

Pseudomonas aeruginosa:
tendencia de la sensibilidad y análisis
farmacocinético/farmacodinámico
como herramientas para evaluar la
actividad de los antimicrobianos

Ana Valero Telleria

Vitoria-Gasteiz 2020



Pseudomonas aeruginosa:
tendencia de la sensibilidad y análisis
farmacocinético/farmacodinámico
como herramientas para evaluar la
actividad de los antimicrobianos

Ana Valero Telleria

2020

AGRADECIMIENTOS

Tengo tantas cosas que agradecer que creo que las palabras se quedan cortas y no alcanzan a expresarlo. En más de una ocasión he pensado que no llegaría este momento, pero ha llegado.

En primer lugar, por ser los más importantes, quiero dar las gracias a mi familia, por creer siempre en mí a pesar de todo. A mi madre, sobre todo, por luchar contra viento y marea para que esté aquí hoy, por ser el pilar de todo. A mis hermanos, Berta y Miguel por aguantarme y animarme siempre a seguir. Por hacerme la vida más fácil cuando no lo ha sido. A mi madrina, mi tía, mis primos Isabel, Pablo y Telmo, amañe, por compartir tantos momentos.

A Marian Solinís, como no, por tu comprensión, tu ayuda, tus consejos, tus ánimos e incluso tus broncas, por el tiempo que has dedicado que ha sido incluso más que el mío y que decir de las palabras corregidas por el corrector, algún día nos reiremos de todo esto, ya queda menos para ese día. A Andrés Canut por poner siempre la nota de humor e ironía en todo, y por supuesto, tus conocimientos. Arantxa Isla y Alicia Rodríguez por vuestra paciencia, explicaciones e implicación en que todo salga adelante. Sin duda, no lo habría conseguido sin vosotros.

A Lu, que es mucho más que mi querida coR, el mundo necesita más personas como tú, que suerte la mía haberte encontrado, eres un ejemplo a seguir. Me siento afortunada por todas las cosas que hemos vivido juntas. A mis resis pequeñas, Marta y Anita, por todo lo que me enseñáis en cualquier ámbito de la vida. A mi R mayor, Emili, por ser tan desastre y tan bueno, por haberme enseñado tanto. A mi equipo, o equipazo, Vanesa, por ser y estar.

A Nuri, mi amiga, pero de verdad, en las buenas y en las malas, aunque sobre todo buenas. Gracias por estar siempre en todo, a pesar del tiempo y la distancia, esto es para siempre.

Paola, Martuki, por tantos años de amistad que resisten a los silencios, por interesarse por la tesis y atender a mis explicaciones, sobre todo tu Pao.

A mi familia catalana, Mercè y Llorenç, por hacer que me sienta en casa, aunque este lejos. Por haberme ayudado tanto al principio y seguir haciéndolo; por cuidarme y contar conmigo.

A María José, porque mientras aprendemos a perder, vamos ganando. Por tus locuras, planes, viajes ...más que una amiga, una hermana.

A Mari, por los desayunos de los jueves, pero sobre todo por las risas, consejos y charlas. Por poner siempre una sonrisa a pesar de las adversidades, eres un sol.

Ariadna e Idoia, mis flamenquitas. Lo que ha unido el FIR que no lo separe nadie, grabaditas a fuego.

Tania, por entender, escuchar y empujar para que todo sea más fácil aquí.

Se merecen una mención especial tanto el Servicio de microbiología del Hospital Universitario de Álava como el Grupo de estudio de *Pseudomonas* de GEMARA-SEIMC (Con Antonio Oliver a la cabeza) por todos los datos proporcionados, imprescindibles para este trabajo.

Por último, pero no menos importante, a los que ya no estáis, pero seguís conmigo. Al doctor Alfredo Vallo, te debo la vida.

GRACIAS (en mayúsculas).

“PROPÓSITO DEL VIAJE

Detente en todo

y que nada

te detenga.”

Miki Naranja-Miguel Herranz

GLOSARIO

CDC: Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades estadounidense

SEIMC: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

CE: Comisión Europea

ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control

EFSA: Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria

EMA: Agencia Europea de Medicamentos

JIACRA: Joint Inter-agency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis)

ATC: Clasificación anatómica, terapéutica y química

OMS: Organización Mundial de la Salud

PRAN: Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y difusión de la resistencia a los antimicrobianos

AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios

PROA: Programas de Optimización del uso de Antimicrobianos

IRAS: Infecciones relacionadas con la Asistencia Sanitaria

CC.AA.: Comunidades Autónomas

CNM: Centro Nacional de Microbiología

RENAVE: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

VAP: Neumonía asociada a ventilación

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

COESANT: Comité Español del Antibiógrama

EPINE: Estudio de Prevalencia de Infección Nosocomial en España

EPPS: European Point Prevalence Survey

GTEI-SEMICYUC: Grupo de Trabajo de Enfermedades Infecciosas de la Sociedad Española de

Medicina Intensiva y Unidades Coronarias

SMICYUC: Sociedad Española de Medicina Intensiva y Unidades Coronarias

ENVIN: Encuesta Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial

HELICS: Hospitals in Europe Link for Infection Control through Surveillance

MDR: Multirresistente

XDR: Extremadamente resistente

PDR: Panresistente

EARS-Net: Red europea de vigilancia de resistencia a los antimicrobianos

MBL: Metalobetalactamasas

BLEE: β -lactamasas de espectro extendido

AMG: Aminoglucósidos

FQ: Fibrosis quística

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

PK/PD: Farmacocinética/farmacodinámica

REIPI: Red Española de Investigación en Patología Infecciosa

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

%T_{>CMI}: Fracción del intervalo posológico con concentraciones que superan la CMI.

C_{max}: Concentración sérica máxima

AUC_{24h}: Área bajo la curva concentración plasmática-tiempo en 24h

EPA: Efecto post-antibiótico

PTA: Probability of Target Attainment

CFR: Cumulative Fraction of Response

CPM: Concentración Preventiva de Mutantes

VSM: Ventana de Selección de Mutantes

C_{min}: Concentración sérica mínima

GEMARA: Grupo de Estudio de los Mecanismos de Acción y Resistencia a los Antimicrobianos

ÍNDICE

Glosario	16
----------	----

I) INTRODUCCIÓN

1. Vigilancia epidemiológica de las resistencias a antimicrobianos	23
1.1. Relación resistencia-consumo	24
1.2. Plan Nacional frente a la resistencia a los antimicrobianos	29
1.2.1. Programas de optimización del uso de antimicrobianos (PROA)	30
1.2.2. Red de laboratorios de microbiología para la vigilancia de los microorganismos resistentes	31
1.2.3. Mejora del sistema de información sobre la resistencia a antimicrobianos	32
1.2.4. Implementación de recomendaciones y programas de prevención de Infecciones Relacionadas con la Asistencia Sanitaria (IRAS)	33
1.2.5. Implementación de pruebas de diagnóstico rápido en el punto de atención a pacientes	35
1.3. Informes de prevalencia de infección nosocomial en España	37
2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
2.1. Epidemiología	43
2.2. Tratamiento	46
2.3. Mecanismos de resistencia	49
2.3.1. Inactivación enzimática	52
2.3.1.1. β -lactamasas	53
2.3.1.2. Modificación enzimática de aminoglucósidos	54
2.3.2. Alteración de la permeabilidad	55

2.3.2.1.	Bombas de expulsión	55
2.3.2.2.	Porinas de membrana	56
2.3.3.	Otros mecanismos de resistencia	57
3.	Herramientas para la optimización de la terapia antimicrobiana	59
3.1.	Estudios de sensibilidad acumulada	59
3.2.	Análisis farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD)	65
II)	OBJETIVOS	76

III) DESARROLLO EXPERIMENTAL

Capítulo 1. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis as a tool for surveillance of the activity of antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in critically ill patients

Resumen		83
1.	Introduction	85
2.	Methods	88
2.1.	Microbiological data	88
2.2.	Pharmacokinetic data	90
2.3.	Theoretical pharmacokinetic/pharmacodynamics (PK/PD) analysis and Monte Carlo simulation	92
2.3.1.	Probability target attainment	93
2.3.2.	Cumulative fraction of response	95
2.4.	Statistical analysis	96
3.	Results	96
4.	Discussion	111

Capítulo 2. *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility and antimicrobial activity by PK/PD analysis: An 18-years surveillance study

Resumen		119
1.	Introduction	121
2.	Methods	124
2.1.	Microbiological data acquisition and calculation of susceptibility	124

2.2.	Pharmacokinetic data	126
2.3.	PK/PD analysis and Monte Carlo simulation	128
2.3.1.	Probability target attainment	129
2.3.2.	Cumulative fraction of response	131
2.4.	Statistical analysis	132
3.	Results	133
4.	Discussion	143
Capítulo 3. Integrating PK/PD analysis to evaluate the antimicrobial activity against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> infections based on Spanish Nationwide survey of susceptibility		
	Resumen	151
1.	Introduction	153
2.	Methods	153
2.1.	Antimicrobials and pharmacokinetic data	156
2.2.	Microbiological data	161
2.3.	PK/PD analysis and Monte Carlo simulation	163
2.3.1.	Probability target attainment	166
2.3.2.	Cumulative fraction of response	168
2.3.3.	Calculation of the joint probability of PK/PD target attainment	169
3.	Results	170
4.	Discussion	183
IV)	DISCUSIÓN	190
V)	CONCLUSIONES	202
VI)	BIBLIOGRAFIA	207

I) INTRODUCCIÓN



1. VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LAS RESISTENCIAS A ANTIMICROBIANOS

El desarrollo de resistencia a los antimicrobianos es considerado en la actualidad como uno de los mayores problemas de salud pública, que compromete la prevención y el tratamiento de un número cada vez mayor de infecciones bacterianas. Las personas que contraen infecciones causadas por bacterias resistentes tienen peor pronóstico y mayor mortalidad que aquellas con infecciones causadas por bacterias sensibles¹. El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades estadounidense (CDC) estima que más de 2 millones de personas sufren cada año una infección causada por bacterias resistentes a los antimicrobianos, y se estima que, de estas, 23.000 fallecerán². En el caso de Europa, se calcula que el número de muertes por infecciones provocadas por bacterias resistentes es de 33.000 al año³. En España, la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), estimó que la mortalidad de pacientes con infecciones por bacterias multirresistentes en España es 30 veces superior a la de los accidentes de tráfico⁴.

¹ Informe anual PRAN (Plan Nacional Frente a la Resistencia a los antimicrobianos) 2016-2018. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. (Consultado 19/9/2019). Disponible en: <http://www.resistenciaantibioticos.es/es/publicaciones/informe-anual-2016-2017-plan-nacional-frente-resistencia-antibioticos>

² Pourmand A, Mazer-Amirhashi M, Jasani G, May L. Emerging trends in antibiotic resistance: Implications for emergency medicine. *Am J Emerg Med.* 2017;35:1172-1176.

³ European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Antibiotic resistance-an increasing threat to human health. Estocolmo; 2018. (Consultado 19/9/2019). Disponible en: <https://antibiotic.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antibiotic-resistance-increasing-threat-human-health>

⁴ Registro hospitalario de pacientes afectados por las resistencias bacterianas. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica (SEIMC). Madrid 2018. (Consultado 07/11/2019). Disponible en: https://seimc.org/contenidos/noticias/2018/seimc-Registro_de_Pacientes_BMR.pdf

1.1. Relación resistencia-consumo

En 1997, Stuart Levy⁵ acuñó el término “densidad de selección” con el fin de medir, en términos evolutivos, la cantidad de antimicrobianos utilizada por individuo y por área geográfica, para comparar la presión de selección a la que se ve sometida la microbiota de las personas ingresadas en las diferentes áreas hospitalarias⁶.

El uso de antimicrobianos es uno de los factores de riesgo que se asocia con mayor frecuencia al aumento de la resistencia bacteriana. En el estudio llevado a cabo por Maortua et al.⁷, se realizó un análisis del consumo de antimicrobianos en un hospital general durante un periodo de 13 años, relacionándolo con la resistencia a un amplio número de antimicrobianos. Los autores realizaron tanto un análisis de relaciones simples (consumo y resistencia al mismo antimicrobiano), como de relaciones múltiples (consumo y resistencia a otros antimicrobianos), lo que permitió analizar los posibles fenómenos de co-selección o “efectos colaterales” ejercidos por un antimicrobiano determinado sobre la emergencia y el desarrollo de resistencia a otros antimicrobianos. Este estudio concluyó que el aumento de consumo de determinados antimicrobianos repercute de manera negativa no solo sobre el desarrollo de resistencias a ese fármaco, sino también sobre la sensibilidad a otros antimicrobianos, produciendo una disminución de la misma. Los estudios realizados mediante análisis multivariante en el ámbito hospitalario⁸, muestran que el incremento del consumo de determinados antimicrobianos o de

⁵ Levy SB. Antibiotic resistance: An ecological imbalance. *Ciba Found Symp.* 1997;207:1–9.

⁶ Cantón R, Cobo J. Consumo de antimicrobianos y resistencia en el hospital: una relación difícil de medir y compleja de interpretar. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009;27:437-440.

⁷ Maortua H, Canut A, Ibañez B, Martínez D, De Domingo M-J, Labora A. Relación entre la Resistencia bacteriana intrahospitalaria y el consumo de antimicrobianos durante un periodo de 13 años. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009; 27: 441-448.

⁸ Polk RE, Johnson CK, McClish D, Wenzel RP, Edmond MB. Predicting hospital rates of fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from fluoroquinolone use in US hospitals and their surrounding communities. *Clin Infect Dis.* 2004;39:497–503.

familias de antimicrobianos es un factor de riesgo independiente, que se asocia al incremento en la incidencia de resistencias.

En el medio extrahospitalario, un metanálisis⁹ reveló una asociación positiva entre la resistencia bacteriana y el consumo de antimicrobianos en la comunidad, asociándose el aumento del consumo con mayor resistencia y, la disminución del mismo con una caída de la misma, concluyendo que el aumento del consumo de antimicrobianos, además de producir una mayor resistencia a nivel individual, también puede incrementar la resistencia a nivel comunitario.

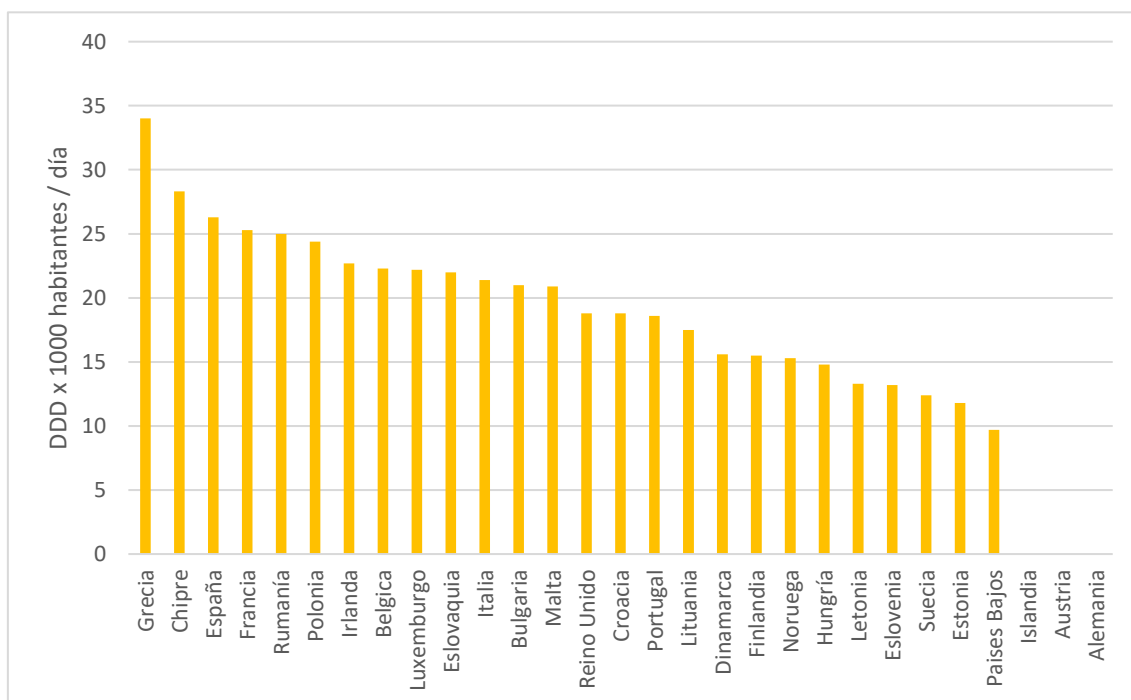
En este sentido, en el año 2015, por requerimiento de la Comisión Europea (CE), el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC), la Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria (EFSA) y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) publicaron el primer informe JIACRA¹⁰ (Joint Inter-agency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis), que incluyó por primera vez un análisis integrado de las posibles relaciones entre el consumo de antimicrobianos y la aparición de resistencia en bacterias patógenas en los ámbitos de salud humana y sanidad animal. El objetivo de este informe fue contribuir al conocimiento de la resistencia a los antimicrobianos. Atendiendo a este objetivo, en el año 2018 se publicó el informe JIACRA España¹¹, que apuntó hacia la relación positiva entre la cantidad de antimicrobianos usados (expresada como Dosis Diaria Definida por 1000 habitantes y por día) en personas y animales y el desarrollo de resistencia en las bacterias aisladas en ambos grupos.

⁹ Bell BG, Schellevis F, Stobberingh E, Goossens H, Pringle M. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infect Dis.* 2014;9:4-13.

¹⁰ ECDC/EFSA/EMA first joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals – Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis (JIACRA) Report. Stockholm/Parma/London: ECDC/EFSA/EMA, 2015. *EFSA Journal* 2015;13(1):4006, 114. (Consultado 2/9/2019). Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2015/01/WC500181485.pdf

¹¹ Informe JIACRA España. Primer análisis integrado del consumo de antimicrobianos y su relación con la aparición de resistencias. Informe 2018. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: http://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/informe_jiacra-espana.pdf?file=1&type=node&id=410&force=0

España se encuentra entre los países de Europa con mayor consumo global de antimicrobianos¹², tanto a nivel comunitario como hospitalario. La Figura 1 muestra el consumo de antimicrobianos atendiendo a la clasificación ATC (Sistema de clasificación anatómica, terapéutica y química) de los diferentes países europeos durante el año 2018, en la que se observa que España ocupa el tercer lugar solo por detrás de Grecia y Chipre.



DDD: Dosis Diaria Definida

Figura 1. Consumo total de antimicrobianos para uso sistémico (clasificación ATC grupo J01) en diferentes países de Europa, durante el año 2018¹².

La Figura 2 recoge la distribución del consumo de antimicrobianos atendiendo a la clasificación ATC en España durante el año 2018, dentro del grupo J01 (antimicrobianos para

¹² European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. Stockholm: ECDC; 2018. (Consultado 3/12/2019). Disponible en: <https://ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-consumption/database/rates-country>

uso sistémico) el que presenta un mayor consumo es el grupo otros antibacterianos β -lactámicos¹³.

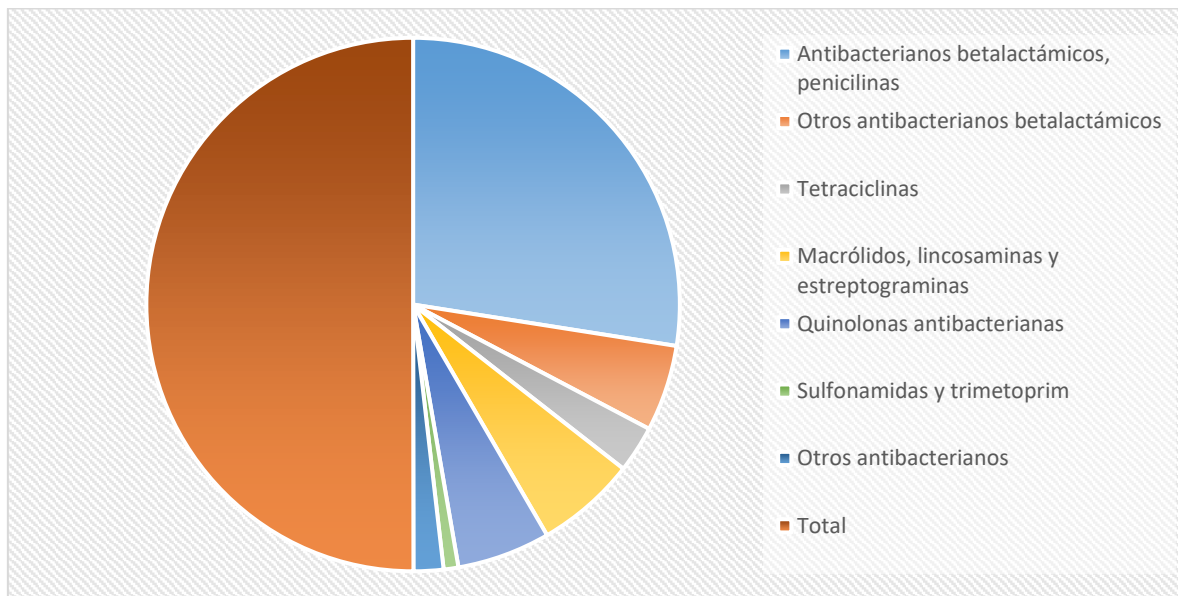


Figura 2. Distribución consumo antimicrobianos por grupo J01 (antimicrobianos para uso sistémico) según la clasificación ATC en España, año 2018¹³.

En este contexto, la Asamblea Mundial de la Salud, órgano decisorio supremo de la Organización Mundial de la Salud (OMS), adoptó un plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos en su 68ª asamblea celebrada en Ginebra en mayo de 2015¹⁴, en el que se establecían cinco objetivos, que se recogen a continuación:

- 1) Mejorar la concienciación y la comprensión con respecto a la resistencia a los antimicrobianos a través de una comunicación, educación y formación efectivas.
- 2) Reforzar los conocimientos y la base científica a través de la vigilancia y la investigación.

¹³ European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. Stockholm: ECDC; 2018. (Consultado 20/01/2020). Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-consumption/database/country-overview>

¹⁴ World Health Organisation (WHO). Global action plan on antimicrobial resistance. Geneva:WHO;2015. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: https://www.wpro.who.int/entity/drug_resistance/resources/global_action_plan_eng.pdf

- 3) Reducir la incidencia de las infecciones con medidas eficaces de saneamiento, higiene y prevención de las infecciones.
- 4) Utilizar de forma óptima los medicamentos antimicrobianos en la salud humana y animal.
- 5) Preparar argumentos económicos a favor de una inversión sostenible que tenga en cuenta las necesidades de todos los países, y aumentar la inversión en nuevos medicamentos, medios de diagnóstico, vacunas y otras intervenciones.

Este plan de acción destaca la necesidad de un enfoque global basado en el concepto de “Una Sola Salud” (One Health) contra la resistencia a los antimicrobianos que engloba la salud humana, animal y del medio ambiente.

El objetivo principal del plan de acción global es garantizar, durante el mayor tiempo posible, el tratamiento y la prevención de enfermedades infecciosas, con medicamentos de calidad garantizada, seguros y eficaces, que se utilicen de manera responsable y sean accesibles para toda la población diana. Asimismo, teniendo en cuenta que la resistencia a los antimicrobianos es un problema de salud pública a nivel mundial, se espera que cada país desarrolle sus propios planes de acción nacional sobre resistencia a los antimicrobianos, en línea con el plan global¹⁴.

1.2. Plan Nacional frente a la resistencia a los antimicrobianos

El Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social de España promovió un Plan Estratégico y de Acción para Reducir el Riesgo de Selección y Difusión de la Resistencia a los Antimicrobianos (PRAN) 2014-2018¹⁵, coordinado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). El Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud en 2019 lo renovó para el periodo 2019-2021¹⁶ con el objetivo de dar continuidad al trabajo desarrollado en el primer periodo pero también con nuevas líneas de trabajo. El objetivo fundamental de esta estrategia, puesta en marcha en coordinación colaboración con otras organizaciones, como la Organización de Naciones Unidas, y la Organización Mundial de la Salud, consiste en reducir el riesgo de selección y diseminación de resistencias a los antimicrobianos.

Para alcanzar el objetivo del PRAN¹⁶⁵ se proponen siete áreas prioritarias comunes para salud humana y animal:

- 1) Vigilancia del consumo de antimicrobianos y el desarrollo de resistencias.
- 2) Control de dicha resistencia.
- 3) Prevención del uso de antimicrobianos.
- 4) Investigación sobre nuevos antimicrobianos y bacterias resistentes.
- 5) Formación.
- 6) Comunicación y sensibilización de la población sobre los beneficios individuales y colectivos del uso racional de los antimicrobianos, e informar sobre el riesgo de resistencias bacterianas para fomentar un uso prudente.

¹⁵ Plan Nacional Frente a la Resistencia a los antimicrobianos. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Plan 2014-2018. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: http://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/plan_estrategico_antimicrobianos_para_envio_2mb.pdf?file=1&type=node&id=315&force=0

¹⁶ Plan Nacional Frente a la Resistencia a los antimicrobianos. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Plan 2019-2021. (Consultado 19/9/2019). Disponible en: http://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/pran_2019-2021_0.pdf?file=1&type=node&id=497&force=0

- 7) Medioambiente (novedad PRAN 2019-2021 para profundizar en el conocimiento del papel del medioambiente en la producción y transferencia de resistencias).

Cada una de las líneas estratégicas se ha subdividido en medidas, y estas medidas en acciones concretas (diferentes para salud humana y animal).

En el ámbito de la salud humana, las prioridades serán:

- 1) Implementación de los Programas de Optimización del uso de Antimicrobianos (PROA).
- 2) Integración de los laboratorios de referencia como apoyo al Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones relacionadas con la Asistencia Sanitaria (IRAS) y al PRAN.
- 3) Mejora del sistema de información sobre la resistencia a antimicrobianos.
- 4) Implementación de Recomendaciones y Programas de prevención de IRAS.
- 5) Implementación de pruebas de diagnóstico rápido en el punto de atención al paciente y la formación de los profesionales sanitarios de la salud humana.

1.2.1. Programas de optimización del uso de antimicrobianos (PROA)

La implementación del PROA es una iniciativa encaminada a evitar el uso inapropiado de los antimicrobianos, principal causa de la aparición y desarrollo de resistencias¹⁷. Para ello se deben crear equipos multidisciplinares cuya misión es planificar, ejecutar y verificar acciones encaminadas a mejorar el uso de antimicrobianos en un hospital. Estas acciones se deben diseñar con la intención fundamental de facilitar la toma de decisiones de los y las profesionales implicadas en el uso de antimicrobianos con los siguientes objetivos, ordenados de mayor a menor importancia:

¹⁷ Álvarez-Lerma F, Grau S, Echeverría-Esnal D, Martínez-Alonso M, Gracia-Arnillas MP, Horcajada JP, Masclans JR. A Before-and-After Study of the Effectiveness of an Antimicrobial Stewardship Program in Critical Care. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62:e01825-17

- 1) Mejorar los resultados clínicos de pacientes con infecciones.
- 2) Minimizar los efectos adversos asociados con el uso de antimicrobianos (incluida la aparición y diseminación de la resistencia).
- 3) Garantizar el uso de tratamientos coste-efectivos¹⁸.

En España, el 72% de los hospitales desarrolla alguna iniciativa para la optimización del uso de los antimicrobianos, en el 40% de los casos, estas iniciativas están reconocidas como actividades PROA del hospital¹⁵.

1.2.2. Red de laboratorios de microbiología para la vigilancia de los microorganismos resistentes

La red de laboratorios de microbiología, con diferentes niveles de complejidad, permite el acceso al diagnóstico y estudio de las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria (IRAS) en todo el territorio español. Esta red es de suma importancia para mejorar la rapidez y precisión en el diagnóstico de la resistencia a los antimicrobianos, lo que posibilita realizar un tratamiento precoz, así como una mejor vigilancia, y como consecuencia, la puesta en marcha de medidas de control eficaces¹⁹. La realización de actuaciones de salud pública eficaces, tanto preventivas como reactivas, requiere que los laboratorios se encuentren eficientemente conectados a todos los niveles (regional, nacional, europeo y global).

La definición de los niveles de complejidad de la red de laboratorios de microbiología, para la vigilancia de los microorganismos resistentes, fue elaborada de forma conjunta entre la

¹⁸ Rodríguez-Baño J, Paño-Pardo JR, Alvarez-Rocha L, Asensio A, Calbo E, Cercenado E, Cisneros JM, Cobo J, Delgado O, Garnacho-Montero J, Grau S, Horcajada JP, Hornero A, Murillas-Angoiti J, Oliver A, Padilla B, Pasqua J, Pujol M, Ruiz-Garbajosa P, San Juan R, Sierra R. Programas de optimización de uso de antimicrobianos (PROA) en hospitales españoles: documento de consenso GEIH-SEIMC, SEFH y SEMPSPH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30:22 e1–22.e23

¹⁹ Red de laboratorios para la vigilancia de los microorganismos resistentes. Ministerio de Salud, Consumo y Bienestar Social. Aprobado por la Comisión de Salud Pública el día 14 noviembre de 2018.

administración central y las comunidades autónomas (CC.AA.). Esta red se establece en tres niveles. El nivel 1 es el nivel básico con capacidad para detectar los microorganismos resistentes. El nivel 2 lo constituyen los laboratorios de apoyo con capacidad para llevar a cabo todos los requerimientos diagnósticos que figuran en los protocolos de vigilancia, incluida la caracterización molecular. Por último, el nivel 3 lo constituirá el Centro Nacional de Microbiología (CNM), que ejercerá funciones de referencia para los laboratorios de nivel 2 y para los laboratorios de microbiología de las CC.AA. que no tengan designado ningún laboratorio de apoyo.

1.2.3. Mejora del sistema de información sobre la resistencia a antimicrobianos

Conocer y estratificar la prevalencia y evolución de las resistencias a nivel local resulta imprescindible para llevar a cabo la adecuación del tratamiento antimicrobiano empírico. La vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos permite detectar rápidamente los microorganismos resistentes que pueden tener trascendencia para la salud pública, permitiendo, además, notificar e investigar los brotes de infecciones por bacterias resistentes de forma más eficiente. El conocimiento actualizado y estratificado de la prevalencia y la evolución de la resistencia a los antimicrobianos es indispensable para fundamentar las decisiones terapéuticas, orientar las recomendaciones de política antibiótica y evaluar el impacto de las intervenciones destinadas a contener la resistencia¹.

1.2.4. Implementación de recomendaciones y programas de prevención de Infecciones relacionadas con la Asistencia Sanitaria (IRAS)

Las enfermedades relacionadas con la asistencia sanitaria IRAS, frecuentes en el medio sanitario y, especialmente, en el ámbito hospitalario, constituyen un importante problema de salud pública, tanto por la elevada morbimortalidad que ocasionan como por el coste económico que representan. La detección precoz de un brote de IRAS es crucial para su control y eliminación. En este sentido, cada centro debería tener un programa de vigilancia, prevención y control adecuado a sus características, que permita la rápida identificación del brote, la investigación de la fuente y de los factores contribuyentes y la adopción precoz de las medidas de control más adecuadas²⁰.

La Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial aprobó en julio de 2015 la creación de un Sistema Nacional de Vigilancia de las IRAS¹⁵. El objetivo era desarrollar un sistema de vigilancia nacional con información homogénea y sistemática, recogida de forma estandarizada, para conocer y comparar la incidencia y la prevalencia autonómica y nacional de las IRAS y promover la prevención y control de estas infecciones. El sistema está coordinado por la Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación del Ministerio de Sanidad Consumo y Bienestar Social e integrado en la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE). Incorpora en una primera fase de implementación cinco módulos de vigilancia: infecciones por microorganismos multirresistentes o de especial relevancia clínico-epidemiológica; infección de herida quirúrgica; IRAS en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI); brotes epidémicos hospitalarios y estudio de prevalencia de las IRAS; y uso de antibióticos en los hospitales. La

²⁰ Protocolo de vigilancia de Brotes. Grupo de trabajo SMPH-DGSP de vigilancia de IRAS. Madrid 2018. (Consultado 07/11/2019). Disponible en: http://www.comunidad.madrid/sites/default/files/doc/sanidad/epid/protocolo_vigilancia_de_brotes_de_iras._comunidad_de_madrid_mayo_2018.pdf.

vigilancia de estas infecciones es de carácter obligatorio y se acordó su puesta en marcha en enero de 2018.

Entre las diferentes iniciativas implementadas para la prevención de las IRAS cabe destacar los planes llevados a cabo en los servicios de medicina intensiva “Tolerancia Zero” y “Bacteriemia Zero”. Los proyectos “Tolerancia Zero” en infecciones adquiridas en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) se iniciaron en el año 2008 con el diseño y aplicación del proyecto “Bacteriemia Zero”²¹ al que siguió en los años 2011-2012 el “Zero-VAP”²². Estos dos últimos proyectos consisten en la implantación de medidas para prevenir la bacteriemia relacionada con el catéter venoso central y estrategias de prevención de neumonía asociada a la ventilación, respectivamente. Ambos proyectos han permitido disminuir las tasas nacionales de las bacteriemias relacionadas con catéteres venosos centrales y de las neumonías relacionadas con ventilación mecánica en más del 50% de sus tasas iniciales de referencia^{21,23}. Esta disminución se ha mantenido en los años siguientes una vez finalizada la implantación de cada uno de los proyectos. Estos programas continúan a día de hoy con nuevos objetivos que incluyen: “Resistencia Zero”²⁴ para la prevención del desarrollo de bacterias multirresistentes, siendo el objetivo específico disminuir en más del 20% la tasa de pacientes ingresados en UCI

²¹ Palomar M, Álvarez-Lerma F, Riera A, Díaz MT, Torres F, Agra Y, Larizgoitia I, Goeschel CA, Pronovost PJ. Bacteremia Zero Working Group. Impact of a national multimodal intervention to prevent catheter-related bloodstream infection in the ICU: the Spanish experience. *Crit Care Med* 2017;41:2364-72.

²² Álvarez Lerma F, Sánchez García M, Lorente L, Gordo F, Añón JM, Álvarez J, Palomar M, García R, Arias S, Vázquez-Calatayud M, Jam R. Sociedad Española de Medicina Intensiva; Sociedad Española de Enfermería Intensiva. Guidelines for the prevention of ventilator-associated pneumonia and their implementation. The Spanish “Zero-VAP” bundle. *Med Intensiva* 2014;38:226-36

²³ Álvarez Lerma F, Palomar-Martínez M, Sánchez-García M, Martínez-Alonso M, Álvarez-Rodríguez J, Lorente L, Arias-Rivera S, García R, Gordo F, Añón JM, Jam-Gatell R, Vázquez-Calatayud M, Agra Y. Prevention of Ventilator-Associated Pneumonia: The multimodal approach of the Spanish ICU “Pneumonia Zero” Program. *Crit Care Med*. 2018;46:181-188.

²⁴ Proyecto Resistencia Zero 2014-2015. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Seguridad del paciente. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: <https://www.seguridaddelpaciente.es/es/proyectos/financiacion-estudios/proyecto-resistencia-zero/>

en los que se identifica una bacteria multirresistente (BMR), e “ITU Zero”²⁵ que persigue la prevención de la infección urinaria relacionada con sonda.

1.2.5. Implementación de pruebas de diagnóstico rápido en el punto de atención a pacientes

El objetivo de esta actuación es promover el uso de pruebas de diagnóstico rápido para intentar disminuir la antibioterapia empírica y conseguir una antibioterapia dirigida¹⁶⁵.

Las acciones para alcanzar este objetivo son las siguientes:

- 1) Promover el uso racional de pruebas de diagnóstico microbiológico.
- 2) Promover el uso racional de pruebas de diagnóstico rápido.
- 3) Evaluar la efectividad y coste-efectividad de las pruebas de diagnóstico rápido existentes para su inclusión en la cartera de servicios del Sistema Nacional de Salud.
- 4) Adaptar los sistemas de prescripción ligados al resultado de las pruebas de diagnóstico rápido para determinadas patologías.

Un aspecto importante en las pruebas de diagnóstico microbiológico es conseguir una estandarización de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos (antibiograma) según la normativa del comité de estandarización europeo EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Hasta hace pocos años la mayor de laboratorios españoles se guiaba por la normativa del comité norteamericano (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI). En España, la SEIMC, siguiendo las recomendaciones de EUCAST, creó en 2012 el Comité Español del Antibiograma (COESANT)²⁶ con la finalidad de promover la

²⁵ Proyecto ITU-zero 2018-2020. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Seguridad del paciente. (Consultado 19/9/2019). Disponible en: <https://www.seguridaddelpaciente.es/resources/documentos/2018/04/itu-zero/definitivo/PROYECTO-ITU-ZERO-2018-2020.pdf>

²⁶ Comité Español del Antibiograma 2013. (Consultado 22/10/2019). Disponible en: <http://coesant-seimc.org/>

utilización de los criterios de EUCAST en la práctica clínica y colaborar con dicho comité en el desarrollo de normativas.

Por último, sería deseable disponer de antibiogramas rápidos en menos de 8 horas, a partir de muestras con crecimiento bacteriano viable (hemocultivos, líquidos orgánicos, etc.) de pacientes graves y/o críticos. En la actualidad, los antibiogramas se incuban 18 horas a partir del crecimiento en las muestras clínicas. Para la consecución de este objetivo se deben aunar esfuerzos tanto organizativos (laboratorios de microbiología con disponibilidad 24 horas) como de investigación y desarrollo (industria de suministros de productos de diagnóstico)²⁷.

²⁷ March-Rosselló GA. Rapid methods for detection of bacterial resistance to antibiotics. *Enferm infecc Microbiol Clin.* 2017;35:182-188

1.3. Informes de prevalencia de infección nosocomial en España

En España, desde el año 1990 se desarrolla un proyecto de vigilancia epidemiológico de las infecciones nosocomiales conocido como EPINE²⁸ (Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España). Este proyecto está promovido por la Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene y en él participan numerosos centros de todo el territorio español. Su metodología garantiza una recogida de la información homogénea y sistemática, que permite conocer la prevalencia de las IRAS a nivel nacional, por CC.AA. y hospitales. Los principales objetivos del estudio son: el conocimiento de la carga de la enfermedad producida por las IRAS, el uso de los antimicrobianos y de la frecuencia de las resistencias a los antimicrobianos, en pacientes hospitalizados. En el año 2012, coincidiendo con el primer estudio de prevalencia de IRAS de ámbito europeo EPPS²⁹ (European Point Prevalence Survey) impulsado por el ECDC, el protocolo de estudio de EPINE se adaptó al estudio Europeo, integrándose los protocolos EPINE-EPPS. La finalidad del protocolo era desarrollar un estudio de ámbito europeo para que cada país, mediante su utilización concurrente, pudiera conocer de forma eficiente la carga de las infecciones nosocomiales en su entorno, y para que en lo sucesivo lo utilice en los estudios de prevalencia que pudiera desarrollar. Es decir, proporcionar una metodología estandarizada para los hospitales de los Estados miembros sobre la prevención y el control de infecciones asociadas a la asistencia sanitaria.

²⁸ Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España. Sociedad Española de Medicina Preventiva e Higiene. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: <http://hws.vhebron.net/epine/>

²⁹ European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. Stockholm: ECDC; 2016. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/PPS-HAI-antimicrobial-use-EU-acute-care-hospitals-V5-3.pdf>

Los datos del EPINE-EPPS 2018³⁰ indican un 7,97% prevalencia infección nosocomial en los hospitales españoles participantes en el estudio. La tabla 1 recoge las características de las infecciones nosocomiales según su origen.

Tabla 1. Características de las infecciones nosocomiales diferenciadas entre las adquiridas en el ingreso y las importadas o existentes al ingreso, según los datos del EPINE-EPPS 2018³⁰.

Origen de las infecciones nosocomiales	Nº infecciones	Prevalencia de infecciones (%)
Infecciones nosocomiales	4818	7,97
Infecciones nosocomiales adq. propio centro	4163	6,89
• adquiridas en el presente ingreso	3285	5,44
• infecciones existentes al ingreso	856	1,42
Infecciones nosocomiales adq. otro hospital	394	0,65
Infecciones nosocomiales de origen desconocido	261	0,43
Infecciones comunitarias	11526	19,07

^a %=Porcentaje sobre el total de infecciones nosocomiales

En el caso de las UCI, en el año 1994 el Grupo de Trabajo de Enfermedades Infecciosas de la Sociedad Española de Medicina Intensiva y Unidades Coronarias (GTEI-SEMICYUC) desarrolló la Encuesta Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en las UCI (ENVIN-UCI³¹) como protocolo informatizado de incidencia de infección nosocomial para las UCI, que se actualiza periódicamente. Los objetivos planteados a nivel nacional fueron:

- 1) Conocer las tasas de infecciones más relevantes en las UCI, como las relacionadas con instrumentación, tasas que puedan ser comparables entre diferentes unidades y tipos de pacientes.

³⁰ Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. Estudio EPINE-EPPS nº 29. 2018. Informe España. Prevalencia de infecciones (relacionadas con la asistencia sanitaria y comunitarias) y uso de antimicrobianos en hospitales de agudos. Versión 1.0. Fecha elaboración: 11/04/2019

³¹ Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva. La Sociedad Española de Medicina Intensiva, Crítica y Unidades Coronarias. (Consultado 19/9/2019). Disponible en: <http://hws.vhebron.net/envin-helics/>

- 2) Conocer las tendencias de las bacterias causantes de colonización/infección y de sus patrones de sensibilidad/resistencia en cada unidad.
- 3) Comparar la evolución del consumo de antimicrobianos en UCI.
- 4) Proporcionar una herramienta a cada unidad para mantener su propio sistema de vigilancia en el tiempo de acuerdo con sus necesidades o sus pretensiones.

En el año 2004 se adoptaron algunas reformas dentro del programa para hacerlo compatible con el proyecto europeo HELICS³² (Hospitals in Europe Link for Infection Control through Surveillance). Este proyecto persigue objetivos similares al ENVIN, pero a nivel europeo, por lo que desde entonces se denomina a todo el programa ENVIN-HELICS³¹. Se trata de un proyecto para la estandarización de la vigilancia de las infecciones adquiridas en hospitales mediante la creación de redes nacionales y regionales y elaboración de protocolos para facilitar la recogida de información sobre las tasas de infección.

Los datos del estudio ENVIN-HELICS 2018³³ muestran una reducción tanto en el porcentaje de infección nosocomial como en la tasa general de incidencia de infección nosocomial respecto al año 2017³⁴ (Tabla 2).

Tabla 2. Datos comparativos de prevalencia de infección nosocomial en las UCIs españolas durante los años 2017 y 2018³³.

	2017(%)	2018(%)
Pacientes con al menos una infección nosocomial	5,30	4,50
Número de infecciones/total pacientes	7,18	5,93

³² HELICS Surveillance of Nosocomial Infections in Intensive Care Units protocol. Version 6.1, septiembre 2004. (Consultado 24/9/2019). Disponible en: https://www.sicsag.scot.nhs.uk/hai/helics_protocol.pdf

³³ Estudio Nacional de Vigilancia de infección nosocomial en servicios de medicina intensiva. Informe 2018. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: <http://hws.vhebron.net/envin-helics/Help/Informe%20ENVIN-UCI%202018.pdf>

³⁴ Estudio Nacional de Vigilancia de infección nosocomial en servicios de medicina intensiva. Informe 2017. (Consultado 13/3/2020). Disponible en: <http://hws.vhebron.net/envin-helics/Help/Informe%20ENVIN-UCI%202017.pdf>

2. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo gramnegativo ubicuo, aerobio, no fermentador, con movilidad unipolar y termófilo (capacidad para crecer a 42°C), perteneciente al género *Pseudomonas*. Es una bacteria patógena que causa enfermedades tanto en animales como en plantas.

Es uno de los principales patógenos oportunistas en humanos, causando infecciones graves en pacientes inmunodeprimidos, principalmente en el ámbito hospitalario, en los servicios de medicina intensiva y en unidades de pacientes onco-hematológicos; además, es la causa más frecuente de infección respiratoria crónica en pacientes con fibrosis quística. Las infecciones nosocomiales generalmente incluyen neumonías, bacteriemias, infección de herida quirúrgica e infecciones de vías urinarias³⁵.

P. aeruginosa se caracteriza por una notable resistencia intrínseca a los antimicrobianos. Además, posee una extraordinaria capacidad para desarrollar resistencia a prácticamente todos los antimicrobianos disponibles bien por mutaciones cromosómicas o por adquisición de genes localizados en elementos transferibles. El aumento progresivo de la resistencia a *P. aeruginosa* ha llevado a la aparición de cepas que, de acuerdo con el grado de resistencia frente a los antimicrobianos habituales, se han definido como multirresistentes (MDR), extremadamente resistentes (XDR) y panresistentes (PDR)³⁶. Esta denominación sigue los criterios de resistencia propuestos por Magiorakos et al.³⁷, definiéndose MDR como la no sensibilidad al menos a un

³⁵ Mohd W, Azam MW, Khan AU. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. Drug Disc Today. 2019;24:350-359.

³⁶ Mensa J, Barberán J, Soriano A, Linares P, Marco F, Canton R, Bou G, Gonzalez del Castillo J, Maseda E, Azanza JR, Pasqua J, García-Vidal C, Reguera JM, Sousa D, Gomez J, Montejo M, Borges M, Torres A, Alvarez-Lerma F, Salavert M, Zaragoza R, Oliver A. Antibiotic selection in the treatment of acute invasive infections by *Pseudomonas aeruginosa*: Guidelines by the Spanish Society of Chemotherapy. Rev Esp Quimioter 2018;31:78-100

³⁷ Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. 2012;18:268-81

agente en 3 o más familias de antimicrobianos. De igual forma, las bacterias no sensibles al menos a un antimicrobiano de todas las familias excepto una o dos familias se consideran XDR, y las no sensibles a ningún antimicrobiano de ninguna de las familias se consideran PDR. La tabla 3 muestra las categorías/familias antimicrobianas y los agentes empleados para la categorización de *P. aeruginosa* como MDR, XDR y PDR. Estas cepas, pertenecientes a los denominados clones de alto riesgo como el ST175, se están diseminando mundialmente, complicando progresivamente el tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa*^{36,36}. Este microorganismo se incluye en el denominado grupo ESKAPE acrónimo introducido por Rice en 2008³⁸ para designar a un grupo de especies de bacterias que presentan resistencia a múltiples antimicrobianos y, por tanto, escapan a la actividad antimicrobiana de los mismos, siendo su tratamiento uno de los mayores desafíos en la práctica clínica. Este grupo lo constituyen: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y especies de *Enterobacter*. Comprender los mecanismos de resistencia de estas bacterias resulta decisivo para el desarrollo de nuevos antimicrobianos u otras herramientas alternativas para la optimización de los tratamientos disponibles³⁹.

³⁸ Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. J Infect Dis. 2008;197:1079–81,

³⁹ Santajit S, Indrawattana N. Mechanism of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. Biomed Res Int. 2016;5:1-8

Tabla 3³⁷. *P. aeruginosa*; categorías/familias antimicrobianas y agentes empleados para definir MDR, XDR y PDR.

Familia antimicrobiana	Antimicrobiano
Aminoglucósidos	Gentamicina
	Tobramicina
	Amikacina
	Netilmicina
Carbapenemas	Imipenem
	Meropenem
	Doripenem
Cefalosporinas	Ceftazidima
	Cefepima
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacino
	Levofloxacino
Penicilinas	Ticarcilina/ácido clavulánico
	Piperacilina/tazobactam
Monobactams	Aztreonam
Ácidos fosfónicos	Fosfomicina
Polimixinas	Colistina
	Polimixina B

2.1. Epidemiología

P. aeruginosa es actualmente uno de los principales microorganismos causantes de infecciones adquiridas en hospitales⁴⁰. De acuerdo con el National Healthcare Safety Network *Pseudomonas aeruginosa* es la quinta causa más común de infecciones adquiridas en el hospital⁴¹.

En el año 2017 la OMS publicó su primera lista de patógenos prioritarios resistentes a los antimicrobianos, entre los que se encuentra *P. aeruginosa* resistente a carbapenemas, que es considerada una de las amenazas más importantes⁴². La amenaza que para la salud pública suponen las bacterias gramnegativas resistentes a carbapenemas continúa siendo una prioridad para la OMS en 2019⁴³.

En EEUU se informan anualmente más de 51000 infecciones asociadas a la asistencia sanitaria y alrededor de 440 muertes causadas por *P. aeruginosa*. De estas infecciones, más del 13% (6700) son MDR³⁵. En el caso de Europa, la red europea de vigilancia de resistencia a los antimicrobianos (EARS-Net) en el informe del año 2017⁴⁴ indicaba que la resistencia en las cepas bacteriémicas de *P. aeruginosa* es común. En este informe, el 30,8% de los aislamientos informados fueron resistentes a al menos un grupo de antimicrobianos (MDR), el 4% de los aislamientos de *P. aeruginosa* fueron resistentes al menos a tres grupos antimicrobianos (XDR),

⁴⁰ Ruiz-Garbajosa P, Cantón R. Epidemiology of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Implications for empiric and definitive therapy. *Rev Esp Quimioter*. 2017;30:8-12

⁴¹ Tennant SJ, Burgess DR, Rybak JM, Martin CA, Burgess DS. Utilizing Monte Carlo simulations to optimize institutional empiric antipseudomonal therapy. *Antibiotics*. 2015;4:643–52

⁴² World Health Organisation (WHO). WHO Publishes List of Bacteria for which New Antibiotics Are Urgently Needed. WHO, Genova 2017. (Consultado 1/8/2019) Disponible en: <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

⁴³ World Health Organisation (WHO). Informe WHA72/18 de Seguimiento de las reuniones de alto nivel de la Asamblea General de las Naciones Unidas sobre temas relacionados con la salud. Resistencia a los antimicrobianos. (Consultado 23/10/2019). Disponible en: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA72/A72_18-sp.pdf

⁴⁴ European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. Surveillance report 2017. (Consultado 19/9/2019) Disponible en: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/EARS-Net-report-2017-update-jan-2019.pdf>

y el 3,9% de los aislamientos fueron resistentes a los cinco grupos de antimicrobianos evaluados (PDR): piperacilina/tazobactam, fluoroquinolonas, ceftazidima, aminoglucósidos y carbapenemas. Cabe destacar que durante el periodo 2014-2017 se ha observado una tendencia significativamente decreciente en la resistencia para *P. aeruginosa*. La tabla 4 recoge la información del informe EARS-Net 2017⁴⁴ sobre la evolución de la resistencia en Europa de *P. aeruginosa* a 3 ó más grupos de los antimicrobianos evaluados durante el periodo mencionado. Ese mismo informe muestra que en España, el 10,9% de los aislamientos son resistentes a al menos tres grupos de antimicrobianos.

Tabla 4. Evolución del porcentaje de cepas bacteriémicas MDR de *P. aeruginosa* en Europa durante el periodo 2014-2017⁴⁴.

Año	Media Europa (%)	España (%)	País con peor indicador (%)	País con mejor indicador (%)
2014	15,4	12,4	59,6 (Rumanía)	0 (Islandia)
2015	15,1	14,2	63 (Rumanía)	0 (Islandia)
2016	13,7	14,5	42,9 (Rumanía)	0 (Islandia)
2017	13,0	10,9	59,1 (Rumanía)	0 (Islandia)

La figura 3 refleja el mapa de cepas MDR de *P. aeruginosa* en Europa en el año 2017.

La encuesta EPINE 2017³⁴ encontró que *P. aeruginosa* era la segunda causa de infecciones adquiridas en el hospital (junto con *Escherichia coli* y después de *Staphylococcus aureus*), y que representaba el 9,62% de las infecciones. En el estudio ENVIN-UCI 2018⁴⁵ *P. aeruginosa* fue

⁴⁵ Estudio Nacional de Vigilancia de infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva. Informe 2018. (Consultado 23/9/2019). Disponible en: <http://hws.vhebron.net/envin-helics/Help/Informe%20ENVIN-UCI%202018.pdf>

también el segundo microorganismo aislado más frecuente, detrás de *Escherichia coli*, como causa de infecciones nosocomiales en UCI, representando el 13,64% de las infecciones.

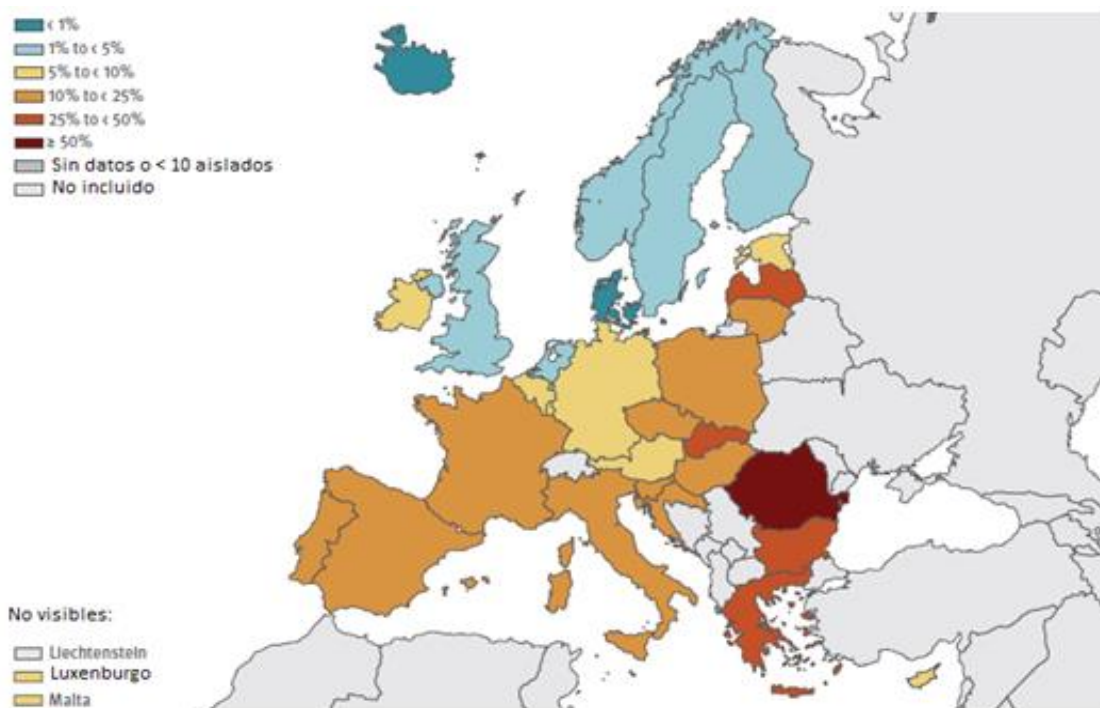


Figura 3. Porcentaje de aislamientos bacteriémicos MDR de *P. aeruginosa* en Europa en el año 2017 (adaptado del informe EARS-net 2017⁴⁴).

2.2. Tratamiento

P. aeruginosa es naturalmente resistente a la mayoría de las penicilinas, las cefalosporinas de primera y de segunda generación y muchas de tercera generación (salvo ceftazidima), las tetraciclinas, el cotrimoxazol y la rifampicina.

En la mayor parte de las infecciones, el tratamiento de elección, si la cepa de *P. aeruginosa* es sensible a β -lactámicos, es un β -lactámico en monoterapia, excepto en los siguientes casos: 1) durante las primeras 72 horas si la infección tiene criterio de sepsis grave o shock séptico, 2) en el paciente neutropénico; y 3) en infecciones del sistema nervioso central (meningitis, abscesos) o infecciones endovasculares (endocarditis)⁴⁰. El tratamiento combinado suele incluir un β -lactámico (como piperacilina/tazobactam, ceftazidima, cefepima, meropenem, imipenem o aztreonam) y un aminoglucósido (amikacina o tobramicina). Sin embargo, diversos estudios realizados en pacientes con bacteriemia o neumonía asociada a ventilación por *P. aeruginosa*⁴⁶, así como varios metaanálisis⁴⁷, no encontraron diferencias significativas en las tasas de mortalidad entre quienes recibieron monoterapia y quienes recibieron una asociación de un β -lactámico y aminoglucósido si se usa un compuesto al que *P. aeruginosa* sea sensible.

Los antimicrobianos utilizados en la práctica clínica son: β -lactámicos (piperacilina/tazobactam, cefepima, ceftazidima, imipenem y meropenem), fluoroquinolonas (levofloxacino y ciprofloxacino) y aminoglucósidos (amikacina, gentamicina y tobramicina). La tabla 5 muestra los antimicrobianos más empleados en el tratamiento de *P. aeruginosa*, y su mecanismo de acción.

⁴⁶ Peña C, Suarez C, Ocampo-Sosa A, Murillas J, Almirante B, Pomar V, Aguilar M, Granados A, Calbo E, Rodríguez-Baño J. Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI). Effect of adequate single-drug vs combination antimicrobial therapy on mortality in *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: a post hoc analysis of a prospective cohort. Clin. Infect. Dis. 2013;57:208–216.

⁴⁷ Vardakas KZ, Tansarli GS, Bliziotis IA, Falagas ME. β -Lactam plus aminoglycoside or fluoroquinolone combination versus β -lactam monotherapy for *Pseudomonas aeruginosa* infections: a meta-analysis. Int. J. Antimicrob. Agents. 2013;4:301–310.

Tabla 5. Antimicrobianos más utilizados en el tratamiento de infecciones causadas por *P. aeruginosa*, junto con su mecanismo de acción

	Antimicrobiano	Mecanismo de acción
β-lactámicos	Penicilinas <ul style="list-style-type: none"> • Piperacilina/tazobactam Cefalosporinas <ul style="list-style-type: none"> • Cefepima • Ceftazidima • Ceftazidima/avibactam • Ceftolozano/tazobactam Carbapenemas <ul style="list-style-type: none"> • Imipenem • Meropenem 	Inhibición de la última etapa de la síntesis del peptidoglicano al impedir la reacción de transpeptidación.
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacino Levofloxacino	Inhibición de las topoisomerasas y por lo tanto de la síntesis de ADN. En <i>P. aeruginosa</i> inhiben la ADN girasa bacteriana, responsable del superenrollamiento negativo del ADN.
Aminoglucósidos	Amikacina Gentamicina Tobramicina	Inhibición de la síntesis de proteínas mediante unión a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano
Ácidos fosfónicos	Fosfomicina	Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana, por inhibición del enzima enol-piruviltransferasa
Polimixinas	Colistina	Alteración de la permeabilidad de la membrana celular bacteriana.

Ceftazidima/avibactam y ceftolozano/tazobactam son dos nuevas cefalosporinas combinadas con inhibidores de β -lactamasa incorporadas recientemente. Ambas son activas frente a la mayoría de cepas resistentes al resto de β -lactámicos. Estos nuevos antimicrobianos conservan actividad frente a las cepas hiperproductoras de cefalosporinasa AmpC, pero su principal inconveniente es que carecen de actividad frente a cepas productoras de metalobetalactamasas (MBL)³⁵.

2.3. Mecanismos de resistencia

La resistencia a los antimicrobianos en *P. aeruginosa* se puede dividir en resistencia intrínseca, resistencia adquirida y resistencia adaptativa. La resistencia intrínseca es la capacidad innata de un microorganismo para resistir a los antimicrobianos. El desarrollo de resistencia adquirida es el resultado de la mutación de genes o de la transferencia horizontal de genes externos responsables de la resistencia. Por último, la resistencia adaptativa es una resistencia inducible que ocurre en respuesta a la presencia de agentes antimicrobianos u otros factores ambientales. La resistencia adaptativa, a diferencia de la intrínseca y de la adquirida, se caracteriza por ser reversible³⁵.

La mayor parte de los mecanismos de resistencia en *P. aeruginosa* son mutacionales (hiperproducción de cefalosporinasa cromosómica inducible AmpC, baja permeabilidad de membrana externa por pérdida de la porina OprD y sobreexpresión de bombas de expulsión)³². A menudo, en una bacteria están presentes varios de estos mecanismos de resistencia mutacional, dando lugar a los fenotipos multirresistentes XDR o MDR. Además, la adquisición de genes de resistencia mediados por plásmidos que codifican carbapenemasas es un problema añadido de relevancia notable. Las carbapenemasas más detectadas en *P. aeruginosa* son las de tipo B o metalobetalactamasas (MBL), generalmente de tipo VIM e IMP, también detectadas en los fenotipos XDR y MDR. En España la prevalencia de MBL ha aumentado desde el 0,08% en 2003 al 2,7% en 2009, con claro predominio del tipo VIM³⁹. La prevalencia de cepas MDR es del 30% en todo el mundo, incluyendo los hospitales españoles, y aproximadamente la mitad de las cepas MDR son también XDR³². La figura 4 muestra los principales mecanismos de

resistencia de *P. aeruginosa*^{36,40,48} y la tabla 6^{36,49} resume los mecanismos de resistencia implicados para los diferentes agentes antimicrobianos.

⁴⁸ Mesaros N, Nordmann P, Plésitat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y, Van Laethem Y, Jacobs F, Lebecque P, Malfroot A, Tulkens PM, Van Bambeke F. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. Clin Microbiol Infect. 2007;13:560-578.

⁴⁹ Torrens G, Cabot G, Ocampo-Sosa AA, Conejo MC, Zamorano L, Navarro F, Pascual Á, Martínez-Martínez L, Oliver A. Activity of Ceftazidime-Avibactam against Clinical and Isogenic Laboratory *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Expressing Combinations of Most Relevant beta-Lactam Resistance Mechanisms. Antimicrob Agents Chemother. 2016;60:6407-6410.

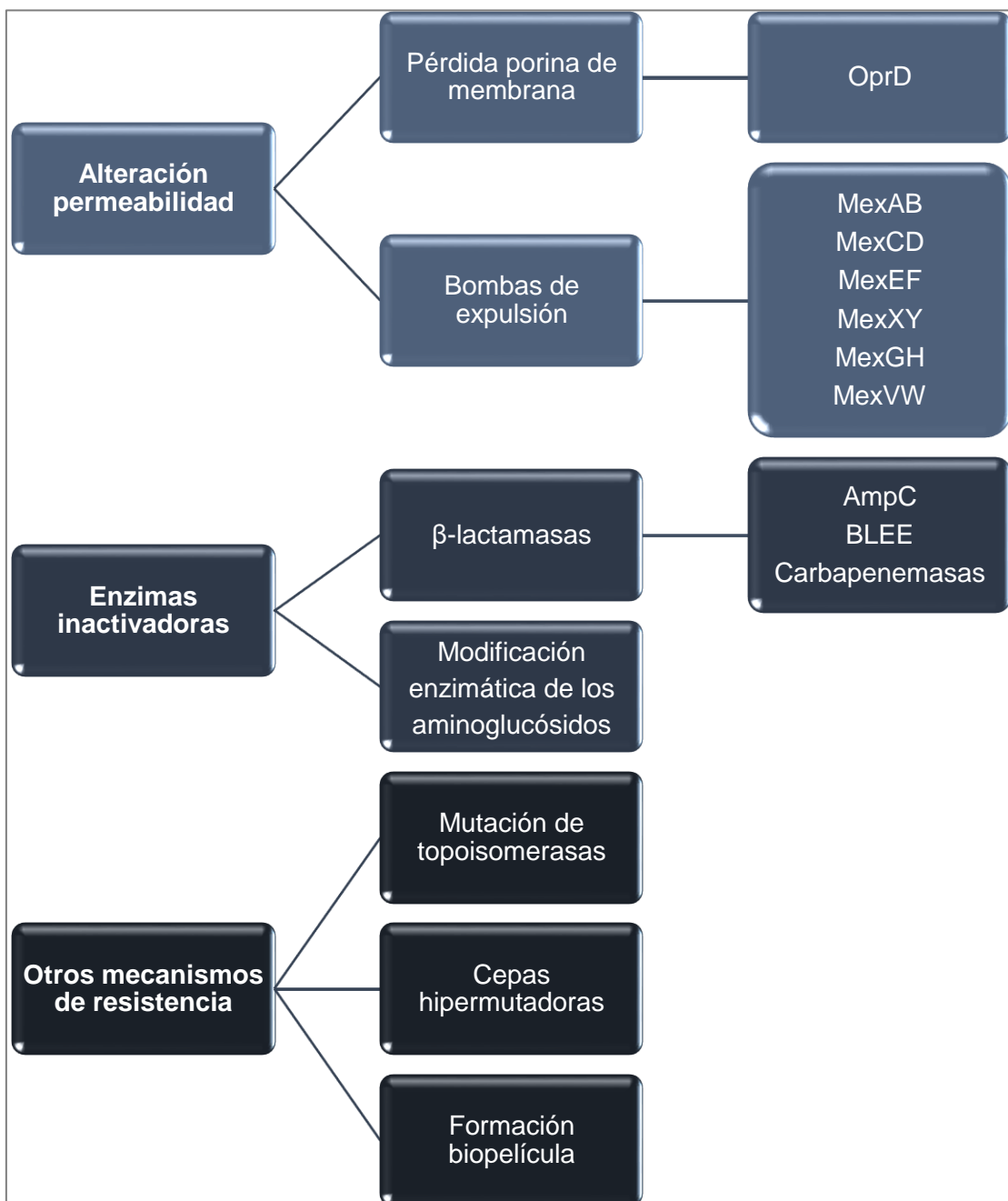


Figura 4. Principales mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa*^{36,40,48}.
 AMG: aminoglucósidos; BLEE: β-lactamasas de espectro extendido

Tabla 6. Mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa* implicados para diferentes antimicrobianos^{36,49}.

Antimicrobiano	Principal mecanismo de resistencia	Mecanismo de resistencia secundario
Piperacilina/tazobactam	↑AmpC	↑MexAB
Ceftazidima	↑AmpC	↑MexAB
Cefepima	↑MexAB/XY	↑AmpC
Ceftazidima/avibactam	↑MexAB	↑MexXY, ↑AmpC
Ceftolozano/tazobactam	↑AmpC + mut AmpC	PBP3
Imipenem	OprD	MexST (↑ MexEF, ↓ OprD)
Meropenem	OprD	↑MexAB, PBP3
Fluoroquinolonas	QRDR (Mutación de genes)	↑MexAB/XY/CD/EF
Aminoglucósidos	EMAG	↑MexXY
Colistina	Pmr-AB/PhoPQ (Mutación de genes formación LPS)	ParRS (Mutación de genes formación LPS))
Fosfomicina	GlpT (Mutación en los genes de transportadores)	

QRDR: Región determinante de la resistencia a quinolonas. EMAG: Enzimas modificadoras de aminoglucósidos. Mut AmpC: Mutación estructural de AmpC. PBP: Proteínas de unión de penicilinas mutadas. LPS: Lipopolisacáridos.

2.3.1. Inactivación enzimática

La resistencia mediada por enzimas implica tanto enzimas codificadas por plásmido como codificadas en el cromosoma, y su producción podría ser el resultado del desarrollo de resistencias adquiridas o intrínsecas. Este mecanismo ha sido descrito en el caso de la resistencia de *P. aeruginosa* frente a β -lactámicos y aminoglucósidos³⁵.

2.3.1.1. β -lactamasas

Las β -lactamasas son enzimas que hidrolizan el anillo β -lactámico de los antimicrobianos, de esta manera destruyen el sitio activo del antimicrobiano e impiden su actividad, que se basa en la inhibición de la última etapa de la síntesis de peptidoglicano al impedir la reacción de transpeptidación.

P. aeruginosa posee varios tipos de β -lactamasas: cefalosporinasa AmpC, β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas. Estas dos últimas, aunque mucho menos frecuentes que las cefalosporinas AmpC, van aumentando paulatinamente en los últimos años⁵⁰.

Las cefalosporinas AmpC se encuentran codificadas en el cromosoma de la bacteria y tiene la capacidad de ser inducida por los propios β -lactámicos a los pocos días del inicio del tratamiento. Se caracterizan por ser activas frente penicilinas y cefalosporinas, pudiendo hidrolizar cefamicinas (cefotaxima y cefotetan), oximinocefaloporias (ceftazidima, cefotaxima y ceftriaxona) y monobactámicos (aztreonam) con la excepción de cefalosporinas de cuarta generación (cefepima, cefpiroma) y carbapenemas. Estas enzimas se caracterizan por ser resistentes a la combinación de β -lactámico con inhibidores de β -lactamasas, con la posible excepción de piperacilina/tazobactam y las nuevas combinaciones ceftolozano/tazobactam y ceftazidima/avibactam^{51,52}. En España, en el reciente estudio de prevalencia de resistencia en

⁵⁰ Cabot G, Ocampo-Sosa AA, Tubau F, Macia MD, Rodríguez C, Moya B, Zamorano L, Suárez C, Peña C, Martínez-Martínez L, Oliver A. Overexpression of AmpC and efflux pumps in *P. aeruginosa* from blood stream infections: Prevalence and linkage to resistance in a Spanish multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:1906-1911.

⁵¹ Seral C, Gude MJ, Castillo FJ. Emergencia de β -lactamasas AmpC plasmídicas (pAmpC ó cefamicinasas): origen, importancia, detección y alternativas terapéutica. *Rev Esp Quimioter* 2012;25:89-99

⁵² Van Duin D, Bonomo RA. Ceftazidime/Avibactam and Ceftolozane/Tazobactam: Second-generation β -Lactam/ β -Lactamase Inhibitor Combinations. *Clin Infect Dis*. 2016;63:234-241

P.aeruginosa, la sensibilidad a piperacilina/tazobactam, ceftolozano/tazobactam y ceftazidima/avibactam fue del 73,5%. 94,6% y 94,2%, respectivamente⁵³.

Las BLEE son codificadas por plásmidos, se adquieren mediante transporte de ADN extracromosomal y confieren habitualmente resistencia a todas las cefalosporinas de 3ª y 4ª generación. Por su parte, las carbapenemasas son β -lactamasas transferibles que inactivan todas las clases de β -lactámicos excepto los monobactámicos (aztreonam). En un estudio nacional⁵³ se detectaron carbapenemasas/BLEE en el 3,1% del total de los aislados de *P. aeruginosa*, significando el 16,7% de los aislados XDR. Casi el 40% de estos aislados con carbapenemasas/BLEE pertenecían al clon de alto riesgo ST175.

Los tipos de carbapenemasas/BLEE más frecuentes fueron: VIM (1,9% del total de aislados), GES (0,6%) e IMP (0,3%) entre las carbapenemasas y PER-1 (0,2%) y OXA-15 (0,1%) entre las BLEE⁵³.

2.3.1.2. *Modificación enzimática de aminoglucósidos*

Se han identificado tres tipos de enzimas bacterianas inactivadoras; amino-acetiltransferasas, adeniltransferasas y fosfotransferasas, todas ellas actúan modificando estructuralmente la molécula y a menudo están codificadas por genes plasmídicos⁵⁴. La modificación estructural del antimicrobiano tiene dos consecuencias, principalmente la incapacidad de atravesar la membrana bacteriana y, por otro lado, la formación de un compuesto inactivo incapaz de alterar la función ribosomal.

⁵³ Barrio-Tofiño E, Zamorano L, Cortes-Lara S, López-Causapé C, Sánchez-Diener I, Cabot G, Bou G, Martínez-Martínez L, Oliver A. Spanish nationwide survey on *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial resistance mechanisms and epidemiology. J Antimicrob Chemother. 2019;74:1825-35

⁵⁴ Serspersu EH, Ozen C, Wright E. Studies of enzymes that cause resistance to aminoglycosides antibiotics. Methods Mol Med. 2008;142:261-71

Cada aminoglucósido (AMG) puede ser afectado por varias enzimas, y a su vez, una enzima puede modificar más de un AMG, lo que puede dar lugar a resistencias cruzadas, aunque no necesariamente confieren resistencia cruzada a todos los AMG. La amikacina, gracias a su estructura, con un mayor impedimento estérico, es la más resistente a la acción enzimática y, por lo general, demuestra una mayor actividad frente a *P. aeruginosa* que otros aminoglucósidos⁵⁵. En España, en el reciente estudio de prevalencia de resistencia en *P. aeruginosa*, la sensibilidad a tobramicina y amikacina fue del 83,7%% y 91,6%, respectivamente⁵³.

2.3.2. Alteración de la permeabilidad

La alteración de la permeabilidad de la membrana externa está causada principalmente por la presencia de bombas de expulsión en el microorganismo y por las alteraciones cualitativas o cuantitativas de las porinas (proteínas transmembrana).

2.3.2.1. *Bombas de expulsión*

Las bombas de expulsión permiten a los microorganismos resistir a los antimicrobianos y regular el entorno celular interno bombeando agentes nocivos desde el interior de la célula. Las bombas de expulsión de *P. aeruginosa* son complejos enzimáticos formados por 3 componentes: una proteína bomba en la membrana citoplasmática, una proteína ligadora en el espacio periplásmico y un canal de salida en la membrana externa. La hiperexpresión de cualquiera de las múltiples bombas de expulsión contribuye significativamente a los fenotipos de resistencia⁵⁶.

⁵⁵ LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; Last Update: April 12, 2019

⁵⁶ Gómez Álvarez CA, Leal Castro AL, Pérez de Gonzalez MJ, Navarrete Jiménez ML. Mecanismos de resistencia en *pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo. Rev fac med. 2005;53:27-34

La bomba de expulsión MexAB-OprM expresada constitutivamente tiene un importante papel en la resistencia intrínseca a la mayoría de β -lactámicos y otros muchos antimicrobianos. La sobreexpresión de MexAB-OprM compromete la acción de quinolonas, penicilinas, cefalosporinas e incluso meropenem, pero no de imipenem.

La hiperexpresión de MexEF-OprN y MexCD-OprJ es menos frecuente y afecta principalmente a las quinolonas. Sin embargo, algunas mutaciones (*mexT/mexS*) que conducen a la hiperexpresión de MexEF-OprN también confieren una menor sensibilidad a carbapenemas.

La sobreexpresión de MexXY-OprM afecta a los β -lactámicos, las quinolonas, el meropenem y los aminoglicósidos, sin afectar la acción del imipenem.

Las bombas de expulsión tienen también la capacidad de ser inducidas por lo que contribuyen a la resistencia adaptativa y adquirida⁵⁷.

2.3.2.2. *Porinas de membrana*

Las porinas son proteínas transmembrana que se ubican en la membrana externa de las bacterias y cumplen diversas funciones. OprD es una porina de membrana presente en *P. aeruginosa* de manera intrínseca. Permite la captación pasiva de aminoácidos básicos a través de la membrana externa. Además, es capaz de permitir la entrada de carbapenemas, aunque no de otros β -lactámicos. La afinidad y la capacidad de difusión de imipenem a través de esta porina es casi 70 veces más alta que la de meropenem. El imipenem tiene la capacidad de seleccionar durante el tratamiento cepas que muestran mutaciones en la porina OprD, es decir, que presenten una disminución de la afinidad y el transporte de este antimicrobiano a través de esta proteína.

⁵⁷ Alcalde-Rico M, Hernando-Amado S, Blanco P, Martínez JL. Multidrug Efflux Pumps at the Crossroad between Antibiotic Resistance and Bacterial Virulence. *Front Microbiol.* 2016; 7: 1483.

2.3.3. Otros mecanismos de resistencia

Otros mecanismos de resistencia incluyen:

- 1) La resistencia a quinolonas (ciprofloxacino y levofloxacino) asociada a mutaciones en su diana de acción. El mecanismo de acción de las quinolonas se basa en la inhibición de las topoisomerasas y, por lo tanto, en la inhibición de la síntesis de ADN. Concretamente, en bacterias gramnegativas, como *P. aeruginosa*, inhiben la ADN-girasa bacteriana, que es responsable del superenrollamiento negativo del ADN. La mutación de la topoisomerasa tipo II confiere una resistencia a estas quinolonas. Se trata de una resistencia cromosómica por modificación del gen *gyrA*⁵⁸.
- 2) Aumento de la frecuencia de mutación (cepas hipermutadoras). El carácter hipermutador en una población bacteriana se produce cuando la tasa de mutación espontánea es significativamente superior a la normal (de 100 a 1.000 veces⁵⁹). Son cepas con mutaciones en genes involucrados en mecanismos de reparación de errores en la replicación del ADN. El gen *mutS* codifica un factor constituyente del sistema de corrección de bases apareadas incorrectamente (MMRS); es uno de los sistemas más eficientes y evolutivamente conservados para estabilizar el genoma. Una bacteria deficiente en el MMRS presenta una mayor frecuencia de mutación, y esto le permitiría, frente a un ambiente inestable y adverso, desarrollar estrategias para una rápida variación y adaptación. La hipermutación es un fenómeno que se observa en bacterias presentes en pacientes con fibrosis quística (FQ) y en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), que facilita los fenómenos de adaptación a las

⁵⁸ Nouri R, Rezaee MA, Hasani A, Aghazadeh M, Asgharzadeh M. The role of *gyrA* and *parC* mutations in fluoroquinolones-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Iran Braz. J. Microbiol. 2016;47:925-930

⁵⁹ Lopez-Causape C, Rojo-Moliner E, Macia MD, Oliver A. The problems of antibiotic resistance in cystic fibrosis and solutions. Expert Rev Respir Med. 2015;9:73-88

condiciones adversas medioambientales y también el desarrollo de resistencia a los antimicrobianos³⁶Error! Marcador no definido.

- 3) Formación de biopelícula. La biopelícula formada por la bacteria le permite adherirse a cualquier superficie, y, por lo tanto, las infecciones pueden afectar a cualquier órgano o sistema. La biopelícula consiste en un conjunto de células bacterianas recubiertas por una capa de polisacárido, que actúa como un factor de protección de las bacterias contra el antimicrobiano y el sistema inmune del huésped, favoreciendo la cronicidad de la infección. Además, los cambios adaptativos y genéticos de los microorganismos dentro de la biopelícula los hacen resistentes a una gran parte de los agentes antimicrobianos⁶⁰. Las biopelículas de *P. aeruginosa* son comunes en pacientes con neumonía por FQ, infecciones urinarias, y en dispositivos médicos como lentes de contacto y catéteres venosos.

⁶⁰ Sharma G, Rao S, Bansal A, Dang S, Gupta S, Gabrani R. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: Potential therapeutic targets. *Biologicals* 2014;42:1-7

3. HERRAMIENTAS PARA LA OPTIMIZACIÓN DE LA TERAPIA ANTIMICROBIANA

La optimización de la terapia antimicrobiana es un componente fundamental para garantizar la eficacia terapéutica, así como para el control de resistencias. En este sentido, los estudios de sensibilidad acumulada permiten la identificación de tendencias temporales en la aparición de resistencias y el establecimiento de protocolos de tratamiento empírico. Por otra parte, el análisis farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD) es una herramienta que permite, además de ajustar la terapia a la situación clínica, evaluar la influencia de un determinado régimen posológico sobre la actividad antimicrobiana.

3.1. Estudios de sensibilidad acumulada

Una de las principales aportaciones de la Microbiología Clínica a la mejora del tratamiento de las infecciones, además del diagnóstico rápido y correcto de los mismos, es el estudio de la epidemiología local de la resistencia antimicrobiana, pieza angular de los protocolos locales de terapia empírica. Estos datos han cobrado mucha más importancia con el incremento de la multirresistencia, lo que exige un análisis riguroso y exhaustivo de los mismos⁶¹.

El análisis conjunto de los datos procedentes de múltiples microorganismos durante un determinado periodo, permite el desarrollo de informes de sensibilidad acumulada. Estos datos permiten conocer las variaciones en la tendencia de sensibilidad a los antimicrobianos, y resultan de gran ayuda en la selección del tratamiento antimicrobiano empírico^{62,63}.

⁶¹ Sánchez-Bautista A, Coy J, García-Shimizu P, Rodríguez JC. Cambio de CLSI a EUCAST en la interpretación de la sensibilidad a antimicrobianos: ¿cómo influye en nuestro medio? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2018;36:229–232

⁶² Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Procedimientos en microbiología clínica. 51 Preparación de informes acumulados de sensibilidad a los antimicrobianos. 2014.

⁶³ Canut-Blasco A, Calvo J, Rodríguez-Díaz J.C, Martínez-Martínez L. Informes acumulados de sensibilidad a los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*.2016;34:524–530

Los informes acumulados de sensibilidad pueden cubrir datos obtenidos a nivel local, pero dado el interés creciente de las autoridades y responsables de salud pública por obtener información sobre resistencia a los antimicrobianos, existen diversas experiencias de integración de la información procedente de múltiples servicios/unidades en una base de datos común que permite la explotación de estos datos a nivel regional, nacional o supranacional. Diversas sociedades científicas y grupos de investigación, incluyendo la SEIMC, y sus grupos de estudio, así como la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa, REIPI, también están promoviendo el desarrollo de estudios multicéntricos nacionales⁶⁴ sobre tendencias de sensibilidad y análisis de mecanismos de resistencia (en ocasiones con detallados análisis moleculares de los mismos⁶²).

La red europea de vigilancia de resistencia a los antimicrobianos en aislados de bacteriemias (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network; EARS-Net) es probablemente la base de datos supranacional más importante en este ámbito. En la misma se recoge información de unos 1.400 hospitales (que atiende en torno a los 100 millones de habitantes) procedente de múltiples redes nacionales que envían su información sobre aislados de hemocultivo al European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).

Es necesario tener en consideración que no hay una sola manera correcta de estimar las tasas de sensibilidad y resistencia. En el año 2000, el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI⁶⁵) destacó la gran diversidad de algoritmos que eran usados en Estados Unidos por los laboratorios de microbiología para el cálculo de estas tasas. Esto implica dos consecuencias importantes:

⁶⁴ Cabot G, López-Causapé C, Ocampo-Sosa AA, Sommer LM, Domínguez MÁ, Zamorano L, Juan C, Tubau F, Rodríguez C, Moyà B, Peña C, Martínez-Martínez L, Plesiat P, Oliver A. Deciphering the resistome of the widespread *Pseudomonas aeruginosa* sequence type 175 international high-risk clone through whole-genome sequencing. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:7415–23.

⁶⁵ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth informational Supplement. Approved guideline M100-S20. CLSI,2010

- 1) La pobre capacidad de comparación entre las diversas instituciones debido a la diversidad de los métodos de cálculo.
- 2) Los métodos de cálculo tenían una fuerte tendencia a sobreestimar las tasas de resistencia.

La guía M39-A2⁶⁶ elaborada en 2006 por el CLSI (en 2018 se ha publicado la edición M39-A4⁶⁷) recoge recomendaciones para el análisis y la presentación de los datos de las tendencias de sensibilidad a los antimicrobianos. En España, la SEIMC incorporó en 2014 estas recomendaciones a sus procedimientos⁶². De acuerdo con los documentos del CLSI, los informes de sensibilidad acumulados deben considerar múltiples aspectos. Estos informes deben basarse en los datos de aislamientos obtenidos de muestras diagnósticas (y no de las obtenidas en programas de vigilancia), verificados por profesionales de la microbiología clínica. Para intentar evitar los sesgos derivados de incluir varios aislamientos de la misma persona, se aconseja considerar, para un marco temporal definido, solamente el primero de ellos. El informe debe incluir un número mínimo de aislados por especie, aceptándose estadísticamente adecuada una cifra ≥ 30 . Debe tener una periodicidad, al menos, anual.

En realidad, no existe un criterio único que, de forma absoluta, pueda considerarse perfecto para el cálculo de la sensibilidad. Es un proceso complejo que incluye varios factores como el número de muestras, el tipo de microorganismo, el tipo de paciente, el tratamiento antimicrobiano y el número de muestras biológicas procesadas⁶². De esta manera, el duplicado de muestras puede abordarse utilizando diferentes criterios⁶⁸:

⁶⁶ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data. 2nd ed. Approved guideline M39-A2. Wayne, PA: CLSI, 2006.

⁶⁷ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data. 4th ed. Wayne, PA, USA: CLSI; 2018. Approved guideline M39-A4

⁶⁸ Hindler JF, Stelling J. Analysis and Presentation of Cumulative Antibigrams: A New Consensus Guideline from the Clinical and Laboratory Standards Institute. Clin Infect Dis. 2007;44:867-73

- 1) Estimación basada en el aislado. Se incluyen todos los aislados de una especie.
- 2) Estimación basada en el o la paciente:
 - a. Primera muestra por paciente: Los cálculos incluyen sólo el primer aislado de la especie, recogida de cada paciente durante el tiempo de estudio, independientemente del perfil de sensibilidad, la muestra microbiológica o la zona anatómica de dónde se extraiga la muestra (estimación recomendada por el CLSI).
 - b. Criterio de tiempo. Los cálculos incluyen el primer aislado junto con los aislados obtenidos tras un periodo de tiempo predefinido (intervalo de 7 días o 30 días).
- 3) Estimación basada en el fenotipo de sensibilidad. Los cálculos incluyen el primer aislado junto con el primer fenotipo resistente de una especie. Es el algoritmo utilizado por la red EARS-Net.

Los informes acumulados de datos de sensibilidad a los antimicrobianos habitualmente se preparan indicando los porcentajes de cepas sensibles. La definición de la categoría clínica de “sensible” está basada en los puntos de corte proporcionados por los comités internacionales de estandarización EUCAST⁶⁹ y CLSI⁷⁰. El punto de corte clínico de sensibilidad y de resistencia es un criterio interpretativo basado en la probabilidad de una respuesta favorable de la terapia con cada antimicrobiano a un microorganismo determinado. Actualmente, ambos comités establecen puntos de corte clínicos basándose en aspectos microbiológicos, incluido el análisis poblacional de las concentraciones mínimas inhibitorias, o CMI, en parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos y en resultados clínicos.

⁶⁹ European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST procedure for harmonising and defining breakpoints. Disponible en: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/

⁷⁰ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th ed. CLSI supplement M100 Wayne, PA, USA: CLSI; 2018.

Según los puntos de corte proporcionados por los comités de estandarización CLSI⁷¹ y EUCAST⁷², las cepas bacterianas se clasifican en sensibles, intermedias o resistentes. Recientemente y de aplicación desde 2019, EUCAST⁷² ha propuesto una redefinición de la categoría Intermedia (Susceptible, increased exposure) que refleja únicamente los aspectos relacionados con la exposición del microorganismo al antimicrobiano (por ajuste del régimen de dosificación o por concentración en el sitio de la infección), y no los técnicos derivados del propio estudio de sensibilidad en el laboratorio. Se propone la interpretación de la categoría I como «Sensible, cuando se incrementa la exposición». Así, para EUCAST, las tres categorías (S, I, R) en que se pueden clasificar las bacterias según su sensibilidad a cada antibiótico estudiado se interpretan de la siguiente manera⁷²:

1. S – Sensible, régimen de dosificación estándar: Un microorganismo se categoriza como Sensible, régimen de dosificación estándar, cuando hay una alta probabilidad de éxito terapéutico usando un régimen de dosificación estándar del agente.
2. I – Sensible, cuando se incrementa la exposición: Un microorganismo se categoriza como Sensible, cuando se incrementa la exposición, cuando hay una alta probabilidad de éxito terapéutico porque la exposición al agente está incrementada por ajuste del régimen de dosificación o por su concentración en el lugar de la infección.

Y se debe recordar en este punto que la exposición está en función del modo de administración, la dosis, el intervalo entre dosis, el tiempo de infusión, así como la distribución, el metabolismo y la excreción del antimicrobiano, que pueden influir en el microorganismo infectante en el lugar de la infección.

⁷¹ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 29th ed. CLSI supplement M100 Wayne, PA, USA: CLSI; 2019.

⁷² European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 9.0, valid from 2019-01-01. (Consultado 7/11/2019). Disponible en: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_9.0_Breakpoint_Tables.pdf

3. R – Resistente: Un microorganismo se categoriza como Resistente, cuando hay una alta probabilidad de fracaso terapéutico incluso cuando hay un incremento de la exposición.

EUCAST ha hecho un verdadero esfuerzo para consensuar entre los estados europeos miembros lo que se considera dosificación estándar y dosificación elevada para cada uno de los diferentes antimicrobianos. De esta manera se precisa lo que se considera exposición incrementada respecto a la conseguida con la dosificación estándar.

La revisión periódica de los puntos de corte de los antimicrobianos de uso habitual y de los nuevos antimicrobianos por los comités de estandarización, permite a los laboratorios de microbiología categorizar los aislados bacterianos según la sensibilidad a los diferentes antibióticos para guiar a los clínicos en la prescripción de antimicrobianos en la práctica clínica⁷³.

La principal ventaja del informe de sensibilidad acumulada es servir como elemento de referencia para la planificación del tratamiento empírico. Son útiles también con fines de educación en los programas de mejora de utilización de antimicrobianos (programas PROA) y permiten, así mismo, comparar los resultados de informes correspondientes a diferentes periodos, servicios, instituciones, etc. Sin embargo, presentan como inconveniente, que el perfil de sensibilidad del microorganismo no aporta información sobre la posología más apropiada, y puede darse el caso de que, a pesar de administrar un antimicrobiano informado como sensible en el antibiograma, el régimen posológico sea insuficiente para proporcionar concentraciones efectivas en sangre y en el tejido infectado, y por tanto, la evolución clínica no sea favorable⁷⁴.

⁷³Asín-Prieto E, Rodríguez-Gascón A, Isla A. Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. *Journal of infection chemotherapy*. 2015;21 (5) 319–29. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.02.001>.

⁷⁴ Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Procedimientos en microbiología clínica. 46 Análisis farmacocinético-farmacodinámico en Microbiología: herramienta para evaluar el tratamiento antimicrobiano. 2013.

3.2. Análisis farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD)

Como se ha comentado anteriormente, el éxito de la terapia antimicrobiana no solo está condicionado por la elección del fármaco considerando exclusivamente la sensibilidad de la bacteria, sino que también va a depender del régimen posológico utilizado. Para seleccionar la posología más adecuada es necesario considerar que el resultado clínico está condicionado por las complejas interacciones que se establecen entre microorganismo, huésped y antimicrobiano⁷³ (Figura 5⁷³). El análisis farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD) es la herramienta que evalúa la relación entre la dosis administrada, la concentración del fármaco en el foco infeccioso y la sensibilidad del microorganismo. Permite estimar la dosis óptima de antimicrobiano para conseguir una exposición bacteriostática/bactericida frente al microorganismo y una respuesta clínica favorable. Por lo tanto, la inclusión del análisis PK/PD en la toma de decisiones de los tratamientos con agentes antimicrobianos, permitiría no solo estimar la dosis óptima, sino también minimizar el desarrollo de resistencias *a posteriori*⁷⁴.

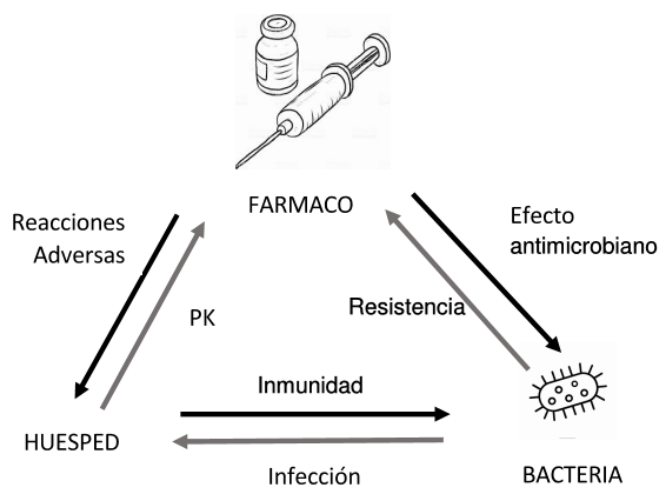


Figura 5. Triángulo de interacción entre huésped, microorganismo y antimicrobiano.

De acuerdo al tipo de actividad de cada antimicrobiano, se han establecido unos índices que derivan de la combinación del comportamiento farmacocinético y la CMI (farmacodinamia). Estos índices PK/PD se consideran variables subrogadas de la respuesta al tratamiento y los tres principales índices son los siguientes:

- 1) $\%T_{>CMI}$. Fracción del intervalo posológico con concentraciones que superan la CMI.
- 2) C_{max}/CMI . Relación entre la concentración máxima y el valor de la CMI.
- 3) AUC_{24h}/CMI . Relación entre el área bajo la curva concentración-tiempo en un intervalo de 24h y el valor de la CMI.

Dependiendo del antimicrobiano, la magnitud de los índices de eficacia PK/PD se define considerando la concentración de fármaco total o la fracción de fármaco libre (f).

En la Figura 6 se representan gráficamente los índices de eficacia de los antimicrobianos según su actividad⁷⁵.

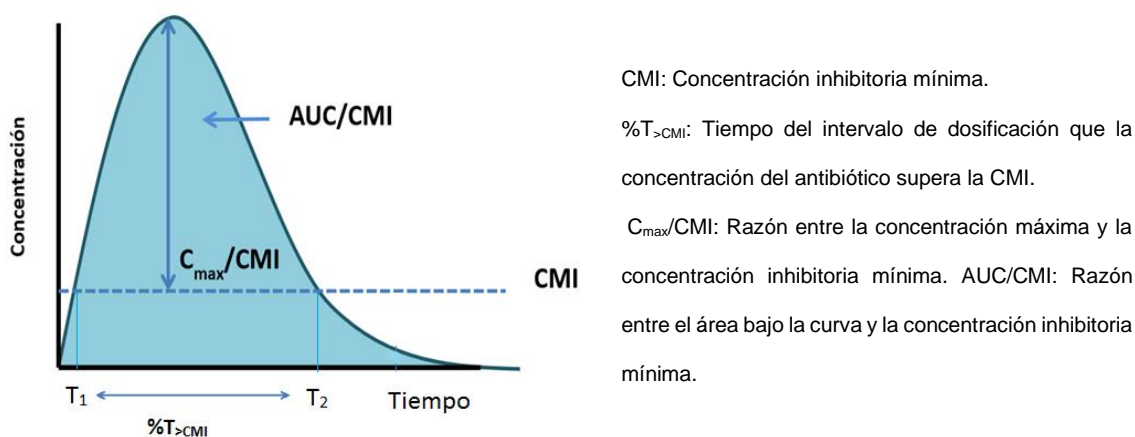


Figura 6. Representación gráfica de los índices PK/PD para antimicrobianos.

⁷⁵ Escobar L, Gai MN, Regueira T, Andresen M. Consideraciones farmacocinéticas en el paciente crítico. Rev Med Chile. 2012;140:780-788

Dependiendo del patrón de actividad de cada antimicrobiano y de la presencia de efecto post-antibiótico (EPA), se han descrito tres patrones principales de actividad antimicrobiana^{76,77,78}:

- 1) Antimicrobianos con actividad concentración dependiente y prolongado efecto post-antimicrobiano. Para estos antimicrobianos, los parámetros relacionados con la eficacia son C_{max}/CMI y/o el AUC_{24h}/CMI . Estos antimicrobianos se utilizan a altas dosis, y el prolongado EPA permite utilizar intervalos de dosificación amplios (una dosis diaria). Ejemplos de este grupo son: aminoglucósidos, fluoroquinolonas, polimixinas, daptomicina o metronidazol.
- 2) Antimicrobianos con actividad tiempo dependiente y efecto post-antimicrobiano mínimo o moderado. El objetivo de la terapia es conseguir una larga exposición al antimicrobiano. Para los antimicrobianos incluidos en este grupo, el tiempo durante el cual las concentraciones permanecen por encima de la CMI es el mejor índice PK/PD relacionado con la erradicación bacteriana y la respuesta microbiológica. Por lo general se expresa como el porcentaje de tiempo del intervalo de dosificación durante la cual la concentración de fármaco está por encima de la CMI ($\%T_{>CMI}$). Los β -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas, aztreonam) son antimicrobianos que pertenecen a este grupo.
- 3) Antimicrobianos con actividad concentración dependiente con tiempo dependencia. Al igual que en el primer caso, debido al efecto post-antimicrobiano prolongado consiguen una prolongada inhibición del crecimiento bacteriano cuando la concentración de antimicrobiano cae por debajo de la CMI. El mejor índice PK/PD para describir la eficacia

⁷⁶ Wong G, Sime FB, Lipman J, Robers JA. How do we use therapeutic drug monitoring to improve outcomes from severe infections in critically ill patients? *BMC Infec Dis*. 2014,14:288

⁷⁷ Cotta MO, Robers JA, Lipman J. Antibiotic dose optimization in critically ill patients. *Med Intensiva*. 2015;39:563-572

⁷⁸ Hefferman AJ, Sime FB, Lipman J, Robers JA. Individualising Therapy to minimize bacterial multidrug resistance. *Drugs* 2018;78:621–641

en estos fármacos es el AUC_{24h}/CMI . Es el perfil de actividad de tetraciclinas, tigeciclina, macrólidos, azitromicina, clindamicina, linezolid y otras oxazolidinonas, cloranfenicol, trimetoprima, sulfonamidas y vancomicina.

Para poder realizar un análisis PK/PD se debe establecer no solo el índice PK/PD adecuado como variable subrogada de eficacia, sino también la magnitud (objetivo PK/PD) que deben alcanzar dichos índices para garantizar la máxima probabilidad de éxito terapéutico, los cuales se han establecido mediante estudios tanto *in vitro* como *in vivo*⁷⁹. Estos estudios han permitido determinar:

- 1) La relación entre las concentraciones plasmáticas y las tisulares.
- 2) El curso temporal de la actividad antimicrobiana *in vivo*.
- 3) El índice PK/PD que se correlaciona con la actividad del antimicrobiano y el valor del mismo asociado a la eficacia.

Estos estudios han demostrado también que el índice PK/PD varía para diferentes clases de antimicrobianos. Sin embargo, la magnitud del objetivo a alcanzar es similar para varios sitios de infección, varios microorganismos y varios medicamentos dentro de la misma clase. La tabla 7 muestra la magnitud o el valor de los índices PK/PD asociados con el éxito de la terapia para diferentes antimicrobianos⁷³.

⁷⁹ Andes D, Craig WA. Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review. *Int J Antimicrob Agents* 2002;19:261-268

Tabla 7. Índice PK/PD relacionado con la eficacia y la magnitud a alcanzar del mismo para diferentes antimicrobianos⁷³⁷³.

Antimicrobiano	Índice eficacia	Magnitud
β-lactámicos		
• Penicilinas	$f \%T > CMI$	50-60
• Cefalosporinas	$f \%T > CMI$	60-70
• Carbapenemas	$f \%T > CMI$	40-50
Aminoglucósidos	C_{max}/CMI	10
Fluoroquinolonas	AUC_{24h}/CMI	125
Tetraciclinas	AUC_{24h}/CMI	25
Glucopéptidos (vancomicina)	AUC_{24h}/CMI	400
Macrólidos	AUC_{24h}/CMI	25

$f \%T > CMI$: Porcentaje del intervalo posológico con concentraciones de fármaco libre que superan la CMI. C_{max}/CMI : Concentración máxima dividida por CMI; AUC_{24h}/CMI : Área bajo la curva concentración-tiempo en un periodo de 24h dividido por CMI

El uso inapropiado de los antimicrobianos podría ser responsable de un mayor riesgo de fracaso terapéutico, mayor mortalidad, costo, toxicidad y la creciente aparición de resistencias. Por lo tanto, la aplicación del análisis PK/PD a la selección del antimicrobiano con actividad frente al patógeno responsable de la infección y de un régimen posológico que garantice una concentración óptima en el sitio de la infección es esencial para una antibioterapia óptima.

La simulación de Montecarlo permite estimar la influencia del régimen posológico en la probabilidad de alcanzar el objetivo PK/PD asociado con la eficacia del antimicrobiano, considerando la variabilidad en los parámetros farmacocinéticos y la distribución de valores de CMI dentro de una población bacteriana⁸⁰. Por consiguiente, la simulación de Montecarlo posibilita tanto la definición de los criterios de dosificación como la validez de un tratamiento antimicrobiano. Es decir, permite calcular la probabilidad de conseguir el objetivo

⁸⁰ Asín-Prieto E, Isla A, Canut A, Rodríguez-Gascón A. Comparison of antimicrobial pharmacokinetic/pharmacodynamic breakpoints with EUCAST and CLSI clinical breakpoints for Gram-positive bacteria. Int J Antimicrob Agents 2012;40:313-22

farmacodinámico o PTA (*probability of target attainment*) con diferentes posologías del antimicrobiano para cada valor de CMI.

Para el tratamiento empírico, cuando no se conoce la sensibilidad del microorganismo responsable de la infección, permite calcular la fracción de respuesta acumulada (CFR, *cumulative fraction of response*) a partir de la distribución de valores de CMI en un centro o ámbito geográfico determinado.

Valores de PTA y CFR entre el 80 y 90% se relacionan con una moderada probabilidad de éxito del tratamiento y valores superiores al 90% se consideran indicativos de eficacia⁸¹.

El uso de la simulación de Montecarlo para evaluar la probabilidad de éxito de los regímenes posológicos permite establecer puntos de corte en función de criterios PK/PD. El punto de corte PK/PD es el valor de CMI que permite alcanzar un valor de PTA > 90% con un determinado régimen posológico⁸⁰.

En los últimos años, además, se ha empezado a aplicar el análisis PK/PD para la prevención de resistencias con el objetivo de conocer los principios y los puntos de corte que predicen su aparición y difusión⁸². En la actualidad, está claramente establecido que una exposición inadecuada a los antimicrobianos puede llevar a la amplificación de subpoblaciones resistentes. La generación de mutantes resistentes dentro de una población bacteriana es un suceso inevitable, pero sí se puede intervenir para evitar la amplificación de la subpoblación y así preservar la actividad de los antimicrobianos. Las concentraciones de antimicrobianos por debajo de la CMI no seleccionarán subpoblaciones resistentes, pero al preservar toda la población

⁸¹ Canut Blasco A, Aguilar Alfaro L, Cobo Reinoso J, Giménez Mestre MJ, Rodríguez-Gascón A. Análisis farmacocinético-farmacodinámico en microbiología: herramienta para evaluar el tratamiento antimicrobiano. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33:48–57

⁸² Blondeau JM, Hansen G, Metzler K, Hedlin P. The role of PK/PD parameters to avoid selection and increase of resistance: mutant prevention concentration. *J Chemother*. 2004;16:1-19.

bacteriana, conducirán al fracaso terapéutico y al riesgo de que se produzcan más mutaciones espontáneas. Por el contrario, concentraciones por encima de la CMI que inhiban o maten a la población sensible pero no a la subpoblación resistente son las que inhibirán la población sensible mayoritaria permitiendo la amplificación de la subpoblación resistente hasta constituir ésta el global de la población bacteriana. El rango de concentraciones de antimicrobiano que se encuentra entre la CMI y la concentración que previene la aparición de mutaciones que conducen a la resistencia (CPM) se denomina ventana de selección de mutantes (VSM) que se muestra en la figura 7. El concepto de concentración preventiva de mutantes (CPM), definida como la concentración que restringe la amplificación de mutantes resistentes de primer paso dentro de una población sensible, sostiene que por encima de esta concentración el crecimiento bacteriano solo se espera que ocurra con 2 o más mutaciones concomitantes. Aunque no es esperable, mutaciones puntuales todavía pueden ocurrir, pero fracasará su amplificación cuando las concentraciones estén por encima de la CPM⁸¹.

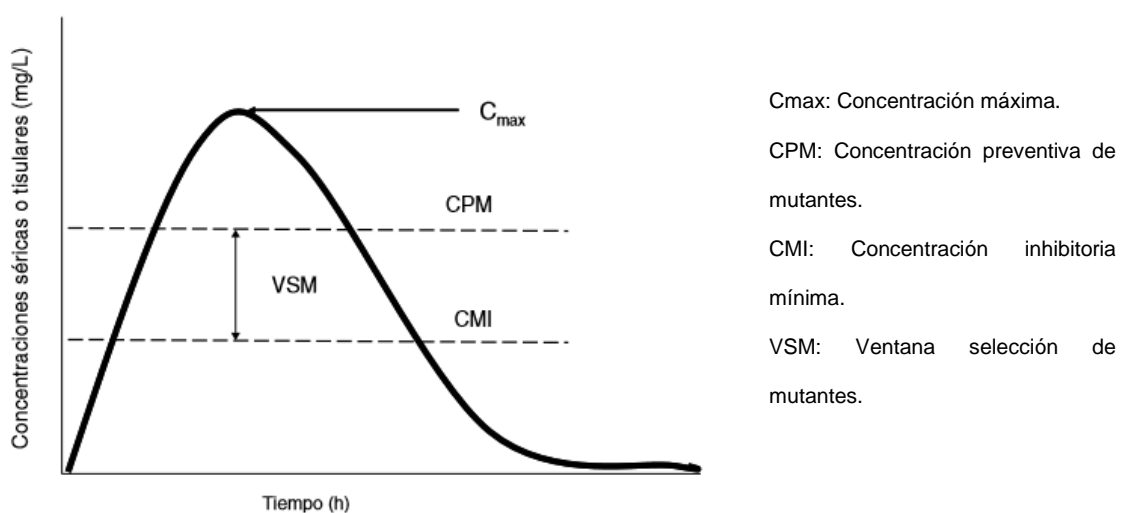


Figura 7. Representación gráfica de la concentración preventiva de mutantes y la ventana de selección de mutantes⁸¹

La selección de los regímenes posológicos dirigida a combatir la aparición de resistencias puede optimizarse mediante el análisis PK/PD, ya que su aplicación puede conducir no solo a una mejora de las probabilidades de éxito de la terapia, si no a la minimización de la aparición de resistencias y reducción de los efectos adversos⁷³. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para determinar los regímenes antimicrobianos que previenen el desarrollo de las resistencias⁶⁸⁸¹. La tabla 8 recoge los índices PK/PD recientemente asociados a la supresión de la emergencia de resistencia frente a bacterias gramnegativas⁸³. Los autores de la revisión concluyen que las concentraciones requeridas para evitar la emergencia de cepas resistentes son generalmente más elevadas que las concentraciones relacionadas con la eficacia clínica, lo que implica la necesidad de administrar dosis mayores de antimicrobianos y, en consecuencia, un mayor riesgo de toxicidad asociada al tratamiento.

Tabla 8. Índices PK/PD⁸³ estimados para la supresión de emergencia de resistencia frente a bacterias gramnegativas.

Antimicrobiano	Índice PK/PD	Magnitud
β-lactámicos	C_{min}/CMI	≥ 4
Aminoglicósidos	C_{max}/CMI	≥ 20
Fluoroquinolonas	AUC_{24}/CPM	≥ 35
Tetraciclinas	AUC_{24}/CMI	≥ 50
Polimixina B	AUC_{24}/CMI	≥ 808
Fosfomicina	AUC_{24}/CMI	≥ 3136

C_{min} : Concentración mínima; CMI: Concentración Mínima Inhibitoria; C_{max} : Concentración máxima; AUC_{24h} : Área bajo la curva concentración-tiempo en un periodo de 24h; CPM: concentración que previene la aparición de mutantes resistentes.

⁸³ Sumi CD, Heffernan AJ, Lipman J, Roberts JA, Sime FB. What Antibiotic Exposures Are Required to Suppress the Emergence of Resistance for Gram-Negative Bacteria? A Systematic Review. Clin Pharmacokinet. 2019;58:1407-1443.

El análisis PK/PD se postula, por tanto, como herramienta complementaria al análisis de sensibilidad acumulada para la optimización de la terapia antimicrobiana, y en los últimos años, también para establecer las pautas posológicas que permiten la prevención del desarrollo de mecanismos de resistencias⁷³. En el caso de la selección del tratamiento antimicrobiano, el análisis PK/PD permite establecer puntos de corte de exposición, y ajustar la terapia tanto si se conoce el valor de la CMI (cálculo de PTA) como si no (determinación de CFR en terapia empírica) teniendo en cuenta sus características individuales⁶². En el caso de la prevención de resistencias, el análisis permitiría la determinación de puntos de corte PK/PD asociados a la supresión de la emergencia de resistencia.

II) OBJETIVOS

OBJETIVOS

Pseudomonas aeruginosa es uno de los principales patógenos oportunistas en humanos. Es un bacilo gramnegativo caracterizado por una notable resistencia intrínseca a los antimicrobianos, que ha ido aumentando en los últimos años. Ello ha provocado la aparición de cepas multirresistentes, extremadamente resistentes e incluso panresistentes.

La vigilancia microbiológica ha sido reconocida como un componente fundamental en el control de las resistencias; en este sentido, la selección del tratamiento antimicrobiano empírico adecuado implica, idealmente, el conocimiento de la prevalencia de los microorganismos en un área geográfica determinada, así como la sensibilidad a los antimicrobianos.

Por otro lado, la idoneidad de un tratamiento antimicrobiano está condicionada tanto por la adecuada elección del fármaco como por el régimen posológico utilizado, siendo el análisis farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD) una herramienta útil para la selección del régimen posológico con mayor probabilidad de obtener una respuesta clínica favorable.

Por todo ello, el objetivo general del presente trabajo fue evaluar los cambios en la sensibilidad de *P. aeruginosa* a los antimicrobianos empleados habitualmente en el tratamiento de infecciones debidas a este microorganismo, así como la aplicación del análisis PK/PD y la simulación de Montecarlo como herramienta de vigilancia microbiológica.

Para la consecución de este objetivo principal, el trabajo se estructuró en las siguientes etapas:

- 1.-Evaluación de los cambios en la sensibilidad a los antimicrobianos amikacina, cefepima, ceftazidima, ciprofloxacino, gentamicina, imipenem, levofloxacino, meropenem, piperacilina/tazobactam y tobramicina de cepas de *P. aeruginosa* aisladas en pacientes durante su ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital Universitario de Álava (HUA) entre los años 2000 y 2017 y análisis de las variaciones de la actividad antimicrobiana durante

el mismo período de tiempo, utilizando criterios PK/PD. Como objetivo secundario, se analizará la influencia de los diferentes métodos para el manejo de aislados duplicados en el cálculo de la sensibilidad a los antimicrobianos.

2.-Evaluación de los cambios en la sensibilidad de los antimicrobianos anteriormente citados frente a cepas de *P. aeruginosa* aisladas en pacientes durante su ingreso en los Servicios Médico-Quirúrgicos del HUA entre los años 2000 y 2017 y comparación de la evolución de la sensibilidad con la evolución de la actividad antimicrobiana determinada mediante criterios PK/PD en el mismo período de tiempo.

3.-Estimación mediante criterios PK/PD de la actividad antimicrobiana de los fármacos anteriormente citados además de aztreonam, ceftazidima/avibactam, ceftolozano/tazobactam y colistina en aislados de *P. aeruginosa* recogidos en el estudio llevado a cabo por el Grupo de estudio de *Pseudomonas* de GEMARA-SEIMC (Grupo de Estudio de los mecanismos de acción y resistencia a los antimicrobianos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica) y REIPI (Red Española de Investigación de Investigación en Patología Infecciosa) en el mes de octubre de 2017 en pacientes de 51 hospitales que abarcaban 17 regiones españolas. Asimismo, se evaluará el papel del análisis PK/PD en la optimización de la terapia antimicrobiana como herramienta para minimizar la aparición de resistencias.

III) DISEÑO EXPERIMENTAL



CAPITULO I



Análisis farmacocinético/farmacodinámico como herramienta para la vigilancia de la actividad de los antimicrobianos frente a *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes críticos

Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis as a tool for surveillance of the activity of antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in critically ill patients

Valero A, Isla A, Rodríguez-Gascón A, Calvo B, Canut A, Solinís MA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis as a tool for surveillance of the activity of antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in critically ill patients. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2019;37(6):380-6

RESUMEN

Las infecciones causadas por bacterias resistentes a los antimicrobianos, especialmente los microorganismos denominados con el acrónimo "ESKAPE" (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp), presentan una incidencia cada vez mayor y provocan una morbilidad y mortalidad significativas, situación que se ve agravada por la falta de nuevos antimicrobianos. Cada centro sanitario debe generar localmente informes con los datos de sensibilidad con el propósito de guiar las decisiones clínicas y detectar tendencias que permitan diseñar estrategias para evitar la diseminación de cepas resistentes.

Sin embargo, no hay una única forma correcta de estimar la sensibilidad y el índice de resistencia, y dada la gran diversidad de algoritmos utilizados, el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) elaboró en 2006 la guía M39-A2 (en 2014 se ha publicado la edición M39-A4), que recoge recomendaciones para el análisis y la presentación de los datos de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos.

Por otro lado, para la optimización de los tratamientos, debemos tener en cuenta tanto las propiedades farmacocinéticas (PK) como farmacodinámicas (PD) de los antimicrobianos. La relación PK/PD junto con la simulación de Montecarlo son herramientas imprescindibles actualmente para seleccionar la dosis y el intervalo de dosificación más adecuados, así como para establecer los puntos de corte para cada antimicrobiano.

El objetivo del presente estudio fue, por tanto, evaluar los cambios en la sensibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* (2000-2017) a los antimicrobianos utilizados en una unidad de cuidados intensivos en España y compararlos con la actividad antimicrobiana considerando criterios farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD) teóricos. También se comparan los diferentes métodos para el manejo de aislados duplicados utilizados para cuantificar la sensibilidad.

Métodos: la sensibilidad se determinó siguiendo los puntos de corte del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Se realizaron simulaciones de Monte Carlo para calcular la fracción de respuesta acumulada (CFR). Se analizó la tendencia en la sensibilidad microbiana y la CFR a lo largo del tiempo mediante regresión lineal.

Resultados: en el análisis de tendencias se observó un descenso significativo en la sensibilidad a gentamicina e imipenem, y una disminución significativa de la CFR para ciprofloxacino, imipenem y levofloxacino. En los últimos años, amikacina, cefalosporinas y piperacilina/tazobactam presentaron los mayores valores de sensibilidad (>80%). La CFR para la mayoría de los antimicrobianos fue inferior al 70% durante el último periodo estudiado. Solo meropenem proporcionó altas probabilidades (>90%) de alcanzar el objetivo PK/PD. Las cefalosporinas proporcionaron probabilidades moderadas (>80%), siendo necesarias dosis elevadas de ceftazidima (2g/8h).

Conclusión: los datos de sensibilidad antimicrobiana y los valores de CFR deben considerarse herramientas complementarias y, por tanto, evaluarse conjuntamente tanto en actividades de vigilancia como en la evaluación de la eficacia terapéutica de los regímenes de dosificación. De hecho, los datos de sensibilidad no siempre son útiles para detectar cambios en la probabilidad de alcanzar el objetivo PK/PD. Finalmente, no se observaron diferencias relevantes entre los métodos para el manejo de aislados duplicados empleados.

1. INTRODUCTION

The Intensive Care Over Nations audit reported that more than one-third of patients developed an infection during their intensive care unit (ICU) stay¹. According to the Extended Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) II study, 51% of patients in ICUs were considered to be infected, with the group of Gram-negative organisms being the most predominant². *Pseudomonas aeruginosa* is one of the Gram-negative pathogens of major clinical and epidemiological importance, notably in ICU patients³. Antimicrobial treatment of critically ill patients is often complicated because of the development of antimicrobial resistance, even if the microorganisms responsible for the infection are susceptible at the start of treatment. Specifically, the management of infections caused by *P. aeruginosa* is a challenge because this bacteria has a great ability to become resistant, create biofilms and demonstrate a high level of intrinsic resistance⁴. Invasive infections with *P. aeruginosa* are associated with significant morbidity and mortality. In fact, mortality among individuals with severe *P. aeruginosa* infections reaches up to 70%⁵. This pathogen is also associated with the highest attributable mortality in nosocomial pneumonia (15%, rising to 35% in case of multidrug resistance)⁶.

¹ Vincent JL, Marshall JC, Namendys-Silva SA, François B, Martin-Loeches I, Lipman J, Reinhart K, Antonelli M, Pickkers P, Njimi H, Jimenez E, Sakr Y. ICON investigators. Assessment of the worldwide burden of critical illness: the Intensive Care Over Nations (ICON) audit. *Lancet Respir Med* 2014;2:380–6.

² Vincent J, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, Moreno R, Lipman J, Gomersall C, Sakr Y, Reinhart K. EPIC II Group of Investigators. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009;302:2323–9.

³ Kollef M.H, Chastre J, Fagon J.Y, François B, Niederman MS, Rello J, Torres A, Vincent JL, Wunderink RG, Go KW, Rehm C. Global prospective epidemiologic and surveillance study of ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Crit Care Med* 2014;42:2178-87.

⁴ Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006;43:S49–56.

⁵ DiMondi VP, Townsend ML, Drew RH. Risk factors associated with unfavorable short-term treatment outcome in patients with documented *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Int J Clin Pharm* 2015;37:348-54.

⁶ Melsen WG, Rovers MM, Groenwold RH, Bergmans DC, Camus C, Bauer TT, Hanisch EW, Klarin B, Koeman M, Krueger WA, Lacherade JC, Lorente L, Memish ZA, Morrow LE, Nardi G, Van Nieuwenhoven CA, O'Keefe GE, Nakos G, Scannapieco FA, Seguin P, Staudinger T, Topeli A, Ferrer M, Bonten MJM. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect Dis* 2013;13:665-71.

As a result of the declining effectiveness of existing antibiotics and the steady decrease in new antibiotic development, the optimization of the existing treatments is necessary. Efforts to control resistance include, among others, infection prevention and control practices, prudent use of antimicrobials, and surveillance programs. Guidelines and recommendations must incorporate the ecology of the hospital setting and the severity of patient illness to provide a personalized approach to antimicrobial treatment in the future⁷. In this regard, regular epidemiologic surveillance programs have an important role to guide the clinician towards appropriate empiric treatments.

Antimicrobial stewardship programs aim to provide assistance for optimal choice of drug, dosage and duration of treatment in order to reduce costs, adverse events and development of resistance. Pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis and Monte Carlo simulations have played roles for selecting appropriate antibiotic dosages with the goal of increasing treatment efficacy and reducing the risk of selecting multidrug-resistant pathogens⁸. Zelenitsky *et al.* evaluated the activity of antibiotics used to treat critically ill patients against *P. aeruginosa* over time. They concluded that the simple assessment of the susceptibility profile is useful but it is not enough to detect changes in the overall activities of antimicrobial agents⁹, which shows the need of additional methods such as PK/PD analysis.

The main objective of the present study was to evaluate the changes in the susceptibility of antimicrobials used against *P. aeruginosa* over time in an ICU of a tertiary hospital in Spain from

⁷ Zilahi G, Artigas A, Martin-Loeches I. What's new in multidrug-resistant pathogens in the ICU? *Ann Intensive Care* 2016;6:96.

⁸ Roberts JA, Kirkpatrick CM, Lipman J. Monte Carlo simulations: maximizing antibiotic pharmacokinetic data to optimize clinical practice for critically ill patients. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:227-31.

⁹ Zelenitsky SA, Rubinstein E, Ariano RE, Zhanel GG. Canadian Antimicrobial Resistance Alliance. Integrating pharmacokinetics, pharmacodynamics and MIC distributions to assess changing antimicrobial activity against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* causing infections in Canadian hospitals (CANWARD). *J Antimicrob Chemother* 2013;68:i67-72.

2000 to 2017, and to compare them with the changes in the antimicrobial activity by applying a theoretical PK/PD analysis. A secondary objective was to evaluate these results when different methods for handling of duplicate isolates were considered to quantify susceptibility rates.

2. METHODS

2.1. Microbiological data

Microbiological data were obtained by reviewing information about *P. aeruginosa* isolates collected at the ICU of the University Hospital of Araba (HUA), a Spanish tertiary hospital, between 1st January 2000 and 31st December 2017. The susceptibility (expressed as minimum inhibitory concentration, MIC) to amikacin, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacin, gentamicin, levofloxacin, imipenem, meropenem, piperacillin/tazobactam and tobramycin was studied considering the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) breakpoints¹⁰ (Table 1).

Table 1. CLSI susceptibility breakpoints for *P. aeruginosa* of the studied antimicrobials¹⁰.

Antimicrobial agent	MIC interpretive criteria (mg/L)	
	Susceptible	Resistant
Amikacin	≤ 16	≥ 64
Cefepime	≤ 8	≥ 32
Ceftazidime	≤ 8	≥ 32
Ciprofloxacin	≤ 1	≥ 4
Gentamicin	≤ 4	≥16
Imipenem	≤ 2	≥8
Levofloxacin	≤ 2	≥8
Meropenem	≤ 2	≥8
Piperacillin/tazobactam	≤ 16	≥128
Tobramycin	≤ 4	≥16

¹⁰ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 28th ed. CLSI supplement M100. CLSI, Wayne, PA, USA; 2018.

According to the CLSI¹¹ guideline, when the number of isolates per specie is less than 30, data on the organism from data collected over more than 12 consecutive months should be combined. In our case, susceptibilities were calculated in two-year periods. The percentage of susceptible strains in every period was estimated by using 5 different methods, following the methodology recommended by the CLSI: 1) Including all isolates, that is, minimum processing strategy; 2) Considering only the first isolate (CLSI criteria): only the first isolate per patient, per analysis period, irrespective of body site, antimicrobial susceptibility profile, or other phenotypical characteristics; 3) Eliminating duplicates by variation in antimicrobial susceptibility (European Antimicrobial Resistance Surveillance System, EARSS criteria). All the isolates from a patient that had the same pattern of susceptibility to a group of antimicrobials were eliminated; 4 and 5) Eliminating duplicates by time. We calculated the effect on susceptibility frequencies of eliminating isolates obtained from the same patient in an interval of time of less or equal to 7 (method 4) and 30 days (method 5).

The data were analysed with the WHONET software, version 5.6.

¹¹ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data*. Fourth ed. Approved guideline M39-A4. CLSI, Wayne, PA, USA; 2018.

2.2. Pharmacokinetic data

Pharmacokinetic (PK) parameters obtained from the literature^{12,13,14,15,16,17,18,19,20,21} are shown in table 2. Prospective studies performed in critically ill patients with infections providing the PK parameters and variability were selected.

¹² Zazo H, Martín-Suárez A, Lanao JM. Evaluating amikacin dosage regimens in intensive care unit patients: a pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis using Monte Carlo simulation. *Int J Antimicrob Agents* 2013;42:155-60

¹³ Lipman J, Wallis SC, Rickard C. Low plasma Cefepime levels in critically ill septic patients: Pharmacokinetics modeling indicates improved troughs with revised dosing. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2559.

¹⁴ Benko AS, Cappelletty DM, Kruse JA, Rybak MJ. Continuous infusion versus intermittent administration of ceftazidime in critically ill patients with suspected Gram-negative infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:691-5.

¹⁵ Conil JM, Georges B, de Lussy A, Khachman D, Seguin T, Ruiz S, Cougot P, Fourcade O, Houin G, Saivin S. Ciprofloxacin use in critically ill patients: pharmacokinetic and pharmacodynamic approaches. *Int J Antimicrob Agents* 2008;32:505-10.

¹⁶ Xuan D, Nicolau DP, Nightingale CH. Population pharmacokinetics of gentamicin in hospitalized patients receiving once-daily dosing. *Int J Antimicrob Agents* 2004;23:291-5.

¹⁷ Lipš M, Siller M, Strojil J, Urbánek K, Balík M, Suchánková H. Pharmacokinetics of imipenem in critically ill patients during empirical treatment of nosocomial pneumonia: A comparison of 0.5-h and 3h infusion. *Int J Antimicrob Agents* 2014;44:358–62.

¹⁸ Rebuck JA, Fish DN, Abraham E. Pharmacokinetics of Intravenous and Oral Levofloxacin in Critically Ill Adults in a Medical Intensive Care Unit. *Pharmacotherapy* 2002;22:1216-25.

¹⁹ Isla A, Canut A, Arribas J, Asín-Prieto E, Rodríguez-Gascón A. Meropenem dosing requirements against Enterobacteriaceae in critically ill patients: influence of renal function, geographical area and presence of extended-spectrum β -lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016;35:511–9

²⁰ Li C, Kuti JL, Nightingale CH, Mansfield DL, Dana A, Nicolau DP. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of piperacillin/tazobactam in patients with complicated intra-abdominal infection. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:388-95.

²¹ Peris-Martí JF, Borrás-Blasco J, Rosique-Robles JD, Gonzalez-Delgado M. Evaluation of once daily tobramycin dosing in critically ill patients through Bayesian simulation. *J Clin Pharm Ther* 2004;29:65-70.

Table 2. Pharmacokinetic parameters for each antimicrobial agent from published studies in critically ill patients (mean± standard deviation)¹²⁻²¹.

Antimicrobial Agent	Vd (L)	Cl(L/h)	Ke(h ⁻¹)	fu
Amikacin	36.27 ± 8.34	5.58 ± 1.56		
Cefepime	21.8 ± 5.10	7.62 ± 1.98		0.85
Ceftazidime	18.9 ± 9		0.27 ± 0.205	
Ciprofloxacin		13.6 ± 5.8		
Gentamicin	19.6 ± 1.14	4.32 ± 1.28		
Imipenem	28.7 ± 9.7	11.4 ± 3.53		0.8
Levofloxacin		8.04 ± 2.1		
Meropenem	22.7 ± 3.7	13.6 ± 2.082		0.98
Piperacillin/tazobactam	19.4 ± 7.76	13.8 ± 4.77		0.75
Tobramycin	17.5 ± 5.25		0.249 ± 0.01	

Vd: Volume of distribution, Cl: clearance; Ke: Elimination rate constant, fu: unbound drug fraction

2.3. Theoretical pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis and Monte Carlo simulation

For each antimicrobial, a 10,000 subject Monte Carlo simulation was conducted, with the Oracle® Crystal Ball software, using the PK data and the MIC values to calculate the probability of target attainment (PTA) and the cumulative fraction of response (CFR). Table 3 shows the magnitude of the PK/PD indices associated with the success of therapy for each antimicrobial²² and the evaluated dosing regimens.

Table 3. Dosage regimens evaluated and pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) targets for each antimicrobial agent²².

Antimicrobial Agent	Dosing regimen	Infusion time	PK/PD target
Amikacin	20mg/kg/24h	0.5-h	$C_{max}/MIC >10$
Cefepime	2g/8h	0.5-h	$\%fT >MIC >70$
Ceftazidime	2g/8-12h	0.5-h	$\%fT >MIC >70$
Ciprofloxacin	400mg/8-12h	1-h	$AUC/MIC >125$
Gentamicin	7mg/kg/24h	0.5-h	$C_{max}/MIC >10$
Imipenem	1g/6h	1-h	$\%fT >MIC >40$
Levofloxacin	500mg/12-24h	1-h	$AUC/MIC >125$
Meropenem	2g/8h	0.5-h	$\%fT >MIC >40$
Piperacillin/tazobactam	4.5g/6-8h	0.5-h	$\%fT >MIC >50$
Tobramycin	7mg/kg/24h	0.5-h	$C_{max}/MIC >10$

²² Asín-Prieto E, Isla A, Canut A, Rodríguez-Gascón A. Comparison of antimicrobial pharmacokinetic/pharmacodynamic breakpoints with EUCAST and CLSI clinical breakpoints for Gram-positive bacteria. Int J Antimicrob Agents 2012;40:313-22.

2.3.1. Probability of target attainment

The probability of target attainment (PTA) is defined as the probability that a specific value of the PK/PD index associated with the efficacy of the antimicrobial is achieved at a certain MIC (it corresponds to the percentage of simulated patients with an estimated PK/PD index equal to or higher than the value related to efficacy of the antimicrobial against a pathogen with certain MIC)²³.

The PTA was calculated using the following equations:

- Time dependent activity antimicrobials (iv infusion administered)¹⁹:

$$f\%T_{>MIC} = [(t_2 + t_i) - t_1] \cdot \frac{100}{\tau}$$

Where $fT_{>MIC}$ is the proportion of time that the free serum concentration remains above the MIC at steady state (%) over a dosing interval, t_1 (h) corresponds to the time at which the free serum concentration reached the MIC during the infusion phase; t_2 (h) corresponds to the post-infusion time at which the free serum concentration equaled the MIC in the elimination phase, and τ is the dosing interval. t_1 and t_2 were calculated as follows:

$$t_1 = \frac{(MIC - fC_{min,ss})}{(fC_{max,ss} - fC_{min,ss})} \cdot t_{inf}$$

$$t_2 = \text{Ln} \left(\frac{fC_{max,ss}}{MIC} \right) \cdot \frac{1}{k_e}$$

Where k_e is the elimination rate constant, $fC_{min,ss}$ y $fC_{max,ss}$ are the minimum and maximum serum concentrations of unbound drug (mg/L) at steady state, respectively, and were estimated

²³ Mouton JW, Dudley MN, Cars O, Derendorf H, Drusano GL. Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. J Antimicrob Chemother 2005;55:601-607.

according to the following equations using the total clearance (Cl), volumen of distribution (Vd), total dose administered (D) and the unbound fraction (f_u) data.

$$fC_{\min,ss} = fC_{\max,ss} \cdot e^{-k_e(\tau-t_i)}$$

$$fC_{\max,ss} = f_u \cdot \frac{D}{CL \cdot t_i} \cdot (1 - e^{-k_e \cdot t_i}) \cdot \frac{1}{1 - e^{-k_e \tau}}$$

- Concentration-time dependent antimicrobials:
 - C_{\max}/MIC^{24} : Ratio of the maximum drug plasma concentration divided by the MIC

$$C_{max} = \frac{k_0 \cdot (1 - e^{(-k_e \cdot T_{inf})})}{CL \cdot (1 - e^{(-k_e \cdot \tau)})}$$

Where k_0 is the infusion rate, k_e is the elimination rate constant, T_{inf} is the infusion time, CL total clearance and τ is the dosing Interval.

- AUC_{24h}/MIC^{18} : Ratio of the area under the antimicrobial concentration time curve for 24h divided by the MIC.

$$AUC_{24h} = \frac{D_{24h}}{CL}$$

Where AUC_{24h} is the area under the serum concentration time-curve over 24h and D_{24h} is the daily administered dose.

²⁴ Gamundi Planas MC (2002) Farmacocinética clínica. En Calvo MV, García MJ, Martínez J, Fernández MM. *Farmacia Hospitalaria Tomo I* (pp.625-665). Publicaciones de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria.

2.3.2. Cumulative fraction of response

The probability that a specific value of the PK/PD index associated with the efficacy of an antimicrobial agent is achieved at a specific population of microorganisms is known as the cumulative fraction of response (CFR)²³. The CFR is defined as the expected population PTA given a population of microorganism for a specific dosing regimen. It allowed us to calculate the probability of success for a treatment taking into account the bacterial population MIC distribution, it was calculated with the equation:

$$CFR = \sum_{i=1}^n PTA_i \times F_i$$

Where the CFR (%) results from the total sum of the products of the PTA at a certain MIC times the frequency (Fi) of isolates of microorganism exhibiting that MIC over the range of susceptibility pathogen.

The CFR values were calculated for two-year periods from 2000-2001 to 2016-2017 and considering MIC values using the five methods of eliminating duplicates described above.

CFR values greater than or equal to 90% were considered optimal, while values lower than 90% but higher than or equal to 80% were associated with moderate probabilities of success.

2.4. Statistical analysis

A *paired t-test* was used to detect differences in the susceptibility rates calculated with the different methods for handling of duplicate isolates. Linear regression analysis was applied to determine the trends in *P. aeruginosa* antimicrobial susceptibility and in the CFR along the above-mentioned period. According to Friedrich *et al.*²⁵, an appropriate goodness of fit was considered when there was a coefficient of determination (r^2) of at least 0.5 (corresponding to a correlation coefficient of ≥ 0.7). A p value <0.05 was considered statistically significant. Statistical analyses were performed with IBM® SPSS®, Statistics for Windows, Version 24 (IBM).

3. RESULTS

The susceptibility rates calculated according to all the criteria for handling of duplicate isolates are shown in table 4. Considering the first isolate (CLSI criteria) the last years evaluated (2016-2017), *P. aeruginosa* displayed high susceptibility to amikacin (92%), cephalosporins (87%) and piperacillin/tazobactam (84%). Susceptibility to the other antimicrobials was $<72\%$. Susceptibility rates turned out to be significantly different depending on the used method. Generally, when all isolates were considered, the susceptibilities were the lowest; on the contrary, the highest values were obtained when only the first isolate was used (mean differences ranged from 1.32 to 6.51 percentage points; maximum difference, 19 percentage points).

²⁵ Friedrich LV, White RL, Bosso JA. Impact of use of multiple antimicrobial on changes in susceptibility of gram negative aerobes. Clin Infect Dis 1999;28:1017-24.

Table 4. Percentage of susceptible *P. aeruginosa* strains from 2000 to 2017 calculated by the five methods for handling of duplicate isolates.

Antimicrobial agent	Period								
	2000-2001	2002-2003	2004-2005	2006-2007	2008-2009	2010-2011	2012-2013	2014-2015	2016-2017
Amikacin									
All isolates	90	90	98	91	91	92	95	<u>83</u>	91
First isolate	93	95	100	96	94	92	94	<u>85</u>	92
Variation in susceptibility	90	92	97	93	<u>88</u>	93	93	<u>85</u>	94
Repeats + 7 days	93	91	98	91	91	92	93	<u>80</u>	92
Repeats + 30 days	94	96	100	96	95	92	94	<u>85</u>	92
Cefepime									
All isolates	73	62	75	69	75	71	<u>84</u>	72	<u>88</u>
First isolate	<u>84</u>	74	<u>87</u>	72	76	<u>81</u>	<u>81</u>	76	<u>87</u>
Variation in susceptibility	74	62	77	70	72	75	79	76	<u>87</u>
Repeats + 7 days	70	65	77	71	73	79	<u>82</u>	72	<u>85</u>
Repeats + 30 days	<u>82</u>	71	<u>87</u>	68	75	<u>80</u>	<u>82</u>	78	<u>86</u>
Ceftazidime									
All isolates	77	68	77	68	<u>81</u>	69	77	73	<u>87</u>
First isolate	<u>83</u>	79	90	74	<u>88</u>	74	76	77	<u>87</u>
Variation in susceptibility	72	68	<u>81</u>	70	<u>81</u>	72	74	77	<u>88</u>
Repeats + 7 days	73	69	<u>80</u>	74	<u>84</u>	72	74	74	<u>87</u>
Repeats + 30 days	<u>82</u>	77	90	71	<u>85</u>	75	78	79	<u>85</u>
Ciprofloxacin									
All isolates	<u>81</u>	72	77	40	41	39	54	51	56
First isolate	<u>88</u>	<u>86</u>	<u>82</u>	46	47	52	60	52	58
Variation in susceptibility	<u>80</u>	73	77	42	43	53	57	54	60
Repeats + 7 days	<u>81</u>	78	75	39	40	45	54	48	58
Repeats + 30 days	<u>86</u>	<u>80</u>	<u>82</u>	45	44	52	56	51	60
Gentamicin									
All isolates	69	62	71	52	41	37	42	50	61
First isolate	<u>83</u>	76	79	62	52	46	49	53	63
Variation in susceptibility	79	70	79	61	50	47	46	53	66
Repeats + 7 days	71	67	74	55	46	43	46	48	64
Repeats + 30 days	66	66	71	52	42	41	41	53	64
Imipenem									
All isolates	73	68	75	35	36	46	44	46	46
First isolate	81	83	78	42	43	65	51	45	49
Variation in susceptibility	73	70	75	37	39	60	48	47	50
Repeats + 7 days	72	77	76	37	38	57	48	41	44
Repeats + 30 days	<u>80</u>	79	78	41	44	64	49	44	48

Table 4 (cont). Percentage of susceptible *P. aeruginosa* strains from 2000 to 2017 calculated by the five methods for handling of duplicate isolates.

Antimicrobial agent	2000-2001	2002-2003	2004-2005	2006-2007	2008-2009	2010-2011	2012-2013	2014-2015	2016-2017
Levofloxacin									
All isolates	79	70	78	40	44	46	55	55	55
First isolate	<u>87</u>	<u>81</u>	77	46	49	59	63	57	58
Variation in susceptibility	76	70	74	43	46	60	59	59	58
Repeats + 7 days	77	73	77	40	46	50	56	52	56
Repeats + 30 days	<u>84</u>	78	77	44	47	59	60	56	59
Meropenem									
All isolates	73	71	64	48	38	44	49	46	55
First isolate	72	<u>81</u>	74	56	44	61	55	48	61
Variation in susceptibility	70	71	67	50	40	58	52	48	60
Repeats + 7 days	69	76	64	50	37	55	50	44	55
Repeats + 30 days	71	77	74	54	44	61	52	47	61
Piperacillin/tazobactam									
All isolates	68	65	74	56	51	47	46	70	79
First isolate	<u>80</u>	76	<u>83</u>	62	65	66	51	76	<u>84</u>
Variation in susceptibility	71	65	75	53	56	59	52	74	<u>83</u>
Repeats + 7 days	70	66	75	59	53	58	48	70	<u>81</u>
Repeats + 30 days	<u>81</u>	74	<u>83</u>	61	62	66	48	77	<u>83</u>
Tobramycin									
All isolates	<u>87</u>	<u>81</u>	76	54	46	39	48	54	70
First isolate	<u>88</u>	<u>89</u>	<u>83</u>	60	53	54	54	57	71
Variation in susceptibility	<u>83</u>	<u>83</u>	79	52	49	54	50	57	72
Repeats + 7 days	<u>86</u>	<u>83</u>	76	52	47	46	47	52	72
Repeats + 30 days	<u>88</u>	<u>82</u>	<u>83</u>	60	51	54	51	56	72

In bold susceptibility $\geq 90\%$; Underlined: susceptibility $\geq 80\%$ and $< 90\%$

All isolates: including all isolates; First isolate considering only the first isolate (CLSI criteria); Variation in susceptibility: eliminating all the isolates from a patient that had the same pattern of susceptibility (EARSS criteria); Repeats + 7 days or + 30 days: eliminating isolates obtained from the same patient at day 7 or 30.

Table 5 shows the results of the trend analysis obtained with all the methods. Considering the first isolate, the susceptibility rates to amikacin, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacin, levofloxacin, meropenem, piperacillin/tazobactam and tobramycin were stable. In contrast, the susceptibility to gentamicin and imipenem decreased significantly over time. Globally, considering all methods, results are similar, with a few exceptions.

Table 5. Details of the susceptibility trends calculated by the five methods for handling of duplicate isolates.

Antimicrobial	r	r ²	CI		p	β	Trend
			Lower limit	Higher limit			
Amikacin							
All isolates	0.25	0.06	-0.82	0.46	0.52	-0.18	-
First isolate	0.57	0.33	-0.95	0.12	0.11	-0.42	-
Variation in susceptibility	0.17	0.03	-0.68	0.46	0.67	-0.11	-
Repeats + 7 days	0.44	0.20	-1.08	0.31	0.23	-0.38	-
Repeats + 30 days	0.64	0.41	-0.99	0.04	0.07	-0.48	-
Cefepime							
All isolates	0.22	0.05	-0.45	0.75	0.57	0.15	-
First isolate	0.57	0.32	-1.00	0.13	0.11	-0.43	-
Variation in susceptibility	0.24	0.06	-0.42	0.75	0.54	0.16	-
Repeats + 7 days	0.10	0.01	-0.57	0.72	0.79	0.08	-
Repeats + 30 days	0.44	0.19	-0.99	0.29	0.24	-0.35	-
Ceftazidime							
All isolates	0.40	0.16	-0.49	1.43	0.29	0.47	-
First isolate	0.13	0.02	-1.16	0.86	0.74	-0.15	-
Variation in susceptibility	0.56	0.31	-0.21	1.53	0.12	0.66	-
Repeats + 7 days	0.44	0.19	-0.40	1.35	0.24	0.48	-
Repeats + 30 days	0.02	0.00	-0.97	0.94	0.97	-0.02	-
Ciprofloxacin							
All isolates	0.59	0.35	-3.89	0.39	0.10	-1.75	-
First isolate	0.70	0.48	-4.17	-0.16	0.04	-2.17	-
Variation in susceptibility	0.54	0.29	-3.30	0.54	0.13	-1.38	-
Repeats + 7 days	0.60	0.36	-3.97	0.34	0.09	-1.82	-
Repeats + 30 days	0.65	0.43	-4.00	0.07	0.06	-1.97	-
Gentamicin							
All isolates	0.52	0.27	-2.92	0.57	0.16	-1.18	-
First isolate	0.74	0.55	-3.39	-0.36	0.02	-1.88	Decreasing
Variation in susceptibility	0.64	0.41	-3.15	0.10	0.06	-1.53	-
Repeats + 7 days	0.58	0.34	-2.87	0.32	0.10	-1.28	-
Repeats + 30 days	0.45	0.20	-2.73	0.77	0.23	-0.98	-
Imipenem							
All isolates	0.66	0.43	-3.79	0.04	0.05	-1.88	-
First isolate	0.73	0.53	-4.20	-0.35	0.03	-2.28	Decreasing
Variation in susceptibility	0.60	0.36	-3.49	0.29	0.09	-1.60	-
Repeats + 7 days	0.71	0.50	-4.05	-0.22	0.03	-2.13	Decreasing
Repeats + 30 days	0.73	0.54	-4.08	-0.39	0.02	-2.23	Decreasing

Table 5 (cont.). Details of the susceptibility trends calculated by the five methods for handling of duplicate isolates.

Antimicrobial	r	r ²	CI		p	β	Trend
			Lower limit	Higher limit			
Levofloxacin							
All isolates	0.57	0.33	-3.45	0.43	0.11	-1.51	-
First isolate	0.65	0.42	-3.48	0.10	0.06	-1.69	-
Variation in susceptibility	0.47	0.22	-2.62	0.66	0.20	-0.98	-
Repeats + 7 days	0.59	0.35	-3.30	0.32	0.09	-1.49	-
Repeats + 30 days	0.60	0.36	-3.36	0.28	0.09	-1.54	-
Meropenem							
All isolates	0.67	0.44	-3.02	0.00	0.05	-1.51	-
First isolate	0.65	0.43	-2.98	0.05	0.06	-1.47	-
Variation in susceptibility	0.56	0.31	-2.54	0.36	0.11	-1.09	-
Repeats + 7 days	0.65	0.42	-2.98	0.07	0.06	-1.46	-
Repeats + 30 days	0.64	0.41	-2.88	0.10	0.06	-1.39	-
Piperacillin/tazobactam							
All isolates	0.23	0.00	-2.03	1.93	0.95	-0.05	-
First isolate	0.18	0.03	-2.15	1.41	0.64	-0.37	-
Variation in susceptibility	0.15	0.02	-1.49	2.07	0.71	0.09	-
Repeats + 7 days	0.00	0.00	-1.74	1.76	0.99	0.01	-
Repeats + 30 days	0.18	0.03	-2.34	1.54	0.64	-0.40	-
Tobramycin							
All isolates	0.59	0.34	-4.10	0.44	0.10	-1.83	-
First isolate	0.68	0.46	-3.73	-0.07	0.04	-1.90	-
Variation in susceptibility	0.55	0.31	-3.48	0.51	0.12	-1.48	-
Repeats + 7 days	0.58	0.34	-3.98	0.43	0.10	-1.78	-
Repeats + 30 days	0.65	0.42	-3.63	0.10	0.06	-1.77	-

r: correlation coefficient; r²: coefficient of determination; CI: Confidence interval; β: slope

In bold r² ≥ 0.49; In italic p < 0.05

Table 6 features the probability to reach the PK/PD target (CFR values). The results for amikacin have not been included because CFR could not be adequately calculated, since when antibiograms were done, amikacin concentrations ranged from 4 mg/L to 32 mg/L; therefore, a susceptibility profile for MICs <4 mg/L was not available.

During the last two-year period, the highest CFR values were obtained for meropenem (90%), ceftazidime 2g/12h (89%) and cefepime (82%). High CFR values were also obtained with imipenem until 2004-2005, but afterwards, they ranged from 67 to 78%. The CFRs for the other antimicrobials were <73%. Statistically significant differences were observed in the CFR values depending on the method for handling of duplicate isolates, like for susceptibility rates (mean differences ranged from 0.63 to 4.60 percentage points; maximum difference, 15 percentage points).

Table 6. Antimicrobials' CFRs, for the recommended dosage regimens, calculated by the five methods for handling of duplicate isolates.

Antimicrobial agent	Period								
	2000-2001	2002-2003	2004-2005	2006-2007	2008-2009	2010-2011	2012-2013	2014-2015	2016-2017
Cefepime 2g/8h									
All isolates	79	75	81	76	77	<u>80</u>	85	73	82
First isolate	<u>86</u>	<u>87</u>	90	79	<u>80</u>	<u>85</u>	<u>84</u>	77	<u>82</u>
Variation in susceptibility	79	77	84	76	76	<u>84</u>	<u>83</u>	76	<u>83</u>
Repeats + 7 days	76	78	<u>83</u>	78	77	<u>83</u>	<u>84</u>	72	<u>81</u>
Repeats + 30 days	<u>87</u>	<u>83</u>	90	77	<u>80</u>	<u>85</u>	<u>84</u>	77	<u>82</u>
Ceftazidime 2g/8h									
All isolates	<u>89</u>	<u>85</u>	<u>89</u>	<u>84</u>	<u>89</u>	<u>85</u>	<u>87</u>	<u>84</u>	<u>89</u>
First isolate	91	90	93	<u>87</u>	91	<u>88</u>	<u>86</u>	<u>88</u>	<u>89</u>
Variation in susceptibility	<u>89</u>	<u>86</u>	90	<u>85</u>	<u>89</u>	<u>87</u>	<u>85</u>	<u>86</u>	<u>89</u>
Repeats + 7 days	<u>88</u>	<u>86</u>	<u>89</u>	<u>87</u>	<u>89</u>	<u>87</u>	<u>86</u>	<u>85</u>	<u>89</u>
Repeats + 30 days	92	<u>89</u>	93	<u>86</u>	90	<u>88</u>	<u>87</u>	<u>89</u>	<u>89</u>
Ceftazidime 2g/12h									
All isolates	79	74	79	72	77	72	75	72	77
First isolate	<u>82</u>	<u>80</u>	<u>85</u>	75	<u>81</u>	77	76	76	78
Variation in susceptibility	77	75	<u>80</u>	72	77	76	73	74	77
Repeats + 7 days	77	74	<u>80</u>	74	78	76	74	73	77
Repeats + 30 days	<u>83</u>	79	<u>85</u>	74	79	77	75	77	78
Ciprofloxacin 400mg/8h									
All isolates	71	60	70	36	35	38	47	46	50
First isolate	76	71	73	41	41	50	53	46	50
Variation in susceptibility	69	59	70	38	37	51	48	52	48
Repeats + 7 days	69	64	69	36	34	44	47	42	51
Repeats + 30 days	75	67	73	40	40	50	48	45	52

Table 6 (cont.). Antimicrobials' CFRs, for the recommended dosage regimens, calculated by the five methods for handling of duplicate isolates.

Antimicrobial agent	Period								
	2000-2001	2002-2003	2004-2005	2006-2007	2008-2009	2010-2011	2012-2013	2014-2015	2016-2017
Ciprofloxacin 400mg/12h									
All isolates	64	51	64	33	30	35	39	38	38
First isolate	68	62	67	37	36	48	47	38	36
Variation in susceptibility	61	51	64	35	32	48	42	38	40
Repeats + 7 days	61	55	64	33	30	41	41	35	36
Repeats + 30 days	67	60	67	36	35	47	44	37	38
Gentamicin 7mg/kg/24h									
All isolates	41	50	55	34	32	34	35	36	45
First isolate	49	65	61	44	39	42	40	38	43
Variation in susceptibility	44	53	59	37	36	38	41	40	46
Repeats + 7 days	41	52	54	35	33	36	36	36	47
Repeats + 30 days	47	62	62	42	38	42	38	38	44
Imipenem 1g/6h									
All isolates	90	92	92	64	63	67	74	72	73
First isolate	94	93	94	70	67	78	75	74	74
Variation in susceptibility	92	92	93	68	65	74	74	74	76
Repeats + 7 days	89	93	92	67	60	72	75	71	73
Repeats + 30 days	94	93	94	70	67	77	74	75	73
Levofloxacin 500mg/12h									
All isolates	66	54	67	32	29	22	28	29	27
First isolate	72	67	67	37	34	29	31	28	30
Variation in susceptibility	64	56	66	34	29	28	29	30	30
Repeats + 7 days	63	57	67	32	29	25	28	26	28
Repeats + 30 days	72	63	67	34	33	28	29	29	30

Table 6 (cont.). Antimicrobials' CFRs, for the recommended dosage regimens, calculated by the five methods for handling of duplicate isolates.

Antimicrobial agent	Period								
	2000-2001	2002-2003	2004-2005	2006-2007	2008-2009	2010-2011	2012-2013	2014-2015	2016-2017
Levofloxacin 500mg/24h									
All isolates	44	36	48	19	16	0	0	0	0
First isolate	48	48	47	23	19	0	0	0	0
Variation in susceptibility	43	39	44	21	15	0	0	0	0
Repeats + 7 days	41	38	48	18	17	0	0	0	0
Repeats + 30 days	49	44	47	21	19	0	0	0	0
Meropenem 2g/8h									
All isolates	<u>86</u>	<u>84</u>	<u>85</u>	67	58	63	71	<u>86</u>	<u>89</u>
First isolate	<u>88</u>	90	<u>89</u>	75	65	71	71	<u>89</u>	90
Variation in susceptibility	<u>86</u>	<u>83</u>	<u>87</u>	69	61	70	71	<u>89</u>	91
Repeats + 7 days	<u>84</u>	<u>85</u>	<u>86</u>	70	57	68	70	<u>86</u>	90
Repeats + 30 days	<u>87</u>	<u>87</u>	91	71	64	74	69	<u>89</u>	<u>89</u>
Piperacillin/tazobactam 4.5g/8h									
All isolates	39	38	43	32	32	29	28	4	47
First isolate	46	44	50	36	39	39	33	45	49
Variation in susceptibility	40	37	45	30	35	35	31	43	49
Repeats + 7 days	39	38	47	33	33	34	29	41	48
Repeats + 30 days	47	42	51	35	37	38	30	43	49

Table 6 (cont.). Antimicrobials' CFRs, for the recommended dosage regimens, calculated by the five methods for handling of duplicate isolates.

Antimicrobial agent	Period								
	2000-2001	2002-2003	2004-2005	2006-2007	2008-2009	2010-2011	2012-2013	2014-2015	2016-2017
Piperacillin/tazobactam 4.5g/6h									
All isolates	57	56	63	49	50	45	45	60	68
First isolate	67	65	71	54	61	59	50	65	72
Variation in susceptibility	59	56	65	47	53	54	50	63	70
Repeats + 7 days	57	56	65	51	52	52	46	59	70
Repeats + 30 days	67	62	72	53	58	57	48	66	70
Tobramycin 7mg/kg/24h									
All isolates	66	59	57	39	36	33	40	44	59
First isolate	66	69	61	46	42	45	45	48	59
Variation in susceptibility	61	63	58	38	39	46	41	47	61
Repeats + 7 days	66	62	55	40	37	38	39	43	60
Repeats + 30 days	65	65	61	45	41	44	42	47	58

In bold CFR $\geq 90\%$; Underlined: CFR $\geq 80\%$ and $< 90\%$

All isolates: including all isolates; First isolate considering only the first isolate (CLSI criteria); Variation in susceptibility: eliminating all the isolates from a patient that had the same pattern of susceptibility (EARSS criteria); Repeats + 7 days or + 30 days: eliminating isolates obtained from the same patient at day 7 or 30.

Table 7 presents the linear regression results for CFR values ~~considering the first isolate~~. Considering the first isolate a statistically significant trend over time was observed for imipenem, with a decrease in CFR from 94% to 74% and for levofloxacin, although for this antimicrobial, the CFR values were always under 70%. There were no significant trends in overall CFR over time for cefepime, ceftazidime, gentamicin, meropenem and piperacillin/tazobactam. Considering the five methods, globally the same results were obtained, with a few exceptions.

Table 7. Cumulative fraction of response (CFR) trends over time obtained by the five methods for handling of duplicate isolates

Antimicrobial	r	r ²	CI		p	β	Trend
			Lower limit	Higher limit			
Cefepime							
All isolates	0.22	0.05	-0.45	0.75	0.57	0.15	-
First isolate	0.57	0.32	-1.00	0.13	0.11	-0.43	-
Variation in Susceptibility	0.24	0.06	-0.42	0.74	0.54	0.16	-
Repeats + 7 days	0.10	0.01	-0.57	0.72	0.79	0.08	-
Repeats + 30 days	0.44	0.19	-0.99	0.29	0.24	-0.35	-
Ceftazidime 2g/8h							
All isolates	0.12	0.01	-0.42	0.32	0.76	-0.05	-
First isolate	0.55	0.31	-0.53	0.08	0.12	-0.23	-
Variation in Susceptibility	0.19	0.04	-0.38	0.24	0.63	-0.07	-
Repeats + 7 days	0.15	0.02	-0.28	0.20	0.70	-0.04	-
Repeats + 30 days	0.45	0.20	-0.51	0.14	0.22	-0.18	-
Ceftazidime 2g/12h							
All isolates	0.35	0.12	-0.63	0.26	0.36	-0.18	-
First isolate	0.60	0.36	-0.80	0.07	0.09	-0.37	-
Variation in Susceptibility	0.24	0.06	-0.50	0.28	0.53	-0.11	-
Repeats + 7 days	0.26	0.07	-0.47	0.26	0.51	-0.11	-
Repeats + 30 days	0.56	0.31	-0.84	0.12	0.12	-0.36	-
Ciprofloxacin 400mg/8h							
All isolates	0.56	0.32	-3.29	0.45	0.12	-1.42	-
First isolate	0.69	0.48	-3.39	-0.11	0.04	-1.75	-
Variation in Susceptibility	0.53	0.28	-2.77	0.50	0.15	-1.13	-
Repeats + 7 days	0.59	0.34	-3.26	0.35	0.10	-1.45	-
Repeats + 30 days	0.66	0.44	-3.33	0.03	0.05	-1.65	-
Ciprofloxacin 400mg/12h							
All isolates	0.67	0.45	-3.16	-0.03	0.05	-1.59	-
First isolate	0.77	0.60	-3.31	-0.51	0.02	-1.91	Decreasing
Variation in Susceptibility	0.63	0.39	-2.72	0.15	0.07	-1.28	-
Repeats + 7 days	0.71	0.51	-3.11	-0.19	0.03	-1.65	Decreasing
Repeats + 30 days	0.76	0.57	-3.26	-0.41	0.02	-1.83	Decreasing
Gentamicin							
All isolates	0.37	0.14	-1.78	0.68	0.33	-0.55	-
First isolate	0.69	0.48	-2.39	-0.09	0.04	-1.24	-
Variation in Susceptibility	0.39	0.15	-1.72	0.62	0.30	-0.55	-
Repeats + 7 days	0.34	0.12	-1.71	0.72	0.37	-0.49	-
Repeats + 30 days	0.63	0.39	-2.32	0.12	0.07	-1.10	-
Imipenem							
All isolates	0.66	0.43	-3.79	0.04	0.05	-2.00	-
First isolate	0.73	0.53	-4.20	-0.35	0.03	-2.28	Decreasing
Variation in Susceptibility	0.60	0.36	-3.49	0.29	0.09	-1.60	-
Repeats + 7 days	0.71	0.50	-4.05	-0.22	0.03	-2.13	Decreasing
Repeats + 30 days	0.73	0.54	-4.08	-0.39	0.02	-2.23	Decreasing
Levofloxacin 500mg/12h							
All isolates	0.82	0.67	-4.33	-1.00	0.01	-2.66	Decreasing
First isolate	0.89	0.78	-4.47	-1.61	0.00	-3.04	Decreasing
Variation in Susceptibility	0.82	0.68	-3.96	-0.94	0.01	-2.45	Decreasing
Repeats + 7 days	0.83	0.69	-4.23	-1.07	0.01	-2.65	Decreasing
Repeats + 30 days	0.86	0.74	-4.41	-1.39	0.00	-2.93	Decreasing

Table 7 (cont.). Cumulative fraction of response (CFR) trends over time obtained by the five methods for handling of duplicate isolates

Antimicrobial	r	r ²	CI		p	β	Trend
			Lower limit	Higher limit			
Levofloxacin 500mg/24h							
All isolates	0.91	0.83	-4.68	-1.98	<i>0.00</i>	-3.33	Decreasing
First isolate	0.94	0.88	-5.04	-2.51	<i>0.00</i>	-3.78	Decreasing
Variation in Susceptibility	0.93	0.86	-4.49	-2.14	<i>0.00</i>	-3.32	Decreasing
Repeats + 7 days	0.91	0.82	-4.64	-1.90	<i>0.00</i>	-3.27	Decreasing
Repeats + 30 days	0.93	0.87	-4.95	-2.43	<i>0.00</i>	-3.69	Decreasing
Meropenem							
All isolates	0.05	0.00	-2.04	1.80	0.89	-0.12	-
First isolate	0.16	0.03	-1.93	1.35	0.69	-0.29	-
Variation in Susceptibility	0.03	0.00	-1.71	1.83	0.94	0.06	-
Repeats + 7 days	0.03	0.00	1.90	1.79	0.94	-0.06	-
Repeats + 30 days	0.12	0.14	-1.92	1.47	0.76	-0.23	-
Piperacillin/tazobactam 4.5g/6h							
All isolates	0.09	0.01	-1.18	1.45	0.82	0.13	-
First isolate	0.11	0.01	-1.34	1.06	0.79	-0.14	-
Variation in Susceptibility	0.26	0.07	-0.83	1.53	0.51	0.35	-
Repeats + 7 days	0.15	0.02	-1.00	1.40	0.71	0.20	-
Repeats + 30 days	0.11	0.13	-1.47	1.14	0.77	-0.17	-
Piperacillin/tazobactam 4.5g/8h							
All isolates	0.06	0.00	-1.01	1.15	0.89	0.07	-
First isolate	0.12	0.02	-1.08	0.82	0.75	-0.13	-
Variation in Susceptibility	0.22	0.05	-0.76	1.28	0.57	0.26	-
Repeats + 7 days	0.07	0.01	-0.98	1.14	0.86	0.08	-
Repeats + 30 days	0.18	0.03	-1.35	0.88	0.64	-0.23	-
Tobramycin							
All isolates	0.42	0.18	-2.72	0.86	0.25	-0.93	-
First isolate	0.55	0.30	-2.44	0.37	0.13	-1.03	-
Variation in Susceptibility	0.33	0.11	-2.20	0.97	0.39	-0.62	-
Repeats + 7 days	0.45	0.20	-2.67	0.75	0.23	-0.95	-
Repeats + 30 days	0.55	0.30	-2.39	0.37	0.13	-1.01	-

r: correlation coefficient; r²: coefficient of determination; CI: Confidence interval; β: slope

In bold r² ≥ 0.49; In italic p < 0.05

Figure 1 displays the comparison between the percentage of susceptible isolates and the CFR values when taking into consideration only the first isolate. There is a concordance in the susceptibility and CFR values for cephalosporins and ciprofloxacin. For carbapenems, the CFR values were higher than the susceptibility data. On the contrary, gentamicin, levofloxacin, piperacillin/tazobactam and tobramycin showed CFR values lower than the susceptibility data.

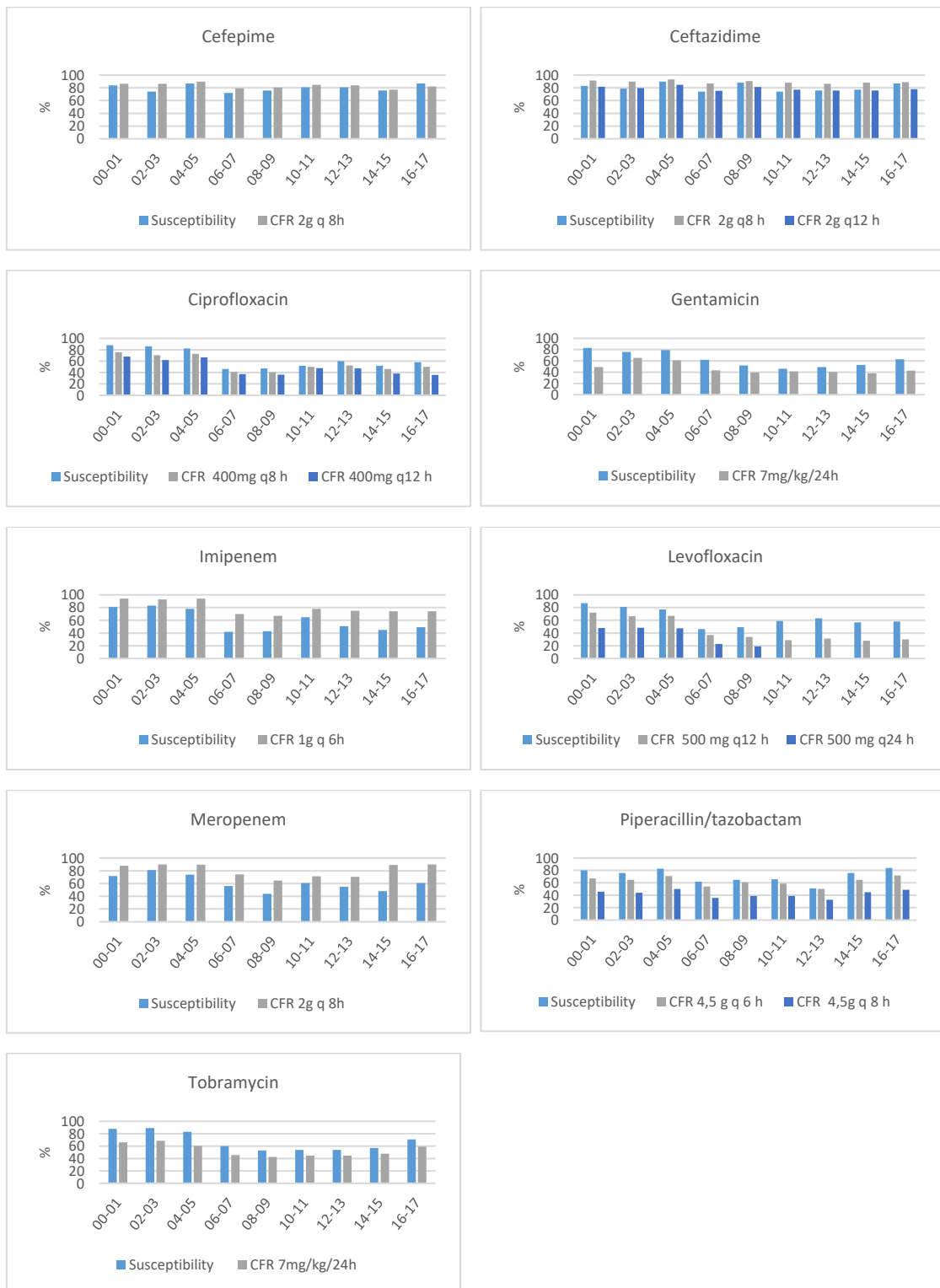


Figure 1. Susceptibility and CFR's percentages against clinical isolates of *P. aeruginosa* collected in HUA from 2000 to 2017 calculated considering only the first isolate.

4. DISCUSSION

This study examined the changes in the antimicrobial susceptibility rates of *P. aeruginosa* over time in the ICU and compared them with the changes in the antimicrobial activity considering PK/PD criteria. In the last years tested (2016-2017), the most active antimicrobials were amikacin, cephalosporins and piperacillin/tazobactam. In the evaluated period, a significant decrease was observed in the susceptibility to gentamicin (from 83 to 63%) and imipenem (from 81 to 49%). These results are consistent with the increase of resistance worldwide. The data from large scale surveillance studies²⁶ indicate an overall increasing resistance trend during the past few years, particularly evident for fluoroquinolones, aminoglycosides and anti-pseudomonal β -lactams.

The susceptibility percentages decreased until 2012 for ciprofloxacin ($r^2=0.586$, $p=0.045$, $\beta=-3.339$), gentamicin ($r^2=0.894$, $p=0.001$, $\beta=-3.375$), piperacillin/tazobactam ($r^2=0.730$, $p=0.014$, $\beta=-2.232$) and tobramycin ($r^2=0.836$, $p=0.004$, $\beta=-3.607$). The lowest susceptibility values were observed in the middle years, increasing later. In 2011 the Spanish "Zero-VAP" bundle was introduced, a proposal for the implementation of a simultaneous multimodal intervention in Spanish ICUs consisting of a bundle of ventilator-associated pneumonia (VAP) prevention measures²⁷. Moreover, in 2009 the nationwide Bacteremia Zero project was introduced, which reduced catheter-related bloodstream infection in Spanish ICUs²⁸. The recovery of the

²⁶ Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Microbiol Infect 2005;11(Suppl. 4):S17–32.

²⁷ Álvarez Lerma F, Sánchez García M, Lorente L, Gordo F, Añón JM, Álvarez J, Palomar M, García R, Arias S, Vázquez-Calatayud M, Jam R, Sociedad Española de Medicina Intensiva; Sociedad Española de Enfermería Intensiva. Guidelines for the prevention of ventilator-associated pneumonia and their implementation. The Spanish "Zero-VAP" bundle. Med Intensiva 2014;38:226-36.

²⁸ Palomar M, Álvarez-Lerma F, Riera A, Díaz MT, Torres F, Agra Y, Larizgoitia I, Goeschel CA, Pronovost PJ. Bacteremia Zero Working Group. Impact of a national multimodal intervention to prevent catheter-related bloodstream infection in the ICU: the Spanish experience. Crit Care Med 2017;41:2364-72.

antimicrobial susceptibility in the last years evaluated could be related to these programs, reinforcing the importance of these interventions for antimicrobial resistance control.

For a better evaluation of the adequacy of the antimicrobial treatments, it is important to consider not only the susceptibility of the bacteria, but also the probability to attain the targeted plasma concentrations. In this regard, the CFR values were <70% for most of the antimicrobials. In our study, meropenem showed high probabilities to achieve the PK/PD target and cephalosporins showed moderate probabilities, although for ceftazidime, the highest dose was required. Similar observations were reported by Zelenistky *et al.*⁹ who found that only the most aggressive regimens were able to attain the PK/PD target against *P. aeruginosa*.

For some antimicrobials, relevant differences between susceptibility rates and CFR values were detected (figure 1). The most remarkable cases appeared in ciprofloxacin, tobramycin and levofloxacin, for which no trend in susceptibility was detected, whereas CFR decreased over time. These differences could be explained by a shift in the MICs to higher values, but in the range of susceptibility. For instance, while the 64% of isolates had an MIC \leq 0.5 mg/L for levofloxacin in 2000-2001, all the isolates showed MICs \geq 1 mg/L in 2016-2017 (susceptibility breakpoint \leq 2mg/L). Consequently, although a trend was not detected in the susceptibility, a significant decrease of more than 40 points was observed in CFR values.

For carbapenems, there is also a lack of concordance between susceptibility percentage and CFR values. Despite the relatively poor susceptibility observed in the last years, the recommended dose regimens provide effective plasma drug concentrations, and consequently high CFR values (90% for meropenem and 74% for imipenem).

These results demonstrate the importance of integrated PK/PD analyses to identify changes in the probability of treatment success that are not detected by simply assessing MIC values. Changes in susceptibility do not always translate into changes in the CFR and vice versa, hence the importance of carrying out a double analysis. Both parameters are complementary and both

should be evaluated jointly in order to determine the usefulness of antimicrobial treatments. Considering only the susceptibility rates, we can classify as suitable a treatment that shows low probability of success according to PK/PD analysis. This is consistent with other studies in which treatment failures were related to discrepancies between the clinical and PK/PD breakpoints²².

Unfortunately, we could not calculate CFR values for amikacin, one of the most active antibiotics for *P. aeruginosa*, due to restrictions in the range of MIC concentrations tested in the hospital, where only a concentration range from 4 mg/L to 32 mg/L (susceptibility breakpoint MIC \leq 16mg/L) is evaluated. Although the concentration range used is adequate to categorize the strains as susceptible or resistant, it is not useful to estimate the CFR properly, whose value depends on the knowledge of the MIC values corresponding to a wide distribution and not only on the MIC values around the clinical breakpoints. In view of this situation, there should be a consensus regarding the MIC values that should be tested for each antimicrobial.

In order to properly evaluate the results obtained in this theoretical PK/PD analysis, some limitations must be considered. i) PK information from all the patients from whom *P. aeruginosa* was isolated was not available. Therefore it was extracted from studies carried out in critically ill patients and available in the literature; ii) The PK/PD analysis was carried out by using the mean PK parameters and their variability, without considering the possible influence of covariates on the PK behaviour of the drugs. Different results would be expected for subpopulations with significant differences in pathophysiological conditions affecting the antimicrobials PK; iii) The basis of the study includes information on antimicrobials administered following the recommended dose regimens for critically ill patients. However, it is important to bear in mind that the dosage regimens may be modified in the clinical practice.

Finally, we have studied the influence of the criteria for removing duplicate isolates on the detection of changes in antimicrobial susceptibility and on the probability of treatment success, observing significant differences. In this sense, the lowest susceptibility and CFR values were

obtained generally when all isolates were considered, and the highest values were obtained by using only the first isolate. However, it has to be pointed out the trends of susceptibility and CFR values did not vary depending on the method, except for a few cases, for which a low degree of fit was observed ($r^2 < 0.5$)²⁵. Similarly, Kohlmann *et al.*²⁹ reported that the inclusion of duplicate isolates in the laboratory reports on cumulative antimicrobial susceptibility testing may lead to higher rates of resistance, while the first isolate strategy tends to obtain a more optimistic view.

According to the CLSI¹¹, for the cumulative antibiogram report, only the first isolate of a species/patient/analysis period should be included irrespective of body site or antimicrobial susceptibility profile. However, in clinical practice, multiple isolates are frequently recovered from successive cultures from the same patient, and these isolates do not always contain identical strains. The usefulness of the different method for the handling of duplicate isolates has been discussed in different works²⁹⁻³⁰. For purposes of infection control, detection of rare phenotypes, assessing resistance profiles among isolates encountered in a facility, and monitoring the development of resistant isolates in a patient over time, the inclusion of all isolates is valuable and recommendable. However, the inclusion of multiple isolates from a patient in analyses of cumulative susceptibility rates for a specific time period can significantly bias estimates in favour of the isolates recovered from patients who are cultured most frequently. The criterion of variation is useful to detect changes in susceptibility, but it is less objective and reproducible than the others. The criterion of time is objective and reproducible, but when the period of time for eliminating isolates increases, the percentage of susceptible strains also rises. The use of the first isolate, a criterion recommended by CLSI, may result in not considering different strains or

²⁹ Kohlmann R, Gatermann SG. Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data – The Influence of Different Parameters in a Routine Clinical Microbiology Laboratory. PLoS One 2016;11(1):e0147965.

³⁰ Shannon KP, French GL. Antibiotic resistance: effect of different criteria for classifying isolates as duplicates on apparent resistance frequencies. J Antimicrob Chemother 2002;49:201–4.

strains that have acquired resistance during the treatment. Noguera *et al.*³¹ showed that the CLSI strategy has serious limitations, since it does not identify the presence of many isolates that may be acquired during a patient's evolution, due to the selection of bacterial microbiota associated with antibiotic pressure or other methods such as transmission by healthcare personnel or as a result of recurrent infection. More recently, Álvarez-Paredes *et al.*³², also have questioned the suitability of the CLSI criterion. They found differences between the resistance rates of isolates when comparing data obtained applying different criteria for duplicate isolate removal. Our findings are particularly remarkable in this aspect since, not showing relevant differences among the methods and considering the simplicity of the first isolate, the method recommend by CLSI seems to be the most suitable for the determination of cumulative antimicrobial susceptibility and CFRs.

In conclusion, based on the obtained results, at the end of the period studied, meropenem provided high probabilities to achieve the PK/PD target, followed by cephalosporins, with moderate probabilities. This study shows that both susceptibility rates and CFR values have to be considered together to optimize the antimicrobial dose regimen for clinical making-decisions. They are complementary tools and, therefore, they should be used jointly in surveillance programs. In fact, susceptibility data are not always useful to detect changes in the probability of treatment success. All the methods for handling repeated isolates evaluated turned out to be useful in clinical practice for both the determination of the cumulative antimicrobial susceptibility and the CFRs, since no relevant differences were observed among the methods.

³¹ Noguera O, López-Riquelme N, Rodríguez JC, Santibañez M, Alvarez L, Galiana A, Ruiz-García M, López-García P, Royo G. Extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* over 18 years: effects of different system for eliminating duplicates. *Int J Antimicrob Agents* 2012;40:186-92.

³² Álvarez-Paredes A, López-Riquelme N, Rodríguez JC, Santibañez M, Belda S, Galiana A, Lopez P, Ruiz-García M, Royo G. Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Effect of different criteria for elimination of duplicates. *Chemotherapy* 2013;59:453-7.

CAPITULO II



Sensibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* y análisis PK/PD de su actividad antimicrobiana: estudio de vigilancia de 18 años

Pseudomonas aeruginosa susceptibility and antimicrobial activity by PK/PD analysis: An 18-years surveillance study

Valero A, Isla A, Rodríguez-Gascón A, Calvo B, Canut A, Solinís MA. *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility and antimicrobial activity by PK/PD analysis: An 18-years surveillance study. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2019;37(6):380-6

RESUMEN

El enfoque terapéutico de las infecciones causadas por *P. aeruginosa* es particularmente desafiante debido a su resistencia intrínseca a la mayoría de agente antimicrobianos, y a su capacidad para adquirir resistencia en el curso del tratamiento con antimicrobianos, lo que complica en gran medida la selección del tratamiento apropiado con el consiguiente aumento de la morbilidad y la mortalidad. En este sentido, la terapia empírica inadecuada, la dosificación sub-óptima y los retrasos en el inicio del tratamiento más adecuado están asociados con altas tasas de mortalidad y contribuyen a una mayor duración de la estancia hospitalaria.

Como resultado de la disminución de la efectividad de los antimicrobianos existentes y la constante disminución en el desarrollo de nuevos antimicrobianos, la optimización de los tratamientos existentes es necesaria. En este sentido, los programas regulares de vigilancia epidemiológica juegan un importante papel en la selección de los tratamientos empíricos más adecuados: elección óptima del medicamento, dosis y duración. El análisis PK/PD y las simulaciones de Monte Carlo son herramientas que han demostrado ser muy útiles en la selección de los tratamientos con antimicrobianos, lo que implica el aumento de la eficacia, reducción de efectos adversos, y menor probabilidad de selección de cepas multirresistentes.

El objetivo del presente estudio fue, por tanto, evaluar la terapia antimicrobiana frente a *P. aeruginosa* en pacientes ingresados en un hospital terciario español (excluida Unidad de Cuidados Intensivos). Para ello se analizaron los cambios en la sensibilidad a los antimicrobianos durante 18 años (2000-2017). También se evaluó la actividad antimicrobiana utilizando criterios farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD) como herramienta de vigilancia microbiológica.

Métodos: la sensibilidad se estudió utilizando los puntos de corte del CLSI. Se realizaron simulaciones de Monte Carlo para calcular la fracción de respuesta acumulada (CFR). Se llevó a cabo un análisis de tendencia de sensibilidad y CFR mediante regresión lineal.

Resultados: en 2017, la sensibilidad a amikacina, penicilinas y cefalosporinas fue $\geq 85\%$; tobramicina 76%, meropenem 75% y para gentamicina, imipenem y fluoroquinolonas $<70\%$. El análisis PK/PD fue capaz de identificar cambios en la actividad antimicrobiana no detectados mediante la evaluación únicamente de las CMI; meropenem administrado en forma de infusión extendida alcanzó una CFR $> 90\%$, ceftazidima, piperacilina / tazobactam e imipenem proporcionaron CFRs entre 80-90%, todos ellos administrados a las dosis más altas.

Conclusión: la evaluación de la sensibilidad y el análisis PK/PD deben considerarse conjuntamente para seleccionar el tratamiento antimicrobiano más apropiado: fármaco y régimen de dosificación. La terapia empírica frente a *P. aeruginosa* variaría considerablemente si se consideraran ambas herramientas de vigilancia microbiológica. En este estudio, el análisis PK/PD ha permitido preservar el valor terapéutico de antimicrobianos con bajos valores de sensibilidad, como los carbapenemas, y la selección de los antimicrobianos de mayor eficacia, entre aquellos que presentaban altos valores de sensibilidad.

1. INTRODUCTION

According to the National Healthcare Safety Network, *Pseudomonas aeruginosa* is the fifth most common cause of hospital-acquired infections¹, it is a ubiquitous Gram-negative microorganism associated with a high mortality. In fact, *P. aeruginosa* is included in the group ESKAPE, acronym introduced by Rice² in 2008 to designate a group of bacteria who escape the lethal action of antibiotics: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* and *Enterobacter* species. These bacteria are increasingly prevalent in our hospitals and increasingly resistant to many of the antimicrobial agents³, which is a serious health problem that needs to be addressed urgently.

Alert to antimicrobial resistance crisis, the May 2015 World Health Assembly adopted a global action plan on this issue⁴. The main goal of this plan is to ensure, for as long as possible, continuity of successful treatment and prevention of infectious diseases with effective and safe medicines that are quality-assured, used in a responsible way, and accessible to all who need them.

The therapeutic approaches against *P. aeruginosa* infections are particularly challenging due to its intrinsic resistance to the majority of antimicrobial agents, and its ability to become resistant in the course of the antibiotic treatment, which greatly complicates the selection of

¹ Tennant SJ, Burgess DR, Rybak JM, Martin CA, Burgess DS. Utilizing Monte Carlo Simulations to Optimize Institutional Empiric Antipseudomonal Therapy. *Antibiotics* 2015;4:643-52.

² Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J Infect Dis* 2008;197(8):1079–81.

³ De Angelis G, Fiori B, Menchinelli G, D’Inzeo T, Liotti FM, Morandotti GA, Sanguinetti M, Posteraro B, Spanu T. Incidence and antimicrobial resistance trends in bloodstream infections caused by ESKAPE and *Escherichia coli* at a large teaching hospital in Rome, a 9-year analysis (2007-2015). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018;37:1627-36.

⁴ World Health Organisation (WHO). Global action plan on antimicrobial resistance. Geneva:WHO; Available from: https://www.wpro.who.int/entity/drug_resistance/resources/global_action_plan_eng.pdf ; 2015 [accessed 11 Decembre 2018].

appropriate treatment, and subsequently, increases the morbidity and mortality⁵. In this sense, the inadequate empirical therapy, suboptimal dosing and delays in the initiation of appropriate treatment are associated with high mortality rates and contribute to an increased length of hospital stay⁶.

Surveillance has been recognized as a fundamental component in the control of organisms with resistance to antimicrobial agents. Surveillance of antimicrobial susceptibility enables the assessment of the burden of disease, determination of risk factors, and identification of temporal trends in occurrence and resistance patterns of infectious diseases. Such information may be used to establish empirical antimicrobial therapy recommendations⁷, although it would imply that clinicians should be familiarized with the local epidemiologic surveillance programmes to choose wisely the most appropriate empirical therapy against pseudomonal infections⁶.

Another useful tool to guide antipseudomonal therapy is the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis with Monte Carlo simulation, which provides a reasonable prediction of the probability of success for a treatment, incorporating the variability of the pharmacokinetic parameters and the bacterial population MIC distribution (local MIC distributions)^{6,8}. In a recent surveillance study carried out with *P. aeruginosa* isolates from an intensive care unit (ICU), we concluded that both, susceptibility rates and the success probability

⁵ Obritsch MD, Fish DN, MacLaren R, Jung R. National surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from Intensive Care Unit patients from 1993 to 2002. *Antimicrob agents chemother* 2004;48:4606–10.

⁶ Maraki S, Mantadakis E, Nioti E, Samonis G. Susceptibility of 2,252 *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates over 4 years to 9 antimicrobials in a tertiary Greek hospital. *Chemotherapy* 2014;60:334-41.

⁷ Rempel OR, Laupland KB. Surveillance for antimicrobial resistant organisms: potential sources and magnitude of bias. *Epidemiol Infect* 2009;137:1665-73.

⁸ Asín-Prieto E, Rodríguez-Gascón A, Isla A. Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. *Journal of infection chemotherapy*. 2015;21:319–29.

associated to the activity of the antimicrobial agent are complementary tools, and they have to be considered together to optimize the antimicrobial dose regimen for clinical making-decisions⁹.

Therefore, considering the alarming increase of *P. aeruginosa* resistance against several antimicrobials and the consequent loss of treatment options that this fact entails, the aim of the present study was to evaluate the adequacy of the antimicrobial therapy against *P. aeruginosa*, in admitted patients in a tertiary Spanish Hospital, excluding those at Intensive Care Units (ICU). With this goal in mind, firstly, the changes in the susceptibility of *P. aeruginosa* strains to the antimicrobials in an 18 years period (2000-2017) were analyzed. Moreover, the therapy success probability over the 18 years was also evaluated by applying a PK/PD modeling approach as a microbiological surveillance tool, by using PK/PD indexes as surrogate markers of efficacy.

⁹ Valero A, Isla A, Rodríguez-Gascón A, Calvo B, Canut A, Solinís MA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis as a tool for surveillance of the activity of antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in critically ill patients. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2018;37:380–6

2. METHODS

2.1. Microbiological data acquisition and calculation of susceptibility

The susceptibility of *P. aeruginosa* against amikacin, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacin, gentamicin, levofloxacin, imipenem, meropenem, piperacillin/tazobactam and tobramycin was studied. MIC distributions corresponding to clinical isolates collected from the admitted patients at the University Hospital of Araba (HUA), for every antimicrobial agent were extracted from the hospital database. Data were collected from 2000 to 2017, excluding those from ICUs.

The percentage of susceptible strains was estimated considering the CLSI breakpoints¹⁰ (table 1), and following the methodology recommended by the CLSI guideline¹¹, that is, considering only the first isolate per patient, per analysis period, irrespective of body site, antimicrobial susceptibility profile, or other phenotypical characteristics and including only species for which there are 30 or more isolates.

The susceptibility data of clinical isolates was analysed with the WHONET software, version 5.6.

¹⁰ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 28th ed. CLSI supplement M100. CLSI, Wayne, PA, USA; 2018.

¹¹ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data*. Fourth ed. Approved guideline M39-A4. CLSI, Wayne, PA, USA; 2018.

Table 1. CLSI susceptibility breakpoints for *P. aeruginosa* of the studied antimicrobials¹⁰.

Antimicrobial agent	MIC interpretive criteria (mg/L)	
	Susceptible	Resistant
Amikacin	≤ 16	≥ 64
Cefepime	≤ 8	≥ 32
Ceftazidime	≤ 8	≥ 32
Ciprofloxacin	≤ 1	≥ 4
Gentamicin	≤ 4	≥ 16
Imipenem	≤ 2	≥ 8
Levofloxacin	≤ 2	≥ 8
Meropenem	≤ 2	≥ 8
Piperacillin/tazobactam	≤ 16	≥ 128
Tobramycin	≤ 4	≥ 16

2.2. Pharmacokinetic data

Pharmacokinetic parameters were obtained from published studies^{8,12,13,14,15,16}. Prospective studies performed in patients with infections providing the PK parameters and variability were selected. Data from patients in critically ill units were excluded. The PK parameters of all antimicrobials used are shown in table 2.

¹² Barbhaiya RH, Knupp CA, Pfeffer M, Pittman KA. Lack of Pharmacokinetic Interaction between Cefepime and Amikacin in Humans. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1382-6.

¹³ Frei CR, Wiederhold NP, Burgess DS. Antimicrobial breakpoints for Gram-negative aerobic bacteria based on pharmacokinetic-pharmacodynamic models with Monte Carlo simulation. *J Antimicrob Chemother*. 2008;61:621-8.

¹⁴ Zelenitsky SA, Rubinstein E, Ariano RE, Zhanel GG. Canadian Antimicrobial Resistance Alliance. Integrating pharmacokinetics, pharmacodynamics and MIC distributions to assess changing antimicrobial activity against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* causing infections in Canadian hospitals (CANWARD). *J Antimicrob Chemother*. 2013; 68:i67-72.

¹⁵ Zelenitsky SA, Harding GKM, Sun S, Ubhi K, Ariano RE. Treatment and outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: an antibiotic pharmacodynamic analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52:668-74.

¹⁶ Guglielmo BJ, Flaherty JF, Woods TM, Lafollette G, Gambertoglio JG. Pharmacokinetics of Cefoperazone and Tobramycin alone and in Combination. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31:264-6.

Table 2. Pharmacokinetic parameters for each antimicrobial agent from published studies (mean \pm standard deviation)^{8,12,13,14,15,16}

Antimicrobial Agent	Vd (L)	Cl(L/h)	AUC (mg h/L)	fu
Amikacin	15.8 \pm 3.5	4.30 \pm 1.3		
Cefepime	0.28 \pm 0.25 (L/kg)	7 \pm 4.3		0.8
Ceftazidime	18.75 \pm 1.5	7.98 \pm 1.2		0.9
Ciprofloxacin		20.8 \pm 5.7		
Gentamicin	20.5 \pm 11.4	4.2 \pm 1.20		
Imipenem	16.5 \pm 3.75	10.5 \pm 1.38		0.9
Levofloxacin			54.6 \pm 11.1	
Meropenem	20.25 \pm 3	14.4 \pm 1.8		0.92
Piperacillin/tazobactam	11.25 \pm 1.5	10.22 \pm 2.12		0.7
Tobramycin	20.5 \pm 11.4	5.19 \pm 0.91		

Vd: Volume of distribution, Cl: clearance; AUC: Area Under the Curve, fu: unbound drug fraction.

2.3. PK/PD analysis and Monte Carlo simulation

A 10000 subject Monte Carlo simulation was conducted, with the Oracle® Crystal Ball software, for each antimicrobial and dosing regimen using the PK data from published models (table 1). The magnitude of value of the PK/PD indexes used as surrogate markers of efficacy for each antimicrobial are also shown in table 3^{8,17,18,19}.

Table 3. Dosing regimens evaluated and pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) targets^{8,17-19}

Antimicrobial Agent	Dosing regimen	Infusion time (h)	PK/PD target
Amikacin	15-20mg/kg/24h	0.5	$C_{max}/MIC >10$
Cefepime	1-2g/8-12h	0.5	$\%fT >MIC >70$
Ceftazidime	2g/8-12h	0.5	$\%fT >MIC >70$
Ciprofloxacin	400mg/8-12h	1	$AUC/MIC >125$
Gentamicin	5-7mg/kg/24h	0.5	$C_{max}/MIC >10$
Imipenem	1g/6-8h 500mg/6-12h	1	$\%fT >MIC >40$
Levofloxacin	500mg/24h	1	$AUC/MIC >125$
Meropenem	1g/6-8h	3	$\%fT >MIC >40$
Piperacillin/tazobactam	4.5g/6-8h	0.5	$\%fT >MIC >50$
Tobramycin	5mg/kg/24h	0.5	$C_{max}/MIC >10$

$\%fT >MIC$: Percentage of time that the antimicrobial free serum concentration remained above the MIC; AUC: Area under the concentration-time curve; C_{max} : Maximum drug plasma concentration; MIC: Minimum Inhibitory Concentration

¹⁷ Drusano GL. Antimicrobial Pharmacodynamics: Critical interactions of "bug and drug". Nat Rev Microbiol. 2004;2:289-300.

¹⁸ Kashuba AD, Nafziger AN, Drusano GL, Bertino Jr JS. Optimizing aminoglycoside therapy for nosocomial pneumonia caused by gram-negative bacteria. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:623-9.

¹⁹ Koomanachai P, Bulik CC, Kuti JL, Nicolau DP. Pharmacodynamic modeling of intravenous antibiotics against gram-negative bacteria collected in the United States. Clin Ther. 2010;32:766-79.

2.3.1. Probability of target attainment

The probability of target attainment (PTA) is defined as the probability that a specific value of the PK/PD index associated with the efficacy of the antimicrobial is achieved at a certain MIC (it corresponds to the percentage of simulated patients with an estimated PK/PD index equal to or higher than the value related to efficacy of the antimicrobial against a pathogen with certain MIC)²⁰.

The PTA was calculated using the following equations:

- Time dependent activity antimicrobials (iv infusion administered)²¹:

$$f\%T_{>MIC} = [(t_2 + t_1) - t_1] \cdot \frac{100}{\tau}$$

Where $fT_{>MIC}$ is the proportion of time that the free serum concentration remains above the MIC at steady state (%) over a dosing interval, t_1 (h) corresponds to the time at which the free serum concentration reached the MIC during the infusion phase; t_2 (h) corresponds to the post-infusion time at which the free serum concentration equaled the MIC in the elimination phase, and τ is the dosing interval. t_1 and t_2 were calculated as follows:

$$t_1 = \frac{(MIC - fC_{min,ss})}{(fC_{max,ss} - fC_{min,ss})} \cdot t_{inf}$$

$$t_2 = \text{Ln} \left(\frac{fC_{max,ss}}{MIC} \right) \cdot \frac{1}{k_e}$$

Where k_e is the elimination rate constant, $fC_{min,ss}$ y $fC_{max,ss}$ are the minimum and maximum serum concentrations of unbound drug (mg/L) at steady state, respectively, and were estimated

²⁰ Mouton JW, Dudley MN, Cars O, Derendorf H, Drusano GL. Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. J Antimicrob Chemother 2005;55:601–7.

²¹ Isla A, Canut A, Arribas J, Asín-Prieto E, Rodríguez-Gascón A. Meropenem dosing requirements against Enterobacteriaceae in critically ill patients: influence of renal function, geographical area and presence of extended-spectrum β -lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2016;35:511–9.

according to the following equations using the total clearance (CL), volumen of distribution (Vd), total dose administered (D) and the unbound fraction (f_u) data.

$$fC_{\min,ss} = fC_{\max,ss} \cdot e^{-k_e(\tau-t_i)}$$

$$fC_{\max,ss} = f_u \cdot \frac{D}{CL \cdot t_i} \cdot (1 - e^{-k_e \cdot t_i}) \cdot \frac{1}{1 - e^{-k_e \cdot \tau}}$$

- Concentration-time dependent antimicrobials:
 - C_{\max}/MIC^{22} : Ratio of the maximum drug plasma concentration divided by the MIC

$$C_{max} = \frac{k_0 \cdot (1 - e^{(-k_e \cdot T_{inf})})}{CL \cdot (1 - e^{(-k_e \cdot \tau)})}$$

Where k_0 is the infusion rate, k_e is the elimination rate constant, T_{inf} is the infusion time, CL total clearance and τ is the dosing Interval.

- AUC_{24h}/MIC^{23} : Ratio of the area under the antimicrobial concentration time curve for 24h divided by the MIC.

$$AUC_{24h} = \frac{D_{24h}}{CL}$$

Where AUC_{24h} is the area under the serum concentration time-curve over 24h and D_{24h} is the daily administered dose.

²² Gamundi Planas MC (2002) Farmacocinética clínica. En Calvo MV, García MJ, Martínez J, Fernández MM. *Farmacia Hospitalaria Tomo I* (pp.625-665). Publicaciones de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria.

²³ Rebeck JA, Fish DN, Abraham E. Pharmacokinetics of Intravenous and Oral Levofloxacin in Critically Ill Adults in a Medical Intensive Care Unit. *Pharmacotherapy* 2002;22: 1216-25.

2.3.2. Cumulative fraction of response

The probability that a specific value of the PK/PD index associated with the efficacy of an antimicrobial agent is achieved at a specific population of microorganisms is known as the cumulative fraction of response (CFR)²⁰. The CFR is defined as the expected population PTA given a population of microorganism for a specific dosing regimen. It allowed us to calculate the probability of success for a treatment without knowledge of the susceptibility of the specific isolate responsible for the infection, but taking into account the bacterial population MIC distribution, it was calculated with the equation:

$$CFR = \sum_{i=1}^n PTA_i \times F_i$$

Where the CFR (%) results from the total sum of the products of the PTA at a certain MIC times the frequency (Fi) of isolates of microorganism exhibiting that MIC over the range of susceptibility pathogen.

The best PK/PD index correlated with the efficacy for all betalactams used is the duration of time that active antimicrobial concentrations exceed the MICs, this time-dependent index is expressed as the percentage of the dosing interval and only the fraction of drug not bound to proteins is considered. Aminoglycosides and fluoroquinolones present concentration-time dependent bactericide action, and therefore, the PK/PD indexes used have been C_{max}/MIC and AUC/MIC , respectively. A $CFR \geq 80\%$ but $< 90\%$ was associated with moderate probabilities of success, whereas a $CFR \geq 90\%$ was considered as optimal against that bacterial population²¹.

2.4. Statistical analysis

The percentage of susceptibility strains and the probability that PK/PD indices reach the target over time, were calculated over a 18 years period. The annual rates were compared by linear regression for trends. All statistical analyses were performed with IBM® SPSS®, Statistics for Windows, Version 24 (IBM). According to Friedrich et al.²⁴, an appropriate degree of fit was considered with a coefficient of determination (r^2) of at least 0.5 (corresponding to a correlation coefficient of ≥ 0.7). A p value < 0.05 was considered statistically significant.

²⁴ Friedrich LV, White RL, Bosso JA. Impact of use of multiple antimicrobial on changes in susceptibility of gram negative aerobes. Clin Infect Dis 1999; 28:1017-24.

3. RESULTS

Table 4 features the antimicrobial year-by-year susceptibility to amikacin, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, levofloxacin, meropenem, piperacillin/tazobactam and tobramycin of *P. aeruginosa* isolates from the hospitalized patients. As it is shown, the last year evaluated (2017) *P. aeruginosa* displayed a susceptibility to amikacin, penicillins and cephalosporins equal or higher than 85%; for tobramycin and meropenem, it was 76% and 75%, respectively. Susceptibility to the other antimicrobials was under 70%.

The trend analyses of antimicrobial susceptibility of *P. aeruginosa* over time are summarized in Table 5. The susceptibility rates to amikacin and betalactams were stable during the evaluated period. In contrast, the susceptibility to quinolones, gentamicin and tobramycin decreased significantly over time.

Table 4. Percentage of *P. aeruginosa* susceptible strains from 2000 to 2017.

Antimicrobial agent	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Amikacin	96	92	93	99	99	97	98	93	94	96	94	98	95	94	79	92	91	92
Cefepime	<u>82</u>	69	<u>85</u>	79	<u>83</u>	<u>85</u>	<u>85</u>	69	71	<u>84</u>	91	91	90	90	<u>83</u>	<u>81</u>	<u>86</u>	<u>85</u>
Ceftazidime	<u>87</u>	79	<u>86</u>	<u>83</u>	<u>86</u>	90	<u>83</u>	68	<u>81</u>	<u>85</u>	<u>85</u>	93	<u>89</u>	90	<u>80</u>	<u>86</u>	<u>85</u>	91
Ciprofloxacin	<u>82</u>	75	<u>82</u>	76	76	66	64	63	48	49	58	66	57	63	60	67	65	67
Gentamicin	74	73	<u>89</u>	92	<u>85</u>	<u>83</u>	78	63	51	60	78	76	64	72	40	67	60	68
Imipenem	<u>80</u>	74	66	70	68	63	55	37	44	53	72	67	47	60	66	65	73	67
Levofloxacin	<u>84</u>	73	77	77	73	66	62	64	51	54	59	70	60	66	63	67	65	67
Meropenem	72	72	66	73	76	65	62	50	45	62	69	70	60	71	74	67	75	75
Piperacillin/tazobactam	<u>84</u>	<u>82</u>	<u>89</u>	<u>80</u>	<u>87</u>	91	78	61	56	68	73	75	69	79	<u>84</u>	<u>85</u>	<u>89</u>	<u>88</u>
Tobramycin	<u>86</u>	<u>86</u>	93	93	96	92	<u>80</u>	68	53	65	<u>82</u>	79	71	74	67	71	74	76

In bold: susceptibility $\geq 90\%$; Underlined: susceptibility $\geq 80\%$ and $< 90\%$

Table 5. Trends in susceptibility rates of *P. aeruginosa* from 2000 to 2017.

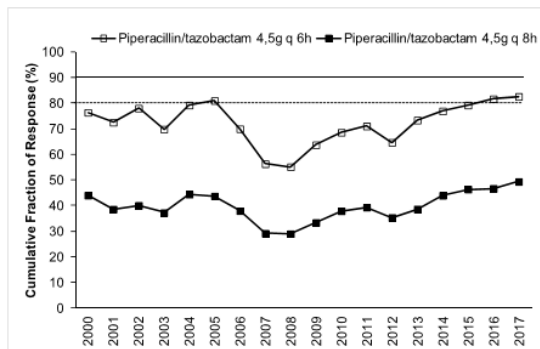
Antimicrobial agent	r	r ²	CI		p	β	Trend
			Lower limit	Higher limit			
Amikacin	0.45	0.20	-0.78	0.02	0.06	-0.38	-
Cefepime	0.40	0.16	-0.10	1.15	0.10	0.52	-
Ceftazidime	0.25	0.06	-0.28	0.81	0.31	0.27	-
Ciprofloxacin	0.54	0.30	-1.80	-0.18	<u>0.02</u>	-0.99	Decreasing
Gentamicin	0.57	0.32	-2.49	-0.32	<u>0.01</u>	-1.40	Decreasing
Imipenem	0.15	0.02	-1.43	0.80	0.56	-0.31	-
Levofloxacin	0.51	0.26	-1.50	-0.09	<u>0.03</u>	-0.79	Decreasing
Meropenem	0.10	0.01	-0.69	1.01	0.70	0.16	-
Piperacillin/tazobactam	0.02	0.00	-1.02	0.97	0.95	-0.03	-
Tobramycin	0.58	0.34	-2.19	-0.32	<u>0.01</u>	-1.26	Decreasing

r: correlation coefficient; r²: coefficient of determination; CI: Confidence interval; β: slope

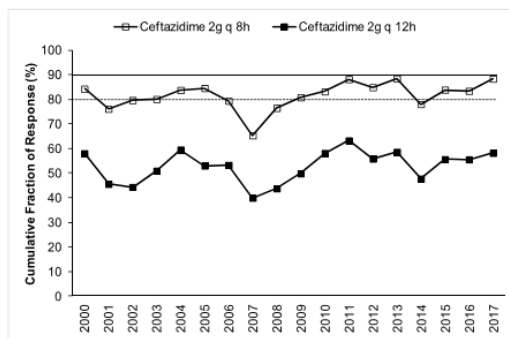
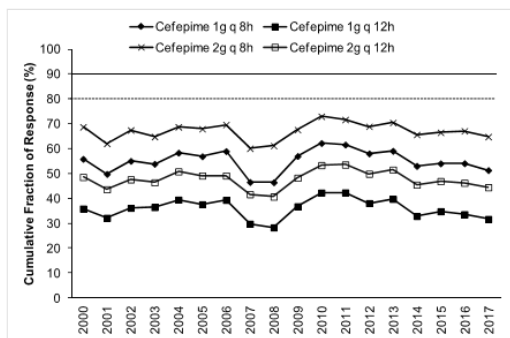
In bold: r² ≥ 0.49; Underlined p < 0.05

Figures 1 and 2 provide an overview of the probability of PK/PD target attainment according to MIC distributions (CFR values) for the antimicrobials studied at the selected dosing regimens. In summary, in 2017, the last year evaluated (fig 1), only meropenem 1g every 6h (q6h) administered as extended infusion was able to attain CFR > 90% (92%). CFRs between 80-90% were attained with ceftazidime 2g q8h (88%), piperacillin/tazobactam 4.5g q6h (83%), meropenem 1g q8h (86%), and imipenem 1g q6h (82%). The CFRs for the other treatments evaluated were always lower than 80%. Fluoroquinolones and aminoglycosides (fig 2) achieved the lowest CFR values (<35%).

Penicillins



Cephalosporins



Carbapenems

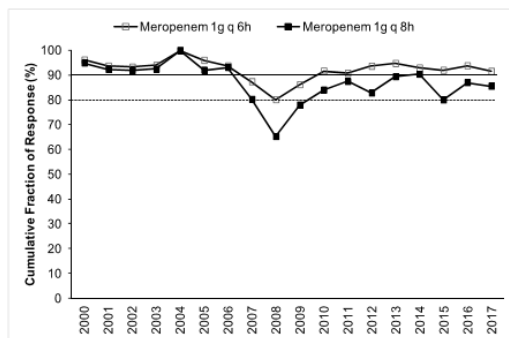
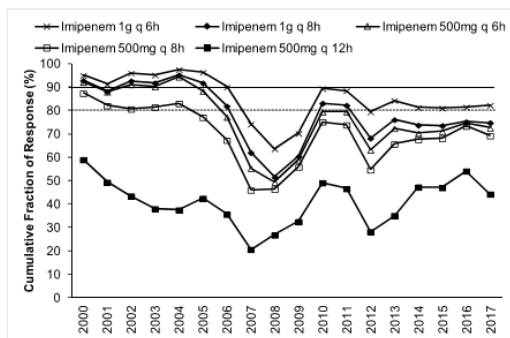


Fig. 1. Cumulative fraction of response (CFR) for standard dosage regimens of penicillins, cephalosporins and carbapenems

Aminoglicosides

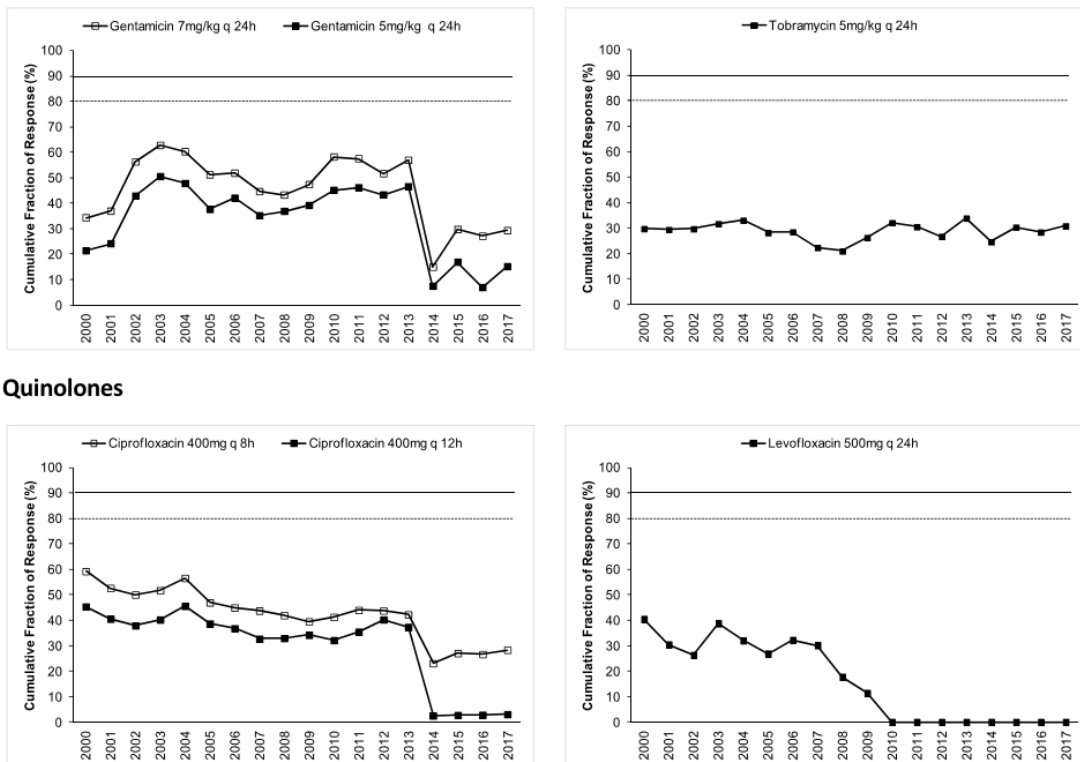


Fig. 2. Cumulative fraction of response (CFR) for standard dosage regimens of aminoglycosides and fluoroquinolones.

Table 6 shows the CFR values obtained annually of each antimicrobial evaluated. CFR values for amikacin have not been included because when antibiograms were carried out, amikacin concentrations tested ranged from 4 mg/L to 32 mg/L and, therefore, MICs lower than 4 mg/L were not available and the CFR could not be adequately calculated.

Table 6. Cumulative fraction of response for standard dosage regimens of selected antimicrobials.

Antimicrobial agent	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Cefepime 1g/8h	56	50	55	54	58	57	59	47	46	57	62	62	58	59	53	54	54	51
Cefepime 1g/12h	36	32	36	36	39	38	39	30	28	37	42	42	38	40	33	35	34	32
Cefepime 2g/8h	69	62	67	65	69	68	70	60	61	68	73	72	69	70	66	67	67	65
Cefepime 2g/12h	49	44	48	46	51	49	49	42	41	48	53	54	50	52	45	47	46	44
Ceftazidime 2g/8h	84	76	80	80	84	85	79	65	77	81	83	88	85	89	78	84	83	88
Ceftazidime 2g/12h	58	46	44	51	60	53	53	40	44	50	58	63	56	59	48	56	56	58
Ciprofloxacin 400mg/8h	59	53	50	52	57	47	45	44	42	40	41	44	44	42	23	27	27	28
Ciprofloxacin 400mg/12h	45	41	38	40	46	39	37	33	33	34	32	35	40	37	2	3	3	3
Gentamicin 7mg/kg/24h	34	37	56	63	60	51	52	45	43	47	58	58	52	57	15	30	27	29

Table 6 (cont.). Cumulative fraction of response for standard dosage regimens of selected antimicrobials.

Antimicrobial agent	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Gentamicin 5mg/kg/24h	21	24	43	51	48	38	42	35	37	39	45	46	43	47	7	17	7	15
Imipenem 1g/6h	95	91	96	95	98	96	90	74	64	70	<u>89</u>	<u>89</u>	79	<u>84</u>	<u>81</u>	<u>81</u>	<u>82</u>	<u>82</u>
Imipenem 1g/8h	93	<u>88</u>	93	92	95	92	<u>82</u>	62	52	60	<u>83</u>	<u>82</u>	68	76	74	74	75	75
Imipenem 500mg/6h	92	<u>88</u>	91	90	94	<u>88</u>	77	55	49	59	79	79	63	72	70	71	75	73
Imipenem 500mg/8h	<u>87</u>	<u>82</u>	<u>81</u>	<u>81</u>	<u>83</u>	77	67	46	46	56	75	74	55	66	68	68	73	69
Imipenem 500mg/12h	59	49	43	38	37	42	36	21	27	32	49	47	28	35	47	47	54	44
Levofloxacin 500mg/24h	40	30	26	39	32	27	32	30	18	11	0	0	0	0	0	0	0	0
Meropenem 1g/6h	96	94	93	94	100	96	94	<u>87</u>	<u>80</u>	<u>86</u>	92	91	94	95	93	92	94	92
Meropenem 1g/8h	95	92	92	92	100	92	93	<u>80</u>	65	78	<u>84</u>	<u>87</u>	<u>83</u>	<u>89</u>	90	<u>80</u>	<u>87</u>	<u>86</u>
Piperacillin/tazobactam 4.5g/6h	76	73	78	70	79	<u>81</u>	70	56	55	64	69	71	65	73	77	79	<u>82</u>	<u>83</u>

Table 6 (cont.). Cumulative fraction of response for standard dosage regimens of selected antimicrobials.

Antimicrobial agent	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Piperacillin/tazobactam 4.5g/8h	44	39	40	37	44	44	38	29	29	33	38	39	35	39	44	46	47	49
Tobramycin 5mg/kg/24h	30	29	30	32	33	28	29	22	21	26	32	31	27	34	25	30	29	31

In bold: susceptibility \geq 90%; Underlined: susceptibility \geq 80% and $<$ 90%

Table 7 presents the linear regression studies for CFR values. A statistically significant trend over time was observed for fluoroquinolones and imipenem. In the case of levofloxacin and ciprofloxacin, a significant decrease was observed in CFR values -from 40-59% in 2000 to 0-29% in 2017, depending on the dose- but the activity was low from the start of the evaluated period. Imipenem showed a decrease in antimicrobial activity in all dosing regimens except for 500mg q12h, for which CFR values were always under 70%; for 1g q6h antimicrobial activity decreased from 95% to 82%, maintaining moderate activity. For other regimens, CFR values decreased from high probabilities to target attainment (>90%) to low probabilities (CFR<70%).

Table 7. Linear regression results for CFR.

Antimicrobial	r	r ²	CI		p	β	Trend
			Lower limit	Higher limit			
Cefepime 1g/8h	0.06	0.00	-0.40	0.50	0.81	0.05	-
Cefepime 1g/12h	0.05	0.00	-0.44	0.36	0.83	-0.04	-
Cefepime 2g/8h	0.13	0.02	-0.26	0.43	0.60	0.09	-
Cefepime 2g/12h	0.04	0.00	-0.33	0.39	0.88	0.03	-
Ceftazidime 2g/8h	0.36	0.13	-0.15	0.89	0.15	0.37	-
Ceftazidime 2g/12h	0.33	0.11	-0.21	1.00	0.18	0.40	-
Ciprofloxacin 400mg/8h	<i>0.90</i>	0.81	-2.20	-1.30	<u>0.00</u>	-1.75	Decreasing
Ciprofloxacin 400mg/12h	0.79	0.63	-3.23	-1.36	<u>0.00</u>	-2.30	Decreasing
Gentamicin 7mg/kg/24h	0.43	0.18	-2.32	0.13	0.08	-1.09	-
Gentamicin 5mg/kg/24h	0.42	0.18	-2.43	0.16	0.08	-1.13	-
Imipenem 1g/6h	<i>0.52</i>	<i>0.27</i>	-1.75	-0.12	<u>0.03</u>	-0.93	Decreasing
Imipenem 1g/8h	<i>0.53</i>	<i>0.28</i>	-2.31	-0.19	<u>0.02</u>	-1.25	Decreasing
Imipenem 500mg/6h	<i>0.53</i>	<i>0.29</i>	-2.46	-0.22	<u>0.02</u>	-1.34	Decreasing
Imipenem 500mg/8h	0.42	0.18	-2.08	0.14	0.08	-0.97	-
Imipenem 500mg/12h	0.00	0.00	-1.00	0.99	1.00	-0.01	-
Levofloxacin 500mg/24h	<i>0.91</i>	0.83	-3.38	-2.08	<u>0.00</u>	-2.73	Decreasing
Meropenem 1g/6h	0.21	0.04	-0.59	0.25	0.41	-0.17	-
Meropenem 1g/8h	0.40	0.16	-1.32	0.12	0.10	-0.60	-
Piperacillin/tazobactam 4.5g/6h	0.15	0.02	-0.58	1.04	0.56	0.23	-
Piperacillin/tazobactam 4.5g/8h	0.28	0.08	-0.24	0.85	0.25	0.31	-
Tobramycin 5mg/kg/24h	0.04	0.00	-0.37	0.32	0.88	-0.03	-

r: correlation coefficient; r²: coefficient of determination; CI: Confidence interval; β: slope
 In bold r² ≥ 0.49; Underlined p < 0.05

4. DISCUSSION

Two microbiological surveillance tools have been used to evaluate the antimicrobial therapy against *P. aeruginosa*: (i) the analysis of susceptibility changes of the antimicrobials over time, and (ii) the analysis of the activity of the empirical antipseudomonal treatments by using a PK/PD modeling approach. After the evaluation over 18 years of the adequacy of the therapy, differences in the expected efficacy of the antimicrobials, in terms of susceptibilities or CFRs, were observed depending on the tool used.

P. aeruginosa is intrinsically resistant to several antimicrobial agents. Recently, Mensa et al.²⁵ have published the estimated prevalence of this bacteria in Spanish hospitals, and overall, resistance rates are over 20-30% for most antipseudomonal antimicrobials, except for amikacin, colistin and the recently introduced ceftolozane-tazobactam with values over 5%. In our study, in 2017 only amikacin and the β -lactams ceftazidime, cefepime and piperacillin/tazobactam, showed susceptibilities higher than 85% (table 2). Over the 18 years evaluated, a decrease in the susceptibility was observed only for gentamicin, tobramycin, and fluoroquinolones (table 3); but this reduction showed a poor relationship between both variables ($r^2 < 0.5$) susceptibility and time, despite statistically significant ($p < 0.05$).

Different national action plans on antimicrobial resistance, which have been implemented in the HUA hospital to control the emergence of resistances, have probably influenced substantially the obtained results, that is, the susceptibility rates and their evolution over the time. Bacteremia Zero²⁶ project (2009) and "Zero-VAP" bundle²⁷ (2011), consisting of the implantation of measures

²⁵ Mensa J, Barberán J, Soriano A, Linares P, Marco F, Cantón R, Bou G, González Del Castillo J, Maseda E, Azanza JR, Pasqua J, García-Vidal G, Reguera JM, Sousa D, Gómez J, Montejo M, Borges M, Torres A, Alvarez-Lerma F, Salavert M, Zaragoza R, Oliver A. Antibiotic selection in the treatment of acute invasive infections by *Pseudomonas aeruginosa*: Guidelines by the Spanish society of chemotherapy. Rev Esp Quimioter 2018;31:78-100.

²⁶ Palomar M, Álvarez-Lerma F, Riera A, Díaz MT, Torres F, Agra Y, Larizgoitia I, Goeschel CA, Pronovost PJ. Bacteremia Zero Working Group. Impact of a national multimodal intervention to prevent catheter-related bloodstream infection in the ICU: the Spanish experience. Crit Care Med 2017;41:2364-72.

²⁷ Álvarez Lerma F, Sánchez García M, Lorente L, Gordo F, Añón JM, Álvarez J, Palomar M, García R, Arias S, Vázquez-Calatayud M, Jam R, Sociedad Española de Medicina Intensiva; Sociedad Española de Enfermería Intensiva. Guidelines

to prevent central venous catheter-related bacteremia and a bundle of ventilator-associated pneumonia (VAP) prevention measures, respectively. Although these programs have been implemented in the ICU, they can have an important role in the prevention of the intra-hospital dissemination of resistances. Programs for optimizing the use of antibiotics in hospitals (called PROA), implemented in the HUA hospital since 2015, are promoted by the Ministry of Health, Social Services and Equality of Spain as a Strategic and Action Plan to Reduce the Risk of Selection and Dissemination of Resistance to Antibiotics 2014-2018²⁸. The main objectives²⁹ of these programs are (i) to improve the clinical results of patients with infections, (ii) to minimize the adverse effects associated with the use of antimicrobials (including the appearance and dissemination of the resistance), and (iii) to ensure the use of cost-effective treatments.

PK/PD analysis is outlined as a needed strategy to wisely optimize dosing regimens of the antimicrobial agents in order to conserve their therapeutic value⁸, moreover, its incorporation to clinical routine would contribute to reach the main objectives of the surveillance programs.

In this study, Monte Carlo simulation, pharmacokinetic modelling and institution-specific MIC determination have been used to evaluate antimicrobial dosing regimen for the empirical treatment of *P. aeruginosa*. It is important to remark that the expected probability of success estimated by applying Monte Carlo simulation for the evaluated antimicrobials do not match their susceptibilities. Meropenem (susceptibility of 75%) administered as 1g q 6 or 8h was able to attain high and moderate probabilities of success (92% and 86%, respectively). Ceftazidime and piperacillin/tazobactam (susceptibilities of 91 and 88%, respectively), administered at the highest

for the prevention of ventilator-associated pneumonia and their implementation. The Spanish "Zero-VAP" bundle. *Med Intensiva* 2014;38(4):226-36.

²⁸ Plan Nacional Frente a la Resistencia a los antibióticos 2014-2018. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad http://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/content_images/programas_de_optimizacion_de_uso_de_antibioticos_proa.pdf 2015 [accessed 11 Decembre 2018].

²⁹ Rodríguez-Baño J, Paño-Pardo JR, Alvarez-Rocha L, Asensio Á, Calbo E, Cercenado E, Cisneros JM, Cobo J, Delgado O, Garnacho-Montero J, Grau S, Horcajada JP, Hornero A, Murillas-Angoiti J, Oliver A, Padilla B, Pasquau J, Pujol M, Ruiz-Garbajosa P, San Juan R, Sierra R. Programas de optimización de uso de antimicrobianos (PROA) en hospitales españoles: documento de consenso GEIH-SEIMC, SEFH y SEMPSPH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30:22.e1–22.e23.

dose, showed only moderate probabilities to attain the PK/PD target, and cefepime, despite its high susceptibility (85%) provided CFRs under 70% for all dosage regimens evaluated. On the contrary and surprisingly, imipenem at highest dose was able to achieve moderate probability of success (CFR 82%) with only a 67% of susceptible isolates.

In the case of cefepime there is a controversy on its susceptibility breakpoint that could explain the observed differences. According to the CLSI criteria¹⁹, the cefepime MIC breakpoint was ≤ 8 mg/L. However, Bhat et al.³⁰ based on pharmacodynamic and clinical grounds, have suggested to lower the breakpoints for cefepime in countries where the cefepime dosage of 1 to 2 g every 12 h is the licensed therapy for serious infections, so that organisms with a cefepime MIC of 8 μ g/ml should be no longer regarded as susceptible to the antibiotic. More recently, Sue et al.³¹ also demonstrated worse outcomes related to high cefepime MICs for *P. aeruginosa*, despite being “susceptible” in the currently range, and proposed that the current CLSI criteria for cefepime susceptibility did not predict clinical outcomes appropriately and that the breakpoint of 8 mg/L is too high. In our study, if we calculate the susceptibility rate of *P. aeruginosa* against cefepime considering 8 mg/L as resistant, the susceptibility rate decreases (for instance, in 2017 from 85% to 53%), and in this case, CFR values would match better their susceptibilities.

The concentration-dependent antimicrobials, fluoroquinolones, gentamicin and tobramycin, showed CFRs under 35%, although susceptibilities ranged from 67 to 76%. Unfortunately, it has not been possible to calculate CFR values for amikacin, because of MIC concentrations tested in the hospital only ranged from 4 mg/L to 32 mg/L (susceptibility breakpoint MIC \leq 16 mg/L). This concentration range is adequate to categorize the strains as susceptible or resistant, but it is not

³⁰ Bhat SV, Peleg AY, Lodise TP, Shutt KA, Capitano B, Potoski BA, Paterson DL. Failure of current cefepime breakpoints to predict clinical outcomes of bacteremia caused by gram-negative organism. *Antimicrob agents chemother* 2007;51:4390-95.

³¹ Su TY, Ye JJ, Yang CC, Huang CT, Chia JH, Lee MH. Influence of borderline cefepime MIC on the outcome of cefepime-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia treated with a maximal cefepime dose: a hospital-based retrospective study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2017;16:52.

useful to estimate the CFR properly, whose value depends on the knowledge of the MIC values corresponding to a wide distribution.

Estimation of CFR is also useful to determine not only which antimicrobial, but also the dose regimen with the best likelihood of success. An increase of the antimicrobial doses not always implies relevant changes in CFR values, for example, increases in ciprofloxacin dose did not significantly improve the probability of target attainment (400mg q12h and 400mg q8h, CFR 3%-28% respectively); on the contrary, for piperacillin/tazobactam CFR ranged between 49% (4.5g q6h8) to 83% (4.5g q6h). Moreover, considering the time-dependent activity of all betalactams, the efficacy probably would improve by administering them through extended or continuous infusion, as shown with meropenem, although stability should be considered, as in the case of imipenem, with poor stability at room temperature.

Fluoroquinolones, and also imipenem, showed a statistically significant decreasing trend in the values of CFR over the 18 years evaluated, however, only in the case of ciprofloxacin and levofloxacin the coefficient of determination r^2 was higher than 0.5, indicating good correlation.

In order to evaluate properly the results obtained in this theoretical PK/PD analysis, some limitations must be considered. i) PK information from the patients from whom *P. aeruginosa* was isolated was not available. Therefore, it was extracted from prospective studies carried out in patients with infections, excluding patients in ICUs and the PK/PD analysis was carried out by using the mean PK parameters and their variability; ii) PK/PD analysis is conditioned by the place of infection since the CFR would vary according to location, preferably in the case of antibiotics with wide urinary excretion; iii) Colistin has not been evaluated because it is hardly used in the patients admitted at the HUA, with the exception of ICU patients (not included in the study). Additionally, colistin's MIC distribution has not been tested until recent years, and this antimicrobial does not have a widely accepted PK/PD index; iv) Extended infusion of beta-lactams has not been evaluated, except for meropenem; v) In this study, only the CLSI breakpoints have

been considered. EUCAST³² (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) and CLSI¹⁰ susceptibility breakpoints agree on six of the 10 antimicrobials studied, and the breakpoints of amikacin, imipenem, ciprofloxacin and levofloxacin differ only in one dilution. In 2017, amikacin presented a susceptibility value of 22 percentage points lower by using EUCAST criterion instead CLSI; the difference for the other three affected antimicrobials was less than 10 percentage points.

In brief, empirical antipseudomonal therapy would vary considerably if, in addition to susceptibility data, PK/PD analysis is considered. Based only on susceptibility, amikacin, ceftazidime, piperacillin/tazobactam but also cefepime would be the best therapeutic options. PK/PD analyses was able to identify changes in antimicrobial activity not detected by simply assessing MIC indices, meropenem provided high probabilities to achieve the PK/PD target, followed by ceftazidime, piperacillin/tazobactam and imipenem, with moderate probabilities, all of them administered at the highest doses. In conclusion, PK/PD approach has allowed to preserve the therapeutic value of antimicrobials with low susceptibility values, such as carbapenems, and the selection of the most efficacy antimicrobials among those with high rates of sensible isolates. Both microbiological surveillance tools, analysis of susceptibility and PK/PD modeling, should be considering together in the clinical routine to determine the most appropriate antimicrobial drug and its dose regimen, contributing in this way to decrease the risk of treatment failure and resistances development.

³² European Committee of antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). Clinical Breakpoints, bacteria (v 8.1). http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.1_Breakpoint_Tables.pdf 2018 [accessed 5 February 2019].

CAPITULO III



Integración del análisis PK/PD en la evaluación de la actividad antimicrobiana frente a aislados de *Pseudomonas aeruginosa* basados en un estudio nacional español de sensibilidad

Integrating PK/PD analysis to evaluate de antimicrobial activity against Pseudomonas aeruginosa infections based on Spanish nationwide survey of susceptibility

RESUMEN

La aparición de resistencia a múltiples agentes antimicrobianos en bacterias patógenas se ha convertido en una amenaza importante para la salud pública, dada la disminución, e incluso la falta de antimicrobianos disponibles para su tratamiento. *Pseudomonas aeruginosa* se caracteriza por una notable resistencia intrínseca a los antimicrobianos, posee una elevada capacidad para desarrollar resistencia a la mayoría de los antimicrobianos disponibles. De hecho, según el informe EARS-Net 2018, en España el 10,9% de los aislamientos de *P. aeruginosa* son resistentes al menos a tres grupos de antimicrobianos. Asimismo, en el reciente estudio llevado a cabo por el grupo GEMARA-SEIMC (Grupo de Estudio de los mecanismos de acción y resistencia a los antimicrobianos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica) y REIPI (Red Española de Investigación de Investigación en Patología Infecciosa) sobre los mecanismos de resistencia y epidemiología de *P. aeruginosa* se observó que el 26,2% de los aislamientos se clasificaron como multirresistentes (MDR), el 17,3% como extremadamente resistentes (XDR) y el 0,1% como panresistentes (PDR).

La idoneidad de un tratamiento antimicrobiano está condicionada tanto por la adecuada elección del fármaco como por el régimen posológico utilizado, siendo el análisis farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD) una herramienta útil para la selección del régimen posológico con mayor probabilidad de obtener una respuesta clínica favorable, contribuyendo de esta manera a disminuir el riesgo de fracaso del tratamiento y desarrollo de resistencias.

El objetivo del presente trabajo fue la estimación mediante criterios PK/PD de la actividad antimicrobiana de los fármacos empleados habitualmente en el tratamiento de infecciones causadas por *P. aeruginosa*, a partir de los resultados de sensibilidad y distribución de CMI publicados por el Grupo de estudio de *Pseudomonas* de GEMARA-SEIMC/REIPI. Asimismo, se evaluó el papel del análisis PK/PD en la optimización de la terapia antimicrobiana como herramienta para minimizar la aparición de resistencias.

Métodos: se evaluó la actividad antimicrobiana de amikacina, aztreonam, cefepima, ceftazidima, ceftazidima/avibactam, ceftolozano/tazobactam, ciprofloxacino, colistina, imipenem, meropenem, piperacilina/tazobactam y tobramicina. Para ello, los 1445 aislados no duplicados incluidos en la base de datos, procedentes 51 hospitales españoles, se clasificaron según el tipo de servicio de ingreso, Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) o servicios médico-quirúrgicos, y el tipo de muestra, respiratoria o no respiratoria. Se realizaron simulaciones de Monte Carlo para calcular tanto la probabilidad de alcanzar el objetivo farmacodinámico (PTA) como la fracción de respuesta acumulada (CFR).

Resultados: colistina, amikacina y las nuevas combinaciones de cefalosporinas con inhibidor de β -lactamasas presentaron las mayores probabilidades de éxito de tratamiento, con CFR superiores al 90% en los servicios médico-quirúrgicos evaluados. En el caso de los aislados de UCI sólo la combinación ceftazidima/avibactam presentó un valor de CFR > 90% (95%). Colistina junto con ceftolozano/tazobactam proporcionaron probabilidades de éxito del tratamiento entre el 80-90%, y en el caso de meropenem se alcanzó un valor de CFR mayor al 80% solo con perfusión de 3h. Ninguno de los antimicrobianos evaluados proporciona concentraciones plasmáticas asociadas a la supresión de resistencias a las dosis empleadas en la práctica clínica en aislados de UCI. Sin embargo, en el caso de aislados procedentes de pacientes de los servicios médico-quirúrgicos, con ceftolozano/tazobactam y ceftazidima/avibactam se alcanzan concentraciones plasmáticas que podrían asociarse a la supresión de resistencias.

Conclusión: el análisis PK/PD ha demostrado ser una estrategia que permite preservar el valor terapéutico de los antimicrobianos, la estimación de la CFR es útil no sólo para determinar el antimicrobiano más adecuado, sino también el régimen de dosificación con la mayor probabilidad de éxito, contribuyendo de esta manera a disminuir el riesgo de fracaso del tratamiento y desarrollo de resistencias.

1. INTRODUCTION

Emergence of resistance to multiple antimicrobial agents in pathogenic bacteria has become a significant public health threat as there are fewer, or even sometimes, no effective antimicrobial agents available for infections caused by these bacteria. These strains are increasingly disseminated worldwide, progressively complicating the treatment of infections. The dissemination of MDR/XDR global strains, the high-risk clones, in multiple hospitals worldwide adds further concern¹. The progressive increase in resistance rates in pathogenic bacteria has led to the emergence of strains which, based on their degree of resistance to common antibiotics, have been defined as multidrug resistant (MDR), extended-resistant (XDR) and panresistant strains (PDR)².

Pseudomonas aeruginosa is currently one of the main infection-causing microorganisms acquired in hospitals³. According to the National Healthcare Safety Network, *Pseudomonas aeruginosa* is the fifth most common cause of hospital-acquired infections⁴. In the ENVIN-HELICS national registry 2018 (Spanish National ICU-Acquired Infection Surveillance Study), *P. aeruginosa* was the second most frequent isolated microorganism, just behind *Escherichia coli*,

¹ Del Barrio-Tofiño, López-Causapé C, Cabot G, Rivera A, Benito N, Segura C, Montero MM, Sorlí L, Tubau F, Gómez-Zorrilla S, Tormo N, Durá-Navarro R, Viedma E, Resino-Foz E, Fernández-Martínez M, González-Rico C, Alejo-Cacho I, Martínez JA, Labayru-Echeverría C, Dueñas C, Ayestarán I, Zamorano L, Martínez-Martínez L, Horcajada JP, Oliver A. Genomics and Susceptibility Profiles of Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Spain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61:e01589-17.

² Mensa J, Barberán J, Soriano A, Llinares P, Marco F, Cantón R, Bou G, González Del Castillo J, Maseda E, Azanza JR, Pasquau J, García-Vidal C, Reguera JM, Sousa D, Gómez J, Montejo M, Borges M, Torres A, Alvarez-Lerma F, Salavert M, Zaragoza R, Oliver A. Antibiotic selection in the treatment of acute invasive infections by *Pseudomonas aeruginosa*: Guidelines by the Spanish Society of Chemotherapy. *Rev Esp Quimioter* 2018;31: 78-100

³ Ruiz-Garbajosa P, Cantón R. Epidemiology of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Implications for empiric and definitive therapy. *Rev Esp Quimioter* 2017;30:8-1

⁴ Tennant SJ, Burgess DR, Rybak JM, Martin CA, Burgess DS. Utilizing Monte Carlo simulations to optimize institutional empiric antipseudomonal therapy. *Antibiotics.* 2015;4:643–52

as cause of nosocomial infections in ICUs, and the third most frequent (after *E. coli* and *Staphylococcus aureus*) in community-acquired infections requiring ICU admission⁵.

P. aeruginosa is characterized by remarkable intrinsic resistance to antimicrobials. In fact, it has an extraordinary ability to develop resistance to nearly all antimicrobials available either by chromosomal mutations or by acquisition of localized genes in transferable elements. According to 2018 EARS-Net report 2018⁶ in Spain, the 10.9% of invasive isolates of *P. aeruginosa* are resistant to at least three groups of antimicrobials. Recently Del Barrio-Tofiño et al.⁷ published a Spanish nationwide survey on *P. aeruginosa* antimicrobial resistance mechanisms and epidemiology. The study included 1445 *P. aeruginosa* clinical isolates collected during October 2017 from each of the 51 participating hospitals, covering all 17 Spanish regions. The study showed that up to 26.2% of the isolates were classified as MDR, 17.3% as XDR and 0.1% as PDR. Intensive Care Unit (ICU) isolates were more frequently MDR/XDR than those from other wards. The MDR profile was defined as non-susceptibility to at least one agent in at least three antibiotic classes and the XDR profile as non-susceptibility to at least one agent in all but one or two antibiotic classes.

⁵ Estudio Nacional de Vigilancia de infección nosocomial en servicios de medicina intensiva. Informe 2018. Available from: <http://hws.vhebron.net/envin-helics/Help/Informe%20ENVIN-UCI%202018.pdf> (accessed 12 may 2020).

⁶ European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. Surveillance report 2018. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf>

⁷ Del Barrio-Tofiño E, Zamorano L, Cortes-Lara S, Lopez-Causapé C, Sánchez-Diener I, Cabot D, Bou G, Martínez-Martínez L, Oliver A. Spanish nationwide survey on *P. aeruginosa* antimicrobial resistance mechanisms and epidemiology. *J Antimicrob Chemother* 2019;74:1825-35.

In previous studies^{8,9} we have shown that for a better evaluation of the adequacy of the antimicrobial treatments, it is important to consider both the susceptibility rates and the probability to attain the pharmacodynamic target related to the efficacy. In recent years, pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis is also being applied to avoid selection and increase of resistance with the aim of knowing the principles and breakpoints that predicts its appearance and diffusion. Currently, it is clearly established that inadequate exposure to antimicrobials can lead to the amplification of resistant subpopulations. The generation of resistant mutants within a bacterial population is an inevitable event, but it is possible to intervene to avoid amplification of the subpopulation and thus preserve the activity of antimicrobials¹⁰. PK/PD analysis is postulated as the main tool to fight resistance emergence by optimization of the dosing regimens of new and old antibiotics. Its application leads not only to an improvement in the probabilities of success of the therapy, but also to the minimization of the resistance emergence and reduction of the adverse effects¹¹.

Thus, the objective of this work was to analyse the antimicrobial activity of thirteen antipseudomonal antimicrobials considering pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) criteria using microbiological data of the recently published large-scale Spanish nationwide survey of *P. aeruginosa* infections⁷. A secondary objective was to evaluate the role of PK/PD measures for optimize antibiotic therapy to minimize resistance emergence.

⁸ Valero A, Isla A, Rodríguez-Gascón A, Calvo B, Canut A, Solinís MA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis as a tool for surveillance of the activity of antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in critically ill patients. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019;37:380-6

⁹ Valero A, Isla A, Rodríguez-Gascón A, Calvo B, Canut A, Solinís MA. *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility and antimicrobial activity by PK/PD analysis: An 18-years surveillance study. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019;37:380-6

¹⁰ Blondeau JM, Hansen G, Metzler K, Hedlin P. The role of PK/PD parameters to avoid selection and increase of resistance: mutant prevention concentration. *J Chemother*. 2004;16:1-19

¹¹ Asín-Prieto E, Rodríguez-Gascón A, Isla A. Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. *Journal of infection chemotherapy*. 2015;21:319–29.

2. METHODS

2.1. Antimicrobials and pharmacokinetic data

Thirteen antimicrobials were chosen based on their routine use for treatment of *P. aeruginosa* infections. Table 1 and 2 shows all the dosing regimens studied from both ICU and medical ward patients (based on The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST, 10.0 version recommended dosing regimens¹²).

¹² European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Clinical breakpoints 2020 v. 10.0. Available from: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/

Pharmacokinetic parameters were obtained from the literature. Prospective studies performed in critically ill^{13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28} and in medical ward patients^{20,29,30,31}

¹³ Zazo H, Martín-Suarez A, Lanao JM. Evaluating amikacin dosage regimens in intensive care unit patients: a pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis using Monte Carlo simulation. *Int J Antimicrob Agents* 2013;**42**:155-160.

¹⁴ Ramsey C, MacGowan AP. A review of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of aztreonam. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71: 2704–2712

¹⁵ Lipman J, Wallis SC, Rickard C. Low plasma Cefepime levels in critically ill septic patients: Pharmacokinetics modeling indicates improved troughs with revised dosing. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;**43**:2559.

¹⁶ Gonçalves-Pereira J, Póvoa P. Antibiotics in critically ill patients: a systematic review of the pharmacokinetics of β -lactams. *CritCare* 2011;**15**:R206.

¹⁷ Benko AS, Cappelletty DM, Kruse JA, Rybak MJ. Continuous infusion versus intermittent administration of ceftazidime in critically ill patients with suspected Gram-negative infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;**40**:691-695.

¹⁸ Sherwin KB, Zhuang L, Sy S, Derendorf H. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamic of ceftazidime-avibactam combination: A model-informed strategy for its clinical development. *Clinical pharmacokinetics* 2019;**58**:545-564

¹⁹ Stein GE, Smith CL, Scharmen A, Kidd JM, Cooper C, Kuti J, Mitra S, Nicolau DP, Havlichek DH. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis of Ceftazidime/Avibactam in Critically Ill Patients. *Surg Infect (Larchmt)*. 2019;**20**:55-61.

²⁰ Ficha técnica Zavicefta. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zavicefta-epar-product-information_es.pdf

²¹ Sime FB, Lassig-Smith M, Starr T, Stuart J, Pandey S, Parker SL, Wallis SC, Lipman J, Roberts JA. Population Pharmacokinetics of Unbound Cefotolozane and Tazobactam in Critically Ill Patients without Renal Dysfunction. *Antimicrob Agents Chemother* 2019;**63**:e01265-19.

²² Kakara M, Larson K, Feng HP, Shiomi M, Yoshitsugu H, Rizk ML. Population pharmacokinetics of tazo bactam/ceftolozane in Japanese patients with complicated urinary tract infection and complicated intra-abdominal infection. *J Infect Chemother* 2019;**25**:182-191

²³ Conil JM, Georges B, de Lussy A, Khachman D, Seguin T, Ruiz S, et al. Ciprofloxacin use in critically ill patients: pharmacokinetic and pharmacodynamic approaches. *Int J Antimicrob Agents* 2008;**32**:505-510.

²⁴ Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Paterson DL, Shoham S, Jacob J, Silveira FP, Forrest A, Nation RL. Population Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Formed Colistin in Critically Ill Patients from a Multicenter Study Provide Dosing Suggestions for Various Categories of Patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;**55**:3284-3294.

²⁵ Lipš M, Siller M, Strojil J, Urbánek K, Balík M, Suchánková H. Pharmacokinetics of imipenem in critically ill patients during empirical treatment of nosocomial pneumonia: A comparison of 0.5-h and 3h infusion. *Int J Antimicrob Agents* 2014;**44**:358–362.

²⁶ Isla A, Canut A, Arribas J, Asín-Prieto E, Rodríguez-Gascón A. Meropenem dosing requirements against *Enterobacteriaceae* in critically ill patients: influence of renal function, geographical area and presence of extended-spectrum β -lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016 ; 35:511–9.

²⁷ Li C, Kuti JL, Nightingale CH, Mansfield DL, Dana A, Nicolau DP. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of piperacillin/tazobactam in patients with complicated intra-abdominal infection. *J Antimicrob Chemother* 2005;**56**:388-39.

²⁸ Peris-Marti JF, Borrás-Blasco J, Rosique-Robles JD, Gonzalez-Delgado M. Evaluation of once daily tobramycin dosing in critically ill patients through Bayesian simulation. *J Clin Pharm Ther* 2004;**29**:65-70

²⁹ Barbhuiya RH, Knupp CA, Pfeffer M, Pittman KA. Lack of Pharmacokinetic Interaction between Cefepime and Amikacin in Humans. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;**36**:1382-1386

,32,33,34,35,36,37,38,39 with *P. aeruginosa* infections were selected. The data are depicted in table 1 and 2, respectively.

³⁰ Frei CR, Wiederhold NP, Burgess DS. Antimicrobial breakpoints for Gramnegative aerobic bacteria based on pharmacokinetic-pharmacodynamic models with Monte Carlo simulation. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61:621–8

³¹ Bensman TJ, Wang J, Jayne J, Fukushima L, Rao AP, D'Argenio DZ, Beringer PM. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Target Attainment Analyses To Determine Optimal Dosing of Ceftazidime-Avibactam for the Treatment of Acute Pulmonary Exacerbations in Patients with Cystic Fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61:e00988-17

³² Monogue ML, Pettit RS, Muhlebach M, Cies JJ, Nicolau DP, Kutia JL. Population Pharmacokinetics and Safety of Ceftolozane-Tazobactam in Adult Cystic Fibrosis Patients Admitted with Acute Pulmonary Exacerbation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60:6578-6584

³³ Rodríguez-Núñez O, Periañez-Parraga L, Oliver A, Munita JM, Boté A, Gasch O, Nuvials X, Dinh A, Shaw R, Lomas JM, Torres V, Castón J, Araos R, Abbo LM, Rakita R, Pérez F, Aitken SL, Arias CA, Martín-Pena ML, Colomar A, Núñez MB, Mensa J, Martínez JA, Soriano A. Higher MICs (>2 mg/L) Predict 30-Day Mortality in Patients With Lower Respiratory Tract Infections Caused by Multidrug- and Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Treated With Ceftolozane/Tazobactam. *Open Forum Infect Dis.* 2019;6:ofz416

³⁴ Ficha Técnica Zerbaxa. Available from: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1151032001/FT_1151032001.html

³⁵ Zelenitsky SA, Rubinstein E, Ariano RE, Zhanel GG. Canadian Antimicrobial Resistance Alliance. Integrating pharmacokinetics, pharmacodynamics and MIC distributions to assess changing antimicrobial activity against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* causing infections in Canadian hospitals (CANWARD). *J Antimicrob Chemother* 2013;68:i67-72

³⁶ Couet W, Grégoire N, Gobin P, Saulnier PJ, Frasca D, Marchand S, Mimoz O. Pharmacokinetics of Colistin and Colistimethate Sodium After a Single 80-mg Intravenous Dose of CMS in Young Healthy Volunteers. *Clin pharmacol Ther* 2011;89:875-879

³⁷ Asín-Prieto E, Isla A, Canut A, Rodríguez-Gascón A. Comparison of antimicrobial pharmacokinetic/pharmacodynamic breakpoints with EUCAST and CLSI clinical breakpoints for Gram-positive bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2012;40:313-22.

³⁸ Zelenitsky SA, Harding GKM, Sun S, Ubhi K, Ariano RE. Treatment and outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: an antibiotic pharmacodynamic analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52:668-674.

³⁹ Guglielmo BJ, Flaherty JF, Woods TM, Lafollette G, Gambertoglio JG. Pharmacokinetics of Cefoperazone and Tobramycin alone and in Combination. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31:264-266.

Table 1. Pharmacokinetic parameters for each antimicrobial agent from published studies among critically ill patients (mean \pm standard deviation).

Antimicrobial agent	Dosing regimen	Infusion time (h)	Vd (L)	Cl(L/h)	Ke(h ⁻¹)	Fu
Amikacin	25-30mg/kg/24h	0.5	36.27 \pm 8.34	5.58 \pm 1.56		
Aztreonam	2g q/6h	2 3	27.20 \pm 20.80	9.60 \pm 5.00		0.72
Cefepime	2g q/8h	0.5 3	21.80 \pm 5.10	7.62 \pm 1.98		0.85
Ceftazidime	2g q/8h 1g q/4h	0.5 3	18.90 \pm 9.00		0.27 \pm 0.21	0.80
Ceftazidime/avibactam	2.5g q/8h	2	34.78 \pm 10.49 50.81 \pm 14.32	6.14 \pm 3.80 11.09 \pm 6.78		0.90 0.92
Ceftolozane/tazobactam	1.5g q/8h 3g q/8	1	20.40 \pm 3.70 32.40 \pm 10.00	7.20 \pm 3.20 25.40 \pm 9.40		0.79 0.70
Ciprofloxacin	400mg q/8h	1		13.60 \pm 5.80		
Colistin	150mg q/12h	0.5		2.92 \pm 2.72		
Imipenem	1g q/6h	1 2	28.70 \pm 9.70	11.40 \pm 3.53		0.80
Meropenem	2g q/8h	0.5 3	22.70 \pm 3.70	13.60 \pm 2.08		0.98
Piperacillin/tazobactam	4.5g q/6h	0.5 4	19.40 \pm 7.76	13.80 \pm 4.77		0.75
Tobramycin	6-7mg/kg/24h	0.5	17.50 \pm 5.25		0.25 \pm 0.01	

Table 2. Dosing regimen and pharmacokinetic parameters for each antimicrobial agent from published studies in non-critically ill patients (mean \pm standard deviation)

Antimicrobial agent	Dosing regimen	Infusion time (h)	Vd (L)	Cl(L/h)	AUC (mg/L x h)	Fu
Amikacin	25-30mg/kg/24h	0.5	15.80 \pm 3.50	4.30 \pm 1.30		
Aztreonam	2g q/6h	2 3	0.11 \pm 0.01 (L/kg)	3.84 \pm 0.24		0.40
Cefepime	1g q/8h 2g q/12h	0.5 3	0.28 \pm 0.25 (L/kg)	7.00 \pm 4.30		0.80
Ceftazidime	1g q/8h	0.5 3	18.75 \pm 1.50	7.98 \pm 1.20		0.90
Ceftazidime/avibactam	2.5g q/8h	2	18.70 \pm 1.65 25.30 \pm 4.43	7.53 \pm 1.28 12.30 \pm 1.96		0.90 0.92
Ceftolozane/tazobactam	1.5g q/8h 3g q/8	1	13.50 \pm 2.83 18.20 \pm 4.55	4.76 \pm 1.13 20.51 \pm 4.40		0.79 0.70
Ciprofloxacin	400mg q/12h	1			20.80 \pm 5.70	
Colistin	150mg q/12h	0.5		2.92 \pm 0.10		
Imipenem	500mg q/6h	1 2	16.50 \pm 3.75	10.50 \pm 1.38		0.90
Meropenem	1g q/8h	0.5 3	20.25 \pm 3.00	14.40 \pm 1.80		0.92
Piperacillin/tazobactam	4.5g q/8h	0.5 4	11.25 \pm 1.50	10.22 \pm 2.12		0.70
Tobramycin	6-7mg/kg/24h	0.5	20.50 \pm 11.40	5.19 \pm 0.91		

2.2. Microbiological data

Microbiological data (MIC distributions) were extracted from the Spanish nationwide survey study about *P. aeruginosa* isolates collected from 51 participating hospitals, covering all 17 Spanish regions during October 2017⁷, carried out by GEMARA-SEIMC/REIPI group. The collection studied included up to 30 consecutive health care-associated non duplicated (one per patient) *P. aeruginosa* clinical isolates. A total of 1445 isolates from respiratory, urinary, blood-stream, skin and soft tissue and osteo-articular and other sample types and ICU, medical ward, surgical ward, emergency room and other sources were recorded for each isolate.

For this study, once the database from GEMARA-SEIMC/REIPI group was obtained, isolates were classified according to the admission service (ICU or medical wards) and according to the sample type (respiratory and non-respiratory). The percentage of susceptible strains to amikacin, aztreonam, cefepime, ceftazidime, ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam, ciprofloxacin, colistin, imipenem, meropenem, piperacillin/tazobactam and tobramycin was estimated considering EUCAST breakpoints¹². Table 3 shows the breakpoints applied to calculate the susceptibility according to EUCAST.

Table 3. EUCAST susceptibility breakpoints for *P. aeruginosa* of the studied antimicrobials.

Antimicrobial agent	MIC interpretive criteria (mg/L)		
	Susceptible	Intermediate*	Resistant
Amikacin	≤ 16		> 16
Aztreonam	≤ 0.001	>0.001-16	> 16
Cefepime	≤ 0.001	>0.001-8	> 8
Ceftazidime	≤ 0.001	>0.001-8	> 8
Ceftazidime/avibactam	≤ 8		> 8
Ceftolozane/tazobactam	≤ 4		> 4
Ciprofloxacin	≤ 0.001	>0.001-0.5	> 0.5
Colistin	≤ 2		> 2
Imipenem	≤ 0.001	>0.001-4	> 4
Meropenem	≤ 2		> 8
Piperacillin/tazobactam	≤ 0.001	>0.001-16	> 16
Tobramycin	≤2		> 2

2.3. PK/PD analysis and Monte Carlo simulation

Ten thousand subject Monte Carlo simulations were performed using Oracle® Crystal Ball software. The probability of target attainment (PTA) and the cumulative fraction of response (CFR) were calculated. Table 4 shows the PK/PD indexes and the magnitude^{11,14,21,30,32,35,40,41,42,43} of the targets associated with the success of therapy for each antimicrobial. For suppression of resistance, the correspondent PK/PD indexes and targets^{44,45,46,47,48,49,50} are presented in table 5.

⁴⁰ Kashuba AD, Nafziger AN, Drusano GL, Bertino Jr JS. Optimizing aminoglycoside therapy for nosocomial pneumonia caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:623e9.

⁴¹ Drusano GL. Antimicrobial Pharmacodynamics: Critical interactions of “bug and drug”. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2:289-300

⁴² DeRyke CA, Kuti JL, Nicolau DP. Reevaluation of current susceptibility breakpoints for Gramnegative rods based on pharmacodynamic assessment. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;58:337-44.

⁴³ Tängdén T, Ramos Martín V, Felton TW, Nielsen EI, Marchand S, Brüggemann RJ, Bulitta JB, Bassetti M, Theuretzbacher U, Tsuji BT, Wareham DW, Friberg LE, De Waele JJ, Tam VH, Roberts JA. The role of infection models and PK/PD modelling for optimising care of critically ill patients with severe infections. *Intensive Care Med* 2017;43:1021-1032

⁴⁴ Tam VH, Chang KT, Zhou J, Ledesma KR, Phe K, Gao S, Van Bambeke F, Sánchez-Díaz AM, Zamorano L, Oliver A, Cantón R. Determining beta-lactam exposure threshold to suppress resistance development in Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72:1421-8.

⁴⁵ Sumi CD, Heffernan AJ, Lipman J, Roberts JA, Sime FB. What Antibiotic Exposures Are Required to Suppress the Emergence of Resistance for Gram-Negative Bacteria? A Systematic Review. *Clin Pharmacokinet*. 2019;58:1407-1443.

⁴⁶ Crandon JL, Schuck VJ, Banevicius MA, Beaudoin ME, Nichols WW, Tanudra MA, Nicolau DP. Comparative in vitro and in vivo efficacies of human simulated doses of ceftazidime and ceftazidime-avibactam against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:6137-6146

⁴⁷ VanScoy BD, Mendes RE, Castanheira M, McCauley J, Bhavnani SM, Jones RN, Friedrich LV, Steenbergen JN, Ambrose PG. Relationship between ceftolozane-tazobactam exposure and selection for *Pseudomonas aeruginosa* resistance in a hollow-fiber infection model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:6024-31.

⁴⁸ Bergen PJ, Bulitta JB, Kirkpatrick CMJ, Rogers KE, McGregor MJ, Wallis SC, Paterson DL, Lipman J, Roberts JA, Landersdorfer CB. Effect of different renal function on antibacterial effects of piperacillin against *Pseudomonas aeruginosa* evaluated via the hollow-fiber infection model and mechanism-based modelling. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71:2509-20

⁴⁹ Firsov AA, Gilbert D, Greer K, Portnoy YA, Zinner SH. Comparative pharmacodynamics and antimutant potentials of doripenem and imipenem with ciprofloxacin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:1223-8

⁵⁰ Maciá MD, Borrell N, Segura M, Gómez C, Pérez JL, Oliver A. Efficacy and potential for resistance selection of antipseudomonal treatments in a mouse model of lung infection by hypermutable *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:975-983.

Table 4. Pharmacokinetic/pharmacodynamics (PK/PD) index and target magnitude for each antimicrobial agents.

Antimicrobial agent	PK/PD target
Amikacin	$C_{max}/MIC > 10$
Aztreonam	$\%fT > MIC > 60$
Cefepime	$\%fT > MIC > 70$
Ceftazidime	$\%fT > MIC > 70$
Ceftazidime/avibactam	$fT > MIC 50\%$ $fT > 1mg/L 50\%$
Ceftolozane/tazobactam	$\%t > MIC > 60\%$ $fT > 1mg/L 20\%$
Ciprofloxacin	$fAUC_{24h}/MIC > 125$
Colistin	$fAUC_{24h}/MIC > 25-35$
Imipenem	$\%fT > MIC > 40$
Meropenem	$\%fT > MIC > 40$
Piperacillin/tazobactam	$\%fT > MIC > 50$
Tobramycin	$C_{max}/MIC > 10$

$\%fT > MIC$: Percentage of time that the antimicrobial free serum concentration remained above the MIC; $fT > 1mg/L$: cumulative percentage of a 24-h period that the free drug concentration exceeds a 1-mg/liter threshold concentration; AUC: Area under the concentration-time curve; C_{max} : Maximum drug plasma concentration; MIC: Minimum Inhibitory Concentration

Table 5. The pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) indices reported to suppress the emergence of antibiotic resistance for *P. aeruginosa*.

Antimicrobial	PK/PD index	Magnitude <i>P. aeruginosa</i>	
		Total drug concentration	Free drug concentration
Cefepime	C_{min}/MIC		≥ 4
Ceftazidime	$\%fT>MIC$		≥ 100
Ceftazidime/avibactam	$\%fT>MIC$		≥ 87
Ceftolozane/tazobactam	$\%T>MIC$	≥ 80	
Piperacillin/tazobactam	$\%fT>MIC$		≥ 5
Meropenem	C_{min}/MIC		≥ 4
Imipenem	AUC_{24}/MIC	$=140$	
Ciprofloxacin	AUC_{24}/MIC	≥ 385	

C_{min} : Minimum concentration; MIC: Minimum inhibitory concentration; C_{max} : Maximum concentration; AUC_{24h} : Area under the concentration-time curve from 0 to 24 h; MPC: mutant prevention concentration.

2.3.1. Probability of target attainment

The PTA is defined as the probability that a specific value of the PK/PD index associated with the efficacy of the antimicrobial is achieved at a certain MIC. It corresponds to the percentage of simulated patients with an estimated PK/PD index equal to or higher than the value related to efficacy of the antimicrobial against a pathogen with certain MIC¹¹. The PTA was calculated using the following equations:

- Time dependent activity antimicrobials (iv infusion administered):

$$f\%T_{>MIC} = [(t_2 + t_i) - t_1] \cdot \frac{100}{\tau}$$

Where $fT_{>MIC}$ is the proportion of time that the free serum concentration remains above the MIC at steady state (%) over a dosing interval; t_1 (h) corresponds to the time at which the free serum concentration reached the MIC during the infusion phase; t_2 (h) corresponds to the post-infusion time at which the free serum concentration equaled the MIC in the elimination phase and τ is the dosing interval. t_1 and t_2 were calculated as follows:

$$t_1 = \frac{(MIC - fC_{min,ss})}{(fC_{max,ss} - fC_{min,ss})} \cdot t_{inf}$$

$$t_2 = \text{Ln} \left(\frac{fC_{max,ss}}{MIC} \right) \cdot \frac{1}{k_e}$$

Where k_e is the elimination rate constant; $fC_{min,ss}$ y $fC_{max,ss}$ are the minimum and maximum serum concentrations of unbound drug (mg/L) at steady state, respectively, and were estimated according to the following equations using the total clearance (CL), volumen of distribution (Vd), total dose administered (D) and the unbound fraction (f_u) data.

$$fC_{min,ss} = fC_{max,ss} \cdot e^{-k_e(\tau - t_i)}$$

$$fC_{max,ss} = f_u \cdot \frac{D}{CL \cdot t_i} \cdot (1 - e^{-k_e \cdot t_i}) \cdot \frac{1}{1 - e^{-k_e \tau}}$$

- Concentration-time dependent antimicrobials:
 - C_{max}/MIC ⁵¹: Ratio of the maximum drug plasma concentration divided by the MIC

$$C_{max} = \frac{k_0 \cdot (1 - e^{(-k_e \cdot T_{inf})})}{CL \cdot (1 - e^{(-k_e \cdot \tau)})}$$

Where k_0 is the infusion rate, k_e is the elimination rate constant, T_{inf} is the infusion time, CL total clearance and τ is the dosing Interval.

- AUC_{24h}/MIC ⁵²: Ratio of the area under the antimicrobial concentration time curve for 24h divided by the MIC.

$$AUC_{24h} = \frac{D_{24h}}{CL}$$

Where AUC_{24h} is the area under the serum concentration time-curve over 24h and D_{24h} is the daily administered dose.

The dosing regimens were considered successful if the PTA was $\geq 90\%$. Whereas a $PTA \geq 80\%$ but $< 90\%$ was associated with moderate probabilities of success²⁶.

⁵¹ Gamundi Planas MC (2002) Farmacocinética clínica. En Calvo MV, García MJ, Martínez J, Fernández MM. *Farmacia Hospitalaria Tomo I* (pp.625-665). Publicaciones de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria.

⁵² Rebeck JA, Fish DN, Abraham E. Pharmacokinetics of Intravenous and Oral Levofloxacin in Critically Ill Adults in a Medical Intensive Care Unit. *Pharmacotherapy* 2002;22:1216-25.

2.3.2. Cumulative fraction of response

The probability that a specific value of the PK/PD index associated with the efficacy of an antimicrobial agent is achieved at a specific population of microorganisms is known as the cumulative fraction of response (CFR). The CFR is defined as the expected population PTA given a population of microorganism for a specific dosing regimen. It allowed us to calculate the probability of success for a treatment without knowledge of the susceptibility of the specific isolate responsible for the infection, but taking into account the bacterial population MIC distribution, it was calculated with the equation:

$$CFR = \sum_{i=1}^n PTA_i \times F_i$$

Where the CFR (%) results from the total sum of the products of the PTA at a certain MIC times the frequency (Fi) of isolates of microorganism exhibiting that MIC over the range of susceptibility pathogen²⁶.

A CFR \geq 80% but <90% was associated with moderate probabilities of success, whereas a CFR \geq 90% was considered as optimal against that bacterial population²⁶.

2.3.3. Calculation of the joint probability of PK/PD target attainment⁸¹

Joint PTA, calculated for β -lactam and β -lactamase inhibitor combination antibiotic, are defined as the simultaneous attainment of each individual PTA. It can be calculated:

- As the product of each simulated individual PTAs.
- Determining first if, in each simulated patient, the PTA for the β -lactamase inhibitor is achieved. If this threshold was met, the joint PTA is considered to be the calculated for the β -lactam.

A PTA of >90% was selected as threshold for optimal treatment. PTA \geq 80% but <90% was associated with moderate probabilities of success.

3. RESULTS

The Spanish nationwide survey study about *P. aeruginosa* collected 1445 isolates. Based on the location, 91.5% of isolates were collected outside the ICU (only 7.9% of isolates were from ICU). Most samples from ICU patients were from respiratory sources (58.3%) and these were found more susceptible compared with isolates from non-respiratory samples. Respiratory samples were collected from tracheal aspirate, bronchial aspiration, sputum, bronchoalveolar lavage, pleural fluid and bronchial brushing. By contrast, most samples collected from medical ward patients were from non-respiratory sources (69.4%) and they presented higher susceptibility rates. Origin of these samples were the same than that from patients from the ICU and, also, nasopharyngeal aspirate and sputum (from cystic fibrosis patients).

Table 6 shows the antimicrobial susceptibility rate of *P. aeruginosa* strains included in the Spanish nationwide survey to the studied antimicrobials classified by admission service. As it is shown, the isolates from the ICU patients displayed high susceptibility rates only to colistin (95%), amikacin (91%) and novel β -lactam- β -lactamase inhibitor combinations, ceftazidima/avibactam (85%) and ceftolozane/tazobactam (81%). Susceptibility rate to other antimicrobials was under 74%. By contrast, in medical ward patients, susceptibility of *P. aeruginosa* presented values <80% to 3 antimicrobials: ciprofloxacin, imipenem and piperacillin/tazobactam. In these patients the most active antipseudomonal agents were ceftolozane/tazobactam (96%), colistin and ceftazidime/avibactam (95% both), amikacin (92%), followed by aztreonam (87%), tobramycin (84%), ceftazidime (81%) and cefepime and meropenem (80% both).

Table 6. Percentage of *P. aeruginosa* susceptible strains in 2017, according to Del Barrio et al.⁷ and applying EUCAST breakpoints¹².

Antimicrobial agent	Susceptibility (%)	
	ICU	Medical ward patients
Amikacin	91	92
Aztreonam	70	<u>87</u>
Cefepime	67	<u>80</u>
Ceftazidime	64	<u>81</u>
Ceftazidime/avibactam	<u>85</u>	95
Ceftolozane/tazobactam	<u>81</u>	96
Ciprofloxacin	52	62
Colistin	95	95
Imipenem	55	75
Meropenem	71	<u>80</u>
Piperacillin/tazobactam	57	75
Tobramycin	74	<u>84</u>

In bold susceptibility $\geq 90\%$; Underlined: susceptibility $\geq 80\%$ and $< 90\%$

Tables 7 and 8 shows the PTA (%) calculated at MIC values ranging from 0.125 mg/L to 512 mg/L for each dosing regimen for both ICU and medical ward patients. In both, the range of MIC concentrations tested were the same, but in ICU more isolates in the higher dilutions were observed. The range evaluated for each antimicrobial were: amikacin from 2mg/L to 128mg/L, aztreonam from 2mg/L to 256mg/L, cefepime and ceftazidime from 1mg/L to 128mg/L, ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam from 0.5mg/L to 64mg/L, ciprofloxacin from 0.125mg/L to 32mg/L, colistin from 0.5mg/L to 16mg/L, imipenem from 0.5mg/L to 64mg/L, meropenem from 0.5mg/L to 128mg/L, piperacillin/tazobactam from 4mg/L to 512mg/L and tobramycin from 0.25mg/L to 64mg/L.

Table 7. Probability target attainment (PTA) (%) at each value of minimum inhibitory concentration (MIC) in ICU patients

Antimicrobial agent and dosing regimen	MIC (mg/L)											
	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
Amikacin												
25mg/kg q24h	100	100	100	100	100	100	93	2	0	0	0	0
30mg/kg q24h	100	100	100	100	100	100	99	13	0	0	0	0
Aztreonam												
2g q6h (2-h inf.)	99	99	98	96	93	84	63	30	6	0	0	0
2g q6h (3-h inf.)	100	100	100	99	96	89	69	33	6	0	0	0
Cefepime												
2g q8h (0.5-h inf.)	100	100	100	100	100	99	95	78	36	3	0	0
2g q8h (3-h inf.)	100	100	100	100	100	100	99	94	57	6	0	0
Ceftazidime												
1g q4h (0.5-h inf.)	100	100	100	100	100	99	98	95	85	64	35	13
2g q8h (0.5-h inf.)	100	99	99	98	97	96	93	86	73	52	28	9
1g q4h (3-h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	98	91	71	40	14
2g q8h (3-h inf.)	100	100	100	100	99	99	97	92	81	59	32	11
Ceftazidime/avibactam												
2.5g q8h (2-h inf.)	100	100	100	100	100	100	99	97	90	65	23	3
Ceftolozane/tazobactam												
1.5g q8h (1-h inf.)	100	100	100	99	98	94	83	57	20	2	0	0
3g q8h (1-h inf.)	100	100	100	100	99	98	94	84	58	20	2	0
Ciprofloxacin												
400mg q8h	100	100	100	85	26	1	0	0	0	0	0	0

Table 7 (cont.). Probability target attainment (PTA) (%) at each value of minimum inhibitory concentration (MIC) in ICU patients

Antimicrobial agent and dosing regimen	MIC (mg/L)											
	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
Colistin												
150mg q12h	100	100	100	100	95	81	50	20	4	0	0	0
Imipenem												
1g q6h (1-h inf.)	100	100	100	100	100	100	99	89	24	0	0	0
1g q6h (2h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	91	24	0	0	0
Meropenem												
2g q8h (0.5-h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	94	34	0	0	0
2g q8h (3-h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	100	68	0	0	0
Piperacillin/tazobactam												
4.5g q6h (0.5-h inf.)	100	100	100	99	98	97	93	86	68	36	4	0
4.5g q6h (4-h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	100	95	59	7	0
Tobramycin												
6mg/kg q24h	100	100	100	100	100	73	4	0	0	0	0	0
7mg/kg q24h	100	100	100	100	100	86	10	0	0	0	0	0

Grey shading indicates PTA > 90%

Table 8. PTA calculated for all dosing regimen in medical ward patients.

Antimicrobial agent and dosing regimen	MIC (mg/L)											
	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
Amikacin												
25mg/kg q24h	100	100	100	100	100	100	100	96	5	0	0	0
30mg/kg q24h	100	100	100	100	100	100	100	100	21	0	0	0
Aztreonam												
2g q6h (2-h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	1	0	0
2g q6h (3-h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	2	0	0
Cefepime												
1g q8h (0.5-h inf.)	92	90	87	84	79	71	61	44	21	5	0	0
2g q12h (0.5-h inf.)	84	81	78	74	69	61	52	38	22	8	1	0
1g q8h (3-h inf.)	97	96	95	92	89	83	73	54	27	7	0	0
2g q12h (3-h inf.)	89	87	84	81	76	70	60	46	27	9	1	0
Ceftazidime												
1g q8h (0.5-h inf.)	100	100	100	100	100	99	74	10	0	0	0	0
1g q8h (3-h inf.)	100	100	100	100	100	100	98	43	0	0	0	0
Ceftazidime/avibactam												
2.5g q8h (2-h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	100	85	6	0	0
Ceftolozane/tazobactam												
1.5g q8h (1-h inf.)	100	100	100	100	100	100	97	83	28	0	0	0
3g q8h (1-h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	97	82	28	0	0

Table 8 (cont.). PTA calculated for all dosing regimen in medical ward patients.

Antimicrobial agent and dosing regimen	MIC (mg/L)											
	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
Ciprofloxacin												
400mg q12h	100	100	82	5	0	0	0	0	0	0	0	0
400mg q8h	100	100	99	44	0	0	0	0	0	0	0	0
Colistin												
150mg q12h	100	100	100	100	100	100	0	0	0	0	0	0
Imipenem												
500mg q6h (1-h inf.)	100	100	100	100	100	100	99	20	0	0	0	0
500mg q6h (2h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	27	0	0	0	0
Meropenem												
1g q8h (0.5-h inf.)	100	100	100	100	100	99	81	6	0	0	0	0
1g q8h (3-h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	32	0	0	0	0
Piperacillin/tazobactam												
4.5g q8h (0.5-h inf.)	100	100	100	100	99	95	86	60	23	2	0	0
4.5g q8h (4-h inf.)	100	100	100	100	100	100	100	100	92	22	0	0
Tobramycin												
6mg/kg q24h	100	100	100	100	96	58	11	0	0	0	0	0
7mg/kg q24h	100	100	100	100	98	70	16	0	0	0	0	0

Grey shading indicates PTA > 90%

Table 9 features the CFR values obtained considering the MIC distribution in the ICU and in medical wards. Regarding ICU patients, only CFR values >90% were obtained with ceftazidime/avibactam. Moderate probabilities of success were obtained with colistin, ceftolozane/tazobactam (both dosing regimen), ceftazidime (dose 1g q4h, both standard and extended infusion) and meropenem (only with extended infusion). In the case of medical ward patients, the highest CFR values were obtained with ceftazidime/avibactam (97%), followed by ceftolozane/tazobactam (96% and 97% with both dosing regimen, respectively), colistin (95%), and amikacin (92%). CFR >80% were achieved with aztreonam (87% and 88%, with both dosing regimen, respectively), meropenem (extended infusion) and tobramycin (81% and 82% with both dosing regimen, respectively).

Table 9. Cumulative fraction of response calculated for all dosing regimens.

Antimicrobial agent and dosing regimen	CFR (%)	
	ICU	Medical ward patients
Amikacin		
25mg/kg q24h	70	92
30mg/kg q24h	73	92
Aztreonam		
2g q6h (2-h inf.)	65	<u>87</u>
2g q6h (3-h inf.)	68	<u>88</u>
Cefepime		
1g q8h (0.5-h inf.)		53
2g q12h (0.5-h inf.)		46
2g q8h (0.5-h inf.)	67	
1g q8h (3-h inf.)		62
2g q12h (3-h inf.)		75
2g q8h (3-h inf.)	76	
Ceftazidime		
1g q4h (0.5-h inf.)	<u>81</u>	
1g q8h (0.5-h inf.)		65
2g q8h (0.5-h inf.)	74	
1g q4h (3-h inf.)	<u>84</u>	
1g q8h (3-h inf.)		75
2g q8h (3-h inf.)	79	
Ceftazidime/avibactam		
2.5g q8h (2-h inf.)	95	97
Ceftolozane/tazobactam		
1.5g q8h (1-h inf.)	<u>83</u>	96
3g q8h (1-h inf.)	<u>87</u>	97
Ciprofloxacin		
400mg q12h		52
400mg q8h	53	
Colistin		
150mg q12h	<u>88</u>	95
Imipenem		
500mg q6h (1-h inf.)		76
1g q6h (1-h inf.)	78	
500mg q6h (2-h inf.)		77
1g q6h (2-h inf.)	79	
Meropenem		
1g q8h (0.5-h inf.)		79
2g q8h (0.5-h inf.)	75	
1g q8h (3-h inf.)		<u>83</u>
2g q8h (3-h inf.)	<u>81</u>	

Table 9 (cont.). Cumulative fraction of response calculated for all dosing regimens.

Antimicrobial agent and dosing regimen	CFR (%)	
	ICU	Medical ward patients
Piperacillin/tazobactam		
4.5g q8h (0.5-h inf.)		50
4.5g q6h (0.5-h inf.)	53	
4.5g q8h (4-h inf.)		77
4.5g q6h (4-h inf.)	66	
Tobramycin		
6mg/kg q24h	70	<u>81</u>
7mg/kg q24h	71	<u>82</u>

In bold CFR \geq 90%; Underlined: CFR \geq 80% and $<$ 90%

Similar susceptibility data were observed in isolates collected from respiratory and non-respiratory samples except for ceftolozane/tazobactam and ciprofloxacin in ICU and cefepime and ciprofloxacin in medical wards (table 10). Colistin and amikacin exhibited the highest activity with 96 and 94% and 93 and 90% susceptibility rate for respiratory and non-respiratory samples, respectively, followed by ceftazidime/avibactam (87% and 83%) and ceftolozane/tazobactam (showing 87% but only in respiratory samples). All other antipseudomonal agents demonstrated %S $<$ 77% in ICU. But the PK/PD analysis shows that only ceftazidime/avibactam and high dose of ceftolozane/tazobactam and only in respiratory patients were able to attain CFR $>$ 90%. The most active antimicrobial for medical ward patients were colistin, ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam and amikacin both in susceptibility values and in antimicrobial activity (%S and CFR values $>$ 90%). The PK/PD analysis results are presented in Table 11.

Table 10. Percentage of *P. aeruginosa* susceptible strains in 2017, considering respiratory and non-respiratory samples, applying EUCAST breakpoints.

Antimicrobial agent and dosing regimen	Susceptibility (%)			
	ICU		Medical ward patients	
	Respiratory	Non-respiratory	Respiratory	Non-respiratory
Amikacin	93	90	96	97
Aztreonam	64	77	<u>87</u>	<u>87</u>
Cefepime	69	65	72	<u>82</u>
Ceftazidime	67	60	79	<u>83</u>
Ceftazidime/avibactam	<u>87</u>	<u>83</u>	96	95
Ceftolozane/tazobactam	<u>87</u>	73	95	96
Ciprofloxacin	46	60	55	65
Colistin	96	94	96	94
Imipenem	57	52	72	75
Meropenem	73	69	<u>87</u>	<u>87</u>
Piperacillin/tazobactam	57	58	73	76
Tobramycin	75	73	<u>84</u>	<u>85</u>

In bold susceptibility $\geq 90\%$; Underlined: susceptibility $\geq 80\%$ and $< 90\%$

Table 11. Cumulative fraction of response calculated for all dosing regimens based on samples location.

Antimicrobial agent and dosing regimen	CFR (%)			
	ICU		Medical ward patients	
	Respiratory	Non-respiratory	Respiratory	Non-respiratory
Amikacin				
25mg/kg q24h	78	67	<u>89</u>	94
30mg/kg q24h	79	67	90	94
Aztreonam				
2g q6h (2-h inf.)	61	68	<u>87</u>	<u>86</u>
2g q6h (3-h inf.)	64	72	<u>87</u>	<u>87</u>
Cefepime				
1g q8h (0.5-h inf.)			51	54
2g q12h (0.5-h inf.)			45	47
2g q8h (0.5-h inf.)	67	65		
1g q8h (3-h inf.)			61	64
2g q12h (3-h inf.)			52	54
2g q8h (3-h inf.)	78	74		
Ceftazidime				
1g q4h (0.5-h inf.)	<u>82</u>	78		
1g q8h (0.5-h inf.)			47	46
2g q8h (0.5-h inf.)	77	72		
1g q4h (3-h inf.)	<u>85</u>	<u>81</u>		
1g q8h (3-h inf.)			64	65
2g q8h (3-h inf.)	<u>81</u>	75		
Ceftazidime/avibactam				
2.5g q8h (2-h inf.)	98	93	98	97
Ceftolozane/tazobactam				
1.5g q8h (1-h inf.)	<u>87</u>	79	91	92
3g q8h (1-h inf.)	92	<u>84</u>	94	95
Ciprofloxacin				
400mg q12h			44	57
400mg q8h	48	59		
Colistin				
150mg q/12h	<u>88</u>	<u>88</u>	96	94
Imipenem				
500mg q6h (1-h inf.)			74	77
1g q6h (1-h inf.)	<u>82</u>	77		
500mg q6h (2-h inf.)			74	78
1g q6h (2-h inf.)	<u>81</u>	76		
Meropenem				
1g q8h (0.5-h inf.)			<u>80</u>	79
1g q8h (3-h inf.)			<u>83</u>	<u>83</u>
2g q8h (0.5-h inf.)	79	73		
2g q8h (3-h inf.)	<u>85</u>	77		

Table 11 (cont.). Cumulative fraction of response calculated for all dosing regimens based on samples location.

Antimicrobial agent and dosing regimen	CFR (%)			
	ICU		Medical ward patients	
	Respiratory	Non-respiratory	Respiratory	Non-respiratory
Piperacillin/tazobactam				
4.5g q8h (0.5-h inf.)			36	39
4.5g q6h (0.5-h inf.)	71	72		
4.5g q8h (4-h inf.)			55	58
4.5g q6h (4-h inf.)	<u>81</u>	<u>83</u>		
Tobramycin				
6mg/kg q24h	72	72	<u>80</u>	<u>82</u>
7mg/kg q24h	71	73	<u>81</u>	<u>82</u>

In bold CFR ≥ 90%; Underlined: CFR ≥ 80% and < 90%

Table 12 shows the probability to reach the suppression of emergence of antimicrobial resistance, taking into account the CMI distribution of the isolates against the studied antimicrobials. For ICU patients, with the dosing regimen used in clinical practice, none antimicrobial gets probabilities higher than 90%. For medical ward patients, values >90% were reached with novel combinations ceftolozane/tazobactam (97% and 95% for 3g and 1.5g respectively) and ceftazidime/avibactam (90%).

Table 12. Cumulative fraction of response calculated for all dosing regimens considering PK/PD indices to suppress emergence of resistance.

Antimicrobial agent and dosing regimen	CFR (%)	
	ICU	Medical ward patients
Cefepime		
1g q8h (0.5-h inf.)		16
2g q12h (0.5-h inf.)		14
2g q8h (0.5-h inf.)	10	
1g q8h (3-h inf.)		21
2g q12h (3-h inf.)		16
2g q8h (3-h inf.)	18	
Ceftazidime		
1g q4h (0.5-h inf.)	76	
1g q8h (0.5-h inf.)		27
2g q8h (0.5-h inf.)	63	
1g q4h (3-h inf.)	79	
1g q8h (3-h inf.)		51
2g q8h (3-h inf.)	68	
Ceftazidime/avibactam		
2.5g q8h (2-h inf.)	<u>89</u>	90
Ceftolozane/tazobactam		
1.5g q8h (1-h inf.)	79	95
3g q8h (1-h inf.)	<u>84</u>	97
Ciprofloxacin		
400mg q12h		0
400mg q8h	36	
Imipenem		
500mg q6h		41
1g q6h	41	
Meropenem		
1g q8h (0.5-h inf.)		0
2g q8h (0.5-h inf.)	4	
1g q8h (3-h inf.)		0
2g q8h (3-h inf.)	16	
Piperacillin/tazobactam		
4.5g q8h (0.5-h inf.)		0
4.5g q6h (0.5-h inf.)	2	
4.5g q8h (4-h inf.)		0
4.5g q6h (4-h inf.)	8	

In bold CFR ≥ 90%; Underlined: CFR ≥ 80% and < 90%

4. DISCUSSION

In this study, we have compared the antimicrobial susceptibility rates and the antimicrobial activity considering PK/PD criteria taking into account the large-scale Spanish nationwide survey of *P. aeruginosa* infections⁷. Our results confirm the emergence of resistant strains, and therefore, the importance of adequately select the most active antimicrobial at the appropriate dosing regimen. Actually, the prevalence of MDR strains is already above 30% worldwide and approximately half of MDR strains would be also XDR. The management of infections caused by *P. aeruginosa* is challenge because his extraordinary ability resistance against nearly all available antimicrobials⁵³.

The higher percentage of *P. aeruginosa* susceptible strains in isolates from the ICU, according to the Del Barrio et al.⁷ and applying EUCAST breakpoints, were colistin and amikacin followed by ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam. Regarding strains from medical ward patients, nearly all antimicrobials showed susceptibilities higher than 80%, but only ceftolozane/tazobactam, ceftazidime/avibactam, colistin and amikacin were >90%. Recently, Mensa et al.² have published a guideline in which they review, and update published evidence for the treatment of patients with acute, invasive and severe infections caused by *P. aeruginosa*. To this end, mechanisms of intrinsic resistance, factors favoring development of resistance during antibiotic exposure, prevalence of resistance in Spain were reviewed. They concluded that only colistin, amikacin and novel combinations exhibit an activity >90% (ceftolozane/tazobactam is active against nearly 95% isolates and ceftazidime/avibactam in nearly 80%). The data from this study agree with our results.

The PK / PD analysis carried out from medical ward isolated confirmed that colistin, amikacin and the new combinations of cephalosporins with β -lactamase inhibitor presented the highest

⁵³ Oliver A, Mulet X, López-Causapé C, Juan C. The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. Drug Resist Updat 2015; 21–22:41–59.

probabilities of treatment success, with CFRs greater than 90%. In the case of the ICU isolates, CFR values were <75% for most of the antimicrobial regimen, and only ceftazidime/avibactam showed a CFR>90% (95%). Colistin together with ceftolozano/azobactam provided probabilities of treatment success between 80-90%, and in the case of meropenem a CFR value greater than 80% was achieved only with 3h infusion, which shows the advantage of extended infusion on bolus administration for this β -lactam. These results are in agreement with other studies^{54,55}, which shows that extended infusion of β -lactams can improve exposure and, therefore, provide higher probability of treatment success.

Recently, Abuhussain et al⁵⁶ conducted a study about *in vitro* potency of antipseudomonal β -lactams against blood and respiratory isolates of *P. aeruginosa*, concluding that the isolates from blood samples were more susceptible than those from respiratory samples. Our study is in agreement with these results in medical wards patients but not in ICU, where susceptibility rate of respiratory samples was higher than from non-respiratory samples with some exceptions. Discordances between respiratory and non-respiratory samples in susceptibility rates were observed for ceftolozane/tazobactam, ciprofloxacin and aztreonam in ICU and for cefepime and ciprofloxacin in medical ward patients. Ceftolozane/tazobactam in ICU exhibited higher susceptibilities in respiratory samples. In this regard, the FDA has just approved ceftolozane/tazobactam for the treatment of nosocomial pneumonia.

In the ICU, a higher number of antimicrobials provided CFR value greater than 80% for respiratory isolates compared to non-respiratory. Ceftazidime/avibactam (CFR 98%) and the

⁵⁴ Esteve-Pitarch E, Padullés-Zamora A, Maisterra-Santos K. OTAC: Optimización de la terapia antibiótica en el paciente crítico. Antibióticos betalactámicos en perfusión continua. *Farm hosp* 2019;43:151-157

⁵⁵ Thabit AK, Hobbs ALV, Guzman OE, Shea KM. The pharmacodynamics of prolonged infusion β -lactams for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: a systematic review. *Clin Ther* 2019;41:2397-2415

⁵⁶ Abuhussain SSA, Christina A, Sutherland CA, Nicolau DP. *In vitro* potency of antipseudomonal β -lactams against blood and respiratory isolates of *P. aeruginosa* collected from US hospitals. *J Thorac Dis* 2019;11:1896-1902

highest dosage of ceftolozane/tazobactam (CFR 92%) are the antimicrobials to be considered in the treatment of respiratory infection by *P. aeruginosa* in the ICU. By contrast, when medical ward isolates were evaluated, the CFR values obtained for colistin, amikacin and the two cephalosporins with β -lactamase inhibitors were similar and above 90% for both, respiratory and no-respiratory isolates.

A previous study⁵⁷ observed that understanding susceptibility of *P. aeruginosa* based on source and location of these isolates can guide providers to select the most appropriate empiric therapy in high-risk patients and, hence, these importance in clinical setting

Finally, we examined the probability that the exposure to different antimicrobial dosages was able to suppress the emergence of resistance. According to Sumi et al⁴⁵ one method to minimize resistance emergence may be the optimization of antibiotic regimens, however, it is important to consider that the antibiotic exposure required to suppress the emergence of resistance is higher than the associated with clinical efficacy. Moreover, no standardized methods are currently established to determine the antibiotic exposure for the attainment of resistance suppression, although some works have recently reported the required antimicrobial PK/PD indexes to suppress the emergence of *P. aeruginosa* antibiotic resistance⁴⁴⁻⁵⁰. In this sense, it has to be considered that many of existing studies determining the exposure required to suppress the emergence of resistance have been conducted in vitro and we have not found the PK/PD indices required to suppress the emergence of resistance of *P. aeruginosa* for all antimicrobials.

In our study none of the dosing regimens commonly used in ICU patients were able to attain high probabilities of success, therefore, with the administered doses plasma concentrations related to the suppression of resistance are not reached. In the case of medical ward patients,

⁵⁷ Eagye KJ, Banevicius MA, Nicolau DP. *Pseudomonas aeruginosa* is not just in the intensive care unit any more: implications for empirical therapy. Crit Care Med 2012;40:1329-32

only the new antimicrobial combinations, ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam, were able to provide concentrations associated with the suppression of resistance

IV) DISCUSIÓN



DISCUSIÓN

En la era actual de rápido desarrollo de resistencias bacterianas, los estudios que evalúan la eficacia de los antimicrobianos disponibles son fundamentales para orientar las decisiones relativas a la elección de la terapia más adecuada¹. Muy frecuentemente, el tratamiento de las infecciones se hace de forma empírica; en estos casos, para la selección del tratamiento no solo hay que tener en cuenta el tipo de infección y las características del o la paciente, sino que también hay que valorar la prevalencia de cada microorganismo y la resistencia bacteriana². Sin embargo, el manejo de las resistencias bacterianas es complejo y está condicionado por factores locales (política de antimicrobianos, utilización de antimicrobianos en animales) y también por factores asociados al o la paciente (tratamientos previos, patologías subyacentes, etc)³. Para ello es necesario conocer la prevalencia de cada microorganismo y su sensibilidad a los antimicrobianos en cada área geográfica y en cada grupo de pacientes⁴. El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)⁵, el EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance System)⁶ y en España, la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) en su procedimiento 51⁷, han elaborado una guía con

¹ Almarzoky Abuhussain SS, Christina A. Sutherland CA, Nicolau DP. *In vitro* potency of antipseudomonal β -lactams against blood and respiratory isolates of *P. aeruginosa* collected from US hospitals. *Journal of Thoracic Disease* 2019;11:1896-1902

² Loeffler JM, Garbino J, Lew D, Harbarth S, Rohener P. Antibiotic consumption, bacterial resistance and their correlation in a Swiss university hospital and its adult intensive care units. *Scand J Infect Dis* 2003;35:843-50.

³ Kahlmeter G, Menday P, Cars O. Non-hospital antimicrobial usage and resistance in community-acquired Escherichia coli urinary tract infection. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:1005-10.

⁴ Hindler JF, Stelling J. Analysis and presentation of cumulative antibiograms: a new consensus guideline from the clinical and laboratory standard institute. *Medical Microbiology* 2007;44:867-873.

⁵ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data. 4th ed. Wayne, PA, USA: CLSI; 2018. Approved guideline M39-A4

⁶ European Centre for Disease Prevention and Control. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARSS-Net). (Consultado 3/7/2020). Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/ears-net>

⁷ Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Procedimientos en microbiología clínica. 51 Preparación de informes acumulados de sensibilidad a los antimicrobianos. 2014

recomendaciones específicas para el análisis de datos acumulados de sensibilidad bacteriana, indicando la conveniencia de eliminar los aislados duplicados, indicando diversos métodos para lograr este fin. A pesar de las recomendaciones dadas en esta guía, sigue habiendo controversia en algunos puntos. Noguera y cols⁸ demostraron que el criterio de eliminación de duplicados del CLSI tiene importantes limitaciones ya que no identifica los aislados resistentes durante la evolución de la infección del paciente, bien debido a la selección de microorganismos resistentes asociados a la presión antibiótica, o debido a la transmisión por el personal sanitario, o por infecciones recurrentes. Por otro lado, el programa de vigilancia europeo EARSS-Net⁶ (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) sí contempla la contabilización de duplicados bajo determinados supuestos. Por todo ello, es conveniente analizar con mayor profundidad si los criterios del CLSI o del EARSS-Net son siempre los más apropiados para conocer con mayor precisión el perfil de sensibilidad de los microorganismos para una utilización más racional de los agentes antimicrobianos (diseño de tratamientos empíricos o pautas de profilaxis antibiótica en cirugía).

La aplicación del análisis PK/PD en la selección del antimicrobiano nos permite tener en cuenta tanto las propiedades farmacocinéticas (PK) como farmacodinámicas (PD) y, por tanto, la selección de aquel antimicrobiano con actividad frente al patógeno responsable de la infección como del régimen posológico que garantice una concentración óptima en el sitio de la infección, esencial para una antibioterapia óptima⁹.

Pseudomonas aeruginosa es uno de los principales patógenos nosocomiales. Se caracteriza por una notable resistencia intrínseca a los antimicrobianos y, además, presenta una gran capacidad para desarrollar resistencias, lo que complica el tratamiento de las infecciones

⁸ Noguera O, López-Riquele N, Santibañez M, Alvarez L, Galiana A, Ruíz-García M, López-García P, Royo G. Extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* over 18 years: effects of different systems for eliminating duplicates. *Int J Antimicrob Agents* 2012;40:186-192.

⁹ Asin-Prieto E, Rodríguez-Gascón A, Isla A. Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. *J Infect Chemother*. 2015;21:319–29,

causadas por la misma¹⁰. En este escenario, el objetivo principal de esta tesis ha sido evaluar los cambios en la sensibilidad de *P. aeruginosa* a los antimicrobianos empleados habitualmente en el tratamiento de infecciones debidas a este microorganismo, así como la aplicación del análisis PK/PD y la simulación de Montecarlo como herramienta de vigilancia microbiológica mediante el cálculo de la probabilidad de alcanzar el éxito con los mismos. El conocimiento de la probabilidad de éxito de los antimicrobianos utilizados en la práctica clínica del hospital y utilizando datos locales de distribución de CMI, permitirá optimizar los tratamientos a nivel local.

En la primera parte del estudio se pretendía evaluar los cambios a lo largo del tiempo (2000-2017) de la sensibilidad de *P. aeruginosa* frente a los antimicrobianos en la unidad de cuidados intensivos (UCI) del Hospital Universitario de Álava (HUA) y compararlos con la actividad antimicrobiana considerando criterios farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD). Un objetivo secundario era comparar estos resultados considerando los diferentes métodos para el manejo de aislados duplicados utilizados para cuantificar la sensibilidad.

Siguiendo la metodología propuesta por el CLSI, y utilizando los diferentes métodos de manejo de aislados duplicados, se recogieron las distribuciones de CMI de los antimicrobianos utilizados en la práctica clínica. Por otro lado, a partir de los parámetros farmacocinéticos en pacientes críticos y del perfil de CMI, se estimó la probabilidad de éxito del tratamiento mediante el cálculo de la fracción de respuesta acumulada o CFR. En ambos casos, se realizó una regresión línea para detectar si se daba alguna tendencia en la distribución de CMI y de CFR a lo largo del tiempo (periodo entre 2000 y 2017).

Observamos que, en los últimos años estudiados (periodo 2016-2017), los antibióticos con mayor sensibilidad fueron amikacina, cefalosporinas y piperacilina/tazobactam, con valores >80%. En el análisis de tendencias, se observó un descenso significativo en la sensibilidad a gentamicina e imipenem. Estos resultados son consistentes con el aumento de las resistencias

¹⁰ Ruiz-Garbajosa P, Cantón R. Epidemiology of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Implications for empiric and definitive therapy. Rev Esp Quimioter. 2017;30:8-12

a nivel mundial; en este sentido, datos de estudios de vigilancia a gran escala¹¹ muestran un aumento general en la tendencia de resistencia durante los últimos años, particularmente evidente en fluoroquinolonas, aminoglucósidos y β -lactámicos. En nuestro estudio, se detectó una recuperación de la sensibilidad en los últimos años, que podría estar relacionada con los programas llevados a cabo en las UCIs españolas (Bacteriemia Zero¹² y Zero-VAP¹³, en 2009 y 2011 respectivamente), reforzando la importancia de este tipo de intervenciones en el control de la resistencia a los antimicrobianos. Estos programas consisten en la implantación de diferentes medidas y estrategias con el fin de prevenir, por un lado, la bacteriemia relacionada con el catéter venoso central y, por otro, la neumonía asociada a la ventilación, respectivamente.

El análisis PK/PD reveló que, la CFR para la mayoría de los antimicrobianos es inferior al 70%. Solo meropenem mostró altas probabilidades (>90%) de alcanzar el objetivo PK/PD. Las cefalosporinas mostraron probabilidades moderadas (>80%), aunque para ceftazidima, fue necesario emplear dosis elevadas. Zelenitsky et al¹⁴. obtuvieron resultados similares y encontraron que sólo con los regímenes más agresivos, se lograba alcanzar el objetivo PK/PD frente a *P. aeruginosa*. En cuanto a la tendencia temporal, se observó una disminución significativa de la CFR para ciprofloxacino, imipenem y levofloxacino.

En el caso de algunos antimicrobianos, se detectaron diferencias relevantes entre los porcentajes de sensibilidad y los valores de CFR. Los casos más notables en nuestro estudio se

¹¹ Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Microbiol Infect. 2005;11:S17-32

¹² Palomar M, Álvarez-Lerma F, Riera A, Díaz MT, Torres F, Agra Y, Larizgoitia I, Goeschel CA, Pronovost PJ. Bacteremia Zero Working Group. Impact of a national multimodal intervention to prevent catheter-related bloodstream infection in the ICU: the Spanish experience. Crit Care Med 2017;41:2364-72.

¹³ Álvarez Lerma F, Sánchez García M, Lorente L, Gordo F, Añón JM, Álvarez J, Palomar M, García R, Arias S, Vázquez-Calatayud M, Jam R. Sociedad Española de Medicina Intensiva; Sociedad Española de Enfermería Intensiva. Guidelines for the prevention of ventilator-associated pneumonia and their implementation. The Spanish "Zero-VAP" bundle. Med Intensiva 2014;38:226-36

¹⁴ Zelenitsky SA, Rubinstein E, Ariano RE, Zhanel GG, Canadian Antimicrobial Resistance Alliance. Integrating pharmacokinetics, pharmacodynamics and MIC distributions to assess changing antimicrobial activity against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* causing infections in Canadian hospitals (CANWARD). J Antimicrob Chemother. 2013;68:i67-72

han dado con ciprofloxacino, tobramicina y levofloxacino para los cuales no se detectó ninguna tendencia en sensibilidad y, sin embargo, la CFR disminuyó con el tiempo. Si se tiene en cuenta sólo el valor de la CMI, podría clasificarse como adecuado un tratamiento que muestre baja probabilidad de éxito según el análisis PK/PD. Esto es consistente con otros estudios en los que el fracaso en el tratamiento se atribuyó a la exposición insuficiente que señalaba el análisis PK/PD¹⁵.

Por último, hemos estudiado la influencia de los criterios para eliminar los aislados duplicados sobre la detección de cambios en la sensibilidad y en la probabilidad de éxito del tratamiento, observando diferencias significativas. En este sentido, los valores de sensibilidad y CFR fueron menores generalmente cuando se consideraron todos los aislados, y los valores más altos se obtuvieron utilizando sólo el primer aislado. Sin embargo, hay que señalar que las tendencias de la sensibilidad y de CFR no variaron dependiendo del método, excepto para algunos casos, para los que se observó un bajo grado de ajuste. Han sido varios los estudios que cuestionan la idoneidad de los criterios CLSI^{8,16,17}, dado que, la inclusión de aislados duplicados en los informes de laboratorio sobre las pruebas de sensibilidad pueden conducir a mayores porcentajes de resistencia, mientras que la estrategia de incluir solo el primer aislado tiende a obtener una visión más optimista. En este sentido, cabe destacar que nuestro estudio no detectó diferencias relevantes entre los métodos de eliminación de duplicados empleados para el cálculo de la sensibilidad y la CFR, por tanto, en función de los resultados obtenidos y teniendo en cuenta la simplicidad del uso del método del primer aislado, este método parece ser el más adecuado para la determinación tanto de la sensibilidad acumulada como de la CFR.

¹⁵ Asín-Prieto E, Isla A, Canut A, Rodríguez-Gascón A. Comparison of antimicrobial pharmacokinetic/pharmacodynamic breakpoints with EUCAST and CLSI clinical breakpoints for Gram-positive bacteria. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;40:313–22

¹⁶ Kohlmann R, Gatermann SG. Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data – the influence of different parameters in a routine clinical microbiology laboratory. *PLoS One*. 2016;11:e0147965,

¹⁷ Álvarez-Paredes A, López-Riquelme N, Rodríguez JC, Santibanez M, Belda S, Galiana A, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: effect of different criteria for elimination of duplicates. *Chemotherapy*. 2013;59:453–7

Este primer estudio mostró que los datos de sensibilidad antimicrobiana no siempre son útiles para detectar cambios en la probabilidad de éxito de los tratamientos y, por tanto, ambos datos (sensibilidad antimicrobiana y valores de CFR) deben considerarse como herramientas complementarias y evaluarse conjuntamente tanto en actividades de vigilancia como en la evaluación de la eficacia terapéutica de los regímenes de dosificación.

Se llevó a cabo un segundo estudio en pacientes con ingreso en los servicios médico-quirúrgicos, excluyendo la Unidad de Cuidados Intensivos, con el fin de evaluar la evolución de la terapia antimicrobiana frente a *P. aeruginosa* en el HUA durante el mismo periodo de tiempo (2000-2017). Para ello se empleó la misma metodología que en el primer estudio, pero teniendo en cuenta los resultados obtenidos, el cálculo de la sensibilidad y la CFR se realizó únicamente empleando el primer aislado.

En este caso, en el último año evaluado (2017) sólo amikacina y los β -lactámicos ceftazidima, cefepima y piperacilina/tazobactam mostraron sensibilidades >85%. Durante los 18 años evaluados, se observó una disminución de la sensibilidad sólo para gentamicina, tobramicina y fluoroquinolonas, pero esta reducción no mostró correlación entre ambas variables (sensibilidad y tiempo). Al igual que en el caso de la UCI, las diferentes medidas de contención del uso de antimicrobianos propugnadas por los planes nacionales y la Comisión de Infecciones y Uso de Antimicrobianos del HUA, parecen haber influido sustancialmente en los resultados obtenidos. En el caso de pacientes hospitalizados, además de los programas implementados en las UCI mencionadas anteriormente (los cuales pueden desempeñar un papel importante en la prevención de la diseminación intrahospitalaria de resistencias) en el año 2015 se implementó el PROA¹⁸ (Programa de Optimización del uso de Antimicrobianos) con el objetivo de evitar el uso inapropiado de los antimicrobianos, principal causa de la aparición y desarrollo de resistencias.

¹⁸ Rodríguez-Baño J, Paño-Pardo JR, Alvarez-Rocha L, Asensio A, Calbo E, Cercenado E, Cisneros JM, Cobo J, Delgado O, Garnacho-Montero J, Grau S, Horcajada JP, Hornero A, Murillas-Angoiti J, Oliver A, Padilla B, Pasqua J, Pujol M, Ruiz-Garbajosa P, San Juan R, Sierra R. Programas de optimización de uso de antimicrobianos (PROA) en hospitales españoles: documento de consenso GEIH-SEIMC, SEFH y SEMPSPH. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30:22 e1–22.e23

Los resultados obtenidos mediante la simulación de Monte Carlo mostraron que, para algunos antimicrobianos, la probabilidad de éxito del tratamiento no se correlaciona con los datos de sensibilidad. En este sentido es importante volver a resaltar que la estimación de la CFR es útil para determinar no sólo el antimicrobiano, sino también el régimen de dosis con la mejor probabilidad de éxito. Un aumento de dosis no siempre implica cambios relevantes en los valores de CFR; por ejemplo, aumentar la dosis de ciprofloxacino de 400mg c/12h a 400mg c/8h no se incrementa la probabilidad de alcanzar el objetivo PK/PD obteniéndose valores de CFR de 3 y 28%, respectivamente. Sin embargo, con piperacilina/tazobactam el aumento de dosis sí consigue alcanzar el objetivo PK/PD. Con dosis de 4,5g c/8h se obtiene valores de CFR de 49% y al aumentar a 4,5g c/6h se consiguen probabilidades moderadas de éxito (83%).

Es importante comentar que en ninguno de los estudios se pudo analizar la CFR de amikacina debido a que las CMI testadas por los distintos paneles comerciales de antibiograma que se utilizan en el Servicio de Microbiología oscilan entre 4mg/L y 32mg/L. Este rango de concentraciones es adecuado para valorar la sensibilidad (punto de corte de sensibilidad de amikacina 16mg/L), pero no para la estimación de la CFR ya que precisa de un mayor rango de valores de CMI.

En conclusión, el análisis PK/PD es una estrategia que permite preservar el valor terapéutico de los antimicrobianos con valores bajos de sensibilidad (seleccionando el régimen de dosificación adecuado) y, de este modo, seleccionar los antimicrobianos más eficaces entre aquellos con elevados porcentajes de sensibilidad, contribuyendo de esta manera a disminuir el riesgo de fracaso del tratamiento y desarrollo de resistencias.

Por último, tras publicarse los resultados del trabajo llevado a cabo por el Grupo de estudio de *Pseudomonas* de GEMARA-SEIMC (Grupo de Estudio de los mecanismos de acción y resistencia a los antimicrobianos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y

Microbiología Clínica¹⁹) y REIPI (Red Española de Investigación de Investigación en Patología Infecciosa), que en octubre de 2017 recogió aislados de pacientes ingresados de 51 hospitales españoles, se procedió a solicitar a los coordinadores del estudio la base de datos de sensibilidad con las correspondientes distribuciones de valores de CMI. Este estudio nos permitió acceder a los valores de CMI de todos los antimicrobianos que habíamos estudiado en el HUA en los trabajos citados con anterioridad, y a otros cuatro más (aztreonam, ceftazidima/avibactam, ceftolozano/tazobactam y colistina). Una vez obtenida la base de datos, los aislados se clasificaron según el tipo de servicio de ingreso (UCI o servicios médico-quirúrgicos) y el tipo de muestra (respiratoria o no respiratoria). El objetivo principal de este trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana de los antibióticos utilizados en las infecciones por *P. aeruginosa* por medio del análisis PK/PD. El objetivo secundario fue evaluar el papel del análisis PK/PD en la optimización de la terapia antimicrobiana para minimizar la aparición de resistencias.

El análisis PK/PD llevado a cabo confirmó que colistina, amikacina y las nuevas combinaciones de cefalosporinas con inhibidor de β -lactamasas presentaron las mayores probabilidades de éxito de tratamiento, con CFR superiores al 90% en los servicios médico-quirúrgicos evaluados.

En el caso de los aislados de UCI sólo la combinación ceftazidima/avibactam presentó un valor de CFR > 90% (95%). Colistina junto con ceftolozano/tazobactam proporcionaron probabilidades de éxito del tratamiento entre el 80-90%, y en el caso de meropenem se alcanzó un valor de CFR mayor al 80% solo con perfusión de 3h, lo que pone de manifiesto la ventaja de la infusión extendida sobre la administración en bolus en este β -lactámico²⁰.

¹⁹ Grupo de Estudio de los mecanismos de acción y resistencia a los antimicrobianos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. (consultado 26/7/2020). Disponible en: <https://www.seimc.org/grupos-de-estudio/gemara/infstitucional/junta-directiva>

²⁰ Thabit AK, Hobbs ALV, Guzman OE, Shea KM. The pharmacodynamics of prolonged infusion blactams for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: a systematic review. Clin Ther 2019;41:2397-2415

En la UCI, un mayor número de antimicrobianos proporcionó valores de CFR superiores al 80% para los aislados de procedencia respiratoria respecto a los aislados no respiratorios. Ceftazidima/avibactam (CFR 98%) y la dosificación más alta de ceftolozano/tazobactam (CFR 92%) se postulan como antimicrobianos a tener en cuenta en el tratamiento de la infección respiratoria por *P. aeruginosa* en la UCI. Por el contrario, los valores de CFR obtenidos con colistina, amikacina y las dos cefalosporinas con inhibidores de β -lactamasas fueron similares y por encima del 90% para los aislados respiratorios y no respiratorios si procedían de pacientes con ingreso en los servicios médico-quirúrgicos.

Los resultados obtenidos confirman que el conocimiento de la sensibilidad de los aislados en función del servicio de ingreso y del origen de la muestra permite seleccionar la terapia empírica más adecuada, especialmente en aislados de *P. aeruginosa*.

Finalmente estudiamos la probabilidad de que la exposición a diferentes dosificaciones de los antimicrobianos disminuya la aparición de resistencias. De acuerdo con Sumi et al.²¹ es importante destacar que las exposiciones requeridas para suprimir la aparición de resistencias generalmente son superiores a las asociadas con la eficacia clínica y, por tanto, se requieren dosis superiores para alcanzarlas aumentando los riesgos potenciales de toxicidad asociada a los antimicrobianos. Es importante resaltar que, por el momento, no existen métodos estandarizados para determinar la exposición a los antimicrobianos necesaria para suprimir la aparición de resistencias, aunque actualmente, se han publicado los índices PK/PD necesarios para la supresión de la misma²¹. En nuestro estudio, con las dosis habituales empleadas en la práctica clínica en la UCI, ninguno de los antimicrobianos fue capaz de proporcionar altas probabilidades de éxito, es decir, con las dosis administradas no se alcanzan concentraciones plasmáticas asociadas a la supresión de resistencias. En el caso de pacientes de servicios

²¹ Sumi CD, Heffernan AJ, Lipman J, Roberts JA, Sime FB. What Antibiotic Exposures Are Required to Suppress the Emergence of Resistance for Gram-Negative Bacteria? A Systematic Review. Clin Pharmacokinet. 2019;58:1407-1443.

médico-quirúrgicos, únicamente las nuevas combinaciones de antimicrobianos, ceftolozano/tazobactam y ceftazidima/avibactam, fueron capaces de proporcionar concentraciones asociadas a la supresión de resistencias.

V) CONCLUSIONES



CONCLUSIONES

1. Considerando únicamente la sensibilidad de los aislados de *Pseudomonas aeruginosa* procedentes de los pacientes ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital Universitario de Álava en 2016/2017, los antimicrobianos más activos son amikacina, cefepima, ceftazidima y piperacilina/tazobactam. Entre los años 2000 y 2017, se observó una reducción significativa de la sensibilidad a gentamicina y a imipenem, que se justifica por un incremento generalizado de la resistencia de este microorganismo a los antimicrobianos.
2. El análisis farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD) reveló que, en 2016/2017, los antimicrobianos que proporcionan una mayor probabilidad de éxito en tratamiento empírico son meropenem 2g c/8h (90%), ceftazidima 2g c/8h (89%) y cefepima 2g c/8h (82%).
3. Las mayores diferencias detectadas entre la sensibilidad y la probabilidad de éxito, expresada como fracción de respuesta acumulada o CFR, fueron para ciprofloxacino, levofloxacino y tobramicina. Para estos antimicrobianos, no se detectaron cambios en la sensibilidad a lo largo del tiempo, pero la CFR mostró una tendencia descendente entre los años 2000 y 2017. Esto se explica por un aumento en los valores de CMI a lo largo del tiempo, pero dentro del rango de sensibilidad. En el caso de los carbapenemas, a pesar de la baja sensibilidad mostrada en los últimos años, la CFR fue elevada, especialmente la de meropenem (90%), que asegura el éxito del tratamiento.
4. No se detectaron diferencias relevantes entre los métodos de eliminación de duplicados empleados para el cálculo de la sensibilidad y la CFR; por tanto, según los resultados obtenidos y teniendo en cuenta su simplicidad, el método del primer aislado, que es el

recomendado por CLSI (The Clinical and Laboratory Standards Institute), sería el más adecuado para la determinación tanto de la sensibilidad acumulada como de la CFR.

5. Considerando únicamente los datos de sensibilidad de los aislados de *P. aeruginosa* procedentes de pacientes de los servicios médico-quirúrgicos del Hospital Universitario de Álava (excluyendo la UCI), amikacina, ceftazidima, piperacilina/tazobactam y cefepima son las mejores opciones terapéuticas. Teniendo en cuenta el análisis PK/PD, los antimicrobianos con mayor probabilidad de éxito en tratamiento empírico son meropenem, ceftazidima, y piperacilina/tazobactam, todos ellos a dosis elevadas.
6. El rango de CMI necesario para calcular la CFR es superior al que ofrecen los métodos de microdilución comercial para determinar la sensibilidad de un antimicrobiano por medio de los puntos de corte.
7. Considerando los resultados del estudio GEMARA-SEIMC/REIPI sobre epidemiología y mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa*, en tratamiento empírico, ceftazidima/avibactam, colistina, ceftolozano/tazobactam y amikacina proporcionan una probabilidad de éxito superior al 90% en pacientes no críticos, en el caso de pacientes críticos, este valor de probabilidad solo se alcanza con ceftazidima/avibactam.
8. Teniendo en cuenta los aislados procedentes de pacientes críticos del estudio GEMARA-SEIMC/REIPI ninguno de los antimicrobianos evaluados proporciona concentraciones plasmáticas asociadas a la supresión de resistencias a las dosis empleadas en la práctica clínica. En el caso de aislados procedentes de pacientes de los servicios médico-quirúrgicos, únicamente con ceftolozano/tazobactam y ceftazidima/avibactam se alcanzan concentraciones plasmáticas que podrían asociarse a la supresión de resistencias.

9. El análisis PK/PD ha demostrado ser una estrategia que permite preservar el valor terapéutico de los antimicrobianos, la estimación de la CFR es útil no sólo para determinar el antimicrobiano más adecuado, sino también el régimen de dosificación con la mayor probabilidad de éxito, contribuyendo de esta manera a disminuir el riesgo de fracaso del tratamiento y desarrollo de resistencias.

10. El análisis PK/PD debe considerarse una herramienta que complementa a la evaluación de las tendencias de sensibilidad antimicrobiana, y por tanto resulta de gran utilidad en actividades de vigilancia y en la evaluación de la eficacia terapéutica de los regímenes de dosificación de los antimicrobianos.

VI) BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFIA

- Alcalde-Rico M, Hernando-Amado S, Blanco P, Martínez JL. Multidrug Efflux Pumps at the Crossroad between Antibiotic Resistance and Bacterial Virulence. *Front Microbiol.* 2016; 7: 1483.
- Almarzoky Abuhussain SS, Christina A. Sutherland CA, Nicolau DP. *In vitro* potency of antipseudomonal β -lactams against blood and respiratory isolates of *P. aeruginosa* collected from US hospitals. *Journal of Thoracic Disease* 2019;11:1896-1902
- Álvarez Lerma F, Palomar-Martinez M, Sanchez-Garcia M, Martinez-Alonso M, Álvarez-Rodríguez J, Lorente L, Arias-Rivera S, García R, Gordo F, Añón JM, Jam-Gatell R, Vázquez-Calatayud M, Agra Y. Prevention of Ventilator-Associated Pneumonia: The multimodal approach of the Spanish ICU "Pneumonia Zero" Program. *Crit Care Med.* 2018;46:181-188.
- Álvarez Lerma F, Sánchez García M, Lorente L, Gordo F, Añón JM, Álvarez J, Palomar M, Garcia R, Arias S, Vázquez-Calatayud M, Jam R. Sociedad Española de Medicina Intensiva; Sociedad Española de Enfermería Intensiva. Guidelines for the prevention of ventilator-associated pneumonia and their implementation. The Spanish "Zero-VAP" bundle. *Med Intensiva* 2014;38:226-36
- Álvarez-Lerma F, Grau S, Echeverría-Esnal D, Martínez-Alonso M, Gracia-Arnillas MP, Horcajada JP, Masclans JR. A Before-and-After Study of the Effectiveness of an Antimicrobial Stewardship Program in Critical Care. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62:e01825-17
- Álvarez-Paredes A, López-Riquelme N, Rodríguez JC, Santibañez M, Belda S, Galiana A, Lopez P, Ruiz-García M, Royo G. Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Effect of different criteria for elimination of duplicates. *Chemotherapy* 2013;59:453-7

- Andes D, Craig WA. Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review. *Int J Antimicrob Agents* 2002;19:261-268
- Asín-Prieto E, Isla A, Canut A, Rodríguez-Gascón A. Comparison of antimicrobial pharmacokinetic/pharmacodynamic breakpoints with EUCAST and CLSI clinical breakpoints for Gram-positive bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2012;40:313-22
- Asín-Prieto E, Rodríguez-Gascón A, Isla A. Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. *Journal of infection chemotherapy*. 2015;21 (5) 319–29. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.02.001>.
- Barbhaiya RH, Knupp CA, Pfeffer M, Pittman KA. Lack of Pharmacokinetic Interaction between Cefepime and Amikacin in Humans. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1382-6.
- Bell BG, Schellevis F, Stobberingh E, Goossens H, Pringle M. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infect Dis*. 2014;9:4-13.
- Benko AS, Cappelletty DM, Kruse JA, Rybak MJ. Continuous infusion versus intermittent administration of ceftazidime in critically ill patients with suspected Gram-negative infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:691-5.
- Bensman TJ, Wang J, Jayne J, Fukushima L, Rao AP, D'Argenio DZ, Beringer PM. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Target Attainment Analyses To Determine Optimal Dosing of Ceftazidime-Avibactam for the Treatment of Acute Pulmonary Exacerbations in Patients with Cystic Fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017 ;61:e00988-17
- Bergen PJ, Bulitta JB, Kirkpatrick CMJ, Rogers KE, McGregor MJ, Wallis SC, Paterson DL, Lipman J, Roberts JA, Landersdorfer CB. Effect of different renal function on antibacterial effects of piperacillin against *Pseudomonas aeruginosa* evaluated via the hollow-fibre infection model and mechanism-based modelling. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71:2509–20

- Bhat SV, Peleg AY, Lodise TP, Shutt KA, Capitano B, Potoski BA, Paterson DL. Failure of current cefepime breakpoints to predict clinical outcomes of bacteremia caused by gram-negative organism. *Antimicrob agents chemother* 2007;51:4390-95.
- Blondeau JM, Hansen G, Metzler K, Hedlin P. The role of PK/PD parameters to avoid selection and increase of resistance: mutant prevention concentration. *J Chemother*. 2004;16:1-19.
- Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006;43:S49–56.
- Cabot G, López-Causapé C, Ocampo-Sosa AA, Sommer LM, Domínguez MÁ, Zamorano L, Juan C, Tubau F, Rodríguez C, Moyà B, Peña C, Martínez-Martínez L, Plesiat P, Oliver A. Deciphering the resistome of the widespread *Pseudomonas aeruginosa* sequence type 175 international high-risk clone through whole-genome sequencing. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60:7415–23.
- Cabot G, Ocampo-Sosa AA, Tubau F, Maciá MD, Rodríguez C, Moya B, Zamorano L, Suárez C, Peña C, Martínez-Martínez L, Oliver A. Overexpression of AmpC and efflux pumps in *P. aeruginosa* from blood stream infections: Prevalence and linkage to resistance in a Spanish multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:1906-1911.
- Cantón R, Cobo J. Consumo de antimicrobianos y resistencia en el hospital: una relación difícil de medir y compleja de interpretar. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27:437-440.
- Canut Blasco A, Aguilar Alfaro L, Cobo Reinoso J, Giménez Mestre MJ, Rodríguez-Gascón A. Análisis farmacocinético-farmacodinámico en microbiología: herramienta para evaluar el tratamiento antimicrobiano. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33:48–57
- Canut-Blasco A, Calvo J, Rodríguez-Díaz J.C, Martínez-Martínez L. Informes acumulados de sensibilidad a los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*.2016;34:524–530

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data. 2nd ed. Approved guideline M39-A2. Wayne, PA: CLSI, 2006.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data. 4th ed. Wayne, PA, USA: CLSI; 2018. Approved guideline M39-A4
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth informational Supplement. Approved guideline M100-S20. CLSI,2010
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th ed. CLSI supplement M100 Wayne, PA, USA: CLSI; 2018.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 29th ed. CLSI supplement M100 Wayne, PA, USA: CLSI; 2019.
- Comité Español del Antibiograma 2013. (Consultado 22/10/2019). Disponible en: <http://coesant-seimc.org/>
- Conil JM, Georges B, de Lussy A, Khachman D, Seguin T, Ruiz S, Cougot P, Fourcade O, Houin G, Saivin S. Ciprofloxacin use in critically ill patients: pharmacokinetic and pharmacodynamic approaches. *Int J Antimicrob Agents* 2008;32:505-10.
- Cotta MO, Robers JA, Lipman J. Antibiotic dose optimization in critically ill patients. *Med Intensiva*. 2015;39:563-572
- Couet W, Grégoire N, Gobin P, Saulnier PJ, Frasca D, Marchand S, Mimoz O. Pharmacokinetics of Colistin and Colistimethate Sodium After a Single 80-mg Intravenous Dose of CMS in Young Healthy Volunteers. *Clin pharmacol Ther* 2011;89:875-879

- Crandon JL, Schuck VJ, Banevicius MA, Beaudoin ME, Nichols WW, Tanudra MA, Nicolau DP. Comparative in vitro and in vivo efficacies of human simulated doses of ceftazidime and ceftazidime-avibactam against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:6137-6146
- De Angelis G, Fiori B, Menchinelli G, D'Inzeo T, Liotti FM, Morandotti GA, Sanguinetti M, Posteraro B, Spanu T. Incidence and antimicrobial resistance trends in bloodstream infections caused by ESKAPE and *Escherichia coli* at a large teaching hospital in Rome, a 9-year analysis (2007-2015). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018;37:1627-36.
- Del Barrio-Tofiño E, Zamorano L, Cortes-Lara S, López-Causapé C, Sánchez-Diener I, Cabot G, Bou G, Martínez-Martínez L, Oliver A. Spanish nationwide survey on *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial resistance mechanisms and epidemiology. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74:1825-35
- Del Barrio-Tofiño, López-Causapé C, Cabot G, Rivera A, Benito N, Segura C, Montero MM, Sorlí L, Tubau F, Gómez-Zorrilla S, Tormo N, Durá-Navarro R, Viedma E, Resino-Foz E, Fernández-Martínez M, González-Rico C, Alejo-Cacho I, Martínez JA, Labayru-Echeverria C, Dueñas C, Ayestarán I, Zamorano L, Martínez-Martínez L, Horcajada JP, Oliver A. Genomics and Susceptibility Profiles of Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61:e01589-17.
- DiMondi VP, Townsend ML, Drew RH. Risk factors associated with unfavorable short-term treatment outcome in patients with documented *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Int J Clin Pharm* 2015;37:348-54.
- Drusano GL. Antimicrobial Pharmacodynamics: Critical interactions of “bug and drug”. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2:289-300.
- Eagye KJ, Banevicius MA, Nicolau DP. *Pseudomonas aeruginosa* is not just in the intensive care unit any more: implications for empirical therapy. *Crit Care Med* 2012;40:1329-32

- ECDC/EFSA/EMA first joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals – Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis (JIACRA) Report. Stockholm/Parma/London: ECDC/EFSA/EMA, 2015. EFSA Journal 2015;13(1):4006, 114. (Consultado 2/9/2019). Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2015/01/WC500181485.pdf
- Escobar L. Gai MN, Regueira T, Andresen M. Consideraciones farmacocinéticas en el paciente crítico. Rev Med Chile. 2012;140:780-788
- Esteve-Pitarch E, Padullés-Zamora A, Maisterra-Santos K. OTAC: Optimización de la terapia antibiótica en el paciente crítico. Antibióticos betalactámicos en perfusión continua. Farm hosp 2019;43:151-157
- Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España. Sociedad Española de Medicina Preventiva e Higiene. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: <http://hws.vhebron.net/epine/>
- Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva. La Sociedad Española de Medicina Intensiva, Crítica y Unidades Coronarias. (Consultado 19/9/2019). Disponible en: <http://hws.vhebron.net/envin-helics/>
- Estudio Nacional de Vigilancia de infección nosocomial en servicios de medicina intensiva. Informe 2018. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: <http://hws.vhebron.net/envin-helics/Help/Informe%20ENVIN-UCI%202018.pdf>
- Estudio Nacional de Vigilancia de infección nosocomial en servicios de medicina intensiva. Informe 2017. (Consultado 13/3/2020). Disponible en: <http://hws.vhebron.net/envin-helics/Help/Informe%20ENVIN-UCI%202017.pdf>
- Estudio Nacional de Vigilancia de infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva. Informe 2018. (Consultado 23/9/2019). Disponible en: <http://hws.vhebron.net/envin-helics/Help/Informe%20ENVIN-UCI%202018.pdf>

- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Antibiotic resistance-an increasing threat to human health. Estocolmo; 2018. (Consultado 19/9/2019). Disponible en: <https://antibiotic.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antibiotic-resistance-increasing-threat-human-health>
- European Centre for Disease Prevention and Control. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARSS-Net). (Consultado 3/7/2020). Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/ears-net>
- European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. Stockholm: ECDC; 2018. (Consultado 3/12/2019). Disponible en: <https://ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-consumption/database/rates-country>
- European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. Stockholm: ECDC; 2018. (Consultado 20/01/2020). Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-consumption/database/country-overview>
- European Centre for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. Stockholm: ECDC; 2016. (Consultado 8/8/2019). Disponible en; <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/PPS-HAI-antimicrobial-use-EU-acute-care-hospitals-V5-3.pdf>
- European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. Surveillance report 2017. (Consultado 19/9/2019) Disponible en: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/EARS-Net-report-2017-update-jan-2019.pdf>
- European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. Surveillance report 2018. Available from:

- <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf>
- European Committee of antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). Clinical Breakpoints, bacteria (v 8.1). http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.1_Breakpoint_Tables.pdf 2018 [accessed 5 February 2019].
 - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 9.0, valid from 2019-01-01. (Consultado 7/11/2019). Disponible en: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_9.0_Breakpoint_Tables.pdf
 - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST procedure for harmonising and defining breakpoints. Disponible en: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
 - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Clinical breakpoints 2020 v. 10.0. Available from: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
 - Ficha técnica Zavicefta. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zavicefta-epar-product-information_es.pdf
 - Ficha Técnica Zerbaxa. Available from: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1151032001/FT_1151032001.html
 - Firsov AA, Gilbert D, Greer K, Portnoy YA, Zinner SH. Comparative pharmacodynamics and antimutant potentials of doripenem and imipenem with ciprofloxacin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an in vitro model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:1223–8

- Frei CR, Wiederhold NP, Burgess DS. Antimicrobial breakpoints for Gram-negative aerobic bacteria based on pharmacokinetic-pharmacodynamic models with Monte Carlo simulation. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61:621-8.
- Friedrich LV, White RL, Bosso JA. Impact of use of multiple antimicrobial on changes in susceptibility of gram negative aerobes. *Clin Infect Dis* 1999;28:1017-24.
- Gamundi Planas MC (2002) Farmacocinética clínica. En Calvo MV, García MJ, Martínez J, Fernández MM. *Farmacia Hospitalaria Tomo I* (pp.625-665). Publicaciones de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria.
- Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Paterson DL, Shoham S, Jacob J, Silveira FP, Forrest A, Nation RL. Population Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Formed Colistin in Critically Ill Patients from a Multicenter Study Provide Dosing Suggestions for Various Categories of Patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:3284-3294.
- Gómez Álvarez CA, Leal Castro AL, Pérez de Gonzalez MJ, Navarrete Jiménez ML. Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo. *Rev fac med.* 2005;53:27-34
- Gonçalves-Pereira J, Póvoa P. Antibiotics in critically ill patients: a systematic review of the pharmacokinetics of β -lactams. *Crit Care* 2011;15:R206.
- Grupo de Estudio de los mecanismos de acción y resistencia a los antimicrobianos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. (consultado 26/7/2020). Disponible en: <https://www.seimc.org/grupos-de-estudio/gemara/inf institucional/junta-directiva>
- Guglielmo BJ, Flaherty JF, Woods TM, Lafollette G, Gambertoglio JG. Pharmacokinetics of Cefoperazone and Tobramycin alone and in Combination. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31:264-6.
- Hefferman AJ, Sime FB, Lipman J, Robers JA. Individualising Therapy to minimize bacterial multidrug resistance. *Drugs* 2018;78:621–641

- HELICS Surveillance of Nosocomial Infections in Intensive Care Units protocol. Version 6.1, septiembre 2004. (Consultado 24/9/2019). Disponible en: https://www.sicsag.scot.nhs.uk/hai/helics_protocol.pdf
- Hindler JF, Stelling J. Analysis and Presentation of Cumulative Antibigrams: A New Consensus Guideline from the Clinical and Laboratory Standards Institute. *Clin Infect Dis*. 2007;44:867-73
- Informe anual PRAN (Plan Nacional Frente a la Resistencia a los antimicrobianos) 2016-2018. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. (Consultado 19/9/2019). Disponible en: <http://www.resistenciaantibioticos.es/es/publicaciones/informe-anual-2016-2017-plan-nacional-frente-resistencia-antibioticos>
- Informe JIACRA España. Primer análisis integrado del consumo de antimicrobianos y su relación con la aparición de resistencias. Informe 2018. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: http://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/informe_jiacra-espana.pdf?file=1&type=node&id=410&force=0
- Isla A, Canut A, Arribas J, Asín-Prieto E, Rodríguez-Gascón A. Meropenem dosing requirements against Enterobacteriaceae in critically ill patients: influence of renal function, geographical area and presence of extended-spectrum β -lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016;35:511–9
- Kahlmeter G, Menday P, Cars O. Non-hospital antimicrobial usage and resistance in community-acquired Escherichia coli urinary tract infection. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:1005-10.
- Kakara M, Larson K, Feng HP, Shiomi M, Yoshitsugu H, Rizk ML. Population pharmacokinetics of tazo bactam/ceftolozane in Japanese patients with complicated urinary tract infection and complicated intra-abdominal infection. *J Infect Chemother* 2019;25:182-191

- Kashuba AD, Nafziger AN, Drusano GL, Bertino Jr JS. Optimizing aminoglycoside therapy for nosocomial pneumonia caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:623-9.
- Kohlmann R, Gatermann SG. Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data – The Influence of Different Parameters in a Routine Clinical Microbiology Laboratory. *PLoS One* 2016;11(1):e0147965.
- Kollef M.H, Chastre J, Fagon J.Y, François B, Niederman MS, Rello J, Torres A, Vincent JL, Wunderink RG, Go KW, Rehm C. Global prospective epidemiologic and surveillance study of ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Crit Care Med* 2014;42:2178-87.
- Koomanachai P, Bulik CC, Kuti JL, Nicolau DP. Pharmacodynamic modeling of intravenous antibiotics against gram-negative bacteria collected in the United States. *Clin Ther.* 2010;32:766-79.
- Levy SB. Antibiotic resistance: An ecological imbalance. *Ciba Found Symp.* 1997;207:1–9.
- Li C, Kuti JL, Nightingale CH, Mansfield DL, Dana A, Nicolau DP. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of piperacillin/tazobactam in patients with complicated intra-abdominal infection. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:388-95.
- Lipman J, Wallis SC, Rickard C. Low plasma Cefepime levels in critically ill septic patients: Pharmacokinetics modeling indicates improved troughs with revised dosing. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2559.
- Lipš M, Siller M, Strojil J, Urbánek K, Balík M, Suchánková H. Pharmacokinetics of imipenem in critically ill patients during empirical treatment of nosocomial pneumonia: A comparison of 0.5-h and 3h infusion. *Int J Antimicrob Agents* 2014;44:358–62.
- LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; Last Update: April 12, 2019

- Loeffler JM, Garbino J, Lew D, Harbarth S, Rohener P. Antibiotic consumption, bacterial resistance and their correlation in a Swiss university hospital and its adult intensive care units. *Scand J Infect Dis* 2003;35:843-50.
- Lopez-Causape C, Rojo-Molinero E, Maciá MD, Oliver A. The problems of antibiotic resistance in cystic fibrosis and solutions. *Expert Rev Respir Med*. 2015;9:73-88
- Maciá MD, Borrell N, Segura M, Gómez C, Pérez JL, Oliver A. Efficacy and potential for resistance selection of antipseudomonal treatments in a mouse model of lung infection by hypermutable *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:975-983.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:268-81
- Maortua H, Canut A, Ibañez B, Martínez D, De Domingo M-J, Labora A. Relación entre la Resistencia bacteriana intrahospitalaria y el consumo de antimicrobianos durante un periodo de 13 años. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009; 27: 441-448.
- Maraki S, Mantadakis E, Nioti E, Samonis G. Susceptibility of 2,252 *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates over 4 years to 9 antimicrobials in a tertiary Greek hospital. *Chemotherapy* 2014;60:334-41.
- March-Rosselló GA. Rapid methods for detection of bacterial resistance to antibiotics. *Enferm infecc Microbiol Clin*. 2017;35:182-188
- Melsen WG, Rovers MM, Groenwold RH, Bergmans DC, Camus C, Bauer TT, Hanisch EW, Klarin B, Koeman M, Krueger WA, Lacherade JC, Lorente L, Memish ZA, Morrow LE, Nardi G, Van Nieuwenhoven CA, O'Keefe GE, Nakos G, Scannapieco FA, Seguin P, Staudinger T, Topeli A, Ferrer M, Bonten MJM.. Attributable mortality of ventilator-

- associated pneumonia: a meta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect Dis* 2013;13:665-71.
- Mensa J, Barberán J, Soriano A, Linares P, Marco F, Canton R, Bou G, Gonzalez del Castillo J, Maseda E, Azanza JR, Pasqua J, García-Vidal C, Reguera JM, Sousa D, Gomez J, Montejo M, Borges M, Torres A, Alvarez-Lerma F, Salavert M, Zaragoza R, Oliver A. Antibiotic selection in the treatment of acute invasive infections by *Pseudomonas aeruginosa*: Guidelines by the Spanish Society of Chemotherapy. *Rev Esp Quimioter* 2018;31:78-100
 - Mesaros N, Nordmann P, Plésitat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y, Van Laethem Y, Jacobs F, Lebecque P, Malfroot A, Tulkens PM, Van Bambeke F. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13:560-578.
 - Mohd W, Azam MW, Khan AU. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Disc Today*. 2019;24:350-359.
 - Monogue ML, Pettit RS, Muhlebach M, Cies JJ, Nicolau DP, Kutia JL. Population Pharmacokinetics and Safety of Ceftolozane-Tazobactam in Adult Cystic Fibrosis Patients Admitted with Acute Pulmonary Exacerbation. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60:6578-6584
 - Mouton JW, Dudley MN, Cars O, Derendorf H, Drusano GL. Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:601-607.
 - Noguera O, López-Riquelme N, Rodríguez JC, Santibañez M, Alvarez L, Galiana A, Ruiz-García M, López-García P, Royo G. Extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* over 18 years: effects of different system for eliminating duplicates. *Int J Antimicrob Agents* 2012;40:186-92.

- Nouri R, Rezaee MA, Hasani A, Aghazadeh M, Asgharzadeh M. The role of *gyrA* and *parC* mutations in fluoroquinolones-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Iran. *Braz. J. Microbiol.* 2016;47:925-930
- Obritsch MD, Fish DN, MacLaren R, Jung R. National surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from Intensive Care Unit patients from 1993 to 2002. *Antimicrob agents chemother* 2004;48:4606–10.
- Oliver A, Mulet X, López-Causapé C, Juan C. The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Drug Resist Updat* 2015; 21–22:41–59.
- Palomar M, Álvarez-Lerma F, Riera A, Díaz MT, Torres F, Agra Y, Larizgoitia I, Goeschel CA, Pronovost PJ. Bacteremia Zero Working Group. Impact of a national multimodal intervention to prevent catheter-related bloodstream infection in the ICU: the Spanish experience. *Crit Care Med* 2017;41:2364-72.
- Peña C, Suarez C, Ocampo-Sosa A, Murillas J, Almirante B, Pomar V, Aguilar M, Granados A, Calbo E, Rodríguez-Baño J. Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI). Effect of adequate single-drug vs combination antimicrobial therapy on mortality in *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: a post hoc analysis of a prospective cohort. *Clin. Infect. Dis.* 2013;57:208–216.
- Peris-Martí JF, Borrás-Blasco J, Rosique-Robles JD, Gonzalez-Delgado M. Evaluation of once daily tobramycin dosing in critically ill patients through Bayesian simulation. *J Clin Pharm Ther* 2004;29:65-70.
- Plan Nacional Frente a la Resistencia a los antimicrobianos. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Plan 2014-2018. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: http://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/plan_estrategico_antimicrobianos_para_envio_2mb.pdf?file=1&type=node&id=315&force=0
- Plan Nacional Frente a la Resistencia a los antimicrobianos. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Plan 2019-2021. (Consultado 19/9/2019). Disponible en:

- http://www.resistenciaantibioticos.es/es/system/files/field/files/pran_2019-2021_0.pdf?file=1&type=node&id=497&force=0
- Polk RE, Johnson CK, McClish D, Wenzel RP, Edmond MB. Predicting hospital rates of fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from fluoroquinolone use in US hospitals and their surrounding communities. *Clin Infect Dis*. 2004;39:497–503.
 - Pourmand A, Mazer-Amirshashi M, Jasani G, May L. Emerging trends in antibiotic resistance: Implications for emergency medicine. *Am J Emerg Med*. 2017;35:1172-1176.
 - Protocolo de vigilancia de Brotes. Grupo de trabajo SMPH-DGSP de vigilancia de IRAS. Madrid 2018. (Consultado 07/11/2019). Disponible en: http://www.comunidad.madrid/sites/default/files/doc/sanidad/epid/protocolo_vigilancia_de_brotos_de_iras._comunidad_de_madrid_mayo_2018.pdf.
 - Proyecto ITU-zero 2018-2020. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Seguridad del paciente. (Consultado 19/9/2019). Disponible en: <https://www.seguridaddelpaciente.es/resources/documentos/2018/04/itu-zero/definitivo/PROYECTO-ITU-ZERO-2018-2020.pdf>
 - Proyecto Resistencia Zero 2014-2015. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Seguridad del paciente. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: <https://www.seguridaddelpaciente.es/es/proyectos/financiacion-estudios/proyecto-resistencia-zero/>
 - Ramsey C, MacGowan AP. A review of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of aztreonam. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71: 2704–2712
 - Rebeck JA, Fish DN, Abraham E. Pharmacokinetics of Intravenous and Oral Levofloxacin in Critically Ill Adults in a Medical Intensive Care Unit. *Pharmacotherapy* 2002;22:1216-25.
 - Red de laboratorios para la vigilancia de los microorganismos resistentes. Ministerio de Salud, Consumo y Bienestar Social. Aprobado por la Comisión de Salud Pública el día 14 noviembre de 2018.

- Registro hospitalario de pacientes afectados por las resistencias bacterianas. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica (SEIMC). Madrid 2018. (Consultado 07/11/2019). Disponible en: https://seimc.org/contenidos/noticias/2018/seimc-Registro_de_Pacientes_BMR.pdf
- Rempel OR, Laupland KB. Surveillance for antimicrobial resistant organisms: potential sources and magnitude of bias. *Epidemiol Infect* 2009;137:1665-73.
- Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J Infect Dis*. 2008;197:1079–81,
- Roberts JA, Kirkpatrick CM, Lipman J. Monte Carlo simulations: maximizing antibiotic pharmacokinetic data to optimize clinical practice for critically ill patients. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:227-31.
- Rodríguez-Baño J, Paño-Pardo JR, Alvarez-Rocha L, Asensio A, Calbo E, Cercenado E, Cisneros JM, Cobo J, Delgado O, Garnacho-Montero J, Grau S, Horcajada JP, Hornero A, Murillas-Angoiti J, Oliver A, Padilla B, Pasqua J, Pujol M, Ruiz-Garbajosa P, San Juan R, Sierra R. Programas de optimización de uso de antimicrobianos (PROA) en hospitales españoles: documento de consenso GEIH-SEIMC, SEFH y SEMPSPH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30:22 e1–22.e23
- Rodriguez-Nuñez O, Periañez-Parraga L, Oliver A, Munita JM, Boté A, Gasch O, Nuvials X, Dinh A, Shaw R, Lomas JM, Torres V, Castón J, Araos R, Abbo LM, Rakita R, Pérez F, Aitken SL, Arias CA, Martín-Pena ML, Colomar A, Núñez MB, Mensa J, Martínez JA, Soriano A. Higher MICs (>2 mg/L) Predict 30-Day Mortality in Patients With Lower Respiratory Tract Infections Caused by Multidrug- and Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Treated With Ceftolozane/Tazobactam. *Open Forum Infect Dis*. 2019;6:ofz416
- Rossolini GM, Mantengoli E. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect* 2005;11(Suppl. 4):S17–32.

- Ruiz-Garbajosa P, Cantón R. Epidemiology of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Implications for empiric and definitive therapy. *Rev Esp Quimioter*. 2017;30:8-12
- Sánchez-Bautista A, Coy J, García-Shimizu P, Rodríguez JC. Cambio de CLSI a EUCAST en la interpretación de la sensibilidad a antimicrobianos: ¿cómo influye en nuestro medio? *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2018;36:229–232
- Santajit S, Indrawattana N. Mechanism of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Biomed Res Int*. 2016;5:1-8
- Seral C, Gude MJ, Castillo FJ. Emergencia de β -lactamasas AmpC plasmídicas (pAmpC ó cefamicinasas): origen, importancia, detección y alternativas terapéutica. *Rev Esp Quimioter* 2012;25:89-99
- Serpersu EH, Ozen C, Wright E. Studies of enzymes that cause resistance to aminoglycosides antibiotics. *Methods Mol Med*. 2008;142:261-71
- Shannon KP, French GL. Antibiotic resistance: effect of different criteria for classifying isolates as duplicates on apparent resistance frequencies. *J Antimicrob Chemother* 2002;49:201–4.
- Sharma G, Rao S, Bansal A, Dang S, Gupta S, Gabrani R. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: Potential therapeutic targets. *Biologicals* 2014;42:1-7
- Sherwin KB, Zhuang L, Sy S, Derendorf H. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamic of ceftazidime-avibactam combination: A model-informed strategy for its clinical development. *Clinical pharmacokinetics* 2019;58:545-564
- Sime FB, Lassig-Smith M, Starr T, Stuart J, Pandey S, Parker SL, Wallis SC, Lipman J, Roberts JA. Population Pharmacokinetics of Unbound Ceftolozane and Tazobactam in Critically Ill Patients without Renal Dysfunction. *Antimicrob Agents Chemother* 2019;63:e01265-19.

- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Procedimientos en microbiología clínica. 51 Preparación de informes acumulados de sensibilidad a los antimicrobianos. 2014.
- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Procedimientos en microbiología clínica. 46 Análisis farmacocinético-farmacodinámico en Microbiología: herramienta para evaluar el tratamiento antimicrobiano. 2013.
- Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. Estudio EPINE-EPPS nº 29. 2018. Informe España. Prevalencia de infecciones (relacionadas con la asistencia sanitaria y comunitarias) y uso de antimicrobianos en hospitales de agudos. Versión 1.0. Fecha elaboración: 11/04/2019
- Stein GE, Smith CL, Scharmen A, Kidd JM, Cooper C, Kuti J, Mitra S, Nicolau DP, Havlicek DH. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis of Ceftazidime/Avibactam in Critically Ill Patients. *Surg Infect (Larchmt)*. 2019;20:55-61.
- Su TY, Ye JJ, Yang CC, Huang CT, Chia JH, Lee MH. Influence of borderline cefepime MIC on the outcome of cefepime-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia treated with a maximal cefepime dose: a hospital-based retrospective study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2017;16:52.
- Sumi CD, Heffernan AJ, Lipman J, Roberts JA, Sime FB. What Antibiotic Exposures Are Required to Suppress the Emergence of Resistance for Gram-Negative Bacteria? A Systematic Review. *Clin Pharmacokinet*. 2019;58:1407-1443.
- Tam VH, Chang KT, Zhou J, Ledesma KR, Phe K, Gao S, Van Bambeke F, Sánchez-Díaz AM, Zamorano L, Oliver A, Cantón R. Determining beta-lactam exposure threshold to suppress resistance development in Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72:1421–8.
- Tängdén T, Ramos Martín V, Felton TW, Nielsen EI, Marchand S, Brüggemann RJ, Bulitta JB, Bassetti M, Theuretzbacher U, Tsuji BT, Wareham DW, Friberg LE, De Waele

- JJ, Tam VH, Roberts JA. The role of infection models and PK/ PD modelling for optimising care of critically ill patients with severe infections. *Intensive Care Med* 2017;43:1021–1032
- Tennant SJ, Burgess DR, Rybak JM, Martin CA, Burgess DS. Utilizing Monte Carlo simulations to optimize institutional empiric antipseudomonal therapy. *Antibiotics*. 2015;4:643–52
 - Thabit AK, Hobbs ALV, Guzman OE, Shea KM. The pharmacodynamics of prolonged infusion blactams for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: a systematic review. *Clin Ther* 2019;41:2397-2415
 - Torrens G, Cabot G, Ocampo-Sosa AA, Conejo MC, Zamorano L, Navarro F, Pascual Á, Martínez-Martínez L, Oliver A. Activity of Ceftazidime-Avibactam against Clinical and Isogenic Laboratory *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Expressing Combinations of Most Relevant beta-Lactam Resistance Mechanisms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60:6407-6410.
 - Valero A, Isla A, Rodríguez-Gascón A, Calvo B, Canut A, Solinís MA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis as a tool for surveillance of the activity of antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in critically ill patients. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2018;37:380–6
 - Valero A, Isla A, Rodríguez-Gascón A, Calvo B, Canut A, Solinís MA. *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility and antimicrobial activity by PK/PD analysis: An 18-years surveillance study. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019;37:380-6
 - Van Duijn D, Bonomo RA. Ceftazidime/Avibactam and Ceftolozane/Tazobactam: Second-generation β -Lactam/ β -Lactamase Inhibitor Combinations. *Clin Infect Dis*. 2016;63:234–241
 - VanScoy BD, Mendes RE, Castanheira M, McCauley J, Bhavnani SM, Jones RN, Friedrich LV, Steenbergen JN, Ambrose PG. Relationship between ceftolozane–

- tazobactam exposure and selection for *Pseudomonas aeruginosa* resistance in a hollow-fiber infection model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:6024–31.
- Vardakas KZ, Tansarli GS, Bliziotis IA, Falagas ME. β -Lactam plus aminoglycoside or fluoroquinolone combination versus β -lactam monotherapy for *Pseudomonas aeruginosa* infections: a meta-analysis. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2013;4:301–310.
 - Vincent J, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, Moreno R, Lipman J, Gomersall C, Sakr Y, Reinhart K. EPIC II Group of Investigators. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009;302:2323–9.
 - Vincent JL, Marshall JC, Namendys-Silva SA, François B, Martin-Loeches I, Lipman J, Reinhart K, Antonelli M, Pickkers P, Njimi H, Jimenez E, Sakr Y. ICON investigators. Assessment of the worldwide burden of critical illness: the Intensive Care Over Nations (ICON) audit. *Lancet Respir Med* 2014;2:380–6.
 - Wong G, Sime FB, Lipman J, Robers JA. How do we use therapeutic drug monitoring to improve outcomes from severe infections in critically ill patients? *BMC Infec Dis.* 2014,14:288
 - World Health Organisation (WHO). Global action plan on antimicrobial resistance. Geneva:WHO;2015. (Consultado 8/8/2019). Disponible en: https://www.wpro.who.int/entity/drug_resistance/resources/global_action_plan_eng.pdf
 - World Health Organisation (WHO). Informe WHA72/18 de Seguimiento de las reuniones de alto nivel de la Asamblea General de las Naciones Unidas sobre temas relacionados con la salud. Resistencia a los antimicrobianos. (Consultado 23/10/2019). Disponible en: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA72/A72_18-sp.pdf
 - World Health Organisation (WHO). WHO Publishes List of Bacteria for which New Antibiotics Are Urgently Needed. WHO, Geneva 2017. (Consultado 1/8/2019) Disponible en: <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

- Xuan D, Nicolau DP, Nightingale CH. Population pharmacokinetics of gentamicin in hospitalized patients receiving once-daily dosing. *Int J Antimicrob Agents* 2004;23:291-5.
- Zazo H, Martín-Suárez A, Lanao JM. Evaluating amikacin dosage regimens in intensive care unit patients: a pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis using Monte Carlo simulation. *Int J Antimicrob Agents* 2013;42:155-60
- Zelenitsky SA, Harding GKM, Sun S, Ubhi K, Ariano RE. Treatment and outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: an antibiotic pharmacodynamic analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52:668-74.
- Zelenitsky SA, Rubinstein E, Ariano RE, Zhanel GG. Canadian Antimicrobial Resistance Alliance. Integrating pharmacokinetics, pharmacodynamics and MIC distributions to assess changing antimicrobial activity against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* causing infections in Canadian hospitals (CANWARD). *J Antimicrob Chemother* 2013;68:i67-72.
- Zilahi G, Artigas A, Martin-Loeches I. What's new in multidrug-resistant pathogens in the ICU? *Ann Intensive Care* 2016;6:96.



eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea