

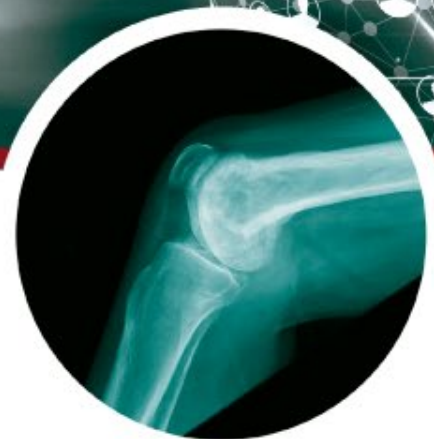
VIII Jornada **grupo GEIO**

GRUPO DE ESTUDIO DE INFECCIONES OSTEOARTICULARES

2023

NUEVOS RETOS EN INFECCIÓN OSTEOARTICULAR (IOA)

**Infecciones osteoarticulares asociadas a
biofilm por bacilos gramnegativos
multirresistentes.
Opciones de tratamiento antibiótico**

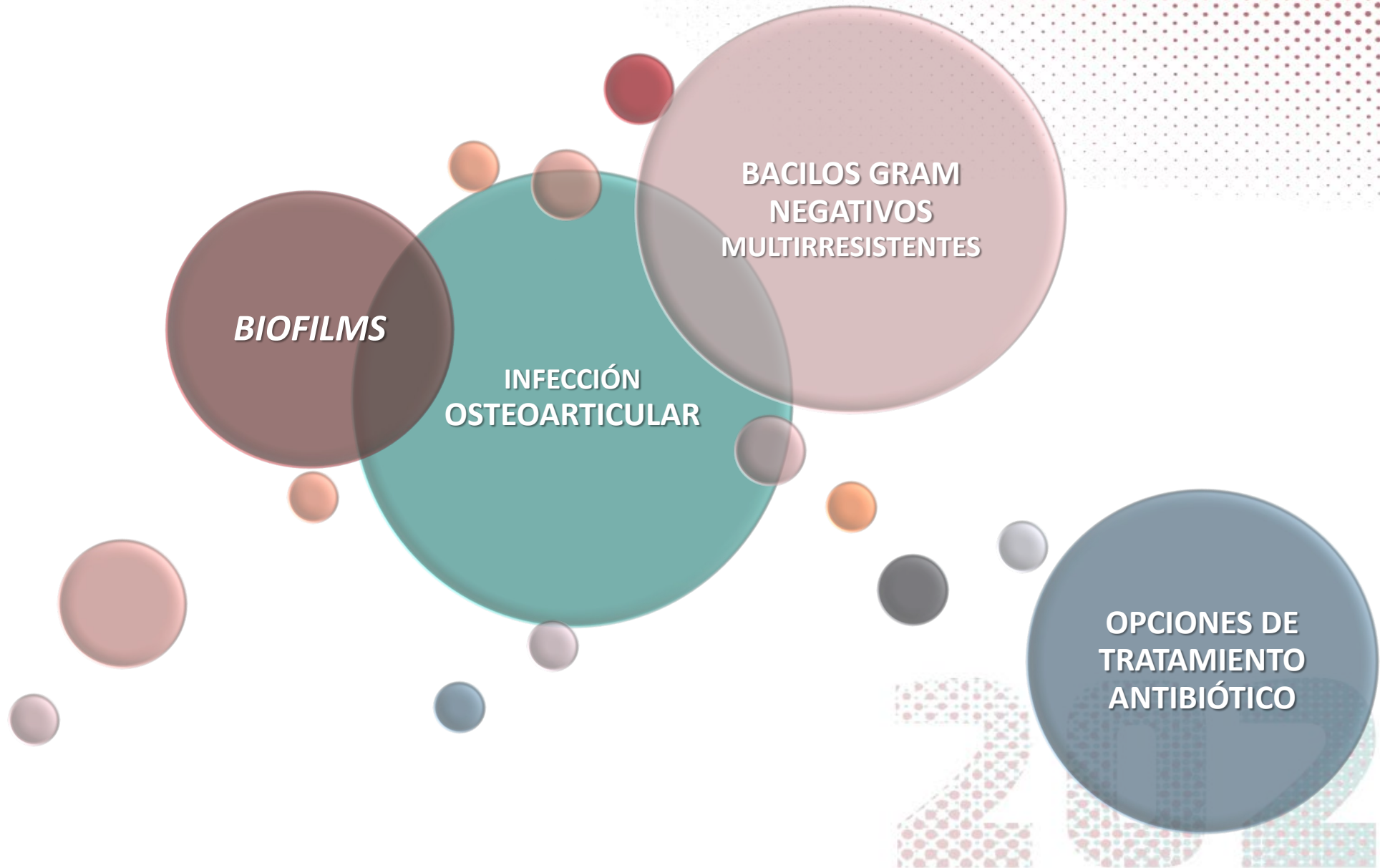


Madrid
GEIO • SEIMC

Mariló Macià Romero

Servicio de Microbiología
Instituto de Investigación Sanitaria de les Illes Balears (IdISBa)
Hospital Universitario Son Espases

SUMARIO



INFECCIÓN OSTEOARTICULAR

- Poco frecuentes
- Complejas
- Asociadas con la formación de **biopelículas**
- Difícil manejo médico-quirúrgico
- Necesitan abordaje **multidisciplinar**
- Diagnóstico etiológico → tratamiento antibiótico
- Los objetivos conjuntos del tratamiento son:
 - **Erradicar la infección**
 - **Aliviar el dolor**
 - **Restaurar la función articular**



2023

INFECCIÓN OSTEOARTICULAR

- Infección asociada a **prótesis articular**

- Incidencia media (España) 3-4%

- Factores de riesgo

- Cirugías previas (artroplastia)

- Neoplasia

- Edad avanzada, obesidad, diabetes mellitus, tabaquismo, inmunosupresión, etc

- Mortalidad → edad 0,4-1,2% **<65 años** y 2-7% **>80 años**

- Tratamiento

- Complejo y multidisciplinar

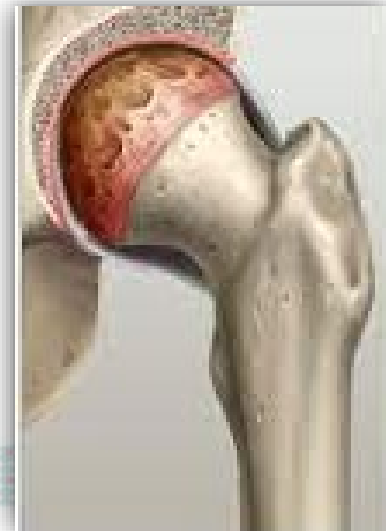
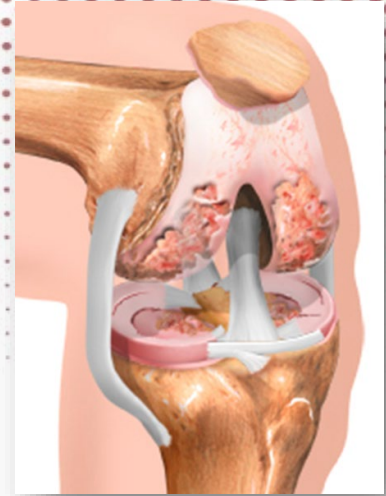
- Desbridamiento agresivo combinado con antibioterapia dirigida (inf. aguda)

- Recambio en uno o en dos tiempos (inf. crónica)

- Tratamiento supresor crónico

- Artrodesis

- Amputación de la extremidad



INFECCIÓN OSTEOARTICULAR - PRÓTESIS ARTICULAR

Etiología

- Grampositivos 65% (*S. aureus* y CGP CN)
- BGN aerobios
(*E. coli*, *P. mirabilis* y *P. aeruginosa*) 5%-10% (~20%)
- Anaerobios 1-4%
- Infecciones polimicrobianas ~20% (SARM y anaerobios)
- 7% ningún microorganismo

Recommended therapy		Alternative in patients allergic to β -lactams
Initial phase of treatment (planktonic bacteria)		
Empirical treatment		
	Vancomycin or daptomycin or cloxacillin iv & + ceftazidime or cefepime or meropenem iv	Vancomycin or daptomycin iv +
Targeted treatment		
Gram-negative	β -lactam iv ** †	Ciprofloxacin iv
Sequential phase treatment (biofilm-embedded bacteria)		
Gram-negative bacilli		
Treatment of choice		
	Ciprofloxacin po	-
Alternatives without fluoroquinolones		
	β -lactam iv $\pm$ colistin iv or β -lactam iv $\pm$ fosfomycin iv	Aztreonam iv $\pm$ colistin iv
	CMX	-
Alternatives against multi-drug resistant Gram-negative bacilli		
	β -lactam (CI) iv + colistin iv	Aztreonam iv (CI) + colistin iv
	β -lactam (CI) iv + fosfomycin iv	

INFECCIÓN OSTEOARTICULAR - PRÓTESIS ARTICULAR



• BGN MDR ↑ 5,3% (2003 y 2004) al 8,1% (2011 y 2012)

- *E. coli*, 2 → 4,3%
- *P. aeruginosa* del 0,7 → 1,8%
- Preocupación R carbapenems

13,5% (Fantoni et al. 2019)

TABLE 3 GNB biofilm formation^a

Strain (n)	Biofilm formation (Q1 to Q3) (n-fold OD ₅₄₀)	Percentage biofilm producer (%)			
		Strong	Moderate	Weak	No producer
<i>A. baumannii</i> (1)	2.5 (1.9 to 4)	0	1 (100%)	0	0
<i>C. freundii</i> (1)	3.4 (1.9 to 3.9)	0	1 (100%)	0	0
<i>C. koseri</i> (1)	1.3 (0.7 to 1.6)	0	0	1 (100%)	0
<i>E. cloacae</i> (2)	7.2 (5.6 to 8.4)	2 (100%)	0	0	0
<i>E. hormaechei</i> (2)	1.7 (0.7 to 3.6)	0	1 (50%)	1 (50%)	0
<i>E. coli</i> (8)	2.1 (1.2 to 3.3)	1 (12.5%)	4 (50%)	3 (37.5%)	0
<i>K. pneumoniae</i> (7)	4.9 (2.3 to 7.4)	4 (71.4%)	2 (14.3%)	1 (14.3)	0
<i>M. morganii</i> (3)	5.9 (2.1 to 13.45)	2 (66.7%)	0	1 (33.3%)	0
<i>P. mirabilis</i> (8)	3.3 (2.2 to 5)	2 (25%)	5 (62.5%)	1 (12.5%)	0
<i>P. vulgaris</i> (1)	1.3 (1.1 to 2.4)	0	0	1 (100%)	0
<i>P. stuartii</i> (1)	2.9 (2.3 to 4.6)	0	1 (100%)	0	0
<i>P. aeruginosa</i> (7)	10.2 (6.4 to 19.6)	7 (100%)	0	0	0
<i>R. ornithinolytica</i> (1)	0.9 (0.7 to 1.3)	0	0	0	1 (100%)
<i>S. marcescens</i> (3)	2.6 (1.7 to 5)	1 (33.3%)	1 (33.3%)	1 (33.3%)	0
Total	3.6 (1.8 to 6.8)	19 (41.3%)	16 (34.8%)	10 (21.8%)	1 (2.1%)

^aGNB, Gram-negative bacilli; OD₅₄₀, cutoff value three standard deviations (SD) above the mean optical density; Q, quartile.

TABLE 4 Planktonic and biofilm-growing bacteria antimicrobial activity among EB and NFGNB^a

Antimicrobial	EB (18)								NFGNB (8)							
	MIC		MBC		MBIC		MBEC		MIC		MBC		MBIC		MBEC	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
AMK	33 (87%)	5 (13%)	21 (55%)	17 (45%)	30 (79%)	8 (21%)	0	38 (100%)	6 (75%)	2 (25%)	6 (75%)	2 (25%)	5 (63%)	3 (37%)	0	8 (100%)
CRO	25 (65%)	13 (35%)	19 (50%)	19 (50%)	20 (53%)	18 (47%)	0	38 (100%)	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
CAZ	26 (67%)	12 (33%)	21 (55%)	17 (45%)	22 (58%)	16 (42%)	0	100 (100%)	8 (100%)	0 (0%)	7 (88%)	1 (12%)	2 (25%)	6 (75%)	0	100 (100%)
CIP	20 (53%)	18 (47%)	17 (45%)	21 (55%)	17 (45%)	21 (55%)	0	100 (100%)	5 (63%)	3 (37%)	3 (37%)	5 (63%)	5 (63%)	3 (37%)	0	100 (100%)
CO	19 (50%)	19 (50%)	17 (45%)	21 (55%)	13 (35%)	25 (65%)	0 (0%)	100 (100%)	8 (100%)	0 (0%)	7 (88%)	1 (12%)	2 (25%)	6 (75%)	0 (0%)	100 (100%)
GE	21 (55%)	17 (45%)	9 (24%)	29 (76%)	20 (53%)	18 (47%)	0 (0%)	100 (100%)	6 (75%)	2 (25%)	4 (50%)	4 (50%)	4 (50%)	4 (50%)	0 (0%)	100 (100%)
MP	36 (95%)	2 (5%)	36 (95%)	2 (5%)	35 (92%)	3 (8%)	0 (0%)	100 (100%)	6 (75%)	2 (25%)	6 (75%)	2 (25%)	5 (63%)	3 (37%)	0 (0%)	100 (100%)

^aThe table shows planktonic (MIC) and minimal bactericidal concentration [MBC] and biofilm-growing bacteria (minimal biofilm inhibitory concentration [MBIC] and minimal biofilm eradication concentration [MBEC]) antimicrobial activity among Enterobacteriaceae (EB) and nonfermenting Gram-negative bacilli (NFGNB). AMK, amikacin; CRO, ceftriaxone; CAZ, ceftazidime; CIP, ciprofloxacin; GE, gentamicin; CO, colistin; MP, meropenem; NT, not tested; R, resistant; S, sensitive.

BGN MULTIRRESISTENTES

DEFINICIONES

- ✓ **MDR:** multirresistente; resistente a algún antibiótico de 3 grupos diferentes
(e.g., aminoglucósidos, cefalosporinas anti-*Pseudomonas*, carbapenems, fluoroquinolonas, β -lactámicos + inhibidores β -lactamasa, monobactams y polimixinas)
- ✓ **XDR:** extensamente resistente; resistente a todos los grupos de antibióticos excepto a uno o dos de ellos
- ✓ **DTR:** difícil de tratar; resistente a antipseudomónicos de primera línea
(quinolonas y β -lactámicos clásicos), (IDSA)
- ✓ **PDR:** panresistente; resistente a todos los (grupos) antibióticos

2023

BGN MULTIRRESISTENTES – *Pseudomonas aeruginosa*

TABLE 1 Main genes known to be involved in *P. aeruginosa* mutational antibiotic resistance

Gene(s)	Resistance mechanism	Antibiotics affected
<i>gyrA</i>	Quinolone target modification (DNA gyrase)	Fluoroquinolones
<i>gyrB</i>	Quinolone target modification (DNA gyrase)	Fluoroquinolones
<i>parC</i>	Quinolone target modification (DNA topoisomerase IV)	Fluoroquinolones
<i>parE</i>	Quinolone target modification (DNA topoisomerase IV)	Fluoroquinolones
<i>pmrA, pmrB, phoQ, cprS, colR, colS</i>	Lipopolysaccharide modification (addition of the 4-amino-4-deoxy-L-arabinose moiety to the lipid A portion)	Polymyxins
<i>parR</i>	Lipopolysaccharide modification (addition of the 4-amino-4-deoxy-L-arabinose moiety to the lipid A portion)	Polymyxins
	OprD downregulation	Imipenem, meropenem
	MexEF-OprN hyperproduction	Fluoroquinolones
	MexXY hyperproduction	Fluoroquinolones, aminoglycosides, cefepime
<i>parS</i>	Lipopolysaccharide modification (addition of the 4-amino-4-deoxy-L-arabinose moiety to the lipid A portion)	Polymyxins
	OprD downregulation	Imipenem, meropenem
	MexEF-OprN hyperproduction	Fluoroquinolones
	MexXY hyperproduction	Fluoroquinolones, aminoglycosides, cefepime
<i>mexR, nalC, nalD</i>	MexAB-OprM hyperproduction	Fluoroquinolones, ceftazidime, cefepime, piperacillin-tazobactam, meropenem, ceftazidime-avibactam
<i>nfxB</i>	MexCD-OprJ hyperproduction	Fluoroquinolones, cefepime
<i>mexS</i>	MexEF-OprN hyperproduction	Fluoroquinolones
	OprD downregulation	Imipenem, meropenem
<i>mexT</i>	MexEF-OprN hyperproduction	Fluoroquinolones
	OprD downregulation	Imipenem, meropenem
<i>cmrA, mvaT, PA3271</i>	MexEF-OprN hyperproduction	Fluoroquinolones
<i>mexZ, PA5471.1, amqS</i>	MexXY hyperproduction	Fluoroquinolones, aminoglycosides, cefepime
<i>oprD</i>	OprD porin inactivation	Imipenem, meropenem
<i>ampC</i>	AmpC structural modification	Ceftolozane-tazobactam, ceftazidime-avibactam
<i>ampD, ampDh2, ampDh3, ampR, dacB, mpl</i>	AmpC hyperproduction	Ceftazidime, cefepime, piperacillin-tazobactam
<i>ftsI</i>	β -Lactam target modification (PBP3)	Ceftazidime, cefepime, piperacillin-tazobactam, ceftolozane-tazobactam, ceftazidime-avibactam, meropenem
<i>fusA1</i>	Aminoglycoside target modification (elongation factor G)	Aminoglycosides
<i>glpT</i>	Inactivation of transporter protein GlpT	Fosfomicin
<i>rpoB</i>	Rifampin target modification, RNA polymerase β -chain	Rifampin

J. P. Horcajada et al. CMR, 2019

Resistencia horizontal

- ESBLs
- Carbapenemasas (MBLs clase B)
- Enzimas modificantes de aminoglicósidos

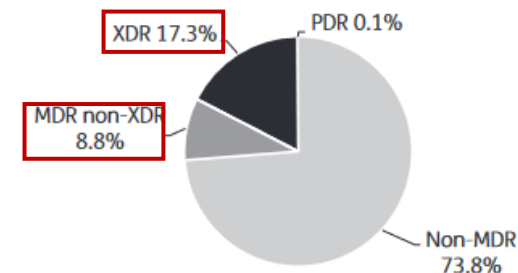


Figure 2. Distribution of susceptibility profiles among *P. aeruginosa* isolates from Spanish hospitals.
del Barrio-Tofiño et al. 2019

BIOFILMS



- 65-80% de todas las infecciones
- Ubicuidad
- Amplio rango de infecciones

PERSISTENCIA
ERRADICACIÓN EXTREMADAMENTE
DIFÍCIL



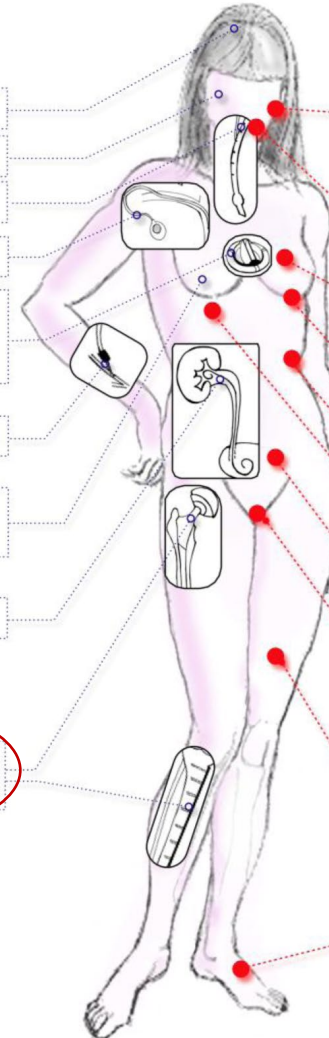
RESISTENCIA A LOS
ANTIBIÓTICOS Y AL SISTEMA
INMUNE

DEVICE-RELATED INFECTIONS

- Ventricular derivations
- Contact lenses
- Endotracheal tubes
- Vascular central catheters
- Prosthetic cardiac valves, pacemakers and vascular grafts
- Peripheral vascular catheters
- Tissue fillers, breast implants
- Urinary catheters
- Orthopedic implants and prosthetic joints

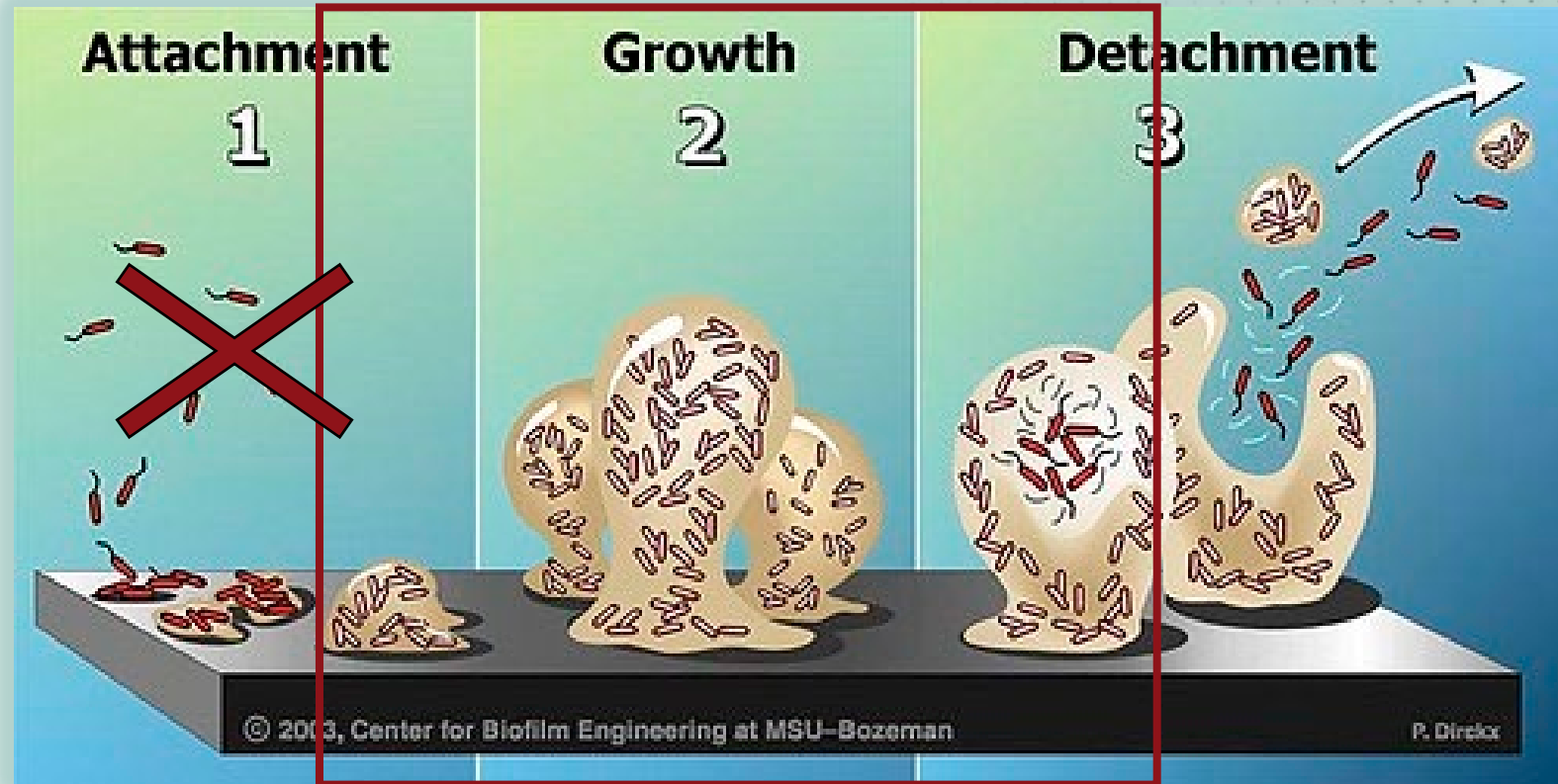
TISSUE INFECTIONS

- Chronic otitis media, chronic sinusitis
- Chronic tonsillitis, dental plaque, chronic laryngitis
- Endocarditis
- Lung infection in cystic fibrosis
- Kidney stones
- Biliary tract infections
- Urinary tract infections
- Vaginosis
- Osteomyelitis
- Chronic wounds



BIOFILMS

PREVENCIÓN TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO



↑ MADURACIÓN BIOFILM ↑ DIFICULTAD DE ERRADICACIÓN

RECAMBIO PRÓTESIS

BIOFILMS ≈ 100-1000 VECES MÁS RESISTENTES A LOS ANTIBIÓTICOS

ARTICLE OPEN

Reaction–diffusion theory explains hypoxia and heterogeneous growth within microbial biofilms associated with chronic infections

Phillip S Stewart^{1,2}, Tianyu Zhang^{1,3}, Ruifang Xu^{1,2}, Betsey Pitts¹, Marshall C Walters^{1,2,5}, Frank Roe^{1,6}, Judith Kikhney⁶ and Annette Moter⁴

PlosOne 2016

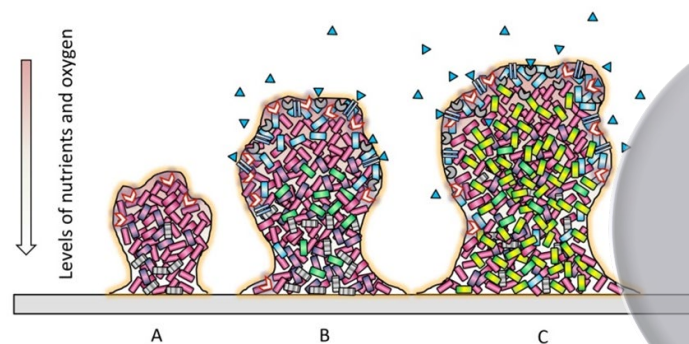
Diffusion Retardation by Binding of Tobramycin in an Alginate Biofilm Model

Bao Cao¹, Lars Christophersen¹, Mette Kolpen^{1,2}, Peter Østrup Jensen¹, Kim Sneppen³, Niels Højby^{1,2}, Claus Moser¹, Thomas Sams^{4,*}

Mol Microbiol 2008

Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the *pmr* and *mexAB-oprM* genes.

Pamp SJ¹, Gjermansen M, Johansen HK, Tolker-Nielsen T.



Tolerancia

Hipermutabilidad

Resistencia adquirida
Mutacional
Transferencia horizontal genes

Resistencia adaptativa

JAC 2008

Increased mutability of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms

K. Driffield[†], K. Miller, J. M. Bostock, A. J. O'Neill and I. Chopra*

PLoS ONE 2009

Role of Mutation in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Development

Tim C. R. Conibear, Samuel L. Collins, Jeremy S. Webb*

AAC 2011

Dynamics of Mutator and Antibiotic-Resistant Populations in a Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Treatment[†]

María D. Macià,^{1*} José L. Pérez,¹ Soeren Molin,² and Antonio Oliver¹

ANTHROPOL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Apr. 2009, p. 1552–1560
0066-4804/09/508.00+0 doi:10.1128/AAC.01264.08
Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 53, No. 4

Azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms: Bactericidal Activity and Selection of *nfxB* Mutants[†]

Xavier Mulet, María D. Macià, Ana Mena, Carlos Juan, José L. Pérez, and Antonio Oliver*

J Bact 2016

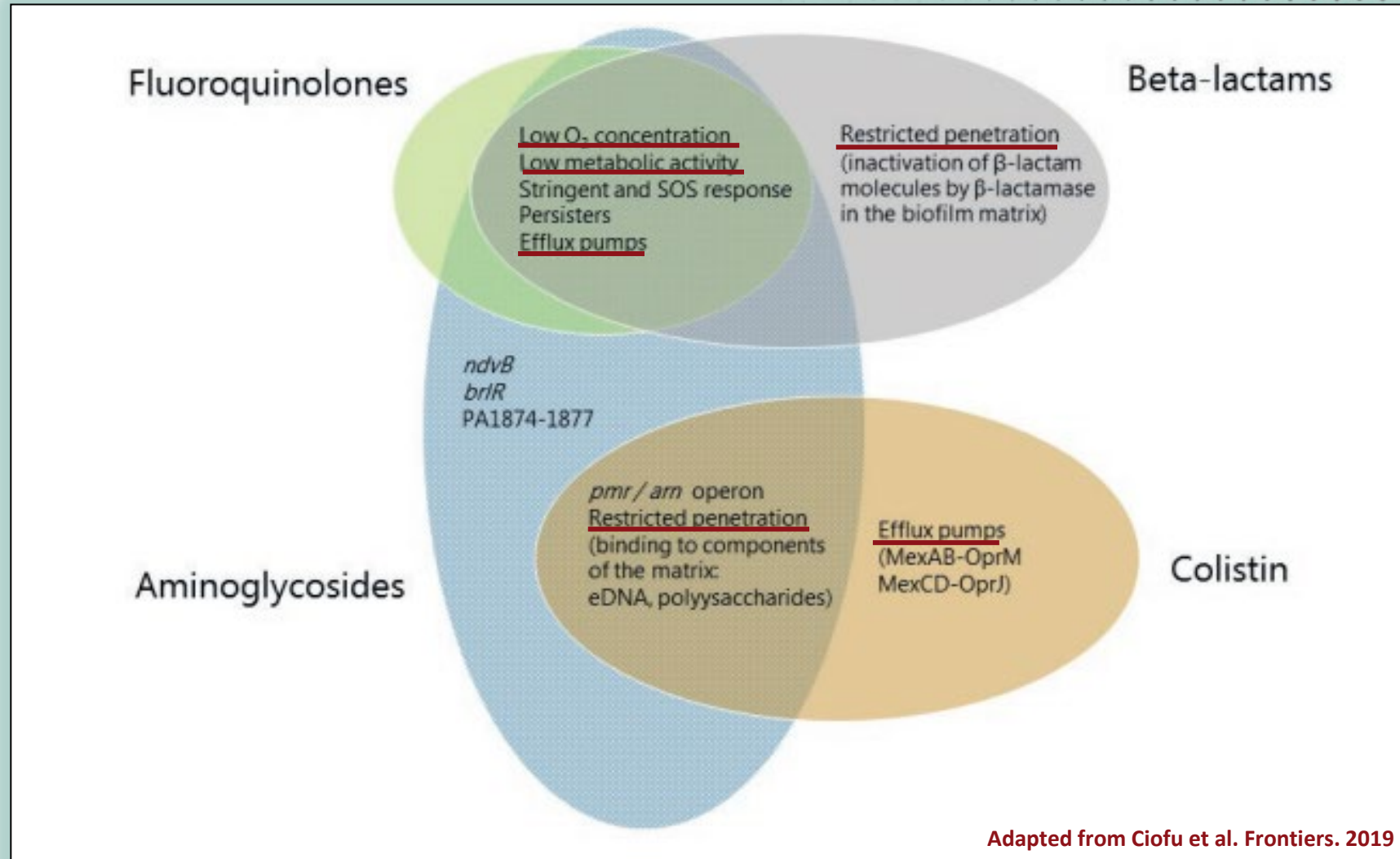
Gene Transfer Efficiency in Gonococcal Biofilms: Role of Biofilm Age, Architecture, and Pilin Antigenic Variation

Dynamics and Spatial Distribution of β -Lactamase Expression in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms

Niels Bagge,^{1*} Morten Hentzer,² Jens Bo Andersen,² Oana Ciofu,¹ Michael Givskov,² and Niels Højby¹

Macià, M.D., Oliver, A. (2022). vol 11. Springer, Cham.

BIOFILMS – RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS



BIOFILMS - OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO ACTUALES

COMBINACIÓN DE ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS

Int J Antimicrob Agents 2016

Reinforcement of the bactericidal effect of ciprofloxacin on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm by hyperbaric oxygen treatment

Mette Kolpen^{a,b}, Nabi Mousavi^a, Thomas Sams^c, Thomas Bjarnsholt^{a,b}, Oana Ciofu^b, Claus Moser^a, Michael Kühl^{d,e}, Niels Høiby^{a,b}, Peter Østrup Jensen^{a,*}

Rezk et al
Journal of Genetic Engineering and Biotechnology
https://doi.org/10.1186/s43141-022-00409-1 (2022) 20:133

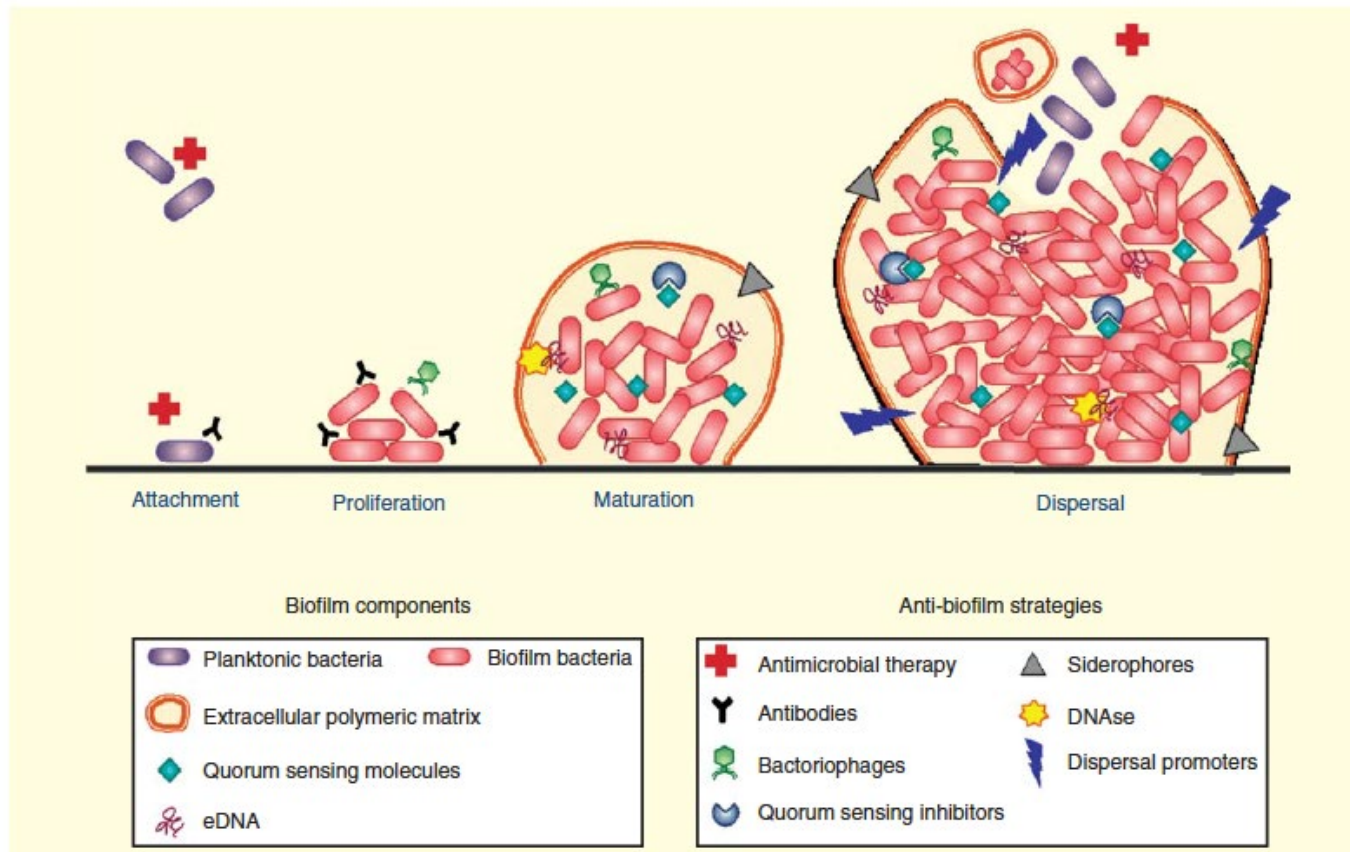
Journal of Genetic Engineering and Biotechnology

RESEARCH

Open Access

Bacteriophage as a potential therapy to control antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection through topical application onto a full-thickness wound in a rat model

Nouran Rezk¹, Abdallah S. Abdelsattar^{1,2}, Doaa Elzoghby¹, Mona M. Agwa³, Mohamed Abdelmoteleb⁴, Rania G. Aly⁵, Mohamed S. Fayez¹, Kareem Essam¹, Bishoy M. Zak⁶ and Ayman El-Shibiny^{1,2*}



TRATAMIENTO CON ANTIBIÓTICOS

EVITAR DESARROLLO DE RESISTENCIA

OPTIMIZACIÓN PK/PD: ALTAS DOSIS (VÍA TÓPICA), INFUSIÓN CONTINUA B-LACTÁMICOS

COMBINACIONES DE ANTIBIÓTICOS

TERAPIA SECUENCIAL

NUEVOS ANTIBIÓTICOS

BIOFILMS - OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO ACTUALES

OPTIMIZACIÓN PK/PD (ALTAS DOSIS (VÍA TÓPICA), INFUSIÓN CONTINUA B-LACTÁMICOS)

- ✓ Optimización PK/PD antibióticos en *biofilm*
 - ✓ Considerar índices como:
 - ✓ AUC/MBIC ó [Cmax]/MBIC ratio
 - ✓ β -lactámicos: T>CMI 100% → infusión continua/extendida?
- ✓ Concentraciones mucho más altas → administración local/tópica?
- ✓ Modelo bicompartimental → *biofilm* tercer compartimento?

In vitro pharmacokinetics/pharmacodynamics of continuous ceftazidime infusion alone and in combination with colistin against *Pseudomonas aeruginosa* biofilm

Joan Gómez-Jumyent^{a,b}, Oscar Murillo^{b,*}, Heidi H. Yu^a, Mohammad A.K. Azad^a, Hasini Wickremasinghe^a, Raul Rigo-Bonnin^c, Eva Benavent^b, Javier Ariza^b, Jian Li^a



ELSEVIER

International Journal of Antimicrobial Agents 44 (2014) 363–366

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Antimicrobial Agents

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ijantimicag>



Short Communication

Successful treatment of extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* osteomyelitis using a colistin- and tobramycin-impregnated PMMA spacer

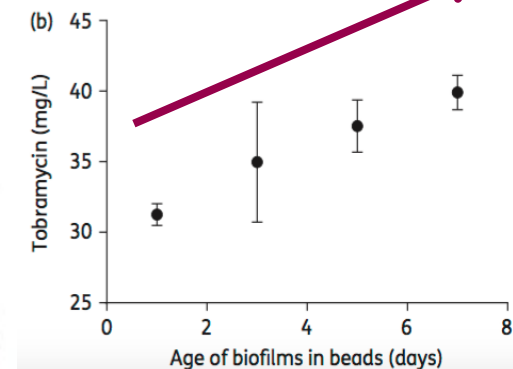
Jochen Krajewski^{a,b,*}, Stefanie M. Bode-Böger^c, Uwe Tröger^c, Jens Martens-Lobenhoffer^c, Thomas Mulrooney^a, Hagen Mittelstädt^a, Martin Russlies^a, Rainer Kirchner^a, Johannes K.-M. Knobloch^b



Antibiotic penetration and bacterial killing in a *Pseudomonas aeruginosa* biofilm model

JAC 2015

Bao Cao^{1*}, Lars Christophersen¹, Kim Thomsen¹, Majken Sønderholm², Thomas Bjarnsholt^{1,2}, Peter Østrup Jensen¹, Niels Høiby¹ and Claus Moser¹



BIOFILMS - OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO ACTUALES

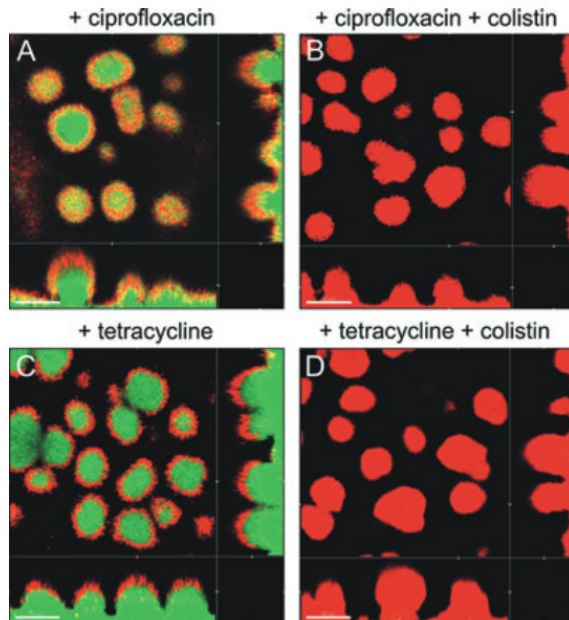
COMBINACIONES DE ANTIBIÓTICOS

Antibióticos con diferentes mecanismos de acción y perfiles de resistencia

Molecular Microbiology (2008) 68(1), 223–240

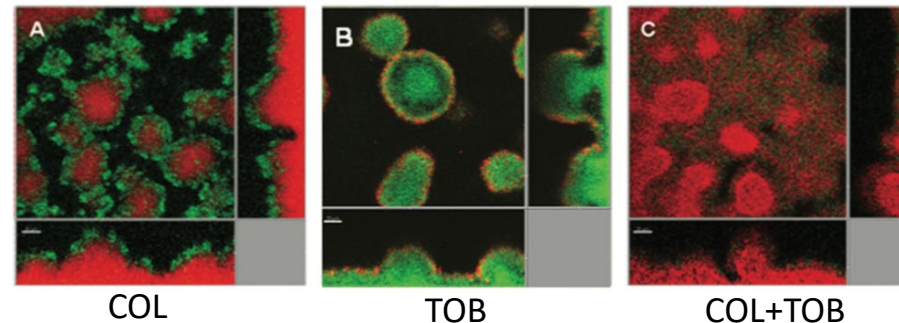
doi:10.1111/j.1365-2958.2008.06152.x
First published online 28 February 2008

Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the *pmr* and *mexAB-oprM* genes



J Infect Dis 2010 Colistin-Tobramycin Combinations Are Superior to Monotherapy Concerning the Killing of Biofilm *Pseudomonas aeruginosa*

Gloria Herrmann,¹ Liang Yang,³ Hong Wu,⁴ Zhijun Song,⁴ Hengzhuang Wang,⁴ Niels Heiby,⁴ Martina Ulrich,¹ Søren Molin,³ Joachim Riethmüller,² and Gerd Döring¹



J Antimicrob Chemother 2015; 70: 3357–3365
doi:10.1093/jac/dkv281 Advance Access publication 28 September 2015

Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy

Osteoarticular infection caused by MDR *Pseudomonas aeruginosa*: the benefits of combination therapy with colistin plus β -lactams

Alba Ribera^{1*}, Eva Benavent¹, Jaime Lora-Tamayo¹, Fe Tubau^{2,3}, Salvador Pedrero⁴, Xavier Cabo⁴, Javier Ariza¹ and Oscar Murillo¹



- ✓ Mayor eficacia que monoterapia
- ✓ Efecto sinérgico
- ✓ Evita resistencia mutacional



- ✓ Aumento de toxicidad
- ✓ Interacciones
- ✓ Aumento coste
- ✓ Selección potencial de multirresistencia

BIOFILMS - OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO ACTUALES

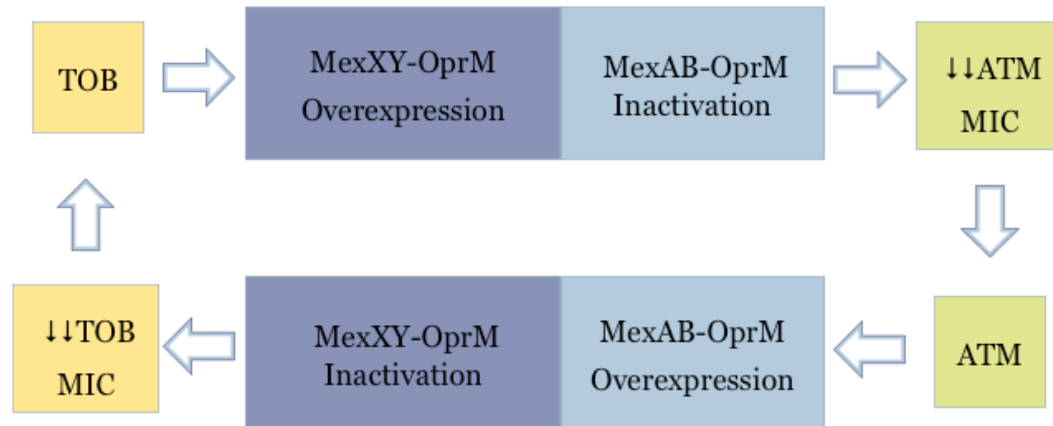
TERAPIA SECUENCIAL

Basadas en mecanismos de resistencia antagónicos (sensibilidad colateral)

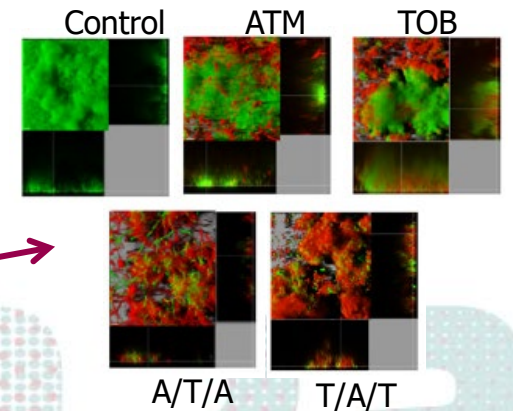
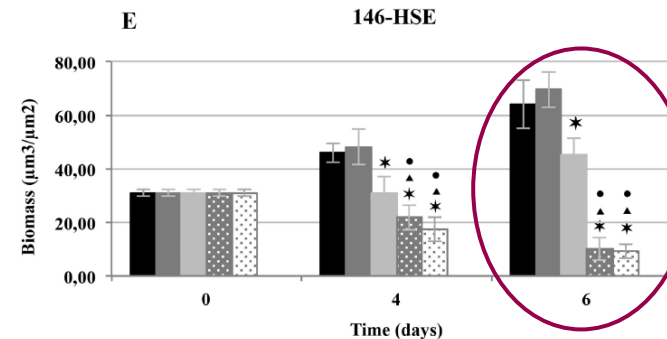
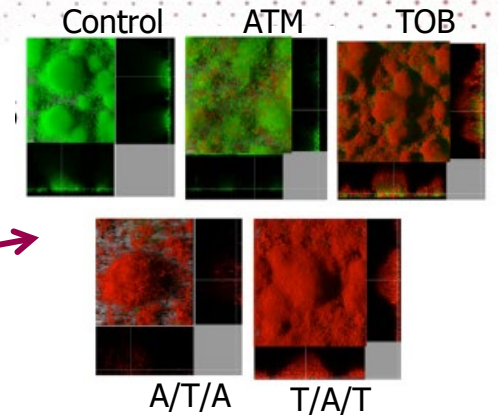
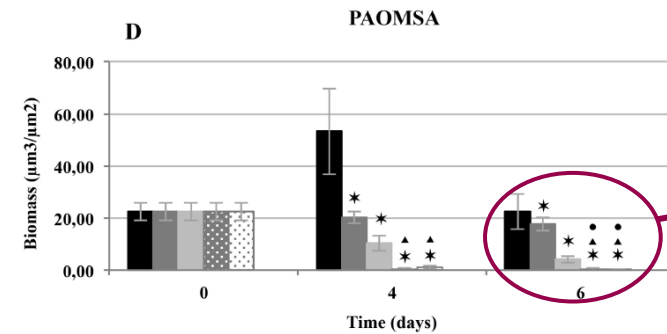
AAC 2016

Sequential Treatment of Biofilms with Aztreonam and Tobramycin Is a Novel Strategy for Combating *Pseudomonas aeruginosa* Chronic Respiratory Infections

Estrella Rojo-Molinero,^{a,b} María D. Macià,^{a,b} Rosa Rubio,^a Bartolomé Moyà,^{a,b} Gabriel Cabot,^{a,b} Carla López-Causapé,^{a,b} José L. Pérez,^{a,b} Rafael Cantón,^{b,c} Antonio Olivera,^{a,b}



↑ Eficacia terapéutica ↓ Selección de mutantes resistentes



El tratamiento secuencial fue superior a las terapias individuales

BIOFILMS - OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO ACTUALES

NUEVOS ANTIBIÓTICOS

Nuevas combinaciones de β -lactámicos e inhibidores de β -lactamasas

- TL/TZ
- CZ/AV
- IM/REL

Gomis-Font et al.

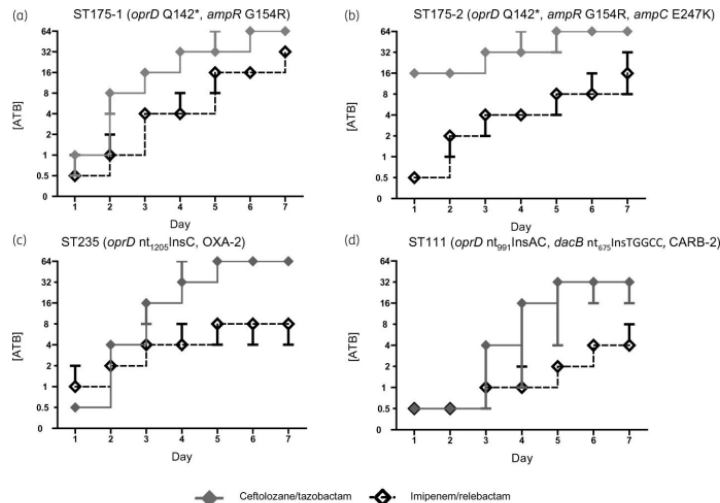


Figure 1. Dynamics of stepwise resistance development to ceftolozane/tazobactam and imipenem/relebactam in broth cultures from ST175 (a), ST175 AmpC E247K (b), ST235 (c) and ST111 (d) *P. aeruginosa* high-risk clones. Median values and ranges for three experiments are shown.



2014

Pseudomonas aeruginosa Ceftolozane-Tazobactam Resistance Development Requires Multiple Mutations Leading to Overexpression and Structural Modification of AmpC

Gabriel Cabot,^a Sebastian Bruchmann,^b Xavier Mulet,^a Laura Zamorano,^a Bartolomé Moyá,^a Carlos Juan,^a Susanne Haussler,^b Antonio Oliver^a

J Antimicrob Chemother 2017; **72**: 1109–1117
doi:10.1093/jac/dkw535 Advance Access publication 10 January 2017

Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy

Potential of ceftazidime by avibactam against β -lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an *in vitro* infection model

Sherwin K. B. Sy¹, Luning Zhuang¹, Marie-Eve Beaudoin², Philipp Kircher¹,
Maria A. M. Tabosa¹, Noely C. T. Cavalcanti¹, Christian Grunwitz¹, Sebastian Pieper¹, Virna J. Schuck²,
Wright W. Nichols² and Hartmut Derendorf^{1*}

J Antimicrob Chemother
https://doi.org/10.1093/jac/dkab496

Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy

Comparative analysis of *in vitro* dynamics and mechanisms of ceftolozane/tazobactam and imipenem/relebactam resistance development in *Pseudomonas aeruginosa* XDR high-risk clones

María A. Gomis-Font^{1,2}, Gabriel Cabot^{1,2}, Silvia López-Argüello¹, Laura Zamorano^{1,2}, Carlos Juan^{1,2},
Bartolomé Moyá^{1,2} and Antonio Oliver^{1,2*}

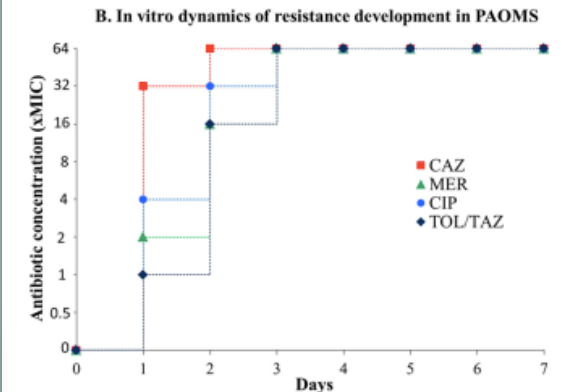
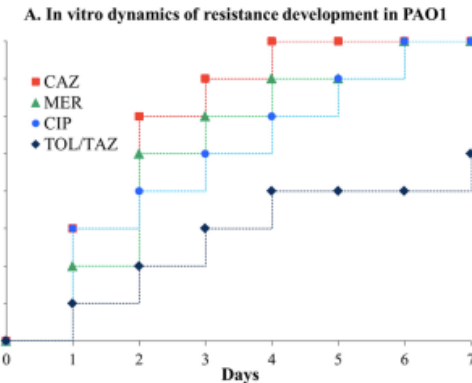


FIG 1 Dynamics of resistance development to ceftolozane-tazobactam and comparators. The modal values for three experiments are shown.

↑ Actividad frente *P. aeruginosa*
Inhibición de AmpC

BIOFILMS - OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO ACTUALES

NUEVOS ANTIBIÓTICOS EN *BIOFILM*

- TL/TZ

J Antimicrob Chemother 2010; **65**: 1399–1404
doi:10.1093/jac/dkq143 Advance Access publication 30 April 2010

Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy

Anti-biofilm and resistance suppression activities of CXA-101 against chronic respiratory infection phenotypes of *Pseudomonas aeruginosa* strain PAO1

Elena Riera¹, María D. Macià¹, Ana Mena¹, Xavier Mulet¹, José L. Pérez¹, Yígon Ge² and Antonio Oliver^{1*}

- CEFIDEROCOL



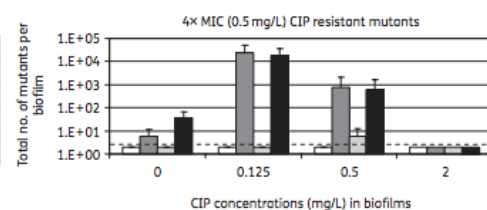
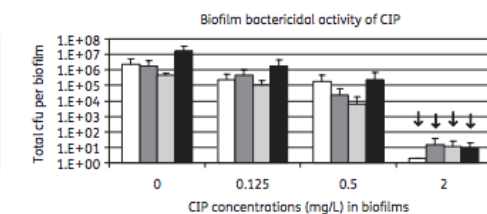
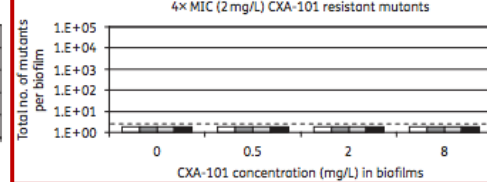
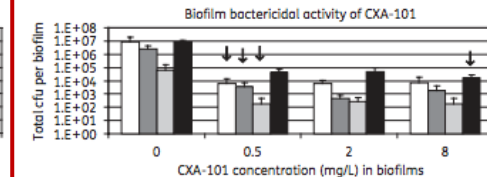
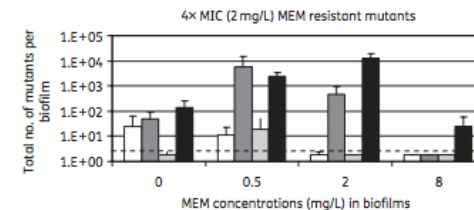
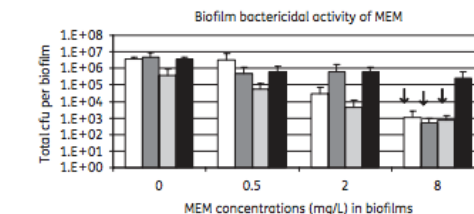
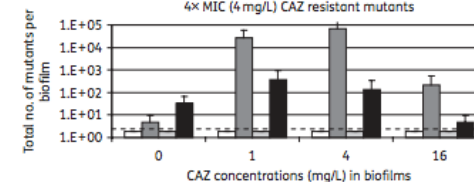
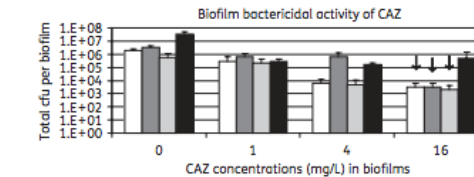
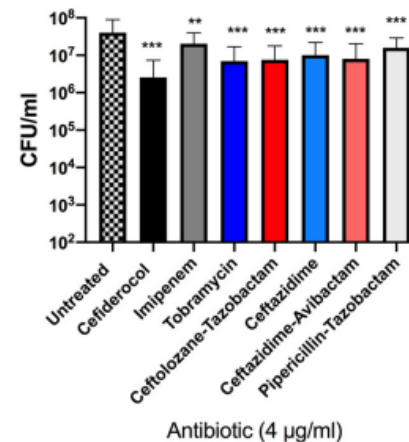
MECHANISMS OF ACTION: PHYSIOLOGICAL EFFECTS



AAC 2021

Cefiderocol Retains Antibiofilm Activity in Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens

Christine A. Pybus,^a Christina Felder-Scott,^b Victor Obuekwe,^a David E. Greenberg^{a,c}



Buena actividad anti *biofilm* no dependiente de la concentración

BIOFILMS - OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO ACTUALES

COMBINACIONES CON NUEVOS ANTIBIÓTICOS

Efficacy of ceftolozane/tazobactam, alone and in combination with colistin, against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an *in vitro* biofilm pharmacodynamic model

Joan Gómez-Junyent^a, Eva Benavent^a, Yanik Sierra^b, Cristina El Haj^a, Laura Soldevila^a, Benjamín Torrejón^c, Raul Rigo-Bonnin^d, Fe Tubau^b, Javier Ariza^{a,e}, Oscar Murillo^{a,e,*}



AMERICAN
SOCIETY FOR
MICROBIOLOGY

Antimicrobial Agents
and Chemotherapy[®]

EXPERIMENTAL THERAPEUTICS



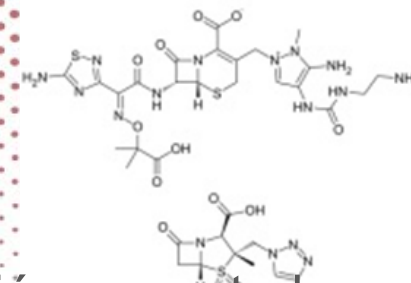
Efficacy of Ceftolozane-Tazobactam in Combination with Colistin against Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*, Including High-Risk Clones, in an *In Vitro* Pharmacodynamic Model

© María Montero,^a Sandra Domene Ochoa,^a Carla López-Causapé,^b Brian VanScoy,^c Sonia Luque,^d Luisa Sorlí,^a Núria Campillo,^d Ariadna Angulo-Brunet,^h Eduardo Padilla,^e Núria Prim,^e Virginia Pomar,^f Alba Rivera,^g Santiago Grau,^d Paul G. Ambrose,^c © Antonio Oliver,^b Juan P. Horcajada^a

TL/TZ + COL → útil tratamiento en infecciones *P. aeruginosa* XDR incluso clones de alto riesgo

OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO

TERAPIA SECUENCIAL CON NUEVOS ANTIBIÓTICOS



- Nuevas combinaciones β -lactámicos/inhibidores β -lactamasas $\rightarrow$ **TL/TZ** $\rightarrow$ opción prometedora
 - **No exento de desarrollo de resistencia mutacional**
 - La resistencia a TL/TZ mediada por mutaciones específicas en el **Ω loop de AmpC** está asociada a **sensibilidad a los carbapenémicos (IM)**
 - Basándonos en este **mecanismo de resistencia antagónica**, TL/TZ $\rightarrow$ IM podría evitar el desarrollo de mutantes resistentes a TL/TZ, siendo quizás una estrategia terapéutica prometedora en biopelículas XDR de *P. aeruginosa*
- La combinación del carbapenem IM con RL $\rightarrow$ estable frente a la asociación de **inactivación de OprD + sobreexpresión de AmpC**

OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO

TERAPIA SECUENCIAL

TL/TZ 4/4 µg/ml (6d)

TL/TZ (2d) → IM (2d) → TL/TZ (2d)

IM/RL 2/4 µg/ml (6d)

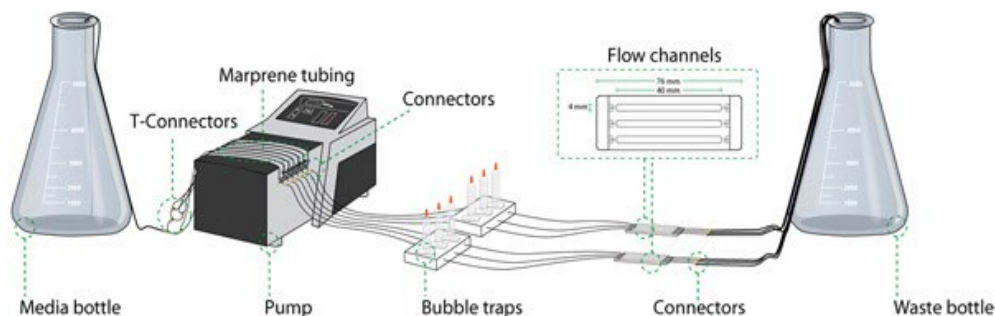


TABLE 3 Activity of imipenem-relebactam against isogenic XDR clinical isolates that had developed resistance to ceftolozane-tazobactam

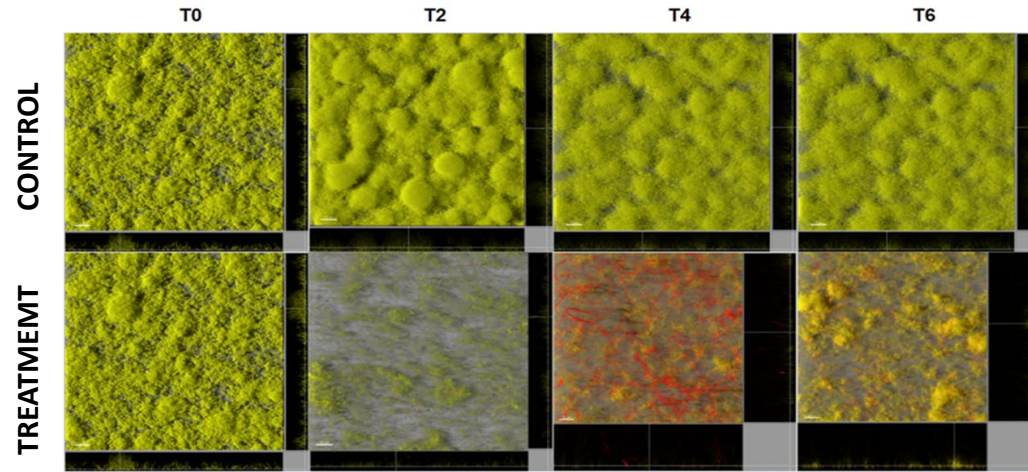
Patient	Isolate ID	Isolation date (day/mo/yr)	Sample type	MLST	MIC (µg/ml)				β-Lactam resistance genotype
					TOL-TZ (S ≤ 4)	CAZ-AVI (S ≤ 8)	IMP (S ≤ 4)	IMI-REL (S ≤ 4)	
1	96-C4	18/7/2016	Bronchial aspirate	ST179	4	2	1	0.5	OXA-10
	96-H6	31/7/2016	Bronchial aspirate	ST179	32	32	8	2	OXA-14, OprD W417X
2	101-E5	7/11/2016	Bronchial aspirate	ST175	2	4	8	1	OprD Q142X, AmpR G154R
	103-H8	14/12/2016	Bronchial aspirate	ST175	>32	>32	1	1	OprD Q142X, AmpR G154R, AmpC E247K
3	104-B7	16/12/2016	Urine	ST175	2	4	8	1	OprD Q142X, AmpR G154R
	104-I9	7/1/2016	Blood	ST175	>32	32	1	0.5	OprD Q142X, AmpR G154R, AmpC T96I
4	106-G2	3/2/2017	Bronchial aspirate	ST175	2	4	16	0.5	OprD Q142X, AmpR G154R
	107-H1	20/2/2017	Bronchial aspirate	ST175	>32	16	1	0.5	OprD Q142X, AmpR G154R, AmpC T96I
5	109-E9	27/3/2017	Sputum	ST175	2	4	16	1	OprD Q142X, AmpR G154R
	110-G8	7/4/2017	Bronchial aspirate	ST175	32	32	1	0.5	OprD Q142X, AmpR G154R, AmpC DelG229-E247
6	109-F7	28/3/2017	Bronchial aspirate	ST235	4	8	16	1	OXA-2, OprD 1bpIns
	110-G6	19/4/2017	Bronchial aspirate	ST235	32	16	2	0.5	OXA-2, OprD 1bpIns, AmpC F147L
7	114-G4	20/7/2017	Blood	ST179	8	8	8	1	OXA-10, OprD W6X
	117-C6	3/9/2017	Tracheal aspirate	ST179	32	>32	8	2	OXA-14, mexR 4bpIns, mexZ 15bpDel, OprD W6X, <i>ftsI</i> (PBP3) F533L
8	116-A9	21/8/2017	Bronchial aspirate	ST175	2	4	8	1	OprD Q142X, AmpR G154R
	117-E3	4/9/2017	Tracheal aspirate	ST175	>32	8	2	0.5	OprD Q142X, AmpR G154R, AmpC E247G

Fraile-Ribot, PA. et al., (2020)

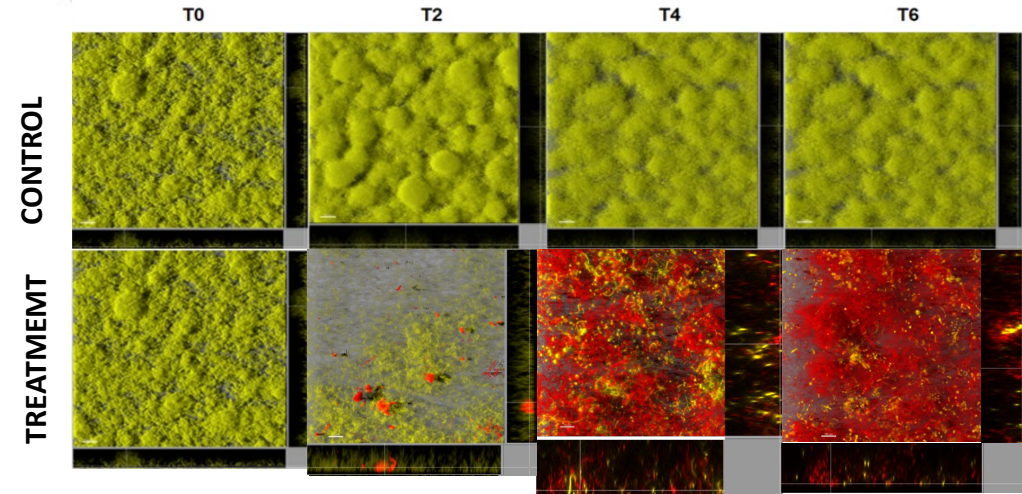
OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO

TERAPIA SECUENCIAL

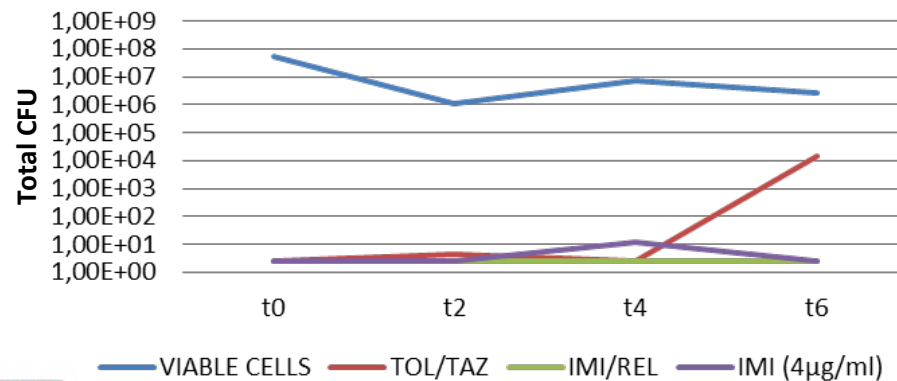
TL/TZ (6d)



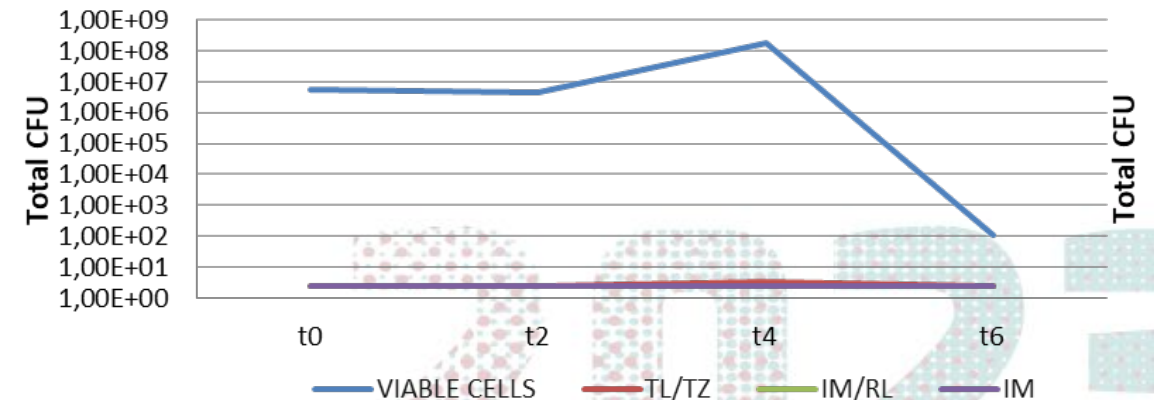
TL/TZ (2d) → IM (2d) → TL/TZ (2d)



PAO1 DK-TOL/TAZ



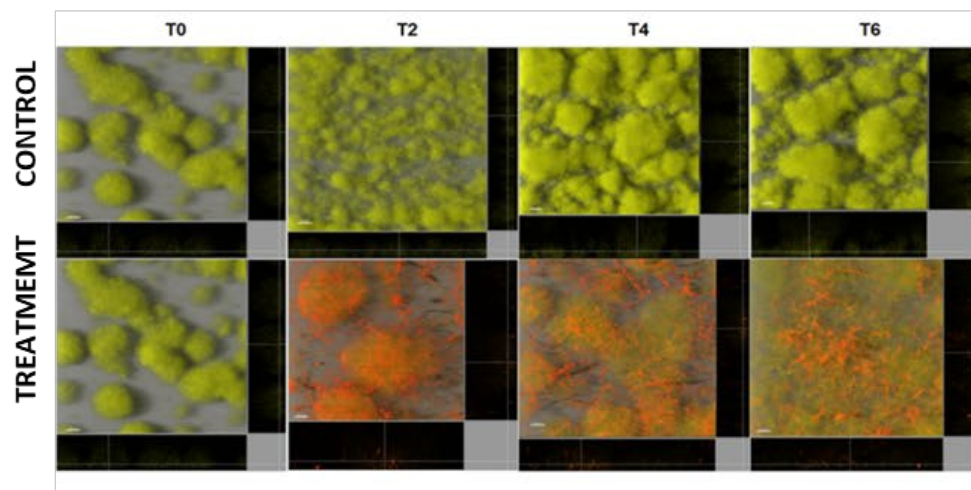
PAO1 DK-ALT



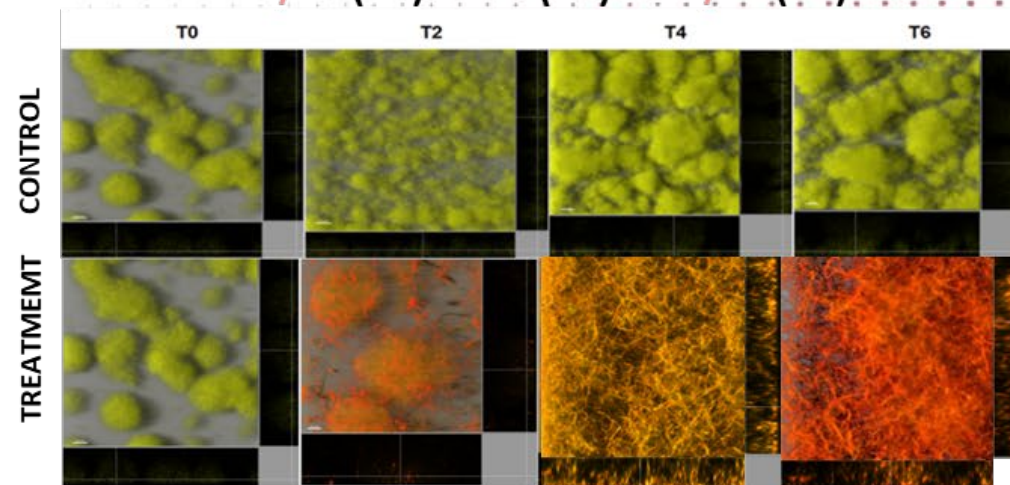
OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO

TERAPIA SECUENCIAL

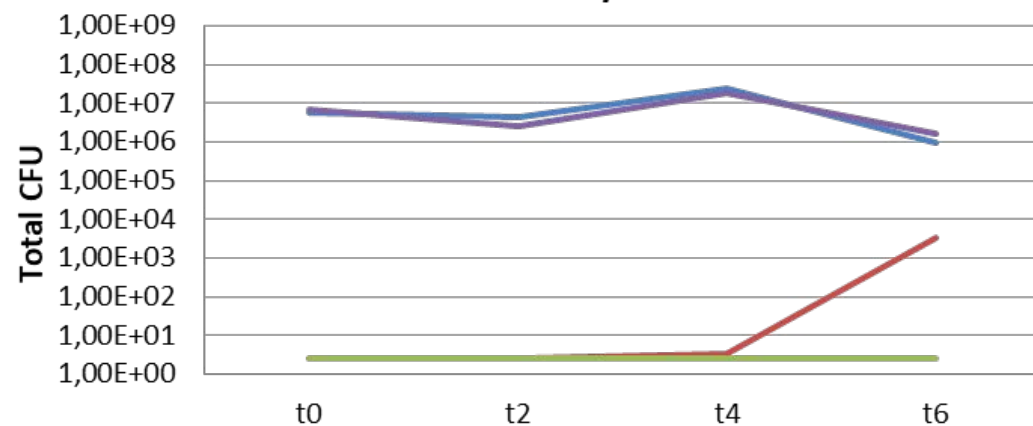
TL/TZ (6d)



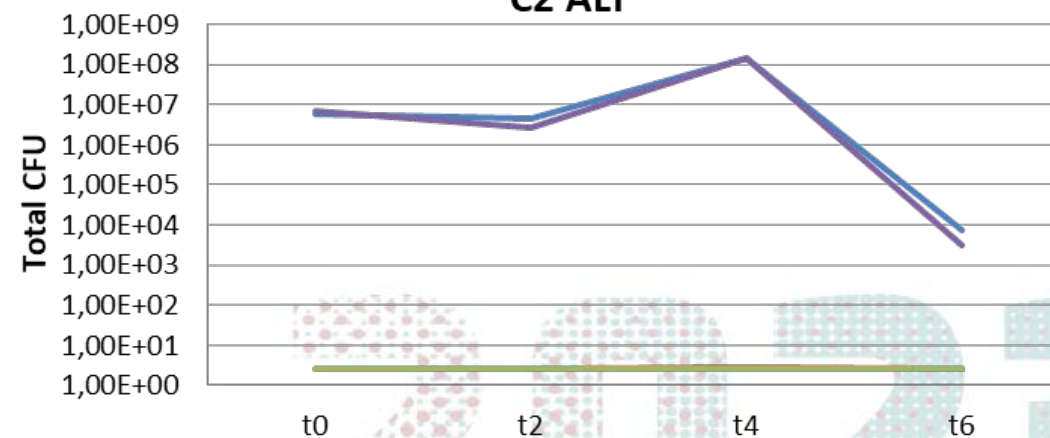
TL/TZ (2d) → IM (2d) → TL/TZ (2d)



C2-TOL/TAZ



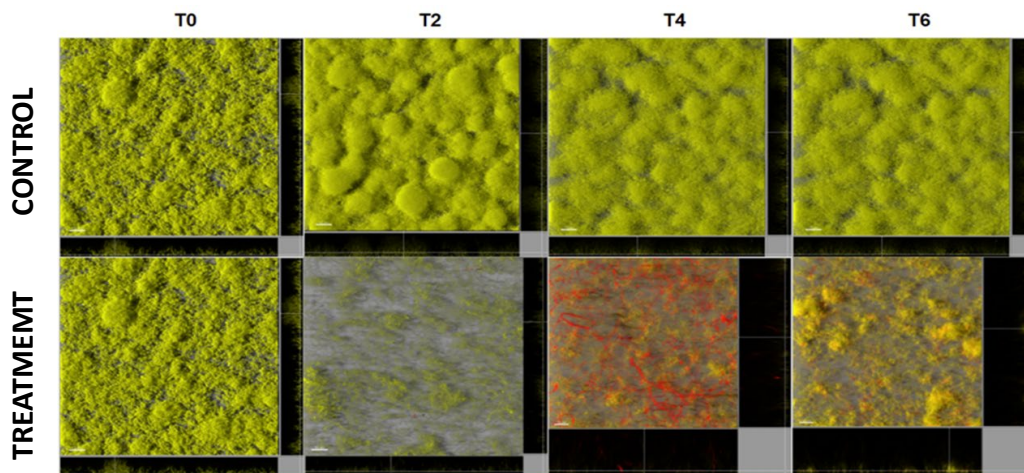
C2 ALT



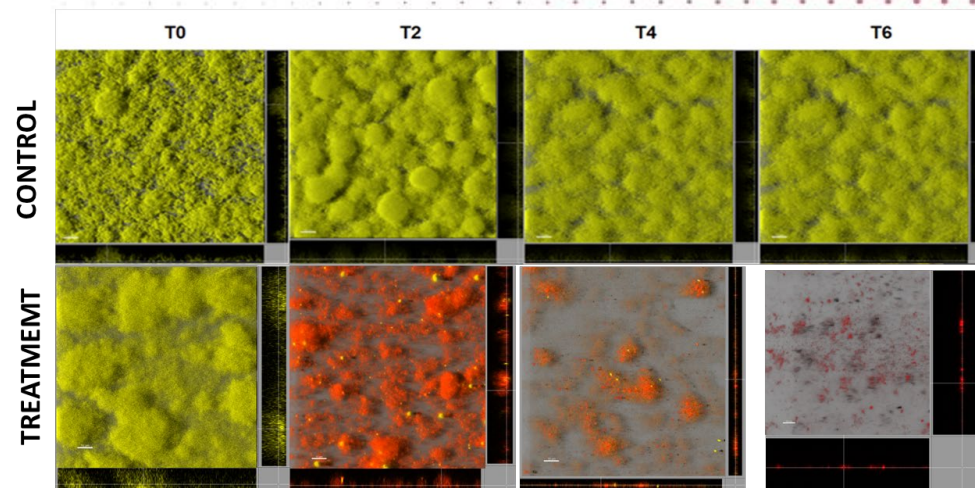
OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO

TERAPIA SECUENCIAL

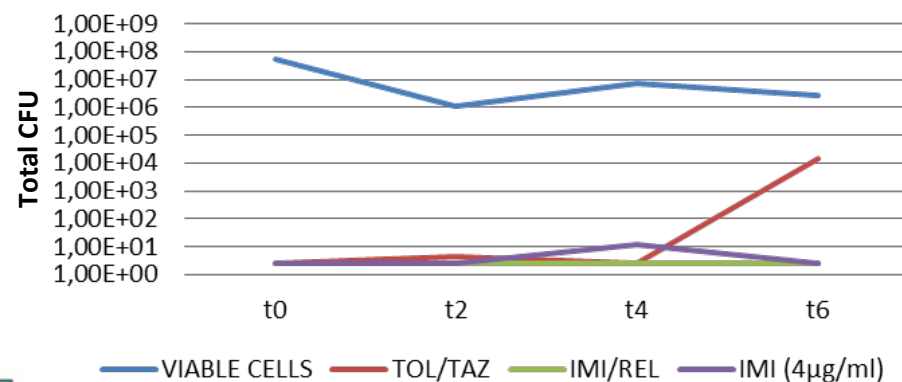
TL/TZ (6d)



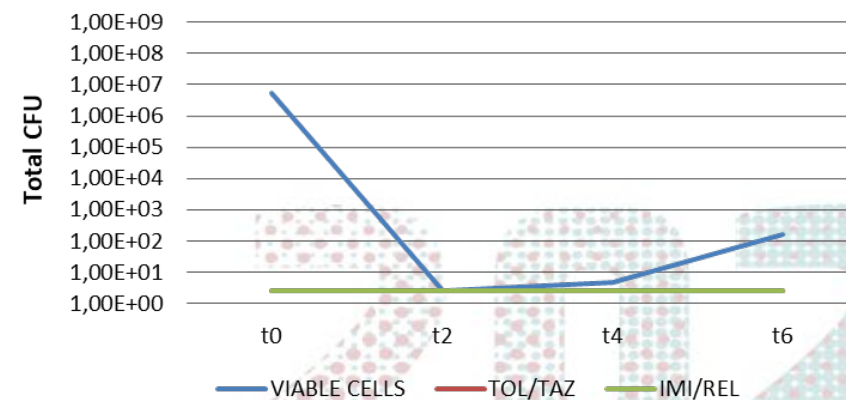
IM/RL (6d)



PAO1 DK-TOL/TAZ



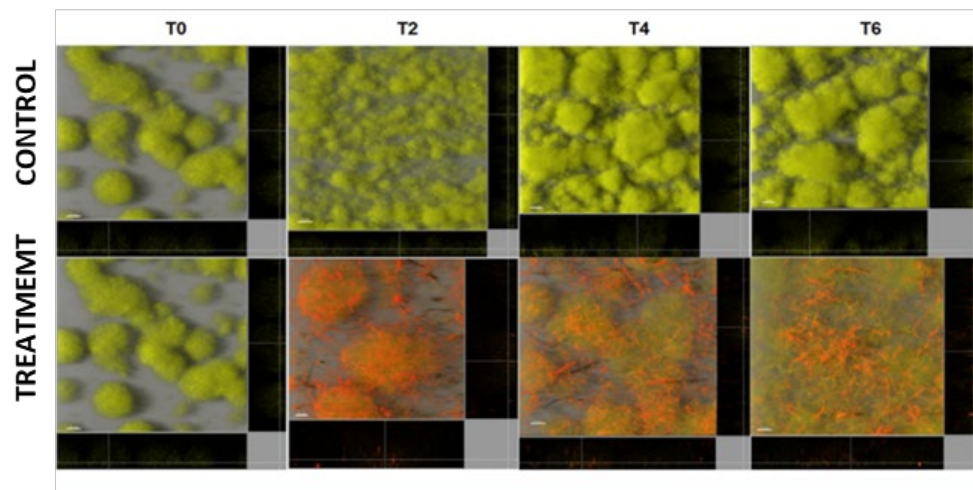
PAO1-DK-IM/REL



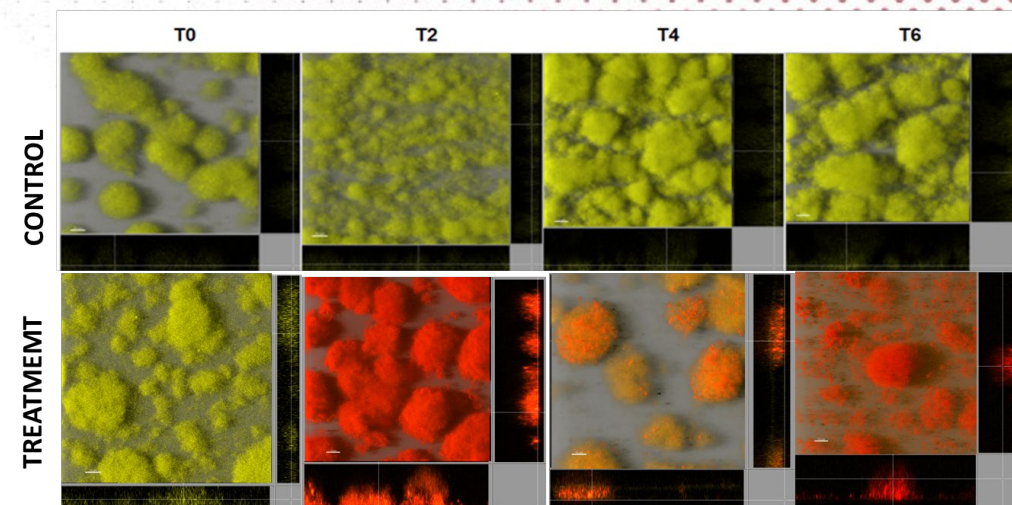
OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO

TERAPIA SECUENCIAL

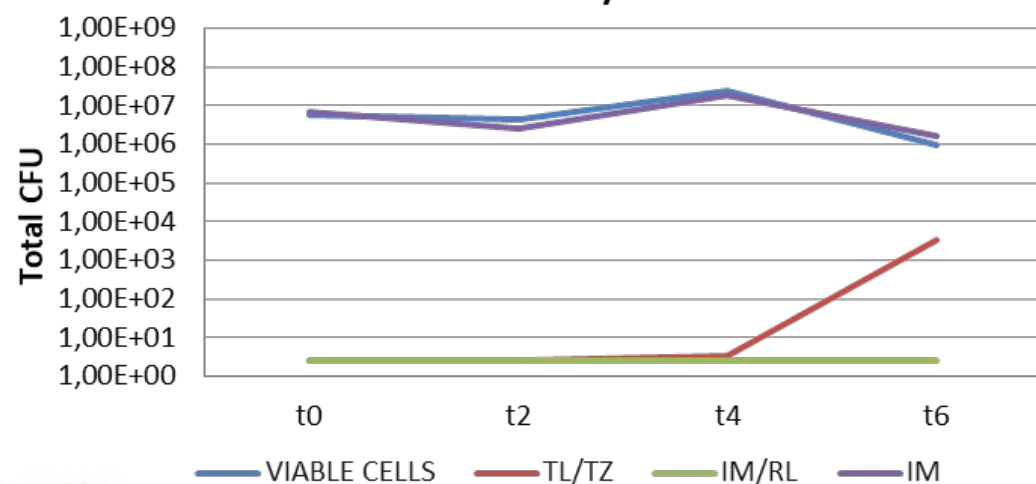
TL/TZ (6d)



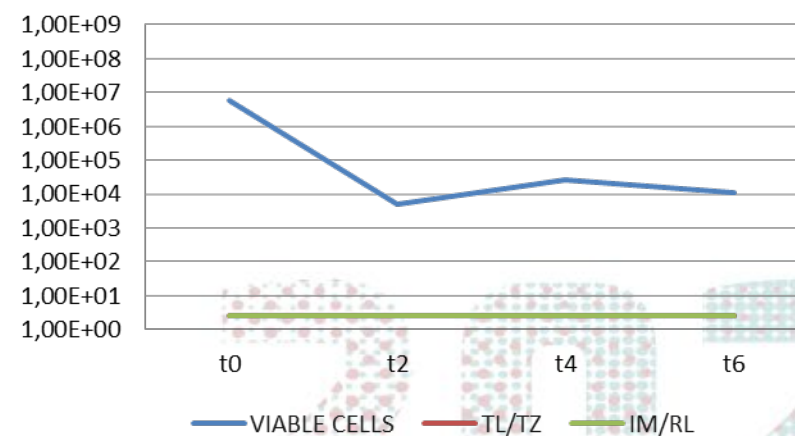
IM/RL (6d)



C2-TOL/TAZ



C2 IM/REL



OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO

TERAPIA SECUENCIAL

COMPETICIONES

Table 1. Antimicrobial susceptibility and resistance mechanisms of the five pairs of ceftolozane/tazobactam-susceptible/resistant *P. aeruginosa* clinical isolates studied

Patient	Isolate ID	Isolation date	Sample type	Treatment (period)	MLST	MIC (mg/L) ^a											β-Lactam resistance genotype	
						TIC (S ≤ 16)	TZP (S ≤ 16)	CAZ (S ≤ 8)	FEP (S ≤ 8)	TZC (S ≤ 4)	CAZ/AVI (S ≤ 8)	ATM (S ≤ 1)	IPM (S ≤ 4)	MEM (S ≤ 2)	TOB (S ≤ 4)	AMK (S ≤ 8)		CIP (S ≤ 0.5)
1	96-C4	18/07/16	bronchial aspirate	MEM, TZC, CAZ, AMK (16/07–04/08 discontinuous treatment)	ST179	>512	128	2	32	4	2	16	2	4	8	4	4	OXA-10
	96-H6	31/07/16	bronchial aspirate		ST179	>512	>256	>64	64	32	32	32	16	32	16	8	4	OXA-14, OprD W417X
2	101-E5	07/11/16	bronchial aspirate	TZC+CIP (04/12–14/12)	ST175	128	64	16	16	2	4	16	16	8	32	4	>16	OprD Q142X, AmpR G154R
	103-H8	14/12/16	bronchial aspirate		ST175	512	32	64	32	>32	>32	64	4	16	32	4	>16	OprD Q142X, AmpR G154R, AmpC E247K
3	C2 104-B7	16/12/16	urine	TZC (21/12–31/12)	ST175	128	64	16	16	2	4	16	16	8	32	4	>16	OprD Q142X, AmpR G154R
C1	104-I9	07/01/16	blood		ST175	256	16	>64	32	>32	32	16	4	4	32	4	>16	OprD Q142X, AmpR G154R, AmpC T96I
4	106-G2	03/02/17	bronchial aspirate	TZC+CST (07/02–22/02)	ST175	128	64	16	16	2	4	16	16	8	32	4	>16	OprD Q142X, AmpR G154R
	107-H1	20/02/17	bronchial aspirate		ST175	128	16	64	16	>32	16	16	4	4	32	4	>16	OprD Q142X, AmpR G154R, AmpC T96I
5	109-E9	27/03/17	sputum	TZC+CST (30/03–12/04)	ST175	128	64	32	16	2	4	16	16	8	32	4	>16	OprD Q142X, AmpR G154R
	110-G8	07/04/17	bronchial aspirate		ST175	256	16	64	16	32	32	16	2	4	32	4	>16	OprD Q142X, AmpR G154R, AmpC DelG229–E247

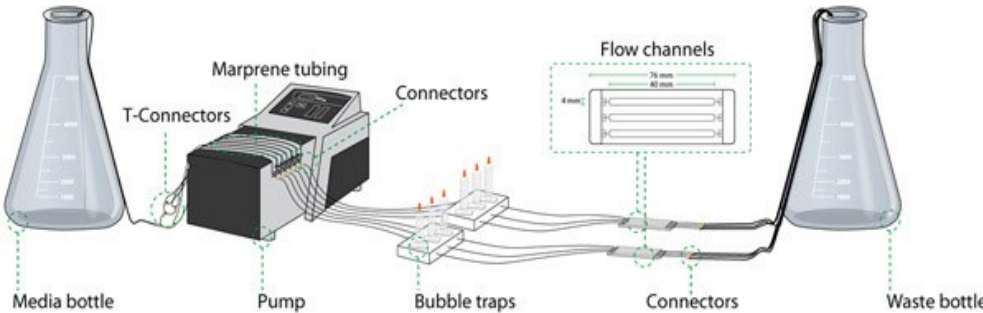
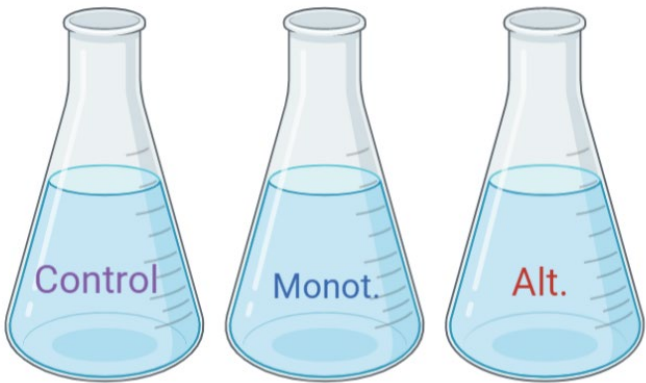
TIC, ticarcillin; TZP, piperacillin/tazobactam; CAZ, ceftazidime; FEP, cefepime; TZC, ceftolozane/tazobactam; CAZ/AVI, ceftazidime/avibactam; ATM, aztreonam; IPM, imipenem; MEM, meropenem; TOB, tobramycin; AMK, amikacin; CIP, ciprofloxacin; CST, colistin.

^aEUCAST breakpoints indicated.

Fraile-Ribot, PA. et al., (2020)

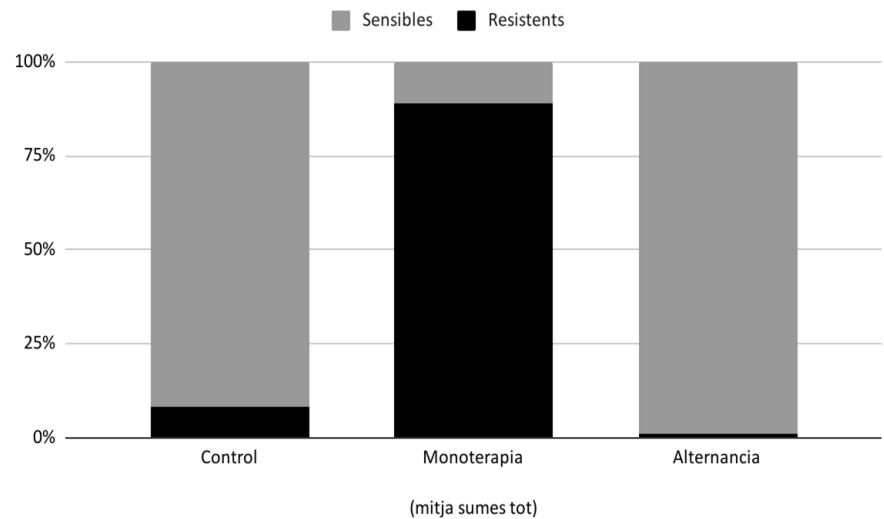
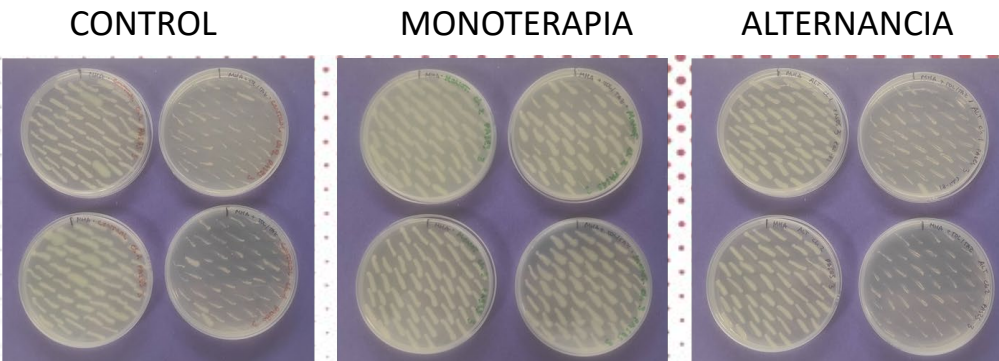
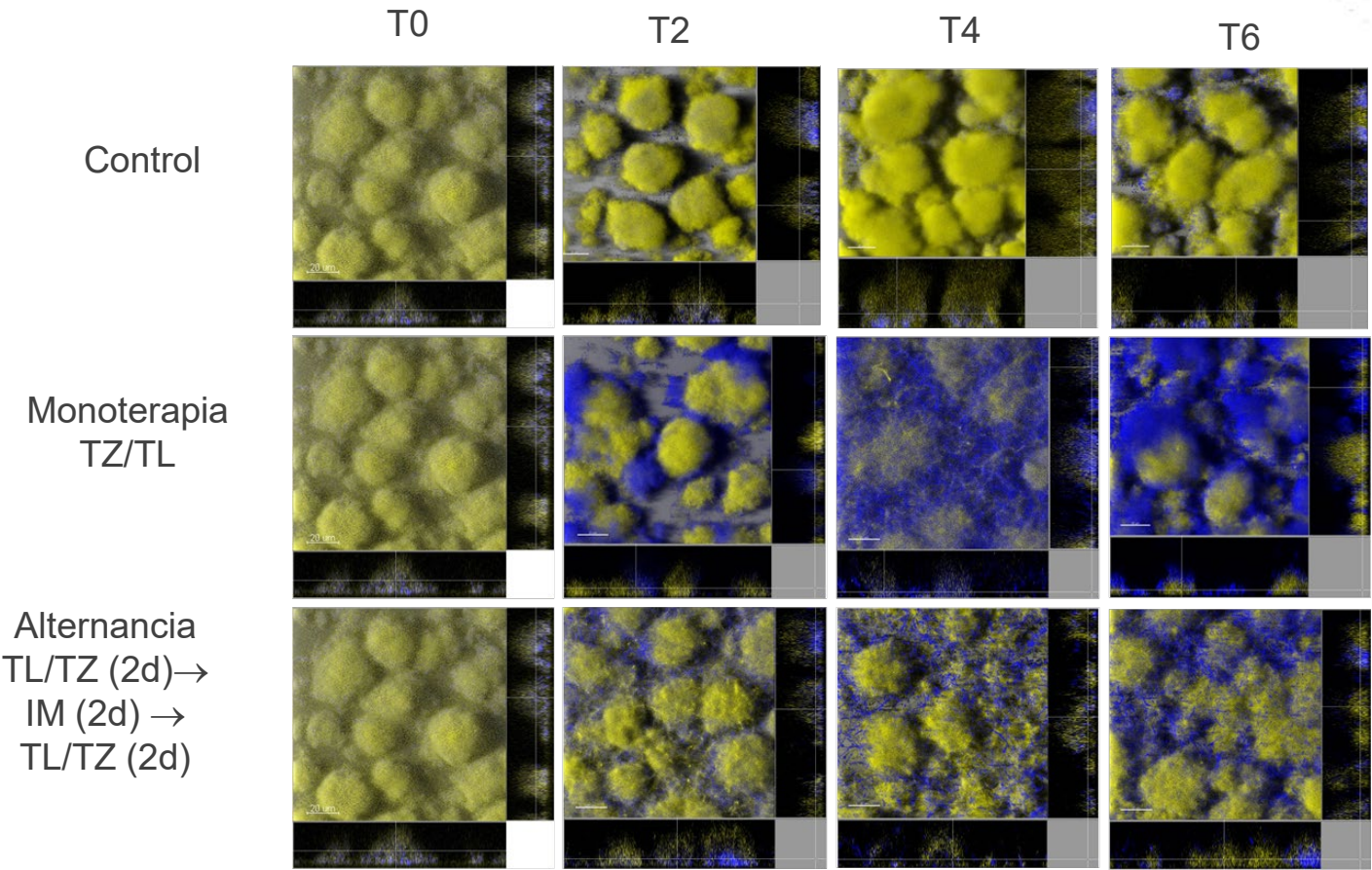
Proporción: C1 1: 100 C2

Marcaje: **C1-CFP** y **C2-YFP**



OPCIONES DE TRATAMIENTO ANTIBIÓTICO

Proporción: C1 1: 100 C2
Marcaje: C1-cfp y C2-yfp



	Resistentes	Sensibles
Control	8,4%	91,6%
Monoterapia	88,9%	11,1%
Alternancia	1%	99%

CONCLUSIONES

- TL/TZ en monoterapia **no erradica** las biopelículas de *P. aeruginosa* XDR
- TL/TZ en monoterapia conduce a la **selección y amplificación de mutantes resistentes**
- La **alternancia** de TL/TZ con IM **impide** el desarrollo de **mutantes resistentes** a TL/TZ
- IM/RL es muy **estable** frente a los mecanismos de resistencia **mutacionales** más relevantes a los betalactámicos de *P. aeruginosa*
- TL/TZ en alternancia con IM y IM/REL son tratamientos **eficaces** frente biopelículas de *P. aeruginosa* XDR
- **Ninguno** de los tratamientos consiguió **erradicar** los *biofilms* de *P. aeruginosa* XDR

CONCLUSIONES

- Nuevas estrategias terapéuticas, como las secuenciales, resultan prometedoras para evitar el desarrollo de resistencia a los antibióticos en los *biofilms* de *P. aeruginosa*
- El tratamiento de las infecciones relacionadas con biopelículas precisa siempre de estrategias combinadas y multifocales (erradicación muy difícil)
- Se necesitan más conocimientos:
 - **estrategias terapéuticas** que incluyan antibióticos nuevos (TL/TZ, IM/RL, cefiderocol) en combinación/alternancia con antiguos (COL/FOS) sobre biopelículas
 - evaluación **nuevos** antibióticos (cefepime/taniborbactam y cefepime/zidebactam) sobre biopelículas

GRACIAS POR LA ATENCIÓN



Servicio de Microbiología Clínica
Instituto de Investigación Sanitaria de les Illes Balears (IdISBa)
Hospital Universitario Son Espases (HUSE)



María Fernández-Billón



Elena Jordana-Lluch



Ainabet Llambias



Antonio Oliver

**Resistencia
antibiótica y
patogenia de las
infecciones
bacterianas**