CIM (µg/mL)
China	2019/2021	Neumonía (4)	13-21	KPC-33, KPC-51 y KPC-52; KPC-2+KPC-33	ND	2→2048
China	2019/2017	ITU (1)	SE	KPC-2 (duplicación)	4496	16
Italia	2016/2018	Bacteriemia y neumonía (1)	17	KPC-2→KPC-33	1519	8→256
Grecia	2016/2019	UCI* (1)	15	KPC-2, VEB-14→VEB-25	147	64
Suiza	2016/2023	ITU (1)	SE	KPC-2, VEB-25	323	128
Italia	2016/2020	Bacteriemia, neu- monía*(5)	NE	KPC-3, KPC-50, KPC-31, <i>ompK37</i>	512,307,101	16,32
Italia	2016/2018	NE	NE	KPC.3	ND	1→16
Argentina	2018/2021	COVID-19, Bacte- riemia, (2), ITU (1)	NE	KPC-31, KPC-115	11	1→256 1→24 1→64
España (<i>P. aeruginosa</i>)	2016/2018	Neumonía, IA (4)	8-21 (C3G, CT)	OXA-10→OXA-14, OXA- 794, OXA-795 y OXA-824	253	2→32 2→64 2→128
China	2019/2021	Neumonía	12 (1)	KPC-2→KPC-33→KPC-2	11	0.5→64→2

A: año de aprobación, R: año de reporte, *Infecciones varias, UCI: unidad de cuidados intensivos, ITU: infección del tracto urinario, IA: infección intraabdominal tx: tratamiento, SE: sin exposición, NE: no especificado, ST: secuencia tipo, CIM: Concentración inhibitoria mínima → cambio

CONCLUSIÓN

Desde la aprobación de CZA por la FDA en 2015, este antibiótico ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de infecciones complicadas, particularmente en adultos, y su utilización también se ha incrementado en hospitales pediátricos. A nivel mundial, la resistencia a CZA se estima en un 10%, cifra que podría aumentar a medida que se extiende su uso.

El principal mecanismo de resistencia a CZA se debe a modificaciones en la enzima KPC, aunque también se observa en menor medida en otras betalactamasas.

Antes de incorporar CZA en los hospitales pediátricos, es crucial reconocer que su indicación se limita a ciertas infecciones, como la NAH, IIAc e ITUc. Es igualmente importante conocer la epidemiología local, porque si la resistencia a los carbapenémicos es mediada principalmente por

serincarbapenemasas y no por MBL, el CZA es una opción de tratamiento. No obstante, hay que tener en cuenta que la emergencia de resistencia durante la administración representa un desafío significativo. Esto subraya la necesidad de contar con un sistema de vigilancia de resistencias antimicrobianas y programas de optimización de antimicrobianos efectivos.

REFERENCIAS

1. GBD 2019 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2022;400(10369):2221-2248.
2. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022;399(10325):629-655.
3. Cohen R, Dortet L, Caseris M, Raymond J, Lorrot M, Toubiana J. Treatment of Resistant Gram-negative bacilli in children. *Infect Dis Now*. 2023;53(8S):104794.
4. Ma J, Song X, Li M, Yu Z, Cheng W, Yu Z, Zhang W, Zhang Y, Shen A, Sun H, Li L. Global spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Epidemiological features, resistance

- Catalytic Activity of TEM-Type β -Lactamases. *Biomolecules*. 2019;9(12):854.
31. Alsenani TA, Viviani SL, Kumar V, Taracila MA, Bethel CR, Barnes MD, *et al.* Structural Characterization of the D179N and D179Y Variants of KPC-2 β -Lactamase: Ω -Loop Destabilization as a Mechanism of Resistance to Ceftazidime-Avibactam. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022;66(4):e0241421.
 32. Hobson CA, Pierrat G, Tenaillon O, Bonacorsi S, Bercot B, Jaouen E, *et al.* *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase Variants Resistant to Ceftazidime-Avibactam: an Evolutionary Overview. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022;66(9):e0044722.
 33. Piccirilli A, Mercuri PS, Galleni M, Aschi M, Matagne A, Amicosante G, *et al.* P174E Substitution in GES-1 and GES-5 β -Lactamases Improves Catalytic Efficiency toward Carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(5):e01851-17.
 34. Ehmann DE, Jahić H, Ross PL, Gu RF, Hu J, Kern G, *et al.* Avibactam is a covalent, reversible, non- β -lactam β -lactamase inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(29):11663-8.
 35. Yahav D, Giske CG, Grāmatniece A, Abodakpi H, Tam VH, Leibovici L. New β -Lactam- β -Lactamase Inhibitor Combinations. *Clin Microbiol Rev*. 2020;34(1):e00115-20.
 36. Arca-Suárez J, Lasarte-Monterrubio C, Rodiño-Janeiro BK, Cabot G, Vázquez-Ucha JC, Rodríguez-Iglesias M, *et al.* Molecular mechanisms driving the in vivo development of OXA-10-mediated resistance to ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam during treatment of XDR *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Antimicrob Chemother*. 2021;76(1):91-100.
 37. Nicola F, Cejas D, González-Espinosa F, Relloso S, Herrera F, Bonvehí P, *et al.* Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST11 Resistant To Ceftazidime-Avibactam Producing KPC-31 and the Novel Variant KPC-115 during COVID-19 Pandemic in Argentina. *Microbiol Spectr*. 2022;10(6):e0373322.
 38. Findlay J, Poirel L, Bouvier M, Gaia V, Nordmann P. Resistance to ceftazidime-avibactam in a KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* caused by the extended-spectrum beta-lactamase VEB-25. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2023;42(5):639-644.
 39. Humphries RM, Yang S, Hemarajata P, Ward KW, Hindler JA, Miller SA, *et al.* First Report of Ceftazidime-Avibactam Resistance in a KPC-3-Expressing *Klebsiella pneumoniae* Isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(10):6605-7.
 40. Humphries RM, Hemarajata P. Resistance to Ceftazidime-Avibactam in *Klebsiella pneumoniae* Due to Porin Mutations and the Increased Expression of KPC-3. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(6):e00537-17.
 41. Nelson K, Hemarajata P, Sun D, Rubio-Aparicio D, Tsvikovski R, Yang S, *et al.* Resistance to Ceftazidime-Avibactam Is Due to Transposition of KPC in a Porin-Deficient Strain of *Klebsiella pneumoniae* with Increased Efflux Activity. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(10):e00989-17.
 42. Sun L, Li H, Wang Q, Liu Y, Cao B. Increased gene expression and copy number of mutated bla_{KPC} lead to high-level ceftazidime/avibactam resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *BMC Microbiol*. 2021;21(1):230.
 43. Bongiorno D, Bivona DA, Cicino C, Treccarichi EM, Russo A, Marascio N, *et al.* Omic insights into various ceftazidime-avibactam-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from two southern Italian regions. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;12:1010979.
 44. Yu M, Wei Q, Song W, Yuan J. Phenotypic and Genetic Analysis of KPC-49, a KPC-2 Variant Conferring Resistance to Ceftazidime-Avibactam and Maintaining Resistance to Imipenem and Meropenem. *Infect Drug Resist*. 2023;16:2477-2485.
 45. Fraile-Ribot PA, Mulet X, Cabot G, Del Barrio-Tofiño E, Juan C, Pérez JL, *et al.* In Vivo Emergence of Resistance to Novel Cephalosporin- β -Lactamase Inhibitor Combinations through the Duplication of Amino Acid D149 from OXA-2 β -Lactamase (OXA-539) in Sequence Type 235 *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(9):e01117-17.
 46. Shropshire WC, Endres BT, Borjan J, Aitken SL, Bachman WC, McElheny CL, *et al.* High-level ceftazidime/avibactam resistance in *Escherichia coli* conferred by the novel plasmid-mediated β -lactamase CMY-185 variant. *J Antimicrob Chemother*. 2023;78(10):2442-2450.
 47. Xu M, Zhao J, Xu L, Yang Q, Xu H, Kong H, *et al.* Emergence of transferable ceftazidime-avibactam resistance in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* due to a novel CMY AmpC β -lactamase in China. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(1):136.e1-136.e6.
 48. Zhou J, Wang W, Liang M, Yu Q, Cai S, Lei T, *et al.* A Novel CMY Variant Confers Transferable High-Level Resistance to Ceftazidime-Avibactam in Multidrug-Resistant *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr*. 2023;11(2):e0334922.
 49. Ruedas-López A, Alonso-García I, Lasarte-Monterrubio C, Guijarro-Sánchez P, Gato E, Vázquez-Ucha JC, *et al.* Selection of AmpC β -Lactamase Variants and Metallo- β -Lactamases Leading to Ceftolozane/Tazobactam and Ceftazidime/Avibactam Resistance during Treatment of MDR/XDR *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022;66(2):e0206721.
 50. Galani I, Karaiskos I, Souli M, Papoutsaki V, Galani L, Gkoufa A, *et al.* Outbreak of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* endowed with ceftazidime-avibactam resistance mediated through a VEB-1-mutant (VEB-25), Greece, September to October 2019. *Euro Surveill*. 2020;25(3):2000028.
 51. Voulgari E, Kotsakis SD, Giannopoulou P, Perivolioti E, Tzouveleki LS, Miriagou V. Detection in two hospitals of transferable ceftazidime-avibactam resistance in *Klebsiella pneumoniae* due to a novel VEB β -lactamase variant with a Lys234Arg substitution, Greece, 2019. *Euro Surveill*. 2020;25(2):1900766.
 52. Both A, Büttner H, Huang J, Perbandt M, Belmar Campos C, Christner M, *et al.* Emergence of ceftazidime/avibactam non-susceptibility in an MDR *Klebsiella pneumoniae* isolate. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(9):2483-2488.

53. Cui Q, Wang C, Wang Q, Qin J, Li M, Ding B, et al. Ceftazidime/Avibactam Resistance in Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*. Emerg Infect Dis. 2023;29(11):2398-2400.
54. de Sousa T, Hébraud M, Dapkevicius MLNE, Maltez L, Pereira JE, Capita R, Alonso-Calleja C, Igrejas G, Poeta P. Genomic and Metabolic Characteristics of the Pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. Int J Mol Sci. 2021;22(23):12892.
55. Poole K. Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and related organisms. J Mol Microbiol Biotechnol. 2001;3(2):255-64
56. Choudhury D, Ghose A, Dhar Chanda D, Das Talukdar A, Dutta Choudhury M, Paul D, et al. Premature Termination of MexR Leads to Overexpression of MexAB-OprM Efflux Pump in *Pseudomonas aeruginosa* in a Tertiary Referral Hospital in India. PLoS One. 2016;11(2):e0149156.
57. Suresh M, Nithya N, Jayasree PR, Vimal KP, Manish Kumar PR. Mutational analyses of regulatory genes, *mexR*, *nalC*, *nalD* and *mexZ* of *mexAB-oprM* and *mexXY* operons, in efflux pump hyperexpressing multidrug-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. World J Microbiol Biotechnol. 2018;34(6):83.
58. Chalhoub H, Sáenz Y, Nichols WW, Tulkens PM, Van Bambeke F. Loss of activity of ceftazidime-avibactam due to MexAB-OprM efflux and overproduction of AmpC cephalosporinase in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients suffering from cystic fibrosis. Int J Antimicrob Agents. 2018;52(5):697-701.
59. Mojica MF, De La Cadena E, García-Betancur JC, Porrás J, Novoa-Cañedo I, Páez-Zamora L, et al., Molecular Mechanisms of Resistance to Ceftazidime/Avibactam in Clinical Isolates of Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* in Latin American Hospitals. mSphere. 2023;8(2):e0065122.
60. Lamut A, Peterlin Mašič L, Kikelj D, Tomašič T. Efflux pump inhibitors of clinically relevant multidrug resistant bacteria. Med Res Rev. 2019;39(6):2460-2504.
61. Shen Z, Ding B, Ye M, Wang P, Bi Y, Wu S, et al. High ceftazidime hydrolysis activity and porin OmpK35 deficiency contribute to the decreased susceptibility to ceftazidime/avibactam in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother 2017;72:1930–6
62. Pages J-M, Peslier S, Keating TA, Lavigne J-P, Nichols WW. Role of the outer membrane and porins in susceptibility of b-lactamase-producing Enterobacteriaceae to ceftazidime-avibactam. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60:1349–1359.
63. Senchyna F, Tamburini FB, Murugesan K, Watz N, Bhatt AS, Banaei N. Comparative genomics of *Enterobacter cloacae* complex before and after acquired clinical resistance to Ceftazidime-Avibactam. Diagn Microbiol Infect Dis. 2021;101(4):115511.
64. Matovina M, Abram M, Repac-Antić D, Knežević S, Bubonja-Šonje M. An outbreak of ertapenem-resistant, carbapenemase-negative and porin-deficient ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* complex. Germs. 2021;11(2):199-210.
65. Wang Y, Wang J, Wang R, Cai Y. Resistance to ceftazidime-avibactam and underlying mechanisms. J Glob Antimicrob Resist. 2020; 22:18-27.
66. Cui X, Shan B, Zhang X, Qu F, Jia W, Huang B, et al. Reduced Ceftazidime-Avibactam Susceptibility in KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* From Patients Without Ceftazidime-Avibactam Use History - A Multicenter Study in China. Front Microbiol. 2020;11:1365.
67. El-Kady RAE, Elbaiomy MA, Elnagar RM. Molecular Mechanisms Mediating Ceftazidime/Avibactam Resistance Amongst Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates from Cancer Patients. Infect Drug Resist. 2022;15:5929-5940.
68. Shields RK, Clancy CJ, Hao B, Chen L, Press EG, Iovine NM, et al. Effects of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase subtypes, extended-spectrum β -lactamases, and porin mutations on the in vitro activity of ceftazidime-avibactam against carbapenem-resistant *K. pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(9):5793-7.
69. Cavallini S, Unali I, Bertonecelli A, Cecchetto R, Mazzariol A. Ceftazidime/avibactam resistance is associated with different mechanisms in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* strains. Acta Microbiol Immunol Hung. 2021:2021.01626.
70. Gaibani P, Campoli C, Lewis RE, Volpe SL, Scaltriti E, Giannela M, et al. In vivo evolution of resistant subpopulations of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* during ceftazidime/avibactam treatment. J Antimicrob Chemother. 2018;73(6):1525-1529.
71. Gaibani P, Re MC, Campoli C, Viale PL, Ambretti S. Bloodstream infection caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* resistant to ceftazidime/avibactam: epidemiology and genomic characterization. Clin Microbiol Infect. 2020;26(4):516.e1-516.e4.
72. Castanheira M, Mendes RE, Sader HS. Low Frequency of Ceftazidime-Avibactam Resistance among Enterobacteriaceae Isolates Carrying *bla*_{KPC} Collected in U.S. Hospitals from 2012 to 2015. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(3):e02369-16.
73. Guo Y, Liu N, Lin Z, Ba X, Zhuo C, Li F, et al. Mutations in porin LamB contribute to ceftazidime-avibactam resistance in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. Emerg Microbes Infect. 2021;10(1):2042-2051.
74. Winkler ML, Papp-Wallace KM, Bonomo RA. Activity of ceftazidime/avibactam against isogenic strains of *Escherichia coli* containing KPC and SHV β -lactamases with single amino acid substitutions in the Ω -loop. J Antimicrob Chemother. 2015;70(8):2279-86.
75. Barnes MD, Winkler ML, Taracila MA, Page MG, Desarbre E, Kreiswirth BN, et al. *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-2 (KPC-2), Substitutions at Ambler Position Asp179, and Resistance to Ceftazidime-Avibactam: Unique Antibiotic-Resistant Phenotypes Emerge from β -Lactamase Protein Engineering. mBio. 2017;8(5):e00528-17.

76. Papp-Wallace KM, Barnes MD, Taracila MA, Bethel CR, Rutter JD, Zeiser ET, *et al.* The Effectiveness of Imipenem-Relebactam against Ceftazidime-Avibactam Resistant Variants of the KPC-2 β -Lactamase. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(5):892.
77. Compain F, Arthur M. Impaired Inhibition by Avibactam and Resistance to the Ceftazidime-Avibactam Combination Due to the D179Y Substitution in the KPC-2 β -Lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(7):e00451-17.
78. Hemarajata P, Humphries RM. Ceftazidime/avibactam resistance associated with L169P mutation in the omega loop of KPC-2. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74(5):1241-1243.
79. Ourghanlian C, Soroka D, Arthur M. Inhibition by Avibactam and Clavulanate of the β -Lactamases KPC-2 and CTX-M-15 Harboring the Substitution N132G in the Conserved SDN Motif. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(3):e02510-16.
80. Haidar G, Clancy CJ, Shields RK, Hao B, Cheng S, Nguyen MH. Mutations in *bla*KPC-3 That Confer Ceftazidime-Avibactam Resistance Encode Novel KPC-3 Variants That Function as Extended-Spectrum β -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(5):e02534-16.
81. Zhang P, Hu H, Shi Q, Sun L, Wu X, Hua X, McNally A, Jiang Y, Yu Y, Du X. The Effect of β -Lactam Antibiotics on the Evolution of Ceftazidime/Avibactam and Cefiderocol Resistance in KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2023 ;67(3):e0127922.
82. Compain F, Dorcène D, Arthur M. Combination of Amino Acid Substitutions Leading to CTX-M-15-Mediated Resistance to the Ceftazidime-Avibactam Combination. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(9):e00357-18.
83. Stone GG, Ponce-de-Leon A. In vitro activity of ceftazidime/avibactam and comparators against Gram-negative bacterial isolates collected from Latin American centers between 2015 and 2017. *J Antimicrob Chemother*. 2020;75(7):1859-1873.
84. Sader HS, Streit JM, Carvalhaes CG, Huband MD, Shortridge D, Mendes RE, *et al.* Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from respiratory samples of patients hospitalized with pneumonia in Western Europe, Eastern Europe and the USA: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2016-19). *JAC Antimicrob Resist*. 2021;3(3):dlab117.
85. Zhou J, Yang J, Hu F, Gao K, Sun J, Yang J. Clinical and Molecular Epidemiologic Characteristics of Ceftazidime/Avibactam-Resistant Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in a Neonatal Intensive Care Unit in China. *Infect Drug Resist*. 2020;13:2571-2578.
86. Karlowsky JA, Kazmierczak KM, Valente MLNF, Luengas EL, Baudrit M, Quintana A, *et al.* In vitro activity of ceftazidime-avibactam against Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* isolates collected in Latin America as part of the ATLAS global surveillance program, 2017-2019. *Braz J Infect Dis*. 2021;25(6):101647.
87. Lee YL, Hsueh PR. Poor in vitro activity of ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam, and meropenem/vaborbactam against carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in India: Results from the Antimicrobial Testing Leadership and Surveillance (ATLAS) program, 2018-2021. *J Infect*. 2023;87(1):e1-e4
88. Appel TM, Mojica MF, De La Cadena E, Pallares CJ, Radice MA, Castañeda-Méndez P, Jaime-Villalón DA, *et al.* In Vitro Susceptibility to Ceftazidime/Avibactam and Comparators in Clinical Isolates of Enterobacterales from Five Latin American Countries. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(2):62.
89. Wise MG, Karlowsky JA, Lemos-Luengas EV, Valdez RR, Sahm DF. Epidemiology and in vitro activity of ceftazidime-avibactam and comparator agents against multidrug-resistant isolates of Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* collected in Latin America as part of the ATLAS surveillance program in 2015-2020. *Braz J Infect Dis*. 2023;27(3):102759.
90. Martínez-Miranda R, Gastélum-Acosta M, Guerrero-Estrada P, Ayala-Figueroa RI, Osuna-Álvarez LE. Ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam antimicrobial activity against clinically relevant gram-negative bacilli isolated in Mexico. *Gac Med Mex*. 2020;156(6):592-597.
91. Han X, Shi Q, Mao Y, Quan J, Zhang P, Lan P, *et al.* Emergence of Ceftazidime/Avibactam and Tigecycline Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Due to In-Host Microevolution. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:757470.
92. Wang C, Zhao J, Liu Z, Sun A, Sun L, Li B, Lu B, Liu Y, Cao B. In vivo Selection of Imipenem Resistance Among Ceftazidime-Avibactam-Resistant, Imipenem-Susceptible *Klebsiella pneumoniae* Isolate With KPC-33 Carbapenemase. *Front Microbiol*. 2021;12:727946.
93. Antinori E, Unali I, Bertoncelli A, Mazzarioli A. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) producer resistant to ceftazidime-avibactam due to a deletion in the *bla*_{KPC-3} gene. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(7):946.e1-946.e3.