

UNIVERSIDAD DE CASTILLA LA MANCHA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS

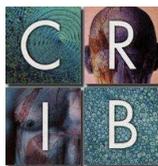


**EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA
INFECCIÓN/COLONIZACIÓN POR *Acinetobacter
baumannii* EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS
DEL HOSPITAL GENERAL LA MANCHA CENTRO DURANTE
LOS AÑOS 2007-2009.**

**Memoria presentada para optar al Grado de Doctor por
MARÍA HUERTAS VAQUERO**

**Directores: Dr. ANTONIO MAS LÓPEZ
Dr. RAFAEL CARRANZA GONZÁLEZ**

ALBACETE, 2014



El **Dr. Antonio Mas López**, Profesor titular de la Facultad de Farmacia y jefe del laboratorio de Virología Molecular del Centro Regional de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Castilla La Mancha, y el **Dr. Rafael Carranza González**, Facultativo Especialista de Área en Microbiología y Parasitología en el Hospital La Mancha Centro

CERTIFICAN

Que la presente Tesis Doctoral titulada **“Epidemiología clínica y microbiológica de la infección/colonización por *Acinetobacter baumannii* en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital General La Mancha Centro durante los años 2007-2009”**, ha sido realizada bajo nuestra dirección por **María Huertas Vaquero** en el Centro Regional de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Castilla La Mancha.

Que consideramos que esta memoria reúne la calidad y el rigor científico necesarios para ser defendida en la Universidad de Castilla La Mancha como requisito para que María Huertas Vaquero aspire al grado de Doctora.

Para que conste donde proceda, firmamos la siguiente autorización:

Albacete, a 9 de Abril de 2014.

Fdo. Rafael Carranza González
Director de tesis

Fdo. Antonio Mas López
Director de tesis

DEDICATORIA

A mi marido Simón, por mostrarme el camino en los malos momentos.

Gracias por entender mis ausencias y compartir este difícil camino. Gracias por tu amor.

Sin tu ayuda nada de esto hubiera sido posible.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi agradecimiento a todas las personas que han hecho posible la realización de esta Tesis Doctoral:

En primer lugar, a mi madre, por su enorme fortaleza, su amor y su apoyo incondicional.

A mi padre, por haber sido siempre un ejemplo de esfuerzo y superación. Gracias por todo lo que haces por mí.

A mi hermana por haberme dado su cariño y apoyo siempre a lo largo de mi vida, y a mi sobrino Álvaro, por traernos una sonrisa en los malos momentos.

A mis abuelos, por haberme cuidado con tanto amor.

A mis suegros y mi cuñada, por haber sido siempre un apoyo fundamental.

A Chema, por su trabajo y colaboración que han sido esenciales para sacar adelante este proyecto. Gracias por tu paciencia y dedicación.

A mis directores de tesis, el Dr. Rafael Carranza, por su motivación, orientación y ayuda que han sido fundamentales para la realización de esta Tesis, y al Dr. Antonio Mas, quién con su apoyo y experiencia ha hecho posible la finalización este trabajo.

A Marián, por aconsejarme y asesorarme en la elaboración de esta tesis.

Al excelente equipo profesional y humano de la UCI del Hospital General La Mancha Centro, al que siempre estaré agradecida.

Al Dr. Juan Antonio Sáez Nieto, del Centro Nacional de Microbiología, por su colaboración en el tipado molecular de las cepas de *A. baumannii* incluidas en este trabajo.

A la Dra. María Carmen Conde García, Farmacéutica del HGLMC, por facilitarnos los datos de consumo de antimicrobianos incluidos en este trabajo.

A mis compañeros del Hospital General Carlos Haya de Málaga por su importancia en mi formación, su amistad y apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida.

La realización de esta tesis doctoral ha sido posible gracias al apoyo de la beca de investigación del Fondo de Investigación Sanitaria de Castilla La Mancha, proyecto FISCAM NOVELES: AN 2010/43.

ÍNDICE

ABREVIATURAS

I. INTRODUCCIÓN.....	11
1. Microbiología.....	14
1.1. Revisión histórica.....	14
1.2. Taxonomía.....	14
1.3. Métodos de identificación.....	16
1.3.1. Identificación fenotípica.....	16
1.3.2. Identificación genotípica.....	17
1.4. Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos.....	18
1.4.1. Mecanismos de resistencia a beta-lactámicos.....	18
1.4.1.a. Mecanismos enzimáticos.....	18
1.4.2.b. Mecanismos no enzimáticos.....	21
1.4.2. Aminoglucósidos.....	22
1.4.3. Quinolonas.....	22
1.4.4. Tetraciclinas y glicilglicinas.....	22
1.4.5. Polimixinas.....	22
1.5. Tasas de resistencia y distribución mundial de la infección por <i>A. baumannii</i>	23
2. Epidemiología.....	27
2.1. Hábitat natural	27
2.2. Reservorio.....	27
2.3. Mecanismo de Transmisión	28
2.4. ¿Por qué <i>A. baumannii</i> es un importante patógeno nosocomial?	28
3. Patogenia.....	30
4. Factores de riesgo y formas de presentación clínicas	33
4.1. Neumonía nosocomial.....	34
4.2. Neumonía adquirida en la comunidad	34
4.3. Bacteriemias.....	35
4.4. Infecciones de piel y partes blandas.....	35
4.5. Infecciones del tracto urinario.....	35
4.6. Infecciones del sistema nervioso central.....	35
4.7. Otras manifestaciones clínicas.....	36
5. Impacto clínico	36

6. Tratamiento de la infección por <i>A. baumannii</i>	38
6.1. Sulbactam.....	39
6.2. Colistina.....	39
6.3. Tigeciclina.....	41
6.4. Terapia combinada.....	41
7. Prevención y medidas de control.....	42
7.1. Medidas de vigilancia y control de brotes hospitalarios por <i>A. baumannii</i>	42
7.1.1. Establecer un sistema de vigilancia de la infección/colonización por <i>A. baumannii</i>	42
7.1.2. Reforzar las medidas barrera para prevenir la transmisión cruzada...	42
7.1.3. Medidas de control de la contaminación medioambiental.....	43
7.1.4. Uso racional de antibióticos.....	43
7.1.5. Formación continuada del personal sanitario para el adecuado cumplimiento de las medidas de control.....	46
7.1.6 Técnicas moleculares de estudio epidemiológico.....	46
II. JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS.....	49
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	51
1. Hipótesis de trabajo.....	52
2. Objetivos.....	53
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	54
1. Ámbito del estudio.....	55
2. Diseño del estudio, metodología y recogida de datos.....	55
2.1 Diseño del estudio.....	55
2.2 Metodología.....	55
2.3 Fuentes de información y recogida de datos.....	59
3. Estrategia de análisis estadístico.....	63
3.1 Fase descriptiva.....	63
3.2 Fase analítica.....	63
V. RESULTADOS.....	66
1. Descripción de la aparición témporo-espacial de casos de infección/colonización por <i>Acinetobacter baumannii</i>	67
1.1. Distribución temporal.....	67

1.2. Incidencia.....	67
1.3. Distribución por camas (boxes).....	70
2. Estudio microbiológico. Identificación y estudio de sensibilidad. Análisis del DNA mediante electroforesis en campo pulsante (PFGE).....	70
3. Análisis descriptivo individual.....	75
4. Factores de riesgo de infección nosocomial, índices de comorbilidad y gravedad.....	75
4.1. Factores de riesgo intrínseco.....	75
4.2. Factores de riesgo extrínseco.....	76
4.3. Comorbilidad e índices de gravedad.....	77
5. Análisis de la presión antibiótica.....	78
5.1. Datos de consumo individual por principio activo.....	78
5.2. Evolución temporal en los consumos globales de antimicrobianos en la UCI.....	81
5.3. Datos de consumo global de antimicrobianos en UCI. Análisis ecológico de la presión antibiótica sobre la aparición de cepas de <i>A. baumannii</i> resistentes (modelos ARIMA).....	86
6. Descripción de los tipos de infección por <i>A. baumannii</i> en pacientes de UCI.....	89
7. Impacto de la infección/ colonización por <i>Acinetobacter baumannii</i>	91
8. Actuaciones seguidas para el control del brote por <i>A. baumannii</i>	92
VI. DISCUSIÓN.....	95
1. Discusión.....	95
2. Limitaciones y puntos fuertes.....	114
3. Implicaciones para la práctica clínica.....	116
4. Recomendaciones para investigaciones futuras.....	117
VII. CONCLUSIONES.....	118
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	120

ABREVIATURAS

AFLP: Estudio del polimorfismo de la longitud de fragmentos amplificados

APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation

ARDRA: Análisis de patrones de restricción de los amplificados de genes ribosomales

ARIMA: Modelos autorregresivos integrados de media móvil

ATC: Anathomical Therapeutic Chemical

BLEE: Beta-lactamasas de espectro extendido

CDC: Centers for Diseases Control

CLS: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMS: Colistimetato de sodio

CNM: Centro Nacional de Microbiología

DDD: Dosis diaria definida

EPINE: Estudio de Prevalencia de Infecciones Nosocomiales en España

ENVIN: Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial

HLMC: Hospital General la Mancha Centro

HR: Hazard Ratio

IBLs: Inhibidor de beta-lactamasas

IC95%: Intervalo de confianza 95%

MALDI-TOF: Espectrometría de masas por ionización con láser asistida por matriz

MB: Metallo-beta-lactamasas

MLST: Multilocus sequence typing

MYSTIC: Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection

NAV: Neumonía asociada a ventilación mecánica

NNIS: National Nosocomial Infection Surveillance

OMV: Vesículas de membrana externa

OR: Odds Ratio

Pbp: Penicillin-binding protein

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

PFGE: Electroforesis en campo pulsante

SNC: Sistema nervioso central

UCI: Unidades de Cuidados Intensivos

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

Acinetobacter baumannii es una bacteria oportunista con una gran capacidad para diseminarse en el ambiente hospitalario y una elevada facilidad para desarrollar resistencia a los antimicrobianos (1). En las últimas décadas *A. baumannii* ha emergido como un patógeno capaz de producir distintos tipos de infecciones nosocomiales, principalmente infecciones respiratorias (neumonía asociada a ventilación mecánica), bacteriemias, meningitis e infecciones de piel y partes blandas (2). Este microorganismo es una causa importante de infecciones especialmente en Unidades de Cuidados Intensivos (UCIs) (3). El riesgo de colonización e infección por *A. baumannii* se asocia a factores tales como la estancia en servicios específicos, el tiempo de hospitalización prolongado, la presencia de enfermedades subyacentes graves, el uso de ventilación mecánica, las intervenciones invasivas (catéteres, sondajes) y la presión antibiótica previa (4,5). La infección/colonización por *A. baumannii* produce un aumento de la morbilidad, de la estancia hospitalaria y del coste asistencial (6), pero su capacidad para causar mortalidad atribuible sigue siendo controvertida (7).

A. baumannii es una bacteria endémica en algunos centros hospitalarios y responsable de numerosos brotes nosocomiales en todo el mundo (8). Esta capacidad de diseminación se debe a distintos factores, entre los que están su elevada capacidad de desarrollar resistencia a los antimicrobianos (se han descrito cepas resistentes a todos los antimicrobianos de uso clínico), de colonizar pacientes y su elevada resistencia a la desecación que le permite sobrevivir largos periodos de tiempo en distintas superficies ambientales (9). En la mayoría de los hospitales el principal reservorio lo constituyen los pacientes colonizados, y las superficies ambientales pueden actuar como un reservorio intermediario (8). El mecanismo de transmisión más común es la transmisión cruzada de persona a persona a través de las manos del personal sanitario, además de la transmisión indirecta desde las superficies contaminadas (ventiladores, humidificadores) (10).

INTRODUCCIÓN

Un estudio multicéntrico español mostró que la mayoría de los hospitales participantes presentaban casos de infección/colonización por este microorganismo (25 de los 28 centros participantes, 89,2%). En este estudio las incidencias eran heterogéneas y como era de esperar las tasas fueron más altas en las UCIs (media 1,96 casos por 1000 pacientes día, rango 0-13,2) (11).

En la última década se ha producido un aumento alarmante a nivel mundial de las tasas de resistencia en *A. baumannii* (12–14). Dentro de las resistencias descritas en *A. baumannii*, particularmente importante es el aumento en los últimos años del porcentaje de resistencia a carbapenemes, grupo de antimicrobianos de amplio espectro considerado como uno de los tratamientos antibióticos más eficaces frente a las infecciones graves por este microorganismo (15). Un estudio multicéntrico español publicado en el año 2010 por Fernández-Cuenca et al., señaló que el 82% de las cepas de *A. baumannii* aisladas fueron resistentes a imipenem (14). La gran capacidad de *A. baumannii* para desarrollar resistencias a los antimicrobianos contribuye a la dificultad en el control de brotes por este microorganismo al mismo tiempo que limita en gran medida las opciones terapéuticas adecuadas para el tratamiento de las infecciones graves que produce (16).

Cabe destacar que *A. baumannii* es considerado uno de los microorganismos más difíciles de controlar en el ámbito hospitalario (17,18). Tanto el uso de paquetes de medidas como la formación continua son medidas necesarias para mejorar la seguridad de los pacientes (19).

1. MICROBIOLOGÍA

1.1. Revisión histórica

En 1911, Beijerinck describió por primera vez un microorganismo al que llamó *Micrococcus calcoaceticus* que fue aislado del suelo tras enriquecerlo con un medio de calcio-acetato (9). Posteriormente, en 1954 Brisou y Prévot propusieron la designación del género *Acinetobacter* para diferenciarlo de *Achromobacter* basándose en sus características de movilidad (20). Años después en 1971 se produjo el reconocimiento oficial del género *Acinetobacter* por el Subcomité de Taxonomía de bacterias *Moraxella* y Afines (21), apareciendo una única especie denominada *Acinetobacter calcoaceticus* en la edición del Manual de Bergey de Bacteriología sistemática de 1974 (22).

1.2. Taxonomía

Los miembros del género *Acinetobacter* son cocobacilos gram negativos, aerobios, no fermentadores de glucosa, inmóviles, catalasa positiva y oxidasa negativos. Recientemente se ha propuesto que los miembros del género *Acinetobacter* deben clasificarse en la familia *Moraxellaceae* dentro del orden *Gammaproteobacteria*, que incluye los géneros *Moraxella*, *Acinetobacter* y *Psychrobacter* (9). En 1986 basándose en estudios de hibridación ADN-ADN, Bouvet y Grimont, distinguieron 12 grupos (genoespecies o especies genómicas), a algunas de las cuales se les dieron nombres formales de especies, incluyendo *A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii* y *A. lwoffii* (9). En 1989 Tjernberg y Ursing describieron otros tres grupos de DNA codificados con el nº 13 a 15 y simultáneamente Bouvet y Jeanjean describieron 5 grupos DNA de *Acinetobacter* que enumeraron del 13 al 17 (tabla 1). En la actualidad existen más de 25 genoespecies descritas dentro del género *Acinetobacter* (23).

Tabla 1. Especies genómicas y nombres formales de especies del género *Acinetobacter* según estudios de homología del DNA basado en los trabajos de Bouvet y de Tjernberg y Ursing (2,9).

Especies	Bouvet	Tjernber y Ursing
<i>A. calcoaceticus</i>	1	1
<i>A. baumannii</i>	2	2
Sin nombre	3	3
Sin nombre	NA	13TU
<i>A. haemolyticus</i>	4	4
<i>A. junii</i>	5	5
Sin nombre	6	6
<i>A. johnsonii</i>	7	7
<i>A. lwoffii</i>	8	8TU
Sin nombre	9	8TU
<i>Sin nombre</i>	10	10
Sin nombre	11	11
<i>A. radioresistens</i>	12	12
Sin nombre	13	14TU
Sin nombre	14	NP
Sin nombre	15	NP
Sin nombre	16	NA
Sin nombre	17	NP
Sin nombre	NP	15TU
<i>A. baylyi</i>		
<i>A. bouvetii</i>		
<i>A. gernerii</i>		
<i>A. grimontii</i>		
<i>A. parvus</i>		
<i>A. schindleri</i>		
<i>A. tandoii</i>		
<i>A. tjernbergiae</i>		
<i>A. townneri</i>		
<i>A. ursingii</i>		
" <i>A. venetianus</i> "		

NA (no agrupable), NP (no probado).

Inicialmente se propuso el término *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex* para referirse a cuatro especies: *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *Acinetobacter* *genoespecie 3* y *Acinetobacter* *genoespecie 13TU*. Estas especies están estrechamente relacionadas y son muy difíciles de distinguir por métodos de identificación basándose únicamente en sus características fenotípicas, lo que hizo que se agruparan dentro del citado complejo. Sin embargo, esta designación no es adecuada si se utiliza en un contexto clínico siendo más apropiado usar el término grupo *A. baumannii* o *A. baumannii complex* (9). Esta denominación refleja mejor el hecho de que este grupo de microorganismos comprende las tres especies clínicamente más relevantes (*A. baumannii*, *Acinetobacter* *genoespecie 3* y *Acinetobacter* *genoespecie 13TU*) ya que *A. calcoaceticus* es una especie ambiental y no debería dar nombre al complejo (9). Las tres especies citadas, *A. baumannii*, *Acinetobacter* *genoespecie 3* y *Acinetobacter* *genoespecie 13TU*, comparten características clínicas y epidemiológicas (24,25).

1.3. Métodos de identificación

1.3.1. Identificación fenotípica

Fenotípicamente *Acinetobacter* sp. puede identificarse inicialmente a nivel de género como un bacilo gram negativo, no fermentador de glucosa, oxidasa negativa, catalasa positiva e inmóvil. Las especies que componen este género crecen en los medios de cultivo, como Columbia agar sangre en condiciones de aerobiosis y a una temperatura de incubación de 37° C. Para facilitar el aislamiento de *Acinetobacter* sp. a partir de muestras con flora polimicrobiana se recomienda el medio Leeds *Acinetobacter* (26), muy utilizado en los estudios de colonización de los programas de vigilancia epidemiológica nosocomial.

Bouvet y Grimont propusieron en 1986 un esquema de identificación fenotípica basado en 28 ensayos (27). Los mismos autores un año después completaron dicho esquema incluyendo nuevas pruebas como el crecimiento a distintas temperaturas (37, 41 y 44° C), la producción de ácido a partir de glucosa, la hidrólisis de gelatina y la

asimilación de 14 fuentes de carbono diferentes (28). Sin embargo, se trata de un método laborioso y normalmente sólo disponible en centros de referencia.

En cuanto a la identificación fenotípica a nivel de especie, dentro del género *Acinetobacter* no es posible diferenciar entre los tres miembros clínicamente relevantes del complejo *A. baumannii* con los métodos comerciales (sistemas manuales y automatizados) que se utilizan actualmente en el laboratorio de microbiología clínica, tales como la galería API 20NE y los analizadores automáticos Vitek 2, Phoenix y sistemas MicroScan Walkaway. De este modo *A. baumannii*, *Acinetobacter* sp. *genoespecie* 3 y *Acinetobacter genoespecie* 13TU son identificados como *A. baumannii* o *A. baumannii* complex por estos sistemas comerciales de identificación fenotípica (9).

1.3.2. Identificación genotípica

Los métodos de identificación molecular son más exactos en la identificación de las distintas especies de *Acinetobacter* y han contribuido a una mejor comprensión de la epidemiología y la importancia clínica de dichas especies durante los últimos años. Estas técnicas son demasiado laboriosas para ser aplicadas en el diagnóstico rutinario en microbiología, por lo que principalmente su uso por el momento se limita a laboratorios de referencia.

Se han desarrollado distintos métodos moleculares para la identificación de *Acinetobacter* sp. De ellos, el análisis de los patrones de restricción de los amplificadores de los genes ribosomales (ARDRA) y el estudio del polimorfismo de la longitud de fragmentos amplificados (AFLP) son los métodos de referencia más ampliamente aceptados (29). Otros de estos métodos desarrollados recientemente son la detección del gen de la carbapenemasa *bla*_{OXA-51} (intrínseco de la especie *A. baumannii*) (30), la PCR ionización por electrospray y espectrometría de masas (PCR-ESI-MS) (31), la espectrometría de masas por desorción/ionización con láser asistida por matriz

(MALDI-TOF) (9) y una técnica de PCR que estudia el gen *gyrB* diferenciando entre *A. baumannii* y *Acinetobacter* 13TU (32).

Desde un punto de vista clínico y de control de la infección nosocomial, la identificación a nivel de especie puede no ser necesaria en la práctica diaria, siendo suficiente distinguir entre el grupo *A. baumannii* y las especies fuera de este, que son generalmente más sensibles y producen infecciones menos graves. Por el contrario, desde el punto de vista de la investigación clínica, son necesarios estudios que empleen métodos moleculares de identificación para aumentar el conocimiento sobre la epidemiología, patogenia y clínica de las distintas especies de este complejo género, incluyendo aquellos métodos que sean capaces de diferenciar entre las distintas especies del grupo *A. baumannii* (9), como los utilizados en nuestro trabajo.

1.4. Mecanismos de resistencia a los antimicrobianos

A. baumannii posee una elevada capacidad para desarrollar resistencias a los antimicrobianos, característica que contribuye a la dificultad en el control de brotes por este microorganismo y a encontrar opciones terapéuticas adecuadas para el tratamiento de las infecciones graves que produce (16). *A. baumannii* puede adquirir genes de resistencia procedentes de otros microorganismos, desarrollar mutaciones espontáneas y/o seleccionar subpoblaciones resistentes bajo presión antibiótica selectiva. Estas tres posibilidades no son excluyentes y pueden coexistir, lo que dificulta el estudio e interpretación de las resistencias en este microorganismo (33).

1.4.1. Mecanismos de resistencia a beta-lactámicos

1.4.1.a. Mecanismos enzimáticos

El mecanismo más frecuente de resistencia a beta-lactámicos en *A. baumannii* es la inactivación enzimática por distintos tipos de beta-lactamasas:

- **Cefalosporinas cromosómicas tipo AmpC:** son enzimas intrínsecas a todas las cepas de *A. baumannii* y no tienen carácter inducible (34). Esta cefalosporinasa cromosómica tipo AmpC, también denominada ADC (Acinetobacter derived cephalosporinase), es el mecanismo más frecuente de resistencia a betalactámicos (35). Esta enzima se expresa a bajo nivel y en estos casos no confiere resistencia a ceftazidima. La sobreexpresión del gen *bla_{ampC}*, que codifica este enzima, se relaciona con la presencia de una secuencia de inserción (ISAba1) en el promotor de este gen (35,36). La presencia de este elemento de inserción se correlaciona con el aumento de expresión del gen *bla_{ampC}* y la resistencia a las cefalosporinas de amplio espectro (36,37) y cefepime sin afectar a los carbapenemes (38).

- **Beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE):** en *A. baumannii* se han descrito VEB-1, PER-1, PER-2, TEM-92, TEM-116, 12-SHV, CTX-M-2 y CTX-M-43, cuya actividad se extiende a cefepime además de cefalosporinas de amplio espectro, aunque no afecta a carbapenemes (9).

- **Carbapenemasas:** presentan actividad hidrolizante sobre carbapenemes y en los últimos años ha aumentado el número de cepas de *A. baumannii* productoras de este tipo de enzimas, siendo actualmente las más importantes:
 - o **Oxacilinasas** (tipo OXA, clase D de Ambler) son las más frecuentes. En 1985 en Edimburgo se aisló por primera vez una cepa de *A. baumannii* con enzimas tipo OXA con actividad hidrolizante sobre carbapenemes (39). El gen que codifica esta enzima se denominó *bla_{OXA-23}* y se observó que esta resistencia estaba mediada por plásmidos y era transferible. Este tipo de enzima (OXA-23) hoy en día contribuye a la diseminación de la resistencia a carbapenemes en *A. baumannii* en todo el mundo (9). Dos variantes de esta OXA-23 son las enzimas OXA-27 y OXA-49, también codificadas por el grupo de genes *bla_{OXA-23}* (40). Posteriormente la enzima OXA-24 fue descrita en España en una cepa resistente a carbapenemes y representó un segundo subgrupo de estas enzimas

(41). Son codificadas por el grupo de genes *bla*_{OXA-24} que también codifica la OXA-25, 26 y 40 (9). Un tercer grupo de beta-lactamasas tipo OXA se describió en cepas de *A. baumannii* resistente a carbapenemes aisladas en Argentina y se denominaron OXA-51 (42). El grupo de genes *bla*_{OXA-51} codifica las enzimas OXA-51, 64, 65, 66, 68, 69, 70, 71, 78, 79, 80, 82 y 143 y es el único de origen cromosómico (no adquirido) en *A. baumannii*, localizándose en el cromosoma bacteriano (9). Este grupo de genes confiere resistencia a carbapenemes en *A. baumannii* sólo en presencia de la secuencia de inserción *ISAbal* en su promotor (43). La enzima OXA-51/69 se encuentra en todas las cepas de *A. baumannii* estudiadas (35). Un cuarto grupo de genes con actividad carbapenemasa es el *bla*_{OXA58}, descrito por primera vez en Francia (44), que codifica la enzima OXA-58 y que junto con el *bla*_{OXA-23} son los únicos mediados por plásmidos, lo que puede explicar su amplia distribución mundial (9).

Distintos trabajos han señalado la importancia de los elementos de inserción IS en la expresión de la resistencia a carbapenemes asociada a enzimas tipo OXA en *A. baumannii* (45). Estos elementos IS tienen dos características esenciales: en primer lugar son elementos móviles, lo que facilita su transmisión y en segundo lugar, pueden contener regiones promotoras que conducen a la sobreexpresión de los determinantes de resistencia (9). Principalmente se han descrito asociados al gen *bla*_{OXA-23} (45), *bla*_{OXA-58} (46) y *bla*_{OXA-51}; en estos casos su asociación puede promover la resistencia a carbapenemes (47). El *ISAbal* no se ha aislado en otros microorganismos y parece único de *A. baumannii* (48). Los elementos IS también son importantes para la expresión de la resistencia a otros antibióticos en *A. baumannii* (9).

- **Metalo-beta-lactamasas (MBL) (clase B de Ambler)**. Las enzimas tipo MBL son menos frecuentes en *A. baumannii* que las carbapenemasas tipo OXA pero su actividad hidrolítica sobre carbapenémicos es más

potente (43). Estas enzimas hidrolizan todos los beta-lactámicos excepto el aztreonam y confieren resistencia no inhibible por el ácido clavulánico, aunque sí con el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético). De los cinco grupos de MBL descritos hasta la fecha, sólo tres han sido identificados en *A. baumannii*, incluyendo IMP, VIM y SIM (9). Las MBL se encuentran en integrones, que son estructuras genéticas especializadas en facilitar la adquisición y expresión de los determinantes de resistencia a través de un promotor común y se localizan dentro de plásmidos o transposones que actúan como vehículos de la diseminación de resistencias (9). La mayoría de los genes de MBL adquiridos en *A. baumannii* se han encontrado dentro de integrones clase 1 que a menudo contienen una serie de casetes de genes de resistencia que también afectan a otros antimicrobianos (49). La significación clínica de esta estructura genética es que el uso excesivo de un antimicrobiano puede dar lugar a la sobreexpresión de múltiples determinantes de resistencia como consecuencia de un promotor común (9).

1.4.1.b. Mecanismos no enzimáticos

La resistencia a Beta-lactámicos también puede deberse a mecanismos no enzimáticos, tales como cambios o pérdidas de las proteínas de la membrana externa (OMPs), bombas de eflujo a múltiples fármacos y las alteraciones en la afinidad de las proteínas de unión a penicilina. De todos ellos, la resistencia debida a la bomba AdeABC, de codificación cromosómica, es la mejor estudiada y actúa sobre beta-lactámicos (incluyendo carbapenemes), aminoglucósidos, eritromicina, cloranfenicol, tetraciclinas, fluoroquinolonas y trimetoprim (9).

1.4.2. Aminoglucósidos

En *A. baumannii* se han descrito acetiltransferasas, nucleotidiltransferasas y fosfotransferasas que se asocian a la resistencia a este grupo de antimicrobianos. Además de la bomba de eflujo AdeABC (50), los aminoglucósidos son también sustratos de otra bomba de expulsión denominada bomba de eflujo AbeM (51).

1.4.3. Quinolonas

En *A. baumannii* se han descrito resistencias a este grupo de antimicrobianos por modificaciones de la ADN girasa o la topoisomerasa IV, debidas a mutaciones en los genes *gyrA* y *parC* (52). Las quinolonas también se ven afectadas por las bombas de eflujo a múltiples fármacos, incluida la bomba AdeABC y la bomba AdeM (51).

1.4.4. Tetraciclinas y glicilciclinas

La resistencia a este grupo de antimicrobianos puede ser mediada por bombas de eflujo, como las codificadas por los determinantes *tet* (A) y *tet* (B) (53) que son bombas de eflujo específicas de tetraciclinas para *A. baumannii*. Además, también son susceptibles a los sistemas de eflujo de múltiples fármacos como la bomba AdeABC (54).

1.4.5. Polimixinas

La colistina es considerada como opción terapéutica para cepas de *A. baumannii* multirresistente. Lamentablemente, ya se han descrito cepas resistentes a la colistina en todo el mundo. La mayor tasa de resistencia se registró en Asia, seguida de Europa (9). En *A. baumannii* se ha descrito heterorresistencia a colistina, aunque son necesarios nuevos estudios para determinar el significado clínico de estos aislamientos (55). Este fenómeno consiste en la presencia de subpoblaciones resistentes minoritarias dentro una población sensible y puede detectarse fenotípicamente por el crecimiento de colonias en el interior del halo de inhibición de discos de antimicrobianos o tiras de E-test aunque no puede detectarse por técnicas de microdilución en caldo. La tasa de heterorresistencia es generalmente más alta que la

tasa de cepas resistentes, y el mecanismo de resistencia propuesto podría ser la pérdida del lipopolisacárido y/o el sistema de PmrAB (56).

También se ha descrito el fenómeno de heterorresistencia a carbapenemes en *A. baumannii*, publicado por primera vez en 2005 por Pournaras et al (57). Actualmente se desconoce cuál es la causa así como los mecanismos de resistencia implicados en este fenómeno y no existe experiencia sobre la utilidad clínica de carbapenemes en infecciones causadas por estas cepas de *A. baumannii* heterorresistente (1). Este fenotipo de resistencia debe ser detectado en el laboratorio, puesto que estas subpoblaciones podrían seleccionarse en el curso del tratamiento antimicrobiano pudiendo producir un fracaso terapéutico (1,55).

1.5. Tasas de resistencia y distribución mundial de la infección por *A. baumannii*

En la última década se ha producido un aumento alarmante a nivel mundial de las tasas de resistencia en *A. baumannii* (12–14). Particularmente importante es el aumento en los últimos años del porcentaje de resistencia a carbapenemes (15).

Los datos de un estudio multicéntrico español realizado por Fernández-Cuenca et al. en el año 2000, señalan que el 41,2% de las cepas de *A. baumannii* aisladas fueron resistentes a imipenem (16). Estos mismos autores repitieron el estudio en el año 2010, encontrando un incremento del porcentaje de resistencias a carbapenémicos, en concreto un 82% de aislados fueron resistentes a imipenem y un 83% a meropenem (14). En comparación con su primer estudio, estos autores hallan aislados de *A. baumannii* más resistentes ($p < 0,01$) a ceftazidima (99% vs. 83%), carbapenémicos (82-86% vs. 43-48%), sulbactam (65% vs. 53%) y colistina (3% vs. 0%), aunque mostraron una mayor sensibilidad a los aminoglucósidos (gentamicina: 70% vs. 96%), tetraciclinas (83% vs. 91%) y rifampicina (30% vs. 51%) (14). El porcentaje de cepas resistentes a tigeciclina en el estudio del año 2010 fue del 24% y a cirpofloxacino del 94%. Finalmente, el estudio concluye que el antimicrobiano con mejor actividad frente a *A. baumannii* sigue siendo colistina.

INTRODUCCIÓN

Desde mediados de los años 90 las infecciones hospitalarias por *A. baumannii* han aumentado considerablemente en los hospitales españoles (58). Este hecho se detectó especialmente entre los pacientes ingresados en las UCIs (59). Como muestra un estudio multicéntrico español, publicado por Rodríguez-Baño et al., la mayoría de hospitales participantes presentaron casos de infección por este microorganismo, aunque las incidencias fueron heterogéneas y las tasas fueron más altas en las UCIs (media de 1,96 casos por 1000 pacientes día, rango 0-13,2) (11).

A nivel europeo se han descrito brotes nosocomiales de infecciones por *A. baumannii* en distintos países como Inglaterra, Francia, Alemania, Italia, España y los Países Bajos (2,5,8). Se ha observado la transmisión de este microorganismo entre distintos servicios, distintos hospitales a nivel nacional o incluso entre distintos países, probablemente a través de la transferencia de pacientes colonizados (9). Ejemplos de ello son la expansión de un clon de *A. baumannii* resistente a carbapenemes en Inglaterra (60), la diseminación de un clon multirresistente en Portugal (61), la propagación de un clon productor de BLEE VEB-1 en Francia (62), y la extensión de un clon resistente a amikacina en España (63).

Además de estos brotes interinstitucionales, tres clones internacionales de *A. baumannii* (los Clones Europeos denominados I, II y III) se han detectado en los hospitales del norte y centro de Europa (incluidos Bélgica, Dinamarca, República Checa, Francia, Países Bajos y Reino Unido), así como en los hospitales del sur de Europa (Italia, España, Grecia y Turquía) y también en Europa del Este. La relación epidemiológica de estos clones fue inicialmente detectada por AFLP y confirmada por ribotipificación, electroforesis de campo pulsado (PFGE) y por MLST, pero no pudo establecerse ningún vínculo epidemiológico en el tiempo o en el espacio entre los brotes por los Clones Europeos en los diferentes hospitales que se vieron afectados (9).

La propagación intercontinental de *A. baumannii* multirresistente también se ha descrito entre Europa y otros países, como consecuencia de los viajes en avión (64). Estos hechos evidencian la importancia de la detección y posible aislamiento de

pacientes colonizados/infectados por *A. baumannii* trasladados desde los países con tasas elevadas de microorganismos multirresistentes (9).

La resistencia a carbapenémicos en *A. baumannii* es hoy en día un problema que afecta a muchos países europeos (65). El programa MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) es un estudio longitudinal multicéntrico de vigilancia antimicrobiana que examina la actividad de meropenem y otros antimicrobianos de amplio espectro frente a distintos microorganismos tanto en Europa como en EEUU. En el informe del año 2007 del programa MYSTIC realizado en Europa donde se incluyen 40 centros de distintos países europeos, el porcentaje de resistencias en *Acinetobacter* sp. fue: meropenem 36,8%, imipenem 27,8%, ceftazidima 56,4%, cefepime 47,4%, piperacilina/tazobactam 55,6%, gentamicina 45,9%, tobramicina 37,6%, ciprofloxacino 60,9% y levofloxacino 59,4% (12). Una revisión publicada en el año 2012, que detalla por países las resistencias europeas a carbapenemes en *A. baumannii* sitúa las tasas más altas en Turquía (50–80%), Grecia (85%), Italia (60%), España (45%) e Inglaterra (55%) y las más bajas en Francia (10–20%), Alemania (8%) y Suecia (4%) (43). Las cepas resistentes a carbapenemes en Europa parecen tener un comportamiento epidémico en los países del norte y endémico en ciertos países del área mediterránea (15).

En EEUU se han detectado numerosos brotes nosocomiales por *A. baumannii*. Entre 1991 y 1992 se describieron brotes por este microorganismo en Nueva York (66). Los datos del Sistema Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial (National Nosocomial Infection Surveillance o NNIS) indican un aumento de este patógeno como causa de infección nosocomial en UCI, detectando un aumento significativo de las neumonías por *A. baumannii* que aumentaron del 4% en 1986 al 7% en 2003 (67). En cuanto a las tasas de resistencias en este país, el informe del año 2008 del programa MYSTIC en EEUU muestra un porcentaje de resistencias en *Acinetobacter* a meropenem del 57,4%, imipenem 47,9%, ceftazidima 68,1%, cefepime 62,8%, piperacilina/tazobactam 69,1%, tobramicina 40,4%, ciprofloxacino 73,4% y levofloxacino 64,9% (68).

INTRODUCCIÓN

En América Latina las tasas de infección/colonización por *Acinetobacter* sp. resistente a imipenem aumentaron en Argentina, Brasil y Chile de 6,4%, 12,6% y 0,0% en el período 1997-1999 a 84,9%, 71,4% y 50,0% en el período 2008-2010, respectivamente (69,70). Se han documentado cepas productoras de oxacilinasas en Argentina (OXA-23 y -24), Brasil (OXA-23), Chile (OXA-58), y México (OXA-24) (70).

En Asia y Oriente Medio, se han documentado numerosos brotes de *A. baumannii* panresistente y se ha descrito que algunas carbapenemasas se originaron allí (71).

En Australia se han publicado infecciones adquiridas en la comunidad (72) con una epidemiología muy diferente de la observada en las nosocomiales. También se han descrito brotes hospitalarios en el oeste de Australia y más recientemente a lo largo de la costa oriental, los cuales han involucrado cepas de *A. baumannii* resistentes a carbapenemes portadoras de OXA-23 (73).

En África, donde existen menos publicaciones sobre este tema, un trabajo ha señalado que alrededor del 30% de los aislamientos de *A. baumannii* en hemocultivos son resistentes a carbapenemes (74).

Un dato especialmente alarmante en relación con *A. baumannii* es la emergencia en la última década de cepas multirresistentes (17,75), tanto por la presión antibiótica selectiva por el uso de antimicrobianos de amplio espectro como por la transmisión de cepas resistentes entre pacientes (33). Aunque el concepto de multirresistencia en *A. baumannii* aparece con distintas definiciones en la literatura, para este trabajo la hemos definido como la resistencia a al menos un agente de tres o más de las siguientes clases de antimicrobianos: cefalosporinas de amplio espectro (ceftazidima o cefepima), carbapenemes (imipenem o meropenem), ampicilina/sulbactam, penicilinas antipseudomónicas-inhibidor beta-lactamasas (piperacilina-tazobactam), fluoroquinolonas (ciprofloxacina o levofloxacina), aminoglucósidos (gentamicina, tobramicina o amikacina), colistina y tetraciclinas (76). En los últimos años el problema de la resistencia se ha agravado aún más con la aparición de cepas panresistentes (77). Para este trabajo se ha definido la panresistencia como la resistencia a todos los

antimicrobianos de todas las categorías anteriormente detalladas (76). Los datos publicados por Fernández-Cuenca et al. a partir del estudio multicéntrico español del año 2010 señalan que el 94% de los aislados de *A. baumannii* fueron multirresistentes y de éstos sólo un 2% fueron clasificados como panresistentes. Afortunadamente la tasa de cepas de *Acinetobacter* sp. resistentes a colistina (polimixina E) y polimixina B sigue siendo muy baja: 0,9% y 0,4 % respectivamente en Europa, 2% y 1,1% en América del Norte, 1,7% y 0,7% en la región Asia-Pacífico y 1,1% y 0,9% en América Latina (9).

2. EPIDEMIOLOGÍA

2.1. Hábitat natural

En los últimos años se ha producido un aumento de las infecciones y colonizaciones por *A. baumannii* en pacientes hospitalizados, situándose como un importante patógeno nosocomial especialmente en las UCIs. Hasta entonces los miembros del género *Acinetobacter* eran microorganismos ubicuos en la naturaleza sin prácticamente relevancia clínica (9).

2.2. Reservorio

El reservorio principal es el paciente infectado o colonizado por *A. baumannii*, especialmente en el tracto digestivo y la piel. El medio ambiente funciona como reservorio intermediario; este microorganismo se ha aislado en distintos objetos (mesas, carpetas de historias, fonendoscopios, teléfonos) o superficies de un hospital. En algunos brotes, el reservorio de la infección ha sido el material sanitario contaminado (respiradores, humidificadores, líquido de dializado) (8).

2.3. Mecanismo de transmisión

La transmisión cruzada a través de las manos del personal sanitario es el principal mecanismo transmisor de *A. baumannii* en la infección nosocomial. La relevancia del personal sanitario de las UCIs como portadores transitorios que facilitan la transmisión

cruzada a través de sus manos se ha demostrado en distintos estudios (78). Prevenir la transmisión cruzada es fundamental para controlar la extensión y persistencia de brotes por *A. baumannii* (79).

2.4 ¿Por qué *A. baumannii* es un importante patógeno nosocomial?

Esta bacteria se ha convertido en las dos últimas décadas en uno de los patógenos nosocomiales más importantes, y es la causa de numerosos brotes epidémicos en hospitales de todo el mundo, afectando especialmente a pacientes ingresados en UCI (80). Esta facultad se debe a distintos factores, entre los que destacan las siguientes características:

- **Capacidad de colonizar pacientes.** La colonización por *A. baumannii* en la población general es rara (colonización cutánea menor del 5% y raro en tracto respiratorio y digestivo), sin embargo en pacientes hospitalizados aumenta (colonización faríngea entre el 7-18%). En caso de brotes existe mayor riesgo en pacientes graves y debilitados, con un alto nivel de colonización de piel y mucosas: faringe, tracto respiratorio y tracto digestivo (2).
- **Capacidad de supervivencia en el medioambiente.** Tiene una elevada capacidad para sobrevivir en el medio externo, mostrando gran resistencia a la desecación. Un estudio que evaluó la tolerancia de *A. baumannii* a la desecación encontró que el tiempo de supervivencia media fue de 27 días (81). Puede igualmente sobrevivir durante días a diferentes temperaturas y pH. Estas características le facilitan la colonización del mobiliario hospitalario que puede actuar como reservorio intermedio entre un caso índice y nuevos pacientes. Aunque se ha especulado sobre si la resistencia a los desinfectantes puede contribuir a la capacidad epidémica de este microorganismo, la asociación entre la resistencia a los biocidas y la propagación epidémica no se ha estudiado suficientemente (9). Un trabajo publicado sobre la actividad in vitro de varios desinfectantes con cepas esporádicas y epidémicas de *A. baumannii* (82) encontró que la resistencia a los desinfectantes no es un factor importante

que favorezca la propagación epidémica de *A. baumannii*, ya que todos los desinfectantes inhibieron el crecimiento de los aislamientos de *A. baumannii* cuando se utilizaron las concentraciones y el tiempo de contacto recomendado por el fabricante. Sin embargo, persistió un número de bacterias viables cuando los tiempos de contacto eran de menos de 30 segundos o si los agentes utilizados fueron diluidos.

- **Capacidad de desarrollar resistencias a los antimicrobianos.** *A. baumannii* tiene gran capacidad para desarrollar resistencias a los antimicrobianos, habiéndose descrito cepas resistentes a todos los antimicrobianos de uso clínico. *A. baumannii* presenta una gran facilidad para intercambiar material genético (plásmidos, transposones, integrones, secuencias de inserción). La aparición de estas cepas multirresistentes se da especialmente en las UCIs. Distintos factores facilitan la aparición de *A. baumannii* multirresistente en estas unidades: la presión antimicrobiana debido al elevado consumo de antimicrobianos en estos servicios, la alta densidad de pacientes y gran cantidad de personal sanitario que facilita la transmisión a través de las manos. Existen varios trabajos que demuestran que las tasas de resistencia en cepas epidémicas de *A. baumannii* son significativamente más altas que en las cepas aisladas de casos esporádicos (83–85). En este sentido, el estudio de Heinemann et al. señaló que la resistencia a las fluoroquinolonas se asociaba con un comportamiento epidémico en este microorganismo (83). Igualmente, la aparición de *A. baumannii* resistentes a carbapenemes se asoció también con brotes epidémicos hospitalarios (60,86). Se ha sugerido que el fenotipo de resistencia a los antimicrobianos puede servir para reconocer una cepa potencialmente epidémica y que cualquier aislamiento clínico de *A. baumannii* con resistencia a múltiples antibióticos indicaría el riesgo de que exista una cepa capaz de producir un brote epidémico nosocomial (85).

3. PATOGENIA

Como hemos visto anteriormente, *A. baumannii* es un patógeno oportunista que posee una gran capacidad para diseminarse en el ambiente hospitalario y una elevada facilidad para desarrollar resistencia a los antimicrobianos (2). La gravedad de la infección que produce depende del sitio de la infección, la susceptibilidad del paciente a la infección como resultado de su enfermedad de base y la disponibilidad de un tratamiento antimicrobiano efectivo para la cepa en cuestión (87). Aunque en la década de los años 60 incluso fue ignorado cuando se aislaba en muestras clínicas (87), *A. baumannii* se ha convertido en uno de los patógenos nosocomiales más importantes (5).

La infección por *Acinetobacter sp.* se encuentra estrechamente relacionada con la cirugía previa o con el uso de dispositivos invasivos y en la mayoría de los casos la colonización por este microorganismo precede a la infección (87). Este proceso está influenciado por diversos factores, en particular en unidades de cuidados intensivos donde los pacientes están sometidos a múltiples procedimientos invasivos como el uso de tubos endotraqueales y catéteres intravasculares, ventriculares o urinarios, que pueden dar lugar a la colonización por bacterias oportunistas, siendo importante tanto la presencia como la duración de estos procedimientos invasivos (87). También se ha descrito que la proliferación bacteriana de *Acinetobacter sp.* en el estómago de los pacientes puede conducir al desarrollo de neumonía o bacteriemia por este microorganismo y que este proceso ocurre en situaciones en las que se reduce la secreción de ácido en el estómago, como ocurre en muchos pacientes de UCI (87).

Estudios del genoma de *A. baumannii* han demostrado la presencia de islas genéticas de patogenicidad, además de una amplia gama de determinantes de resistencia a fármacos (88). Algunos de los genes identificados que codifican la resistencia a los antibióticos y antisépticos probablemente se originara en otros microorganismos patógenos, como *Pseudomonas sp.*, *Salmonella sp.* y *E. coli*; esto implica que puede ser posible la transferencia genética de determinantes de virulencia (9).

INTRODUCCIÓN

Además de la multirresistencia, algunas características de esta bacteria pueden contribuir a aumentar la virulencia en las cepas causantes de infecciones, entre las que destacan las siguientes (79):

a) El **LPS** (lipopolisacárido) de la membrana externa de las bacterias gram negativas que contribuye a la patogenicidad de *A. baumannii* activando la respuesta inflamatoria y facilitando la evasión del sistema inmune.

b) Los polisacáridos **cápsulares** que hacen a la bacteria más hidrofílica y bloquean el acceso del complemento a la pared celular microbiana evitando la activación de la vía alternativa facilitando la evasión del sistema inmune (87). Russo et al. (89) mediante el estudio de mutantes de *A. baumannii* determinaron la importancia de los genes *ptk* y *epsA* en la formación de la cápsula y la participación de ésta en la patogénesis de *A. baumannii*.

c) Las **Pbp** (penicillin-binding protein) son enzimas relacionadas con la biosíntesis de peptidoglicano, componente principal de la pared celular bacteriana, y también se asocian con los complejos de la morfogénesis celular y la división celular (90). Russo et al. (91) estudiaron la implicación de la pbp 7/8 en la patogénesis de las infecciones producidas por *A. baumannii*. Gracias a estudios de mutantes del gen *pbpG* que codifica para estas proteínas demostraron que los defectos en la síntesis de peptidoglicano se traducen en mayor susceptibilidad a los efectos de las defensas del hospedador. La PBP-7/8 contribuye ya sea directamente o indirectamente a la resistencia al suero.

d) Las **OMPs** (proteínas de membrana externa) como la **OmpA**. Es una de las principales proteínas de superficie en este género y tiene un importante papel en la permeabilidad de la membrana externa a antibióticos. Esta proteína también se ha visto que desempeña funciones importantes en la patogénesis de *A. baumannii* induciendo la muerte celular (90). Participa en la adherencia, la formación de biofilms y en la invasión de células epiteliales.

e) Las **Vesículas secretadas por la membrana externa (OMVs)**. Algunas especies de bacterias gram negativas secretan OMVs durante la fase de crecimiento bacteriano (90). Estas vesículas participan en la secreción de distintas moléculas como fosfolípidos, proteínas, LPS y algunos factores de virulencia (como la OmpA). Facilitan la evasión del sistema inmune.

f) La capacidad de formar **biofilms**. Durante la colonización del huésped, las bacterias pueden formar microcolonias que dan lugar a una comunidad microbiana estructurada, llamada biofilm (90). El biofilm es un ecosistema microbiano organizado en el que los microorganismos se asocian a una superficie viva o inerte, encerrados en una matriz extracelular adhesiva polimérica (compuesta de hidratos de carbono, ácidos nucleicos, proteínas, y otras macromoléculas) con características funcionales y estructuras complejas (90). Este biofilm constituye un mecanismo de protección para el microorganismo que le permite sobrevivir en ambientes hostiles (como en condiciones de desecación) y le facilita causar infección. Las bacterias que forman parte de biofilms son además más resistentes a los antibióticos y por lo tanto la capacidad de generar biofilms representa un importante factor de virulencia.

g) Las **Enzimas hidrolíticas** como las Fosfolipasa D y Fosfolipasa C encargadas de la escisión de fosfolípidos, facilitan la invasión de las células del hospedador degradando la membrana plasmática y participan en la lisis celular.

h) La capacidad de captar hierro de su hospedador, por la producción de **sideróforos** y proteínas de membrana externa receptoras.

Aunque se ha considerado un patógeno con bajo grado de virulencia, la patogénesis de la infección por este microorganismo probablemente implica numerosos factores, incluyendo distintos determinantes de virulencia que aún necesitan estudiarse en más profundidad. Muchos parámetros como los factores dependientes del huésped, la carga bacteriana y la virulencia individual de las cepas pueden desempeñar un papel importante en el desarrollo de la infección en los pacientes previamente colonizados por *Acinetobacter* sp. (87).

4. FACTORES DE RIESGO Y FORMAS DE PRESENTACIÓN CLÍNICA

Los factores de riesgo que predisponen a los pacientes para la colonización o infección por cepas de *A. baumannii* descritos en la literatura incluyen: cirugía previa, enfermedad grave subyacente (neoplasia, quemaduras o inmunosupresión), edad avanzada (aunque también se han descrito brotes en UCI neonatales), uso previo de antimicrobianos, presencia de dispositivos invasivos (incluidos sondajes, catéteres y drenajes), ventilación mecánica, ingreso en UCI y estancia hospitalaria prolongada (2). Identificar los factores de riesgo asociados es importante para el desarrollo de medidas de prevención de la colonización y la infección por este microorganismo. El uso de los antibióticos puede alterar la flora bacteriana normal y seleccionar microorganismos multirresistentes como *A. baumannii* (2).

Es necesario señalar que el aislamiento de este microorganismo en una muestra clínica requiere una evaluación cuidadosa, ya que puede corresponder a una colonización más que a una infección. Por último, destaca el hecho de que con frecuencia, los pacientes afectados tienen varias muestras clínicas con cultivos positivos o infecciones concomitantes en dos o más focos (79).

4.1. Neumonía Nosocomial

La infección de la vía respiratoria es la forma clínica más frecuente. La neumonía por *A. baumannii* se observa principalmente en el paciente sometido a ventilación mecánica (NAV) y es la que tiene mayor transcendencia clínica. En algunas circunstancias es difícil distinguir una colonización de las vías respiratorias superiores de una neumonía verdadera y plantea con frecuencia un diagnóstico diferencial difícil con la traqueobronquitis (79). En un amplio estudio de vigilancia en los Estados Unidos, entre el 5 y el 10% de los casos de neumonía adquirida en UCI se debieron a *A. baumannii* (67). En España, según los datos del Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva (ENVIN) del año 2011, un 7,90% del total de las NAV fueron causadas por *A. baumannii* (92).

4.2. Neumonía extrahospitalaria

La neumonía por *A. baumannii* adquirida en la comunidad se ha descrito en las regiones tropicales de Australia y Asia (93). La infección suele asociarse a la temporada de lluvias y afecta a personas con un historial de abuso de alcohol, siendo necesario en ocasiones su ingreso en UCI (72). Se caracteriza por tener un curso clínico fulminante con infección secundaria del torrente sanguíneo y una elevada tasa de mortalidad de 40 a 60% (94).

4.3. Bacteriemias

La bacteriemia es la segunda forma clínica por su significación y en algunas series se acompaña de un cuadro clínico de sepsis grave (79). El catéter vascular es el origen más probable en la mayoría de las bacteriemias por *A. baumannii* (79). En un amplio estudio de bacteriemia nosocomial en Estados Unidos (1995-2002) *A. baumannii* fue el décimo agente etiológico más común, siendo responsable del 1,3% de todas las infecciones nosocomiales del torrente circulatorio (95). La mortalidad cruda de la bacteriemia por *A. baumannii* era del 34,0% al 43,4% en la UCI y el 16,3% fuera de ella. La infección del torrente sanguíneo por *A. baumannii* tuvo la tercera mayor tasa cruda de mortalidad en la UCI, sólo superado por *P. aeruginosa* y *Candida sp.* En el estudio ENVIN realizado en España en 2011 un 4,19% de las bacteriemias fueron debidas a *A. baumannii* (92).

4.4. Infecciones de piel y partes blandas

En ocasiones *A. baumannii* puede causar infecciones de piel y tejidos blandos (9). En un estudio realizado en Estados Unidos este microorganismo fue el causante del 2,1% de las infecciones de piel/tejidos blandos adquiridas en la UCI (67). Las infecciones por esta bacteria también se asocian a unidades de quemados y puede ser difícil de erradicar en este tipo de pacientes (96).

4.5. Infecciones del tracto urinario

A. baumannii es una causa ocasional de infección urinaria, siendo responsable del 1,6% de las infecciones urinarias adquiridas en la UCI en un estudio realizado en Estados Unidos (67). En el estudio ENVIN español de 2011, se asoció únicamente al 0.29% de las infecciones urinarias (92). Normalmente, la presencia de este microorganismo se relaciona con la colonización del catéter urinario.

4.6. Infecciones del sistema nervioso central

Entre las infecciones poco frecuentes se encuentran las del SNC, habitualmente secundarias a procedimientos neuroquirúrgicos y en pacientes portadores de drenajes ventriculares externos (79). La presentación clínica es la de una ventriculitis (79).

4.7. Otras manifestaciones clínicas

Acinetobacter sp. puede causar además endoftalmitis o queratitis, relacionadas con el uso de lentes contacto o cirugía ocular (97,98). Se ha publicado un escaso número de casos de endocarditis por *Acinetobacter* sp. (99), en la mayoría asociados a válvulas protésicas.

5. IMPACTO CLÍNICO

Dado que la infección por *A. baumannii* normalmente ocurre en pacientes críticos, la mortalidad cruda asociada es alta (26-68%) (100,101). Estos pacientes a menudo presentan un mal pronóstico, siendo difícil determinar el verdadero impacto clínico de este microorganismo (9), así como calcular la mortalidad atribuible a la infección independientemente de la gravedad de sus enfermedades subyacentes (33).

Sigue existiendo en la literatura controversia sobre el tema de la mortalidad atribuible. La heterogeneidad metodológica entre los estudios publicados puede hacer difícil la comparación entre ellos y extraer conclusiones definitivas. Algunos de los trabajos

publicados sobre este tema pueden estar limitados por el pequeño tamaño de la muestra, las diferencias en la metodología (distintas definiciones de casos y controles, infecciones de una o varias localizaciones, infecciones por *A. baumannii* sensible o multirresistente, calidad de identificación de especies) y la dificultad para ajustar de forma adecuada la gravedad de la enfermedad de base del paciente (posible factor de confusión). Existen pocos estudios sobre la mortalidad atribuible que utilicen análisis multivariante, aunque este sea el tipo de estudio más adecuado y la tasa de mortalidad atribuible revelada por estos pocos trabajos es del 10 al 20% (87).

Algunas publicaciones sobre el tema concluyen que la infección o la colonización por *Acinetobacter* se asocia a un incremento de la mortalidad atribuible (7). Otros trabajos que estudian por separado los pacientes infectados de los sólo colonizados por *A. baumannii* concluyeron que sólo la infección se asoció a un aumento significativo de la mortalidad con respecto al grupo control (102). Sin embargo, existen también estudios donde se controló la gravedad de la enfermedad de base en el análisis estadístico y no encontraron un aumento significativo de la mortalidad asociada a la infección de *A. baumannii* (101).

La mortalidad atribuible a la infección podría estar relacionada con la elevada capacidad de este microorganismo de desarrollar resistencias a los antimicrobianos, la inadecuación del tratamiento empírico y la disponibilidad o no de alguna opción terapéutica definitiva según la sensibilidad de la cepa aislada (33).

Por otra parte, la infección por *A. baumannii* se asocia a un incremento en la morbilidad y una prolongación de la estancia hospitalaria (9). El impacto que pueda ejercer la infección por *A. baumannii* en la prolongación de la estancia hospitalaria podría depender del tipo de infección y del tipo de resistencia (33).

Igualmente la infección por *A. baumannii* multirresistente se asocia con un aumento del coste asistencial (103). Aunque la forma de medir el impacto económico de una infección nosocomial puede variar dependiendo de la situación sanitaria, la medición de la prolongación de la estancia hospitalaria se considera un parámetro adecuado, ya

que refleja los gastos derivados del personal (alrededor del 70%), de los medicamentos administrados (10-15%) o de las pruebas diagnósticas (103). También deberían tenerse en cuenta los gastos asociados a la prevención de la infección nosocomial, como son el mantenimiento de los equipos de vigilancia, los programas de educación y de intervención en la política antibiótica (103). Algunos estudios publicados han calculado el incremento del coste del tratamiento de la infección por *A. baumannii* multirresistente en pacientes hospitalizados con respecto a la infección por cepas sensibles de este microorganismo y lo estimaron en 9.588,74 \$/paciente (104). Otros trabajos calcularon este incremento para determinadas infecciones como las bacteriemias y después de ajustar algunos posibles factores de confusión (como la gravedad de enfermedad de base y comorbilidades) encontrando que la bacteriemia por *A. baumannii* multirresistente tuvo 13,4 días de hospitalización adicionales y un incremento de 3.758 \$/paciente en comparación con bacteriemia por *A. baumannii* no multirresistente (105). También se han publicado trabajos que incluyen datos económicos en el análisis multivariante y estudian el aumento del coste asistencial de pacientes infectados por *A. baumannii* multirresistente comparado con pacientes no infectados, encontrando que la infección por este microorganismo contribuyó a un gasto adicional de 60.913 \$/paciente y 13 días adicionales de hospitalización (106). Por lo tanto, es necesario el control de la infección por *A. baumannii* multirresistente, tanto desde el punto de vista de la prevención de la morbi-mortalidad debida a esta infección nosocomial como para reducir el exceso de su coste asistencial.

6. TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR *A. baumannii*

Debido a la elevada capacidad de este microorganismo para desarrollar resistencias a los antimicrobianos la elección de un tratamiento empírico y definitivo adecuado es frecuentemente una tarea difícil. Por otro lado, según distintos estudios, el tiempo transcurrido en instaurar una terapia eficaz repercute claramente en la evolución clínica del paciente (107). El tratamiento empírico de la infección por *A. baumannii* debería basarse en el conocimiento de los patrones de resistencia locales y el tratamiento definitivo debe estar dirigido por el antibiograma de la cepa en cuestión.

En décadas anteriores el tratamiento de las infecciones por *Acinetobacter* sp. fue posible con una amplia gama de antibióticos, incluyendo Beta-lactámicos, aminoglucósidos y tetraciclinas (9). Posteriormente, los carbapenemes han sido considerados como los agentes de elección para infecciones graves por *A. baumannii* (9). Sin embargo, la utilidad clínica de estos antimicrobianos se ha visto comprometida por la aparición cada vez más frecuente de cepas resistentes. Según los datos publicados por Fernández-Cuenca et al. el 82% de aislados fueron resistentes a imipenem y un 83% a meropenem en un estudio multicéntrico español (14). En el limitado escenario terapéutico actual es necesaria la máxima optimización en el uso de los antimicrobianos existentes. En este sentido es necesario el conocimiento de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos que permitan obtener la máxima eficacia del fármaco, minimizando a la vez la evolución de las resistencias. Con este fin se han desarrollado distintos estudios in vitro e in vivo (en animales y humanos) de la actividad de diferentes antibióticos frente a *A. baumannii* y que pueden ser alternativas en caso de cepas multirresistentes o resistentes a carbapenemes: sulbactam, colistina, tigeciclina o terapia combinada.

6.1. Sulbactam.

Es el único inhibidor de beta-lactamasas (IBLs) con actividad intrínseca frente a *A. baumannii* (108). A pesar de la ausencia de ensayos clínicos aleatorizados, este antimicrobiano ha mostrado resultados prometedores en el tratamiento de infecciones por esta bacteria. Los resultados sugieren que el sulbactam puede ser considerado como una opción terapéutica para los casos leves y graves de infecciones por *A. baumannii* (incluyendo neumonías, bacteriemias e infecciones del SNC) causadas por cepas sensibles (9,109,110). Su administración por vía parenteral tiene una biodisponibilidad cercana al 100%, sin embargo su absorción por vía oral es incompleta (80%).

6.2. Colistina.

Actualmente la colistina es el antimicrobiano con mayor actividad frente a *A. baumannii* (111). Tiene un efecto bactericida rápido y su actividad es concentración-dependiente. La colistina produce alteraciones en la membrana celular bacteriana, incrementando la permeabilidad y conduciendo a la muerte celular. Hay dos formas disponibles comercialmente de colistina: el sulfato de colistina para uso oral y tópico y el colistimetato de sodio o CMS (profármaco de colistina) para uso parenteral o inhalada (9). Aunque este antimicrobiano se empleó en la década de los setenta y ochenta por vía sistémica, su uso se abandonó por toxicidad, principalmente renal y en el sistema nervioso periférico (111). Sin embargo, la aparición de cepas de *A. baumannii* resistente a todos los antimicrobianos de uso clínico ha llevado a la recuperación de este antibiótico. El principal problema del uso de colistina ha sido la dificultad para diseñar regímenes de dosificación eficaces y seguros, ya que la información disponible sobre su eficacia clínica, seguridad, dosificación, farmacocinética (PK) y farmacodinamia (PD) es muy limitada (112).

Distintos estudios observacionales han demostrado tasas de curación o mejoría tras el tratamiento con colistina del 57-77% en pacientes con infecciones graves por *A. baumannii* multirresistente (incluyendo neumonía, sepsis, infección intraabdominal e infección del SNC) (33). En varios estudios de cohorte prospectivos en los que se incluyen distintos tipos de infección por *A. baumannii*, los resultados para los pacientes que recibieron terapia única con colistina intravenosa fueron similares a los de los pacientes que se trataron con combinaciones de otros antibióticos (en su mayoría, carbapenémicos con otros antibióticos) (113).

En teoría, la colistina tiene una baja penetración en el parénquima pulmonar lo que podría justificar peores resultados en NAV (112). Por ello se utiliza la colistina nebulizada en un intento de minimizar la toxicidad sistémica y mejorar la llegada del fármaco en el sitio de la infección (9). Algunos artículos señalan que el uso de colistina nebulizada debe combinarse siempre con un tratamiento activo por vía sistémica, y no recomiendan su empleo sistemático en pacientes críticos con neumonía debido a la

falta de datos clínicos concluyentes y los aceptables resultados de este antimicrobiano por vía intravenosa (112).

Por su dificultad para atravesar la barrera hematoencefálica se ha empleado colistina por vía intratecal o intaventricular para el tratamiento de meningitis nosocomiales por *A. baumannii* multirresistente (114), aunque también se ha comunicado el tratamiento con éxito de meningitis por *A. baumannii* con colistina intravenosa (115).

Es necesario señalar que, al contrario que en décadas anteriores, en los últimos años se han publicado tasas bajas de nefrotoxicidad por el uso de colistina. En general, las tasas son significativamente menores que las informadas anteriormente y parece que este efecto tóxico es reversible con el cese de la droga (9). Normalmente la colistina se recomienda como última opción terapéutica en cepas multirresistentes.

6.3. Tigeciclina

Este antimicrobiano es un derivado de la minociclina y es el primer miembro de la familia de las gliciliclinas. Al igual que otros derivados de la tetraciclina, tigeciclina inhibe la subunidad ribosomal 30S, pero su característica única es su capacidad para evadir los principales determinantes de resistencia de tetraciclina, es decir, el tet (A), tet (S) y tet (K) bombas de eflujo y el tet (M) y tet (O), determinantes que proporcionan protección ribosomal (116).

La tigeciclina tiene actividad bacteriostática frente a *A. baumannii* y su única vía de administración es la parenteral. Ha sido aprobada para el tratamiento de infecciones moderadas a severas de la piel y partes blandas e infecciones intraabdominales complicadas, pero no en neumonías (111). Los datos clínicos son limitados todavía, pero existen algunos trabajos publicados que han evaluado el uso de tigeciclina en infecciones por *A. baumannii* de diferentes localizaciones con una tasa de curación clínica alrededor del 60-70% (111). La tigeciclina es una opción adecuada en las indicaciones aprobadas para el tratamiento de *A. baumannii* multiresistentes (111), si bien ya se ha descrito el desarrollo de resistencias durante el tratamiento (117).

6.4. Terapia combinada

El uso de la terapia combinada para el tratamiento de bacilos gram negativos multirresistentes o panresistente a los antimicrobianos ha despertado gran interés y se han publicado en los últimos años varios estudios sobre el tema (118). Esta terapia no sólo intenta mejorar la eficacia del tratamiento, sino que también puede ayudar a prevenir la aparición de resistencia cuando al menos un agente es activo in vitro (119,120).

No existen datos de ensayos clínicos controlados con un adecuado tamaño de muestra que recomienden la terapia combinada para el tratamiento de infecciones por bacilos gram negativos resistentes a carbapenemes (121). Recientemente, se han publicado dos ensayos clínicos evaluando la terapia combinada de colistina más rifampicina en el tratamiento de la infección frente a *A. baumannii* resistente a carbapenemes. Sin embargo, ninguno de los dos estudios demostró un beneficio significativo de la combinación de antimicrobianos en comparación con la colistina en monoterapia (122,123).

Se han publicado distintos estudios in vitro, modelos animales y series de casos, pero los resultados en ocasiones son contradictorios, incluso para las mismas combinaciones de antibióticos (100). No obstante, varios trabajos señalan que el uso de la terapia combinada se asoció con un mayor porcentaje de curaciones (33) frente al grupo que recibió monoterapia. Los tratamientos con colistina/rifampicina y colistina/carbapenem son las combinaciones más estudiadas que mostraron resultados prometedores in vitro, in vivo y en la práctica clínica.

7. PREVENCIÓN Y MEDIDAS DE CONTROL

7.1 Medidas de vigilancia y control de brotes hospitalarios por *A. baumannii*

En situaciones de brote epidémico o endemia por *A. baumannii* es necesario combinar distintas intervenciones de prevención y control, entre las que destacan las siguientes (79):

7.1.1 Establecer un sistema de vigilancia de la infección/colonización por *A. baumannii* (124,125):

Es necesario realizar estudios de incidencia para detectar la situación de cada centro hospitalario. Se puede considerar la presencia de un brote epidémico si se detecta un aumento de la incidencia de casos de infección nosocomial por este microorganismo en una determinada área de hospitalización por encima de la esperada.

7.1.2 Reforzar las medidas de barrera para prevenir la transmisión cruzada

Es necesario realizar un diagnóstico precoz de nuevos casos mediante estudios de portadores por cultivos de vigilancia epidemiológica periódicos, llevar a cabo medidas de aislamiento de todos los pacientes infectados/colonizados por *A. baumannii*, así como un uso correcto de batas y guantes por parte del personal. Se debe registrar en la historia clínica del paciente el estado de colonización o infección por *A. baumannii* y es necesario tener en cuenta esta información de cara a posibles reingresos o traslados a otros centros. Por último, es muy útil revisar el cumplimiento correcto del lavado de manos e implementar el uso de soluciones hidro-alcohólicas.

7.1.3 Medidas de control de la contaminación medioambiental

La identificación de los posibles reservorios ambientales de la infección, así como llevar a cabo programas de vigilancia sistemática de la contaminación ambiental constituyen medidas necesarias para controlar la contaminación medioambiental. Es necesario realizar una limpieza en profundidad con agua y lejía que incluya suelos, paredes y mobiliario incluyendo el instrumental médico. La adecuada limpieza se monitorizará mediante cultivos ambientales; para la toma de estas muestras puede utilizarse una

gasa estéril humedecida en caldo nutritivo. Si la fuente de infección se localiza, debe ser aislada del contacto con pacientes. Existen numerosas fuentes potenciales como los teclados de ordenadores, humidificadores y respiradores del centro hospitalario (9). Deben revisarse todos los programas de limpieza y desinfección. En algunos casos es necesario el cierre de las UCIs para su descontaminación total y realizar reformas estructurales.

7.1.4 Uso racional de antibióticos

La resistencia bacteriana a los antimicrobianos en el ámbito hospitalario es un proceso multifactorial en el que intervienen: a) factores ligados a las prácticas de higiene y control de la infección nosocomial, b) factores ligados a los cambios genéticos de las cepas (mutaciones cromosómicas, adquisición de plásmidos de resistencia o transposones y fenómenos de transformación), c) factores ligados al uso de antimicrobianos (126). Existe una evidencia indirecta de la relación entre el uso de antimicrobianos y las resistencias bacterianas (127).

Es recomendable realizar en nuestro medio un análisis de la evolución del consumo de los diferentes antimicrobianos y la evolución de las resistencias mediante:

- Estudios de casos y controles para determinar qué antibióticos realmente aumentan el riesgo de la aparición de cepas de *A. baumannii* multirresistente (128). Aunque la exposición a cualquier antibiótico activo contra bacterias gram-negativas se ha asociado con la aparición de este microorganismo (9), tres clases de antibióticos se han implicado con más frecuencia: cefalosporinas de amplio espectro (129), carbapenemes (17) y fluoroquinolonas (130). Villers et al. identificaron la terapia previa con una fluoroquinolona como un factor de riesgo independiente para la infección por *A. baumannii* epidémico, de manera que la presión de selección causada por el uso indiscriminado de las fluoroquinolonas podría ser responsable de la persistencia y la propagación epidémica de múltiples clones resistentes de *A. baumannii* durante al menos 5 años (130).

- Es recomendable realizar estudios que recojan adecuadamente el carácter dinámico de la evolución de las resistencias (131) y permitan establecer una relación temporal entre el consumo de los diferentes antimicrobianos y la evolución de las resistencias. En este sentido, son deseables procedimientos de análisis que tengan en cuenta la evolución de la resistencia a lo largo de periodos prolongados de tiempo a través de las pequeñas variaciones que se producen en intervalos cortos de tiempo (porcentajes de resistencias mensuales) y permitan predecir el estado actual de las resistencias y su comportamiento futuro (131). Una serie temporal es una secuencia de datos, medidos en determinados intervalos y ordenados cronológicamente. Un ejemplo de serie temporal es la sucesión de los porcentajes mensuales de resistencia bacteriana a un antimicrobiano y puede ser analizada mediante técnicas de Análisis de Series Temporales (126,131). El Análisis de Series Temporales es un grupo de técnicas cuyo objetivo es ajustar un modelo matemático a una serie de observaciones tomadas en el tiempo, serie temporal, con el fin de predecir su comportamiento futuro en base a la evolución histórica de sus valores así como describir sus características y estudiar los posibles factores que pueden influir en ella (126). En 1976 Box y Jenkins propusieron un método práctico para la construcción de los modelos autorregresivos integrados de media móvil (**ARIMA**) de Análisis de Series Temporales (126). Este tipo de modelización ARIMA permite estudiar el efecto que una variable (consumo de antimicrobianos) tiene sobre otra variable estudiada (porcentaje de resistencia) a lo largo del tiempo. El Análisis de Series Temporales mediante modelos ARIMA permite demostrar la relación temporal entre ambas variables, predecir el intervalo de tiempo que debe transcurrir para que los cambios en el consumo de antimicrobianos repercutan en los porcentajes de resistencia y además cuantificar este efecto (126,131). Hasta la fecha no hemos podido recuperar estudios que analicen la presión antibiótica global agregada en una unidad de hospitalización sobre la aparición y la magnitud de un brote epidémico de *A. baumannii* utilizando una metodología

de series temporales como los modelos ARIMA, los cuales se han utilizado en otros contextos y con otros microorganismos (131).

Igualmente es necesario revisar los protocolos de tratamiento empírico y profilaxis antibiótica del centro, así como diseñar alternativas terapéuticas para las infecciones por *A. baumannii*. La restricción de antibióticos específicos (antibioterapia de amplio espectro, normalmente carbapenemes y cefalosporinas de 3 o 4ª generación) y las políticas de rotación de antibióticos son otras de las medidas destinadas a un uso racional de antimicrobianos y a reducir la selección de resistencias (132).

Por último, algunos autores han sugerido la descolonización selectiva del tracto digestivo o el uso de polimixinas tópicas o en aerosol como medidas útiles en la erradicación del estado de portador de *A. baumannii* (18). Sin embargo, no son concluyentes a la hora de realizar recomendaciones debido a los posibles riesgos de seleccionar organismos resistentes a polimixina.

7.1.5. Formación continuada del personal sanitario para el adecuado cumplimiento de las medidas de control

Los programas de educación para la prevención de la transmisión cruzada de la infección por esta bacteria (haciendo especial hincapié en el mecanismo de transmisión y las medidas de control) y las informaciones periódicas al personal sanitario sobre la evolución del brote y los resultados alcanzados con las medidas de control son muy útiles para su prevención.

Distintos trabajos han demostrado que las intervenciones descritas anteriormente pueden ser eficaces en el control de brotes por *A. baumannii* (71,132–134). En algunos casos y a pesar de estos esfuerzos, es posible que los brotes epidémicos deriven hacia situaciones endémicas (2).

7.1.6 Técnicas moleculares de estudio epidemiológico.

El seguimiento epidemiológico y microbiológico de este microorganismo supone una herramienta fundamental en el control de la infección nosocomial (80). El objetivo de las técnicas de tipado molecular utilizadas en el análisis de brotes es el poner de manifiesto que los aislamientos relacionados epidemiológicamente lo están también a nivel genético (135). Estos métodos de tipificación son útiles para controlar la diseminación de *A. baumannii* en caso de brotes epidémicos, determinando el número de clones circulantes, identificando los posibles reservorios y los mecanismos de transmisión, así como la eficacia de las medidas de control realizadas. Los métodos de tipificación se clasifican en dos grandes grupos (136):

- **Fenotípicos** (basados en características fisiológicas o bioquímicas). Estos métodos son menos reproducibles y poseen menor poder de discriminación que los métodos genotípicos.
- **Genotípicos** (basados en el estudio del ADN). Hoy en día son los más utilizados. Gracias al avance de la biología molecular se han desarrollado nuevos métodos de tipificación. Dentro de ellos la electroforesis de campo pulsante (PFGE) es considerada la técnica de referencia para la tipificación de la mayoría de bacterias con importancia clínica.

Dentro de los métodos moleculares, el análisis del ADN cromosómico mediante macrorrestricción por PFGE es actualmente el método de referencia para *A. baumannii* (9), por encima de los métodos basados en PCR que intentan desafiar la PFGE como técnica de referencia (137). La PFGE posee un elevado poder de discriminación pero es un método lento y laborioso. Generalmente utiliza las enzimas *Apal* y/o *SmaI* para la restricción del ADN cromosómico (138). Los fragmentos cromosómicos resultantes son separados por electroforesis y los perfiles (patrones de bandas) se comparan visualmente o con programas informáticos especializados que también permiten el almacenamiento de estos perfiles en una base de datos (9). En función del número de

INTRODUCCIÓN

diferencias encontradas entre dos patrones de PFGE los aislamientos pueden clasificarse como (135,139):

- **Idénticos:** cuando los dos aislamientos presentan el mismo número y tamaño de bandas.

- **Genéticamente relacionados:** cuando el número de diferencias entre los dos aislamientos sea menor o igual a 3 bandas. Aunque los patrones de PFGE de los aislamientos que pertenecen a una cepa epidémica deberían ser idénticos, con frecuencia los pequeños cambios genéticos que pueden ocurrir de forma aleatoria en el transcurso de un brote, alteran el perfil de los patrones de la cepa epidémica. Hay que tener en cuenta que en el caso de producirse una única mutación espontánea que afecte a un lugar de restricción, se traduce en un máximo de tres diferencias entre los patrones. En este caso las dos cepas podrían considerarse como genéticamente relacionadas y ser una subtipo de la otra o ambas derivar de un ancestro común.

- **Posiblemente relacionados:** cuando existe un número de diferencias entre dos patrones de PFGE de 4 a 6 bandas, pudiendo ser esta disparidad atribuida a dos hechos genéticos independientes. Estos aislamientos pueden también pertenecer a una línea evolutiva común, pero su relación genética no es tan cercana, por lo que es menos probable su relación epidemiológica.

- **No relacionados:** cuando existen un número de diferencias entre dos patrones PFGE superior a 6 bandas. En este caso consideraremos que las dos cepas no están relacionadas epidemiológicamente y pertenecen a clones distintos.

Algunos estudios han demostrado que estandarizando suficientemente los protocolos de PFGE se puede realizar una comparación entre laboratorios con una adecuada reproductibilidad (140). Esta técnica permite reconocer la presencia de cepas epidémicas nosocomiales y la detección temprana de brotes interhospitalarios (9).

INTRODUCCIÓN

Otros métodos moleculares de tipificación utilizados con buenos resultados en el estudio de cepas de *A. baumannii* son la amplificación al azar de ADN polimórfico (141,142), el estudio de secuencias repetitivas palindrómicas extragénicas REP-PCR (143,144), el análisis AFLP, el estudio por PCR del gen de la integrasa (145) y más recientemente, el multilocus sequence typing (MLST) (146) y multilocus PCR-ESI-MS (31).

Distintos trabajos publicados han utilizado estos métodos moleculares de tipado epidemiológico en el estudio de cepas de *A. baumannii*. Un estudio multicéntrico realizado en España mostró cómo en la mayoría de los centros participantes se observó un clon predominante de *A. baumannii*, pudiendo coexistir con clones esporádicos (11). La mayoría de los estudios presentes en la literatura muestran cómo dentro de un hospital la resistencia a imipenem en *A. baumannii* se produce por la diseminación de uno o dos clones multirresistentes no relacionados genéticamente con los clones sensibles a este antimicrobiano (80). En relación con la diseminación interhospitalaria de este microorganismo, algunos estudios como el publicado por Fernández-Cuenca et al. que estudia 221 aislados, muestra como la resistencia a antimicrobianos en *A. baumannii* no se debe a la diseminación interhospitalaria de un único clon, detectándose 79 clones distintos entre todos los centros participantes (16).

II. JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS

II. JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS

En la prevención de las infecciones nosocomiales son necesarios programas de vigilancia y control desarrollados para mejorar la formación y asistencia sanitaria. Estos programas deben incluir medidas destinadas a evitar la transmisión cruzada entre pacientes. Con este propósito puede ser necesario la detección activa de pacientes colonizados y su aislamiento de contacto, las medidas ambientales (cultivos de vigilancia y limpieza de superficies) y cambios de política antibiótica (17,18). No existen en España guías con recomendaciones específicas para *A. baumannii*.

Proponemos la realización de un estudio que ayude a conocer mejor la epidemiología clínica, microbiológica y molecular de este microorganismo, que nos permita a su vez, identificar los posibles factores de riesgo asociados a la infección/colonización por esta bacteria como base para desarrollar estrategias de prevención y vigilancia epidemiológica para su control en el Hospital General La Mancha Centro.

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1 Hipótesis de trabajo

- El estudio molecular de las cepas de *A. baumannii* aisladas puede establecer la existencia de un clon predominante cuyo carácter epidémico podría estar relacionado con la multirresistencia a distintos antimicrobianos.

- Determinados factores (intrínsecos y extrínsecos) relacionados con el paciente ingresado en UCIs pueden ser factores de riesgo asociados a la infección/colonización por *A. baumannii*, de manera que estarán presentes con más frecuencia en los pacientes afectados (casos) que en los no afectados (controles).

- La presión antibiótica, medida a nivel individual y ecológica (agregada) puede asociarse a un mayor riesgo de infección/colonización por *A. baumannii*.

2. Objetivos:

- 1- Estimar la incidencia y la evolución temporal de la infección y/o colonización por *Acinetobacter baumannii* en la UCI del Hospital General La Mancha Centro en el periodo de estudio.
- 2- Describir la epidemiología microbiológica, con identificación y estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos de los aislados de *A. baumannii*.
- 3- Establecer el análisis epidemiológico molecular, investigando la posible relación clonal de las cepas mediante electroforesis en campo pulsado. Analizar la posible relación entre el carácter epidémico de los clones bacterianos presentes y la multirresistencia a los antimicrobianos.
- 4- Identificar los factores de riesgo intrínseco y extrínsecos relacionados con la adquisición de infección/colonización por *A. baumannii* en el paciente de UCI.
- 5- Analizar el posible efecto de la presión antibiótica sobre el desarrollo de un brote de *A. baumannii* valorando tanto la prescripción individual de antimicrobianos durante la estancia de los pacientes, como la relación temporal entre el consumo global de antibióticos en la UCI y la aparición de cepas resistentes de *A. baumannii* utilizando una metodología de análisis de series temporales con modelización ARIMA.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. **Ámbito del estudio**

El estudio se ha desarrollado en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital General la Mancha Centro (HLMC). El hospital ofrece cobertura sanitaria a 183.831 habitantes (INE, 2009) y se trata de una UCI con 10 camas. El estudio se realizó en el periodo comprendido entre junio de 2007 y junio de 2009.

2. **Diseño del estudio, metodología y recogida de datos**

2.1 **Diseño del estudio**

Se ha realizado un estudio observacional analítico retrospectivo, de casos y controles, llevado a cabo en la UCI del HLMC.

2.2 **Metodología.**

Selección de los pacientes

a) El grupo de casos está constituido por pacientes ingresados en la UCI durante el período de estudio en los que se haya detectado infección/colonización por *A. baumannii*, por el aislamiento de esta bacteria en muestras clínicas y cultivos de vigilancia epidemiológica. En la UCI de nuestro hospital los cultivos de vigilancia epidemiológica activa se realizan dos veces por semana a todos los pacientes ingresados. Las muestras recogidas para este fin fueron: exudado nasal, exudado rectal, exudado faríngeo o aspirado bronquial, pliegue axilar y perineal. Dependiendo del resultado obtenido pudimos clasificar los casos como:

- ✓ Casos colonizados: pacientes en los que se aisló *A. baumannii* en muestras clínicas o de vigilancia epidemiológica sin que presentaran clínica de infección.

- ✓ Casos infectados: pacientes en los que se aisló *A. baumannii* en muestras clínicas y se acompañó de un cuadro clínico compatible de infección.

El significado clínico (colonización o infección) de los aislados de *A. baumannii* y el tipo de infección desarrollada en cada caso se determinó siguiendo las definiciones y criterios propuestos por el Estudio de Prevalencia de Infecciones Nosocomiales en España (EPINE 2011) (147) basados en recomendaciones del los Centers for Disease Control and Prevention (148).

b) El grupo de controles está constituido por pacientes ingresados en la UCI durante el mismo periodo que los casos (la misma semana) coincidiendo con la fecha del primer aislamiento de *A. baumannii* en su caso aparejado y que no hayan desarrollado ni colonización ni infección por este microorganismo durante el tiempo que duró el estudio. Se siguió un esquema de emparejamiento 2:1. Seleccionar 2 controles por cada caso permite detectar OR iguales o mayores de 2 con un poder del 80% y un riesgo α del 5% (IC 95%).

Tamaño muestral

En el estudio se han incluido 40 pacientes en los que se aisló *A. baumannii* y 73 controles apareados.

Cepas estudiadas

Hemos estudiado 40 cepas de *A. baumannii* aisladas de muestras clínicas y cultivos de vigilancia de los casos anteriormente definidos para su análisis microbiológico fenotípico y molecular. El estudio se realizó en un solo aislado por cada paciente.

Método microbiológico:

a) Identificación fenotípica

La identificación fenotípica de las cepas de *A. baumannii* se ha realizado en el laboratorio de Microbiología del HLMC. La identificación se llevó a cabo mediante estudio microscópico, pruebas bioquímicas (catalasa y oxidasa) y el sistema comercial automatizado Vitek®-2 de Biomérieux Francia.

b) Identificación genotípica

Para confirmar la identificación fenotípica realizada en nuestro laboratorio todas las cepas se enviaron al Centro Nacional de Microbiología (CNM). Se realizó identificación molecular con métodos genotípicos mediante la secuenciación del gen ARNr 16S; este gen tiene una distribución universal y presenta un alto grado de conservación. Las técnicas de identificación molecular mediante el análisis del 16S ARNr se basan en la amplificación genómica y en su posterior secuenciación. Tras la secuenciación del amplicón se realiza la observación del electroferograma y, por último, la secuencia consenso se introduce en bases de datos online (pública o privado), comparándose con otras secuencias depositadas para obtener la identificación de la cepa estudiada (149).

En el CNM todas las cepas estudiadas, además de ser analizadas por secuenciación del 16S ARNr, se identificaron con los paneles Biolog GN2 con 95 fuentes de carbono (Biolog, Hayward, CA) (146). Se trata de unas microplacas con 96 celdas que evalúan la capacidad de un microorganismo de utilizar 95 fuentes diferentes de carbono en presencia de un indicador redox. Como resultado de la prueba se obtiene un patrón que se considera la huella metabólica del microorganismo inoculado. Este patrón se compara con una base de datos que contiene más de 1400 microorganismos que incluyen 501 especies de gram negativos, algunas de las cuales no son adecuadamente identificadas con ninguno de los otros sistemas de identificación (23).

c) Estudio de sensibilidad a los antimicrobianos

El estudio de sensibilidad de las cepas de *A. baumannii* se ha realizado en el laboratorio de Microbiología del HLMC mediante una técnica de microdilución en caldo con el sistema automatizado Vitek®-2 de Biomérieux Francia con las tarjetas AST-114. Los resultados fueron interpretados de acuerdo a los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (150). Al igual que otros trabajos publicados, debido a la falta de estandarización para *A. baumannii*, la interpretación del resultado del ensayo de tigeciclina se realizó siguiendo el punto de corte definido para Enterobacterias (146).

Los antibióticos testados fueron: amikacina, tobramicina, gentamicina, aztreonam, cefotaxima, ceftazidima, cefepime, ampicilina-sulbactam, imipenem, meropenem, piperacilina, piperacilina-tazobactam, ticarcilina, ciprofloxacino, levofloxacino, cotrimoxazol, colistina, tigeciclina.

Se define la como multirresistencia la resistencia a al menos un agente de tres o más de las siguientes clases de antimicrobianos: cefalosporinas de amplio espectro (ceftazidima o cefepima), carbapenemes (imipenem o meropenem), ampicilina/sulbactam, penicilinas antipseudomónicas-inhibidor beta-lactamasas (piperacilina-tazobactam), fluoroquinolonas (ciprofloxacina o levofloxacina), aminoglucósidos (gentamicina, tobramicina o amikacina), colistina y tetraciclinas (76).

Para completar el estudio las cepas de *A. baumannii* de los clones resistentes encontrados en nuestro hospital se enviaron al CNM para la caracterización molecular de los mecanismos de resistencia a carbapenemes por métodos genotípicos mediante técnicas de PCR (151).

d) Método de tipificación epidemiológica mediante el análisis del DNA cromosómico por macrorrestricción: electroforesis en campo pulsante (PFGE)

El objetivo de las técnicas de tipado molecular, utilizadas en el análisis de brotes, es el poner de manifiesto que los aislamientos relacionados epidemiológicamente, lo están también a nivel genético (135).

Las cepas de *A. baumannii* aisladas en nuestro laboratorio se enviaron al CNM para su análisis epidemiológico molecular realizando el estudio de clonalidad. Éste se hizo mediante análisis del DNA cromosómico por macrorrestricción mediante electroforesis en campo pulsante (PFGE) con enzima de restricción Apa-I (Takara, Shiga, Japan) (146).

Una cepa de *A. baumannii* se considera epidémica cuando presenta un perfil de PFGE epidémico es decir cuando aparece en al menos 4 pacientes durante un brote hospitalario y se reduce a 2 o más pacientes cuando coexisten perfiles de PFGE genéticamente relacionados (139,146).

2.3 Fuentes de información y recogida de datos:

2.3.1. La historia clínica y la base de datos de la Unidad de Cuidados Intensivos ha permitido recoger los siguientes datos demográficos y clínicos de los pacientes:

a) Datos demográficos: edad, sexo, procedencia (domicilio, otro hospital o residencia), presencia de ingresos previos, intervalo entre el ingreso y la adquisición de la infección/colonización por *A. baumannii* (casos), duración de la estancia en UCI.

b) Datos clínicos: índice de Charlson como un indicador de la comorbilidad asociada y gravedad de los pacientes medida en escala APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II). Esta escala APACHE II es uno los varios sistemas de puntuación (scoring) usado en las Unidades de Cuidados

Intensivos para clasificar la severidad o gravedad de los pacientes y es aplicado dentro de las primeras 24 horas de admisión. Se basa en varias medidas a partir de las cuales se calcula un valor entero, mayores scores o puntuación, se corresponden con enfermedades más severas y un mayor riesgo de muerte (152). Otros datos clínicos recogidos fueron la instrumentalización, manifestaciones clínicas (tipo de infección desarrollada), tratamiento antimicrobiano de la infección y evolución clínica (la supervivencia o muerte fue recogida sólo durante la hospitalización). Para determinar la presencia de estos factores se utilizaron las definiciones recogidas en el estudio EPINE 2011 (147).

c) Factores de riesgo intrínsecos: diabetes mellitus, enfermedad neoplásica, insuficiencia renal crónica, enfermedad pulmonar crónica, neutropenia, insuficiencia cardíaca, hepatopatía crónica, adicción a drogas por vía parenteral y alcoholismo. Para determinar la presencia de estos factores se utilizaron las definiciones recogidas en el estudio EPINE 2011.

d) Factores de riesgo extrínsecos: ventilación mecánica, traqueostomía, presencia de herida quirúrgica o úlceras cutáneas, procedimientos invasivos (presencia de catéter venoso central, drenajes, sondaje urinario, sonda nasogátrica), nutrición parenteral y antibioterapia previa.

2.3.2. La base de datos del Servicio de Farmacia Hospitalaria ha permitido conseguir la información referente al consumo de antibióticos en UCI durante el periodo de estudio.

Para analizar el posible efecto de la presión antibiótica sobre el desarrollo de un brote de *A. baumannii* se ha valorado tanto la prescripción individual de antimicrobianos durante la estancia de los pacientes como la relación temporal entre el consumo global de antibióticos en la UCI y la aparición de cepas resistentes de *A. baumannii*, utilizando una metodología de análisis de series temporales con modelización ARIMA.

Datos recogidos sobre consumo de antimicrobianos:

- Para los casos, la antibioterapia previa se definió como el consumo de antimicrobianos durante el periodo comprendido desde el ingreso en UCI hasta la recuperación del primer aislado de *A. baumannii* a partir de muestras clínicas o de vigilancia.
- Para los controles, la antibioterapia previa se definió como el consumo de antibióticos desde su ingreso en UCI hasta el momento del aislamiento de *A. baumannii* en su caso apareado.
- Los agentes antimicrobianos estudiados fueron: amikacina, amoxicilina-clavulánico, ampicilina, ampicilina-sulbactam, amoxicilina, aztreonam, cefazolina, cefepime, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacino, colistina, eritromicina, gentamicina, imipenem, levofloxacino, linezolid, meropenem, metronidazol, piperacilina-tazobactam, rifampicina, teicoplanina, tobramicina y vancomicina.
- Los agentes antibióticos se agruparon farmacológicamente según la clasificación universal Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Classification desarrollada por el Nordic Council of Medicines que permite la comparación entre distintos principios activos o grupos terapéuticos (153).
- Se estudiaron dos parámetros relativos a la exposición a antibióticos: la dosis acumulada y la potencia promedio del tratamiento antimicrobiano (que se midió como dosis total dividida por la duración total del tratamiento). La dosis diaria definida (DDD) que es la dosis de mantenimiento promedio en la principal indicación de un fármaco en

pacientes adultos, se utilizó como una unidad de medida de la prescripción de antimicrobianos para comparar los efectos de la dosis acumulada (medida en DDD) y la potencia del tratamiento (medida en DDD/día) (Cosentino et al., 2000).

3. Estrategia de análisis estadístico

3.1 Fase descriptiva

Las variables cuantitativas han sido resumidas mediante medidas de tendencia central (media, mediana) y de dispersión (desviación estándar, error estándar de la media, intervalo intercuartílico).

Las variables cualitativas o categóricas se han resumido con frecuencias absolutas (número de casos) y relativas (porcentajes).

La incidencia de casos de infección/colonización por *A. baumannii* en el periodo de estudio se calculará mediante dos índices:

- Incidencia acumulada: ratio entre el número de casos detectados y los ingresos en UCI.
- Tasa o densidad de incidencia: ratio entre el número de casos detectados y las estancias (días de ingreso) acumulado por los enfermos ingresados en UCI durante el periodo de estudio.

3.2. Fase analítica

Análisis bivariante

La variable respuesta (caso/control) se ha relacionado con cada una de las variables explicativas o independientes mediante la confección de tablas de contingencia. Para

cada tabla se estimó la significación estadística (pruebas de Ji cuadrado o test exacto de Fisher si el número de efectivos esperados es inferior a 5) y una medida de la magnitud de la asociación en forma de Odds Ratio (OR) y su correspondiente intervalo de confianza (IC95%).

El impacto de la infección/colonización por *A. baumannii* sobre la estancia hospitalaria se estimó mediante técnicas de análisis de supervivencia (Kaplan Meyer y regresión de Cox). La permanencia en el hospital fue contabilizada hasta la fecha del alta o hasta el exitus (datos censurados). Las curvas de supervivencia se compararon mediante el test de log-rango y la asociación de la infección/colonización con la prolongación de la estancia se estimó mediante el Hazard Ratio (HR) como medida de asociación, ajustado por gravedad (APACHE II).

Análisis multivariante

Todas aquellas variables explicativas que tengan una relación con la variable respuesta con una significación $p \leq 0,20$ (criterio de Maldonado y Greenland) (154) han sido consideradas como candidatas para formar parte de los modelos multivariantes de regresión logística. Se ha utilizado la regresión logística condicional debido a la naturaleza apareada (matching) de los controles. Utilizamos como criterio de entrada en los modelos finales un cambio significativo ($p < 0,05$) en la verosimilitud del modelo.

Análisis de Series Temporales

Se construyó una serie temporal de cinco años (enero 2007 a diciembre de 2011) con la incidencia mensual de casos con infección/colonización por *A. baumannii* resistente para cada antibiótico y los consumos mensuales de dicho antibiótico en la UCI.

Modelización ARIMA

Cada serie temporal se ha modelizado siguiendo el método propuesto por Box y Jenkins que ha sido utilizado en el estudio de la relación entre el consumo de

MATERIAL Y MÉTODOS

antibióticos y la aparición de resistencias (131). Estos modelos permiten determinar la posible asociación entre el consumo de antibióticos y la aparición de casos de infección /colonización por *A. baumannii* resistente.

Para todos los contrastes se seleccionó como nivel de significación una $p < 0,05$.

Los cálculos estadísticos se realizaron con el programa STATA, versión 9.0

V. RESULTADOS

1. Descripción de la aparición témporo-espacial de casos de infección/colonización por *Acinetobacter baumannii*

1.1. Distribución temporal

El brote epidémico en el servicio de UCI empezó en febrero de 2008, no detectándose ningún caso en los meses anteriores, con un número continuo de casos nuevos hasta abril de 2009 (con algunas excepciones en mayo de 2008, agosto de 2008 y marzo de 2009). En el periodo de estudio se detectaron 40 casos y el mayor acumulo se observó en los periodos de marzo-abril de 2008 y en octubre 2008-enero 2009.

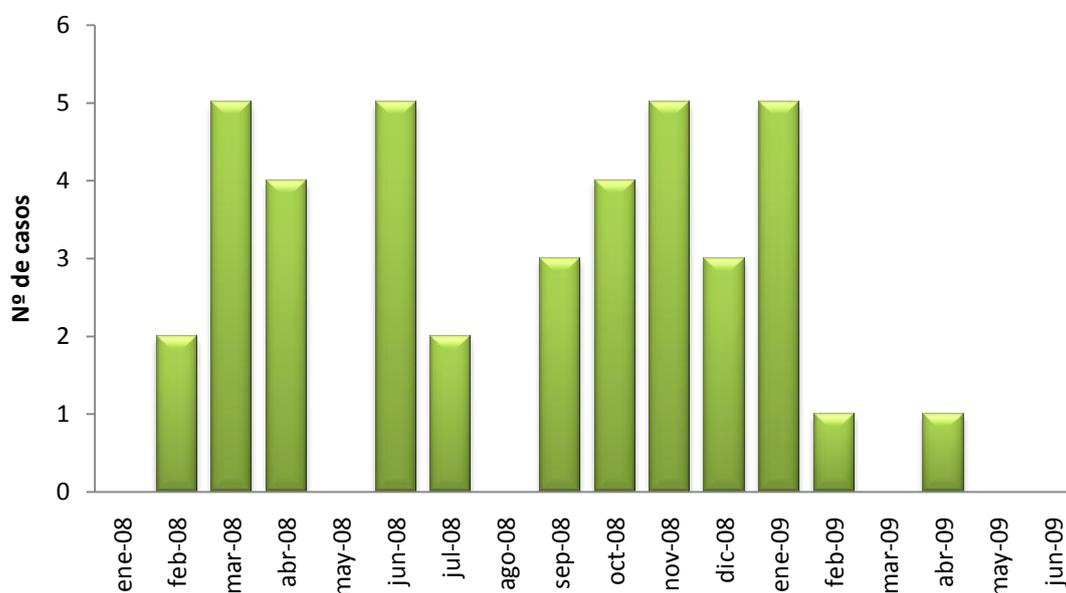


Figura 1. Distribución de los casos mensuales de pacientes nuevos con infección/colonización por *A. baumannii* (Febrero 2008 – Abril 2009).

1.2. Incidencia

La incidencia de infección/colonización por *A. baumannii* en nuestro hospital fue de 9,0 casos por 1000 pacientes-días (IC95% 6,5 a 12,3 casos por 1000 pacientes-día).

Los picos de incidencia de bacteriemias por este microorganismo fueron coincidentes con los periodos de mayor acumulación de casos (Figura 2).

RESULTADOS

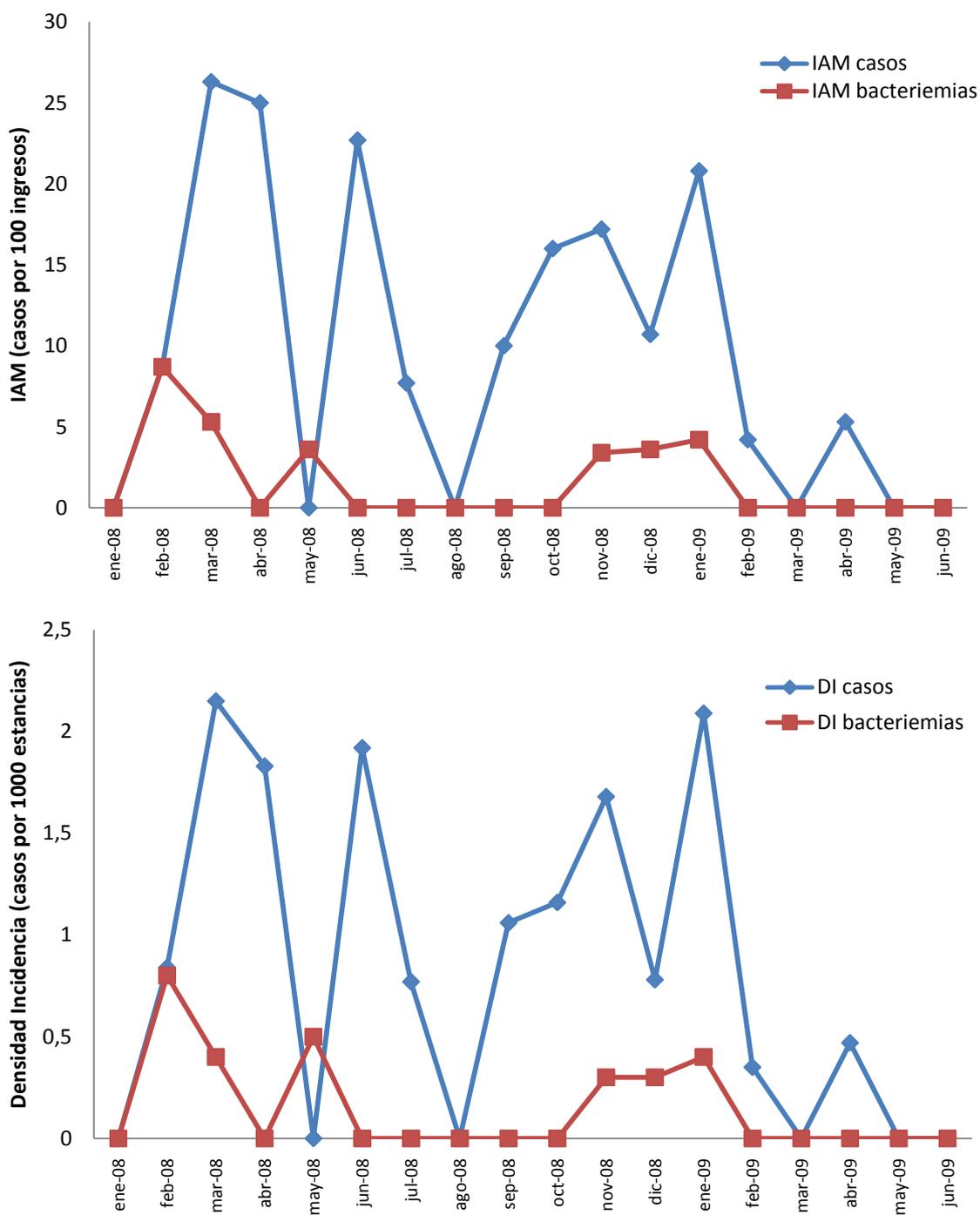


Figura 2. Distribución temporal de la incidencia acumulada (arriba) y densidad de incidencia (abajo) de casos de infección/colonización y bacteriemias por *A. baumannii*.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presenta la aparición mensual de casos así como los distintos clones encontrados junto con la incidencia global de infección/colonización y de bacteriemias por *A. baumannii*.

Tabla 1. Distribución mensual de la incidencia de infección/colonización y de bacteriemias por *A. baumannii*

	Bacteriemias	Nº casos	Clones						Incidencia casos		Incidencia bacteriemias	
			1	2	3	4	5	6	IAM	DI	IAM	DI
ene-08	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,00	0,0	0,0
feb-08	2	2	2	0	0	0	0	0	8,7	0,84	8,7	0,8
mar-08	1	5	4	1	0	0	0	0	26,3	2,15	5,3	0,4
abr-08	0	4	3	1	0	0	0	0	25,0	1,83	0,0	0,0
may-08	1	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,00	3,6	0,5
jun-08	0	5	2	3	0	0	0	0	22,7	1,92	0,0	0,0
jul-08	0	2	0	0	1	1	0	0	7,7	0,77	0,0	0,0
ago-08	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,00	0,0	0,0
sep-08	0	3	1	1	0	0	1	0	10,0	1,06	0,0	0,0
oct-08	0	4	3	0	0	0	0	1	16,0	1,16	0,0	0,0
nov-08	1	5	5	0	0	0	0	0	17,2	1,68	3,4	0,3
dic-08	1	3	3	0	0	0	0	0	10,7	0,78	3,6	0,3
ene-09	1	5	5	0	0	0	0	0	20,8	2,09	4,2	0,4
feb-09	0	1	1	0	0	0	0	0	4,2	0,35	0,0	0,0
mar-09	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,00	0,0	0,0
abr-09	0	1	1	0	0	0	0	0	5,3	0,47	0,0	0,0
may-09	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,00	0,0	0,0
jun-09	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,00	0,0	0,0
Total	7	40	30	6	1	1	1	1				

IAM: Incidencia acumulada (nuevos casos por 100 ingresos), DI: densidad de incidencia (nuevos casos por 1000 estancias)

1.3. Distribución por camas (boxes)

Se observó una concentración de casos en los boxes A e I (y los contiguos a este: F, G y H) y un menor número en los boxes C y E (Figura 3).

El tiempo mediano que tardaba en producirse un nuevo aislamiento fue de 4 días (es decir, en la mitad de las ocasiones la aparición de nuevos casos se producía cada 4 días ó menos). La velocidad de transmisión del brote fue de 4 días cuando los casos pasaban al box contiguo y de 4,5 días cuando pasaban a un box más distante (no contiguo).

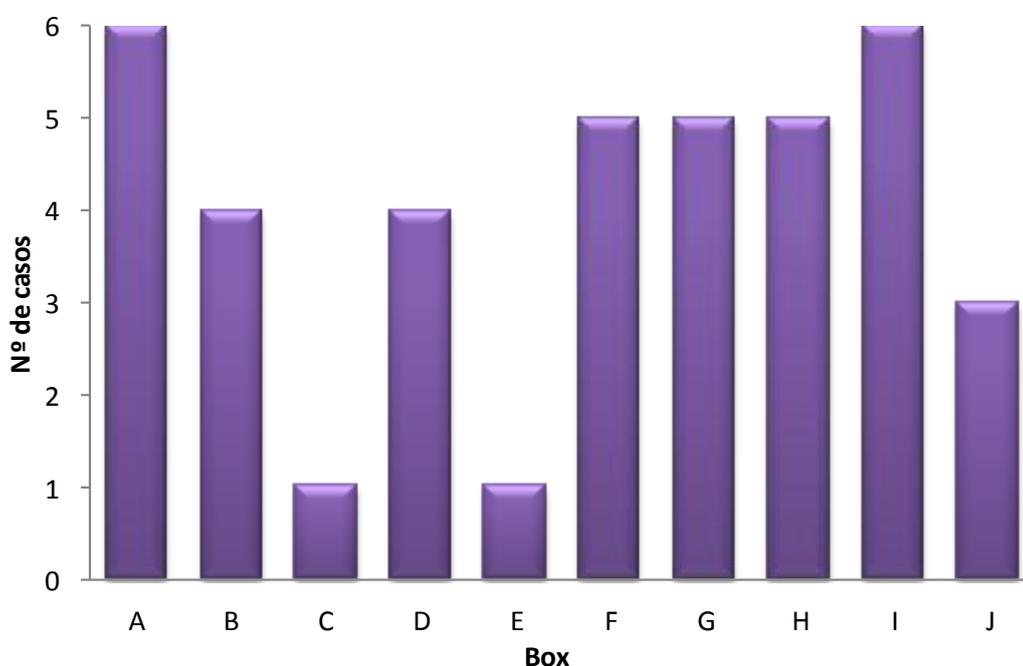


Figura 3. Distribución del número de casos por los boxes de la UCI (Febrero 2008 – Abril 2009).

2. Estudio microbiológico. Identificación y estudio de sensibilidad. Análisis del ADN mediante electroforesis en campo pulsado (PFGE)

Tanto la identificación fenotípica (tarjetas GN VITEK-2) como genotípica mediante secuenciación del gen ARNr 16S confirmaron las 40 cepas aisladas como *A. baumannii*.

RESULTADOS

El análisis de los perfiles de PFGE permitió establecer la relación genética entre las cepas de *A. baumannii* estudiadas y detectar la presencia de un clon epidémico mayoritario causante del brote. Los resultados del estudio de clonalidad fueron (figuras 4 y 5):

- Clon 1, afectó a un total de 30 pacientes: 17 casos con patrón de perfil PFGE tipo 1 más 13 casos con perfil 1b (el perfil 1b varía únicamente en la movilidad de una banda). Este clon 1 fue el causante del brote
- Clon 2, afectó a 6 pacientes (perfil PFGE 2)
- Clones 3, 4, 5, 6 que se detectaron únicamente en un paciente cada uno (perfiles PFGE 3, 4, 5 y 6).

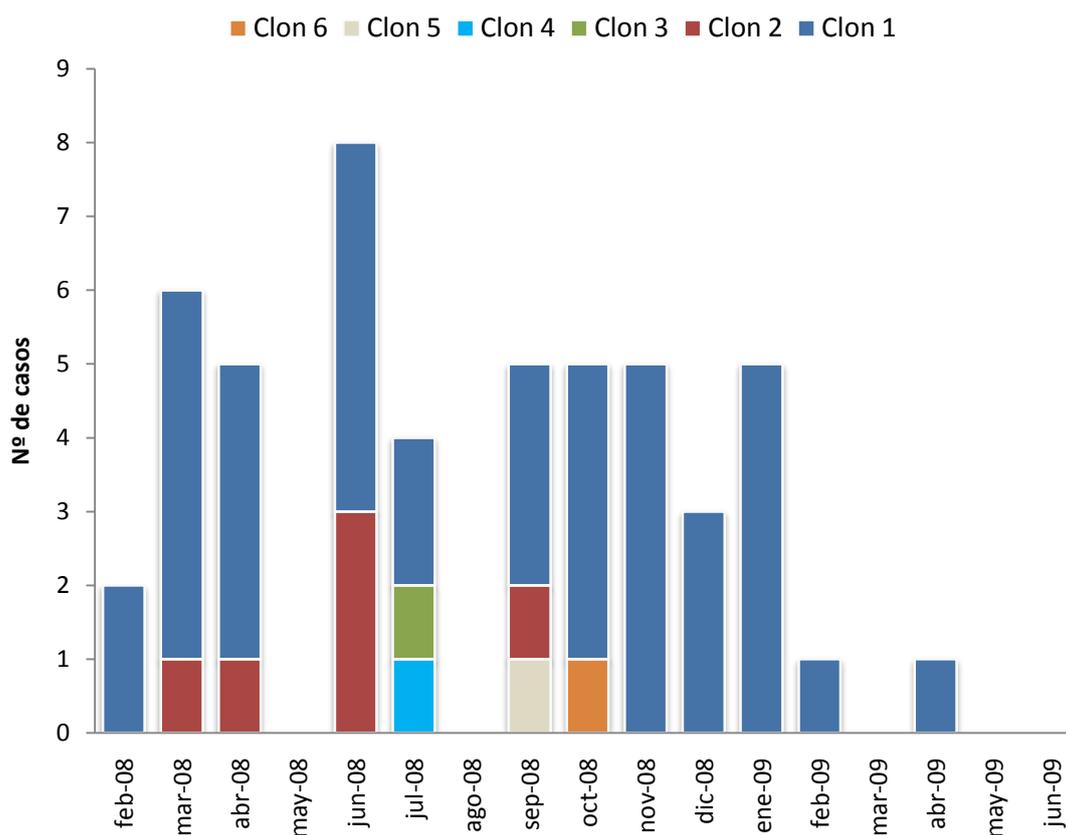


Figura 4. Aparición de los diferentes clones de *A. baumannii* y número de casos afectados por cada uno.

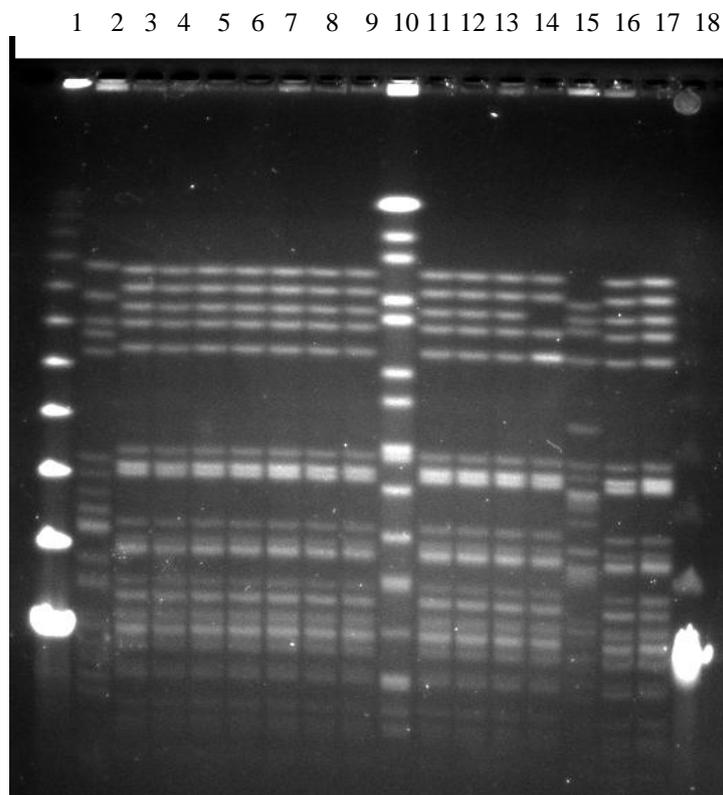


Figura 5. Patrones de PFGE de algunas de las cepas estudiadas. Los carriles 1, 10 y 18 son controles de Peso molecular. Los patrones que se ven en la foto (de izquierda a derecha) son todos el PFGE 1b, menos el carril 2 que es el PFGE 6, el carril 14 es el PFGE 1 y el carril 15 es el PFGE 5.

El estudio de sensibilidad de las cepas de *A. baumannii* reveló la presencia de un 90% de cepas multirresistentes (tabla 2). Las cepas de los clones considerados epidémicos (clon 1 se aisló en 30 pacientes y clon 2 en 6 pacientes) mostraron todas un fenotipo multirresistente, mientras que las cepas más sensibles se corresponden con los clones esporádicos (clones 3, 4, 5, 6) que afectaron a un sólo paciente cada uno (Tabla 2). El estudio de los datos de sensibilidad antibiótica de las cepas de *A. baumannii* y los perfiles genéticos (mediante PGFE) nos han permitido confirmar que el comportamiento epidémico de los clones aislados de *A. baumannii* se asociaba con la multirresistencia.

Tabla 2. Fenotipo de resistencia, perfil de PFGE y datos globales de sensibilidad. NT: no testado, FR: fenotipo de resistencia, MR: Multirresistente, R: resistente, S: sensible, I:intermedio, AMK: amikacina , GEN: gentamicina, TOB: tobramicina, IMI: imipenem, MEM: meropenem, CEF: cefepime, CTX: cefotaxima, CAZ: ceftazidima, PIP: piperacilina, TIC: ticarcilina, PTZ: piperacilina/tazobactam, A/S:ampicilina/sulbactam, AZT: aztreonam, CIP: ciprofloxacino, LEV: levofloxacino, COL: colistina, TSX: cotrimoxazol, TIG: tigeciclina.

CEPA	FR	PFGE	AMK	GEN	TOB	IMI	MEM	CEF	CTX	CAZ	PIP	TIC	PTZ	A/S	AZT	CIP	LEV	COL	TSX	TIG
1	MR	1	S	I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	NT	S	R	NT
2	MR	1	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	I
3	MR	1	S	S	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	I
4	MR	1	S	S	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	I
5	MR	1	S	I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	NT
6	MR	1	S	I	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	NT	S	R	NT
7	MR	2	S	R	R	R	I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
8	MR	1	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	I
9	MR	2	S	R	R	R	I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
10	MR	1	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	NT	S	R	NT
11	MR	1	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	I
12	MR	2	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
13	MR	1	S	S	S	S	R	R	NT	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	I
14	MR	1	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	NT
15	MR	2	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
16	MR	2	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
17	S	3	S	S	S	S	S	S	NT	S	S	S	S	S	I	S	NT	S	S	NT
18	S	4	S	S	S	S	S	S	NT	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
19	S	5	S	S	S	S	S	S	NT	S	S	S	S	S	I	S	NT	S	S	NT
20	MR	1	S	S	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
21	MR	2	S	R	R	R	S	S	NT	I	R	R	R	I	R	R	NT	R	R	S
22	S	6	S	S	S	S	S	S	NT	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
23	MR	1b	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	NT	S	R	S
24	MR	1b	S	S	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
25	MR	1b	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
26	MR	1b	S	S	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
27	MR	1b	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
28	MR	1b	S	R	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	NT	S	R	S
29	MR	1	S	S	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
30	MR	1	S	S	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	NT	S	R	S
31	MR	1b	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
32	MR	1b	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	I
33	MR	1b	S	I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	NT	S	R	NT
34	MR	1b	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
35	MR	1b	S	R	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
36	MR	1b	S	S	S	R	R	R	NT	I	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
37	MR	1b	S	S	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	I
38	MR	1	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
39	MR	1	S	S	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	I
40	MR	1	S	S	S	R	R	R	NT	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S

RESULTADOS

El porcentaje de sensibilidad a carbapenemes en este estudio fue de un 15 % a imipenem y un 20% a meropenem (Figura 6). Las beta-lactamasas asociadas a resistencia a carbapenemes en este estudio fueron todas carbapenemasas tipo OXA. Sólo el clon 1 y 2 fueron resistentes a carbapenemes y las oxacilinasas encontradas fueron:

- Cepa *A. baumannii* clon 1 (perfil PFGE 1 y 1b): OXA 51 y OXA 24.
- Cepa *A. baumannii* clon 2 (perfil PFGE 2): OXA 51 y OXA 58.

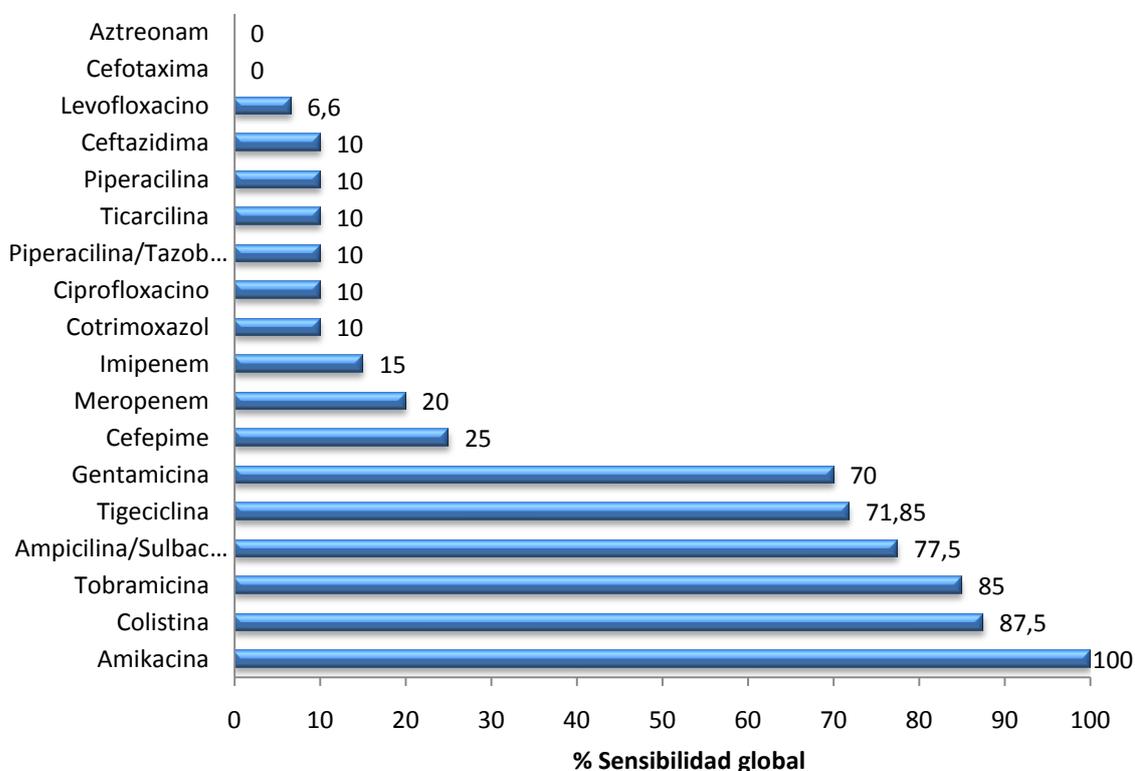


Figura 6. Porcentaje de sensibilidad global de las cepas estudiadas de *A. baumannii*.

3. Análisis descriptivo individual

Se seleccionaron 113 pacientes, 40 casos y 73 controles, que habían ingresado en la Unidad de Cuidados Intensivos en el periodo de febrero de 2008 a abril 2009.

Tanto en los casos como en los controles se observó un predominio de los varones sobre las mujeres, con una edad media en torno a los 60 años. La mayoría de los pacientes procedían de su domicilio y habían ingresado previamente en el hospital (Tabla 3).

Tabla 3. Descriptivos básicos de los casos y controles

	Casos (n=40)	Controles (n=73)	p
Edad, media \pm DE	61,5 \pm 15,2	65,3 \pm 16,2	0,23
Sexo, n(%)			0,23
Hombres	26 (65%)	39 (53,4%)	
Mujeres	14 (35%)	34 (46,6%)	
Procedencia, n(%)			0,018
Domicilio	28 (70%)	65 (89%)	
Otro Hospital	12 (30%)	7 (9,6%)	
Residencia	-	1 (1,4%)	
Ingresos previos, n(%)			0,09
No	9 (22,5%)	28 (38,4%)	
Sí	31 (77,5%)	45 (61,6%)	

*Resultados expresados como media \pm desviación estándar; n(%)
Significativo si $p < 0,05$*

4. Factores de riesgo de infección nosocomial, índices de comorbilidad y gravedad

4.1. Factores de riesgo intrínsecos

Los casos presentaron una prevalencia algo mayor que los controles en los factores de riesgo intrínsecos para el desarrollo de una infección nosocomial (Tabla 4), aunque las diferencias no alcanzaron la significación estadística.

Tabla 4. Factores de riesgo intrínseco de infección nosocomial (EPINE)

	Casos (n=40)	Controles (n=73)	p
Alcoholismo	4 (10%)	4 (5,5%)	0,45
Adicción a drogas por vía parenteral	1 (2,5%)	--	0,35
Hepatopatía	2 (5%)	--	0,12
Insuficiencia renal crónica	10 (25%)	9 (12,3%)	0,09
Insuficiencia cardíaca	10 (25%)	14 (19,2%)	0,48
Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica	8 (20%)	6 (8,2%)	0,08
Proceso neoplásico	2 (5%)	6 (8,2%)	0,71
Diabetes Mellitus	10 (25%)	22 (30,1%)	0,56
Neutropenia	1 (2,5%)	--	0,35
Obesidad	9 (22,5%)	10 (13,7%)	2,29

Significativo si $p < 0,05$

4.2. Factores de riesgo extrínsecos

Los casos presentaron una prevalencia mucho mayor de instrumentalización, incluidos cateterismos, sondajes y drenajes. La proporción de heridas o úlceras cutáneas y quirúrgicas también fue significativamente superior en los casos que en los controles. Todos los casos habían recibido antibioterapia previa frente a uno de cada tres controles (Tabla 5).

Tabla 5. Factores de riesgo extrínsecos de infección nosocomial (EPINE)

	Casos (n=40)	Controles (n=73)	p
Catéter venoso central	40 (100%)	19 (26%)	<0,001
Nutrición parenteral	16 (40%)	2 (2,7%)	<0,001
Sondaje urinario	40 (100%)	27 (37%)	<0,001
Sonda nasogástrica	34 (85%)	14 (19,2%)	<0,001
Ventilación mecánica	35 (87,5%)	12 (16,4%)	<0,001
Traqueostomía	7 (17,5%)	--	<0,001
Drenajes	20 (50%)	9 (12,3%)	<0,001
Herida quirúrgica	17 (42,5%)	9 (12,3%)	<0,001
Herida o úlcera cutánea	16 (40%)	2 (2,7%)	<0,001
Antibioterapia previa	40 (100%)	29 (39,7%)	<0,001

Significativo si $p < 0,05$

4.3. Comorbilidad e índices de gravedad

Se utilizó el índice de Charlson como un indicador de la comorbilidad asociada. Este índice se basa en la identificación de diferentes patologías entre los diagnósticos secundarios del proceso de hospitalización, algunos de ellos incluidos como factores intrínsecos de infección (Tabla 6). Los dos grupos presentaron una frecuencia de comorbilidades muy similar, con una puntuación final baja y sin diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 6. Comorbilidad asociada. Índice de Charlson

	Casos (n=39)	Controles (n=72)	p
Infarto agudo de miocardio	3 (7,7%)	7 (9,7%)	>0,99
Insuficiencia cardiaca congestiva	4 (10,3%)	12 (16,7%)	0,36
Enfermedad vascular periférica	1 (2,6%)	2 (2,8%)	>0,99
Enfermedad cerebrovascular	1 (2,6%)	1 (1,4%)	>0,99
Demencia	1 (2,6%)	2 (2,8%)	>0,99
Enfermedad pulmonar crónica	4 (10,3%)	6 (8,3%)	0,74
Enfermedad ulcerosa péptica	--	1 (1,4%)	>0,99
Enfermedad hepática leve	2 (5,1%)	--	0,12
Enfermedad hepática moderada o severa	--	--	>0,99
Diabetes leve o moderada	3 (7,7%)	17 (23,6%)	0,04
Diabetes con complicaciones crónicas	1 (2,6%)	2 (2,8%)	>0,99
Hemiplejía o paraplejía	2 (5,1%)	--	0,12
Enfermedad renal	2 (5,1%)	4 (5,6%)	>0,99
Enfermedades malignas	--	1 (1,4%)	>0,99
Metástasis de tumores sólidos	--	1 (1,4%)	>0,99
Síndrome de inmunodeficiencia adquirida	--	--	>0,99
Puntuación Charlson, media ± DE	0,74 ± 0,99	0,92 ± 1,11	0,42

Significativo si $p < 0,05$

Por otro lado, el índice de gravedad APACHE II, fue significativamente superior en los casos que en los controles ($20,3 \pm 9,1$ vs. $12,6 \pm 8,5$; $p < 0,001$): Figura 7

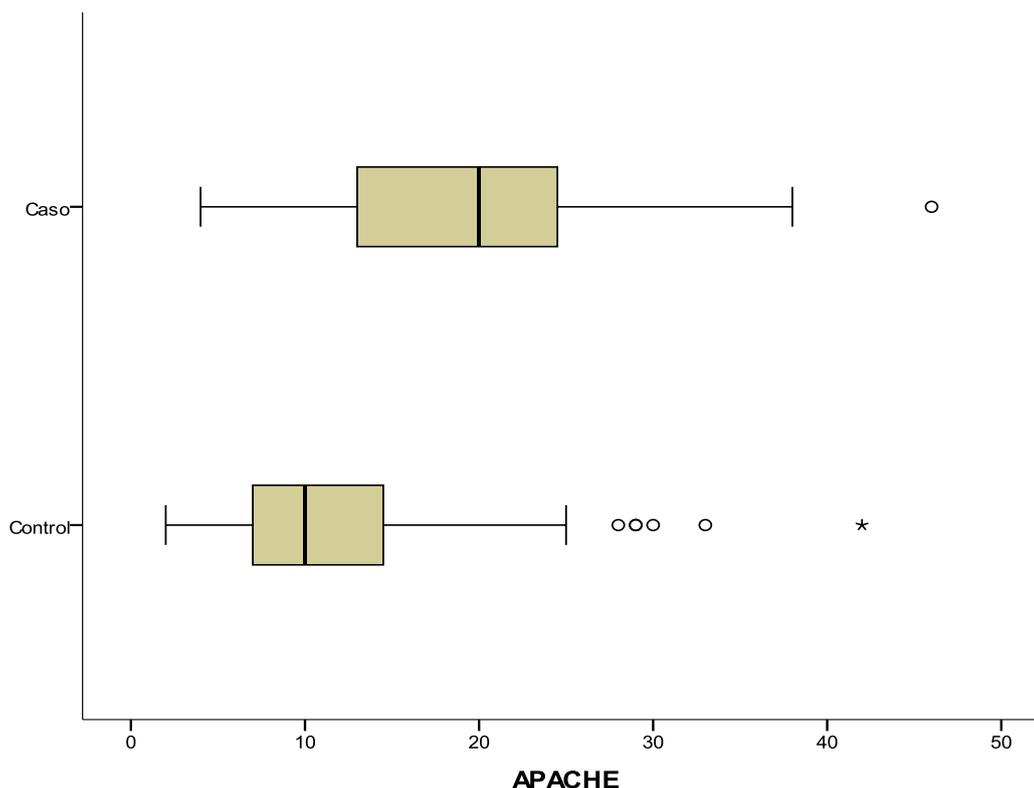


Figura 7. Diagrama de cajas de las puntuaciones de la escala de gravedad APACHE en casos ($n=40$) y controles ($n=73$). Los círculos y asteriscos representan valores aberrantes (círculos) y extremos (asteriscos).

5. Análisis de la presión antibiótica

5.1 Datos de consumo individual por principio activo

En general se observa una mayor presión antibiótica en los casos respecto a los controles: todos los casos habían recibido antibioterapia previa frente a uno de cada tres controles. El análisis de regresión de consumo individual de antibióticos demostró

RESULTADOS

que el uso previo de ceftazidima, ceftriaxona, amoxicilina-clavulánico, imipenem, meropenem, levofloxacino, linezolid y vancomicina fue un factor de riesgo para la adquisición de *A. baumannii* (Tabla 7). Esta asociación fue observada en las 2 medidas de exposición estudiadas, dosis acumulada (DDD) y potencia del tratamiento (DDD/Día).

Los consumos por grupos de antimicrobianos también se mantuvieron significativamente mayores en el grupo de pacientes infectados/colonizados por *A. baumannii* respecto a los controles (Tabla 8). Hemos encontrado que el uso previo de carbapenemes, cefalosporinas de tercera generación, penicilinas-inhibidor de betalactamasas, glucopéptidos, aminoglucósidos y quinolonas fueron factores de riesgo para la adquisición de *A. baumannii*. Estas diferencias se mantuvieron incluso después de ajustar por edad y gravedad (Tabla 9). Esta asociación fue observada en las 2 medidas de exposición a antibióticos estudiada.

Tabla 7. Consumo de antimicrobianos acumulado y diario en casos y controles

Principio activo		Controles		Casos		p
		Media	DE	Media	DE	
Amikacina	DDD	0,0	0,0	0,4	2,1	0,25
	DDD/día	0,0	0,0	0,1	0,3	0,08
Amoxicilina/Clavulánico	DDD	0,3	1,3	1,1	2,2	0,047
	DDD/día	0,1	0,3	0,3	0,5	0,051
Ampicilina	DDD	0,0	0,0	0,0	0,2	0,32
	DDD/día	0,0	0,0	0,0	0,2	0,32
Amoxicilina	DDD	0,0	0,3	0,0	0,0	0,32
	DDD/día	0,0	0,2	0,0	0,0	0,32
Aztreonam	DDD	0,0	0,0	0,5	3,4	0,32
	DDD/día	0,0	0,0	0,1	0,4	0,32
Cefazolina	DDD	0,0	0,2	0,2	0,8	0,31
	DDD/día	0,0	0,2	0,1	0,3	0,45
Cefotaxima	DDD	0,0	0,2	0,2	1,1	0,41
	DDD/día	0,0	0,1	0,0	0,2	0,67
Ceftazidima	DDD	0,0	0,0	0,4	2,1	0,23
	DDD/día	0,0	0,0	0,1	0,3	0,04
Ceftriaxona	DDD	0,4	1,7	3,5	6,5	0,005
	DDD/día	0,1	0,5	0,7	1,0	0,004
Ciprofloxacino	DDD	0,1	0,7	0,7	4,0	0,83
	DDD/día	0,0	0,2	0,1	0,2	0,83
Colistina	DDD	0,0	0,0	0,1	0,6	0,32
	DDD/día	0,0	0,0	0,0	0,2	0,32
Cotrimoxazol	DDD	0,0	0,0	0,5	2,1	0,17
	DDD/día	0,0	0,0	0,1	0,2	0,16
Eritromicina	DDD	0,1	0,6	0,0	0,0	0,46
	DDD/día	0,0	0,1	0,0	0,0	0,46
Gentamicina	DDD	0,0	0,0	0,1	0,8	0,32
	DDD/día	0,0	0,0	0,0	0,2	0,32
Imipenem	DDD	0,0	0,0	2,5	5,9	0,011

RESULTADOS

Principio activo		Controles		Casos		p
		Media	DE	Media	DE	
Levofloxacinó	DDD/día	0,0	0,0	0,3	0,6	0,004
	DDD	0,1	0,5	2,7	6,2	0,012
	DDD/día	0,1	0,2	0,4	0,7	0,003
Linezolid	DDD	0,0	0,0	1,5	4,6	0,047
	DDD/día	0,0	0,0	0,2	0,4	0,002
Meropenem	DDD	0,0	0,0	1,0	3,5	0,09
	DDD/día	0,0	0,0	0,1	0,3	0,08
Metronidazol	DDD	0,1	0,6	1,1	4,4	0,16
	DDD/día	0,1	0,2	0,1	0,3	0,24
Piperacilina-tazobactam	DDD	0,0	0,0	0,5	2,0	0,12
	DDD/día	0,0	0,0	0,1	0,3	0,09
Rifampicina	DDD	0,0	0,0	0,1	0,6	0,32
	DDD/día	0,0	0,0	0,0	0,2	0,32
Teicoplanina	DDD	0,0	0,0	0,3	1,7	0,32
	DDD/día	0,0	0,0	0,0	0,2	0,32
Vancomicina	DDD	0,0	0,2	1,4	3,2	0,009
	DDD/día	0,0	0,1	0,2	0,4	0,003

DE: Desviación Estándar.

Significativo si $p < 0,05$

Tabla 8. Consumo acumulado y diario de grupos de antimicrobianos en casos y controles

Grupo antimicrobianos		Controles		Casos		p
		Media	DE	Media	DE	
Aminoglucósidos	DDD	0,0	0,0	0,5	2,2	0,16
	DDD/día	0,0	0,0	0,1	0,3	0,04
Quinolonas	DDD	0,2	0,8	3,4	7,1	0,008
	DDD/día	0,1	0,3	0,4	0,7	0,003
Cefalosporinas 3º gen.	DDD	0,4	1,7	4,1	6,6	0,001
	DDD/día	0,2	0,5	0,8	1,0	0,001
Glucopéptidos	DDD	0,0	0,2	1,7	3,5	0,005
	DDD/día	0,0	0,1	0,3	0,5	0,002
Penicilinas/inhibidores de betalactamasas	DDD	0,3	1,3	1,6	3,0	0,012
	DDD/día	0,1	0,3	0,3	0,5	0,025
Carbapenem	DDD	0,0	0,0	3,5	6,5	0,002
	DDD/día	0,0	0,0	0,4	0,6	0,001

DE: Desviación Estándar.

Significativo si $p < 0,05$

Tabla 9. Diferencias ajustadas por edad y gravedad (APACHE) del consumo acumulado y diario de grupos de antimicrobianos en casos y controles

Grupo antimicrobianos		Diferencia (IC95%)	p
Aminoglucósidos	DDD	0,59 (-0,002 a 1,45)	0,051
	DDD/día	0,13 (0,05 a 0,21)	0,003
Quinolonas	DDD	3,15 (1,20 a 5,10)	0,002
	DDD/día	0,33 (0,13 a 0,53)	0,002
Cefalosporinas 3º gen.	DDD	3,60 (1,70 a 5,50)	<0,001
	DDD/día	0,52 (0,20 a 0,84)	0,002
Glucopéptidos	DDD	1,74 (0,79 a 2,69)	<0,001
	DDD/día	0,26 (0,13 a 0,39)	<0,001
Penicilinas/inhibidores de beta-lactamasas	DDD	1,11 (0,19 a 2,04)	0,019
	DDD/día	0,15 (-0,01 a 0,31)	0,069
Carbapenem	DDD	4,26 (2,52 a 5,90)	<0,001
	DDD/día	0,43 (0,26 a 0,60)	<0,001

Diferencias ajustadas por regresión lineal múltiple.

Significativo si $p < 0,05$

5.2 Evolución temporal en los consumos globales de antimicrobianos en la UCI

En las figuras 8 a 14 se muestra la tendencia en el consumo por grupos de antimicrobianos entre enero de 2007 y diciembre de 2011. Salvo para quinolonas y penicilinas/inhibidor de beta-lactamasas se observa un descenso continuo durante los primeros 30-36 meses. A partir de este periodo aparece un cambio de tendencia, generalmente creciente hasta el final de la serie.

RESULTADOS

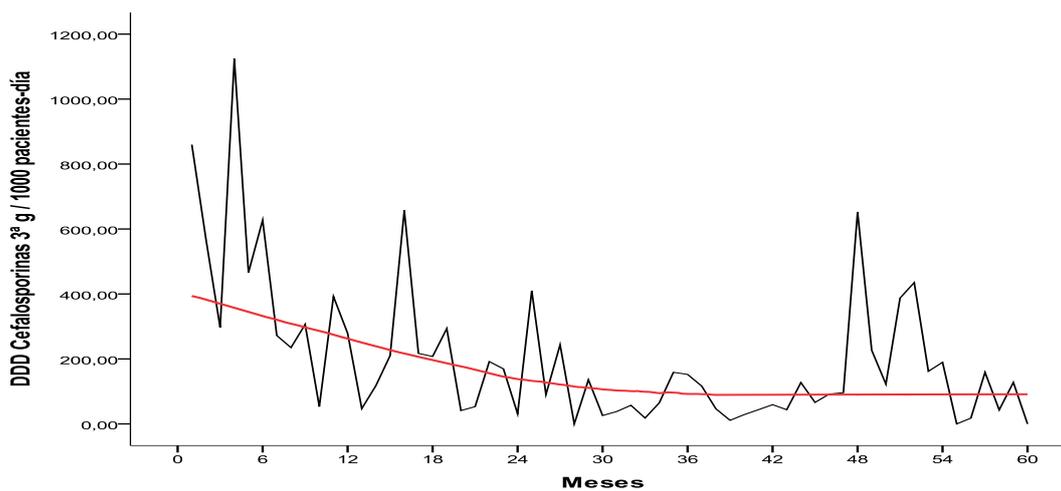


Figura 8. Tendencia del consumo de cefalosporinas de 3ª generación en UCI (2007-2011).

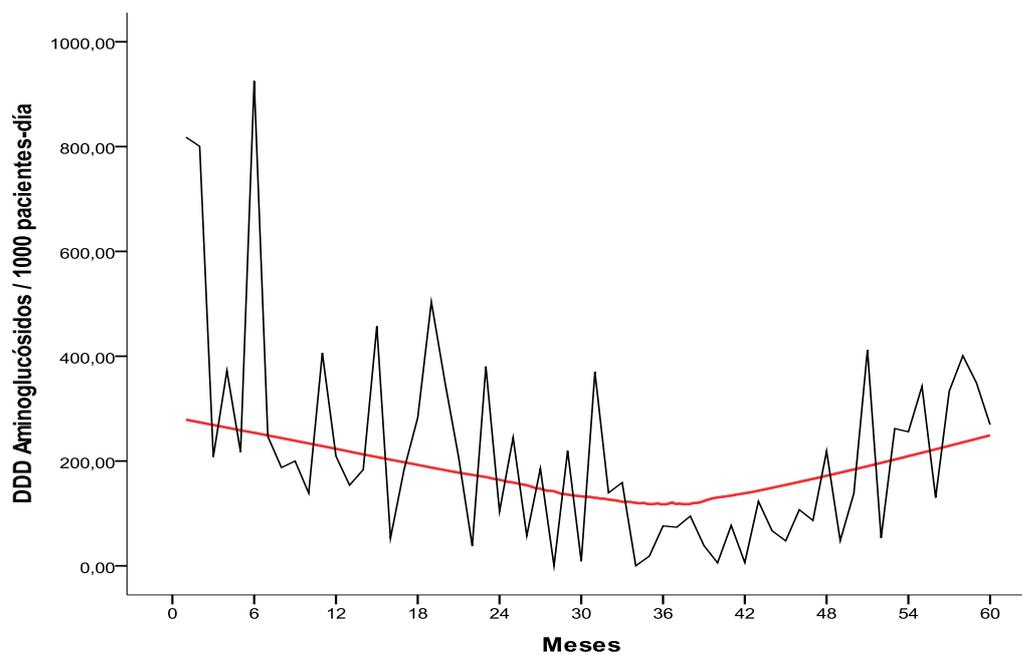


Figura 9. Tendencia del consumo de aminoglucósidos en UCI (2007-2011).

RESULTADOS

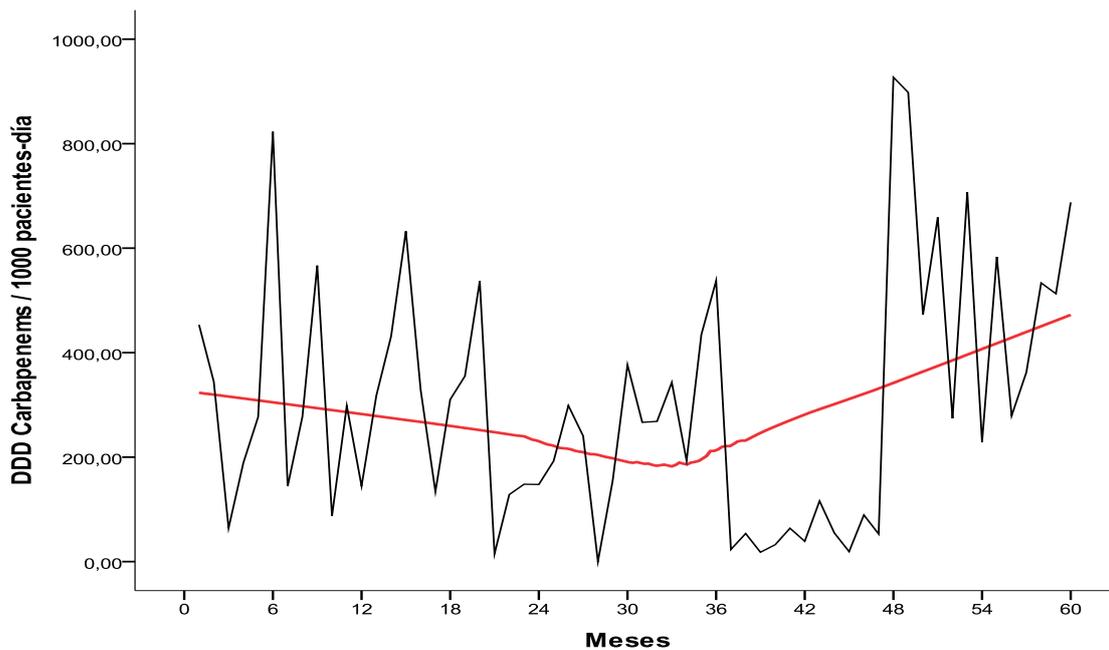


Figura 10. Tendencia del consumo de carbapenems en UCI (2007-2011).

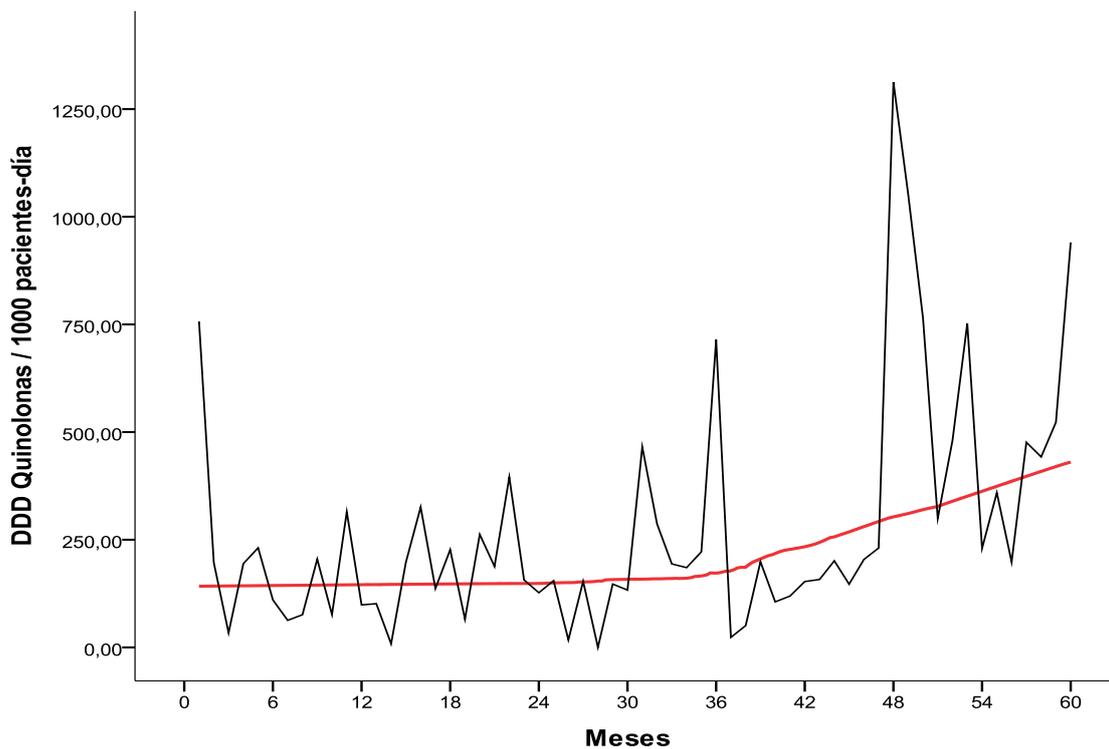


Figura 11. Tendencia del consumo de quinolonas en UCI (2007-2011).

RESULTADOS

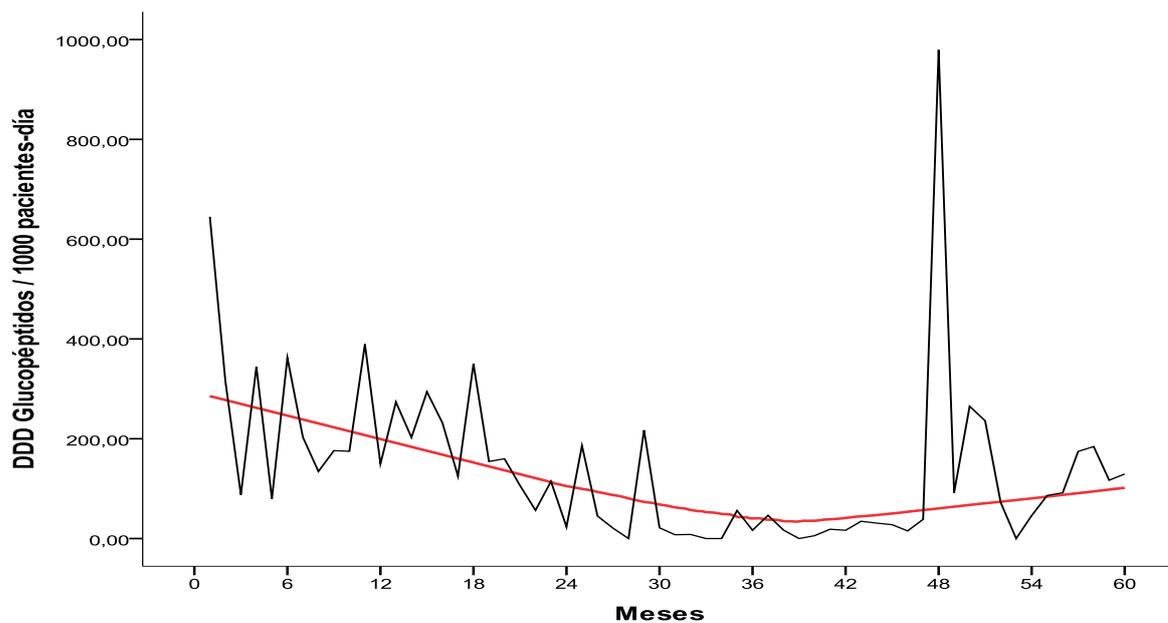


Figura 12. Tendencia del consumo de glucopéptidos en UCI (2007-2011).

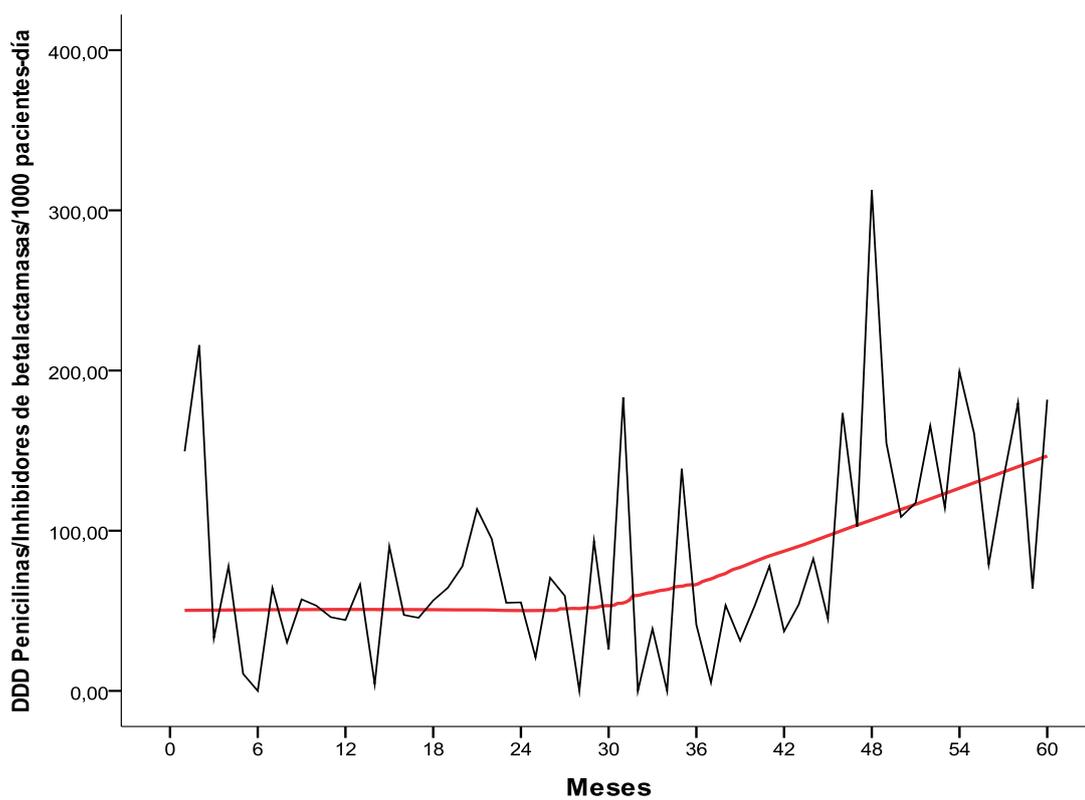


Figura 13. Tendencia del consumo de penicilinas/inhibidor de beta-lactamasas en UCI (2007-2011).

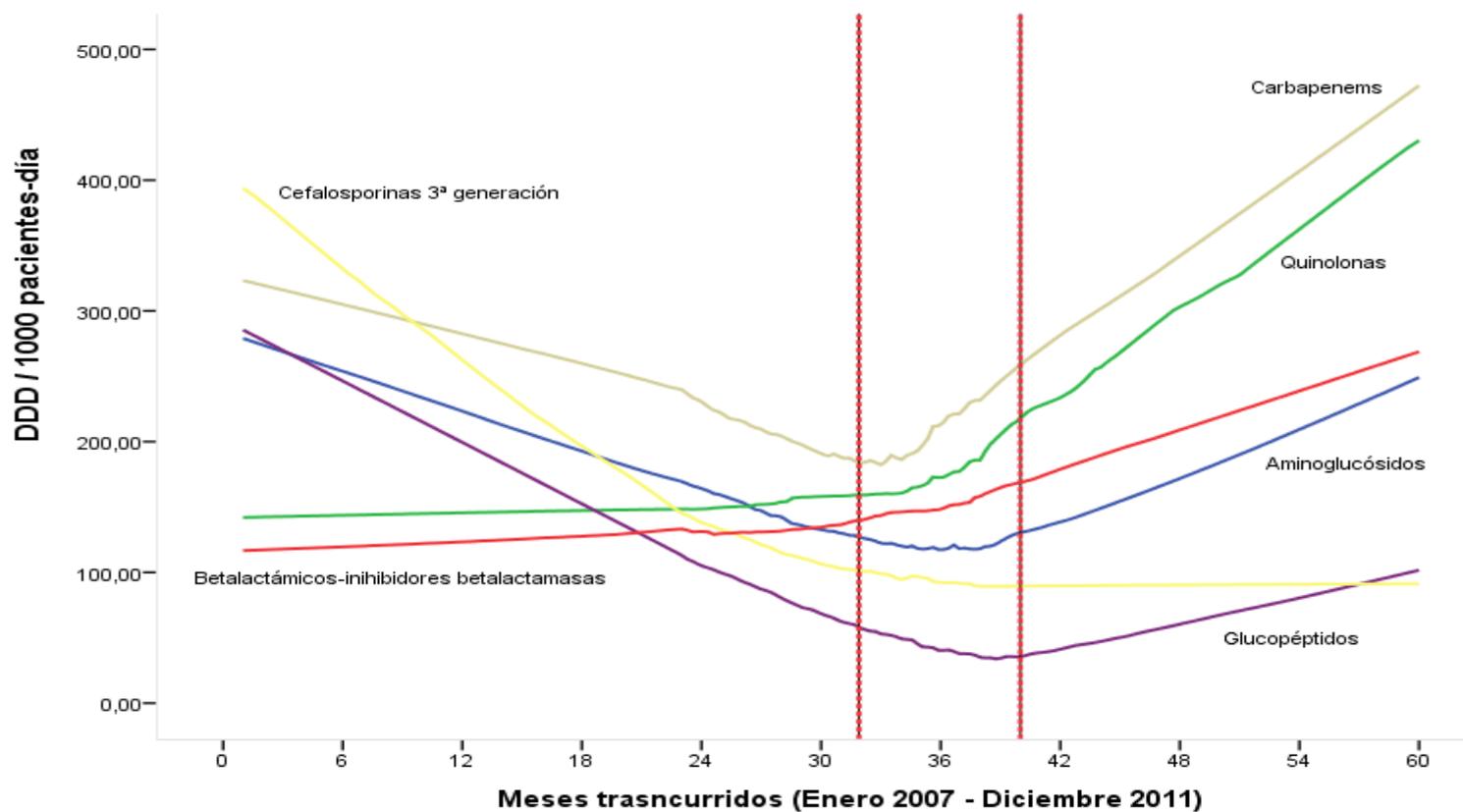


Figura 14. Tendencias de consumo de antimicrobianos en el periodo enero 2007 a diciembre de 2011. Las líneas verticales delimitan la zona de cambio de tendencia en las series.

5.3 Datos de consumo global de antimicrobianos en UCI. Análisis ecológico de la presión antibiótica sobre la aparición de cepas de *A. baumannii* resistentes (modelos ARIMA)

En las figuras 15 a 17 se presentan los diagramas de correlaciones cruzadas entre el consumo de antimicrobianos y el número de cepas de *A. baumannii* resistentes a ese antibiótico. Las relaciones se hicieron máximas y estadísticamente significativas para retardos situados entre los 6 meses (ceftazidima) y 9 meses (imipenem y levofloxacino) previos. Por tanto, la aparición de cepas resistentes parece asociarse a consumos previos de antibióticos situados de 6 a 9 meses antes de la aparición de las cepas resistentes.

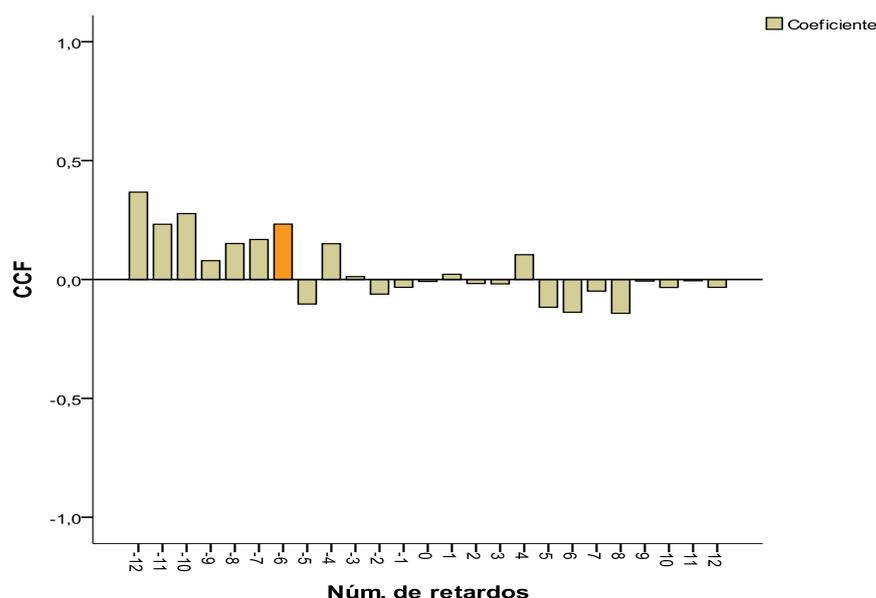


Figura 15. Diagrama de correlaciones cruzadas entre el consumo de ceftazidima (DDD) y el número mensual de cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a ceftazidima. Marcado en naranja el primer retardo significativo.

Variable resultado: nº cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a ceftazidima
Agregado: mensual
Periodo: Enero 2007 – Diciembre 2011
Retardo explorado: 6 meses
Modelo ARIMA (1,0,0).
Coeficiente: 0,446
Error estándar: 0,127
Significación estadística: p=0,001

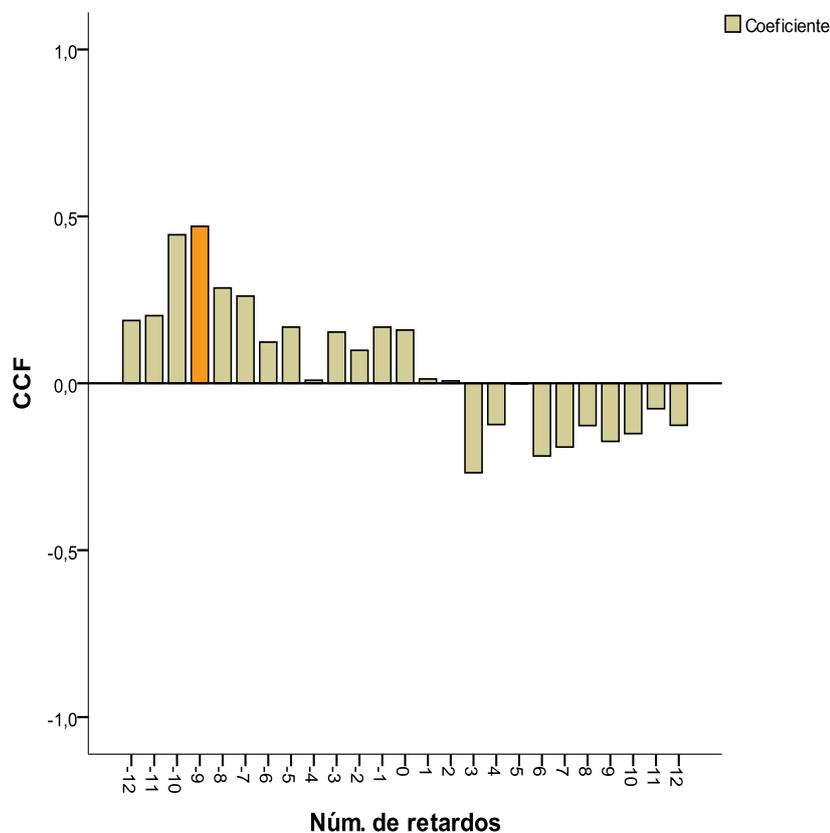


Figura 16. Diagrama de correlaciones cruzadas entre el consumo de imipenem (DDD) y el número mensual de cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a imipenem. Marcado en naranja el primer retardo significativo.

Variable resultado: nº cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a imipenem
Agregado: mensual
Periodo: Enero 2007 – Diciembre 2011
Retardo explorado: 9 meses
Modelo ARIMA (1,0,0).
Coeficiente: 0,026
Error estándar: 0,006
Significación estadística: $p < 0,001$

RESULTADOS

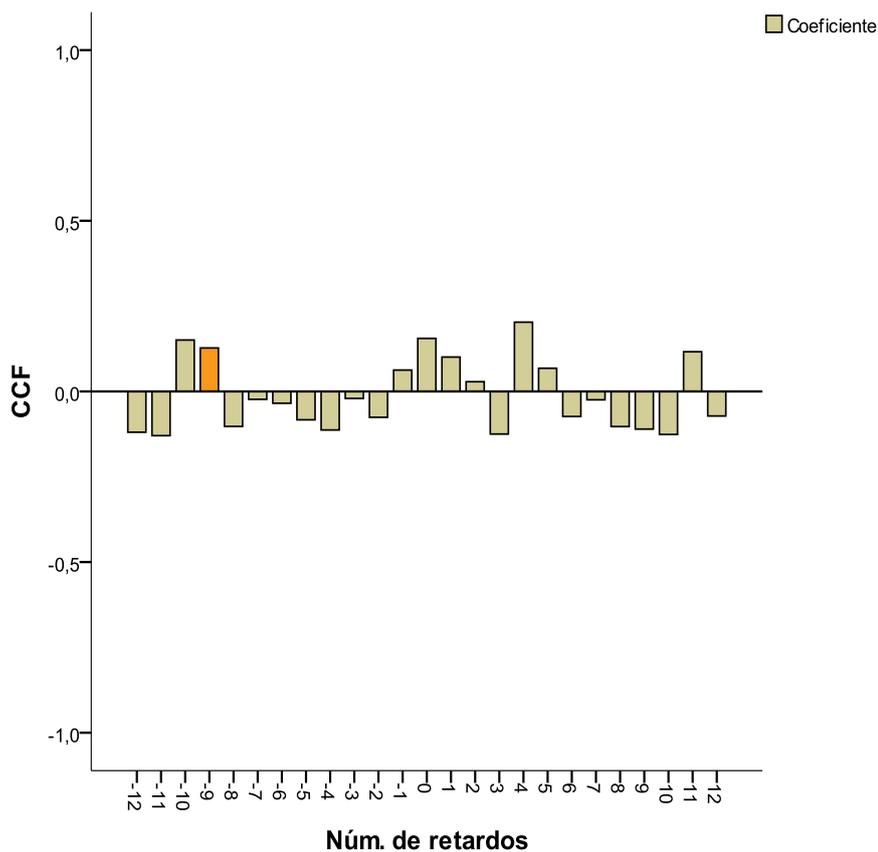


Figura 17. Diagrama de correlaciones cruzadas entre el consumo de levofloxacino (DDD) y el número mensual de cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a levofloxacino. Marcado en naranja el primer retardo con mayor significación estadística.

Variable resultado: nº cepas de *Acinetobacter baumannii* resistentes a levofloxacino
Agregado: mensual
Periodo: Enero 2007 – Diciembre 2011
Retardo explorado: 9 meses
Modelo ARIMA (1,0,0).
Coeficiente: 0,225
Error estándar: 0,151
Significación estadística: p=0,14

6. Descripción de los tipos de infección por *A. baumannii* en pacientes de UCI

De los 40 pacientes, 17 (42,5%) únicamente se colonizaron por este microorganismo y 23 (57,5%) desarrollaron distintos tipos de infecciones, siendo las infecciones respiratorias las más frecuentes (Figura 18).

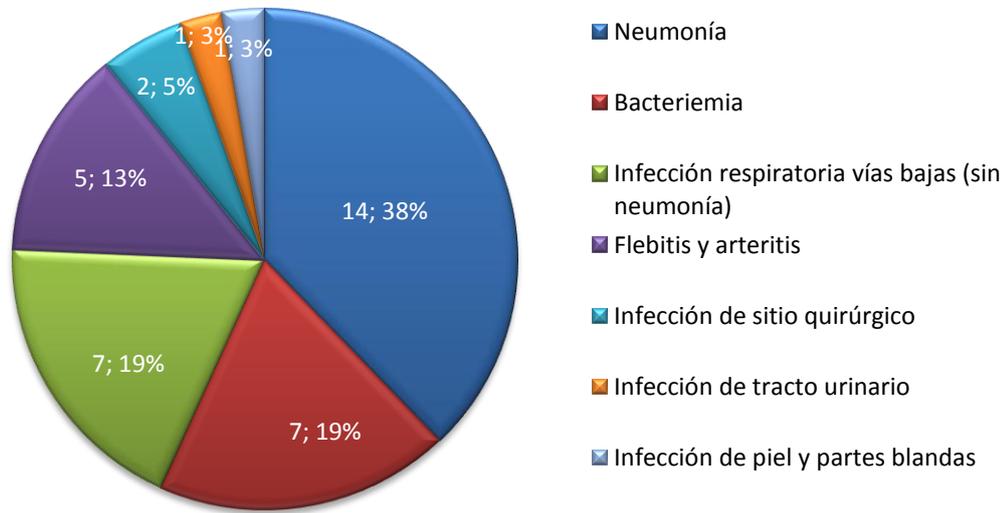


Figura 18. Descripción de las infecciones por *A. baumannii* en pacientes de UCI

Los antibióticos más utilizados en el tratamiento de la infección por *A. baumannii* fueron amikacina y colistina (más del 30% de los casos recibieron amikacina). (Figura 19).

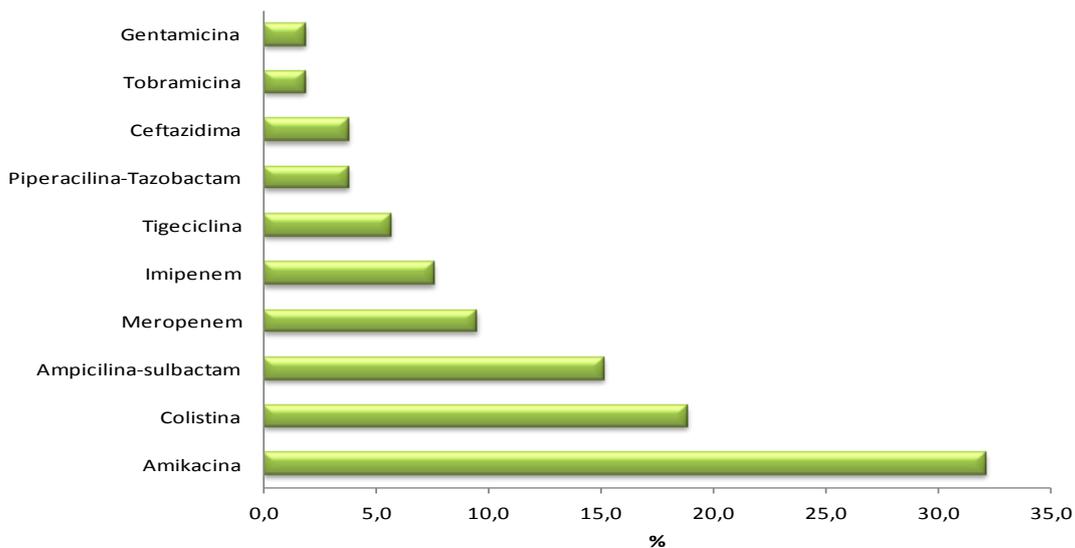


Figura 19. Porcentaje utilización de antibióticos usados en el tratamiento de la infección por *A. baumannii*.

RESULTADOS

Tabla 10: Descripción de los pacientes con infección/colonización por *A. baumannii*.

PACIENTE	Fecha primer aislamiento Ab ¹	Fecha ingreso UCI	PFGE ²	Infección/colonización	Tratamiento	Exitus
1	18/02/2008	06/02/2008	1	Neumonía, bacteriemia	1º amika ⁷ +imi ⁸ 2º amika + ampi/sulb ⁹	NO
2	28/02/2008	19/02/2008	1	Neumonía, bacteriemia	Genta ¹⁰ +ampi/sulb	SI
3	04/03/2008	25/01/2008	1	Colonizado		NO
4	04/03/2008	27/02/2008	1	IRVB ³ (sin neumonía)	amika+ ampi/sulb+ imi	NO
5	06/03/2008	28/02/2008	1	Colonizado		NO
6	11/03/2008	29/02/2008	1	Neumonía	amika+ampi/sulb	SI
7	11/03/2008	07/03/2008	2	Neumonía, bacteriemia, Itu ⁴	1º col ¹¹ +rifam ¹² , 2ºcol+mero ¹³ +amika	SI
8	07/04/2008	26/03/2008	1	Neumonía, IHQ ⁵	col+ampi/sul	SI
9	07/04/2008	26/03/2008	2	IRVB (sin neumonía)	col+ampi/sul	NO
10	21/04/2008	11/04/2008	1	Colonizada		NO
11	28/04/2008	21/04/2008	1	Neumonía, bacteriemia	amika+ampi/sulb	SI
12	06/06/2008	03/06/2008	2	Neumonía	amika+mer	NO
13	09/06/2008	04/06/2008	1	Neumonía	amika+imi	NO
14	12/06/2008	03/06/2008	1	Colonizado		NO
15	16/06/2008	08/06/2008	2	Neumonía, flebitis	amika+mer	NO
16	19/06/2008	13/06/2008	2	IRVB (sin neumonía), flebitis	amika+mer	NO
17	07/07/2008	03/07/2008	3	Colonizado		NO
18	11/07/2008	02/07/2008	4	Colonizado		NO
19	04/09/2008	01/09/2008	5	Neumonía	1º amika+pipertazo ¹⁴ 2ª col	NO
20	12/09/2008	20/08/2008	1	Colonizado		NO
21	26/09/2008	18/09/2008	2	Colonizada		NO
22	06/10/2008	29/09/2008	6	Colonizado		NO
23	27/10/2008	02/10/2008	1b	Colonizada		SI
24	27/10/2008	04/10/2008	1b	IRVB (sin neumonía)	amika+ col	NO
25	30/10/2008	26/10/2008	1b	IRVB (sin neumonía), IHQ	1º amika+imi, 2º ampi-sulb	NO
26	03/11/2008	27/10/2008	1b	Bacteriemia	amika+ceftaz ¹⁵	NO
27	04/11/2008	27/10/2008	1b	IRVB (sin neumonía), flebitis	amika+col	NO
28	17/11/2008	07/11/2008	1b	Colonizado		SI
29	17/11/2008	17/11/2008	1	Colonizada		NO
30	20/11/2008	19/11/2008	1	Colonizada		NO
31	04/12/2008	27/11/2008	1b	Neumonía, flebitis	amika+col	NO
32	17/12/2008	16/12/2008	1b	Bacteriemia	col + pipertazo	SI
33	18/12/2008	02/12/2008	1b	Colonizado		SI
34	07/01/2009	20/12/2008	1b	Colonizado		NO
35	08/01/2009	25/12/2008	1b	Neumonía	amika + ceftaz	SI
36	12/01/2009	03/01/2009	1b	Colonizado		NO
37	12/01/2009	09/01/2009	1b	Neumonía	amika+col	SI
38	25/01/2009	11/01/2009	1	Neumonía, bacteriemia, IPPB ⁶	1º tobra ¹⁶ +mer, 2º tobra+ tige ¹⁷	NO
39	09/02/2008	04/02/2008	1	Colonizado		SI
40	27/04/2009	04/04/2009	1	IRVB (sin neumonía), flebitis	amika+col+tige	SI

1- *A. baumannii*, 2-Perfil de electroforesis en campo pulsante, 3- Infección respiratoria vías bajas (sin neumonía), 4-Infección de tracto urinario, 5-Infección de herida quirúrgica, 6- Infección de piel y partes blandas, 7- amikacina, 8- imipenem, 9-ampicilina/sulbactam, 10- gentamicina, 11- colistina, 12- rifampicina, 13-meropenem, 14- piperacilina/tazobactam, 15-ceftazidima, 16-tobramicina, 17-tigeciclina

7. Impacto de la infección/colonización por *Acinetobacter baumannii*

Cuando se estudió de manera conjunta la infección/colonización ésta se asoció con un incremento del riesgo de mortalidad tanto en la UCI (Tabla 11) como en el hospital (Tabla 12), aunque esta asociación no fue independiente ni estadísticamente significativa. Sin embargo, cuando se analizaron por separado, la mortalidad se asoció estrechamente con la infección por *A. baumannii* sin una relación clara con la colonización (Tablas 13 y 14). Esta asociación se mantuvo tanto para la mortalidad en la UCI (Tabla 13) como a nivel intrahospitalario (Tabla 14) incluso después de ajustar por gravedad.

Tabla 11. Mortalidad en UCI asociada a infección/colonización por *A. baumannii*

	n	Exitus en UCI	OR (IC 95%)	ORa (IC 95%)	p
Controles (ref.)	73	8 (11%)	1	1	
Colonización/infec	40	11 (27,5%)	3,08 (1,12 – 8,47)	1,82 (0,58 – 5,72)	0,30

ORa: ajustado por puntuación APACHE II

Tabla 12. Mortalidad intrahospitalaria asociada a infección/colonización por *A. baumannii*

	n	Exitus hospital	OR (IC 95%)	ORa (IC 95%)	p
Controles (ref.)	73	8 (11%)	1	1	
Colonización/infec	40	13 (32,5%)	3,91 (1,46 – 10,5)	2,55 (0,85 – 7,64)	0,10

ORa: ajustado por puntuación APACHE II

Tabla 13. Mortalidad en UCI asociada a colonización e infección por *A. baumannii*

	n	Exitus en UCI	OR (IC 95%)	ORa (IC 95%)	p
Controles (ref.)	73	8 (11%)	1	1	
Colonización	17	2 (11,8%)	1,08 (0,21 – 5,63)	0,58 (0,10 – 3,53)	0,58
Infección	23	9 (39,1%)	5,22 (1,72 – 15,9)	3,17 (0,92 – 11,0)	0,07

ORa: ajustado por puntuación APACHE II

Tabla 14. Mortalidad intrahospitalaria asociada a colonización e infección por *A. baumannii*

	n	Exitus Hospital	OR (IC 95%)	ORa (IC 95%)	p
Controles (ref.)	73	8 (11%)	1	1	
Colonización	17	4 (23,5%)	2,50 (0,66 – 9,55)	1,63 (0,38 – 7,00)	0,51
Infección	23	9 (39,1%)	5,22 (1,72 – 15,91)	3,38 (1,00 – 11,4)	0,05

ORa: ajustado por puntuación APACHE

La estancia en la UCI fue mayor en los casos, sobre todo para los pacientes infectados. Las diferencias variaron entre 8 días (casos colonizados) y 68 días (casos infectados) respecto a los controles (Tabla 15 y Figura 20). Estas diferencias se mantuvieron después de ajustar los grupos por gravedad (criterio APACHE II).

Tabla 15. Estancia hospitalaria asociada a colonización e infección por *A. baumannii*

	n	Estancia Mediana (IC95%)	HR (IC95%)	HRa (IC 95%)	p
Controles (ref.)	73	9 (5,9 – 12,1)	1	1	
Colonización/inf	40	55 (36,6 - 73,4)	0,13 (0,07 – 0,24)	0,16 (0,09 – 0,29)	<0,001

HRa: Hazard ratio ajustado por puntuación APACHE

	n	Estancia Mediana (IC95%)	HR (IC95%)	HRa (IC 95%)	p
Controles (ref.)	73	9 (5,9 – 12,1)	1	1	
Colonización	17	17 (0 – 35,4)	0,25 (0,13 – 0,48)	0,30 (0,16 – 0,59)	<0,001
Infección	23	77 (49 – 105)	0,08 (0,04 – 0,16)	0,08 (0,04 – 0,19)	<0,001

HRa: Hazard ratio ajustado por puntuación APACHE

RESULTADOS

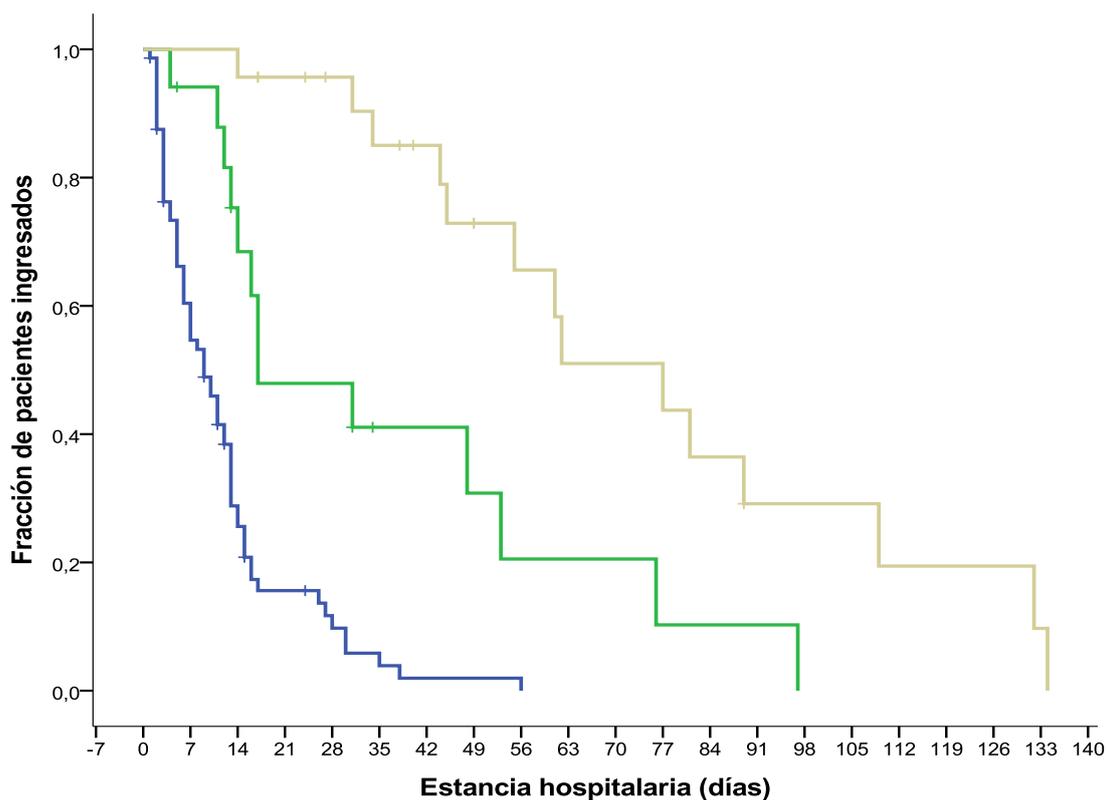


Figura 20. Permanencia hospitalaria en relación a la infección/colonización por *A. baumannii*. De izquierda a derecha: controles (azul), casos colonizados (verde) y casos infectados (gris).

8. Actuaciones seguidas para el control del brote por *A. baumannii*

El orden cronológico de las diferentes actuaciones introducidas para el control del brote fueron las siguientes:

Febrero de 2008

- Comienza el programa de vigilancia activa en UCI. Se realizan tomas para cultivos de zona axilar, rectal y faríngea o aspirado bronquial, perineal y nasal a todos los pacientes dos veces por semana.

RESULTADOS

- Refuerzo y revisión de las recomendaciones higiénicas básicas. Actualización de los protocolos de lavado de manos. Revisión de protocolos de limpieza medio ambiental. Revisión de limpieza del material clínico.
- Refuerzo de medidas de aislamiento de contacto. Se aísla a todos los pacientes infectados/colonizados por *A. baumannii* y se amplía el aislamiento hasta seis semanas después del último cultivo positivo (en este servicio previamente eran tres semanas).
- Inicio del programa de control medio ambiental. Se realizan cultivos de distintas superficies estudiando mediante tipado molecular todas las cepas de *A. baumannii* aisladas. A lo largo del periodo de estudio, las superficies donde se aisló el microorganismo fueron: suelo del BOX 4 (perfil PFGE 1), la cama del BOX 4 (PFGE 1b), el suelo del BOX 9 (PFGE 1b), el monitor del BOX 5 (PFGE 1b) y el suelo del BOX 2 (PFGE 5).

Febrero-Marzo de 2008

- Se amplía el control de vigilancia activa a todos los pacientes ingresados en el hospital.

Marzo de 2008

- Actualización de todos los protocolos con personal de enfermería y auxiliares coordinado con supervisor de UCI.

Marzo–Abril 2008

- Aumento de la plantilla de UCI y revisión de los tratamientos antimicrobianos.

VI. DISCUSIÓN

1. DISCUSIÓN.

El estudio de los datos de sensibilidad antibiótica de las cepas de *A. baumannii* y sus perfiles genéticos (determinados mediante PGFE) nos ha permitido confirmar que el comportamiento epidémico de los clones aislados de este microorganismo se asociaba con la multirresistencia, identificando al clon 1 (clon mayoritario que afectó a 30 pacientes) como causante del brote.

Con nuestro trabajo hemos demostrado que algunos factores de riesgo presentes en el paciente ingresado en UCI se asocian a la infección/colonización por *A. baumannii*. Entre ellos destaca la gravedad de la enfermedad (medida según el criterio APACHE II), la ventilación mecánica, la nutrición parenteral, la instrumentalización (incluidos cateterismos, sondajes y drenajes) y la antibioterapia previa.

Por grupos de antimicrobianos, el consumo de cabapenemes, cefalosporinas de 3ª generación, glucopéptidos, quinolonas, aminoglucósidos y penicilinas-inhibidor de beta-lactamasas demostró su asociación con la infección/colonización por *A. baumannii*, incluso después de ajustar por edad y criterios de gravedad con respecto al grupo control. El estudio de series temporales con modelización ARIMA nos ha permitido estudiar la relación temporal entre el consumo de antibióticos y la aparición de cepas de *A. baumannii* resistente, y describir cómo las relaciones entre ellos se hicieron máximas y estadísticamente significativas para retardos situados entre los 6 meses (ceftazidima) y 9 meses (imipenem y levofloxacino) previos.

Por último, en nuestro estudio encontramos que la mortalidad se asoció con el estado de infección por *A. baumannii* y que tanto la infección como la colonización produjeron un aumento de la estancia hospitalaria.

Incidencia de casos de infección/colonización por *Acinetobacter baumannii*.

Las infecciones nosocomiales por *A. baumannii* han sido descritas en todo el mundo aunque su incidencia varía de unos centros a otros. Como resultado de nuestro estudio, en el servicio de UCI entre febrero de 2008 y abril de 2009 hemos identificado 40 casos de infección/colonización por *A. baumannii*. La incidencia en este servicio fue de 9,0 casos por 1000 pacientes-días (IC95% 6,5 a 12,3 casos por 1000 pacientes-día). Este dato es superior a la media encontrada en un estudio multicéntrico español en el que participaron 28 hospitales y encontraron que el 89,2% de los centros presentaban casos de infección/colonización por *A. baumannii* durante el periodo de estudio (11), las incidencias eran heterogéneas y como era de esperar las tasas más altas correspondían a las UCIs con una media de 1,96 casos por 1000 pacientes-día (rango 0-13,2), siendo éste el servicio donde se aislaron la mayoría de los casos (47%). Sin embargo, estos datos pueden no ser comparables con nuestro estudio porque no se incluyeron cultivos de vigilancia epidemiológica activa, ya que al ser un estudio multicéntrico no todos los participantes tenían la misma política de control de la infección nosocomial impidiendo incluir este tipo de muestras.

Otro estudio realizado en la UCI de un hospital terciario español, llevado a cabo durante el transcurso de un brote y que sí incluyó pacientes colonizados detectados por cultivos de vigilancia activa, encontró unas tasas de infección/colonización por *A. baumannii* más altas que las de nuestro estudio, situándose entre 0-15,7 casos por 1000 estancias en la UCI Médica de adultos y entre 8,4-29,3 casos por 1000 estancias en la UCI de Rehabilitación y Traumatología (77).

Variedad clonal de las cepas de *A. baumannii*.

El análisis de los perfiles de PFGE nos ha permitido establecer la relación genética entre las cepas de *A. baumannii* investigadas. De esta manera hemos demostrado la propagación de un clon epidémico causante del brote (clon 1), aislándose en 30 de los 40 pacientes infectados/colonizados. Este clon 1 fue el mayoritario, seguido del clon 2 (también epidémico y que afectó a 6 pacientes), existiendo además 4 clones

DISCUSIÓN

esporádicos (3, 4, 5, 6) que sólo afectaron a un paciente cada uno. Los datos del estudio multicéntrico español publicados por Rodríguez-Baño et al. muestran una amplia heterogeneidad entre los aislamientos de *A. baumannii* en los 28 hospitales participantes (11). En este estudio, al igual que en nuestro trabajo, en los hospitales con tasas más altas de infección/colonización por *A. baumannii* coexistieron clones esporádicos y epidémicos en la mayoría de los casos. Este hecho también es descrito por Villers et al. (130) que encuentran en todos los centros participantes un clon predominante.

De los dos clones epidémicos encontrados en nuestro estudio (clon 1 y clon 2) cabe destacar el hecho de que tanto el primer paciente en el que se aisló el clon 1 como en el primero en el que se aisló el clon 2 venían trasladados de otros hospitales, situación que se ha descrito igualmente en otros brotes (155). De hecho, en nuestro estudio la procedencia de otro hospital se asoció de manera significativa a la infección/colonización por *A. baumannii*. En el caso del paciente afectado por el clon 1 no pudo establecerse que estuviera infectado/colonizado en el momento de su ingreso en nuestra UCI. Sin embargo, consideramos que el clon 2 que afectó a 6 pacientes pudo ser un clon de adquisición nosocomial importado de otro hospital, ya que el primer paciente en el que se aisló fue trasladado desde la UCI de otro centro donde el paciente ya recibía tratamiento con colistina para una infección por *A. baumannii*. En nuestro caso, a pesar de conocer esta circunstancia y de haber aislado al paciente de manera adecuada desde su ingreso, no pudo cortarse de manera eficaz la cadena de transmisión aunque sí se limitó a 6 pacientes. No tenemos constancia de que el hospital de origen desde el que se derivó a este paciente disponga de estudios moleculares de PFGE de las cepas de *A. baumannii*. La propagación interinstitucional de clones *A. baumannii* también se ha informado en otros trabajos (86) lo que señala que la epidemiología de este microorganismo no debe ser vista como un problema únicamente local (11). Los datos del citado estudio multicéntrico español no pudieron demostrar la propagación interinstitucional de clones de *A. baumannii*, incluso en hospitales cercanos entre sí (11). Sin embargo, este estudio tenía algunas limitaciones que deben tenerse en cuenta a la hora de su interpretación, entre las que se encuentran un periodo de duración corto (un mes) y no incluir muestras de vigilancia

DISCUSIÓN

epidemiológica activa. Sería recomendable la realización de un estudio multicéntrico más largo y que incluyese cultivos de vigilancia activa para la evaluación de la difusión interinstitucional de *A. baumannii* en España (11). Las limitaciones del citado estudio multicéntrico fueron superadas por el trabajo de Villalón et al. que estudió la variedad clonal de 814 cepas de *A. baumannii* enviadas al Centro Nacional de Microbiología para su estudio molecular, y que fueron aisladas en brotes nosocomiales de 19 hospitales españoles (principalmente de las UCIs) durante un período de 11 años (146). Los resultados de este trabajo confirmaron la transmisión interhospitalaria de *A. baumannii*. La distribución clonal de los distintos perfiles de PFGE encontrados en el estudio de Villalón reveló dos modelos de brotes: monoclonales y policlonales. El modelo monoclonal fue el más común, apareciendo en 15 de los 19 hospitales. El modelo policlonal sólo afectó a cuatro hospitales, reflejando en estos centros la coexistencia de clones esporádicos y epidémicos coincidiendo con los resultados de nuestro trabajo. En dos de estos cuatro hospitales uno de los clones fue claramente mayoritario como también sucedió en nuestro hospital. En otro de los cuatro hospitales se aislaron hasta tres clones epidémicos en el servicio de cardiología, lo que podría reflejar un bajo nivel de control de la infección nosocomial en esta unidad. Por último, sus resultados confirman que un clon puede volver a aparecer en diferentes momentos, lo que sugiere que puede producirse una persistencia endémica. En nuestro hospital, volvieron a aparecer casos nuevos de infección/colonización por *A. baumannii* debido al clon 1 después de finalizar nuestro estudio, lo que hace necesario mantener políticas adecuadas de control de la infección nosocomial después de un brote por este microorganismo.

El estudio de la variabilidad genética de las cepas de *A. baumannii* proporciona un conocimiento en profundidad sobre su epidemiología y la PFGE es considerada por varios autores el método de tipificación más discriminatoria para *A. baumannii* (140,146). Otros hospitales también han incluido este tipo de análisis molecular entre las medidas adoptadas para estudiar y erradicar los brotes por este microorganismo (75,156). Nuestros datos muestran que los estudios de tipado molecular con PFGE proporcionan una importante información acerca de la distribución témporo-espacial y la complejidad clonal de los brotes por este microorganismo.

Perfil de sensibilidad de las cepas de *A. baumannii*.

A. baumannii es una bacteria con una gran capacidad para desarrollar resistencias a los antimicrobianos, característica que contribuye a la dificultad en el control de los brotes causados por este microorganismo y a encontrar opciones terapéuticas adecuadas para las infecciones graves que produce (16). El desarrollo de resistencias a los antimicrobianos en esta especie está favorecido por su resistencia intrínseca y la elevada capacidad para incorporar ADN exógeno. De hecho, en la última década se ha producido un aumento alarmante a nivel mundial de la tasas de resistencia en *A. baumannii* (12–14). Particularmente importante es el aumento en los últimos años del porcentaje de resistencia a carbapenemes (15). En nuestro estudio, el porcentaje de resistencias a carbapenemes fue de un 85% a imipenem y un 80% a meropenem. Estos datos son comparables a los publicados por otro estudio multicéntrico español, donde en concreto un 82% de los aislados fueron resistentes a imipenem y un 83% a meropenem (14). En nuestro trabajo las beta-lactamasas asociadas a resistencia a carbapenemes fueron carbapenemasas tipo OXA, no detectándose metalo-beta-lactamasas. Estos resultados coinciden con lo publicado por otros autores que sitúan a las oxacilinasas (enzimas tipo OXA, clase D de Ambler) como las carbapenemasas más frecuentes en *A. baumannii* (9). En nuestro estudio sólo el clon 1 y 2 mostraron resistencia a carbapenemes, y las oxacilinasas encontradas en el clon 1 fueron OXA 51 y OXA 24 y en el clon 2 OXA 51 y OXA 58. El grupo de genes bla_{OXA-51} que codifica las enzimas OXA-51 es el único que es de origen cromosómico (no adquirido) en *A. baumannii*, localizándose en el cromosoma bacteriano lo que explica su distribución mundial (9). Este grupo de genes confiere resistencia a carbapenemes en *A. baumannii* sólo en presencia de la secuencia de inserción *ISAba1* en su promotor (43). La enzima OXA-24 que hemos detectado en el clon 1 fue descrita por primera vez en España y representó un segundo subgrupo de estas enzimas (41), codificada por el grupo de genes bla_{OXA-24} que codifica las enzimas OXA-24, 25, 26 y 40, habiéndose descrito también en Bélgica, Francia, Portugal y Estados Unidos (9). Por último, la enzima OXA-58 detectada en el clon 2 es codificada por un grupo de genes con actividad carbapenemasa, el bla_{OXA58} , descrito por primera vez en Francia (44) y

DISCUSIÓN

habiéndose detectado posteriormente en España, Bélgica, Turquía, Rumanía, Grecia, Reino Unido, Italia, Austria, Argentina, Australia, Estados Unidos, Kuwait y Pakistán (9). La amplia distribución de ambas enzimas podría deberse a que, al igual que el bla_{OXA-23}, son mediadas por plásmidos.

En nuestro trabajo los carbapenémicos mostraron muy poca actividad antimicrobiana frente a *A. baumannii* (15-20% de aislados sensibles), como ocurre en muchos otros países (68,157–159), llegando a ser la resistencia a los carbapenémicos en algunos de ellos un problema endémico (159). No se observaron diferencias importantes en la actividad de los 2 carbapenémicos evaluados (imipenem y meropenem), lo que concuerda con los resultados publicados por Gimeno et al en un estudio previo realizado en España (160) y del estudio multicéntrico español publicado por Fernández-Cuenca (14).

Por otra parte, los antimicrobianos con mejor actividad frente a *A. baumannii* en nuestro estudio fueron amikacina con un 0% de cepas resistentes y colistina con un 12,5%, seguidos de tobramicina con un 15%, ampicilina-sulbactam con un 22,5 % y tigeciclina con un 28,1%. En general, los datos de sensibilidad antimicrobiana que hemos obtenidos son similares a los descritos en otros países europeos y en estudios multicéntricos españoles, aunque existen algunas diferencias. La mayoría de los aislados de *A. baumannii* en nuestro trabajo fueron sensibles a colistina, al igual que en otros países de Europa, Norteamérica, América latina o Asia (157). Sin embargo el porcentaje de resistencias a este antibiótico en nuestro estudio (12,5%) fue superior a la media del estudio SENTRY (1,4%) (157), realizado a nivel mundial (2006-2009), con 4686 cepas, y del estudio multicéntrico español publicado por Fernández-Cuenca (3%) (14). También cabe destacar el hecho de que la resistencia a colistina únicamente se encontró en nuestro estudio en 5 de las 40 cepas estudiadas y todas ellas fueron del clon 2. Esta resistencia podría haberse seleccionado después de tratar al primer paciente infectado por el clon 2 con colistina, ya que este paciente recibió tratamiento con este antimicrobiano. Afortunadamente estas cepas del clon 2 mostraron sensibilidad a otros antimicrobianos como amikacina, ampicilina-sulbactam o tigeciclina y pudo limitarse su cadena de transmisión a otros pacientes. Por desgracia

DISCUSIÓN

ya se han descrito en España brotes por clones de *A. baumannii* resistente a colistina y a todos los antimicrobianos disponibles para el tratamiento de infecciones por este microorganismo (77). En países asiáticos se han descrito tasas de resistencia a colistina aún más elevadas (161).

La actividad de tigeciclina y ampicilina-sulbactam fue inferior a colistina aunque relativamente buena (71,8 y 77,5 % de aislados sensibles respectivamente), por lo que estos 2 antimicrobianos podrían constituir una opción terapéutica en infecciones graves causadas por *A. baumannii* multirresistente en nuestro centro. La resistencia a tigeciclina (28,1%) fue similar al estudio multicéntrico español de Fernández-Cuenca (24%) (14) y la de ampicilina-sulbactam (22,5%) fue menor a la encontrada en este estudio (65%). Entre los aminoglucósidos evaluados, la amikacina fue el que presentó mejor actividad (100%), seguida de tobramicina (85%) y gentamicina (70%); la amikacina también fue el aminoglucósido más sensible en el citado estudio español (14).

Un dato especialmente alarmante en relación con *A. baumannii* es la emergencia en la última década de cepas multirresistentes (17,75), tanto por la presión antibiótica selectiva por el uso de antimicrobianos de amplio espectro como por la transmisión de cepas resistentes entre pacientes (33). De hecho, *A. baumannii* multirresistente es uno de los principales patógenos implicados en brotes nosocomiales (75,106,129,132,133,156,162,163). En los últimos años el problema de la resistencia se ha agravado aún más con la aparición de cepas panresistentes (77). En nuestro centro un 90% de cepas aisladas fueron multirresistentes aunque ninguna panresistente. Los datos publicados por Fernández-Cuenca et al. a partir del estudio multicéntrico español del año 2010 señalan que el 94% de los aislados de *A. baumannii* fueron multirresistentes y de estos sólo un 2% fueron clasificados como panresistentes (14). Esta prevalencia de aislados de *A. baumannii* panresistente en España no es todavía tan alarmante como en otros países (159). En el trabajo de Villalon et al. los datos del estudio de sensibilidad mostraron igualmente un predominio de cepas multirresistentes y la primera opción para el tratamiento fueron amikacina y colistina (146), al igual que en nuestro estudio.

Pocos trabajos relacionan los datos de sensibilidad antibiótica con los perfiles genéticos. En nuestro caso su estudio nos ha permitido confirmar la asociación entre el comportamiento epidémico de los clones aislados de *A. baumannii* y la multirresistencia. Todas las cepas de *A. baumannii* pertenecientes a los clones epidémicos (clon 1 que se aisló en 30 pacientes y clon 2 en 6 pacientes) mostraron un fenotipo multirresistente, mientras que las que correspondieron a los clones esporádicos (clones 3, 4, 5 y 6 que afectaron a un sólo paciente cada uno) fueron mucho más sensibles y no mostraron en ningún caso multirresistencia. Estos datos confirman lo publicado por otros autores que han observado que las tasas de resistencia en cepas epidémicas de *A. baumannii* son significativamente más altas que en las cepas aisladas de casos esporádicos (83,84). Algunos trabajos señalan que la resistencia a las fluoroquinolonas se asoció con un comportamiento epidémico en este microorganismo (83). Así mismo el incremento observado de aislados de *A. baumannii* carbapenem-resistentes se asocia con brotes epidémicos hospitalarios (60,86). Los datos del estudio multicéntrico español publicados por Rodríguez-Baño (11) confirmaron que los clones resistentes a imipenem o a quinolonas fueron más frecuentemente epidémicos. Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que la multirresistencia a los antimicrobianos puede favorecer el comportamiento epidémico de algunos clones de *A. baumannii*. La multirresistencia puede facilitar la selección y la persistencia de estas cepas en el medio hospitalario así como en los pacientes tratados con antibióticos de amplio espectro, contribuyendo a su supervivencia y propagación en hospitales (85). Igualmente, Koeleman et al. encontraron que las cepas epidémicas de *A. baumannii* fueron significativamente más resistentes a los antibióticos que las cepas aisladas en casos esporádicos (85). Estos hallazgos sugieren que cualquier aislamiento clínico de *A. baumannii* con resistencia a múltiples antibióticos podría indicar el riesgo de una cepa productora de un brote nosocomial y deberían extremarse las medidas de control (85).

Factores de riesgo de infección/colonización por *A. baumannii*

La colonización es un antecedente común de la infección por *A. baumannii* y este paso está influenciado por varios factores, particularmente en UCIs donde los pacientes son sometidos a múltiples manipulaciones (164). La presencia y la duración de los procedimientos invasivos, así como la exposición a los antibióticos de amplio espectro, pueden dar lugar a la colonización por bacterias oportunistas tales como *Acinetobacter* sp. y han sido identificados como factores de riesgo para la adquisición de este microorganismo (87). Los factores de riesgo asociados con el desarrollo de la infección/colonización por *A. baumannii* encontrados en nuestro trabajo son: la ventilación mecánica, la traqueostomía, la nutrición parenteral, la mayor instrumentalización (incluidos catéteres venosos centrales, sondajes y drenajes), la presencia de úlceras cutáneas o heridas quirúrgicas y la antibioterapia previa. Estos mismos factores han sido descritos en las revisiones de Fournier (5) y Bergogne-Bérézin (2). Sin embargo, en relación a los factores de riesgo descritos en la revisión de Bergogne-Bérézin asociados al desarrollo de infección/colonización por *A. baumannii* (2), en nuestro trabajo hemos encontrado que ni la edad avanzada ni la enfermedad crónica ni la alteración de la inmunidad fueron factores de riesgo en nuestros pacientes ya que no presentaban diferencias significativas con respecto a los controles. Esto coincide con lo publicado por otros autores que tampoco encuentran esta asociación (165). En nuestro estudio, tanto el grupo de casos como el de controles presentaron un patrón de factores de riesgo intrínsecos y comorbilidades muy similar, con una puntuación final baja del índice de Charlson (indicador de la comorbilidad asociada) y sin encontrarse diferencias significativas. Por otro lado, el índice de gravedad APACHE II fue significativamente superior en los casos que en los controles ($20,3 \pm 9,1$ vs. $12,6 \pm 8,5$; $p < 0,001$). En el estudio de Youhg et al. encontraron resultados similares en estos dos índices, lo que parece señalar que la infección/colonización por *A. baumannii* no se relaciona con la comorbilidad o enfermedad de base pero sí en gran medida con la gravedad de los pacientes en el momento de su ingreso en UCI (106).

En la última década se han realizado distintos estudios para investigar los factores de riesgo asociados a la adquisición de *A. baumannii*, principalmente en cepas resistentes a carbapenemes o multirresistentes, y la mayoría se han centrado en una sola ciudad o institución (17,86,106,164). También se han publicado estudios multicéntricos realizados a nivel nacional como el de Cisneros que incluyó a 25 hospitales españoles (166). En él se estudiaron los factores de riesgo para la adquisición de *A. baumannii* imipenem-resistente en España e incluyó pacientes infectados y colonizados por este microorganismo. Sus resultados concluyeron que los hospitales con más de 500 camas, el tratamiento antimicrobiano, el catéter urinario y la cirugía previa fueron factores de riesgo independientes para la adquisición de *A. baumannii* resistente a carbapenemes. Este trabajo señala que el aumento de la prevalencia de este patógeno multirresistente en España debería conducir a una respuesta inmediata a nivel local y nacional para limitar el uso inadecuado de los antibióticos, mejorar la capacidad de diagnóstico y reforzar la adhesión a las medidas destinadas a prevenir y controlar la infección nosocomial (166).

Estudio de la presión antibiótica y del desarrollo de la infección/colonización por *A. baumannii*

Para estudiar el posible efecto de la presión antibiótica en el desarrollo del brote hemos analizado tanto la prescripción individual de antimicrobianos durante la estancia de los pacientes estudiados en UCI como el consumo global en este servicio mediante estudios de Series Temporales con modelización ARIMA.

En nuestro trabajo la antibioterapia previa ha demostrado ser un importante factor de riesgo de la infección/colonización por *A. baumannii*. Aunque diversas publicaciones valoran la asociación entre el consumo de antimicrobianos y la infección/colonización por distintos microorganismos multirresistentes como *A. baumannii* (164,166), pocos han estudiado como afecta a esta relación el nivel de exposición previa a los antibióticos usando medidas de dosis acumulada o potencia del tratamiento (167), y la mayoría sólo analizan el uso o no de un determinado antibiótico. Hasta la fecha no hemos encontrado estudios que también evalúen la presión antibiótica global

DISCUSIÓN

agregada en una unidad de hospitalización sobre la aparición y la magnitud de un brote epidémico de *A. baumannii* multirresistente utilizando una metodología de Análisis de Series Temporales con modelos ARIMA, los cuales se han utilizado en otros contextos y con otros microorganismos (131).

Después de estudiar la prescripción individual de antimicrobianos, teniendo en cuenta el consumo por grupos de antibióticos, nuestros resultados muestran que el uso de carbapenemes, cefalosporinas de 3ª generación, penicilinas-inhibidor de beta-lactamasas, glucopéptidos, aminoglucósidos y quinolonas fueron significativamente mayores en el grupo de pacientes infectados/colonizados por *A. baumannii* respecto a los controles. Estas diferencias se mantuvieron incluso después de ajustar por edad y gravedad (APACHEII) de los pacientes. Hemos observado esta asociación en las dos dimensiones estudiadas, tanto dosis acumulada (DDD) como potencia del tratamiento (DDD/día), aunque la asociación fue mayor para la última. Otros estudios encontraron que desde el punto de vista del efecto dosis-respuesta, la potencia del tratamiento fue la medida de la exposición a antibióticos que presentó una mayor asociación, con ORs más altas para esta medición (167). El consumo de antibióticos de amplio espectro puede desplazar la flora bacteriana de los pacientes, facilitando la colonización/infección por bacterias como *A. baumannii*, seleccionando las especies y cepas de microorganismos más resistentes. Al igual que el nuestro, distintos estudios han demostrado que la exposición previa a ciertos antimicrobianos aumenta el riesgo de infección/colonización por *A. baumannii*, como el consumo de cefalosporinas de tercera generación (5,86,168), carbapenemes (5,167,169), fluoroquinolonas (5,130), aminoglucósidos (5) y glucopéptidos (77). Sin embargo, estos trabajos no recogen de manera adecuada el carácter dinámico de la evolución de las resistencias que permita establecer la relación temporal entre el consumo de los diferentes antimicrobianos y la evolución de las resistencias en *A. baumannii*. En este sentido, son deseables procedimientos de análisis que tengan en cuenta la evolución de la resistencia a lo largo de periodos prolongados de tiempo a través de las pequeñas variaciones que se producen en intervalos cortos de tiempo (porcentajes de resistencias mensuales) y permitan predecir el estado actual de las resistencias y su comportamiento futuro (131). Con este objetivo hemos realizado un Análisis de Series Temporales (modelos

ARIMA) que nos ha permitido evaluar la relación temporal entre el consumo global de antibióticos en UCI y la aparición de cepas resistentes de *A. baumannii*. Estos modelos nos han posibilitado describir cómo las relaciones se hicieron máximas y estadísticamente significativas para retardos situados entre los 6 meses (ceftazidima) y 9 meses previos (imipenem y levlofloxacino). Por tanto, la aparición de resistencias parece asociarse a consumos previos de antibióticos situado de 6 a 9 meses antes de la aparición de las cepas resistentes. También se han publicado estudios ecológicos que relacionan el incremento de la prevalencia de *A. baumannii* panresistente con el aumento del consumo en un determinado servicio de ciertos antibióticos como carbapenemes (170), o que describen cómo el incremento de *Acinetobacter* sp. resistente a meropenem se asoció significativamente con el aumento del uso de cefalosporinas de amplio espectro (171). Sin embargo, estos estudios ecológicos no contemplaron de manera adecuada la relación temporal entre el uso de antibióticos y la aparición de cepas de *A. baumannii* resistente ya que utilizaron agregados anuales y no mensuales como hemos realizado en nuestro trabajo, lo que dificulta establecer el entendimiento de esta asociación y el decalaje con el que se produce la aparición de las resistencias.

Impacto clínico de la infección/colonización por *A. baumannii*.

En nuestro trabajo hemos encontrado 40 pacientes en los que se aisló *A. baumannii*, de los cuales 23 (57,5%) desarrollaron infecciones por este microorganismo y 17 (42,5%) sólo se colonizaron. Esta cifra es similar a la de otros estudios que incluyeron pacientes colonizados y que sitúan la tasa de infección alrededor del 50%, como los datos publicados por Rodríguez-Baño que realizó un estudio multicéntrico incluyendo a 28 hospitales y mostrando que de los 206 casos detectados, 109 (52,9%) desarrollaron una infección por *A. baumannii* y el resto sólo fueron colonizaciones (11). Como señala el citado estudio multicéntrico es necesario interpretar adecuadamente la significación clínica de este microorganismo cuando se aísla a partir de muestras clínicas para evitar el uso innecesario de antimicrobianos. Por otro lado, la colonización de los pacientes tiene una elevada relevancia en la epidemiología de *A. baumannii* y una gran importancia en la cadena de transmisión (11,172).

DISCUSIÓN

Aunque *A. baumannii* puede causar infecciones en todos los órganos y aparatos, predominan las infecciones de las vías respiratorias seguido de las bacteriemias (173,174). En cuanto al tipo de infecciones desarrolladas por nuestros pacientes, las respiratorias fueron las más frecuentes apareciendo 14 neumonías (38%) y 7 infecciones respiratorias de vías bajas sin neumonía (19%). Ciertas intervenciones invasivas, como la intubación respiratoria, proporcionan una vía de entrada de muchos patógenos nosocomiales incluyendo *A. baumannii*. Los tipos de infecciones en el estudio multicéntrico de Rodríguez-Baño fueron los siguientes: infecciones del tracto respiratorio (49,05%), infecciones de la herida quirúrgica (15,09%), infecciones del tracto urinario (10,37%), infecciones de piel y partes blandas (8,49%), flebitis (4,71%), meningitis (3,77%), bacteriemia (2,83%) e infecciones intra-abdominales (1,88%). En nuestro trabajo no hemos hallado ninguna infección del sistema nervioso central por este microorganismo, lo que seguramente esté en relación a que nuestra UCI no recibe pacientes de neurocirugía y a que este tipo de infecciones habitualmente son secundarias a procedimientos neuroquirúrgicos en pacientes portadores de drenajes ventriculares externos (79). Otra diferencia con nuestro trabajo es que en este estudio multicéntrico las bacteriemias ocupan un papel más secundario que en nuestro centro, donde hemos encontrado que se sitúan en el segundo lugar de infecciones más frecuentes con un 19%. Las posibles causas de esta diferencia podemos encontrarla en el hecho de que el estudio de Rodríguez-Baño no se centra en pacientes de UCI donde el paciente está más instrumentalizado (mayor uso de catéter venoso central o de ventilación mecánica) o bien a la diferente situación epidemiológica de cada hospital. En el estudio de Young et al. de un brote ocurrido en UCI, las bacteriemias ocuparon un lugar más destacado, situándose también en segundo lugar con un 25,4%, cifra superior a la nuestra (106). En nuestro trabajo en tercer lugar se encuentran las flebitis y arteritis (13%), seguidas de infecciones del sitio quirúrgico (2,5%), infecciones del tracto urinario (1,3%) e infecciones de piel y partes blandas (1,3%).

Otro dato revelado por nuestro estudio sobre el impacto clínico de este microorganismo fue que tanto la infección como la colonización por *A. baumannii* produjeron un alargamiento de la estancia hospitalaria. Esto se mantuvo incluso

DISCUSIÓN

después de ajustar por gravedad (APACHE II), siendo comparable a lo publicado en diferentes estudios y revisiones sistemáticas (7,9,175,176).

En nuestro estudio la mortalidad se asoció con la infección por *A. baumannii* sin una relación tan clara con la colonización. Esta asociación se mantuvo tanto para la mortalidad en la UCI como a nivel intrahospitalario, incluso después de ajustar por gravedad. Dado que la infección por *A. baumannii* normalmente ocurre en pacientes críticos, la mortalidad cruda asociada es alta (26-68%) (100,101), siendo del 27,5% en nuestro trabajo. Sin embargo, existe en la literatura controversia sobre el tema de la mortalidad atribuible. La heterogeneidad metodológica entre los estudios publicados puede hacer difícil la comparación entre ellos y extraer conclusiones definitivas. En la revisión de Peleg et al. la mortalidad atribuible encontrada varió del 4 al 36,5% (9). Esta revisión incluyó distintos tipos de estudios y de infecciones observando las tasas más altas en los trabajos sobre bacteriemias, aunque algunos de ellos podrían estar limitados por el pequeño tamaño de la muestra, las diferencias en la metodología (distintas definiciones de casos y controles, infecciones de una o varias localizaciones, infecciones por *A. baumannii* sensible o multirresistente, calidad de identificación de especies), y la dificultad para ajustar de forma adecuada la gravedad de la enfermedad de base del paciente (posible factor de confusión). Existen pocas publicaciones sobre la mortalidad atribuible que utilicen análisis multivariante, aunque éste sea el tipo de estudio más adecuado, siendo la tasa de mortalidad atribuible revelada por estos pocos trabajos del 10 al 20% (87) ligeramente superior a la encontrada en la UCI de nuestro hospital (9%). Una revisión sistemática sobre este tema concluyó que la infección/colonización por *Acinetobacter* sp. se asociaba a un incremento de la mortalidad (7), aunque algunos de los estudios que incluía estaban limitados por la falta de control adecuado para la gravedad de la enfermedad de los pacientes. Una revisión posterior de los mismos autores (que incluyó nuevos estudios de cohortes y de casos-contróles) concluyó que la infección por *A. baumannii* se asocia con un aumento de la mortalidad, incluso después del ajuste para posibles factores de confusión importantes tales como la gravedad de la enfermedad y el efecto del tratamiento antimicrobiano empírico (175). Otros trabajos que estudian por separado los pacientes infectados de los colonizados por *A. baumannii* concluyeron que sólo la

infección se asoció a un aumento significativo de la mortalidad con respecto al grupo control (102). Esto último coincide con nuestro estudio donde hallamos que la mortalidad se asoció estrechamente con la infección por *A. baumannii* sin una relación tan clara con la colonización, incluso después de ajustar por gravedad. Sin embargo, existen también publicaciones donde se controló la gravedad de la enfermedad de base en el análisis estadístico y no encontraron un aumento significativo de la mortalidad asociada a la infección de *A. baumannii* en el análisis multivariante (106,177,178). Este es el caso de un estudio realizado por el CDC, que implicaba el ajuste de variables de confusión, y aunque se observó un aumento de la mortalidad asociada a la infección por *A. baumannii* multirresistente, la diferencia no fue estadísticamente significativa cuando se controló la gravedad de la enfermedad de base en el análisis estadístico (101). En el estudio multicéntrico español de Álvarez-Lerma et al. no se encontraron diferencias en la mortalidad global en el servicio de UCI entre los pacientes con infecciones por *Acinetobacter sp.* o por otros microorganismos, aunque en ambos casos fue significativamente mayor que la de los pacientes sin infecciones, y siendo la mortalidad en el grupo de pacientes con infecciones por *Acinetobacter sp.* independiente de la gravedad (3).

La mortalidad atribuible a la infección podría estar relacionada con la elevada capacidad de este microorganismo de desarrollar resistencias a los antimicrobianos, la inadecuación del tratamiento empírico y la disponibilidad o no de alguna opción terapéutica según la sensibilidad de la cepa aislada (33).

Control de brotes hospitalarios por *A. baumannii*.

A. baumannii es una bacteria endémica en algunos centros hospitalarios (132) y responsable de numerosos brotes nosocomiales en todo el mundo (8). Su capacidad de diseminación puede deberse a distintos factores, entre los que están su elevada capacidad de desarrollar resistencia a los antimicrobianos y de colonizar pacientes, así como su elevada resistencia a la desecación que le permite sobrevivir largos periodos de tiempo en el ambiente hospitalario (9). Un estudio reciente (179) relaciona la resistencia a la desecación de *A. baumannii* con la formación de biofilms. Este estudio

DISCUSIÓN

concluye que las cepas formadoras de biofilms presentaron tiempos de supervivencia significativamente mayores que las no formadoras de biofilms cuando fueron estudiadas en una superficie de vidrio y sin humedad. Por tanto, la capacidad de formar biofilms puede contribuir a la persistencia de este microorganismo en el ambiente hospitalario aumentando la posibilidad de causar infecciones y brotes nosocomiales (179).

Los resultados obtenidos gracias al programa de vigilancia activa y de control ambiental sugieren, junto con otros trabajos publicados, que los pacientes colonizados (66,172) y la contaminación ambiental (18,66,124) pudieron actuar como reservorios para *A. baumannii*. En la mayoría de los hospitales existe una situación mixta en la que el principal reservorio lo constituyen los pacientes colonizados actuando las superficies ambientales como un reservorio intermediario (8,132). Nuestro estudio ha permitido detectar la presencia del clon 1 causante del brote en 30 pacientes y en distintas superficies ambientales (muestras de suelo, cama y monitores). Tal vez la capacidad de *A. baumannii* de persistir en estas y otras superficies puede explicar la presencia de brotes prolongados, así como las dificultades encontradas para lograr la erradicación completa del entorno de la UCI (106). Algunos estudios publicados encontraron como origen del brote una fuente común contaminada: respiradores de Wright (180), ventiladores (181,182), humidificadores (183), líquidos contaminados de diálisis peritoneal y equipos de radiografía portátil (130).

El mecanismo de transmisión más común descrito para este microorganismo es la transmisión cruzada de persona a persona a través de las manos del personal sanitario, además de la transmisión directa desde las superficies contaminadas (10). En el estudio de Corbella et al. se demuestra la importancia de la contaminación cruzada a través de la transmisión por las manos del personal con el apoyo de los cultivos positivos de guantes usados por los miembros que habían estado en contacto con pacientes (172). El papel de los guantes de látex en esta transmisión ha sido claramente demostrado por otros autores (184), subrayando así la importancia de la aplicación adecuada de las medidas de aislamiento para controlar los brotes. Nuestro

DISCUSIÓN

trabajo no ha recogido cultivos de manos del personal o guantes de látex que puedan confirmar estos datos.

A. baumannii es considerado uno de los microorganismos más difíciles de controlar en relación con la infección nosocomial (17,18,185). Debido al brote de *A. baumannii* ocurrido en nuestro hospital se implementó un paquete de medidas que resultaron eficaces, disminuyendo la incidencia de infección/colonización por este microorganismo, y no detectándose ningún caso nuevo desde abril de 2009 hasta el final del estudio. En nuestro centro estas medidas incluyeron los cultivos de vigilancia activa para la detección y aislamiento de todos los de pacientes infectados/colonizados, extremando al mismo tiempo determinadas precauciones como uso de guantes y batas desechables. Igualmente se llevó a cabo un programa de educación dirigido a todo el personal de la UCI sobre la severidad del problema, haciendo especial hincapié en la importancia del lavado de manos y del uso de soluciones hidroalcohólicas. También se realizaron cultivos de vigilancia ambiental para identificar superficies contaminadas y una meticulosa limpieza diaria del equipamiento de cada habitación. Por último, como se ha detallado anteriormente, hemos incluido la realización de estudios moleculares para estudiar la relación clonal de las cepas aisladas y entender la complejidad del brote. Todas estas medidas han sido utilizadas en el control de otros brotes o epidemias por *A. baumannii* como se muestra en la revisión de Villegas et al de 51 artículos publicados sobre el tema (8) o la revisión de Fournier (5) que incluyó 86 artículos. En estas revisiones se concluye que cuando se identificó una fuente común contaminada (ventiladores, equipos de radiografía portátil), el brote fue controlado por la erradicación de la fuente. En otras circunstancias, cuando no se identificó una fuente común contaminada como ocurrió en nuestro trabajo, se utilizaron diversas medidas que incluyeron higiene de manos estricta, medidas de aislamiento de pacientes, desinfección ambiental, rápida identificación de nuevos casos mediante vigilancia activa, cohortes de pacientes y del personal, control sobre el uso de antimicrobianos, descolonización de pacientes y, en algunos centros, el cierre de la unidad. En la revisión de Fournier también se señala que es importante tener en cuenta que las medidas de control, tales como el estricto

DISCUSIÓN

aislamiento de contacto, limitan tanto la colonización del personal como la contaminación del medio ambiente (5).

Con las medidas aplicadas para el control del brote en nuestro hospital no sólo se consiguió reducir la incidencia de infección/colonización por *A. baumannii*, sino que además, de manera paralela se redujo el número de bacteriemias por este microorganismo. Rodríguez-Baño et al. también muestran como hubo una reducción paralela en la incidencia de bacteriemias por este microorganismo (132) y, al igual que en nuestro trabajo, encontraron que los picos de bacteriemias se asociaban a picos de incidencia de infección/colonización, lo que sugiere que las bacteriemias por *A. baumannii* podrían ser un indicador de gravedad de la situación. Igualmente hemos detectado que esta disminución de la incidencia de infección/colonización por *A. baumannii* ocurrió en paralelo a una reducción de la diversidad clonal de las cepas estudiadas, lo que también describió Rodríguez-Baño (132). Las posibles causas de este hecho pueden ser que las medidas tomadas fueron eficaces en el control de la mayoría de los clones, pero no pudieron erradicar uno de ellos (en nuestro caso el clon 1), o bien que dichas medidas pudieron haber frenado la aparición de nuevos clones (132).

Todas las medidas de control descritas resultaron eficaces en nuestro centro; sin embargo, en los años siguientes y de manera esporádica ha aparecido algún caso nuevo de infección/colonización por *A. baumannii* (aunque no se ha detectado ninguna nueva bacteriemia por este microorganismo en la UCI), por lo que se ha decidido mantener la vigilancia activa de portadores dos veces por semana en el servicio de UCI, los estudios periódicos de colonización ambiental, y estrictas medidas de aislamiento que permitan mantener bajas tasas de infección nosocomial por este microorganismo en nuestro centro. La necesidad de mantener estas medidas puede apoyarse en otros trabajos como el publicado por Rodríguez Baño que investiga el impacto a largo plazo de un paquete de medidas en el control de una situación de epidemia por *A. baumannii* multirresistente (132) y muestra como fue seguido por un descenso notable y sostenido en las tasas de colonización e infección por este microorganismo. Igualmente el trabajo de Apisarnthanarak et al. muestra el éxito de este tipo de estrategia de intervención múltiple en la reducción de las tasas de *A.*

baumannii multirresistente (125), demostrando una reducción sostenida de la tasa infección/colonización por este microorganismo, así como del coste de la terapia con antibióticos y del coste de la hospitalización entre los pacientes de la UCI (125). Este estudio, al igual que otros trabajos anteriores (124), apoya la eficacia de los cultivos de vigilancia activa en el control de la infección/colonización por *A. baumannii* en UCI, donde la persistencia a largo plazo de una cepa potencialmente epidémica (incluso durante un período fuera de brotes) indica la necesidad de una vigilancia continua. El trabajo de Webster et al. concluye que la vigilancia periódica del paciente y del medio ambiente, combinado con la tipificación de aislados, es recomendable en las UCIs donde se hayan producido brotes por *A. baumannii* en el pasado (124). Por otro lado, a pesar de que la vigilancia activa es costosa (17), puede subrayar el mensaje educativo y fomentar la concienciación y adherencia del personal sanitario (132).

2. LIMITACIONES Y PUNTOS FUERTES

Nuestro trabajo puede tener algunas de las limitaciones de un estudio observacional y retrospectivo, como son el mayor riesgo de presentar sesgos de selección e información. Para el control del sesgo de selección hemos escogido como controles aquellos pacientes ingresados en la UCI durante el mismo periodo que los casos (la misma semana) coincidiendo con la fecha del primer aislamiento de *A. baumannii* en su caso apareado y que no desarrollaron ni colonización ni infección por *A. baumannii* durante el tiempo que duró el estudio. Sólo pudimos escoger 73 controles que cumplieran estos criterios pero como mínimo todos los casos tuvieron un control apareado. Por otro lado, consideramos que la información recogida en las historias de UCI es lo suficientemente exhaustiva como para limitar al máximo el sesgo de información.

Entre las posibles limitaciones de nuestro trabajo se encuentra la inclusión de pacientes asintomáticos colonizados dentro del grupo de casos. Esta selección podría ser considerada inapropiada por algunos investigadores, aunque al igual que otros trabajos publicados (77,167) hemos decidido incluirlos en nuestro estudio basándonos en la consideración de la colonización como un antecedente de la infección por *A.*

baumannii y el hecho de que estos pacientes son un reservorio importante de transmisión. Igualmente pensamos que las muestras de cultivos de vigilancia epidemiológica activa pueden darnos una valiosa información sobre la colonización que nos permita a su vez superar las limitaciones de otros estudios publicados que sólo disponen de los datos de *A. baumannii* aislados en muestras clínicas, con lo cual los pacientes colonizados sin manifestaciones clínicas podrían haber sido erróneamente considerados como controles (186).

Pensamos que el presente estudio ha permitido superar algunas limitaciones metodológicas encontradas en trabajos anteriores. Hemos recogido de manera precisa la información acerca de la exposición a antibióticos, utilizando las DDD como unidad de medida para investigar el efecto de la dosis acumulada y la potencia del tratamiento (DDD/día) en la adquisición de *A. baumannii* entre los pacientes ingresados en UCI. Ambas medidas reflejan de manera más exacta el efecto dosis-respuesta como medida del uso de antimicrobianos, lo cual no se refleja en la clasificación con respecto al uso de antibióticos que se utiliza en la mayoría de estudios que sólo incluyen el uso o no de un determinado fármaco (167). También hemos estudiado el efecto de la presión antibiótica global agregada en UCI sobre la aparición y la magnitud de un brote epidémico de *A. baumannii* multirresistente utilizando una metodología de Análisis de Series Temporales con modelos ARIMA, los cuales se han utilizado en otros contextos y con otros microorganismos (131).

Hemos realizado un análisis molecular de las cepas de *A. baumannii* mediante PFGE, lo que nos ha permitido establecer su relación genética y demostrar la propagación de un clon epidémico causante del brote, superando las limitaciones de otros trabajos publicados carentes de este tipo de métodos en el estudio de brotes nosocomiales (176). El método de tipificación utilizado ha sido útil para estudiar la diseminación de *A. baumannii*, determinando el número de clones circulantes, identificando los posibles reservorios y los mecanismos de transmisión, así como la eficacia de las medidas de control realizadas, pudiendo estudiar en definitiva la complejidad del brote.

Por último hemos tratado de controlar los posibles factores de confusión en las estimaciones de las asociaciones especificando en los modelos multivariantes todos los factores implicados tanto en la etiología como en el pronóstico de la colonización/infección por *A. baumannii*.

3. IMPLICACIONES PARA LA PRÁCTICA CLÍNICA.

Nuestro trabajo tiene importantes implicaciones prácticas ya que permite identificar los factores causales asociados a este tipo de infección, algunos de ellos modificables como la instrumentalización y la presión antibiótica. La restricción del consumo de antimicrobianos de amplio espectro (cuando sea posible) y las políticas de rotación de antibióticos son medidas destinadas a un uso racional de antimicrobianos y a reducir la selección de resistencias (132). La realización de un Análisis de Series Temporales con modelos ARIMA nos ha permitido evaluar la relación temporal entre el consumo global de antibióticos en UCI y el incremento de casos de *A. baumannii* resistente. Los resultados de nuestro estudio señalan la antelación entre el aumento en el consumo/prescripción de antibióticos y la aparición de casos de *A. baumannii* resistente, lo que nos permitiría tener un margen de actuación (de 6 a 9 meses) para anticiparnos a la aparición de un incremento de casos. Nuestros resultados podrían ser útiles para la monitorización de las resistencias y la elaboración de modelos predictivos que permitan su uso como herramientas de gestión en las políticas antibióticas de cada hospital.

En este estudio hemos comprobado que la distribución epidémica de un microorganismo como *A. baumannii* puede ser prevista, monitorizada y conocerse sus causas y consecuencias en un ámbito hospitalario. Por último, nuestros resultados señalan la necesidad de mantener adecuados sistemas de vigilancia epidemiológica y control de la infección nosocomial para detectar los casos de colonización, cortar la cadena de transmisión y evitar su paso a un estado de infección que pueda suponer un aumento del riesgo de mortalidad.

4. RECOMENDACIONES PARA INVESTIGACIONES FUTURAS

Distintos factores dependientes del huésped, de la carga bacteriana y de la virulencia individual de las cepas pueden desempeñar un papel importante en el desarrollo de la infección por *A. baumannii* (87). Aunque éste es considerado un patógeno oportunista serían recomendables nuevos trabajos que estudien en profundidad los distintos determinantes de virulencia que contribuyen en la patogénesis de la infección por este microorganismo.

Sería también recomendable la realización de un estudio multicéntrico que nos permitiese estudiar la difusión interinstitucional de *A. baumannii*. Este tipo de estudio nos permitiría a su vez comprobar la consistencia de nuestros hallazgos sobre la relación dinámica entre la presión antibiótica y la aparición de un brote por *A. baumannii* resistente, investigando si en otros centros se confirma la existencia de una relación separada en el tiempo de 6 a 9 meses o un retardo similar, lo que nos permitiría la elaboración de modelos predictivos que permitan su uso como herramientas de gestión de las políticas antibióticas de cada hospital.

Por último, debido a las limitaciones en el escenario terapéutico actual, sería necesaria la máxima optimización en el uso de los antimicrobianos existentes para el tratamiento de las infecciones por este microorganismo. En este sentido sería recomendable la realización de ensayos clínicos aleatorizados que evalúen el papel de la sinergia o la terapia combinada en el tratamiento de la infección por *A. baumannii* multirresistente con el fin de mejorar la eficacia del tratamiento y prevenir la aparición de resistencias. Igualmente, son necesarias nuevas estrategias terapéuticas, como la búsqueda de fármacos que interfieran con los factores de patogenicidad de *A. baumannii* y no sólo inhiban el crecimiento de este microorganismo.

VII.CONCLUSIONES

1. La incidencia de infección/colonización por *A. baumannii* de este estudio es alta comparada con la descrita en otros trabajos.
2. Se observa un paralelismo entre la incidencia de casos de infección/colonización por *A. baumannii* y la aparición de bacteriemias (infecciones invasivas) por este microorganismo en UCI.
3. La distribución espacial de la infección/colonización por *A. baumannii* fue homogénea, afectando por igual a todos los boxes de la unidad.
4. El análisis molecular de los perfiles de PFGE permitió establecer la relación genética entre las cepas de *A. baumannii* estudiadas y detectar la presencia de un clon epidémico mayoritario que afectó a 30 pacientes.
5. El estudio de sensibilidad reveló la presencia de un 90% de cepas de *A. baumannii* multirresistente con una elevada resistencia a carbapenemes, siendo las betalactamasas asociadas a esta resistencia carbapenemasas tipo OXA y no detectándose ninguna metalobetalactamasa. Los datos de sensibilidad y los perfiles genéticos nos permitieron confirmar que el comportamiento epidémico de los clones se asoció con la multirresistencia.
6. La procedencia de otro hospital se comportó como un factor de riesgo de infección/colonización por *A. baumannii*.
7. Los casos de pacientes infectados/colonizados por *A. baumannii* presentaron un patrón de comorbilidades y de factores de riesgo intrínsecos similar al de los controles.
8. La gravedad de los pacientes infectados/colonizados por *A. baumannii* monitorizada por el índice APACHE II fue significativamente superior a la de los controles.

9. Los casos de pacientes infectados/colonizados por *A. baumannii* presentaron una prevalencia de factores extrínsecos (ventilación mecánica, nutrición parenteral, catéteres, drenajes, sondajes, presencia de úlceras cutáneas o heridas quirúrgicas y antibioterapia previa) muy superior a los controles.
10. La presión antibiótica previa fue mayor en los casos que en los controles tanto en dosis acumuladas (DDD) como potencia del tratamiento (DDD/día). El uso previo de carbapénemes, cefalosporinas de tercera generación, gluco péptidos, quinolonas, penicilinas/inhibidores de betalactamasa y aminoglucósidos fueron factores de riesgo independientes de la edad y gravedad para la adquisición de una infección/colonización por *A. baumannii*.
11. La relación dinámica y agregada entre la incidencia de casos de infección/colonización por *A. baumannii* resistente y la prescripción previa de antimicrobianos fue significativa para ceftazidima, imipenem y levofloxacino con retardos situados entre los seis y nueve meses.
12. Algo más de la mitad de los casos desarrollaron infecciones por *A. baumannii* siendo la localización respiratoria la más frecuente seguida de las bacteriemias.
13. La infección por *A. baumannii* se asoció a un incremento importante de la mortalidad hospitalaria y en UCI, triplicando el riesgo de *exitus* respecto a los controles, siendo esta asociación independiente de la gravedad medida por el índice APACHEII.
14. La infección por *A. baumannii*, y en menor medida la colonización por este microorganismo, se asociaron a un alargamiento significativo de la estancia hospitalaria independiente de la gravedad medida por el índice APACHE II.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Fernández-Cuenca F, Egea P, López-Cerero L, Díaz-De Alba P, Vila J, Pascual Á. Comparación de tres métodos para determinar la sensibilidad a imipenem y meropenem en *Acinetobacter baumannii* con fenotipo heterorresistente a carbapenemes. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008; 26:485–488.
2. Bergogne-Bérézin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*. 1996; 9:148–65.
3. Álvarez-Lerma F, Palomar M, Insausti J, Olaechea P, Cerdá E, Castillo F, et al. Infections caused by *Acinetobacter* spp. in critically ill ICU patients. *Enferm Infecc Microbiol*. 2005; 23:533–9.
4. Falagas ME, Karveli E. The changing global epidemiology of *Acinetobacter baumannii* infections: a development with major public health implications. *Clin Microbiol Infect*. 2007; 1:117–9.
5. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis*. 2006; 42:692–9.
6. Wilson SJ, Knipe CJ, Zieger MJ, Gabehart KM, Goodman JE, Volk HM, et al. Direct costs of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in the burn unit of a public teaching hospital. *Am J Infect Control*. 2004; 32:342–4.
7. Falagas ME, Bliziotis I, Siempos II. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Crit Care*. 2006:R48.
8. Villegas MV, Hartstein AI. *Acinetobacter* outbreaks, 1977-2000. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003; 24:284–95.
9. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2008 ; 21:538–82.

10. Corbella X, Pujol M, Argerich MJ, Ayats J, Sendra M, Peña C, et al. Environmental sampling of *Acinetobacter baumannii*: moistened swabs versus moistened sterile gauze pads. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1999; 20:458–60.
11. Rodríguez-Baño J, Cisneros JM, Fernández-Cuenca F, Ribera A, Vila J, Pascual A, et al. Clinical features and epidemiology of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in Spanish hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2004; 25:819–24.
12. Turner PJ. MYSTIC Europe 2007: activity of meropenem and other broad-spectrum agents against nosocomial isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009; 63:217–22.
13. Jones RN, Kirby JT, Rhomberg PR. Comparative activity of meropenem in US medical centers (2007): initiating the 2nd decade of MYSTIC program surveillance. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008; 61:203–13.
14. Fernández-Cuenca F, Tomás-Carmona M, Caballero-Moyano F, Bou G, Martínez-Martínez L, Vila J, et al. In vitro activity of 18 antimicrobial agents against clinical isolates of *Acinetobacter* spp.: multicenter national study GEIH-REIPI-Ab 2010. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2013; 31:4–9.
15. Gallego L, Canduela MJ, Sevillano E, Pujana I, Calvo F, Umaran A, et al. Carbapenemase detection in *Acinetobacter baumannii* clones resistant to imipenem. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2004; 22:262–6.
16. Fernández-Cuenca F, Pascual A, Ribera A, Vila J, Bou G, Cisneros JM, et al. Clonal diversity and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolated in Spain. A nationwide multicenter study: GEIH-Ab project (2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2004; 22:267–71.
17. Corbella X, Montero A, Pujol M, Domínguez MA, Ayats J, Argerich MJ, et al. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and

- sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol. 2000; 38:4086–95.
18. Urban C, Segal-Maurer S, Rahal JJ. Considerations in control and treatment of nosocomial infections due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Clin Infect Dis . 2003; 36:1268–74.
 19. Lisboa T, Rello J. Prevención de infecciones nosocomiales: estrategias para mejorar la seguridad de los pacientes en la Unidad de Cuidados Intensivos. Med Intensiva. 2008; 32:248–52.
 20. Brisou J, Prevot AR. Studies on bacterial taxonomy. The revision of species under Acromobacter group. Ann Inst Pasteur. 1954; 86:722–8.
 21. Lessel EF. Subcommittee on nomenclature of Moraxella and allied bacteria. Int. J. Sy. 1971.
 22. Lautrop H. Bergey's manual of determinative bacteriology. Williams & Wilkins Co., Baltimore M, editor. 1974.
 23. Koneman EW, Allen S. Koneman. Diagnostico Microbiologico: Texto y Atlas en Color. Ed. Médica Panamericana; 2008. 1691.
 24. Dijkshoorn L, Aucken HM, Gerner-Smidt P, Kaufmann ME, Ursing J, Pitt TL. Correlation of typing methods for *Acinetobacter* isolates from hospital outbreaks. J Clin Microbiol. 1993; 31:702–5.
 25. Lim YM, Shin KS, Kim J. Distinct antimicrobial resistance patterns and antimicrobial resistance-harboring genes according to genomic species of *Acinetobacter* isolates. J Clin Microbiol. 2007; 45:902–5.
 26. McConnell MJ, Pérez-Romero P, Lepe JA, Pérez-Ordóñez A, Valencia R, Vázquez-Barba I, et al. Positive predictive value of Leeds acinetobacter medium for environmental surveillance of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol. 2011; 49:4416.

27. Bouvet PJM, Grimont PAD. Taxonomy of the Genus *Acinetobacter* with the Recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and Emended Descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus*. *Int J Syst Bacteriol. Society for General Microbiology*. 1986; 36:228–40.
28. Bouvet PJ., Grimont PA. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann l'Institut Pasteur/Microbiol*. 1987; 138:569–78.
29. Janssen P, Maquelin K, Coopman R, Tjernberg I, Bouvet P, Kersters K, et al. Discrimination of *Acinetobacter* genomic species by AFLP fingerprinting. *Int J Syst Bacteriol*. 1997; 47:1179–87.
30. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol*. 2006; 44:2974–6.
31. Ecker J a, Massire C, Hall T a, Ranken R, Pennella T-TD, Agasino Ivy C, et al. Identification of *Acinetobacter* species and genotyping of *Acinetobacter baumannii* by multilocus PCR and mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2006; 44:2921–32.
32. Higgins PG, Wisplinghoff H, Krut O, Seifert H. A PCR-based method to differentiate between *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomic species 13TU. *Clin Microbiol Infect*. 2007; 13: 1199–201.
33. Torres HA, Vázquez EG, Yagüe G, Gómez JG. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: clinical update and new highlights. *Rev Esp Quimioter*. 2010; 23:12–9.
34. Bou G, Martínez-Beltrán J. Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44:428–32.
35. Vila J, Marco F. Interpretive reading of the non-fermenting gram-negative bacilli antibiogram. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010; 28:726–36.

36. Héritier C, Poirel L, Nordmann P. Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of ISAba1 in *Acinetobacter baumannii*. Clin Microbiol Infect. 2006; 12:123–30.
37. Corvec S, Caroff N, Espaze E, Giraudeau C, Drugeon H, Reynaud A. AmpC cephalosporinase hyperproduction in *Acinetobacter baumannii* clinical strains. J Antimicrob Chemother. 2003;52:629–35.
38. Hujer KM, Hamza NS, Hujer AM, Perez F, Helfand MS, Bethel CR, et al. Identification of a new allelic variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7 beta-lactamase: defining a unique family of class C enzymes. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(7):2941–8.
39. Paton R, Miles RS, Hood J, Amyes SG. ARI 1: beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. Int J Antimicrob Agents. 1993; 2:81–7.
40. Brown S, Amyes S. OXA (beta)-lactamases in *Acinetobacter*: the story so far. J Antimicrob Chemother. 2006; 57(1):1–3.
41. Bou G, Oliver A, Martínez-Beltrán J. OXA-24, a novel class D beta-lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44(6):1556–61.
42. Brown S, Young HK, Amyes SGB. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina. Clin Microbiol Infect. 2005; 11(1):15–23.
43. Kempf M, Rolain J-M. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. Int J Antimicrob Agents. 2012; 39(2):105–14
44. Poirel L, Marqué S, Héritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. OXA-58, a novel class D {beta}-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49:202–8.

45. Corvec S, Poirel L, Naas T, Drugeon H, Nordmann P. Genetics and expression of the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase gene blaOXA-23 in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51:1530–3.
46. Poirel L, Nordmann P. Genetic structures at the origin of acquisition and expression of the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase gene blaOXA-58 in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50:1442–8.
47. Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett.* 2006; 25:72–7.
48. Segal H, Garny S, Elisha BG. Is IS(ABA-1) customized for *Acinetobacter*? *FEMS Microbiol Lett.* 2005; 243:425–9.
49. Lee K, Yum JH, Yong D, Lee HM, Kim HD, Docquier J-D, et al. Novel acquired metallo-beta-lactamase gene, bla(SIM-1), in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49(11):4485–91.
50. Magnet S, Courvalin P, Lambert T. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45:3375–80.
51. Su X-Z, Chen J, Mizushima T, Kuroda T, Tsuchiya T. AbeM, an H⁺-Coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49(10):4362–4
52. Hamouda A, Amyes SGB. Novel gyrA and parC point mutations in two strains of *Acinetobacter baumannii* resistant to ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 54(3):695–6.
53. Martí S, Fernández-Cuenca F, Pascual Á, Ribera A, Rodríguez-Baño J, Bou G, et al. Prevalencia de los genes tetA y tetB como mecanismo de resistencia a

tetraciclina y minociclina en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006; 24:77–80.

54. Ruzin A, Keeney D, Bradford PA. AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex. *J Antimicrob Chemother*. 2007; 59(5):1001–4.
55. Lo-Ten-Foe JR, de Smet AMG a, Diederens BMW, Kluytmans J a JW, van Keulen PHJ. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, etest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51(10):3726–30.
56. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother*. 2012; 67(7):1607–15
57. Pournaras S, Ikonomidis A, Markogiannakis A, Maniatis AN, Tsakris A. Heteroresistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2005; 55(6):1055–6
58. Soc Española Med Prev Salud Pública e Hig. Evolución de la Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en los Hospitales Españoles. Proyecto EPINE 1990-1999. Madrid: MI&C; 2001. p. 259-82.
59. Álvarez-Lerma F, Palomar M, Olaechea P, Otal JJ, Insausti J, Cerdá E. Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Unidades de Cuidados Intensivos. Informe evolutivo de los años 2003-2005. *Med Intensiva*. 2007 ; ; 31:6–17.
60. Coelho JM, Turton JF, Kaufmann ME, Glover J, Woodford N, Warner M, et al. Occurrence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones at

- multiple hospitals in London and Southeast England. *J Clin Microbiol.* 2006 ; 44:3623–7.
61. Da Silva G, Dijkshoorn L, van der Reijden T, van Strijen B, Duarte A. Identification of widespread, closely related *Acinetobacter baumannii* isolates in Portugal as a subgroup of European clone II. *Clin Microbiol Infect.* 2007; 13:190–5.
 62. Naas T, Coignard B, Carbonne A, Blanckaert K, Bajolet O, Bernet C, et al. VEB-1 Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12(8):1214–22.
 63. Vila J, Ruiz J, Navia M, Becerril B, Garcia I, Perea S, et al. Spread of amikacin resistance in *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Spain due to an epidemic strain. *J Clin Microbiol.* 1999; 37:758–61.
 64. Peleg AY, Bell JM, Hofmeyr A, Wiese P. Inter-country transfer of Gram-negative organisms carrying the VIM-4 and OXA-58 carbapenem-hydrolysing enzymes. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 57(4):794–5
 65. Unal S, Garcia-Rodriguez JA. Activity of meropenem and comparators against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. isolated in the MYSTIC Program, 2002-2004. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005; 53(4):265–71
 66. Go ES, Urban C, Burns J, Kreiswirth B, Eisner W, Mariano N, et al. Clinical and molecular epidemiology of acinetobacter infections sensitive only to polymyxin B and sulbactam. *Lancet.* 1994; 344:1329–32.
 67. Gaynes R, Edwards JR and the NNIS. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis.* 2005; 41:848–54.
 68. Rhomberg PR, Jones RN. Summary trends for the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection Program: a 10-year experience in the United States (1999-2008). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009; 65:414–26.

69. Tognim MCB, Andrade SS, Silbert S, Gales AC, Jones RN, Sader HS. Resistance trends of *Acinetobacter* spp. in Latin America and characterization of international dissemination of multi-drug resistant strains: five-year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Int J Infect Dis*. 2004; 8:284–91.
70. Gales AC, Castanheira M, Jones RN, Sader HS. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008-2010). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012; 73:354–60.
71. Chan P-C, Huang L-M, Lin H-C, Chang L-Y, Chen M-L, Lu C-Y, et al. Control of an outbreak of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in a neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007; 28:423–9.
72. Anstey NM, Currie BJ, Hassell M, Palmer D, Dwyer B, Seifert H. Community-acquired bacteremic *Acinetobacter* pneumonia in tropical Australia is caused by diverse strains of *Acinetobacter baumannii*, with carriage in the throat in at-risk groups. *J Clin Microbiol*. 2002; 40):685–6.
73. Valenzuela JK, Thomas L, Partridge SR, van der Reijden T, Dijkshoorn L, Iredell J. Horizontal gene transfer in a polyclonal outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*. 2007; 45:453–60.
74. Brink A, Moolman J, da Silva MC, Botha M. Antimicrobial susceptibility profile of selected bacteraemic pathogens from private institutions in South Africa. *S Afr Med J*. 2007; 97:273–9.
75. Monterrubio-Villar J, González-Velasco C, Valdezate-Ramos S, Córdoba-López A, Villalón-Panzano P, Saéz-Nieto JA. Outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* in a polyvalent intensive care unit: clinical, epidemiological analysis and PFGE-printing evolution. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009; 28:1281–4.

76. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18:268–81.
77. Valencia R, Arroyo LA, Conde M, Aldana JM, Torres M-J, Fernández-Cuenca F, et al. Nosocomial outbreak of infection with pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009; 30:257–63.
78. Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, De Angelis G, Falcone M, Frank U, et al. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20 Suppl 1:1–55.
79. Ruiz VA, Guillén SM. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Médica. Ed. Médica Panamericana; 2006.
80. Oliver A. Carbapenem resistance and *Acinetobacter baumannii*. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2004; 22:259–61.
81. Jawad A, Seifert H, Snelling AM, Heritage J, Hawkey PM. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates. *J Clin Microbiol.* 1998; 36:1938–41.
82. Wisplinghoff H, Schmitt R, Wöhrmann A, Stefanik D, Seifert H. Resistance to disinfectants in epidemiologically defined clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Hosp Infect.* 2007; 66:174–81.
83. Heinemann B, Wisplinghoff H, Edmond M, Seifert H. Comparative activities of ciprofloxacin, clinafloxacin, gatifloxacin, gemifloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, and trovafloxacin against epidemiologically defined *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44:2211–3.

84. Dijkshoorn L, Aucken H, Gerner-Smidt P, Janssen P, Kaufmann ME, Garaizar J, et al. Comparison of outbreak and nonoutbreak *Acinetobacter baumannii* strains by genotypic and phenotypic methods. *J Clin Microbiol.* 1996; 34:1519–25.
85. Koeleman JG, van der Bijl MW, Stoof J, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. Antibiotic resistance is a major risk factor for epidemic behavior of *Acinetobacter baumannii*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2001; 22:284–8.
86. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis.* 2000; 31:101–6.
87. Joly-Guillou M-L. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect.* 2005; 11:868–73.
88. Smith MG, Gianoulis T a, Pukatzki S, Mekalanos JJ, Ornston LN, Gerstein M, et al. New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis. *Genes Dev.* 2007; 21:601–14.
89. Russo TA, Luke NR, Beanan JM, Olson R, Sauberan SL, MacDonald U, et al. The K1 capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* strain 307-0294 is a major virulence factor. *Infect Immun.* 2010; 78:3993–4000
90. Roca I, Espinal P, Vila-Farrés X, Vila J. The *Acinetobacter baumannii* Oxymoron: Commensal Hospital Dweller Turned Pan-Drug-Resistant Menace. *Front Microbiol.* 2012; 3:148.
91. Russo TA, MacDonald U, Beanan JM, Olson R, MacDonald IJ, Sauberan SL, et al. Penicillin-binding protein 7/8 contributes to the survival of *Acinetobacter baumannii* in vitro and in vivo. *J Infect Dis.* 2009; 199:513–21.
92. Sociedad Española de Medicina Intensiva Crítica y Unidades Coronarias (SEMICYUC). Grupo de Trabajo de Enfermedades Infecciosas. Estudio Nacional de

Vigilancia de Infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva. Informe 2011. ENVIN-UCI 2011.

93. Anstey NM, Currie BJ, Withnall KM. Community-acquired *Acinetobacter* pneumonia in the Northern Territory of Australia. *Clin Infect Dis*. 1992; 14:83–91.
94. Leung W-S, Chu C-M, Tsang K-Y, Lo F-H, Lo K-F, Ho P-L. Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. *Chest*. 2006; 129:102–9.
95. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*. 2004; 39:309–17.
96. Trottier V, Segura PG, Namias N, King D, Pizano LR, Schulman CI. Outcomes of *Acinetobacter baumannii* infection in critically ill burned patients. *J Burn Care Res*. 2007; 28:248–54.
97. Corrigan KM, Harmis NY, Willcox MD. Association of acinetobacter species with contact lens-induced adverse responses. *Cornea*. 2001; 20:463–6.
98. Kau H-C, Tsai C-C, Kao S-C, Hsu W-M, Liu J-H. Corneal ulcer of the side port after phacoemulsification induced by *Acinetobacter baumannii*. *J Cataract Refract Surg*. 2002; 28(5):895–7.
99. Menon T, Shanmugasundaram S, Nandhakumar B, Nalina K, Balasubramaniam. Infective endocarditis due to *Acinetobacter baumannii* complex--a case report. *Indian J Pathol Microbiol*. 2006; 49:576–8.
100. Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clin Infect Dis*. 2008; 46:1254–63.

101. Sunenshine RH, Wright M-O, Maragakis LL, Harris AD, Song X, Hebden J, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infection mortality rate and length of hospitalization. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13:97–103.
102. García-Garmendia JL, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jiménez-Jiménez FJ, Monterrubio-Villar J, Gili-Miner M. Mortality and the increase in length of stay attributable to the acquisition of *Acinetobacter* in critically ill patients. *Crit Care Med.* 1999; 27:1794–9.
103. Olaechea PM, Insausti J, Blanco a, Luque P. Epidemiology and impact of nosocomial infections. *Med Intensiva.* 2010; 34:256–67.
104. Mejía-Villatoro CR, Villatoro-Nazareno G, Silvestre M, De Briz H, Valle R, Remei Gordillo M. Cost of treating nosocomial infections caused by multiresistant bacteria. *Rev Panam Infectol.* 2008; 10:96–100.
105. Lee N-Y, Lee H-C, Ko N-Y, Chang C-M, Shih H-I, Wu C-J, et al. Clinical and economic impact of multidrug resistance in nosocomial *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007; 28:713–9.
106. Young LS, Sabel AL, Price CS. Epidemiologic, clinical, and economic evaluation of an outbreak of clonal multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection in a surgical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007; 28:1247–54.
107. Falagas ME, Kasiakou SK, Rafailidis PI, Zouglakis G, Morfou P. Comparison of mortality of patients with *Acinetobacter baumannii* bacteraemia receiving appropriate and inappropriate empirical therapy. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 57:1251–4.
108. Corbella X, Ariza J, Ardanuy C, Vuelta M, Tubau F, Sora M, et al. Efficacy of sulbactam alone and in combination with ampicillin in nosocomial infections caused by multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 1998; 42:793–802.

109. Zalts R, Neuberger A, Hussein K, Raz-Pasteur A, Geffen Y, Mashiach T, et al. Treatment of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Ventilator-Associated Pneumonia: Retrospective Comparison Between Intravenous Colistin and Intravenous Ampicillin-Sulbactam. *Am J Ther*. 2013.
110. Chu H, Zhao L, Wang M, Liu Y, Gui T, Zhang J. Sulbactam-based therapy for *Acinetobacter baumannii* infection: a systematic review and meta-analysis. *Braz J Infect Dis*. 2013; 17:389-94.
111. López-Pueyo MJ, Barcenilla-Gaite F, Amaya-Villar R, Garnacho-Montero J. Antibiotic multiresistance in critical care units. *Med Intensiva*. 2011; 35:41–53.
112. Luque S, Grau S, Berenguer N, Horcajada JP, Sorlí L, Montero MM, et al. Shedding light on the use of colistin: still gaps to be filled. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011; 29:287–96.
113. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Jiménez-Jiménez FJ, Barrero-Almodóvar a E, García-Garmendia JL, Bernabeu-Wittell M, et al. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. *Clin Infect Dis*. 2003; 36:1111–8.
114. Al Shirawi N, Memish ZA, Cherfan A, Al Shimemeri A. Post-neurosurgical meningitis due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* treated with intrathecal colistin: case report and review of the literature. *J Chemother*. 2006 ; 18:554–8.
115. Jiménez-Mejías ME, Becerril B, Márquez-Rivas FJ, Pichardo C, Cuberos L, Pachón J. Successful treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis with intravenous colistin sulfomethate sodium. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000; 19:970–1.

116. Fluit AC, Florijn A, Verhoef J, Milatovic D. Presence of tetracycline resistance determinants and susceptibility to tigecycline and minocycline. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49:1636–8.
117. Anthony KB, Fishman NO, Linkin DR, Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E. Clinical and microbiological outcomes of serious infections with multidrug-resistant gram-negative organisms treated with tigecycline. *Clin Infect Dis.* 2008; 46:567–70.
118. Rahal JJ. Novel antibiotic combinations against infections with almost completely resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis.* 2006; 43:S95–9.
119. Pachón-Ibáñez ME, Fernández-Cuenca F, Docobo-Pérez F, Pachón J, Pascual A. Prevention of rifampicin resistance in *Acinetobacter baumannii* in an experimental pneumonia murine model, using rifampicin associated with imipenem or sulbactam. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 58:689–92.
120. Chait R, Craney A, Kishony R. Antibiotic interactions that select against resistance. *Nature.* 2007; 446(7136):668–71.
121. Zavascki AP, Bulitta JB, Landersdorfer CB. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013 ; 11:1333–53.
122. Aydemir H, Akduman D, Piskin N, Comert F, Horuz E, Terzi A, et al. Colistin vs. the combination of colistin and rifampicin for the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Epidemiol Infect.* 2013; 141:1214–22.
123. Durante-Mangoni E, Signoriello G, Andini R, Mattei A, De Cristoforo M, Murino P, et al. Colistin and rifampicin compared with colistin alone for the treatment of serious infections due to extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a multicenter, randomized clinical trial. *Clin Infect Dis.* 2013; 57:349–58.

124. Webster CA, Crowe M, Humphreys H, Towner KJ. Surveillance of an adult intensive care unit for long-term persistence of a multi-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1998 Mar; 17:171–6.
125. Apisarnthanarak A, Pinitchai U, Thongphubeth K, Yuekyen C, Warren DK, Fraser VJ. A multifaceted intervention to reduce pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in 3 intensive care units in a Thai tertiary care center: a 3-year study. Clin Infect Dis. 2008; 47:760–7.
126. Monnet DL, López-Lozano JM, Campillos P, Burgos A, Yagüe A, Gonzalo N. Making sense of antimicrobial use and resistance surveillance data: application of ARIMA and transfer function models. Clin Microbiol Infect. 2001; 7:29–36.
127. McGowan JE. Is antimicrobial resistance in hospital microorganisms related to antibiotic use? Bull N Y Acad Med. 1987; 63:253–68.
128. Kaye KS, Harris AD, Samore M, Carmeli Y. The case-case-control study design: addressing the limitations of risk factor studies for antimicrobial resistance. Infect Control Hosp Epidemiol. 2005; 26:346–51.
129. Scerpella EG, Wanger AR, Armitige L, Anderlini P, Ericsson CD. Nosocomial outbreak caused by a multiresistant clone of *Acinetobacter baumannii*: results of the case-control and molecular epidemiologic investigations. Infect Control Hosp Epidemiol. 1995; 16:92–7.
130. Villers D, Espaze E, Coste-Burel M, Giauffret F, Ninin E, Nicolas F, et al. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology. Ann Intern Med. 1998; 129:182–9.
131. López-Lozano JM, Monnet DL, Yagüe A, Burgos A, Gonzalo N, Campillos P, et al. Modelling and forecasting antimicrobial resistance and its dynamic relationship to antimicrobial use: a time series analysis. Int J Antimicrob Agents. 2000; 14:21–31.

132. Rodríguez-Baño J, García L, Ramírez E, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Fernández-Cuenca F, et al. Long-term control of hospital-wide, endemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* through a comprehensive “bundle” approach. *Am J Infect Control*. 2009; 37:715–22.
133. Pimentel JD, Low J, Styles K, Harris OC, Hughes A, Athan E. Control of an outbreak of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit and a surgical ward. *J Hosp Infect*. 2005; 59:249–53.
134. D’Agata EM, Thayer V, Schaffner W. An outbreak of *Acinetobacter baumannii*: the importance of cross-transmission. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000; 21:588–91.
135. Coll P, Coque MT, Dominguez MA, Vázquez J VJ. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica: métodos moleculares de tipificación epidemiológica en Bacteriología. 2005.
136. Fernández-Cuenca F. Aplicaciones de las técnicas de PCR a la epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004; 22:355–60.
137. Bou G, Cerveró G, Domínguez MA, Quereda C, Martínez-Beltrán J. PCR-based DNA fingerprinting (REP-PCR, AP-PCR) and pulsed-field gel electrophoresis characterization of a nosocomial outbreak caused by imipenem- and meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect*. 2000; 6:635–43.
138. Gouby A, Carles-Nurit MJ, Bouziges N, Bourg G, Mesnard R, Bouvet PJ. Use of pulsed-field gel electrophoresis for investigation of hospital outbreaks of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*. 1992; 30:1588–91.
139. Tenover FC, Arbeit RD, Goering R V, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel

- electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol.* 1995 ;33:2233–9.
140. Seifert H, Dolzani L, Bressan R, van der Reijden T, van Strijen B, Stefanik D, et al. Standardization and interlaboratory reproducibility assessment of pulsed-field gel electrophoresis-generated fingerprints of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol.* 2005; 43:4328–35.
141. Gräser Y, Klare I, Halle E, Gantenberg R, Buchholz P, Jacobi HD, et al. Epidemiological study of an *Acinetobacter baumannii* outbreak by using polymerase chain reaction fingerprinting. *J Clin Microbiol.* 1993; 31:2417–20.
142. Koeleman JG, Stoof J, Biesmans DJ, Savelkoul PH, Vandenbroucke-Grauls CM. Comparison of amplified ribosomal DNA restriction analysis, random amplified polymorphic DNA analysis, and amplified fragment length polymorphism fingerprinting for identification of *Acinetobacter* genomic species and typing of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol.* 1998; 36:2522–9.
143. Huys G, Cnockaert M, Nemec A, Dijkshoorn L, Brisse S, Vaneechoutte M, et al. Repetitive-DNA-element PCR fingerprinting and antibiotic resistance of pan-European multi-resistant *Acinetobacter baumannii* clone III strains. *J Med Microbiol.* 2005; 54:851–6.
144. Snelling AM, Gerner-Smidt P, Hawkey PM, Heritage J, Parnell P, Porter C, et al. Validation of use of whole-cell repetitive extragenic palindromic sequence-based PCR (REP-PCR) for typing strains belonging to the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex and application of the method to the investigation of a hospital. *J Clin Microbiol.* 1996; 34:1193–202.
145. Koeleman JG, Stoof J, Van Der Bijl MW, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. Identification of epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* by integrase gene PCR. *J Clin Microbiol.* 2001; 39:8–13.

146. Villalón P, Valdezate S, Medina-Pascual MJ, Rubio V, Vindel A, Saez-Nieto JA. Clonal diversity of nosocomial epidemic *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Spain. *J Clin Microbiol*. 2011; 49:875–82.
147. Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España 2011 (EPINE). Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. 2012 (22):37-42.
148. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008; 36:309–32.
149. Bou G, Fernández-Olmos A, García C, Sáez-Nieto JA, Valdezate S. Bacterial identification methods in the microbiology laboratory. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011; 29:601–8.
150. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. CLSI document M100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007.
151. Villalón P, Valdezate S, Medina-Pascual MJ, Carrasco G, Vindel A, Saez-Nieto JA. Epidemiology of the *Acinetobacter*-derived cephalosporinase, carbapenem-hydrolysing oxacillinase and metallo- β -lactamase genes, and of common insertion sequences, in epidemic clones of *Acinetobacter baumannii* from Spain. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Mar; 68:550–3.
152. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985; 13:818–29
153. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology: Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Classification Index. Including defined daily doses (DDDs) for plain substances. OSLO: WHO CCDSM, 1995.

154. Maldonado G, Greenland S. Simulation study of confounder-selection strategies. *Am J Epidemiol.* 1993; 138:923–36.
155. Cristina ML, Spagnolo AM, Cenderello N, Fabbri P, Sartini M, Ottria G, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak: an investigation of the possible routes of transmission. *Public Health.* 2013; 127:386–91.
156. Roberts SA, Findlay R, Lang SD. Investigation of an outbreak of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care burns unit. *J Hosp Infect.* 2001; 48:228–32.
157. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006-09). *J Antimicrob Chemother.* 2011; 66:2070–4.
158. Rodloff AC, Leclercq R, Debbia EA, Cantón R, Oppenheim BA, Dowzicky MJ. Comparative analysis of antimicrobial susceptibility among organisms from France, Germany, Italy, Spain and the UK as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14:307–14.
159. Miyakis S, Pefanis A, Tsakris A. The challenges of antimicrobial drug resistance in Greece. *Clin Infect Dis.* 2011; 53:177–84.
160. Gimeno C, Cantón R, García A, Gobernado M. Comparative activity of doripenem, meropenem, and imipenem in recent clinical isolates obtained during the COMPACT-Spain epidemiological surveillance study. *Rev Esp Quimioter.* 2010; 23:144–52.
161. Ko KS, Suh JY, Kwon KT, Jung S-I, Park K-H, Kang CI, et al. High rates of resistance to colistin and polymyxin B in subgroups of *Acinetobacter baumannii* isolates from Korea. *J Antimicrob Chemother.* 2007; 60:1163–7.
162. Landman D, Quale JM, Mayorga D, Adedeji A, Vangala K, Ravishankar J, et al. Citywide clonal outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* and

- Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn, NY: the preantibiotic era has returned. *Arch Intern Med.* 2002; 162:1515–20.
163. Simor AE, Lee M, Vearncombe M, Jones-Paul L, Barry C, Gomez M, et al. An outbreak due to multiresistant *Acinetobacter baumannii* in a burn unit: risk factors for acquisition and management. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2002 ; 23:261–7.
 164. Baran G, Erbay A, Bodur H, Ongürü P, Akinci E, Balaban N, et al. Risk factors for nosocomial imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Int J Infect Dis.* 2008; 12:16–21.
 165. Martínez-Pellús A, Ruiz Gómez J, Jaime Sánchez F, Simarro Córdoba E, Fernández Lozano JA. Incidence of colonization and infection by *Acinetobacter baumannii* in an endemic setting (ICU). Analysis of risk factors by means of a surveillance study. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2002; 20:194–9.
 166. Cisneros JM, Rodríguez-Baño J, Fernández-Cuenca F, Ribera A, Vila J, Pascual A, et al. Risk-factors for the acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Spain: a nationwide study. *Clin Microbiol Infect.* 2005 ; 11:874–9.
 167. Tsai H-T, Wang J-T, Chen C-J, Chang S-C. Association between antibiotic usage and subsequent colonization or infection of extensive drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a matched case-control study in intensive care units. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008; 62:298–305.
 168. Husni RN, Goldstein LS, Arroliga AC, Hall GS, Fatica C, Stoller JK, et al. Risk factors for an outbreak of multi-drug-resistant *Acinetobacter* nosocomial pneumonia among intubated patients. *Chest.* 1999; 115:1378–82.
 169. Del Mar Tomas M, Cartelle M, Pertega S, Beceiro a, Llinares P, Canle D, et al. Hospital outbreak caused by a carbapenem-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*: patient prognosis and risk-factors for colonisation and infection. *Clin Microbiol Infect.* 2005; 11:540–6.

170. Hsueh P-R, Teng L-J, Chen C-Y, Chen W-H, Yu C-J, Ho S-W, et al. Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. *Emerg Infect Dis*. 2002; 8:827–32.
171. Hsueh P-R, Chen W-H, Luh K-T. Relationships between antimicrobial use and antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria causing nosocomial infections from 1991-2003 at a university hospital in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents*. 2005; 26:463–72.
172. Corbella X, Pujol M, Ayats J, Sendra M, Ardanuy C, Domínguez MA, et al. Relevance of digestive tract colonization in the epidemiology of nosocomial infections due to multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis*. 1996; 23:329–34.
173. Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G. The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. *Zentralbl Bakteriol*. 1993; 279:544–52.
174. Cisneros JM, Reyes MJ, Pachón J, Becerril B, Caballero FJ, García-Garmendía JL, et al. Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical findings, and prognostic features. *Clin Infect Dis*. 1996; 22:1026–32.
175. Falagas ME, Rafailidis PI. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii*: no longer a controversial issue. *Crit Care*. 2007; 11:134.
176. Bou R, Gomar S, Hervás F, Amorós A. Eradication of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections after adjusting nursing workloads and reinforcing specific precautions. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013; 31:584–9.
177. Albrecht MC, Albrecht MA, Griffith ME, Murray CK, Chung KK, Horvath EE, et al. Impact of *Acinetobacter* infection on the mortality of burn patients. *J Am Coll Surg*. 2006; 203:546–50.

178. Blot S, Vandewoude K, Colardyn F. Nosocomial bacteremia involving *Acinetobacter baumannii* in critically ill patients: a matched cohort study. *Intensive Care Med.* 2003; 29:471–5.
179. Espinal P, Martí S, Vila J. Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Hosp Infect.* 2012; 80:56–60.
180. Cunha BA, Klimek JJ, Gracewski J, McLaughlin JC, Quintiliani R. A common source outbreak of *Acinetobacter* pulmonary infections traced to Wright respirometers. *Postgrad Med J.* 1980; 56:169–72.
181. Irwin RS, Demers RR, Pratter MR, Garrity FL, Miner G, Pritchard A, et al. An outbreak of acinetobacter infection associated with the use of a ventilator spirometer. *Respir Care.* 1980; 25:232–7.
182. Podnos YD, Cinat ME, Wilson SE, Cooke J, Gornick W, Thrupp LD. Eradication of multi-drug resistant *Acinetobacter* from an intensive care unit. *Surg Infect.* 2001; 2:297–301.
183. Smith PW, Massanari RM. Room humidifiers as the source of *Acinetobacter* infections. *JAMA.* 1977; 237:795–7.
184. Patterson JE, Vecchio J, Pantelick EL, Farrel P, Mazon D, Zervos MJ, et al. Association of contaminated gloves with transmission of *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitratus* in an intensive care unit. *Am J Med.* 1991; 91:479–83.
185. Cisneros JM, Pachón J. *Acinetobacter baumannii*: a nosocomial pathogen difficult to control. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; 21:221–3.
186. Tacconelli E, Cataldo MA, De Pascale G, Manno D, Spanu T, Cambieri A, et al. Prediction models to identify hospitalized patients at risk of being colonized or infected with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii calcoaceticus* complex. *J Antimicrob Chemother.* 2008; 62:1130–7.