



FACULTADE DE MEDICINA
E ODONTOLOXÍA

Traballo de fin
de grao

Pseudomonas aeruginosa: un problema de saúde mundial dende a perspectiva española.

Pseudomonas aeruginosa: un problema de salud mundial desde la perspectiva española.

Pseudomonas aeruginosa: a global health problem from a spanish perspective.

Autora: María Teresa Rodríguez Fidalgo

Titor: Carlos García Riestra

Cotitora: María de los Ángeles Gómez Rial

Departamento: Microbioloxía e
Parasitoloxía

Xuño 2023

Traballo de Fin de Grao presentado na Facultade de Medicina e Odontoloxía da Universidade de Santiago de Compostela para a obtención do Grao en Medicina

ÍNDICE

RESUMEN	4
ABREVIATURAS.....	6
1. INTRODUCCIÓN	7
1.1. <i>P. AERUGINOSA</i> : CARACTERÍSTICAS GENERALES	7
1.1.1. Caracterización fenotípica de <i>P. aeruginosa</i> en laboratorio.	7
1.2. IMPORTANCIA CLÍNICA	8
1.3. RESISTENCIA BACTERIANA.....	9
1.3.1 Resistencia bacteriana intrínseca.....	9
1.3.2 Resistencia bacteriana adquirida.....	11
1.3.3 Resistencia bacteriana adaptativa	13
2. OBJETIVOS	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1 ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA.....	15
3.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	15
3.3 PROCESO DE SELECCIÓN Y REVISIÓN.....	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
4.1. EPIDEMIOLOGÍA DE <i>P. AERUGINOSA</i> RESISTENTE EN ESPAÑA.....	17
4.2. MECANISMOS DE RESISTENCIA DE <i>P. AERUGINOSA</i> ENTRE AISLADOS ESPAÑOLES.....	21
4.2.1. Mecanismos de resistencia mutacional.....	21
4.2.2. Resistencia mediada por BLEE/carbapenemasas frente a β -lactámicos.....	23
5. CONCLUSIONES.....	34
6. ANEXOS	35
7. BIBLIOGRAFÍA.....	37

RESUMO

Introdución. A resistencia bacteriana é unha ameaza mundial que aumenta a mortalidade e os custos da atención médica. *Pseudomonas aeruginosa* é un patóxeno oportunista e multirresistente, especialmente problemático, que require o desenvolvemento de novos antibióticos. Os seus mecanismos de resistencia inclúen baixa permeabilidade da membrana externa, expresión de bombas de efluxo e produción de β -lactamasas de espectro estendido, entre estas, carbapenemasas.

Obxectivos. O obxectivo principal desta revisión bibliográfica consiste en describir as resistencias observadas en *Pseudomonas aeruginosa* fronte aos principais antibióticos empregados para o seu tratamento en España. Obxectivos secundarios da mesma consisten en determinar a epidemioloxía das súas resistencias en España e caracterizar fenotípica e xenotípicamente os mecanismos atopados.

Materiais e métodos. Recolléronse estudos publicados entre 2018 e 2023 en PubMed mediante una estratexia de busca deseñada previamente. Filtráronse os estudos en base aos criterios de elixibilidade escollidos, incluíndo finalmente un total de 15 artigos nesta revisión.

Resultados e discusión. Analizouse a epidemioloxía das resistencias observadas en *Pseudomonas aeruginosa* fronte aos principais antibióticos antipseudomonas. Do mesmo xeito, analizáronse os mecanismos de resistencia, mutacionais e enzimáticos, observados nos estudos incluídos.

Conclusiones. En España, o antibiótico mais efectivo fronte a *Pseudomonas aeruginosa* é a colistina, seguido polas novas combinación (ceftolozano/tazobactam e ceftazidima/avibactam). Aínda así, os estudos revelan amplas diferencias na epidemioloxía local que requiren ser investigadas para guiar, de forma axeitada, a terapia fronte a *Pseudomonas aeruginosa*.

Palabras chave: *Pseudomonas aeruginosa*, resistencia bacteriana, España.

RESUMEN

Introducción. La resistencia bacteriana es una amenaza mundial que aumenta la mortalidad y los costos de la atención médica. *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista y multirresistente, especialmente problemático, que requiere el desarrollo de nuevos antibióticos. Sus mecanismos de resistencia incluyen baja permeabilidad de la membrana externa, expresión de bombas de eflujo y producción de β -lactamasas de espectro extendido, entre ellas, carbapenemasas.

Objetivos. El objetivo principal de esta revisión bibliográfica consiste en describir las resistencias observadas en *Pseudomonas aeruginosa* frente a los principales antibióticos utilizados para su tratamiento en España. Objetivos secundarios de la misma consisten en determinar la epidemiología de sus resistencias en España y caracterizar genotípica y fenotípicamente los mecanismos encontrados.

Materiales y métodos. Se recolectaron estudios publicados entre 2018 y 2023 en PubMed mediante una estrategia de búsqueda diseñada previamente. Se filtraron los estudios obtenidos en base a los criterios de elegibilidad escogidos, incluyendo finalmente un total de 15 artículos que se incluyen en esta revisión.

Resultados y discusión. Se analizó la epidemiología de las resistencias observadas en *Pseudomonas aeruginosa* frente a los principales antibióticos antipseudomonas. Asimismo, se analizaron los mecanismos de resistencia, mutacionales y enzimáticos, observados en los estudios incluidos.

Conclusiones. En España, el antibiótico más efectivo contra *Pseudomonas aeruginosa* es la colistina, seguido por las nuevas combinaciones (ceftolozano/tazobactam y ceftazidima/avibactam). Aun así, los estudios revelan amplias diferencias en la epidemiología local, que requieren ser investigadas para guiar adecuadamente la terapia frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*, resistencia bacteriana, España.

ABSTRACT

Introduction. Bacterial resistance is a global threat that increases mortality and healthcare costs. *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic, multidrug-resistant pathogen that is particularly problematic, requiring the development of new antibiotics. Its resistance mechanisms include low outer membrane permeability, expression of efflux pumps and production of extended-spectrum β -lactamases, including carbapenemases.

Objectives. The main objective of this bibliographic review is to describe the resistance observed in *Pseudomonas aeruginosa* to the main antibiotics used for its treatment in Spain. Secondary objectives are to determine the epidemiology of resistance in Spain and to characterise genotypically and phenotypically the mechanisms found.

Materials and methods. We collected studies published between 2018 and 2023 in PubMed using a previously designed search strategy. The studies were filtered based on the chosen eligibility criteria, finally including a total of 15 articles that are included in this review.

Results and discussion. The epidemiology of resistance observed in *Pseudomonas aeruginosa* to the main antipseudomonal antibiotics was analysed. The mutational and enzymatic mechanisms of resistance observed in the included studies were also analysed.

Conclusions. In Spain, the most effective antibiotic against *Pseudomonas aeruginosa* is colistin, followed by the new combinations (ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam). However, studies reveal wide differences in local epidemiology, which need to be investigated to adequately guide therapy against *Pseudomonas aeruginosa*.

Key words. *Pseudomonas aeruginosa*, bacterial resistance, Spain.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

P. *aeruginosa:* *Pseudomonas aeruginosa*.

BGNF: bacilos gramnegativos no fermentadores.

UCI: unidad de cuidados intensivos.

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

NAVM: neumonía asociada a la ventilación mecánica.

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

FQ: Fibrosis Quística.

MDR: *multidrug-resistant*.

XDR: *extensively drug-resistant*.

PDR: *pandrug-resistant*.

E. faecium: *Enterococcus faecium*

K. *pneumoniae:* *Klebsiella pneumoniae*.

A. *baumanii:* *Acinetobacter baumannii*.

MLST: multilocus sequence typing.

ST: sequence type.

E. coli: *Escherichia coli*

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria.

ADN: ácido desoxirribonucleico.

BLEE: β -lactamasas de espectro extendido.

MBL: metalo- β -lactamasas.

EMA: enzimas modificadoras de aminoglucósidos.

ARNr16s: Subunidad 16 del ácido ribonucleico ribosómico.

CFTR: cystic fibrosis transmembrane conductance regulator.

QS: *Quorum sensing*.

PRISMA: *Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*.

GEN: gentamicina.

AMK: amikacina.

TOB: tobramicina.

TIC: ticarcilina.

PIP/TZB: piperacilina-tazobactam.

FEP: cefepime.

IMP: imipenem.

CAZ: ceftazidima.

MEM: meropenem.

ATM: aztreonam.

CIP: ciprofloxacino.

LVX: levofloxacino.

COL: colistina.

ABREVIATURAS

COZ/TZB: ceftolozano-tazobactam.

CAZ/AVI: ceftazidima-avibactam.

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

CLSI: Clinical & Laboratory Standards Institute.

n: número.

S: sensible

R: resistente

I: intermedio.

SMART: *Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends*.

CC: Clonal Complex.

MALDI TOF: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight.

ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control.

LCR: líquido cefalorraquídeo.

PIRASOA: programa de vigilancia y control de infecciones asociadas a cuidados de la salud y gestión de antibióticos.

WGS: Whole Genome Sequencing.

CPRE: colangiopancreatografía retrógrada endoscópica.

1. INTRODUCCIÓN

La OMS afirma que los fenómenos de resistencia bacteriana constituyen una de las mayores amenazas para la salud mundial; prolongan las estancias hospitalarias, aumentan los costes de la asistencia médica e incrementan la mortalidad [1].

La aparición de resistencia a los antibióticos es un fenómeno natural que se produce en todos los microorganismos, pero diversas causas, como el uso masivo de los mismos y la prescripción inadecuada, aumentan la selección de especies multirresistentes [2,3].

El descubrimiento de los antibióticos determinó un cambio de paradigma en el tratamiento de las enfermedades infecciosas [2]. Sin embargo, su mal uso ha conducido al surgimiento de bacterias multirresistentes que no pueden ser tratadas con los fármacos habituales [1]. Para solucionarlo, más importante que el desarrollo de nuevos medicamentos es la prescripción racional de los antibióticos [2] y la educación poblacional a cerca de sus implicaciones [1].

Pseudomonas aeruginosa es uno de los patógenos más relevantes en cuanto a resistencia antibiótica del panorama actual. La OMS clasificó a las cepas productoras de carbapenemasas como prioridad 1 (crítica) en cuanto a los patógenos que con más urgencia requieren el desarrollo de nuevos antibióticos [4]. El tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa* constituye un verdadero reto, consecuencia de la habilidad de la bacteria para resistir a la mayoría de los antibióticos disponibles [5].

1.1. *P. AERUGINOSA*: CARACTERÍSTICAS GENERALES

P. aeruginosa es la especie patógena más relevante del género *Pseudomonas*, perteneciente a su vez a la familia *Pseudomonadaceae* [6]. Este género fue descrito por primera vez en el siglo XIX por el profesor Migula, que lo definió como: “*Células con órganos polares, la formación de esporas ocurre en algunas especies, pero es raro*”. Posteriormente se descartó que fuese productor de esporas. El término “*aeruginosa*” lo acuñó más tarde Schröeter haciendo referencia al color que emitían algunas colonias en ciertos medios, parecido al cobre en estado de oxidación, verde azulado [7]. Finalmente, *P. aeruginosa* se estableció como la nomenclatura oficial y definitivamente como la especie tipo de su género, debido a su homogeneidad fenotípica [8].

P. aeruginosa es una bacteria gramnegativa, oxidasa y catalasa positiva, no formadora de esporas y con uno o varios flagelos polares que le confieren motilidad [6, 9]. Es una bacteria aerobia, pero en anaerobiosis es capaz de descomponer la arginina a través de la enzima arginina dihidrolasa; de esta forma, si en ausencia de oxígeno la arginina está presente en el medio, es capaz de obtener energía [7]. Perteneciente al grupo de los bacilos gramnegativos no fermentadores (BGNNF), que tienen en común la incapacidad de utilizar lactosa como sustrato energético [8].

1.1.1. Caracterización fenotípica de *P. aeruginosa* en laboratorio.

En la tinción de Gram se observarán células aisladas o en pequeños grupos, con su morfología típica de bacilos alargados gramnegativos. Otros medios de cultivo más específicos para la especie son la siembra en agar MacConkey y en agar cetrímide; el primero para todos los bacilos gramnegativos en general y el segundo específico de *P. aeruginosa*, pues contiene un inhibidor que impide el crecimiento de otras bacterias. Agar MacConkey es un medio enriquecido con lactosa, de manera que *P. aeruginosa* crece aquí en forma de colonias redondeadas e incoloras por carecer de las enzimas necesarias para fermentar la

lactosa. En agar cetrimide se verán colonias redondeadas, lisas y con bordes regulares de color verde consecuencia de la producción de pioverdina [10].

Las colonias de *P. aeruginosa* se caracterizan fenotípicamente por dos cosas: la producción de 2-aminocetofenona, que hace que desprendan olor a uva o fruta madura, y la producción de pigmentos. Los mayoritarios son piocianina (azul) y pioverdina (verde). El primero es exclusivo de la especie. También produce, en menor cuantía, piorubina (rojo) y piomelanina (marrón-negrusco) [6,10]. En el laboratorio, a través de la siembra en agar Mueller-Hinton, se observa fácilmente la producción de estos pigmentos, de color verde azulado rodeando a las colonias de *Pseudomonas* [11].

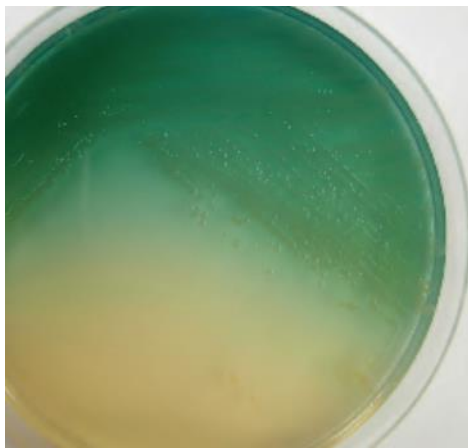


Figura 1.- *P. aeruginosa* en una placa de agar Mueller-Hinton. Se observan los pigmentos, piocianina (azul) y pioverdina (verde) [10].

1.2. IMPORTANCIA CLÍNICA

P. aeruginosa rara vez causa infección en individuos con las defensas intactas, se trata de un patógeno oportunista. Los pacientes con infección por este microorganismo a menudo tienen afectadas sus defensas, traumatismos en la mucosa, alteraciones fisiológicas o supresión de la flora normal secundaria al uso de antibióticos [12]. En consecuencia, no resulta extraño que sea una de las causas más frecuentes de infección asociada a los cuidados de la salud, donde convergen todos estos factores, con una prevalencia en torno al 7,1% - 7,3%. De la misma forma, es todavía más frecuente en la UCI, donde su prevalencia asciende hasta el 23% [13].

P. aeruginosa es una causa relevante de infección nosocomial, produciendo neumonía, infección del tracto urinario, infección del sitio quirúrgico, bacteriemia e infecciones cutáneas en el contexto de pacientes quemados [14]. Después de *S. aureus*, se establece como el segundo germen más frecuentemente aislado en neumonía asociada a la ventilación mecánica (NAV); causa una mortalidad en este contexto en torno al 32 - 42,8% [13]. Esta elevada mortalidad se atribuye tanto al perfil de los pacientes, críticos y con enfermedad de base, como a la virulencia de la bacteria [15].

La infección crónica por *P. aeruginosa* ocurre fundamentalmente en pacientes con enfermedad pulmonar estructural [12]. En los pacientes con bronquiectasias es uno de los patógenos más frecuentemente aislados, con efectos negativos en la morbimortalidad y en la calidad de vida. En el EPOC, su aislamiento se ha reconocido como un factor predictivo mayor de exacerbación de la enfermedad [15].

P. aeruginosa es el microorganismo que mayoritariamente coloniza la vía aérea de los pacientes con Fibrosis Quística (FQ). Su prevalencia asciende con la edad, llegando a colonizar al 80% de los afectados de FQ mayores de 18 años. La colonización-infección crónica por *P. aeruginosa* en estos pacientes se asocia claramente con una mayor morbilidad y mortalidad. Produce deterioro progresivo de la función pulmonar y disminución de la supervivencia; además, su adquisición en edades tempranas implica un peor pronóstico de la enfermedad [16].

1.3. RESISTENCIA BACTERIANA

Clásicamente se han utilizado ocho categorías de antimicrobianos para tratar las infecciones producidas por *P. aeruginosa* (denominados antibióticos antipseudomonas [17]): aminoglucósidos (gentamicina, amikacina, tobramicina, netimicina); antibióticos β -lactámicos como penicilinas asociadas a inhibidores de las β -lactamasas (piperacilina-tazobactam, ticarcilina- ácido clavulánico), carbapenémicos (imipenem, meropenem y doripenem), cefalosporinas de tercera y cuarta generación (ceftazidima, cefepime) y monobactámicos (aztreonam); fluoroquinolonas (ciprofloxacino y levofloxacino); fosfomicina y polimixinas (colisitina, polimixina B). Combinaciones más recientemente desarrolladas son ceftazidima-avibactam, ceftolozano-tazobactam e imipenem-relebactam [18].

Las cepas de este microorganismo pueden presentar fenotipos de multi-resistencia (*Multidrug-resistant*, MDR), resistencia extrema (*extensively drug-resistant*, XDR) y panresistencia (*pandrug-resistant*, PDR) a los antibióticos antipseudomonas. Las cepas MDR muestran resistencia a ≥ 1 antibióticos de 3 clases diferentes; las cepas XDR no son sensibles a ≥ 1 antibióticos de todas las categorías menos 2 y las cepas PDR son resistentes a todos los antibióticos antipseudomonas [17]. De hecho, *P. aeruginosa* es uno de los patógenos “ESKAPE” (*E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y las especies de *Enterobacter*), enfatizando el término en la capacidad de estas bacterias para “escapar” la actividad de los antibióticos [18].

Los clones de *P. aeruginosa* con perfil de resistencia MDR/XDR reciben la denominación de clones de alto riesgo. Estos se definen a través de MLST (multilocus sequence typing); con este método se han descrito más de 300 ST diferentes (sequence type). Según su prevalencia, propagación global y asociación con los perfiles MDR/XDR, los diez clones de alto riesgo más frecuentes de esta especie son: ST235, ST111, ST233, ST244, ST357, ST308, ST175, ST277, ST654 y ST298 [19].

Los mecanismos de resistencia a los antibióticos de *P. aeruginosa* se pueden clasificar en tres grupos: intrínsecos, adquiridos y adaptativos [5].

1.3.1 Resistencia bacteriana intrínseca

La resistencia intrínseca, o natural, de una especie bacteriana es un mecanismo permanente, presente en todas las cepas, determinado genéticamente y que no tiene relación con la dosis de antibiótico [20].

Los mecanismos de resistencia intrínseca de *P. aeruginosa* incluyen baja permeabilidad de membrana, expresión de bombas de eflujo que expulsan los antibióticos fuera de la bacteria y producción de enzimas que hidrolizan los antibióticos [5].

1.3.1.1 Impermeabilidad de la membrana externa

La permeabilidad de la membrana externa de los gramnegativos es un mecanismo fundamental de resistencia a antibióticos; en estos, los antibióticos deben atravesar estructuras

situadas en la membrana para ejercer su acción [3]. La membrana de *P. aeruginosa* en comparación con la de *E. coli* es entre 12 y 100 veces más impermeable [5,18]. Solo permite el paso de pequeñas moléculas hidrofílicas, de tal forma que otras de mayor tamaño deben atravesarla utilizando unos canales acuosos de la membrana conocidos como porinas [15]. Si estos canales se pierden, puede producirse resistencia a β -lactámicos, aminoglucósidos y algunas fluoroquinolonas, antibióticos hidrofílicos que no pueden penetrar la membrana de otra manera [3,5,21].

La porina que más se expresa en *P. aeruginosa* es OprF y se encuentra predominante cerrada, lo que contribuye a que su permeabilidad sea mucho menor que la de otras bacterias [5]. Otra porina relevante es OprD, que es atravesada por aminoácidos básicos, péptidos pequeños que contienen aminoácidos y antibióticos carbapenémicos [21]. La pérdida de esta porina por mutaciones se asocia con la resistencia a imipenem [15]. A pesar de que in vitro la ausencia de OprD aumenta más la CMI de otros carbapenémicos como el meropenem, los resultados clínicos indican que la actividad de imipenem se afecta en mayor medida. Probablemente meropenem y otros requieran de mecanismos adicionales para que se produzca resistencia [21].

1.3.1.2 Bombas de eflujo

Se trata de estructuras situadas en la membrana externa que se encargan de la internalización y expulsión de antimicrobianos [20]. *P. aeruginosa* expresa doce bombas de eflujo diferentes, de las cuales cuatro (*MexAB-OprM*, *MexCD-OprJ*, *MexEF-OprN*, y *MexXY-OprM*) contribuyen a la resistencia a antibióticos [5]. El complejo *MexAB-OprM* está formado por: una proteína bomba en la membrana citoplasmática, una proteína ligadora en el espacio periplásmico y un canal de salida en la membrana externa [22]. Expulsa hacia el exterior múltiples clases de antibióticos: fluoroquinolonas, tetraciclinas, cloranfenicol, β -lactámicos, inhibidores de β -lactamasa, macrólidos, novobiocina, trimetoprim y sulfonamidas [15,21,22]. Diversos antimicrobianos, especialmente el ciprofloxacino, pueden inducir estas bombas [22].

Cambios mutacionales en el ADN cromosómico pueden conducir a la sobreexpresión de las bombas de eflujo, lo que tiene consecuencias en el fenotipo de resistencia de la bacteria. Si se sobreexpresa *MexAB-OprM* se compromete la acción de quinolonas, penicilinas, cefalosporinas y meropenem (pero no imipenem); en el caso de sobreexpresión de *MexEF-OprN*, la bacteria adquiere resistencia a quinolonas y algunos β -lactámicos, incluyendo meropenem e imipenem; y con la sobreexpresión de *MexXY-OprM* se afecta la acción de β -lactámicos, quinolonas, aminoglucósidos y meropenem, pero no de imipenem [22].

	Quinolonas	Cefalosporinas	Meropenem	Imipenem	Aminoglucósidos
<i>MexAB-OprM</i>	R	R	R	S	S
<i>MexEF-OprN</i>	R	S (R a otros β -lactámicos)	R	R	S
<i>MexXY-OprM</i>	R	S (R a otros β -lactámicos)	R	S	R

Tabla I.- Resumen de las resistencias producidas por la sobreexpresión de distintas bombas de eflujo en *P. aeruginosa*. R=Resistente; S=Sensible.

1.3.1.3 Enzimas que hidrolizan los antibióticos

En las bacterias gramnegativas, el mecanismo más común e importante de resistencia a los β -lactámicos es la producción de β -lactamasas, enzimas caracterizadas por producir

hidrólisis del anillo β -lactámico, inactivando así al antibiótico. Para clasificar las β -lactamasas se utilizan la clasificación de Ambler y los grupos de Bush y Jacoby, estando ambas relacionadas entre sí [23]. Se distinguen las clases A, B, C y D de Ambler, siendo A, C y D enzimas que hidrolizan β -lactámicos que presentan serina en su sitio activo. Por otro lado, las de clase B son metalo-enzimas que requieren iones divalentes de zinc para producir hidrólisis [20]. *P. aeruginosa* posee dos tipos de β -lactamasas: AmpC y las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) [22], de las segundas hablaremos más adelante.

AmpC es una cefalosporinasa codificada en el cromosoma de la bacteria, perteneciente a la clase C de Ambler (grupo 1 de Bush y Jacoby) [21-23]. Se caracteriza por hidrolizar cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, estas últimas en menor medida; y por ser resistentes a la inhibición de inhibidores de β -lactamasas como el ácido clavulánico, el sulbactam o el tazobactam [23,24]. Además, son ineficaces frente a las cefalosporinas de cuarta generación y frente a los carbapenémicos [23].

La producción de AmpC en *P. aeruginosa* es inducible [15,22-25]; está codificada por el gen *ampC* y su expresión es controlada parcialmente por el factor regulatorio AmpR, entre otros factores [15,24]. Los antibióticos son capaces de inducir a la enzima, especialmente cefoxitina e imipenem. La actividad de las penicilinas antipseudomonas y de las cefalosporinas frente a *P. aeruginosa* se basa en que, a pesar de que son hidrolizadas por AmpC, su capacidad de inducción de la enzima es muy baja [25], por lo que cepas salvajes productoras de niveles basales pueden ser sensibles a estas [24]. Sin embargo, es frecuente que durante el tratamiento se seleccionen mutantes hiperproductores de AmpC, resistentes a todos los β -lactámicos (exceptuando los carbapenémicos), lo que conduce al fracaso terapéutico [24,25]. Este fenómeno puede evitarse utilizando combinaciones de tratamientos como β -lactámicos y aminoglucósidos, aunque no siempre resulta eficaz [21].

La hiperproducción de AmpC no afecta directamente a los carbapenémicos; para que se produzca resistencia a estos se requiere de mecanismos adicionales como la presencia de bombas de eflujo, la pérdida de porinas o la coproducción de carbapenemasas [24].

1.3.2 Resistencia bacteriana adquirida

La resistencia adquirida es un mecanismo evolutivo que responde a la enorme capacidad de adaptación de los microorganismos. Puede tener lugar por mutación o por mecanismos de transferencia genética (plásmidos, transposones e integrones). El segundo mecanismo es el más relevante desde el punto de vista clínico, ocurriendo entre bacterias de la misma especie o entre especies diferentes [3,20].

La pérdida de la porina OprD [21], la sobreexpresión de bombas de eflujo [22] y la selección de mutantes hiperproductores de AmpC [25], comentados previamente, constituyen mecanismos de resistencia adquirida secundarios a mutaciones.

1.3.2.1 Resistencia a β -lactámicos mediada por β -lactamasas

La creciente resistencia a β -lactámicos en *P. aeruginosa* es resultado de la sobreexpresión de bombas de eflujo [22], la pérdida de porinas de membrana (OprD) [21], la selección de mutantes hiperproductores de AmpC [25] y la adquisición de BLEE y de carbapenemasas [26]. Los genes codificantes de β -lactamasas pueden estar integrados en el cromosoma de la bacteria, como AmpC, pero también se presentan en elementos genéticos móviles, facilitando la expansión de la resistencia [26,27]. Las BLEE más frecuentemente encontradas en *P. aeruginosa* se presentan a continuación, según las clasificaciones de Bush y Jacoby (Grupos 1, 2 y 3) y de Ambler (A, B, C, D).

1.3.2.1.1 Grupo 1 de Bush y Jacoby

Se corresponden con la clase C de Ambler. En *P. aeruginosa*, la enzima representativa de este grupo es AmpC [27].

1.3.2.1.2 Grupo 2 de Bush y Jacoby

Equivalente a las clases A y D de Ambler, se trata de un grupo complejo que incluye múltiples familias de genes codificadas en elementos móviles [27]. Las BLEE de clase A confieren resistencia a cefalosporinas de amplio espectro y son inhibidas in vitro por los inhibidores de las β -lactamasas. PER-1 fue la primera BLEE encontrada en *P. aeruginosa*, originariamente en Turquía, pero en la actualidad ya se ha encontrado en muchos otros países (entre ellos España) [28]. Otras BLEE halladas en aislados de *P. aeruginosa* son enzimas de la familia SHV (SHV-1, SHV-2, SHV-5 y SHV-12); de la familia CTX (CTX-M-1, CTX-M-2 y CTX-M-43) y de la familia TEM (TEM-1, TEM-2, TEM-4, TEM-21, TEM-24, TEM-42, TEM-116) [27,28]. Otra enzima de la clase A encontrada en aislados de *P. aeruginosa* es KPC, pero es muy poco frecuente [28]. Las cepas portadoras de KPC pueden ser resistentes a todos los antibióticos β -lactámicos, exceptuando la combinación ceftazidima-avibactam [24].

Las BLEE de clase D, también conocidas como oxacilinasas, hidrolizan cefalosporinas de amplio espectro y carbapenémicos [28]. En *P. aeruginosa* se ha hallado OXA-40, pero parece tener menos relevancia que en otros BGNNF como *A. baumannii* [23].

1.3.2.1.3 Grupo 3 de Bush y Jacoby

Se corresponden con la clase B de Ambler, también conocidas como metalo- β -lactamasas (MBL). Están codificadas en plásmidos y son altamente transmisibles. Hidrolizan carbapenémicos y todos los otros β -lactámicos (con excepción del aztreonam). No son inhibidos por los inhibidores de las β -lactamasas, pero se inhiben con agentes quelantes de cationes divalentes (EDTA) [23,27,28]. Las MBLs son las carbapenemasas más frecuentes en *P. aeruginosa* [26], presentando enzimas de las familias IMP, VIM, SPM, GIM y NDM [29]. Aun así, en este microorganismo la resistencia a los carbapenémicos se produce principalmente por otros mecanismos, como la pérdida de la porina OprD [28]. En España, la prevalencia de *P. aeruginosa* productora de MBLs todavía es baja en comparación con la de otros países como Italia o Brasil; en nuestro entorno, la mutación de la porina OprD es el mecanismo mayoritario de resistencia a carbapenémicos, especialmente imipenem [29].

1.3.2.2 Resistencia a quinolonas y aminoglucósidos

Las quinolonas actúan a través de la inhibición de la ADN girasa (codificada en los genes *gyrA* y *gyrB*) y de la topoisomerasa IV (genes *parC* y *parE*) [23]. La adquisición de mutaciones en estas dianas conduce a la resistencia a quinolonas [5], que en *P. aeruginosa* se ve amplificada debido a la impermeabilidad de membrana y a la sobreexpresión de bombas de eflujo [23].

La resistencia a los aminoglucósidos en *P. aeruginosa* es producto de la impermeabilidad de membrana, la presencia de bombas de eflujo, mutaciones ribosomales y mecanismos enzimáticos (EMA) [24,27]. Este último es el mecanismo más relevante de resistencia a aminoglucósidos [3,23]. Las EMA unen grupos acetilo, fosfato o adenilo a estos antibióticos reduciendo su afinidad por la subunidad 30S del ribosoma y dificultando su acción. También se han identificado en *P. aeruginosa* metilasas del ARNr16s, que modifican el sitio diana (subunidad 30S del ribosoma) y producen resistencia. Se transfieren en elementos genéticos móviles favoreciendo la transmisión horizontal. Los aislados productores de metilasas son

multirresistentes por definición, pues los plásmidos conjugativos que los contienen transportan también genes codificantes de enzimas BLEE y MBL [24].

1.3.3 Resistencia bacteriana adaptativa

La resistencia bacteriana adaptativa consiste en cambios en la expresión genética o en la síntesis proteica en respuesta a estímulos ambientales; además, cuando estos desaparecen, es reversible [5, 30].

En *P. aeruginosa* el mecanismo de resistencia adaptativa por excelencia consiste en la formación de biopelículas o biofilms [14,30,31]. Se trata de comunidades bacterianas adheridas a una superficie y embebidas en una matriz de exopolisacáridos [31]. Estas se han implicado en la patogénesis de múltiples infecciones producidas por *P. aeruginosa* [14]. Entre ellas hay que destacar la infección crónica que causa en los pacientes afectos de FQ, constituyendo la primera causa de morbi-mortalidad en estos [16]. Otras en las que se ha implicado la formación de biofilms son: las infecciones del tracto urinario y asociadas a catéter vascular, las infecciones secundarias a cálculos renales, la endocarditis infecciosa y la osteomielitis crónica [14].

Los exopolisacáridos producidos por *P. aeruginosa* para la formación del biofilm son Pel, Psl y alginato [30]. Las cepas hiperproductoras de alginato (debido a una mutación en el gen *mucA*) se conocen como cepas mucoides. En estas el alginato actúa como barrera, dificultando la fagocitosis de los macrófagos e impidiendo la quimiotaxis de neutrófilos [14]. Las cepas mucoides presentan una morfología atípica y es frecuente encontrarlas en pacientes con FQ y colonización-infección por *P. aeruginosa* [16]. En laboratorio, pueden identificarse mediante la siembra en agar rojo congo, pues la producción de alginato impide la captación de colorante, de forma que las colonias se ven blancas [10].

La formación de la biopelícula se inicia con la adhesión de las células plantónicas (libres) al epitelio [30]. Esto tiene lugar gracias a las adhesinas de la bacteria, en este caso, el flagelo polar, los pili tipo IV y el lipopolisacárido [12]. El flagelo juega un rol fundamental en la transición de bacteria plantónica a adherida; permite su movimiento libre y contribuye a su adhesión al epitelio. Una vez se adhiere, la expresión del flagelo disminuye [30], favoreciendo la evasión del sistema inmune al evitar la fagocitosis [5]. Los pili tipo IV, en el tracto respiratorio, se unen preferentemente a los glucolípidos asialogangliósidos, que solo se expresan durante el proceso de reparación del epitelio [14]. El lipopolisacárido es un factor de virulencia expresado en gramnegativos que se ha implicado en el shock séptico y en la respuesta inflamatoria sistémica. Sin embargo, en *P. aeruginosa* actúa principalmente como una adhesina bacteriana, uniéndose al regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), alterado en los pacientes con FQ, favoreciendo la adhesión a las células epiteliales y a las mucinas [12, 16].

A las 24 horas de la adhesión, se producen varias tandas de división celular que conducen a la formación de microcolonias [30]. Se liberan exopolisacáridos y otros componentes de la matriz extracelular, como el ADN extracelular liberado por las células lisadas, que facilita la adhesión célula-célula y a las superficies [5].

Después de 24-72 horas, se establece la estructura madura de la biopelícula. Consiste en subpoblaciones de distintas morfologías que forman dos capas: externa e interna, entre las que se establece un gradiente. Se trata de un mecanismo complejo que requiere mecanismos de regulación genética. Finalmente, tras más de 48 horas, células de la capa externa del biofilm pueden liberarse, volver a la forma plantónica y extender la infección [30].

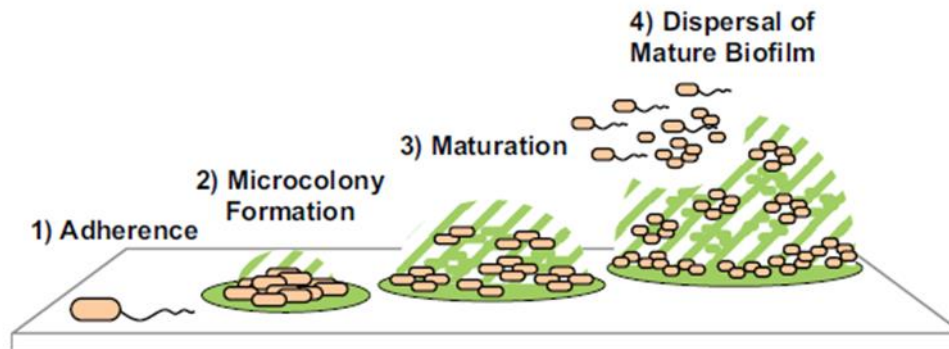


Figura II.- Las cuatro fases de formación de la biopelícula en *P. aeruginosa* [30].

La formación de la biopelícula está íntimamente ligada a un mecanismo de comunicación intercelular, la detección de *quórum* o *Quórum sensing* (QS) [8,31]. Está mediado por moléculas conocidas como autoinductores o acil-homoserina lactones, que difunden a través de las membranas de las células bacterianas [8]. El QS es capaz de detectar la densidad poblacional y, en función de esta, coordina la transcripción de los genes diana [31].

En comparación con las células plantónicas, las células del biofilm muestran mucha mayor resistencia a los antibióticos, entre 10 y 1000 veces mayor [30]. Esta resistencia es multifactorial, consecuencia de la asociación de las propiedades inherentes al biofilm y de cambios adaptativos en la expresión genética bacteriana [30,31]. Además, coopera con otros mecanismos de resistencia, intrínsecos y adquiridos; de hecho, la transmisión de β -lactamasas podría ser más frecuente entre células del biofilm, al encontrarse aquí más concentradas [30].

En las biopelículas se ha identificado una variante fenotípica característica conocida como células persistentes, que permanecen con vida a altas concentraciones de antibióticos a pesar de haberse erradicado el resto de las células de la comunidad. Estas variantes son, en parte, responsables de los altos niveles de resistencia que se han observado en los biofilms [31].

2. OBJETIVOS

El objetivo principal de esta revisión bibliográfica consiste en describir las resistencias observadas en *P. aeruginosa* frente a los principales antibióticos utilizados para su tratamiento en España.

Los objetivos secundarios de la presente revisión se describen a continuación:

- Determinar la epidemiología de las resistencias encontradas en *P. aeruginosa* en los estudios evaluados.
- Caracterizar fenotípica y genotípicamente los mecanismos de resistencia encontrados.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar esta revisión bibliográfica se ha seguido la lista de 27 ítems del protocolo PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*) [32].

3.1 ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

Para confeccionar la estrategia de búsqueda se ha traducido la pregunta de investigación del presente trabajo a términos MeSH, de la forma que se muestra en la Tabla II.

Pregunta de investigación: “Describir las resistencias bacterianas observadas en *P. aeruginosa* frente a los antibióticos utilizados para su tratamiento en España”.

CRITERIOS DE BUSQUEDA	CÓDIGO EN MeSH
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	"Pseudomonas aeruginosa"[Mesh]
Resistencia bacteriana a antibióticos	"Drug Resistance, Bacterial"[Mesh]
España	"Spain"[Mesh]

Tabla II.- Pregunta de investigación traducida a términos MeSH.

El algoritmo resultante es el siguiente:

((*"Pseudomonas aeruginosa"*[Mesh]) AND *"Drug Resistance, Bacterial"*[Mesh]) AND *"Spain"*[Mesh]

Este algoritmo fue introducido en la base de datos de ciencias de la salud PubMed, obteniendo un total de 64 resultados.

3.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN

Sobre los artículos obtenidos se aplican los siguientes **criterios de inclusión**:

- Estudios de investigación primaria a texto completo, escritos en inglés o en español, publicados entre 2018 y 2023, abarcando los cinco últimos años (fecha de última búsqueda: 07/03/2023).
- Incluir datos acerca de las resistencias que presenta *P. aeruginosa* frente, al menos, uno de los antibióticos antipseudomonas o nuevas combinaciones utilizadas.
- Contener datos recogidos en España.

También se aplican los siguientes **criterios de exclusión**:

- No analizar los mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa*, centrándose en variables clínicas o analíticas no acordes con el tema de este estudio.
- No segregar los datos por microorganismo (en caso de que el estudio incluya otros microorganismos diferentes a *P. aeruginosa*).
- No segregar los datos por país (en caso de que el estudio incluya datos de varios países).

3.3 PROCESO DE SELECCIÓN Y REVISIÓN

A los 64 resultados obtenidos en la búsqueda se le aplicaron los criterios de inclusión/exclusión previamente comentados; tras ello, se obtuvieron **15 resultados**. Los motivos de exclusión de los diferentes estudios se resumen en la Tabla III.

RAZÓN DE EXCLUSIÓN	n
Publicado en 2017 o antes	43
No analiza los mecanismos de resistencia, centrándose en variables no acordes al tema del estudio	4
Estudios de investigación secundaria	1
Otros motivos	1
Total	49

Tabla III.- Motivos de exclusión.

En esta revisión se evalúa la resistencia de *P. aeruginosa* a los siguientes antibióticos antipseudomonas clásicos:

- Aminoglucósidos: gentamicina (GEN), amikacina (AMK), tobramicina (TOB).
- β -lactámicos:
 - o Penicilinas en monoterapia: ticarcilina (TIC).
 - o Penicilinas asociadas a inhibidores de β -lactamasas: piperacilina-tazobactam (PIP/TZB).
 - o Cefalosporinas de tercera y cuarta generación: ceftazidima (CAZ), cefepime (FEP).
 - o Carabapenémicos: imipenem (IMP), meropenem (MEM).
 - o Monobactámicos: aztreonam (ATM).
- Fluoroquinolonas: ciprofloxacino (CIP), levofloxacino (LVX).
- Polimixinas: colistina (COL).

También se evalúa la eficacia frente a la nueva antibioterapia disponible:

- Ceftolozano-tazobactam (COZ/TZB).
- Ceftazidima-avibactam (CAZ/AVI).
- Cefiderocol.

Para analizar la CMI de cada antibiótico frente a *P. aeruginosa* se utilizan criterios EUCAST y CLSI, según el estudio. En caso de seguir criterios EUCAST se definen tres tipos de susceptibilidad antibiótica: R (resistant); I (susceptible, increased exposure); S (susceptible, standard dosing régimen). En función del año de publicación del estudio, los puntos de corte varían y en algunos casos solo se definen las categorías R o S. La definición de las cepas MDR/XDR/PDR se hizo de acuerdo con Magiorakos et al. (2012) [17].

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Finalmente, tras la búsqueda, filtración y selección de estudios fueron seleccionados 15 artículos científicos para la elaboración de esta revisión. Los 15 estudios se encuentran recopilados en la Tabla IV: Síntesis de la información recogida de cada uno de los estudios incluidos en esta revisión bibliográfica. En esta se indican sus principales características.

4.1. EPIDEMIOLOGÍA DE *P. AERUGINOSA* RESISTENTE EN ESPAÑA

A continuación, se muestran las características epidemiológicas de las cepas de *P. aeruginosa* analizadas en los estudios incluidos en esta revisión bibliográfica, puntualizando las características individuales de cada uno de ellos. El análisis de susceptibilidad de los aislados de *P. aeruginosa* de aquellos estudios que contienen antibiograma se recoge, con más detalle, en el **Anexo I**.

El primer estudio, dirigido por Cantón et al. (2021) incluye $n=925$ aislados de *P. aeruginosa* con el objetivo de evaluar la eficacia de la nueva combinación COZ/TZB en comparación con otros antibióticos antipseudomonas clásicos. Los aislados proceden del estudio de vigilancia SMART, creado para monitorizar las tendencias de resistencia a antibióticos de bacilos gramnegativos aerobios y facultativos. COZ/TZB presentó una sensibilidad del 93%, solo superado por CAZ/AVI (94%), AMK (94,6%) y COL (99,3%). Las quinolonas (CPX y LVX) fueron los antibióticos menos activos, con sensibilidades del 63,5% y 53%, respectivamente. También se determinó la eficacia de COZ/TZB en aislados resistentes a otros β -lactámicos, encontrando tasas de sensibilidad mayores del 75%. Solo se comprometió su actividad en los resistentes a CAZ/AVI (sensibilidad del 22,3%) y MEM (55,5%) [33].

En Hernández-García M. et al. (2021) se incluyen $n=80$ aislados del estudio multicéntrico español SUPERIOR, diseñado para evaluar la actividad *in vitro* de COZ/TZB frente a *P. aeruginosa* y *Enterobacterales*, en aislados recogidos en UCI. De forma similar a Cantón et al. (2021), COZ/TZB mostró una sensibilidad del 91,3%, solo superada por AMK (88,8%) y COL (95%), mientras que CAZ/AVI no fue testado [34].

Los estudios López-Calleja, AI. et al. (2019) y Díaz-Cañestro, M. et al. (2018) también evalúan la eficacia de COZ/TZB para el tratamiento de infecciones causadas por *P. aeruginosa*. López-Calleja, AI. et al. (2019) analiza la efectividad *in vitro* de esta combinación frente a una colección de $n=129$ aislados de *P. aeruginosa* con fenotipo MDR (9,3%, $n=12$) y XDR (90,7%, $n=117$). Similar a [33] y [34], la tasa de sensibilidad de COZ/TZB fue del 92,2%, solo siendo superado por COL, que mostró sensibilidad en todos los aislados excepto uno; aquí tampoco se evaluó CAZ/AVI. Los aminoglucósidos, AMK y TOB, fueron los siguientes más activos, con tasas de sensibilidad del 78,2% y 41,9%, respectivamente. La susceptibilidad frente a carbapenémicos fue baja (IMP: 12,4% S; MEM: 5,4% S) y también frente a cefalosporinas (CAZ 10,1% S; FEP 10,8% S) [44]. Por su parte, Díaz-Cañestro, M. et al. (2018) analiza el uso *in vivo* de COZ/TZB, realizando un estudio prospectivo y observacional. 58 pacientes participaron en el estudio, 56 de ellos tenían aislados con fenotipo MDR y 50 cumplían criterios adicionales de XDR, los cuales solo eran susceptibles a COL y aminoglucósidos. El fallo clínico de COZ/TZB se asoció con el perfil

XDR y el clon ST175 (presente en el 50% de los pacientes), entre otros factores clínicos. Aun así, la curación clínica tuvo lugar en 37 pacientes (63,8%) [45].

Pérez-Vázquez, M. et al. (2020) presenta una colección de $n=71$ aislados de *P. aeruginosa* productores de carbapenemasas, para profundizar en la epidemiología y las características microbiológicas de este tipo de aislados. Todas las cepas fueron resistentes a las nuevas combinaciones COZ/TZB y CAZ/AVI, a diferencia de lo expuesto en los estudios comentados previamente [33,34,44,45]. *In vitro*, COL fue el antibiótico más activo (sensibilidad del 95,8%), seguido por ATM (57,7%) y AMK (15,5%) [35]. De forma semejante, Bellés, A. et al. (2018) presenta $n=164$ cepas clínicas de *P. aeruginosa* y estudia en ellas la presencia de carbapenemasas. Las cepas productoras de MBLs (26,8%) fueron resistentes a ≥ 3 familias de antibióticos (criterios MDR), pero todas fueron sensibles a COL; también mostraron altas tasas de resistencia frente a aminoglucósidos (95,6% de resistencia frente a GEN y TOB). La resistencia a carbapenémicos varió mucho entre las cepas productoras de MBLs y las que no; las primeras presentaron resistencia del 100% frente a IMP y MEM, mientras que las segundas obtuvieron sensibilidad del 80% frente a IMP y del 87% frente a MEM [47].

Del Barrio Tofiño E. et al. encabeza dos estudios incluidos en esta revisión, publicados en noviembre de 2019 [38] y julio de 2019 [41]. Del Barrio-Tofiño E. et al. (Jul 2019) se trata del primer estudio a gran escala nacional que analiza el perfil de susceptibilidad, la epidemiología molecular y los mecanismos de resistencia de una colección de $n=1445$ aislados de *P. aeruginosa*, recogidos en las 17 Comunidades Autónomas de nuestro país. Esto contrasta con la mayoría de los estudios realizados en España o en otros países, que carecen de un número suficientemente grande de hospitales que cubran todo el territorio o se centran en subconjuntos de cepas resistentes. El análisis de susceptibilidad de los aislados reveló que COL y COZ/TZB fueron los antibióticos más activos (ambos con un 94,6% de sensibilidad), seguidos por CAZ/AVI (94,2%). La actividad de los otros β -lactámicos fue menor (<80% de sensibilidad), y entre los no β -lactámicos solo AMK mostró niveles de susceptibilidad >90% (91,6%). En cuanto a los fenotipos de multirresistencia, el 26,2% se clasificaron como MDR, el 17,3% XDR y el 0,1% PDR. Entre los aislados XDR, el clon de alto riesgo más frecuente fue ST175 (40,9%), seguido de forma distante por CC235 (11,5%), ST308 (5,2%) y CC111 (4%). Este estudio evidencia un escenario complejo, con diferencias mayores en la epidemiología local y regional, siendo necesario un estudio de la epidemiología local para guiar adecuadamente la terapia antimicrobiana [41].

En del Barrio-Tofiño E. et al. (Nov 2019) se analiza la correlación de los serotipos del antígeno O con los clones de alto riesgo y los perfiles de resistencia. En general, O6 (17,8%), O1 (15,4%) y O11 (13,3%) fueron los serotipos más frecuentes. Entre los fenotipos XDR, el serotipo O4 fue, con diferencia, el más frecuente (34,1% de los aislados XDR y 10,4% del total de analizados); seguido de lejos por O11 (15,9%). El serotipo O12, a pesar de su baja prevalencia, se ligó fuertemente con el fenotipo XDR, al igual que los aislados no tipificables. Con algunas excepciones, CC111 se vinculó con O12 y CC235 y ST308 con O11. Este estudio muestra que, en nuestro país, el serotipo más frecuente entre los clones de alto riesgo es, con diferencia, O4, ligado a ST175, clon de alto riesgo ampliamente diseminado en España. Esto difiere de la epidemiología mundial, donde O11 y O12 son los serotipos más

frecuentemente asociados a perfiles MDR/XDR. De hecho, a pesar de la elevada prevalencia de O11 en los hospitales españoles, no se asoció especialmente con perfiles XDR, incluso aunque perteneciese a los clones de alto riesgo ST235 y ST308 [38]. De forma semejante, en Hernández-García, M. et al. (2021), CC175 fue el clon de alto riesgo más frecuente (también se identificó CC309, en menor proporción). Además, el 100% de CC175 pertenecieron al serotipo O4 [34]. En los estudios Pérez-Vázquez, M. et al. (2020) y Bellés, A. et al. (2018), que analizan aislados productores de carbapenemasas, la mayoría de los aislados pertenecieron a 4 STs diferentes. En Pérez-Vázquez, M. et al. (2020), el 83,1% pertenecieron a ST175, ST244, ST111 y ST253; en Bellés, A. et al. (2018), a ST175, ST235, ST253, ST973, siendo ST253 el más frecuente entre los portadores de MBLs [34,47].

Mulet X. et al. (2019) incluye $n=206$ cepas de *P. aeruginosa* con el objetivo de evaluar la utilidad del serotipado del antígeno O y el análisis MALDI TOF MS en la detección temprana de ST175. 27 de los 28 aislados ST175 fueron positivos en la aglutinación O4 (sensibilidad del 96,4%) y todos excepto 5 de los no-ST175 fueron negativos (especificidad del 97,2%). De la misma forma, el método MALDI TOF utilizando dos picos de biomarcadores arrojó valores elevados de especificidad y sensibilidad. En cuanto a la susceptibilidad antimicrobiana, COL fue el antibiótico más activo (sensibilidad del 99,5%), seguido por COZ/TZB (97,1%). Entre el total de los aislados, el 28% eran ST175; mientras que entre los aislados XDR, ST175 supuso el 54%. Todos los aislados ST175 se clasificaron como XDR, excepto uno, MDR [43].

En resumen, los estudios de del Barrio-Tofiño, E. et al. [38, 41] y Mulet, X. et al. [43] revelan que el serotipo O4 está fuertemente ligado al perfil MDR/XDR del clon ST175 ampliamente diseminado (típicamente solo susceptibles a COL, AMK, COZ/TZB y CAZ/AVI) y, por tanto, su detección en el laboratorio puede ser útil para guiar la terapia semiempírica antipseudomonas y tomar medidas para el control de la infección en España. Sin embargo, su implementación debe adaptarse a los datos de la epidemiología local (clones de alto riesgo circulantes y perfiles de resistencia asociados).

El estudio de Fernández-Cuenca, F. et al. (2019) analiza $n=1341$ aislados de *P. aeruginosa* recogidos en el sur de España (Andalucía, Extremadura y Ceuta), entre 2012 y 2017 para valorar la evolución de las resistencias. El antibiótico más activo fue, como en todos los estudios anteriores, COL (96% de sensibilidad), y CPX el antibiótico con mayor porcentaje de resistencias (25%). En cuanto a la multiresistencia, ninguno fue clasificado como PDR, un 14% cumplieron criterios de MDR y un 7% de XDR. Entre 2012 y 2017 las tasas de resistencias se mantuvieron estables, con las siguientes excepciones: ATM, que pasa de un 22% en 2016 a un 11% en 2017, PIP/TZB que varía desde un 21% en 2016 a un 16% en 2017 y CAZ, 21% en 2016 y 15% en 2017. El porcentaje de aislados MDR pasó del 11 al 16% entre 2012 y 2017 y el de XDR del 4 al 7%. Los datos obtenidos indican que las tasas globales de resistencia antimicrobiana en *P. aeruginosa* en la zona sur de España no son muy elevadas en comparación con las descritas en otros estudios nacionales. Esto concuerda con la variabilidad epidemiológica expuesta en del Barrio-Tofiño E. et al. (Nov 2019), y resalta, una vez más, la necesidad de investigar la epidemiología local de *P. aeruginosa* para guiar de forma adecuada la terapia semiempírica [39].

En el estudio de Pérez, A. et al. (2019) se incluyen $n=53$ cepas de 12 hospitales de Grecia, Italia y España. Se realizó en el contexto del ensayo clínico MagicBullet, y las cepas

se recolectaron a partir de muestras del tracto respiratorio inferior de pacientes con NAVM. Teniendo en cuenta los tres países, COL fue el antibiótico más activo (94,3% de sensibilidad) seguido por las nuevas combinaciones COZ/TZB (77,4%) y CAZ/AVI (75,5%). Sin embargo, las cepas españolas presentaron una susceptibilidad del 100% frente a COL, COZ/TZB y CAZ/AVI. Los aislados recogidos en España mostraron altas tasas de resistencia a carbapenémicos (75%); dato no concordante con los ratios de resistencia a carbapenémicos reportados por la ECDC (22,7%). Esto puede ser secundario al pequeño número de aislados incluidos en este estudio y a su procedencia (tracto respiratorio inferior de pacientes con NAVM), frente a los de la ECDC que proceden de la sangre o del LCR. El análisis de susceptibilidad de los $n=53$ aislados de los tres países se muestra más detallado en el **Anexo I** [42].

En España, solo el 33,3% de los aislados se clasificaron como MDR, XDR o PDR, porcentaje inferior al registrado en Grecia e Italia. España fue el país con mayor diversidad clonal, todos los aislados pertenecieron a STs diferentes, excepto dos ST175. Sin embargo, entre todos los países, 16 de los 20 aislados XDR y los dos PDR pertenecieron a los tres clones de alto riesgo más prevalentes (ST175, ST111, ST253). España fue el país con mayor diversidad genética y menor número de aislados multirresistentes, lo que se correlaciona con el hallazgo de que a medida que aumentó el perfil de resistencias entre los aislados, disminuyó la diversidad clonal, y viceversa [42]. Esto concuerda con la estructura de población epidémica de *P. aeruginosa*, relatada en Montero MM. et al. (2019), donde un pequeño número de clones diseminados se han seleccionado a partir de un gran número de genotipos raros y no relacionados que se recombinan a un ritmo elevado. En este estudio se incluyen $n=20$ aislados XDR representativos de los incluidos en el estudio español COLIMERO. En este, la mayoría de los fenotipos XDR pertenecían al clon de alto riesgo ST175 (67,3%). También se encontraron, en menor proporción, ST244 (10,7%), ST235 (5,3%) y ST111 (1,3%) [40].

En Montero MM. et al. (2019) se busca una combinación sinérgica frente a los tres clones de alto riesgo de *P. aeruginosa* más prevalentes (ST175, ST111, ST235). El antibiótico más activo frente a los aislados estudiados fue COL, eficaz frente a todos excepto uno; y la combinación sinérgica más eficaz fue COL+MEM [40].

El estudio de Ruíz-Roldán, R. et al. (2018) evalúa la presencia de *P. aeruginosa* en muestras fecales de niños. De las $n=1443$ muestras recogidas, *P. aeruginosa* se identificó en $n=72$ de ellas. En general se encontraron bajos niveles de resistencia entre los aislados: CAZ (8% R), FEP (7% R), ATM (7% R), GEN (3% R), CPX (1% R), o IMP (1% R); y solo 4 se clasificaron como MDR. Entre los 72 aislados de *P. aeruginosa* se encontraron 48 STs diferentes, cinco de los cuales se describieron por primera vez en este estudio. Este hallazgo refleja una gran diversidad genética entre las muestras, en las cuales se encontraron también clones intercontinentales. Lo contrario sucede en las muestras clínicas de *P. aeruginosa*, donde la mayoría pertenecen a los clones de alto riesgo ST111, ST175 y ST235 [46]. Al igual que afirma Pérez, A. et al. (2019) [42], una amplia diversidad genética en *P. aeruginosa* se asocia con bajos niveles de resistencia antimicrobiana, y viceversa.

Dos estudios más se incluyen en esta revisión. En primer lugar, Fernández-Cuenca, F. et al. (2020) realiza un estudio de serie de casos para investigar el incremento inesperado de

incidencia de infecciones causadas por un clon de *P. aeruginosa* resistente a AMK, en un hospital en Sevilla. El análisis microbiológico reveló resistencia a aminoglucósidos (AMK, GEN, TOB), FEP, PIP/TZB y sensibilidad exclusivamente a CAZ, IMP y MEM. Todos ellos pertenecían al clon ST17, de distribución mundial, considerado tradicionalmente como un clon de baja virulencia, no de alto riesgo, que se detecta frecuentemente en pacientes con FQ. Las características identificadas en este nuevo linaje del clon ST17 son: perfil MDR, baja virulencia y habilidad para la formación de biofilms, ligeramente superior a la de clones de alto riesgo como ST175 o ST235. Estas características van a favor de que emerja, en este centro, como un clon de alto riesgo con potencial para causar infecciones nosocomiales graves [36].

Para finalizar, Delgado-Valverde, M. et al. (2019) evalúa la actividad *in vitro* del cefiderocol (nueva cefalosporina siderófora, desarrollada por su actividad contra bacilos gramnegativos) frente a una colección de cepas clínicas de bacilos gram negativos, seleccionados a partir del programa PIRASOA. Entre estos, un total de $n=6$ eran aislados de *P. aeruginosa*, resistentes a carbapenémicos. De estos, $n=5$ se clasificaron como ST175 y $n=1$ como ST253. Todos los aislados fueron susceptibles a cefiderocol, incluso el clon ST253 productor de la β -lactamasa IMP, resistente a COZ/TZB y CAZ/AVI. Cefiderocol tiene potente actividad *in vitro* frente a los aislados de *P. aeruginosa* analizados, incluyendo las cepas productoras de carbapenemasas [37].

4.2. MECANISMOS DE RESISTENCIA DE *P. AERUGINOSA* ENTRE AISLADOS ESPAÑOLES

4.2.1. Mecanismos de resistencia mutacional

El análisis de los mecanismos de resistencia entre los aislados españoles reveló mutaciones ya identificadas previamente en *P. aeruginosa*.

La porina OprD actúa como puerta de entrada para IMP, de manera que alteraciones en el gen codificante de esta implican su pérdida y resistencia a carbapenémicos [46]. En los estudios Ruíz-Roldán et al. (2018) [46] y Bellés, A. et al. (2018) [47] se detectaron múltiples polimorfismos en el gen codificante para la porina OprD. En Ruíz-Roldán et al. (2018) solo una cepa presentó resistencia a IMP, asociada a un codón stop prematuro en el gen de OprD que da lugar a su pérdida. En Bellés A. et al. (2018), entre las cepas resistentes a IMP, se detectaron múltiples alteraciones del gen: mutaciones, inserciones, deleciones de nucleótidos, codones stop prematuros y presencia de secuencias truncadas.

Otros estudios detectaron alteraciones de la porina OprD [34,36,40-42]. En Hernández-García, M. et al. (2021) la deficiencia de la porina OprD se detectó en 49 de los 55 aislados analizados mediante WGS [34]. Por su parte, en del Barrio-Tofiño E. et al. (Jul 2019), este fue uno de los principales mecanismos de resistencia de los $n=1443$ aislados procedentes de las 17 Comunidades Autónomas [41]. En Montero MM. et al. (2018), el 75% de los aislados (en este caso, MDR/XDR) fueron deficientes en la porina OprD [40].

En Fernández-Cuenca, F. et al. (2019), se analizan un conjunto de cepas de *P. aeruginosa* resistentes a AMK causantes de un brote nosocomial. Entre estas no se detectaron carbapenemasas, lo cual sugiere las mutaciones cromosómicas como causantes de la resistencia a carbapenémicos observada entre los aislados. Se detectaron dos determinantes de resistencia adquirida incluidos en un integrón de clase I: (i) EMAs: *aacA4* y (ii) BLEE que

produce hidrólisis de CAZ: *bla*OXA-14, una variante de *bla*OXA-10 poco frecuente. A mayores, el resistoma mutacional reveló una mutación inactivante de la porina OprD y otra de *nalD*, así como mutaciones en *gyrA* (T83I) y en *parC* (S87L) [36].

Mecanismos también conocidos por generar resistencia frente a β -lactámicos en *P. aeruginosa* son la hiperproducción de AmpC, detectada en múltiples estudios de esta revisión [34, 40-42, 45] y la sobreexpresión de bombas de eflujo [34,41,42]. En Hernández-García, M. et al. (2021) se identificaron mutaciones en el gen de la cefalosporinasa AmpC (*ampC*) y en genes codificantes para reguladores de la enzima (*ampR*, *ampD*, *mpl* y *dacB*) conduciendo a la hiperproducción de esta enzima; también se encontraron mutaciones en los genes codificantes para las bombas de eflujo (*mexZ*, *mexR* y *nalD*). Estas mutaciones, junto con la deficiencia de la porina OprD, reforzaron el carácter MDR/XDR de los aislados de *P. aeruginosa* [34]. En el estudio multicéntrico liderado por del Barrio-Tofiño E. et al. (Jul 2019), se encontraron también mutaciones en el propio gen o en reguladores de AmpC (*AmpR*, entre otros) y en las bombas de eflujo (*MexZ* la más frecuente, pero también alteraciones en reguladores de *MexAB-OprM*) [41]. En Montero MM. et al. (2018), el 75% de los aislados MDR/XDR se verificaron como hiperproductores de AmpC [40].

Pérez A. et al. (2019) se trata de un estudio multicéntrico realizado en España, Grecia e Italia. Entre las cepas españolas, no se detectó ninguna productora de carbapenemasas, a pesar de que sí se encontraron MBLs tipo VIM en cepas procedentes de otros países. Aun así, la resistencia a carbapenémicos en nuestro país fue muy elevada (75%), y por tanto debida a mecanismos distintos a la producción de carbapenemasas (la deficiencia de porinas de membrana, la hiperproducción de AmpC y la sobreexpresión de bombas de eflujo). Aquí se estudió también la emergencia de resistencia durante el tratamiento, y se observó que todos aquellos aislados que desarrollaron resistencia a carbapenémicos mostraron que AmpC y las bombas de eflujo *MexAB-OprM* y *MexCD-OprJ* estaban sobreexpresadas, mientras que la expresión de OprD estaba disminuida. De esta forma, los resultados muestran que la selección *in vivo* de resistencia a carbapenémicos puede ser más fácil que la selección de resistencia a COL, cuestionando el uso de los carbapenémicos como tratamiento empírico de la NAVM [42].

También se identificaron otros mecanismos de resistencia mutacional. Mutaciones en QRDR, asociadas a resistencia a las fluoroquinolonas, se detectaron en [34] y [41]. En ambos, la mayoría de aislados con estas mutaciones fueron resistentes a CPX. En Hernández-García, M. et al. (2021) los principales genes implicados fueron *gyrA* T83I, *gyrA* D87N y *parC* S87W. En este estudio se identificó también, en tres aislados, una mutación en PBP3 asociada a la resistencia a COZ/TZB. Sin embargo, debido al pequeño número de cepas, se requieren mayores estudios para determinar la asociación entre esta mutación y la resistencia a COZ/TZB [34]. En del Barrio-Tofiño E. et al. (2019) el 75% de los aislados XDR presentaron mutaciones en *gyrA* T83I. En este estudio se identificaron también, en menor cuantía, mutaciones en PBP-3, asociadas a resistencia a β -lactámicos y un único aislados presentó una mutación en *FusA1* (vinculado a resistencia a los aminoglucósidos) [41]. Asimismo, en Montero MM. et al. (2018) un aislado presentó resistencia a COL secundaria a una mutación en *parR*, clasificándose, así, como PDR [40]. Por último, en Pérez-Vázquez, M. et al. (2020), donde se analizan cepas productoras de carbapenemasas, el análisis del resistoma mutacional

reveló en estas cepas mutaciones en genes codificantes para proteínas que se asocian con resistencia a aminoglucósidos, tales como: *catB7*, *sull1*, *ant(2')-Ia* y *aac(6')Ib* [35].

En cuanto a las mutaciones en *gyrA* comentadas, del Barrio-Tofiño E. et al. (Nov 2019) aporta información valiosa acerca de la relevancia epidemiológica de esta mutación. Como se comentó en el apartado anterior, ST111 es uno de los clones de alto riesgo más frecuentes a nivel mundial. Un estudio reciente sugirió que ST111 pertenecía originariamente al serotipo O4, y al adquirir una mutación en *gyrA* (T83I), determinante para la resistencia a quinolonas, se convirtió en un clon epidémico MDR y se transformó al serotipo O12. De hecho, el único clon ST111 con serotipo O4 encontrado en del Barrio-Tofiño E. et al. (Nov 2019) carecía de la mutación en *gyrA* (T83I) [38].

ST175 es el clon de alto riesgo más ampliamente diseminado en España, como ya se mencionó previamente [38,40,41,43]. A pesar de que en del Barrio-Tofiño E. et al. (Jul 2019) fue el mayor productor de BLEE/carbapenemasas, los fenotipos XDR de este clon son secundarios, mayoritariamente, a mutaciones. De hecho, el patrón de resistencia más característico de este clon fueron las múltiples mutaciones cromosómicas en OprD (Q142X), AmpR (G154R), MexZ (G195D) y QRDR en *gyrA* (T83I y D87N) y *parC* (S87W). Este patrón es responsable de resistencia a todos los agentes antipseudomonas disponibles excepto COL y COZ/TZB [41]. Además de lo expuesto, en este estudio multicéntrico, el clon ST175 O4 muestra invariablemente una combinación de dos mutaciones en *gyrA* (T83I y D87N) [38].

4.2.2. Resistencia mediada por BLEE/carbapenemasas frente a β -lactámicos

Las carbapenemasas más frecuentemente producidas por *P. aeruginosa* en todo el mundo son las MBLs (clase B de Ambler) y, más concretamente, las de tipo VIM [35]. Esto no es distinto en España, ya que en todos los estudios que analizan la presencia de carbapenemasas entre sus cepas, las más frecuentes son las MBLs (y entre estas, las del tipo VIM) [33-35,40,41,47].

En Cantón et al. (2021), se detectaron las MBLs tipo VIM-1, VIM-2, VIM-20 e IMP-13; en menor cuantía se detectaron las enzimas PER-1, GES-5 y CTX-M-2 [33]. En Hernández-García, M. et al. (2021), en clones ST175 se identificaron genes codificantes para MBLs del tipo VIM (VIM-2, VIM-20 y VIM-36) y para la β -lactamasa del tipo OXA-2. En el clon CC309 se identificó el gen codificante para la MBL VIM-1 [34].

En Pérez-Vázquez et al. (2020) se analizan $n=71$ aislados de *P. aeruginosa* productores de carbapenemasas, seleccionados a partir de $n=232$ resistentes a carbapenémicos. Todas estas cepas fueron productoras de carbapenemasas de clase B: 39 (54,9%) producían VIM-2; 14 (19,7%) VIM-1; 8 (11,3%) IMP-8; 6 (8,5%) VIM-20; 2 (2,8%) VIM-2 más KPC-2; 1 (1,4%) IMP-13 y 1 (1,4%) VIM-1 más IMP-18. La presencia de dos aislados productores de KPC-2 y VIM-2 simultáneamente es un fenómeno poco descrito en la literatura; ya que la enzima KPC en *P. aeruginosa* sigue siendo poco frecuente en comparación con otras [35].

En el estudio de del Barrio-Tofiño E. et al. (Jul 2019), se analizaron $n=1445$ aislados, de los cuales $n=45$ (3,1%) fueron productores de carbapenemasas. La mayoría de estos productores de carbapenemasas cumplieron criterios XDR (excepto tres), y representaron el

16,3% de los aislados XDR. El clon ST175 fue el mayor productor de BLEE/carbapenemasas. Las MBLs fueron las carbapenemasas detectadas con mayor frecuencia, en particular las de tipo VIM, que incluyeron VIM-1, VIM-2 y VIM-20. También se detectaron, en menor medida, MBLs de tipo IMP: IMP-1, IMP-8 e IMP-33. Se identificaron BLEEs de tipo GES, como GES-1 y la variante que produce hidrólisis de carbapenémicos GES-5 (carbapenemasa), así como BLEE del tipo PER-1 y OXA-15, estas últimas en menor cantidad. El estudio también mostró una gran variación interregional en la distribución de las cepas productoras de carbapenemasas/BLEE. Por ejemplo, los cuatro aislados productores de PER-1 se encontraron en el mismo hospital, pertenecían al clon ST235 y compartían el mismo patrón PFGE, lo que sugiere una diseminación intrahospitalaria. Asimismo, los nueve productores de GES se recogieron en dos hospitales de la misma comunidad, indicando diseminación intracomunitaria, mientras que los aislados productores de VIM-20 se documentaron en varios hospitales de comunidades vecinas, lo que sugiere una diseminación intercomunitaria. Cabe destacar que el linaje ST175 productor de VIM-20 se extendió por diferentes hospitales de al menos dos comunidades colindantes. VIM-20 se trata de una variante autóctona derivada de VIM-2, descubierta por primera vez en España. Otras enzimas identificadas en del Barrio-Tofiño E. et al. (Jul 2019) fueron las EMAs. El 56% de los aislados XDR mostraron resistencia adquirida a aminoglucósidos mediante EMAs, asociadas particularmente con resistencia a TOB [41].

En Montero, MM et al. (2019) se estudian $n=20$ aislados MDR/XDR entre los cuales se constató la producción de MBLs del tipo VIM-1, VIM-2, VIM-20 y VIM-47. También fueron productores de BLEE tipo OXA-2, OXA-10 y OXA-46 y a mayores, se encontraron las enzimas GES-5 y GES-19 [40].

Por último, en Bellés, A. et al. (2018) se recogen $n=164$ aislados de muestras del tracto respiratorio inferior. La resistencia a carbapenémicos se detectó en 44 de ellos (26,8%). El fenotipo productor de MBLs se observó en 23 de los 44 aislados resistentes a carbapenémicos (52,3%). El único gen productor de MBLs fue *blaVIM-2*; y se asoció siempre a la presencia de integrón clase 1. De las cepas productoras de VIM-2, el 82,6% se adscribieron a ST235 y el 17,4% a ST973. En estos aislados se estudió la presencia del integrón clase 1, identificándose en 39 de las 164 cepas (23,8%); no se detectó ningún integrón clase 2 o 3. Los genes identificados dentro de este integrón de clase 1 fueron de dos tipos: asociados con resistencia a aminoglucósidos (*aadB*, *aadA1*, *aadA6*, *aacA4'* y *aac(3)-I*) y asociados con resistencia a carbapenémicos (*blaVIM-2*). Los aislados portadores de este integrón clase 1 pertenecieron a 4 STs diferentes: ST175, ST235, ST253 y ST973, siendo ST253 el que más frecuentemente lo presentó. Por otra parte, ST973 se encontró solo en cepas productoras de *blaVIM-2*, ST235 tanto en cepas productoras y no productoras y ST175 y ST253 solo en cepas no productoras de MBLs [47].

La producción de carbapenemasas de clase B en *P. aeruginosa* tiene impacto clínico, ya que se asocia a la resistencia a las nuevas combinaciones (COZ/TZB y CAZ/AVI), desarrolladas para el tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa* MDR/XDR. De hecho, todas las cepas de Pérez-Vázquez, M. et al. (2020), productoras de MBLs, fueron resistentes a estos antibióticos. En España, los aislados productores de carbapenemasas se están extendiendo y causando brotes y casos esporádicos, principalmente debido a la expansión de

los clones de alto riesgo ST175 y ST244, productores de VIM e IMP [35]. De la misma forma, en Hernández-García, M. et al. (2021) todos los clones productores de carbapenemasas mostraron fenotipo de resistencia a COZ/TZB, excepto uno (codificante para VIM-36) [34]. También Cantón et al. (2021) expone que la sensibilidad a COZ/TZB disminuyó en aislados que presentaban, simultáneamente, resistencia a MEM o CAZ/AVI, en lo cual podrían estar implicadas las MBLs [33]. De forma análoga, en Pérez, A. et al. (2019) todos los aislados españoles fueron susceptibles a las nuevas combinaciones, ya que ninguna de las cepas nacionales produjo MBLs [42]. De igual manera en Mulet X. et al. (2019) la resistencia a COZ/TZB fue muy infrecuente debido a la escasa presencia de producción de carbapenemasas entre los aislados (solo 2 de $n=206$ analizados fueron productores de VIM-2) [43].

COZ/TZB es la combinación de una nueva cefalosporina (COZ) con el inhibidor de β -lactamasas TZB, el cual muestra una elevada actividad *in vitro* frente a bacterias gramnegativas incluyendo *P. aeruginosa* MDR y XDR [45]. López-Calleja, AI. et al. (2019) expone que, al contrario que otras cefalosporinas, COZ/TZB ha demostrado estabilidad frente a las β -lactamasas AmpC; tampoco se ve afectado por la pérdida de la porina OprD o por la sobreexpresión de bombas de eflujo [44]. En Díaz-Cañestro, M. et al. (2018) se trataron 58 pacientes con COZ/TZB y se documentó desarrollo de resistencia en 8 de ellos (13,8%). De estos, 6 se debieron a mutaciones estructurales en AmpC, y 2 a mutaciones en OXA-10 que conducían a la producción de OXA-14, de espectro extendido. Estos valores de desarrollo de resistencia parecen no ser inferiores a los documentados en otros β -lactámicos, pero es importante tener en cuenta que las cepas tratadas con COZ/TZB son XDR/MDR, ya resistentes a todos los β -lactámicos diferentes y con múltiples mecanismos de resistencia [45].

Por último, del Barrio-Tofiño E. et al. (Jul 2019), el mayor estudio multicéntrico realizado en España hasta la fecha con infecciones de *P. aeruginosa*, constató resistencia a COZ/TZB y CAZ/AVI en el 3,9% de todos los aislados. Estos presentaban, principalmente, producción de carbapenemasas o mutaciones en AmpC. El fenotipo resistente a CAZ/AVI y sensible a COZ/TAB (1,9%) se presentó principalmente en fenotipos MDR/XDR, secundarios a resistencia mutacional. El fenotipo resistente a COZ/TZB y sensible a CAZ/AVI se observó en productores de carbapenemasas (GES-1/5, PER-1 y VIM-2). Desde la perspectiva del conjunto de aislados XDR, el 73,4% fueron susceptibles a COZ/TZB y el 71% a CAZ/AVI. La resistencia a COZ/TZB generalmente está asociada con la producción de carbapenemasas, pero su prevalencia sigue siendo baja en España, lo que resulta en altas tasas de susceptibilidad a nivel nacional para esta nueva combinación. Además, este estudio sugiere que las mutaciones en AmpC también podrían estar implicadas en la resistencia a esta combinación [41].

PRIMER AÑO	AUTOR	HOSPITALES PARTICIPANTES	TIPO DE ESTUDIO Y OBJETIVOS	MÉTODOS	RESULTADOS	CONCLUSIONES
Cantón, R. et al. (2021) [33]		11 hospitales: Clínico de San Carlos, Madrid; Ramón y Cajal, Madrid; Gregorio Marañón, Madrid; Virgen Macarena, Sevilla; Virgen del Rocío, Sevilla; Marqués de Valdecilla, Santander; Basurto, Bilbao; Clínico Lozano Blesa, Zaragoza; Bellvitge, Barcelona; La Fe, Valencia y Son Espases, Palma de Mallorca.	Estudio descriptivo: transversal. Objetivo: Analizar la sensibilidad a COZ/TZB y antimicrobianos comparadores en <i>Enterobacteriales</i> y <i>P. aeruginosa</i> procedentes de infecciones intraabdominales, urinarias y respiratorias y bacteriemias del estudio SMART (<i>Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends</i>).	Se analizó (EUCAST) la sensibilidad de 5351 aislados recogidos en 11 hospitales españoles (2016-2018) mediante microdilución en caldo y se estudió fenotípicamente la presencia de BLEE. En aislados resistentes a COZ/TZB y/o carbapenémicos se caracterizaron las BLEE y carbapenemasas. En cada centro de origen se identificó el germen correspondiente a cada aislado, y se enviaron al laboratorio central (IHMA: International Health Management Associates, Inc, Schaumburg, IL, USA), donde se confirmó la identificación y se determinó la susceptibilidad a COZ/TZB y otros agentes.	<i>P. aeruginosa</i> se aisló en el 9,3% de las infecciones intraabdominales, 5,6% de las urinarias, 32% de las respiratorias y 9% de las bacteriemias. Un 93% de los aislados de <i>P. aeruginosa</i> fueron sensibles a COZ/TZB, que mantuvo su actividad (>75%) en aislados resistentes a otros B-lactámicos excepto en los resistentes a MEM o CAZ/AVI. GES-5, PER-1 y VIM-1/2 fueron las enzimas más prevalentes en los aislados resistentes a COZ/TZB.	COZ/TZB mostró elevada sensibilidad frente a los aislados del estudio SMART, aunque disminuyó en <i>P. aeruginosa</i> con BLEE y/o carbapenemasas.
Hernández-García, M. et al. (2021) [34]		11 hospitales portugueses y 8 hospitales españoles: Ramón y Cajal, Madrid; Gregorio Marañón, Madrid; Clínic i Provincial, Barcelona; Virgen Macarena, Sevilla; Marqués de Valdecilla, Santander; Universitario A Coruña, A coruña; Universitario de Valencia, Valencia; Universitario Son	Estudio descriptivo: transversal. Objetivo: Analizar la epidemiología, el resistoma y el viruloma de una subpoblación de aislados clínicos de <i>P. aeruginosa</i> mediante WGS (Whole Genome Sequencing), enfocándose en los mecanismos de resistencia implicados en la susceptibilidad a COZ/TZB, como una parte de los estudios de vigilancia STEP y	Se recogieron aislados de <i>P. aeruginosa</i> de infecciones intraabdominales, urinarias y respiratorias bajas de pacientes en la UCI de 11 hospitales portugueses (n=396) y 8 hospitales españoles (n=80). Las CMI se determinaron mediante microdilución en caldo (EUCAST). Se compararon 28 aislados resistentes a COZ/TZB (21 procedentes de STEP y 7 procedentes de SUPERIOR) frente a 28 aislados sensibles a este antimicrobiano (recogidos aleatoriamente) mediante el método WGS.	El clon de alto riesgo más frecuentemente identificado en las UCI españolas fue CC175. CC309 se encontró en hospitales españoles y portugueses (5%) mostrando solo fenotipos de resistencia en España. Se encontraron genes codificantes de carbapenemasas en 7 aislados españoles. Las carbapenemasas más frecuentes en España fueron las MBL VIM (18,2%). VIM-1 se identificó en CC309; VIM-20, VIM-2 y VIM-36 se asociaron a clones de CC175 de los hospitales españoles. La resistencia a COZ/TZB se asoció significativamente a GES-13 (Portugal) y VIM (España). Seis cepas no productoras de	El clon de <i>P. aeruginosa</i> que más frecuentemente causa infección en los pacientes en la UCI en España fue CC175 que codifica para VIM. La resistencia a COZ/TZB se debió fundamentalmente a la producción de carbapenemasas, aunque las mutaciones en genes codificantes de PBP pueden estar implicadas adicionalmente.

	Espases, Palma de Mallorca.	SUPERIOR realizados en Portugal y España, respectivamente.		carbapenemasas mostraron resistencia a COZ/TZB, tres de ellas asociadas a mutaciones en el gen PBP3.	
Pérez-Vázquez, M. et al. (2020) [35]	44 hospitales localizados en 23 provincias.	Estudio descriptivo: transversal. Objetivo: Profundizar en el conocimiento de las características microbiológicas y de la epidemiología molecular de una colección de cepas de <i>P. aeruginosa</i> productoras de carbapenemasas de recogidas España durante 2016 y envidas al Centro Nacional de Microbiología de referencia español.	Se incluyeron todas las cepas de <i>P. aeruginosa</i> productoras de carbapenemasas enviadas al laboratorio nacional de referencia durante 2016. En este período, se incluyen 44 hospitales localizados en 23 provincias españolas. Se analizó la sensibilidad de los aislados mediante microdilución (EUCAST). La inhibición de la actividad carbapenemasa se determinó usando discos de MEM combinados con EDTA, ácido fenilborónico y cloxacilina. Las 71 cepas productoras de carbapenemasas se sometieron a WGS.	De las 71 cepas productoras de carbapenemasas, 39 (54,9%) eran portadoras de VIM-2; 14 (19,7%) VIM-1; 8 (11,3%) IMP-8; 6 (8,5%) VIM-20; 2 (2,8%) VIM-2 más KPC-2; 1 (1,4%) IMP-13 y 1 (1,4%) VIM-1 más IMP-18. Cuatro sequence types (ST) (ST175, ST244, ST815 y ST155) abarcaron el 83,1% de las 71 cepas productoras de carbapenemasas.	Las cepas de <i>P. aeruginosa</i> productoras de carbapenemasas se están extendiendo en España en base a la diseminación de los clones de alto riesgo ST175 y ST244 productores de las carbapenemasas VIM e IMP. La emergencia de <i>P. aeruginosa</i> productora de carbapenemasas es un motivo de preocupación clínico y epidemiológico relevante.
Fernández-Cuenca, F. et al. (2020) [36]	Hospital Virgen Macarena, Sevilla.	Estudio descriptivo: estudio de serie de casos. Objetivo: Realizar un estudio epidemiológico y microbiológico para explicar el incremento inesperado de incidencia de aislados de <i>P. aeruginosa</i> resistentes a AMK; encontrando, como resultado, dos endoscopios utilizados para CPRE contaminados con <i>P. aeruginosa</i> resistente a AMK.	Se recogieron 22 aislados de <i>P. aeruginosa</i> resistente a la AMK de pacientes entre junio de 2016 y diciembre de 2017; estos fueron identificados mediante MALDI-TOF MS. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó con MicroScan; y concretamente la susceptibilidad frente a MEM e IMP se corroboró con Etest en placas de agar Mueller-Hinton (EUCAST). El parentesco clonal entre los aislados se evaluó mediante Spel-PFGE y MLST, y mediante WGS se estudió el viruloma y el resistoma. La formación de biopelículas se analizó mediante un ensayo colorimétrico y las pruebas de virulencia se desarrollaron mediante ensayos de muerte de <i>Caenorhabditis elegans</i> .	En agosto de 2016, se observó un incremento inesperado de aislados clínicos de <i>P. aeruginosa</i> resistentes a AMK; cinco pacientes presentaron sepsis y cuatro de ellos habían sido sometidos a CPRE ≤5 días antes de la recogida de la muestra. La investigación reveló 2 endoscopios contaminados. Todos los aislados pertenecían al clon ST17 caracterizado por su carácter MDR, su baja virulencia y su capacidad para formar biofilms, ligeramente superior a los clones de alto riesgo ST175 y ST235. La epidemiología pre y post brote se mantuvo similar (0-1 casos/mes) lo que indica que ST17 ya se estaba extendiendo en el centro, a niveles subepidémicos.	El brote nosocomial reportado en este estudio se relacionó con un endoscopio gastrointestinal flexible contaminado con un clon ST17 de <i>P. aeruginosa</i> resistente a AMK, lo cual probablemente represente la emergencia y persistencia de un linaje de ST17 MDR con capacidad para producir infecciones nosocomiales invasivas a pesar de su baja virulencia.

Delgado-Valverde, M. et al. (2019) [37]	27 hospitales de las 8 provincias de Andalucía.	Estudio descriptivo: transversal. Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana in vitro de cefiderocol frente a una colección de cepas clínicas de bacilos gram negativos MDR de hospitales del sur de España.	Se recogieron 231 aislados, incluyendo solo aquellos con criterios de resistencia (en concreto seis de <i>P. aeruginosa</i> , resistentes a carbapenémicos), procedentes del Laboratorio de Referencia del programa andaluz PIRASOA. Se utilizaron como comparadores COZ/TZB, CAZ, CAZ/AVI, FEP, ATM, MEM, AMK, CPX, y COL. Las CMI se determinaron mediante microdilución en caldo (CLSI). La determinación de las CMI para todos los antimicrobianos se realizó mediante CAMHB (cation-adjusted Mueller-Hinton broth), excepto para el cefiderocol, que se utilizó CAMHB más hierro.	El cefiderocol mostró una potente actividad in vitro frente a los aislados analizados (el 98% de los aislados tuvieron CMI menores de 4 mg/L). Todos los aislados de <i>P. aeruginosa</i> mostraron CMI menores de 4 mg/L, incluyendo aquellos resistentes a COZ/TZB.	El cefiderocol mostró una excelente actividad in vitro frente a bacilos gram negativos MDR, incluyendo aquellos resistentes a carbapenémicos, y fue uno de los antibióticos más activos de todos los analizados en esta recogida.
del Barrio-Tofiño, E. et al. (Nov 2019) [38]	51 hospitales de las 17 comunidades autónomas (6 en Galicia, 1 en Asturias, 1 en Cantabria, 1 en el País Vasco, 1 en La Rioja, 3 en Aragón, 9 en Cataluña, 3 en Castilla y León, 6 en Madrid, 2 en Castilla La Mancha, 3 en Valencia, 1 en Extremadura, 7 en Andalucía, 1 en Murcia, 4 en las Islas Baleares y 1 en las Islas Canarias).	Estudio descriptivo: transversal. Objetivo: Evaluar la correlación de los serotipos del antígeno O con los perfiles de resistencia y los clones de alto riesgo a partir de una reciente encuesta nacional española realizada a gran escala.	Se estudiaron un total de n=1445 aislados de <i>P. aeruginosa</i> recogidos durante 2017. Se recolectaron hasta 30 aislados consecutivos en cada uno de los 51 hospitales participantes. Las CMI frente a 13 agentes antipseudomonas, los perfiles MDR/XDR y el WGS de n=185 aislados representativos XDR se habían determinado previamente. Los serotipos del antígeno O (O1-O6) se determinaron por aglutinación mediante BioRad. El programa <i>Pseudomonas aeruginosa</i> serotyper (PAst) se utilizó para el serotipado <i>in silico</i> .	Los serotipos más frecuentes fueron O6 (17,8%), O1 (15,4%) y O11 (13,3%). Los más frecuentes entre los aislados XDR (17,3%) fueron O4 (34,1%), seguido de lejos por O11 (15,9%). Dentro de los serotipos, los fenotipos XDR fueron más frecuentes para O12 (60%) y para O4 (57,3%). El clon más frecuente dentro de los aislados XDR fue ST175 (40,9%), seguido por CC235 (10,7%), ST308 (5,2%) y CC111 (3,6%). El 81,6% de los aislados XDR ST175 fueron tipificados como O4 y el 18,4% fueron no tipificables. CC235 y ST308 se asociaron con O11, y CC111 con el serotipo O12.	El serotipo O4 está vinculado al perfil MDR/XDR del clon ST175 (caracterizado por ser solo susceptible a COL, AMK, COZ/TZB y CAZ/AVI) y, por tanto, tras la verificación local, su detección en el laboratorio de microbiología podría ser útil para orientar los tratamientos antipseudomonas semiempíricos y las medidas de control infecciones en los hospitales españoles.
Fernández-Cuenca, F. et al. (2019) [39]	20 centros hospitalarios del sur de España (14 en Andalucía, 5 en Extremadura, 1 en Ceuta).	Estudio descriptivo: retrospectivo. Objetivo: Conocer las tasas de resistencia antimicrobiana y la	Estudio de recogida de datos microbiológicos de forma retrospectiva en 20 centros hospitalarios durante 2012-2017. Las principales variables de estudio fueron: sistema de antibiograma	Los porcentajes de resistencia globales variaron entre el 25% (CIP) y el 4% (COL) usando EUCAST, y entre el 19% (CIP e IMP) y el 3% (AMK) usando CLSI. Las tasas de resistencia se mantuvieron	Las tasas de resistencia antimicrobiana en <i>P. aeruginosa</i> no son demasiado elevadas en el sur de España y se mantienen estables. Las

Pseudomonas aeruginosa: un problema de salud mundial desde la perspectiva española

		evolución de estas durante 2012-2017 en aislados de <i>P. aeruginosa</i> causante de infección invasiva en el sur de España.	usado, interpretación (CLSI o EUCAST) y tasa o porcentaje de aislados resistentes.	relativamente estables durante 2012-2017. El 14% de los aislados fueron MDR y el 7% XDR. Los aislados de muestras respiratorias presentaron mayores tasas de resistencia antimicrobiana, particularmente a CIP y COL, que los aislados de sangre u orina.	tasas de resistencia más elevadas se observan para CIP, PIP/TZB y MEM, siendo los antimicrobianos de mayor actividad COL, TOB y AMK. Las mayores tasas de resistencia se observan en aislados de muestras respiratorias.
Montero, MM. et al. (2019) [40]	9 hospitales españoles participantes en el estudio COLIMERO.	Estudio descriptivo: transversal. Objetivo: Evaluar la efectividad de antibióticos antipseudomonas solos y en combinación frente a los tres clones de alto riesgo de <i>P. aeruginosa</i> XDR más prevalentes (ST175, ST111, ST235) y validar la combinación más eficaz mediante el método tablero y las curvas de letalidad en una colección de 20 aislados representativos recogidos a partir de un estudio multicéntrico español (2015).	Se seleccionaron $n=20$ aislados de <i>P. aeruginosa</i> XDR del estudio COLIMERO (9 hospitales españoles), representativo de los clones y los mecanismos de resistencia de los $n=150$ examinados. Se realizaron 45 métodos de tablero con 6 antibióticos antipseudomonas (AMK, ATM, CAZ, MEM, COL y COZ/TZB, criterios CLSI) para determinar si las combinaciones eran sinérgicas o aditivas mediante índices de concentración inhibitoria fraccional. Para los tres clones de alto riesgo más prevalentes (ST175, ST235 y ST111), se realizaron 15 tableros de control. Se seleccionaron las combinaciones sinérgicas/aditivas y, con estas, se realizaron curvas de letalidad (por duplicado) en los tres clones de alto riesgo (análisis de eliminación por tiempo durante 24 horas). COL+MEM, que demostró ser sinérgica en los tres clones de alto riesgo, se confirmó en todos los XDR mediante curvas de letalidad.	Dos combinaciones fueron sinérgicas in vitro frente a los tres clones de alto riesgo que se estudiaron inicialmente: AMK+CAZ y COL+MEM (siendo la segunda combinación la más efectiva). La eficacia de COL+MEM combinación se corroboró en los 20 aislados. En el 80% de los aislados XDR se observó una reducción de la densidad bacteriana durante el tiempo del estudio, consecuencia del sinergismo.	La combinación COL+MEM es bactericida y sinérgica frente a aislados representativos de <i>P. aeruginosa</i> XDR. COL+MEM podría constituir una opción potencial en el tratamiento de infecciones graves causadas por los clones de alto riesgo más prevalentes (ST175, ST111 y ST235), incluidos los productores de carbapenemasas e, incluso, los PDR. Estos hallazgos justifican su evaluación en ensayos clínicos.
del Barrio-Tofiño, E. et al. (Jul 2019) [41]	51 hospitales de las 17 comunidades autónomas (6 en Galicia, 1 en Asturias, 1 en Cantabria, 1 en el	Estudio descriptivo: transversal. Objetivo: Llevar a cabo una encuesta nacional española	Se estudiaron un total de $n=1445$ aislados de <i>P. aeruginosa</i> recogidos durante 2017. Se recolectaron hasta 30 aislados consecutivos en cada uno de los 51 hospitales participantes. Se determinó la CMI	Los agentes antipseudomonas más activos fueron COL y COZ/TZB (ambos 94,6% S); seguidos por CAZ/AVI (94,2% S). Los aislados se clasificaron como: 26,2% MDR, 17,3% XDR y 0,1% PDR. Se	ST175 es el clon de alto riesgo XDR más frecuente en los hospitales españoles, pero esta encuesta a escala nacional refleja

	País Vasco, 1 en La Rioja, 3 en Aragón, 9 en Cataluña, 3 en Castilla y León, 6 en Madrid, 2 en Castilla La Mancha, 3 en Valencia, 1 en Extremadura, 7 en Andalucía, 1 en Murcia, 4 en las Islas Baleares y 1 en las Islas Canarias.	sobre la epidemiología molecular de <i>P. aeruginosa</i> y la resistencia antimicrobianos.	de 13 agentes antipseudomonas mediante microdilución en caldo (EUCAST). Las β -lactamasas adquiridas horizontalmente se determinaron mediante PCR y métodos fenotípicos. La epidemiología clonal se evaluó con PFGE y MLST; se secuenció al menos un aislado XDR de cada clon y de cada hospital ($n=185$) mediante WGS.	detectaron carbapenemasas/BLEE en el 3,1% de los aislados (incluyendo las enzimas VIM, IMP, GES, PER y OXA). Los clones más frecuentes entre los aislados XDR fueron ST175 (40,9%), seguido por CC235 (10,7%), ST308 (5,2%) y CC111 (4%). La producción de carbapenemasas varió geográficamente e involucró diversos clones; entre estos el 16,5% de los aislados XDR de ST175. Además, el 56% de los aislados XDR contenían EMA adquiridas por transmisión horizontal, lo que condicionó resistencia a los aminoglucósidos, particularmente a TOB. Dos aislados XDR fueron productores de QnrVC1 (pertenecientes a clones, hospitales y comunidades diferentes), pero la resistencia a fluoroquinolonas estuvo causada principalmente por mutaciones en QRDR. Más allá de las frecuentes mutaciones (>60%) en OprD y AmpC, cuatro aislados mostraron mutaciones en AmpC asociadas con la resistencia a COZ/TZB y CAZ/AVI.	un escenario complejo donde existen diferencias mayores en la epidemiología interregional, incluyendo la producción de carbapenemasas, que requiere de su conocimiento para guiar la terapia antimicrobiana.
Pérez, A. et al. (2019) [42]	2 hospitales en Italia, 3 hospitales en Grecia y 7 hospitales en España: Ciudad Real, Cádiz, Santander, Sevilla, Málaga, Valencia, A Coruña.	Estudio descriptivo: transversal. Objetivo: Caracterizar la susceptibilidad antimicrobiana, la epidemiología molecular y los mecanismos de resistencia a carbapenémicos en aislados de <i>P. aeruginosa</i>	Se recogieron $n=121$ aislados de 12 hospitales de España, Italia y Grecia (mayo 2012 - septiembre 2015, MagicBullet). La susceptibilidad antimicrobiana se determinó con microdilución en caldo y Etest (EUCAST). $n=53$ se seleccionaron para un análisis mayor. MALDI-TOF MS se utilizó para determinar actividad carbapenemasa y las carbapenemasas se identificaron con PCR y secuenciación. La	De los 53 aislados, 2 (3,8%) fueron considerados PDR, 19 (35,8%) XDR y 16 (30,2%) fueron MDR. En España, solo el 33,3% fueron MDR, XDR o PDR, porcentaje más bajo que los de Grecia (88,9%) e Italia (43,5%). Las tasas de resistencia de <i>P. aeruginosa</i> a IMP, CPX, COZ/TZB y CAZ/AVI fueron 64,1%, 54,7%, 22,6% y 24,5%, respectivamente. Todos los aislados resistentes a COZ/TZB y CAZ/AVI (Grecia $n=10$, Italia $n=2$) fueron portadores de	Los aislados MDR/XDR fueron altamente prevalentes, particularmente en Grecia. El antibiótico más efectivo contra <i>P. aeruginosa</i> fue COL, seguido por COZ/TZB y CAZ/AVI. VIM-2 está asociado con la resistencia a COZ/TZB y CAZ/AVI y también con los fenotipos altamente

		procedentes de muestras del tracto respiratorio de pacientes con NAVM, procedentes del ensayo clínico MagicBullet.	epidemiología molecular se investigó utilizando PFGE y MLST.	VIM-2. Los aislados recogidos en España fueron susceptibles a las nuevas combinaciones de antibioterapia.	resistentes. ST-111 fue el clon más frecuente y diseminado, y la diversidad clonal fue más baja en las cepas XDR y PDR.
Mulet, X. et al. (2019) [43]	Hospital Son Espases (Palma de Mallorca).	Estudio descriptivo: transversal. Objetivo: Evaluar el serotipado del antígeno O y el análisis MALDI-TOF para la detección temprana de ST175, con la finalidad de guiar el tratamiento semiempírico para infecciones MDR/XDR en áreas de alta prevalencia de este clon de alto riesgo.	Se probaron los modelos de serotipado del antígeno O (O4) y de reconocimiento basado en picos de biomarcadores MALDI-TOF en $n=206$ cepas de <i>P. aeruginosa</i> (marzo - diciembre 2016). Las CMI se determinaron con microdilución en caldo (excepto COZ/TZB, donde se utilizaron tiras de difusión en gradiente) (EUCAST). La hiperproducción de AmpC, la deficiencia de OprD y la presencia de β -lactamasas adquiridas horizontalmente se especificaron mediante métodos fenotípicos (inhibición con EDTA o cloxacilina) y PCR. La epidemiología clonal se determinó mediante PFGE y MLST.	24,3% de los aislados fueron XDR y 28,2% no susceptibles a MEM, mientras que la resistencia a COZ/TZB (2,9%) y a COL (0,5%) fue infrecuente. La mitad de los aislados XDR pertenecían a ST175 y la mayoría eran susceptibles exclusivamente a COZ/TZB y COL. Un modelo basado en la detección de un pico de biomarcador MALDI-TOF arrojó valores predictivos negativos y positivos (VPN/VPP) para la detección de ST175 del 100%/51,9%, mientras que los VPN/VPP para un modelo basado en dos picos de biomarcadores fueron del 99,4%/87,1% y para el serotipado de O4, del 99,4%/84,1%.	Tanto el serotipado del antígeno O (O4) como el modelo de reconocimiento de picos de biomarcadores MALDI-TOF probaron ser métodos sensibles y específicos que pueden incorporarse para la detección de clones de alto riesgo ST175.
López-Calleja, Al. et al. (2019) [44]	Zaragoza: Hospital Universitario Miguel Servet.	Estudio descriptivo: transversal. Objetivo: Evaluar la sensibilidad in vitro de COZ/TZB en aislados clínicos de <i>P. aeruginosa</i> MDR y XDR desde febrero de 2016 a octubre de 2017 en el Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza.	Se recogieron 129 aislados de <i>P. aeruginosa</i> MDR ($n=12$) /XDR ($n=117$) entre febrero de 2016 y octubre de 2017, procedentes de: tracto respiratorio, urinarias, herida quirúrgica, sanguíneas, catéter y otros; de pacientes de dentro y fuera del hospital. La identificación bacteriana tuvo lugar mediante MALDI-TOF MS. Se evaluó frente a estos la efectividad in vitro de COZ/TZB y otros 12 antibióticos antipseudomonas (EUCAST). La CMI de COZ/TZB se determinó mediante tiras de difusión en gradiente.	Entre los 129 aislados MDR/XDR incluidos, 119 (92,2%) fueron sensibles a COZ/TZB, y diez (7,8%) presentaron resistencia. La CMI50 fue de 2 mg/L, y la CMI90 de 4 mg/L. COZ/TZB fue el segundo antibiótico más activo después de COL, superando a AMK. La actividad de COZ/TZB frente a aislados MDR y XDR fue elevada, solo superada por la colistina.	COZ/TZB es una opción de tratamiento válida para infecciones causadas por <i>P. aeruginosa</i> MDR y XDR en nuestro entorno.
Díaz-Cañestro, M. et al. (2018) [45]	Hospital Universitario Son Espases, Palma de	Estudio descriptivo: prospectivo, observacional.	Estudio prospectivo, descriptivo y observacional de pacientes tratados con COZ/TZB durante al	Se trataron 58 pacientes con COZ/TZB: 35 (60,3%) con infección del tracto respiratorio; 21 (36,2%)	Aunque todavía se requiere mayor experiencia clínica, los

	Mallorca, Islas Baleares.		<p>Objetivo: Evaluar el uso de COZ/TZB en una amplia cohorte (58 pacientes) de un hospital terciario y analizar la eficacia de esta nueva alternativa terapéutica para el tratamiento de las infecciones producidas por <i>P. aeruginosa</i> MDR, incluyendo criterios de valoración clínicos y microbiológicos, con especial atención al análisis del desarrollo de resistencias durante el tratamiento.</p>	<p>menos 48 horas en el Hospital Universitario Son Espases de Palma de Mallorca, (mayo 2016 - septiembre 2017). Se estudiaron variables demográficas, clínicas y microbiológicas (aislados de <i>P. aeruginosa</i> MDR). La susceptibilidad antimicrobiana se evaluó mediante microdilución en caldo para 11 antibióticos antipseudomonas y con tiras de difusión de gradiente para COZ/TZB (EUCAST). La tipificación molecular de todos los aislados se realizó mediante PFGE y MLST. La presencia de B-lactamasas adquiridas se evaluó mediante métodos fenotípicos y moleculares (PCR).</p>	<p>recibieron monoterapia y 37 (63,8%) terapia combinada durante más de 72 horas, principalmente COL. En 56 casos (96,6%), los aislados iniciales de <i>P. aeruginosa</i> presentaban fenotipo MDR, y 50 de ellos (86,2%) tenían criterios adicionales de XDR y eran susceptibles exclusivamente a COL y/o aminoglucósidos (especialmente AMK). El clon de alto riesgo ST175 se encontró en el 50% de los pacientes. Se documentó curación clínica en 37 pacientes (63,8%) y desarrollo de resistencia en 8 (13,8%). El fallo clínico se asoció con perfil XDR y el clon de alto riesgo ST175, junto con otros factores clínicos. 6 casos de desarrollo de resistencias se debieron a mutaciones estructurales en AmpC, y 2 a mutaciones en OXA-10 conduciendo a OXA-14 de espectro extendido.</p>	<p>resultados del estudio sugieren que COZ/TZB es una opción atractiva para el tratamiento de infecciones producidas por <i>P. aeruginosa</i> MDR/XDR.</p>
Ruiz-Roldán, R. et al. (2018) [46]	Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa (Zaragoza, Aragón) y Hospital San Pedro (Logroño, La Rioja).	<p>Estudio descriptivo: transversal.</p> <p>Objetivo: Determinar la presencia, los fenotipos de resistencia antimicrobiana, los genotipos de virulencia y los linajes genéticos de <i>P. aeruginosa</i> en muestras fecales de niños de dos Comunidades Autónomas (La Rioja y Aragón).</p>	<p>Se recogieron $n=1443$ muestras fecales de niños entre los dos hospitales; entre estas se identificaron $n=72$ aislados de <i>P. aeruginosa</i> (identificación bacteriana mediante sistemas de microdilución). Se analizó la susceptibilidad antimicrobiana frente a 13 agentes antipseudomonas (CLSI). La determinación de BLEE, MBL y carbapenemasas de clase A se realizó tests sinérgicos de doble disco; la tipificación molecular se hizo con PFGE y los cambios en la porina OprD se estudiaron con PCR y secuenciación.</p>	<p>Se detectaron bajos niveles de resistencia antimicrobiana: CAZ (8%), FEP (7%), ATM (7%), GEN (3%), CPX (1%) e IMP (1%); susceptibilidad a MEM, AMK, TOB, LVX y COL. Solo 4 cepas fueron MDR. Ninguna cepa presentó BLEE, MBLs o carbapenemasas tipo A. Se encontraron 41 ST (Sequence Types) en las 48 cepas analizadas. Solo una cepa fue resistente a IMP; en esta se encontró un codón stop prematuro en el gen codificante para la porina OprD. Además, la porina OprD mostró 8 patrones diferentes, aunque fuesen susceptibles a IMP o MEM.</p>	<p>La colonización intestinal producida por <i>P. aeruginosa</i>, principalmente por clones internacionales (ST244, ST253, ST274) es un factor para el desarrollo de infecciones sistémicas y diseminación ambiental. La vigilancia activa periódica es útil para identificar esta comunidad en reservorios humanos y controlar la evolución de la resistencia antimicrobiana.</p>	

<p>Bellés, A. et al. (2018) [47]</p>	<p>Hospital Universitario Lozano Blesa (Zaragoza, Aragón).</p>	<p>Estudio longitudinal: transversal. Objetivo: Analizar el fenotipo antimicrobiano, los mecanismos de resistencia a carbapenémicos, los integrones, los factores de virulencia y la tipificación molecular de 164 cepas de <i>P. aeruginosa</i> recogidas a partir de muestras del tracto respiratorio inferior en un hospital español durante un año (2014), así como datos clínicos.</p>	<p>Se recogieron 164 aislados a partir de muestras del tracto respiratorio inferior durante 2014 en el Hospital Lozano Blesa. Se evaluó la susceptibilidad frente a 12 agentes antipseudomonas mediante sistemas de microdilución (CLSI). La presencia de MBL se determinó mediante método de doble disco. El gen de la porina OprD se estudió mediante PCR, secuenciación y comparación con la secuencia de <i>P. aeruginosa</i> PAO1. La detección y caracterización de MBL, integrones clase 1, 2 y 3, y genes de virulencia se realizó mediante PCR y secuenciación. La relación clonal entre los aislados positivos para el integrón tipo 1 se evaluó mediante PFGE y MLST.</p>	<p>La prevalencia de resistencia a carbapenémicos fue del 26,8%; siendo el 52,3% de ellos productores de MBL. El único gen codificante de MBL detectado fue <i>blaVIM-2</i>, y siempre asociado a integrones de clase 1. Los integrones de clase 1 se describieron en 39 cepas (23,8%) y se asociaron a genes de resistencia a aminoglucósidos y a carbapenémicos. Se encontraron 31 patrones diferentes por PFGE y 4ST (ST175, ST235, ST253, ST973), siendo ST235 el más frecuente en los portadores de integrón tipo 1. Las cepas de <i>P. aeruginosa</i> resistentes a carbapenémicos mostraron amplia variedad de alteraciones en el gen codificante para la porina OprD.</p>	<p>Se reveló una prevalencia elevada de resistencia a carbapenémicos en este hospital (26,8%). Se detectaron numerosas anomalías en el gen <i>oprD</i> en cepas resistentes a IMP. El único gen MBL fue <i>blaVIM-2</i>, siempre ligado a integrones de clase 1, asociados también a genes de resistencia a aminoglucósidos (ST235, 82,6%). La diseminación de genes de resistencia a través de elementos móviles (como integrones clase 1), conforman una importante vía de expansión de resistencia a antibióticos y son una causa de gran preocupación.</p>
---------------------------------------------	----------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Tabla IV.- Síntesis de la información recogida de cada uno de los estudios incluidos en esta revisión bibliográfica.

5. CONCLUSIONES

En España, el antibiótico con mayor actividad frente a *P. aeruginosa* fue COL, concordante en todos los estudios. Los siguientes en efectividad fueron las nuevas combinaciones, COZ/TZB y CAZ/AVI, seguidas por AMK; estos mostraron porcentajes de susceptibilidad variables en función de las cepas incluidas. En general, las quinolonas y las cefalosporinas en monoterapia fueron los antibióticos menos activos.

La epidemiología clonal de *P. aeruginosa* se caracteriza por amplia diversidad entre las cepas sensibles, mientras que los fenotipos resistentes suelen asociarse siempre a un número restringido de clones de alto riesgo (ST175, ST111, ST253).

El clon de alto riesgo más frecuente en España fue ST175, cuyo fenotipo XDR se debe fundamentalmente a mutaciones. A pesar de esto, los estudios revelan diferencias importantes en la epidemiología local que deben ser investigadas para crear estrategias terapéuticas empíricas adecuadas.

En España, la resistencia a carbapenémicos en *P. aeruginosa* se atribuye principalmente a mecanismos de resistencia mutacional. La resistencia causada por carbapenemasas se debe principalmente a enzimas tipo MBL. Aunque esto es así, se observa un aumento creciente en la prevalencia de carbapenemasas, lo que podría afectar la sensibilidad de los aislados frente a las nuevas combinaciones (COZ/TZB, CAZ/AVI).

La nueva combinación COZ/TZB es una opción interesante para el tratamiento de infecciones causadas por *P. aeruginosa* MDR/XDR en España. Esto se debe a que la resistencia frente a esta combinación responde fundamentalmente a la producción de carbapenemasas de clase B, todavía poco prevalentes en el país.

6. ANEXOS

	Cantón, R. et al. (2021) [33]	Hernández-García, M. et al. (2021) [34]	Pérez-Vázquez, M. et al. (2020) [35]	Fernández-Cuenca, F. et al. (2020) [36]	Delgado-Valverde, M. et al. (2019) [37]	Fernández-Cuenca, F. et al. (2019) [39]	del Barrio-Tofiño, E. et al. [38] y [40]
TIC							S: 18,8%, R: 81,2%
PIP/TZB	S: 0%, I: 66,8%, R: 33,2%	S: 60%, I: 0%, R: 40%	S: 0%, R: 100%	S: 9,1%, R: 90,9%		S: 81%, R: 19%	S: 73,5%, R: 26,5%
CAZ	S: 0%, I: 71,8%, R: 28,2%	S: 55%, I: 0%, R: 45%	S: 0%, R: 100%	S: 54,5%, R: 45,5%	S: 83,3%, I: 16,7%, R: 0%	S: 83%, R: 17%	S: 79,7%, R: 20,3%
FEP	S: 0%, I: 72,3%, R: 27,7%	S: 58,8%, I: 0%, R: 41,3%		S: 0%, R: 100%	S: 0%, I: 83,3%, R: 16,7%	S: 83%, R: 17%	S: 79,4%, R: 20,6%
IMP	S: 0%, I: 75,5%, R: 24,5%	S: 55%, I: 5%, R: 40%	S: 0%, R: 100%	S: 63,6%, R: 36,4%		S: 81%, R: 19%	S: 72,8%, R: 15,6%
MEM	S: 74,7%, I: 14%, R: 11,3%	S: 58,8%, I: 17,5%, R: 23,8%	S: 1,4%; R: 98,6%	S: 50%, R: 50%	S: 0%, I: 0%, R: 100%	S: 80%, I: 5%, R: 15%	S: 70,1%, R: 14,1%
ATM	S: 0%, I: 79,7%, R: 20,3%		S: 57,7%, R: 42,3%	S: 4,5%, R: 95,5%	S: 0%, I: 0%, R: 100%	S: 84%, R: 16%	S: -, R: 14,8%
GEN		S: 63,8%, I: 0%, R: 36,3%	S: 8,4%, R: 91,6%	S: 4,5%, R: 95,5%			
TOB	S: 77,4%, I: 0%, R: 22,6%	S: 65%, I: 0%, R: 35%	S: 14,1%, R: 85,9%	S: 9,1%, R: 90,9%		S: 93%, R: 7%	S: 83,7%, R: 16,3%
AMK	S: 94,6%, I: 0%, R: 5,4%	S: 88,8%, I: 5%, R: 6,3%	S: 15,5%, R: 84,5%	S: 0%, R: 100%	S: 100%, I: 0%, R: 0%	S: 87%, I: 4%, R: 9%	S: 91,6%, R: 4%
CPX	S: 0%, I: 63,5%, R: 36,5%	S: 57,5%, I: 7,5%, R: 35%	S: 12,7%, R: 87,3%	S: 4,5%, R: 95,5%	S: 0%, I: 0%, R: 100%	S: 75%, R: 25%	S: 61,6%, R: 38,4%
LVX	S: 0%, I: 56%, R: 44%						
COL	S: 99,3%, I: 0%, R: 0,7%	S: 95%, I: 0%, R: 5%	S: 95,8%, R: 4,2%		S: 100%, I: 0%, R: 0%	S: 96%, R: 4%	S: 94,6%, R: 5,4%
COZ/TZB	S: 93%, I: 0%, R: 7%	S: 91,3%, I: 0%, R: 8,8%	S: 0%, R: 100%		S: 83,3%, I: 0%, R: 16,7%		S: 94,6%, R: 5,4%
CAZ/AVI	S: 94%, I: 0%, R: 6%		S: 0%, R: 100%		S: 83,3%, I: 0%, R: 16,7%		S: 94,2%, R: 5,8%
Cefiderocol					S: 100%, I: 0%, R: 0%		
	n=925	n=80	n=71	n=22	n=6	n=1341	n=1445
	EUCAST-2020	EUCAST-2020	EUCAST 2019	EUCAST	CLSI	EUCAST 2019	EUCAST 2018 (8.1)

Anexo 1.- Análisis de susceptibilidad antimicrobiana de los aislados recogidos en los diferentes estudios.

	Pérez, A. et al. (2019) [42]	Mulet, X. et al. (2019) [43]	López-Calleja, Al. et al. (2019) [44]	Ruiz-Roldán, R. et al. (2018) [46]	Bellés, A. et al. (2018) [47] (MBLs)	Bellés, A. et al. (2018) [47] (no MBLs)
TIC					S: 0,0%, R: 100%	S: 68%, R: 32%
PIP/TZB	S: 49,1%, I+R: 50,9%	S: 74,8%, R: 25,2%	S: 6,2%, R: 93,8%		S: 65%, R: 35%	S: 85%, R: 15%
CAZ	S: 51%, I+R: 49%	S: 85,4%, R: 14,6%	S: 10,1%, R: 89,9%	S: 92%, R: 8,0%	S: 39,5%, R: 60,5%	S: 81%, R: 19%
FEP	S: 56,6%, I+R: 43,4%	S: 72,3%, R: 27,7%	S: 10,8%, R: 89,2%	S: 93%, R: 7,0%	S: 28%, R: 82%	S: 80,5%, R: 19,5%
IMP	S: 35,9%, I+R: 64,1%	S: 73,3%, R: 26,7%	S: 12,4%, R: 87,6%	S: 99%, R: 1,0%	S: 0,0%, R: 100%	S: 80%, R: 20%
MEM	S: 49,1%, I+R: 50,9%	S: 71,2%, I+R: 28,2%	S: 5,4%, R: 94,6%	S: 100%, R: 0%	S: 0,0%, R: 100%	S: 87%, R: 13%
ATM	S: 1,9%, I+R: 98,1%		S: 0%, R: 100%	S: 93%, R: 7,0%	S: 89%, R: 21%	S: 78%, R: 22%
GEN	S: 51%, I+R: 49%	S: 61,7%, R: 38,3%	S: 24%, R: 76%	S: 97%, R: 3,0%	S: 4,4%, R: 95,6%	S: 15%, R: 85%
TOB	S: 58,5%, I+R: 41,5%	S: 72,8%, R: 27,2%	S: 41,9%, R: 58,1%	S: 100%, R: 0%	S: 4,4%, R: 95,6%	S: 92,5%, R: 7,5%
AMK	S: 62,3%, I+R: 37,7%	S: 74,3%, I+R: 25,7%	S: 78,2%, R: 21,8%	S: 100%, R: 0%	S: 72,5%, R: 27,5%	S: 96%, R: 4%
CPX	S: 45,3%, I+R: 54,7%	S: 62,7%, I+R: 37,9%	S: 7,0%, R: 93%	S: 99%, R: 1,0%	S: 4,4%, R: 95,6%	S: 78%, R: 22%
LVX	S: 41,5%, I+R: 58,8%		S: 3,9%, R: 96,1%	S: 100%, R: 0%	S: 8,7%, R: 91,3%	S: 77,5%, R: 22,5%
COL	S: 94,3%, I+R: 5,7%	S: 99,5%, R: 0,5%	S: 99,2%, R: 0,8%	S: 100%, R: 0%	S: 100%, R: 0,0%	S: 100%, R: 0,0%
COZ/TZB	S: 77,4%, I+R: 20,7%	S: 97,1%, R: 2,9%	S: 92,2%, R: 7,8%			
CAZ/AVI	S: 75,5%, I+R: 22,6%					
Cefiderocol						
	n=53	n=206	n=129	n=72	n=141	n=23
	EUCAST	EUCAST	EUCAST	CLSI	EUCAST	EUCAST

Anexo 1.- Análisis de susceptibilidad antimicrobiana de los aislados recogidos en los diferentes estudios.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1]. Resistencia a los antibióticos [Internet]. Organización Mundial de la Salud; 2020 [citado 22 Feb 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>
- [2]. González Mendoza J, Maguiña Vargas C, González Ponce FdM. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Médica Peruana* 2019;36(2):145-151.
- [3]. Gastelo Acosta R, Maguiña Vargas C. Mecanismos de resistencia bacteriana. Diagnóstico [Internet]. 21 En 2020 [citado 22 Feb 2023];57(2):82-86. Disponible en: <https://doi.org/10.33734/diagnostico.v57i2.82>
- [4]. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [Internet]. Organización Mundial de la Salud; 2017 [citado 22 Feb 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- [5]. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin T, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv.* En-Feb 2019;37(1):177-192.
- [6]. Gómez-Zorrilla Martín S. Impacto de la multirresistencia en la patogenicidad de *Pseudomonas aeruginosa*: perspectiva epidemiológica-clínica y experimental [Tesis doctoral]. Barcelona: Universidad de Barcelona; 2016. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10803/401750>
- [7]. Palleroni NJ. The *Pseudomonas* story. *Environ Microbiol.* Jun 2010;12(6):1377-1383.
- [8]. Paz Zarza VM, Mangwani Mordani S, Martínez Maldonado A, Álvarez Hernández D, Solano-Gálvez SG, Vázquez-López R. *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista chilena de infectología* [Internet]. Abr 2019 [citado 23 Feb 2023];36(2):180-189. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182019000200180>
- [9]. Jarama Soto B. Factores de virulencia de *Pseudomonas aeruginosa* productora de metalocarbapenemasas aisladas del Hospital Nacional Hipólito Unanue en el año 2016 [Tesis de maestría]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2022.
- [10]. Callicó A, Cedré B, Sifontes S, Torres V, Pino Y, Callís AH, et al. Caracterización fenotípica y serológica de aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. *VacciMonitor.* Jul-Sept 2004;13(3):1-9.
- [11]. Carrol KC, Hobden JA. *Pseudomonas* y *Acinetobacter*. En: Carrol KC, Mietzner TA, Hobden JA, Detrick B, Miller S, Mitchell TG, et al. *Microbiología Médica*. 27ª ed. México: McGraw Hill; 2017. p.245-251.
- [12]. Ramphal R. Infecciones en *Pseudomonas*, *Burkholderia* y *Stenotrophomonas* sp. En: Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J, et al., editores. *Harrison principios de medicina interna*. 20ª ed. México: McGraw Hill; 2018. p. 1167-1173.
- [13]. Reynolds D, Kollef M. The epidemiology and pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: an update. *Drugs.* Dic 2021;81(18):2117-2131.

[14]. Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs*. Feb 2007;67(3):351-368.

[15]. Luján Roca DA. *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* [Internet]. Dic 2014 [citado 23 Feb 2023];48(4):465-474. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572014000400009&lng=es

[16]. Alarcón T, Caballero E, Cantón R, Oliver A. Procedimientos en microbiología clínica. Diagnóstico microbiológico de la colonización-infección broncopulmonar en el paciente con fibrosis quística [Internet]. Sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. 25 Mar 2008 [citado 24 Feb 2023]. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia28.pdf>

[17]. 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* [Internet]. Mar 2012 [citado 22 Feb 2023];18(3):268-281. Disponible en: <https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/action/showPdf?pii=S1198-743X%2814%2961632-3>

[18]. Botelho J, Grosso F, Peixe L. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* – Mechanisms, epidemiology and evolution. *Drug Resist Updat*. May 2019;44:100640.

[19] Del Barrio-Tofiño E, López-Causapé C, Oliver A. *Pseudomonas aeruginosa* epidemic high-risk clones and their association with horizontally-acquired β -lactamases: 2020 update. *Int J Antimicrob Agents*. Dic 2020;56(6):106196.

[20]. Pérez-Cano HJ, Robles-Contreras A. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Revista Médica MD*. 01 Feb 2013;4.5(3):186-191.

[21]. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev*. Oct 2009;22(4):582-610.

[22]. Gómez Álvarez CA, Leal Castro AL, Pérez de Gonzalez MdJ, Navarrete Jiménez ML. Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo [Internet]. En 2005 [citado 23 Feb 2023];53(1):27-34. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112005000100004&lng=en.

[23]. Calvo J, Cantón R, Fernández Cuenca F, Mirelis B, Navarro F. Procedimientos en microbiología clínica. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. Sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica [Internet]; 31 Mar 2023 [citado 24 Feb 2023]. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia38.pdf>

[24]. Espinoza Pesantez DI, Esparza Sánchez GF. Resistencia enzimática en *Pseudomonas aeruginosa*, aspectos clínicos y de laboratorio. *Revista chilena de infectología*

[Internet]. Feb 2021 [citado 22 Feb 2023]; 38(1):69-80. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182021000100069>

[25]. Juan C, Moyá B, Pérez JL, Oliver A. Stepwise upregulation of the *Pseudomonas aeruginosa* chromosomal cephalosporinase conferring high-level beta-lactam resistance involves three AmpD homologues. *Antimicrob Agents Chemother*. May 2006;50(5):1780-1787.

[26]. Ferreira de Almeida Silva KdeC, Calomino MA, Deutsch G, Rodrigues de Castilho S, Renato de Paula G, Ramires Esper LM, et al. Molecular characterization of multidrug-resistant (MDR) *Pseudomonas aeruginosa* isolated in a burn center. *Burns*. Feb 2017;43(1):137-143.

[27]. Subedi D, Vijay AK, Willcox M. Overview of mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: an ocular perspective. *Clin Exp Optom*. 2018 Mar;101(2):162-171

[28]. Potron A, Poirel L, Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents*. Jun 2015;45(6):568-585.

[29]. Estepa V, Rojo-Bezares B, Azcona-Gutiérrez JM, Olarte I, Torres C, Sáenz Y. Caracterización de mecanismos de resistencia a carbapenémicos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital español. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Mar 2017;35(3):141-147.

[30]. Taylor PK, Yeung AT, Hancock RE. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: towards the development of novel anti-biofilm therapies. *J Biotechnol*. 10 Dic 2014;191:121-130.

[31]. Drenkard E. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes Infect*. Nov 2003;5(13):1213-1219.

[32] Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. Declaración PRISMA 2020: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. Sep 2021;74(9):790-799.

[33] Cantón R, Loza E, Arcay RM, Cercenado E, Castillo FJ, Cisterna R, et al. Antimicrobial activity of ceftolozane-tazobactam against Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* recovered during the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program in Spain (2016-2018). *Rev Esp Quimioter*. Jun 2021;34(3):228-237.

[34] Hernández-García M, García-Castillo M, García-Fernández S, Melo-Cristino J, Pinto MF, Gonçalves E, et al. Distinct epidemiology and resistance mechanisms affecting ceftolozane/tazobactam in *Pseudomonas aeruginosa* isolates recovered from ICU patients in Spain and Portugal depicted by WGS. *J Antimicrob Chemother*. En 2021;76(2):370-379.

[35] Pérez-Vázquez M, Sola-Campoy PJ, Zurita ÁM, Ávila A, Gómez-Bertomeu F, Solís S, et al. Carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Spain: interregional dissemination of the high-risk clones ST175 and ST244 carrying blaVIM-2, blaVIM-1, blaIMP-8, blaVIM-20 and blaKPC-2. *Int J Antimicrob Agents*. May 2020;56(1):106026.

[36] Fernández-Cuenca F, López-Cerero L, Cabot G, Oliver A, López-Méndez J, Recacha E, et al. Nosocomial outbreak linked to a flexible gastrointestinal endoscope contaminated with an amikacin-resistant ST17 clone of *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. Oct 2020;39(10):1837-1844.

[37] Delgado-Valverde M, Conejo MdC, Serrano L, Fernández-Cuenca F, Pascual Á. Activity of cefiderocol against high-risk clones of multidrug-resistant Enterobacterales, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother*. Jul 2020;75(7):1840-1849.

[38] del Barrio-Tofiño E, Sánchez-Diener I, Zamorano L, Cortes-Lara S, López-Causapé C, Cabot G, et al. Association between *Pseudomonas aeruginosa* O-antigen serotypes, resistance profiles and high-risk clones: results from a Spanish nationwide survey. *J Antimicrob Chemother*. Nov 2019;74(11):3217-3220.

[39] Fernández-Cuenca F, Martínez-Martínez L, Pascual Á. Evolución de la resistencia antimicrobiana en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de infecciones invasivas en el sur de España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Abr 2020;38(4):150-154.

[40] Montero MM, Domene Ochoa S, López-Causapé C, VanScoy B, Luque S, Sorlí L, et al. Colistin plus meropenem combination is synergistic in vitro against extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, including high-risk clones. *J Glob Antimicrob Resist*. Sep 2019;18:37-44.

[41] del Barrio-Tofiño E, Zamorano L, Cortes-Lara S, López-Causapé C, Sánchez-Diener I, Cabot G, et al. Spanish nationwide survey on *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial resistance mechanisms and epidemiology. *J Antimicrob Chemother*. Jul 2019;74(7):1825-1835.

[42] Pérez A, Gato E, Pérez-Llarena J, Fernández-Cuenca F, Gude MJ, Oviaño M, et al. High incidence of MDR and XDR *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from patients with ventilator-associated pneumonia in Greece, Italy and Spain as part of the MagicBullet clinical trial. *J Antimicrob Chemother*. May 2019;74(5):1244-1252.

[43] Mulet X, García R, Gayá M, Oliver A. O-antigen serotyping and MALDI-TOF, potentially useful tools for optimizing semi-empiric antipseudomonal treatments through the early detection of high-risk clones. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. Mar 2019;38(3):541-544.

[44] López-Calleja AI, Morilla Morales E, Nuñez Medina R, Fernández Esgueva M, Sahagún Pareja J, García-Lechuz Moya JM, et al. Antimicrobial activity of ceftolozane-tazobactam against multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from a Spanish hospital. *Rev Esp Quimioter*. Feb 2019;32(1):68-72.

[45] Díaz-Cañestro M, Periañez L, Mulet X, Martín-Pena ML, Fraile-Ribot PA, Ayestarán I, et al. Ceftolozane/tazobactam for the treatment of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: experience from the Balearic Islands. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. Nov 2018;37(11):2191-2200.

[46] Ruiz-Roldán L, Bellés A, Bueno J, Azcona-Gutiérrez JM, Rojo-Bezares B, Torres C, et al. *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Spanish Children: Occurrence in Faecal Samples, Antimicrobial Resistance, Virulence, and Molecular Typing. *Biomed Res Int*. En 2018;2018:8060178-8.

[47] Bellés A, Bueno J, Rojo-Bezares B, Torres C, Javier Castillo F, Sáenz Y, et al. Characterisation of VIM-2-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from lower tract respiratory infections in a Spanish hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. Oct 2018;37(10):1847-1856.