



Evaluación de la sensibilidad de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistentes frente a ceftolozano/tazobactam

César Del Prado-Montoro¹, Jesús Ruiz-Aragón¹, Carmen Martínez Rubio¹, Sofía García-Martín¹, Carolina Freyre-Carrillo¹ y Manuel Antonio Rodríguez-Iglesias¹

Evaluation of susceptibility of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains against ceftolozane/tazobactam

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen associated with high morbidity and mortality. For multidrug-resistant strains (MDR), ceftolozane/tazobactam (CTZ) has been authorized by the European Medicines Agency (EMA) for complicated urinary tract infections, acute pyelonephritis, and complicated intra-abdominal infections. **Aim:** To determine the susceptibility to CTZ of *P. aeruginosa* MDR in isolated clinical samples at the University Hospital Puerto Real. **Methods:** The susceptibility according to the EUCAST to CTZ criteria of strains of *P. aeruginosa* MDR, between January 2015 and August 2017 has been studied. The multiresistance criteria were those defined by the Centers for Disease Control and Prevention. The antibiotic susceptibility was obtained by automated MicroScan® system (Beckman Coulter). Susceptibility to CTZ was determined using gradient strips (Liofilchem®, Werfen). **Results:** Of 1253 strains isolated, 7% presented MDR. We studied the susceptibility of a total of 78 strains of MDR *P. aeruginosa*, of which 5 (6.4%) were resistant to CTZ according to the EUCAST criteria. **Conclusions:** In our environment, the in vitro resistance to CTZ in MDR *P. aeruginosa* strains is approximately 6%. CTZ is an option for the treatment of infections by MDR *P. aeruginosa* when there is no other alternative and its in-vitro susceptibility has been proven.

Keywords: Susceptibility; ceftolozane/tazobactam; *Pseudomonas aeruginosa*; multidrug-resistance; infections. **Palabras clave:** Sensibilidad; ceftolozano/tazobactam; *Pseudomonas aeruginosa*; multi-resistencia; infecciones.

¹Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Universitario Puerto Real. Cádiz, España.

Los autores declaran no haber recibido financiación para la realización de este estudio. Los autores declaran no tener conflicto de interés alguno.

Recibido: 11 de septiembre de 2018

Aceptado: 6 de junio de 2019

Correspondencia a: Jesús Ruiz-Aragón
reducido@hotmail.com

Introducción

Pseudomonas aeruginosa es un microorganismo que puede causar una gran variedad de infecciones, tanto de ámbito comunitario como hospitalario¹. Frecuentemente, estas infecciones cursan en pacientes que están en contacto con la asistencia sanitaria, ya sea hospitalaria o ambulatoria, durante largos períodos de tiempo, siendo muy frecuentes en pacientes inmunocomprometidos, la mayoría de ellos con antecedentes de antibioterapia previa de amplio espectro^{2,3}.

Estas infecciones constituyen un problema importante debido a la falta de alternativas terapéuticas antimicrobianas válidas, lo que incrementa tanto la morbi-mortalidad, como el consumo de recursos por un aumento del período de ingreso hospitalario y de curación clínica de la infección.

Pseudomonas aeruginosa es la causante de 10 al 20% de bacteriemias por bacilos gramnegativos. En pacientes con tratamiento antimicrobiano inadecuado, o bien, con infecciones de origen respiratorio, produce una mortalidad

de 30 a 40%, sobre todo, en las primeras 24-48 horas de iniciarse los síntomas³.

Las cepas de *P. aeruginosa* presentan resistencia natural a diversos grupos de antimicrobianos de uso en la clínica diaria como penicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación, cloranfenicol, cotrimoxazol y rifampicina, entre otros^{4,6}. También son capaces de adquirir material genético exógeno y de desarrollar mutaciones cromosómicas. Presenta diferentes mecanismos de resistencia según el tipo de antimicrobiano⁷. Por ello, plantea serias dificultades terapéuticas, debido a la aparición de cepas resistentes a los distintos grupos de antimicrobianos^{8,9}. Asimismo, estudios demuestran que la emergencia de resistencias en *P. aeruginosa* debe considerarse como un problema de salud pública¹. Actualmente, uno de los tratamientos más usados en la práctica clínica, es la asociación de piperacilina (ureido penicilina con actividad antipseudomónica) y un inhibidor de β -lactamasas como tazobactam, el que, es muy activo frente a *P. aeruginosa* incluyendo cepas resistentes a carbapenémicos que no posean carbapenemasas.



En el área sanitaria perteneciente al Hospital Universitario de Puerto Real, objeto de nuestro estudio, hemos observado un aumento de infecciones producidas por este microorganismo, así como del porcentaje de cepas que presentan resistencia a varios grupos de antimicrobianos empleados en la práctica clínica. Actualmente, casi 10% de las cepas aisladas de *P. aeruginosa* en muestras clínicas de nuestra área sanitaria se clasifican como multi-resistentes, lo que representa una dificultad añadida a la hora de establecer un tratamiento eficaz.

En los últimos años, se están desarrollando nuevas estrategias terapéuticas para abordar las infecciones por *P. aeruginosa* multi-resistente (MDR). Una de estas nuevas estrategias lo constituye ceftolozano/tazobactam (CTZ), asociación de antimicrobianos autorizada por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) en el año 2015. Se trata de una cefalosporina de quinta generación (ceftolozano), unida a un inhibidor de β -lactamasas (tazobactam) que actúa ante β -lactamasas de clase A. Tazobactam no es activo frente a carbapenemasas de tipo KPC, metalo- β -lactamasas ni de tipo OXA, lo que justifica que la producción de estas β -lactamasas sea el principal mecanismo de resistencia del microorganismo frente a CTZ.

Las indicaciones de CTZ aprobadas por la EMA son infecciones intra-abdominales complicadas (asociado a metronidazol) e infecciones urinarias graves incluyendo la pielonefritis aguda^{2,10,11}. Ceftolozano es activo frente a *P. aeruginosa*, siendo en la actualidad la cefalosporina con mayor actividad frente a este patógeno, ya que es estable en presencia de β -lactamasas AmpC y no se ve afectado por la pérdida de porinas de membrana externa (OprD) o por la presencia de bombas de expulsión activa¹².

Ceftolozano/tazobactam constituye una alternativa para infecciones por cepas MDR, incluyendo *P. aeruginosa*. La elección del tratamiento en estas situaciones será individualizada según el antibiograma, datos de eficacia y riesgo de toxicidad en un paciente determinado¹³.

El objetivo de nuestro estudio ha sido evaluar la sensibilidad *in vitro* de cepas de *P. aeruginosa* MDR procedentes de muestras clínicas del Hospital Universitario de Puerto Real (Cádiz) frente a CTZ.

Material y Métodos

Durante el período comprendido entre enero de 2015 y agosto de 2017 se estudió la susceptibilidad *in vitro* de cepas MDR de *P. aeruginosa*, que se obtuvieron de muestras clínicas procedentes de aislados del Hospital Universitario de Puerto Real (Cádiz).

Las muestras inicialmente eran inoculadas en los medios de cultivos convencionales y posteriormente las cepas se identificaban mediante métodos basados en la

espectrometría de masas MALDI-TOF® (Bruker). La sensibilidad de las cepas se determinó por el método de microdilución mediante el sistema automatizado MicroScan® (Beckman Coulter), aplicando puntos de corte del *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) que son coincidentes para los datos por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) ($S \leq 4$)^{14,15}.

Los criterios de multi-resistencia se establecieron acorde a los definidos por el *Centers for Disease Control and Prevention* americano y europeo (CDC y ECDC) en los últimos años¹⁶, considerando una cepa MDR aquella que presenta ausencia de sensibilidad al menos a un antimicrobiano de tres o más familias de éstos; cepa *extremadamente resistente* (XDR) la que presenta ausencia de sensibilidad a al menos un antimicrobiano de todas las familias, excepto dos, como máximo; y cepa *pan-resistente* (PDR) la que tiene ausencia de sensibilidad a todos los antimicrobianos de todas las familias habitualmente utilizadas en el tratamiento de la bacteria considerada.

Para determinar la multi-resistencia se tuvieron en cuenta los siguientes grupos de antimicrobianos empleados en la práctica clínica: aminoglucósidos (amikacina, gentamicina y tobramicina), carbapenémicos (imipenem, meropenem y doripenem), cefalosporinas anti-pseudomónicas (ceftazidima y cefepima), fluorquinolonas (ciprofloxacina y levofloxacina), penicilinas con inhibidores de β -lactamasas (piperacilina/tazobactam) y polimixinas (colistina).

Las cepas que se consideraron como MDR fueron conservadas en cepario a -20°C y posteriormente, previa descongelación, se testaron frente a CTZ mediante tiras de gradiente (Liofilchem®, Werfen), considerando el punto de corte establecido por EUCAST ($S \leq 4 \mu\text{g/mL}$).

Para descartar presencia de carbapenemasas (OXA48, KPC, NDM, VIM, IMP1), en las cepas que mostraron resistencia a CTZ se realizó la determinación mediante reacción de polimerasa encadenada (RPC) a tiempo real Xpert Carba-R® (Cepheid, Werfen).

Resultados

En el período de estudio se obtuvo un total de 1.253 aislados de *P. aeruginosa*. De ellos, 517 (41%) aislados procedían de pacientes internados y 736 (59%) de pacientes ambulatorios. El número total de estos aislados de *P. aeruginosa* que se incluyó a lo largo del período de estudio se refleja en la Tabla 1.

Del total de 1.253 cepas de *P. aeruginosa* aisladas, presentaron multi-resistencia (MDR o XDR) un total de 87 (7%) aislados. No se encontró cepa pan-resistente alguna. En la Tabla 2 se muestra la distribución de las cepas de *P. aeruginosa* MDR incluidas en el estudio.



Tabla 1. Número total de aislamientos de *P. aeruginosa* en el periodo de estudio

Año	AE	AP	Total
2015	187	271	458
2016	212	296	508
2017 (agosto)	118	169	287
Total	517	736	1.253

AE: Atención especializada; AP: Atención Primaria.

Tabla 2. Distribución de las cepas de *P. aeruginosa* MDR (número de cepas totales) incluidas en el estudio

Año	MDR AE	MDR AP	XDR AE	XDR AP	Total
2015	11	5	7	6	29
2016	9	6	10	7	32
2017 (agosto)	14	6	5	1	26
Total	34	17	22	14	87

MDR AE: *P. aeruginosa* multi-resistente Atención Especializada; MDR AP: *P. aeruginosa* multi-resistente Atención Primaria; XDR AE: *P. aeruginosa* extremadamente resistente Atención Especializada; XDR AP: *P. aeruginosa* extremadamente resistente Atención Primaria.

A partir de estos datos preliminares de 87 cepas MDR, para evaluar la sensibilidad a CTZ, se utilizaron 78 (89%) aislados previa descongelación de los mismos. Un total de nueve (10%) cepas no se pudieron evaluar, bien porque eran cepas que procedían del mismo paciente (n: 3), o bien porque al descongelar no permanecieron viables (n: 4) o se habían contaminado (n: 2). Por tipo de muestras, la mayoría de los 78 aislados procedía de muestras de exudados de herida o úlcera (36%), respiratorias (22%) u orina (20%). El resto de muestras provenía de exudados óticos (6%), bilis (4%), fragmento óseo (4%), cultivos de vigilancia (4%), catéter (1%) y hemocultivo (2%). Los resultados de sensibilidad de las 78 cepas frente al CTZ se presentan en la Tabla 3.

Un total de 73 (94%) de las cepas ensayadas fueron sensibles a CTZ según criterios EUCAST ($S \leq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$). A las cinco (6%) cepas que presentaron resistencia a CTZ, se les realizó la determinación de carbapenemasas de tipo VIM, KPC, OXA48, NMD e IMP1, que resultó ser negativa para 100% de éstas.

De las 78 cepas ensayadas a CTZ, un total de 45 (58%) cepas se clasificaron como MDR y 33 (42%) como XDR. Entre las MDR, el mayor porcentaje de resistencia se presentó a piperacilina/tazobactam (84%), seguido de ciprofloxacina y ceftazidima (64%). Por el contrario, el mayor porcentaje de sensibilidad lo presentaron colistina (100%) y tobramicina (75%). En cuanto a las cepas XDR, el antimicrobiano evaluado que presentó mayor porcentaje de resistencia fue ciprofloxacina (94%), seguido de piperacilina/tazobactam (91%), ceftazidima (88%) y tobramicina (81%). En estas cepas, el mayor porcentaje de sensibilidad se obtuvo con colistina (100%) y meropenem (21%). La CIM de CTZ que inhibió el crecimiento de 50% de las cepas evaluadas (CIM_{50}) y 90% de las cepas evaluadas (CIM_{90}) fue $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ y $3 \mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. Los resultados de sensibilidad se representan en la Tabla 4.

Las cinco cepas resistentes a CTZ se clasificaron como MDR y todas fueron sensibles a colistina y tobramicina. De estas cinco cepas, sólo una fue sensible a ceftazidima

Tabla 3. Resultados de sensibilidad de las 78 cepas frente a ceftalozano/tazobactam expresados en número total de cepas

Año	CIM > 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$	CIM = 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$	CIM = 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	CIM < 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Total
2015	2	2	5	18	27
2016	1	1	4	23	29
2017 (agosto)	2	0	3	17	22
Total	5	3	12	58	78

CIM: Concentración inhibitoria mínima.

Tabla 4. Resultados de sensibilidad a diversos antimicrobianos de las cepas de *P. aeruginosa* expresados en número total de cepas (%) diferenciando entre MDR y XDR

Antimicrobiano/ cepas	MDR			XDR		
	S	I	R	S	I	R
Ceftazidima	14 (31%)	2 (4%)	29 (64%)	4 (12%)	0 (0%)	29 (88%)
Meropenem	15 (33%)	11 (24%)	19 (42%)	7 (21%)	11 (33%)	15 (45%)
Imipenem	13 (29%)	12 (27%)	20 (44%)	6 (18%)	10 (30%)	17 (52%)
Doripenem	15 (33%)	12 (27%)	18 (40%)	8 (24%)	11 (33%)	14 (43%)
Ciprofloxacina	10 (22%)	6 (13%)	29 (64%)	2 (6%)	0 (0%)	31 (94%)
Piperacilina/tazobactam	14 (31%)	2 (4%)	29 (64%)	3 (9%)	0 (0%)	30 (91%)
Tobramicina	34 (75%)	1 (2%)	10 (22%)	6 (18%)	2 (6%)	25 (81%)
Colistina*	28 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	18 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Total	45			33		

*No se testaron todas las cepas a colistina. MDR: multi-resistente; XDR: extremadamente resistente; S: sensible; I: intermedio; R: resistente.

y otra a piperacilina/tazobactam, dos fueron sensibles a meropenem y otras dos a ciprofloxacina. La sensibilidad de estas cepas a algunos de los antimicrobianos testados se muestra en la Tabla 5.



Tabla 5. Resultados de sensibilidad a diversos antimicrobianos de las cepas de *P. aeruginosa* que presentaron resistencia a ceftolozano/tazobactam

Cepas/ATM	CAZ	MERO	CIPRO	PIPER/TAZO	TOBRA	COLISTINA	CIM CTZ (µg/mL)
Cepa 1	R	R	S	R	S	S	8
Cepa 2	R	S	R	R	S	S	12
Cepa 3	R	S	S	R	S	S	8
Cepa 4	S	R	R	R	S	S	8
Cepa 5	R	R	I	S	S	S	6

ATM: antimicrobiano; CAZ: ceftazidima; MERO: meropenem; CIPRO: ciprofloxacina; PIPER/TAZO: piperacilina/tazobactam; TOBRA: tobramicina; CIM CTZ: concentración inhibitoria mínima a ceftolozano/tazobactam; R: resistente; I: intermedio; S: sensible.

Discusión

Según los datos del estudio realizado, observamos un aumento de la incidencia de infecciones por cepas de *P. aeruginosa* MDR en nuestro medio, a partir del año 2017 en adelante, tanto en el ámbito ambulatorio como hospitalario. Esto hace que sea necesario disponer de nuevas opciones de tratamiento para tratar este tipo de infecciones.

Una de estas nuevas opciones de tratamiento es CTZ, que por su actividad intrínseca ante cepas de *P. aeruginosa*, su estabilidad ante β -lactamasas del tipo AmpC y su no afectación ante la pérdida de porinas de membrana externa (OprD) o por la presencia de bombas de expulsión activa [10], se presenta, hoy en día, como una de las mejores opciones de tratamiento ante infecciones producidas por cepas de *P. aeruginosa* MDR¹⁷.

El principal mecanismo de resistencia que *P. aeruginosa* desarrolla frente a CTZ es la producción de β -lactamasas capaces de hidrolizar el ceftolozano y que no son inhibidas por tazobactam. Entre ellas se encuentran algunas carbapenemasas de tipo A (KPC, GES), metalo- β -lactamasas y carbapenemasas de tipo D (OXAs). En un reciente estudio, del Barrio-Tofiño y cols., demostraron que cepas de *P. aeruginosa* XDR aisladas en hospitales españoles, que presentaban este tipo de β -lactamasas, eran resistentes a CTZ²⁰.

Una de las limitaciones que ha podido presentar este estudio, es el reducido número de cepas que han sido evaluadas, así como no haberse descartado carbapenemasas tipo GES, muy frecuentes en cepas de *P. aeruginosa*. Para extrapolar nuestros resultados, se debería realizar un estudio en período de tiempo superior con una cantidad mayor de cepas. Otra limitación ha podido ser los problemas metodológicos de la detección de susceptibilidad a CTZ cuando se utilizan tiras de gradiente (Liofilchem®, Werfen) debido a que, según se describe en un estudio de Romney M. Humphries et al., se obtienen valores de CIM más altos de lo normal con resultados de falsa resistencia²¹.

En este trabajo se presentan datos de sensibilidad de cepas de *P. aeruginosa* MDR frente a CTZ, obteniéndose una susceptibilidad aproximada de 95% en el total de las cepas testadas. En todas las cepas que resultaron resistentes a CTZ, se descartó la presencia de carbapenemasas tipo KPC, NDM, OXA48, VIM e IMP, pues en muchas ocasiones, CTZ es la mejor y/o única alternativa disponible para el tratamiento de infecciones producidas por cepas de *P. aeruginosa* MDR.

Otros trabajos realizados obtienen resultados similares a los observados en nuestro estudio; sin embargo, nuestros datos se refieren a *P. aeruginosa* MDR exclusivamente¹⁸. Otro estudio evaluó la sensibilidad en muestras procedentes de infecciones respiratorias¹⁹, obteniendo resultados similares. Sería conveniente la realización de nuevas experiencias, con un número superior de muestras, que confirmaran los resultados obtenidos en este trabajo.

De acuerdo con los resultados alcanzados, se puede evidenciar que el antimicrobiano CTZ constituye una alternativa a tener en cuenta en el tratamiento de infecciones intra-abdominales graves, así como infecciones urinarias graves, incluyendo pielonefritis aguda, siempre que no existan otras alternativas de tratamiento y se haya comprobado su actividad *in-vitro* previamente.

Resumen

Introducción: *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista asociado a alta morbi-mortalidad. Para cepas multi-resistentes (MDR), ceftolozano/tazobactam (CTZ) se ha autorizado por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) para infecciones del tracto urinario complicadas, pielonefritis aguda e infecciones intra-abdominales complicadas. **Objetivo:** Determinar la sensibilidad a CTZ de *P. aeruginosa* MDR en muestras clínicas aisladas en el Hospital Universitario Puerto Real. **Material y Métodos:** Se estudió la sensibilidad según criterios EUCAST a CTZ de cepas de *P. aeruginosa* MDR, entre



enero de 2015 y agosto de 2017. Los criterios de multi-resistencia fueron definidos por el *Centers for Disease Control and Prevention*. La sensibilidad antimicrobiana se obtuvo mediante sistema MicroScan® (Beckman Coulter). La sensibilidad a CTZ se determinó mediante tiras de gradiente (Liofilchem®, Werfen). *Resultados*: De 1253 cepas, 7% fueron MDR. Se estudió la sensibilidad de 78

cepas de *P. aeruginosa* MDR, de las cuales cinco (6,4%) resultaron resistentes a CTZ según criterios EUCAST. *Conclusiones*: En nuestro medio la resistencia *in vitro* a CTZ en cepas de *P. aeruginosa* MDR es aproximadamente 6%; CTZ es una opción de tratamiento de infecciones por cepas de *P. aeruginosa* MDR cuando no exista otra alternativa y se haya comprobado su sensibilidad *in vitro*.

Referencias bibliográficas

- 1.- Cantón R, Loza E, Aznar J, Calvo J, Cercenado E, Cisterna R, et al. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms from intraabdominal infections and evolution of isolates with extended spectrum β -lactamases in the SMART study in Spain (2002-2010). *Rev Esp Quimioter* 2011; 24 (4): 223-32. PMID: 22173194.
- 2.- Cabot G, Ocampo-Sosa A A, Tubau F, Macia MD, Rodríguez C, Moya B, et al. Over expression 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: 1906-11. doi: 10.1128/AAC.01645-10.
- 3.- Gómez J, Alcántara M, Simarro E, Martínez B, Ruiz J, Guerra B, et al. Bacteriemias por *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiología, clínica y tratamiento. Estudio prospectivo de siete años. *Rev Esp Quimioter* 2002; 15: 360-5. PMID: 12587042.
- 4.- Casal M M, Causse M, Rodríguez-López F, Casal M. Resistencia antimicrobiana en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Esp Quimioter* 2012; 25 (1): 37-41. PMID: 22987262.
- 5.- Veessenmeyer J L, Hauser A R, Lisboa T, Rello J. *Pseudomonas aeruginosa* virulence and therapy: evolving translational strategies. *Crit Care Med* 2009; 37(5): 1777-86. doi: 10.1097/CCM.0b013e31819ff137.
- 6.- Agnello M, Wong-Beringer A. Differentiation in quinolone resistance by virulence genotype in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One* 2012; 7 (8): e42973. doi: 10.1371/journal.pone.0042973.
- 7.- Shaver C M, Hauser A R. Relative contributions of *Pseudomonas aeruginosa* ExoU, ExoS, and ExoT to virulence in the lung. *Infect Immun* 2004; 72 (12): 6969-77. PMID: 15557619.
- 8.- Díaz Pedroche C, López Medrano F, San Juan Garrido R. Infecciones causadas por *Pseudomonas* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Medicine* 2002; 8: 398-407.
- 9.- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Cultivos de vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente productora de metalo-beta-lactamasa 2007. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap26indice.htm>.
- 10.- Food and Drug Administration (FDA). Accessdata. Zerbaxa (ceftolozane/tazobactam). Lexington, MA: Cubist Pharmaceuticals; December 2014. Disponible en: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/206829lbl.pdf.
- 11.- Agencia Europea del Medicamento (EMA). Ficha Técnica Zerbaxa®. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Product_Information/human/003772/WC500194595.pdf.
- 12.- Zhanel G G, Chung P, Adam H, Zelenitsky S, Denisuk A, Schweizer F, et al. Ceftolozane/tazobactam: a novel cephalosporin/ β -lactamase inhibitor combination with activity against multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Drugs* 2014; 74 (1): 31-51. doi: 10.1007/s40265-013-0168-2.
- 13.- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Informe de Posicionamiento terapéutico. PT-CEFTOLOZANO/TAZOBACTAM/V1/23022016. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/informesPublicos/docs/IPT-ceftolozano-tazobactam-zerbaxa.pdf>.
- 14.- European Committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). Clinical breakpoints 2018, version 0.8. Disponible en: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.0_Breakpoint_Tables.pdf.
- 15.- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 29th edition. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standard Institute; 2019.
- 16.- Magiorakos A P, Srinivasan A, Carey R B, Carmeli Y, Falagas M E, Giske C G, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 (3): 268-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
- 17.- Farrell D J, Sader H S, Flamm R K, Jones R N. Ceftolozane/tazobactam activity tested against Gram-negative bacterial isolates from hospitalized patients with pneumonia in US and European medical centres (2012). *Int J Antimicrob Agents* 2014; 43 (6): 533-9. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.01.032.
- 18.- Tato M, García-Castillo M, Bofarull A M, Cantón R. In vitro activity of ceftolozane/tazobactam against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacteriaceae* recovered in Spanish medical centres: Results of the CENIT study. *Int J Antimicrob Agents* 2015; 46 (5): 502-10. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.07.004
- 19.- Gelfand M S, Cleveland K O. Ceftolozane/tazobactam therapy of respiratory infections due to multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2015; 61 (5): 853-5. doi: 10.1093/cid/civ411.
- 20.- del Barrio-Tofiño E, López-Causapé C, Cabot G, Rivera A, Benito N, Segura C, et al. Genomics and susceptibility profiles of extensively drug-resistant (XDR) *Pseudomonas aeruginosa* from Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61 (11). pii: e01589-17. doi: 10.1128/AAC.01589-17.
- 21.- Humphries R M, Hindler J A, Magnano P, Wong-Beringer A, Tibbetts R, Miller S A. Performance of ceftolozane-tazobactam estab, MIC test strips, and disk diffusion compared to reference broth microdilution for betalactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *J Clin Microbiol* 2018; 56 (3): e01633-17. doi: 10.1128/JCM.01633-17