



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Factores de riesgo de adquisición de *Pseudomonas aeruginosa* y comparación de dos estrategias de uso de antibióticos (rotación frente a mezcla) en pacientes críticos: Impacto en la adquisición de microorganismos resistentes y desenlaces clínicos

Nazaret Cobos Trigueros

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

TESIS DOCTORAL

**Factores de riesgo de adquisición
de *Pseudomonas aeruginosa* y comparación
de dos estrategias de uso de antibióticos
(rotación frente a mezcla) en pacientes críticos:
impacto en la adquisición de microorganismos
resistentes y desenlaces clínicos**

Tesis presentada por
Nazaret Cobos Trigueros
para optar al grado de doctor en Medicina

Director
Dr. José Antonio Martínez Martínez



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA
Noviembre 2015

El Dr. José Antonio Martínez Martínez, profesor asociado médico del Departamento de Medicina de la Universidad de Barcelona y consultor senior del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Clínic Universitari de Barcelona

CERTIFICA:

Que la tesis doctoral titulada “**Factores de riesgo de adquisición de *Pseudomonas aeruginosa* y comparación de dos estrategias de uso de antibióticos (rotación frente a mezcla) en pacientes críticos: impacto en la adquisición de microorganismos resistentes y desenlaces clínicos**”, presentada por Nazaret Cobos Trigueros, ha sido realizada bajo su dirección y cumple los requisitos necesarios para ser leída delante del Tribunal correspondiente y optar al grado de doctor en Medicina.

Y para que conste, y a los efectos oportunos, expide el presente certificado en Barcelona, a 6 de noviembre de 2015.

Firmado: Prof. Dr. José Antonio Martínez Martínez.

Agradecimientos:

Al Dr. Martínez por darme la oportunidad de participar en su proyecto y guiarme en cada momento hasta conseguir que lo hiciera mío. Por su paciencia infinita, su tiempo y sus “clases magistrales” en el despacho, en el sofá o en la terraza de un bar. Sin lugar a dudas, no puede haber un director de tesis mejor. No lo habría conseguido sin ti.

A Jordi, Pedro, Mar y Mariano por compartir este arduo trabajo, por todas sus aportaciones que han contribuido a que, por fin, llegemos a buen puerto. Gracias Jorge por tu incalculable soporte informático.

A Pepe, José Antonio y Álex por haberme permitido ser parte de su grupo durante siete años. Ha sido un placer aprender y disfrutar día tras día de vuestros conocimientos. Me habéis enseñado el valor del trabajo incesante, de la curiosidad y la ilusión para seguir avanzando, a “saltarme las normas” y a hacerlas... sin perder nunca de vista el objetivo principal de nuestro trabajo: el paciente y su familia.

A Christian, Laura, Cristina, Ana y Celia por todos los momentos que hemos compartido dentro y fuera del hospital. A los compañeros del Servicio de Infecciones y a “mis microbiólogos” Manel, Francesc, Conchita, Yuliya y Andrea, gracias por enriquecer mi paso por el Hospital Clínic.

A Irene, Alejandra, Toñi, Pepa, Germán, Montse, Carmen, Irma, Rocío, Virginia... ¿Cómo recorrer el camino sin el consuelo de los amigos?

A mi familia por apoyarme en todas mis aventuras y enseñarme que con perseverancia y esfuerzo se puede conseguir cualquier objetivo.

A Isabel, José Antonio, Maui y Lara. Por acogerme en vuestra familia, por vuestra amistad, por estar siempre ahí cuando os necesité. Nunca os podré agradecer lo que habéis hecho por mí.

A Gemma, mi bichito, mi papallona, por ser lo mejor que me ha pasado.

*A MC y a mi abuelo.
I can feel your halo...*

Abreviaturas

APACHE Acute physiology and chronic health evaluation

BLEE Betalactamasas de espectro extendido

Caz/Pip-Taz Ceftazidima o piperacilina-tazobactam

CMI Concentración mínima inhibitoria

CVC Catéter venoso central

DE Desviación estándar

EPOC Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

ERV Enterococo resistente a vancomicina

IC95% Intervalo de confianza al 95%

MDR Multirresistente

MR Microorganismos resistentes

MRPR Microorganismos resistentes o potencialmente resistentes

OR Odds ratio

PAMS Periodic antibiotic monitoring and supervision

Pip-Taz Piperacilina-tazobactam

R-CEF3g Resistente a cefalosporinas de tercera generación

RIQ Rango intercuartilico

SARM *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

SOFA Sequential organ failure assessment

UCI Unidad de cuidados intensivos

VIH Virus de la inmunodeficiencia humana

VMI Ventilación mecánica invasiva

XDR Resistencia extendida

Índice

I. Introducción	17
1. Infección en el paciente crítico. Magnitud del problema	19
2. Resistencia a antimicrobianos en pacientes críticos.....	20
2.1. Epidemiología general	20
2.2. Impacto de la resistencia en el pronóstico y otros desenlaces asistenciales	23
3. Factores de riesgo de adquisición de microorganismos resistentes.....	26
3.1. Relación entre resistencia y presión antibiótica	26
3.2. Relación entre resistencia y presión de colonización.....	28
3.3. Factores de riesgo de adquisición de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29
4. Mecanismos de resistencia en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
4.1. Resistencia natural	32
4.2. Betalactamasas	32
4.2.1. Betalactamasa AmpC.....	33
4.2.2. Betalactamasas de clase A	33
4.2.3. Betalactamasas de clase D (oxacilinasas)	34
4.2.4. Metalobetalactamas	35
4.3. Alteración de la permeabilidad (porina OprD)	35
4.4. Sistemas de expulsión activa (bombas de eflujo).....	35
4.5. Resistencia a aminoglucósidos	36
4.6. Resistencia a quinolonas	37
4.7. Resistencia a colistina	37
4.8. Multirresistencia.....	38
5. Medidas de prevención y control de la infección en la UCI.....	39
5.1. Medidas de control de la infección	39
5.1.1. Higiene de las manos	40
5.1.2. Cribado, precauciones de contacto y descolonización	41
5.1.3. Descontaminación digestiva selectiva.....	45
5.2. Medidas de control antibiótico	47
5.2.1. Medidas educativas	47
5.2.2. Medidas no restrictivas o de ayuda a la prescripción	48
5.2.3. Medidas restrictivas.....	49

6. Estrategias de diversificación antibiótica: rotación, mezcla y PAMS	50
6.1. Efectos de las estrategias de diversificación. Modelos matemáticos	52
6.2. La rotación en la práctica clínica	55
6.2.1. Efectos de la rotación programada de antibióticos en la resistencia	57
6.2.2. Comparación de distintas estrategias de uso de antibióticos	58
II. Hipótesis y objetivos	61
III. Material y métodos	65
1. Población objeto de estudio	67
2. Procedimientos microbiológicos	68
3. Variables clínicas	69
4. Uso de antibióticos	69
5. Variables epidemiológicas	70
6. Definiciones	71
7. Análisis estadístico	73
8. Financiación del estudio	74
IV. Resultados	75
1. Comparación de estrategias: rotación frente a mezcla	77
1.1. Características de los pacientes y eventos clínicos	77
1.2. Uso de antibióticos	77
1.3. Microorganismos e infecciones adquiridas en la UCI	82
1.4. Fenotipos de resistencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en los distintos periodos	82
2. Factores de riesgo de adquisición de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	84
2.1. Características generales del subgrupo de estudio	84
2.2. Factores de riesgo de adquisición de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	87
2.3. Factores de riesgo de adquisición de resistencia a fármacos antipseudomónicos	87
V. Discusión	93
1. Objetivo primario: Comparación de ambas estrategias (rotación frente a mezcla)	95
2. Objetivo secundario: Factores de riesgo de adquisición de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	99

VI. Conclusiones.....	105
VII. Bibliografía.....	109
VIII. Anexos.....	141
Tabla anexa 1. Resumen de los estudios más importantes sobre rotación antibiótica en unidades de cuidados intensivos.....	142
Tabla anexa 2. Motivos de admisión de los pacientes ingresados más de 48 horas	146
Tabla anexa 3. Sitios de adquisición primaria y secundaria de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	147
Tabla anexa 4. Relación entre adquisición de resistencia a antibióticos antipseudomónicos y exposición previa a los distintos agentes.....	148
IX. Producción científica.....	149
X. Documento del Comité Ético de Investigación Clínica.....	199

I. Introducción

1. Infección en el paciente crítico. Magnitud del problema

La sepsis es una entidad frecuente y grave en los enfermos críticos. Varios estudios multicéntricos internacionales indican que la prevalencia de infección en los pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos (UCI) oscila entre el 38% y el 50%¹⁻³, así como que el 24%-58% de esas infecciones son adquiridas en la propia unidad^{1,3,4}. El informe del año 2015 del Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España (EPINE) muestra que en las UCI españolas la prevalencia de pacientes con infección nosocomial es del 20,1%⁵. Por otro lado, el registro ENVIN-HELICS nacional revela que, en la actualidad, el 9,2% de los enfermos ingresados en una unidad de críticos adquiere alguna infección durante su estancia⁶. La neumonía, la bacteriemia primaria o asociada a catéteres intravenosos, la infección urinaria, la infección intraabdominal y las infecciones de la herida quirúrgica constituyen los focos de sepsis más frecuentes. Algo más de la mitad de las infecciones están asociadas a dispositivos médicos (neumonía relacionada con la ventilación mecánica, infección urinaria relacionada con la sonda uretral y bacteriemia primaria o relacionada con el catéter intravenoso).

En las últimas dos décadas se ha constatado un incremento tanto en la incidencia como en la proporción de enfermos hospitalizados con sepsis grave^{7,8}. Sin embargo, las infecciones adquiridas en las unidades de críticos han experimentado un descenso significativo. En España, se ha pasado de una tasa

del 15,5 por % de enfermos ingresados en 2009 hasta el 9,2% en 2014, con reducciones de la densidad de incidencia por mil días de uso de dispositivo del 63% para la neumonía relacionada con la ventilación mecánica (6,31 actual), el 71% para la bacteriemia primaria o relacionada con el catéter intravenoso (1,96 actual) y el 42% para la infección urinaria relacionada con la sonda (4,03 actual)^{6,9}. Este hecho tiene que ver, sin duda, con las mejoras introducidas en la calidad de la asistencia médica prestada a los enfermos críticos, entre las que destacan la implementación de programas específicos destinados a la prevención de las infecciones como los proyectos Bacteremia Zero¹⁰ y Neumonía Zero¹¹.

Respecto al pronóstico, entre un 25% y 30% de los pacientes infectados fallece en la UCI y una tercera parte durante la estancia hospitalaria^{2,8}. La sepsis grave mata, de hecho, más individuos al año que el cáncer de próstata, el cáncer de mama y la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) juntos¹². Afortunadamente, y gracias a las mejoras introducidas en el reconocimiento y abordaje terapéutico de los pacientes con sepsis grave, la mortalidad ha descendido progresivamente, desde un 47% en 1991 hasta un 29% en 2009^{7,8,13}. Tres ensayos clínicos de asignación aleatoria recientes han documentado tasas de mortalidad del 19%-29% en pacientes con shock séptico tratados precozmente en el servicio de urgencias de acuerdo con lo que hoy se considera un tratamiento estándar¹⁴⁻¹⁶.

2. Resistencia a los antimicrobianos en pacientes críticos

2.1. Epidemiología general

Paralelamente al aumento de la incidencia de ingresos hospitalarios por sepsis, a la reducción de la incidencia de infecciones adquiridas en las unidades de críticos y a las mejores perspectivas de supervivencia, la prevalencia de resistencia de los microorganismos que causan con mayor frecuencia infección en los pacientes hospitalizados en general y en los críticos en particular no ha cesado de aumentar^{9,17-20}. Ya en 2008, Rice²¹ acuñó el término “ESKAPE” para describir las bacterias más frecuentes y problemáticas asociadas con el aumento de

resistencia y la infección nosocomial. Estos microorganismos son *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp., los cuales, posteriormente, se han renombrado como “ESCAPE”²² para incluir al *Clostridium difficile* y otros miembros de la familia Enterobacteriaceae como *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis*. En estas especies los determinantes de resistencia más frecuentes o problemáticos son los que confieren resistencia a los gluco péptidos en los enterococos, a los betalactámicos en *S. aureus* (resistencia a la meticilina u oxacilina), a las cefalosporinas de tercera generación (fundamentalmente por betalactamasas de espectro extendido y AmpC) y carbapanems (por producción de carbapenemasas) en las enterobacterias y la resistencia a betalactámicos, quinolonas y aminoglucósidos por diversos mecanismos en los bacilos gramnegativos (BGN) no fermentadores. Sin embargo, es necesario hacer algunas matizaciones. La incidencia de *E. faecium* resistente a vancomicina en Europa es globalmente muy inferior a la de Estados Unidos²³ y solo algunos países (Alemania, Grecia, Irlanda y Portugal) reportan tasas de resistencia superiores al 15%^{24,25}. En nuestro país, y a pesar de que se han descrito brotes nosocomiales de *E. faecium* resistente a vancomicina en diversos entornos hospitalarios²⁶, la endemicidad en la mayoría de las UCI españolas es inexistente o muy baja (<2%)⁶. Por otro lado, en estas unidades, la prevalencia de resistencia a la meticilina en *S. aureus* causantes de infecciones relacionadas con dispositivos ha descendido durante la última década, desde el 42,2% en 2006 hasta el 15,7% en 2014^{6,27}. Este hecho coincide con una tendencia general en Europa a un paulatino declive de la incidencia de bacteriemia nosocomial causada por *S. aureus* resistente a meticilina²⁸ que, en el caso de algunos países como el Reino Unido, ha llegado a ser del 80% en la última década²⁹. De hecho, el aumento reciente en la prevalencia de resistencia es imputable mayoritariamente a los BGN^{3,6,9,17-19,30,31}, no solo en el hospital sino también en la comunidad.

En las unidades de críticos españolas⁶, los microorganismos gramnegativos, grampositivos y los hongos causan el 61%, 30% y 9%, respectivamente,

de las infecciones asociadas a dispositivos médicos. Por orden de frecuencia, *P. aeruginosa* es el microorganismo más frecuentemente aislado (15% del total; 24% de los gramnegativos), completando la lista de los 10 principales: *E. coli* (14%; 23%), *K. pneumoniae* (8%; 14%), *Staphylococcus epidermidis* (8%; 27% de los grampositivos), *S. aureus* (6%; 17%), *Enterococcus faecalis* (6%; 20%), *Candida albicans* (5%; 53% de los hongos), *A. baumannii* (3%; 6%), *E. faecium* (3%; 12%) y *Enterobacter cloacae* (3%; 5%). La prevalencia de resistencia en *P. aeruginosa* es del 33% a ceftazidima, 34% a piperacilina-tazobactam (Pip-Taz), 52% a quinolonas, 50% a carbapenems, 18 % a amikacina y 6% a colistina. *A. baumannii* es resistente a ampicilina-sulbactam en el 60% de los casos, a carbapenems en el 85%, a amikacina en el 79% y a colistina en el 2%. *K. pneumoniae* es resistente a cefalosporinas de tercera generación en el 38% de los casos, a quinolonas en el 47%, a carbapenems en el 6% y a amikacina en el 18%, mientras en *E.coli* los porcentajes son 16%, 33%, 0% y 6% respectivamente. Cerca del 50% de las cepas de *E. cloacae* son resistentes a las cefalosporinas de tercera generación.

A pesar de que en una unidad de críticos española se ha descrito un brote de infección por *S. aureus* resistente a meticilina, que era resistente también a linezolid por mediación del gen *cfz* (codificador de una metiltransferasa del RNAr 23S)³², la prevalencia global de este fenotipo es extremadamente baja³³. Más frecuentes y diseminadas son las cepas de estafilococos coagulasa-negativa resistentes al linezolid ($\approx 14\%$)⁹, habitualmente por mutaciones en el gen que codifica el ARNr, las cuales parecen haberse establecido de manera endémica en algunas unidades³⁴⁻³⁷.

En *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. mirabilis* la resistencia a cefalosporinas de tercera generación se debe mayoritariamente a la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)³⁸⁻⁴¹. Desde el 2009, la presencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas ha progresado hasta hacerse patente en más de la mitad de las provincias y hospitales españoles. *K. pneumoniae* constituye la especie más frecuentemente implicada y el tipo de carbapenemasa más común es la oxa-48 (clase D). A pesar de ello, la prevalencia global de carbapenemasas

entre los aislados de *K. pneumoniae* aún no alcanza en promedio el 2% (entre 0-11% dependiendo del hospital y la situación epidemiológica)^{42,43}.

La resistencia múltiple a antibióticos constituye la regla en *A. baumannii*^{44,45} y es un problema emergente en *P. aeruginosa*. En varios estudios nacionales, la prevalencia de multirresistencia en *P. aeruginosa* ha oscilado entre el 18% y el 25%⁴⁶⁻⁴⁸ y en cerca del 60% de los casos implica la resistencia a todos los betalactámicos antipseudomónicos y fluorquinolonas. En un estudio reciente realizado en una UCI médico-quirúrgica española la probabilidad estimada de colonización digestiva por una cepa de *P. aeruginosa* multirresistente al décimo día de ingreso fue del 24%⁴⁹.

2.2. Impacto de la resistencia en el pronóstico y otros desenlaces asistenciales

Varios estudios longitudinales de base hospitalaria han documentado que las infecciones causadas por microorganismos resistentes (MR) no sustituyen sino que se suman a las infecciones debidas a sus congéneres sensibles y, de hecho, la mayor parte del incremento en la incidencia observada de algunas infecciones nosocomiales como la bacteriemia es imputable a la creciente incidencia de MR⁵⁰. Este exceso de infecciones conlleva su correspondiente carga de mortalidad atribuible. No ha de resultar extraño, pues, que debido a la elevada incidencia de infecciones adquiridas en la UCI causadas por bacterias resistentes, la reducción significativa de estas determine la disminución de la incidencia total de infecciones y de la mortalidad relacionada con las mismas⁵¹.

Otra cuestión largamente debatida es la que se refiere a si las infecciones causadas por MR se asocian con mayor mortalidad que las debidas a los correspondientes congéneres sensibles. Aunque no exentos de problemas metodológicos⁵², múltiples estudios en los que se ha realizado un análisis ajustado para confusores importantes, como la gravedad de enfermedad subyacente o situación clínica del enfermo, han concluido que la bacteriemia por *S. aureus* resistente a meticilina (SARM)⁵³, enterococos resistentes a la vancomicina (ERV)⁵⁴ y enterobacterias productoras de BLEE⁵⁵, se asocian a mayor mortalidad (entre 1,95 y 2,5 veces superior) que la debida a las versiones sensibles

de estos microorganismos. En el caso *P. aeruginosa*, un metaanálisis reciente ha demostrado una asociación clara entre resistencia a una familia de anti-pseudomónicos o multirresistencia y mortalidad, pero dicha asociación quedó en una tendencia que no alcanzó significación estadística cuando se analizaron solo los estudios que ajustaron para confusores⁵⁶. Algo similar se describió en otro estudio de pacientes con bacteriemia por *P. aeruginosa* multirresistente y no multirresistente no incluido en el metaanálisis⁴⁸. En pacientes críticos, la multirresistencia de *P. aeruginosa* se ha asociado con otros desenlaces desfavorables como el requerimiento de ventilación mecánica durante un periodo más prolongado (15 frente a 11 días)⁵⁷. Finalmente, otros estudios que han comparado los desenlaces de los pacientes infectados por varios patógenos resistentes frente a sus versiones sensibles con una metodología cuidadosa de ajuste han concluido que, en efecto, la resistencia se asocia con un incremento significativo en la mortalidad (4 puntos porcentuales en promedio)⁵⁸. Una de las razones plausibles del mal pronóstico asociado con la resistencia es que los pacientes infectados por MR reciben con mayor frecuencia un tratamiento empírico inapropiado^{52,55}, hecho que constituye un factor independiente bien establecido de mal pronóstico⁵⁹. Aunque en términos generales se acepta que la resistencia grava negativamente la competencia bacteriana y no se asocia con un incremento de la virulencia, sino más bien al contrario⁶⁰, existen claros ejemplos de que la resistencia puede incrementar la patogenicidad clínica. En cepas de origen nosocomial, la resistencia a meticilina en *S. aureus* se asocia con una disminución de la virulencia debido a la disfunción del sistema de percepción de quorum *agr*⁶¹. Sin embargo, dicha disfunción reduce la actividad bactericida de la vancomicina y de péptidos catiónicos innatos derivados de las plaquetas⁶². Este hecho puede favorecer la localización y persistencia de *S. aureus* en focos endovasculares⁶³ y explicar en parte la mayor mortalidad observada en los pacientes con bacteriemia causada por cepas con disfunción del *agr*⁶⁴. En *P. aeruginosa*, la pérdida de la porina oprD responsable de la resistencia a imipenem confiere al microbio más competencia para colonizar el tubo digestivo del ratón e invadir el torrente circulatorio tras la inducción de neutropenia⁶⁵. De

igual forma, la resistencia a quinolonas y en menor medida a cefalosporinas se asocia en *P. aeruginosa* con la producción de toxinas secretadas por sistemas de secreción tipo III (en particular ExoU), lo cual se ha relacionado a su vez con la persistencia del patógeno en el aparato respiratorio, con una mayor proclividad a causar neumonía y con una mortalidad más elevada en pacientes con neumonía o bacteriemia^{66,67}. En enterobacterias, la presencia de algunos determinantes de resistencia se asocia con determinados clones que han demostrado una enorme eficiencia para la colonización intestinal y la transmisión. En *E. coli*, la BLEE CTX-M-15 se asocia con el grupo clonal ST131 (prevalencia en nuestro entorno $\approx 25\%$), cuyos miembros pertenecen al filogrupo B2 y están dotadas de un rico arsenal de factores de virulencia característico de las cepas causantes de infección extraintestinal⁶⁸. *K. pneumoniae* productora de BLEE TEM o SHV pueden tener una mayor capacidad de colonización e invasión de los epitelios⁶⁹, aunque las portadoras de CTX-M son con menor frecuencia hipermucosas y, por tanto, menos virulentas en modelos animales⁷⁰. Por otro lado, la producción de carbapenemasas KPC en *K. pneumoniae* está vinculada al grupo clonal ST258, el cual ha demostrado una inusual capacidad de propagación mundial, de persistencia en el colon y de transmisión nosocomial, aun sin poseer los factores de virulencia típicamente asociados con invasividad⁷¹. Por último, en *P. aeruginosa*, la resistencia múltiple a antibióticos y, en particular, la resistencia extrema se concentra también en un número escaso de clones de distribución mundial (ST111, ST175 y ST235), los cuales presentan una menor competencia que las cepas sensibles, pero podrían tener una mayor patogenicidad en el ámbito clínico nosocomial por ser hipermutables y poseer una capacidad aumentada de constituir biopelículas⁷².

Todos los estudios que han evaluado el impacto económico de las infecciones causadas por MR han concluido que se asocian con una prolongación significativa de la estancia hospitalaria y de los costos asistenciales en comparación con las debidas a sus congéneres sensibles^{52,56,58}. Las estimaciones más conservadoras y probablemente más realistas cifran en 1,8-2,2 días la prolongación de la estancia hospitalaria y en 15.000-19.000 \$ el exceso de coste por infección⁵⁸.

3. Factores de riesgo de adquisición de microorganismos resistentes

3.1. Relación entre resistencia y presión antibiótica

La emergencia y diseminación de la resistencia en el hospital provocada por la presión antibiótica puede deberse a varios mecanismos⁷³:

a) Selección de mutantes resistentes espontáneos en una población microbiana mayoritariamente sensible. Puede tratarse de una mutación puntual en los genes que codifican la diana del antibiótico o en genes reguladores cuya inactivación permite la producción de un enzima modificador del antibiótico o la sobreexpresión de una bomba de eflujo. Este mecanismo es operativo, por ejemplo, en el caso de las quinolonas y cualquier microorganismo⁷⁴, de las cefalosporinas de tercera generación y las enterobacterias poseedoras de betalactamasas cromosómicas inducibles⁷⁵ y de cualquier antibiótico y *P. aeruginosa* o *A. baumannii*^{72,76-78}. Sin embargo, es obvio que la selección no puede ser el mecanismo que vincula la exposición a un determinado antibiótico y la resistencia al mismo cuando esta no depende de mutaciones puntuales sino de la posesión de genes específicos, habitualmente contenidos en elementos complejos como plásmidos, transposones o *cassettes* cromosómicos (resistencia a betalactámicos mediada por betalactamasas plasmídicas u otros enzimas inactivadores o modificadores del antibiótico o la diana, resistencia a la metilicina en *S. aureus* o a la vancomicina en enterococos).

b) Enriquecimiento selectivo de especies bacterianas presentes en concentraciones relativamente bajas en el seno de una microbiota sensible al antibiótico utilizado. En estas circunstancias, el uso del antimicrobiano no aumenta la prevalencia de individuos colonizados, pero puede favorecer el desarrollo de infección clínica en los mismos y la posibilidad de que se conviertan en fuentes de transmisión o contaminación ambiental. Este es el caso por el que las cefalosporinas favorecen el sobrecrecimiento de los enterococos, una gran variedad de antibióticos el de *C. difficile*⁷⁹ o *Candida*⁸⁰ o el de agentes anaerobicidas la colonización intestinal por ERV⁸¹.

c) Transmisión preferente, ya sea desde reservorios ambientales u otros pacientes, de los MR a un antibiótico determinado a los individuos expuestos a ese antibiótico. Este mecanismo es aplicable a cualquier antibiótico y a cualquier

microbio resistente al mismo, siempre que el organismo resistente exista en el entorno de la comunidad humana de que se trate y ocurra una cierta transmisión del mismo desde su reservorio a los pacientes no portadores. La base fisiopatológica de la transmisión preferente es la reducción de la flora normal por el antibiótico en cuestión, lo cual hace más susceptible al individuo tratado a que un evento transmisor determine la colonización efectiva del mismo por el MR. Este mecanismo es el único operador que vincula la prevalencia de uso de antibióticos con la prevalencia de resistencia a los mismos en aquellos microbios, tales como SARM, ERV y BGN productores constitutivos de betalactamasas, cuya resistencia no depende de mutaciones cromosómicas espontáneas.

La relación entre frecuencia de utilización de un antibiótico y de resistencia puede modelarse matemáticamente y esos modelos predicen lo siguiente:

1) La prevalencia de resistencia aumentará con rapidez cuando la prevalencia de uso del antibiótico supere un cierto umbral que, en la comunidad, representa la presión antibiótica que compensa la pérdida de competencia derivada de la resistencia⁸² y, en el hospital, la presión antibiótica que compensa el efecto “diluyente” del ingreso constante de individuos mayoritariamente portadores de flora sensible⁸³. Por desgracia, la prevalencia de uso adecuado de numerosos antibióticos en el hospital, y en las unidades de cuidado intensivo en particular, probablemente rebasa con holgura el umbral de resistencia.

2) En el hospital, la prevalencia de resistencia alcanzará una meseta en el plazo de pocos meses que será proporcional a la prevalencia de uso del antibiótico. Bajo condiciones realistas de recambio de enfermos y tasas de transmisión, la frecuencia de resistencia podría alcanzar un valor próximo al 50% en 24 semanas si en todo momento el 10% de la población recibe el antibiótico en cuestión.

3) En el hospital, es de esperar una reducción rápida (semanas a pocos meses) de la prevalencia de resistencia en respuesta a la reducción en la prevalencia de uso del antibiótico, hasta alcanzarse el punto de equilibrio correspondiente. La supresión completa de la administración de un antibiótico reducirá la prevalencia de resistencia a la frecuencia con la que ingresen pacientes colonizados por el microbio resistente.

4) El uso de un segundo antibiótico activo frente a los microbios resistentes al antibiótico en cuestión reducirá la prevalencia de resistencia a este y puede reducir la frecuencia global de resistencia.

Por lo tanto, de acuerdo con estos modelos, cualquiera de las siguientes medidas es de esperar que descienda la frecuencia de resistencia de un determinado patógeno a un antibiótico dado: la disminución de la prevalencia de uso del antibiótico, la aplicación de medidas de barrera que restrinjan la transmisión de paciente a paciente, la reducción de la estancia (al acortar el periodo de tiempo disponible para la adquisición de microorganismos exógenos) y el empleo concomitante en la población de un segundo antibiótico que sea activo frente al organismo en cuestión^{83,84}. En términos generales, las predicciones de estos modelos se ajustan bien a las observaciones realizadas en unidades de críticos⁸⁵⁻⁸⁷ y, de hecho, forman la teoría sobre la que se funda la consideración de que promover la heterogeneidad del uso de antibióticos puede ser una medida potencialmente útil para atenuar el impacto de los mismos en la resistencia.

3.2. Relación entre resistencia y presión de colonización

El término presión de colonización se refiere a la prevalencia de pacientes colonizados en una unidad determinada por un microorganismo concreto en un momento dado y fue inicialmente descrito por Bonten et al. en la evaluación de los factores de riesgo de adquisición de ERV en pacientes críticos⁸⁸. La importancia epidemiológica de esta variable radica en dos hechos fundamentales. En primer lugar constituye un factor individual de riesgo de adquisición de cualquier microorganismo. En una unidad ocurre un número determinado de contactos cruzados del personal sanitario con distintos pacientes y cada contacto cruzado desde un individuo colonizado por un MR a otro no colonizado conlleva una determinada probabilidad de que el paciente virgen adquiera el patógeno. Resulta obvio que el riesgo de adquisición del MR por parte del paciente no colonizado dependerá de cuántos portadores de ese organismo haya en la unidad, puesto que el número de posibles contactos de riesgo del personal

sanitario con el paciente no colonizado por unidad de tiempo será tanto más elevado cuanto mayor sea la presión de colonización. La presión de colonización ha sido evaluada y descrita como un factor independiente de riesgo de adquisición de MR en un número reducido de estudios concernientes a ERV, SARM y *C. difficile*⁸⁹⁻⁹² y aún más raramente en estudios relativos a la adquisición de *A. baumannii*⁹³ y *P. aeruginosa*⁹⁴⁻⁹⁶.

El segundo aspecto relevante de la presión de colonización es su fluctuación en el tiempo, particularmente en unidades con un número escaso de pacientes como las UCI, lo cual determina una variabilidad temporal significativa del riesgo de transmisión. Esta dependencia del riesgo de adquisición de organismos resistentes por los pacientes no colonizados de lo que ocurre en el resto de enfermos ingresados determina que los análisis basados en la independencia de las observaciones no sea estrictamente válido cuando se evalúan intervenciones destinadas a reducir la transmisión. En dichos estudios, los métodos de análisis convencionales tienden a magnificar el efecto de las intervenciones, por lo cual, otros métodos que tengan en cuenta la variabilidad temporal del riesgo de transmisión serían más apropiados^{97,98}.

3.3. Factores de riesgo de adquisición de *Pseudomonas aeruginosa*

La exposición previa a antibióticos se considera una condición casi indispensable para la adquisición de *P. aeruginosa* y el subsecuente desarrollo de infección⁹⁹. De acuerdo con el paradigma clásico, los antibióticos no antipseudomónicos promoverían la adquisición de cualquier cepa de *P. aeruginosa*¹⁰⁰⁻¹⁰³, mientras que los fármacos con actividad antipseudomónica seleccionarían las cepas resistentes a esa clase particular de antibióticos¹⁰⁴. La adquisición de resistencia provocada por la exposición a antipseudomónicos se puede alcanzar mediante selección de mutantes en pacientes previamente colonizados o infectados por fenotipos sensibles^{105,106} o promoviendo la transmisión selectiva de una cepa ya resistente⁸⁴. Multitud de estudios han descrito que la exposición previa a un antipseudomónico se asocia con la adquisición de cepas resistentes al mismo^{104,107-120}, a antibióticos de otras cla-

ses^{108-110,117,121-125} o a múltiples fármacos^{46,49,115,126-131}. Sin embargo, no hay datos suficientes que dilucidan cuál de los procesos mencionados previamente está preferentemente implicado. En un estudio llevado a cabo en una unidad de cuidados intensivos, la mayoría (>60%) de las cepas que acabaron siendo resistentes a los diferentes antipseudomónicos, eran sensibles en el momento del ingreso o se adquirieron sensibles durante la estancia en la unidad¹³². Por otro lado, en otra investigación reciente en pacientes críticos solo el 15% de las cepas adquiridas cambiaron su patrón de susceptibilidad pasando de ser no multirresistentes a serlo⁴⁹.

Hay discrepancias en cuanto a la magnitud del riesgo de adquisición de resistencia asociado con los diferentes antibióticos antipseudomónicos. En pacientes previamente colonizados o infectados por *P. aeruginosa*, los carbapenems y las fluorquinolonas parecen poseer mayor tendencia a seleccionar mutantes resistentes que los demás antibióticos^{105,106,133,134}. Además, la exposición previa a fluorquinolonas o carbapenems se ha asociado frecuentemente con la adquisición de cepas resistentes a otros antibióticos no relacionados, así como a múltiples antibióticos^{49,110,119,121,123-127,129,131,135}. Sin embargo, hay algunas excepciones. En un estudio de casos y controles¹²⁹, las cefalosporinas y los aminoglucósidos (pero no las quinolonas) fueron los predictores principales del fenotipo multirresistente y en un estudio de cohortes¹³², las quinolonas fueron protectoras frente a la adquisición de *P. aeruginosa* y no estuvieron implicadas en la adquisición de fenotipos resistentes.

Parte de las discrepancias entre los estudios sobre la participación del uso previo de antibióticos en la resistencia a *P. aeruginosa* puede deberse a diferencias locales en las tasas de transmisión, ya que la exposición a antipseudomónicos en pacientes no colonizados, necesariamente requiere de la transmisión desde otro paciente o de fuentes ambientales para promover la adquisición de cepas resistentes. No obstante, las variables que influyen en la transmisión, como la presión de colonización⁸⁹, rara vez se han tenido en cuenta en los estudios dirigidos a definir la influencia de los antibióticos en la adquisición de cualquier *P. aeruginosa* o aquellas con algún tipo de resistencia^{95,101,103,117}.

4. Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*¹³⁶⁻¹³⁹

La resistencia a un antibiótico puede ser natural o intrínseca, cuando se debe a una característica específica inherente a una especie bacteriana (como *Mycoplasma* frente a betalactámicos porque no tiene pared celular o *P. aeruginosa* a la ampicilina debido a la conjunción de eflujo e inducción de *ampC*) o adquirida. La resistencia adquirida aparece mediante mutaciones cromosómicas que suelen provocar disminuciones de la sensibilidad (pequeños aumentos en la CMI), mientras que la transmisión horizontal de genes procedentes de otras cepas o incluso especies, sobre todo por conjugación (paso de material genético mediante transposones y plásmidos), suelen producir aumentos importantes en la resistencia¹⁴⁰. Estos pequeños aumentos de la CMI, favorecidos por la exposición antibiótica inadecuada, son capaces, a la larga, de progresar hacia la resistencia de alto nivel mediante el acúmulo de sucesivas mutaciones o por la adquisición al final de un determinante de alto nivel.

Pseudomonas aeruginosa es el BGN no fermentador de la glucosa, que con más frecuencia causa infección en humanos. De distribución ubicua, sobrevive en ambientes húmedos y poco nutritivos. Puede formar parte de la flora del hombre, comportándose como un patógeno oportunista causante de infecciones graves en pacientes hospitalizados, principalmente inmunodeprimidos, altamente instrumentalizados o portadores de material protésico y expuestos a antibióticos (unidades de críticos), además de ser la causa más frecuente de infección respiratoria crónica en pacientes con fibrosis quística^{141,142}. La capacidad de sobrevivir y persistir en superficies inertes asociada a la producción de biopelículas, la existencia frecuente de multirresistencia, resistencia extrema o panresistencia¹⁴³ y la dificultad en ocasiones para diferenciar colonización de infección, complican seriamente el tratamiento de las infecciones por este microorganismo. *P. aeruginosa* se caracteriza por expresar una resistencia natural (intrínseca) a diversos antibióticos y por su capacidad para desarrollar resistencia a los agentes antimicrobianos durante el tratamiento mediante la adquisición de genes de resistencia situados en elementos genéticos móviles (plásmidos, integrones) o a través de la selección de mutaciones espontáneas que alteran la expresión o la

función de mecanismos de codificación cromosómica. Habitualmente se expresan simultáneamente diferentes mecanismos de resistencia que afectan, parcial o totalmente, a distintos antibióticos^{144,145}.

4.1. Resistencia natural

La resistencia intrínseca de *P. aeruginosa* a múltiples antibióticos sin relación estructural se debe a varios factores: escasa permeabilidad de la membrana externa, presencia de una betalactamasa cromosómica inducible tipo AmpC y la expresión constitutiva de diversos sistemas de expulsión activa, sobre todo MexAB-OprM. En los BGN la membrana externa representa una barrera semipermeable a la entrada de moléculas, substratos o antibióticos. La entrada de los antibióticos betalactámicos, hidrofílicos, está restringida a unas estructuras concretas de la membrana denominadas porinas. La porina más abundante en la membrana externa de *P. aeruginosa* es OprF; la porina OprD permite el paso de carbapenems (imipenem, meropenem, doripenem) y OprC y OprE son porinas inducibles en anaerobiosis aunque es probable que estén presentes en pequeñas cantidades en cepas salvajes. La participación conjunta de estos 3 factores condiciona la resistencia natural a penicilina, aminopenicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación, cefotaxima, ceftriaxona, cefalosporinas orales de tercera generación, ertapenem, cloranfenicol, nitrofurantoína, sulfonamidas, trimetoprim, tetraciclina, novobiocina y ácido nalidíxico, por lo que el fenotipo salvaje o sensible de *P. aeruginosa* se caracteriza por su sensibilidad a carboxipenicilinas (ticarcilina), ureidopenicilinas (piperacilina), ceftazidima, cefepime, aztreonam, carbapenémicos (imipenem, meropenem, doripenem), fluorquinolonas (ciprofloxacino y levofloxacino), aminoglucósidos y colistina.

4.2. Betalactamasas

El mecanismo más importante de resistencia adquirida a los betalactámicos se debe a la producción de betalactamasas. En este microorganismo podemos encontrar los cuatro tipos de enzimas descritos según la clasificación molecular de Ambler¹⁴⁶: A, C, D (serina-betalactamasas) y B (metalo-betalactamasas).

4.2.1. Betalactamasa AmpC

Se trata de una betalactamasa cromosómica inducible de clase C (AmpC), codificada por el gen *ampC*, similar a la de algunas enterobacterias (*Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*). En condiciones normales esta enzima con actividad cefosloporinasa se secreta en pequeñas cantidades (bajo nivel de expresión) y es la responsable de la resistencia a aminopenicilinas y a cefalosporinas de espectro reducido. No se inhibe con ácido clavulánico, sulbactam ni tazobactam. Su producción puede incrementarse hasta mil veces en presencia de antibióticos betalactámicos inductores, como cefoxitina o imipenem, aunque es una sobreexpresión reversible que desaparece al retirar el agente inductor. La producción de AmpC también aumenta cuando se producen mutaciones cromosómicas que afectan a las proteínas involucradas en su inducción, fenómeno que condiciona una expresión constitutiva de elevado nivel. Cuando la producción de AmpC está aumentada de forma significativa, *P. aeruginosa* expresa resistencia a todos los antibióticos betalactámicos, incluido cefepime, con excepción de los carbapenémicos. El aumento de expresión de *ampC* es complejo y participan diversos genes implicados en el reciclado del peptidoglicano, los más importantes son un regulador positivo (*ampR*) y dos negativos (*ampD* y *dacB*)⁷².

4.2.2. Betalactamasas de clase A

Las betalactamasas de clase A que pertenecen al grupo funcional 2c de Bush¹⁴⁷ hidrolizan carbenicilina, ticarcilina y piperacilina, y se inhiben con ácido clavulánico y tazobactam. Se han descrito diversos enzimas pertenecientes a este grupo: TEM 1-2, PSE-1 (CARB-2), PSE-4 (CARB-1), CARB-3, CARB-4. Las cepas con carbenicilinasas (CARB) pueden manifestar una sensibilidad variable a cefepime y aztreonam pero, en ausencia de otros mecanismos de resistencia, siempre son sensibles a ceftazidima y carbapenems.

Las betalactamasas de espectro extendido de clase A pertenecen al grupo funcional 2b'. Su presencia es responsable de la resistencia a carboxipenicilinas, ureidopenicilinas, ceftazidima, cefepime, cefpiroma y aztreonam. También se

inhiben con ácido clavulánico y tazobactam y su afinidad por los carbapenems es baja, por lo que se mantiene la actividad de imipenem, meropenem y doripenem. En *P. aeruginosa*, como sucede en la familia Enterobacteriaceae, se han encontrado BLEE derivadas de enzimas tipo TEM y SHV, pero además se han descrito otros tipos: PER, VEB, GES, BEL, PME y CTX-M. Los genes responsables de su síntesis están localizados en el cromosoma o en plásmidos y están típicamente codificadas en integrones de clase 1 junto con determinantes de resistencia a aminoglucósidos. El grado de hidrólisis de ceftazidima, cefepime y aztreonam depende del tipo de enzima que, por otra parte, se puede inhibir en mayor o menor medida con los diferentes inhibidores de betalactamasas. Las BLEE tipo GES-1, a diferencia de la mayoría de las BLEE de clase A, tienen una fuerte afinidad por la cefoxitina y GES-2-4-5-6 hidrolizan a los carbapenems, por ello deben considerarse como carbapenemasas de clase A (de menor actividad que las metalo-betalactamasas de clase B). Aunque en nuestro país ha ocurrido al menos un brote nosocomial asociado a una cepa productora de GES 1 y 5¹⁴⁸, las BLEE no parecen todavía un mecanismo prevalente de resistencia en nuestro entorno¹⁴⁹.

4.2.3. Betalactamasas de clase D (oxacilinasas)

Las oxacilinasas (enzimas tipo OXA) son enzimas de clase D que pertenecen al grupo funcional 2d. Representan un amplio grupo de enzimas con un espectro hidrolítico muy desigual que generalmente están codificadas por genes integrados en plásmidos o integrones. Una característica de estas enzimas es que no se inhiben con ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam, con la excepción de OXA-18. En general, las derivadas de oxacilinasas clásicas afectan sobre todo la actividad de ceftazidima (OXA-11, OXA-14, OXA-15, OXA-19, OXA-32) con una actividad hidrolítica variable frente a cefepime y aztreonam. Algunas oxacilinasas adquiridas tienen la capacidad de hidrolizar los carbapenémicos sin afectar de forma significativa a las cefalosporinas de espectro extendido, como la OXA-40. En nuestro entorno, la frecuencia de oxacilinasas clásicas posiblemente esté infraestimada debido a la mayor frecuencia de desrepresión de *ampC*

como causa de resistencia a cefalosporinas y la prevalencia de OXA-40 parece escasa¹⁵⁰.

4.2.4. Metalobetalactamas

Las carbapenemasas que necesitan la presencia de Zn^{2+} en su centro activo se conocen con el nombre de metalo-betalactamasas. Son betalactamasas de clase B que determinan resistencia a los antibióticos betalactámicos, incluidos los carbapenémicos. Los monobactámicos, como el aztreonam, no se ven afectados por la actividad hidrolítica de estas enzimas. Las metalo-betalactamasas no se inhiben con ácido clavulánico ni tazobactam pero sí por quelantes iónicos divalentes como el EDTA. En *P. aeruginosa* se han identificado cuatro tipos de metalo-betalactamasas: IMP, VIM, SPM y GIM, de distribución mundial. La SPM-1 manifiesta cierta actividad frente a aztreonam. En nuestro entorno, VIM-2 es la enzima de mayor relevancia, asociada con el grupo clonal de alto riesgo ST111¹⁵¹.

4.3. Alteración de la permeabilidad (porina OprD)

La porina OprD es la principal puerta de entrada de los carbapenems al interior de la bacteria, por lo que pérdida de esta porina comporta una disminución de la sensibilidad a estos antibióticos. Constituye, de hecho, el mecanismo implicado con mayor frecuencia en la resistencia de *P. aeruginosa* a los carbapenems. En comparación con imipenem, la entrada al interior de la célula de meropenem parece verse menos afectada ya que en cepas sin OprD la CMI de imipenem tiene un valor entre 8-32 mg/L y la de meropenem entre 2-4 mg/L. La resistencia de alto nivel a meropenem (CMI > 8 mg/L) requiere la coexistencia de sobreexpresión de la bomba de eflujo MexAB-OprM¹³⁷.

4.4. Sistemas de expulsión activa (bombas de eflujo)

P. aeruginosa posee diversos sistemas de expulsión activa integrados en cinco superfamilias, aunque predominan los que pertenecen a la familia RND (*resistance-nodulation-division*). Los sistemas de expulsión más frecuentes en *P. aeruginosa* son MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN y MexXY. Afectan en mayor o

menor grado la actividad no solo de los antibióticos betalactámicos, incluidos los carbapenems, sino también de otros antibióticos (fluorquinolonas, macrólidos, tetraciclinas, cloranfenicol, lincomicina y novobiocina). Los sistemas MexAB-OprM y MexXY participan en los mecanismos de resistencia natural y adquirida a varios antibióticos, mientras que MexCD-OprJ, MexEF-OprN solo actúan en casos de resistencia adquirida. La sobreexpresión de MexAB-OprM condiciona una disminución de la actividad de carboxipenicilinas, ureidopenicilinas, cefotaxima, ceftazidima, cefepime y aztreonam. También se observa una disminución de la actividad de meropenem mientras que imipenem no se afecta debido a la diferente estructura molecular a nivel de la cadena lateral. La hiperexpresión de MexCD-OprJ afecta a antibióticos betalactámicos con una preferencia sobre las cefalosporinas de cuarta generación (cefepime, cefpiroma). Las cepas que sobreexpresan mexEF-OprN se caracterizan por expulsar fluorquinolonas y por manifestar una disminución de la sensibilidad a carbapenémicos, en especial imipenem, porque se asocia a una disminución de la porina OprD (mecanismo por el cual las quinolonas seleccionan resistencia cruzada a carbapenems). La sobreexpresión de mexXY afecta a varios antibióticos y es la única bomba que expulsa aminoglucósidos; entre los betalactámicos, el más afectado es cefepime^{145,152}.

4.5. Resistencia a aminoglucósidos

El mecanismo más importante de resistencia a los aminoglucósidos en *P. aeruginosa* es la modificación enzimática del antibiótico, con la consiguiente disminución de la afinidad por la subunidad ribosómica 30S. Los enzimas responsables están codificados por genes de localización plasmídica. Un segundo mecanismo es la metilación de la subunidad 16S del ARN ribosómico por las metilasas ArmA, RmtA y RmtD. Este mecanismo de resistencia confiere resistencia de alto nivel a amikacina, tobramicina, netilmicina y gentamicina. Por sí solo, el sistema de expulsión activa MexXY cooperando con OprM, OpmB, OpmG o Opml es un mecanismo relativamente poco frecuente de resistencia a los aminoglucósidos, excepto en los pacientes con fibrosis quística, y suele conferir resistencia moderada en ausencia de otros mecanismos adicionales^{153,154}.

4.6. Resistencia a quinolonas

La resistencia a fluorquinolonas se debe sobre todo a cambios estructurales en la diana (ADN girasa y topoisomerasa IV) o a sistemas de expulsión activa. Mutaciones puntuales en el gen *gyrA* localizado en el QRDR (quinolone-resistance-determining-region) dan lugar a la síntesis de una ADN girasa o topoisomerasa II con baja afinidad por las fluorquinolonas. Un único cambio en un aminoácido sería responsable de un nivel de resistencia moderado mientras que mutaciones que afectan al gen *gyrA* y al gen *parC* (subunidad A de la topoisomerasa IV) condicionaría un elevado grado de resistencia. Las fluorquinolonas penetran al interior de la bacteria a través de porinas y por difusión a través de la membrana citoplasmática. Si se produce una disminución en el número de las porinas disminuye la acumulación de la quinolonas, aunque esta situación no parece ser suficiente para que la bacteria manifieste resistencia. La sobreexpresión de los cuatro sistemas de expulsión activa comentados previamente (apartado 4.4) también afecta a estas moléculas, aunque en general condicionan un bajo grado de resistencia. Se han encontrado otros sistemas de expulsión activa poco frecuentes que condicionan una disminución de la actividad de las fluorquinolonas: MexVW- OprM, MexGHI-OpmD y MexPQ-OpmE. La resistencia de alto nivel a las fluorquinolonas se debe a la participación conjunta de los sistemas de expulsión activa y a las mutaciones en los genes que codifican la ADN girasa y la topoisomerasa IV¹⁵⁵.

4.7. Resistencia a colistina

Las polimixinas (polimixina B y colistina) son péptidos catiónicos que alteran la permeabilidad de la membrana externa de los BGN. La resistencia se atribuye fundamentalmente a modificaciones del lípido A del lipopolisacárido (la mejor conocida es la adición de 4-amino-4 desoxi-L-arabinosa por activación del operón *arnBCADTEF* motivada por mutaciones en los sistemas de dos componentes *pmrA/pmrB* o *phoP/phoQ*) a la sobreexpresión de la proteína de la membrana externa OprH que evita la unión del antibiótico a la célula y a la expresión de bombas de eflujo¹³⁹.

4.8. Multirresistencia

Debido a la heterogeneidad de descripciones en los trabajos publicados y con la intención de estandarizar la definición de los distintos tipos de resistencia a los antibióticos, un grupo de expertos propuso en 2012 una clasificación que distinguía entre “multirresistencia” (la no sensibilidad por lo menos a un antibiótico de cada una de tres categorías de antimicrobianos), “resistencia extendida” (la no sensibilidad por lo menos a un agente de todas salvo una o dos categorías) y “panresistencia” (la no sensibilidad a todos los antibióticos de todas las categorías)¹⁴³. La multirresistencia se debe al acúmulo de varios mecanismos, pero la naturaleza de los mismos difiere entre los distintos grupos clonales. En nuestro entorno, la multirresistencia y la resistencia extendida predominan en los clones internacionales de alto riesgo ST175 y ST111. En el primero se debe a hiperproducción del AmpC, pérdida de OprD, tres mutaciones en la región determinante de resistencia a quinolonas, producción del enzima inactivador de aminoglucósidos Ant(2'')-Ia (inactiva gentamicina y tobramicina) y sobreexpresión variable de las bombas MexAB y MexXY. Por el contrario, ST111 posee betalactamasas adquiridas, especialmente el metaloenzima VIM-2, además de pérdida de OprD y dos mutaciones en la región de resistencia de las quinolonas¹⁵¹.

En nuestra serie, los mecanismos de resistencia más prevalentes detectados en las cepas de *P. aeruginosa* que cambiaron de fenotipos sensibles a resistentes fueron: pérdida de porina OprD (65%), sobreexpresión de MexB (53%), desreexpresión de *ampC* (29%), mutaciones en los genes que codifican dianas de quinolonas (24%) y sobreexpresión de MexY (24%)¹⁵⁶.

5. Medidas de prevención y control de la infección en la UCI

Se han propuesto múltiples estrategias avaladas por diferentes sociedades científicas encaminadas al control de la aparición y diseminación de resistencias en los centros hospitalarios¹⁵⁷⁻¹⁶⁰. Estas estrategias se pueden clasificar en dos niveles de actuación: *medidas de control de la infección* (mediante la utilización de métodos de aislamiento, prevención de la transmisión horizontal y desinfección/prevencción primaria de las infecciones) y *medidas de control antibiótico* dirigidas a la contención y racionalización del uso de agentes antimicrobianos.

5.1. Medidas de control de la infección

Dependiendo del tipo de UCI, de un tercio a la mitad de los pacientes tienen riesgo de desarrollar una infección nosocomial. En estas unidades, la susceptibilidad del huésped a la infección rara vez puede ser modificada y la presencia de microorganismos con determinantes de resistencia y la alta densidad de cuidados sanitarios son inevitables. La infección por organismos resistentes suele estar precedida por la colonización de la piel o las mucosas y el estado de portador en el momento del ingreso o la adquisición durante el mismo es un factor de riesgo para el subsiguiente desarrollo de infección¹⁶¹. En enfermos críticos colonizados, la tasa de infección clínica se ha cifrado entre el 5,5% y 58% para SARM¹⁶²⁻¹⁶⁷, hasta el 45% para ERV¹⁶⁸, entre el 5% y 69% para enterobacterias productoras de BLEE^{169,170} y en torno al 16% para *P. aeruginosa* con resistencia extendida⁴⁷. En consecuencia, prevenir la transmisión constituye un elemento fundamental de la prevención de las infecciones causadas por estos microorganismos¹⁷¹.

Las medidas generales de prevención de la transmisión incluyen la higiene de manos con derivados alcohólicos en los cinco momentos según la OMS¹⁷², la aplicación de precauciones de contacto a los pacientes portadores de MR detectados en muestras clínicas, el cribado universal o selectivo (solo en pacientes con factores de riesgo) para detectar la colonización con aplicación de precauciones de contacto (ya sea preventivamente hasta que se descarta el estado de portador o tras su detección)¹⁷³ y la aplicación de medidas de descolonización

cutánea (mupirocina nasal, baño corporal con clorhexidina o ambas, con carácter universal o solo a los portadores detectados mediante cribado)^{174,175} o de las mucosas (descontaminación selectiva). La higiene de las manos y las medidas de detección con precauciones de contacto disminuirán la tasa de infección reduciendo el número de pacientes que eventualmente adquirirán el microorganismo de riesgo. Las medidas descolonizadoras pretenden además disminuir la incidencia de infección en el paciente colonizado, tanto la debida a MR como a la causada por la flora normal de la piel y las mucosas.

5.1.1. Higiene de las manos

En el año 2002, los Centers for Diseases Control (CDC) publicaron las directrices relativas a la higiene de las manos donde se revisó la evidencia de la importancia de las manos del personal sanitario en la transmisión de microorganismos, de la asociación entre higiene de las manos y la reducción del riesgo de adquisición de infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria, de la eficacia de los distintos productos y del uso de derivados alcohólicos como base fundamental de la higiene de manos¹⁷⁶. Basándose en esta directriz, en el año 2009, la Organización Mundial de la Salud lanzó la campaña “Las manos limpias salvan vidas”, en la cual la utilización de los productos alcohólicos fue explícitamente recomendada para uso rutinario siguiendo un nuevo paradigma de indicaciones basado en los denominados “cinco momentos para la higiene de las manos”¹⁷². Las recomendaciones de esa campaña han sido ampliamente adoptadas por las instituciones sanitarias de la totalidad de los países industrializados.

Al menos trece estudios han evaluado el impacto de la higiene de las manos en UCI de adultos y neonatales y de ellos en solo tres no pudo documentarse que una mejora del grado de cumplimiento desde un 6,3%-37% hasta un 59%-81% se asociara a un descenso significativo de la tasa de infección nosocomial. En uno de los estudios negativos, la intervención no consiguió aumentar significativamente el grado de cumplimiento y en otro no se describieron los métodos y definiciones utilizados para detectar las infecciones. En el tercero,

el más problemático por tratarse del único prospectivo, controlado y cruzado (el mejor diseñado de todos), el fracaso pudo estar relacionado con una falta de poder estadístico y con el hecho de que se utilizó un producto alcohólico que no cumplía con los estándares de eficacia antimicrobiana¹⁷⁷.

Aunque nadie duda de la eficacia de la higiene de manos para interrumpir la transmisión de organismos a través de las manos del personal y de que este es el principal mecanismo de transmisión de los microorganismos multirresistentes (MDR), no se ha definido con claridad el mínimo grado de cumplimiento necesario para que el procedimiento sea eficaz¹⁷⁸. En un estudio concerniente a SARM, los autores estimaron que en una unidad de críticos con una frecuencia de contactos por parte del personal entre pacientes distintos del 50% (la esperable en promedio con una ratio de pacientes: personal de 2:1), la tasa de cumplimiento con la higiene de las manos que evitaría la transmisión del patógeno estaría en torno al 80%¹⁷⁹. Como se ha comentado previamente, en otros estudios que han demostrado la eficacia de la higiene de manos en UCI, la frecuencia mínima de cumplimiento asociada con reducciones significativas de la incidencia de infección nosocomial ha sido del 59%. Por último, en un estudio multicéntrico llevado a cabo en trece UCI europeas, el porcentaje medio de cumplimiento asociado con una disminución significativa de la adquisición de MR (fundamentalmente SARM) fue del 69%, aunque en esta investigación la intervención incluyó el lavado corporal con clorhexidina¹⁸⁰. La evidencia disponible sugiere que si por cualquier razón no resulta realista mantener de forma estable en una unidad determinados niveles de cumplimiento de higiene de manos en el rango de 60%-80%, probablemente sea necesaria la aplicación de otras medidas suplementarias para interrumpir la transmisión efectiva de MR.

5.1.2. Cribado, precauciones de contacto y descolonización

La obtención más o menos sistemática de muestras de la piel o mucosas para establecer el estado de portador de un determinado microorganismo puede tener las finalidades siguientes: la aplicación precoz de precauciones de contacto para impedir la transmisión del patógeno; la aplicación de medidas de descoloniza-

ción o profilaxis antibiótica destinadas a evitar la infección en el individuo colonizado; evitar el aislamiento innecesario si se procede a la aplicación preventiva de precauciones de contacto o influir en el tratamiento empírico del paciente con sepsis de acuerdo a su estado de portador previo¹⁸¹. En la práctica totalidad de estudios que han evaluado la eficacia del cribado, ya sea como medida única o asociada a procedimientos de descolonización, los microorganismos de interés han sido SARM y/o ERV. La eficacia del cribado como técnica aislada depende de la rapidez con que se instauren las precauciones de contacto y de la eficacia de estas últimas para evitar la transmisión. La rapidez de la detección ha mejorado sustancialmente con la introducción de técnicas moleculares (PCR) y medios de cultivo cromogénicos. Los métodos moleculares son sensibles y específicos y permiten la detección del patógeno en plazos inferiores o iguales a dos horas¹⁸²⁻¹⁸⁴. Los medios cromogénicos requieren de 24 a 48 horas y los cultivos convencionales un mínimo de 48 horas. En la práctica, los tiempos de respuesta reales observados en los estudios relativos a SARM han oscilado entre 1,9 y 21,6 horas en los estudios que han utilizado métodos moleculares, 46,2 y 79,2 horas en los que han utilizado medios cromogénicos y 2 a 5,2 días en los que han utilizado cultivos convencionales¹⁸⁵.

La eficacia del cribado universal seguida exclusivamente de la aplicación de precauciones de contacto en pacientes ingresados en unidades de críticos para reducir la tasa de adquisición de SARM o la incidencia de infección por este patógeno ha sido evaluada en múltiples estudios¹⁸⁶⁻¹⁹⁶, de los cuales solo uno tuvo un diseño de asignación aleatoria en bloques. En la práctica totalidad de los estudios se obtuvo solo una muestra nasal, siempre dentro de las primeras 48 horas de ingreso y por lo general una vez por semana posteriormente. En la mayoría se utilizaron técnicas convencionales de cultivo. Dos estudios, incluido el de asignación aleatoria, no encontraron que el cribado seguido de precauciones de contacto disminuyera la tasa de adquisición (colonización o infección) de SARM. En uno de ellos¹⁸⁶, el resultado negativo pudo deberse al bajo grado de cumplimiento con la higiene de las manos (21%), presumiblemente el elemento clave de la eficacia de las precauciones de contacto. En el otro¹⁹⁴, el fracaso pudo

estar relacionado con una excesiva demora en la comunicación del resultado de los cultivos de vigilancia ($5,2 \pm 1,2$ días, de forma que solo el 41% de los días de estancia en la unidad siguieron al dictamen del laboratorio). En el resto de trabajos se han comunicado reducciones del 37,7% al 79% ya sea en la tasa de adquisición (presencia de SARM en cualquier muestra) o en la incidencia de infecciones por SARM. La magnitud de la aparente eficacia de esta práctica ha derivado en que haya sido recomendada por sociedades científicas de varios países e incluso en algunos venga determinada por ley^{197,198}. Sin embargo, ciertos aspectos de la misma no están exentos de controversia. Dejando aparte el hecho de que la calidad de muchos de los estudios no es la óptima^{199,200}, parece improbable que las reducciones observadas en la incidencia de infección puedan atribuirse exclusivamente a la menor transmisión resultante de la aplicación de precauciones de contacto. Con reducciones de la transmisión observadas del orden del 25%, se ha estimado que la disminución de la incidencia de infección oscilaría, en el mejor de los casos, entre el 16% y 33%²⁰¹, cifras estas significativamente inferiores al 62% observado en algunos estudios¹⁹³. Por el momento no existe una evidencia clara de que la utilización de técnicas moleculares haya resultado en una mayor eficacia que las técnicas de cultivo cromogénico o convencional^{183,185,202}.

Las estrategias de cribado pueden complementarse con prácticas destinadas a la descolonización de los portadores detectados, las cuales consisten habitualmente en la aplicación de mupirocina nasal durante cinco días (en el caso de SARM) y/o clorhexidina corporal (en el caso SARM, ERV o BGN resistentes) durante el mismo tiempo o todo el ingreso. Alternativamente, la mupirocina y la clorhexidina pueden administrarse como medida profiláctica con carácter universal con o sin cribado. El lavado corporal con clorhexidina (gluconato) puede realizarse con solución jabonosa al 4%, solución acuosa a concentraciones que han oscilado entre 0,16 y 20 g/L (2%) o compresas comerciales impregnadas en clorhexidina al 2%. Estas últimas producen concentraciones cutáneas del antiséptico más de diez veces superiores a los productos acuosos²⁰³. En los pacientes críticos, un metaanálisis concluyó que la aplicación corporal de clorhexidina

reducía la incidencia de bacteriemia (incluida la relacionada con catéteres intravenosos)²⁰⁴ y dos revisiones sistemáticas posteriores indicaron que reducía significativamente la incidencia de colonización e infección por SARM y ERV^{174,205}. Un estudio multicéntrico con un diseño adecuado volvió a demostrar una reducción del riesgo de adquisición de SARM o ERV (a expensas sobre todo de ERV) y una disminución de la incidencia de bacteriemia (a expensas sobre todo de los estafilococos coagulasa-negativa), aunque en esta investigación se incluyó también una unidad de trasplante de médula ósea¹⁷⁵. Sin embargo, en el trial más reciente al respecto llevado a cabo a cabo en cinco UCI, la aplicación corporal de clorhexidina no redujo la incidencia de infección nosocomial²⁰⁶. Un último metaanálisis de los cinco estudios de asignación aleatoria, incluido el último mencionado, sugiere un efecto neto favorable sobre el total de bacteriemias, aunque en el caso de las causadas por SARM la aplicación adicional de mupirocina nasal se asoció a una reducción significativamente superior que la producida por la aplicación de clorhexidina sola²⁰⁷.

Un estudio de asignación aleatoria ha comparado la práctica de cribado seguida de precauciones de contacto con dos estrategias distintas de descolonización mediante la aplicación de mupirocina nasal y clorhexidina corporal (solo a los pacientes colonizados o a todos los pacientes ingresados prescindiendo del cribado). Este estudio incluyó 74 UCI y 74.256 pacientes y los resultados fueron aleccionadores: la descolonización universal fue más efectiva que la descolonización selectiva de los pacientes colonizados y que el cribado y aislamiento; tanto en la reducción de la incidencia de SARM en muestras clínicas como de la bacteriemia causada por cualquier patógeno²⁰⁸. Es además el procedimiento más coste-efectivo²⁰⁹. En la misma línea, otro estudio multicéntrico europeo bien diseñado puso de manifiesto que el cribado para SARM, ERV y enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación (R-CEF3g) con aplicación posterior de precauciones de contacto no tuvo efecto en la adquisición de estos patógenos respecto a la mejora del cumplimiento de higiene de manos (desde un 52% a un 77%) junto con la aplicación corporal de clorhexidina¹⁸⁰. El único motivo de preocupación respecto al uso universal de mupirocina y clorhexidina

es la posibilidad de emergencia de resistencia en SARM y otros patógenos^{210,211}, aunque la magnitud real de este problema está aún por determinar.

La eficacia del cribado y de la aplicación corporal de clorhexidina en la prevención de infecciones debidas a gramnegativos resistentes ha sido menos explorada. Los escasos datos disponibles sugieren que puede reducir la incidencia de infección por BGN (enterobacterias y no fermentadores, en particular *A. baumannii*)^{212,213}. En centros especializados de larga estancia, el baño corporal con clorhexidina integrado en un paquete de medidas –cribado en el momento del ingreso, precauciones de contacto y educación y monitorización del personal sanitario– ha resultado eficaz para reducir la incidencia de colonización e infección por *K. pneumoniae* productoras de carbapenemasas KPC²¹⁴.

5.1.3. Descontaminación digestiva selectiva

La denominada descontaminación digestiva selectiva consiste, en su forma completa, en la administración de un antibiótico sistémico de espectro limitado (amoxicina-clavulánico, cefuroxima o una cefalosporina de tercera generación no antipseudomónica) durante 72-96 horas junto con una combinación de antibióticos no absorbibles (habitualmente colistina, un aminoglucósido y anfotericina) que se aplican en forma de pasta (concentración típica del 2% de cada componente) en el cavidad oral y en forma líquida en el estómago (por ejemplo, 100 mg de colistina, 80 mg de tobramicina y 500 mg de anfotericina) a través de la sonda nasogástrica. La población diana son los pacientes intubados que requieren ventilación mecánica invasiva durante por lo menos 48 horas y ambos componentes se administran cada 6 horas. En su versión restringida consiste solo en el componente bucal y entonces se le denomina descontaminación oral selectiva. El objetivo es reducir la flora aerobia potencialmente patógena sin afectar la anaerobia y evitar la infección reduciendo tanto la densidad microbiana de la flora endógena propia como la eventual colonización por flora exógena. El objetivo del antibiótico sistémico inicial es prevenir la neumonía precoz asociada a la ventilación mecánica, mientras que el componente tópico pretende prevenir las infecciones tardías debidas a BGN y *Candida*²¹⁵. Se han publicado nueve metaa-

nálisis destinados a evaluar la eficacia de la descontaminación selectiva, los dos últimos de los cuales analizaron 36²¹⁶ y 55²¹⁷ estudios controlados de asignación aleatoria. Ambos coinciden en señalar que el procedimiento completo (componentes parenteral y tópico) se asocia con una reducción significativa de neumonía asociada a la ventilación mecánica y de mortalidad. En el metaanálisis más reciente se observó, asimismo una disminución significativa del riesgo de bacteriemia por BGN²¹⁷. El efecto favorable sobre la mortalidad ha sido documentado en dos estudios aleatorios^{218,219} y en uno más reciente de asignación aleatoria en bloques²¹⁹. En este último, la reducción significativa de la mortalidad se observó tanto en los pacientes que recibieron la pauta completa (3,5 puntos porcentuales) como en aquellos que recibieron exclusivamente el componente tópico oral (2,5 puntos porcentuales).

A pesar de la evidencia de la eficacia de la descontaminación selectiva, no ha llegado a constituir una práctica muy extendida en las unidades de críticos europeas salvo en las de Holanda, país donde se realizaron los estudios clínicos que demostraron un impacto positivo en la supervivencia²²⁰. La mayor preocupación es el posible impacto negativo sobre la prevalencia de MR en países en los que estos son mucho más prevalentes que en Holanda. En este sentido, uno de los patógenos más problemáticos es SARM, ya que al menos en una experiencia previa, la prevalencia del mismo pasó del 17% al 80% durante un periodo de cinco años de implementación de una pauta de descontaminación selectiva²²¹. A pesar de haber sido utilizada con éxito para controlar brotes epidémicos debidos a enterobacterias resistentes²²² y de repetidas experiencias en las que no se ha podido vincular su utilización con la emergencia de resistencia^{223,224}, datos recientes indican que la descontaminación selectiva puede no ser suficientemente efectiva en términos de profilaxis y puede además fomentar la emergencia de resistencia a colistina y aminoglucósidos en *K. pneumoniae* productoras de BLEE²²⁵ o carbapenemasas²²⁶. Es de esperar que un trial multicéntrico europeo actualmente en curso produzca información clínicamente significativa sobre estos aspectos (Código del estudio: WP6-282512-R-GNOSIS).

5.2 Medidas de control antibiótico

Los programas de control antibiótico (*antimicrobial stewardship programs* o programas de optimización antibiótica, PROA en España), en la actualidad promovidos por numerosas sociedades científicas, sanitarias y políticas²²⁷, consisten en el desarrollo e implementación de una serie de estrategias específicas dirigidas a optimizar el uso de antibióticos en los pacientes hospitalizados, con el fin de mejorar su pronóstico, reducir los efectos adversos del uso de antimicrobianos (incluida la resistencia antibiótica) y asegurar una terapia coste-efectiva. Estos programas tienen en común la necesidad de un abordaje multidisciplinar que implique, por lo menos, a un especialista en infecciones, a un farmacólogo clínico con formación en infecciones y a un microbiólogo clínico experto en resistencias. Es recomendable que cuenten además, según disponibilidad, de un especialista en sistemas de la información, de un especialista en control de la infección, de un epidemiólogo y de un intensivista¹⁶⁰. Las intervenciones orientadas a reducir el uso excesivo de prescripciones antibióticas pueden reducir la resistencia antimicrobiana o las infecciones adquiridas en el hospital causadas por MR y las intervenciones dirigidas a aumentar la efectividad de la prescripción pueden mejorar los desenlaces clínicos^{228,229}. A su vez, estos programas han demostrado consistentemente reducir el uso de antibióticos en un 22%-36%, mejorar la utilización de los antibióticos en un 30-50% de los casos y disminuir el gasto farmacéutico anual entre 200.000 y 900.000 \$, cifras que parecen superar el coste de mantenimiento del programa²³⁰. No obstante, es necesario realizar estudios adicionales rigurosos que permitan establecer de manera inequívoca la magnitud del impacto específico de los PROA en la reducción de resistencias y qué tipo de estrategias son las más costo-efectivas^{231,232}.

Las intervenciones específicas dirigidas a mejorar el uso de antimicrobianos son de tres tipos^{160,230}:

5.2.1. Medidas educativas

Las actividades formativas constituyen una de las intervenciones esenciales de los PROA con el objetivo de influir en los hábitos de prescripción y utilización

de antibióticos. En este sentido hay que tener en cuenta que la prescripción antibiótica no depende exclusivamente de los conocimientos teóricos, sino que está enormemente influenciada por los hábitos de prescripción del clínico²³³, por lo que el especialista en formación, que todavía no ha consolidado sus hábitos de prescripción, debe ser uno de los sujetos preferentes de las actividades educativas. En una encuesta recientemente realizada en cinco centros hospitalarios españoles se constató que el 70% de los residentes consideraron que su formación en esta materia era escasa o muy escasa a pesar de que el 86,5% de ellos había prescrito algún antibiótico en el último mes²³⁴. Por otro lado, las actividades formativas que involucran activamente al prescriptor potencial en la toma de decisiones en escenarios clínicos concretos han demostrado ser las más eficaces²³⁵.

5.2.2. Medidas no restrictivas o de ayuda a la prescripción

Entre ellas destacan las auditorías prospectivas con intervenciones y retroalimentación. Son las medidas mejor aceptadas por los profesionales y las que tienen mayor eficacia potencial a largo plazo²³⁴. Incluyen el desarrollo de guías de práctica clínica (tratamiento y profilaxis) adaptadas a la epidemiología local²³⁶, la realización de auditorías de optimización del uso de antibióticos, la facilitación de la consulta a expertos, la creación de grupos de apoyo multidisciplinarios y la aplicación de tecnologías de la información a este entorno. Las actividades a las que se dirigen las auditorías tienen por objeto promover el empleo precoz y apropiado de los antibióticos, tanto en espectro como en posología, de acuerdo a la sospecha clínica y la gravedad de la infección; adecuar el tratamiento antibiótico en función de los resultados de microbiología (desescalado); ajustar la duración de los tratamientos antibióticos; evitar el empleo de antibióticos cuando la clínica no sugiere la existencia de una infección bacteriana y obviar la administración parenteral de antibióticos con buena biodisponibilidad digestiva cuando sea posible, así como promover la terapia secuencial. La eficacia de estos programas se basa en la acogida favorable, ya que se mantiene la capacidad de decisión por parte del prescriptor. En los programas de estas características que han sido evaluados en España, la tasa de aceptación de las recomendaciones

supera el 80%^{237,238}, y se han asociado a un notable ahorro económico directo en antimicrobianos (alrededor del 20%) y a la reducción en la incidencia de algunas infecciones nosocomiales como la diarrea por *C.difficile*. Además se constata que no contribuyen negativamente en la mortalidad ni en el número de reingresos. El consejo diario personalizado se dirige hacia los pacientes susceptibles de incluir en el programa mediante su identificación a través de los sistemas de información sobre prescripción antibiótica; y se materializa mediante una revisión de los datos clínicos y microbiológicos del paciente (a ser posible incluyendo una visita médica) con la posterior difusión (escrita o verbal) de la recomendación a su médico responsable. Por estos motivos, tales intervenciones son difíciles de implementar y mantener en el tiempo y tienden a regresar rápidamente a la situación de base en cuanto se interrumpe el programa²³⁹.

5.2.3. Medidas restrictivas

Son intervenciones que limitan el uso de determinados antibióticos a unas indicaciones específicas mediante fórmulas diversas que restringen la posibilidad de prescribirlos. Estas fórmulas incluyen la no inclusión de un antibiótico en el petitorio de la farmacia del hospital, la necesidad de aprobación previa a la dispensación por un “equipo de antibióticos”, la aprobación diferida (se facilitan las primeras dosis y se evalúa la prescripción posteriormente), la aprobación en función de una solicitud por escrito o informatizada específica y las órdenes informatizadas de retirada del antibiótico. En general, se considera que las estrategias restrictivas tienen efectos inmediatos, desde el momento de su instauración y permiten un control directo sobre el consumo de antibióticos. Las principales evidencias sobre la eficacia de las medidas restrictivas en disminuir la emergencia de resistencias bacterianas proceden del control de brotes epidémicos o de problemas concretos de resistencia antibiótica tanto en bacterias grampositivas²⁴⁰⁻²⁴² como gramnegativas²⁴³⁻²⁴⁹ o, incluso, ambas^{247,250,251}. Sin embargo, no siempre las restricciones de un determinado antimicrobiano se han seguido de la reducción en la incidencia del microorganismo resistente que se pretendía controlar²⁵²⁻²⁵⁴. Entre los mayores problemas al implementar estas estrategias destacan el que compor-

tan sensación de pérdida de autonomía para los médicos prescriptores; el recurso a mecanismos que obvian la restricción (prescripción nocturna o falsificación del formulario); el retraso en la dispensación del antibiótico; el aumento de trámites burocráticos que, en ocasiones, evitan la prescripción del fármaco restringido aunque esté mejor indicado; y el riesgo de suspensión inadecuada²⁵⁵. La restricción en la indicación de antibióticos no es una estrategia fácil de implementar ni probablemente sensata en las unidades de cuidados intensivos. El tratamiento empírico adecuado y precoz ha demostrado disminuir la mortalidad^{256,257} en los pacientes críticos con sepsis grave. En el contexto actual de una elevada prevalencia de microorganismos MDR, este principio conlleva, sin embargo, la necesidad de administrar antibióticos de amplio espectro (y a menudo combinaciones de los mismos) para garantizar su cobertura, lo cual puede a su vez provocar el aumento de resistencia y perpetuar así un círculo vicioso²⁵⁸. La restricción de un antibiótico, además de los inconvenientes descritos anteriormente, puede tener como consecuencia el aumento compensatorio en la utilización de otros agentes no restringidos y, consecuentemente, asociarse a incrementos de resistencia a estos. Este fenómeno denominado por Burke²⁵⁹ como “*squeezing the ballon*” (la presión ejercida sobre un extremo de un globo causa la distensión del otro) ha sido repetidamente observado en varios estudios clínicos^{244,260}.

La rotación cíclica de antibióticos se considera una medida restrictiva, que por sus características especiales se expondrá a continuación en el apartado de estrategias que promueven la heterogeneidad antibiótica.

6. Estrategias de diversificación antibiótica: rotación, mezcla y PAMS

La prevalencia de resistencia de un determinado microorganismo a un antibiótico dado en una población concreta está causalmente vinculada a la proporción de individuos de esa población que recibe el antibiótico, es decir, a la prevalencia de uso del antimicrobiano o “presión antibiótica”. En consecuencia, restringir la utilización de antibióticos previsiblemente disminuirá la prevalencia de resistencia y, en el ámbito hospitalario, es esperable, además, que los cambios en respuesta a las políticas restrictivas ocurran en un periodo de tiempo relativamente

corto, de varias semanas a pocos meses^{82-84,157,261}. Con el objeto de minimizar la prevalencia de uso de uno o varios antibióticos concretos durante un periodo de tiempo determinado puede recurrirse a cualquiera de las dos estrategias generales siguientes: a) la restricción del número de prescripciones o de la duración del tratamiento (prevalencia \approx incidencia \times duración) y b) la promoción de la heterogeneidad de uso, de forma que en el periodo de tiempo considerado el menor número de individuos posible reciba cada uno de los antibióticos disponibles activos contra el microbio con un mecanismo de resistencia distinto. Por supuesto, ambas estrategias son perfectamente compatibles.

Existen varias intervenciones dirigidas a aumentar la heterogeneidad en el uso de antibióticos. Una de ellas, llamada “rotación” (o *cycling*) consiste en el empleo secuencial de antibióticos que no compartan el mismo mecanismo de resistencia. Alternativamente, en otra estrategia denominada “mezcla” (*mixing*), todos los antibióticos disponibles con un mecanismo de resistencia diferente se administran de forma concurrente a pacientes distintos, aleatorizando cada paciente a recibir un antibiótico distinto con la finalidad de que la proporción de individuos tratado con cada uno de los antibióticos disponibles sea aproximadamente la misma²⁶²⁻²⁶⁴. La rotación promueve la diversificación de uso cuando se considera el periodo completo que abarca los diferentes ciclos o intervalos, mientras que la mezcla proporciona heterogeneidad de forma continua.

Las estrategias de rotación secuencial de antibióticos basan su eficacia sobre la frecuencia de la resistencia microbiana en las variaciones periódicas de presión antibiótica que generan sobre los microorganismos expuestos. Así, con el uso secuencial de antibióticos, la sustitución de un agente concreto o clase de antibióticos por otro determinaría la reducción de la frecuencia de resistencia acaecida durante el periodo de uso predominante del agente retirado, de manera que este volvería a ser clínicamente efectivo tras un ciclo de utilización del nuevo agente. Si la recuperación de la sensibilidad del microorganismo al antibiótico previo durante el periodo de uso predominante del otro fuese completa, el proceso podría repetirse indefinidamente. La duración de los ciclos ha de modularse para cambiar de fármaco antes de que se alcance la meseta de resistencia

correspondiente a la presión ejercida por el mismo, de manera que nunca llegue a “quemarse” completamente ninguno de los antibióticos, ya que en estas circunstancias la sustitución vendría obligada por la pérdida de su eficacia clínica. En la estrategia de mezcla es más fácil apreciar que cada uno de los antibióticos disponibles será utilizado en la menor proporción posible de la población, lo cual minimizará la presión ejercida sobre un determinado mecanismo de resistencia.

Se han diseñado al menos otras dos formas de diversificación antibiótica. En una de ellas, denominada “rotación dual” (*dual cycling*), se administran antibióticos diferentes en cada periodo dependiendo del tipo de infección, garantizando así cierta mezcla de fármacos en todos los ciclos^{265,266}. En otra estrategia, denominada “monitorización y supervisión de antibióticos periódica” o “PAMS” (*periodic antibiotic monitoring and supervision*)²⁶⁷, un grupo de varios antibióticos se selecciona para la intervención y cada componente es promovido, restringido o dejado sin supervisión durante un periodo de tiempo programado (normalmente tres meses) según su frecuencia de uso y la prevalencia de resistencia en un microorganismo índice (p. ej. *P. aeruginosa*) observados durante el periodo previo.

No existen indicadores universalmente aceptados de heterogeneidad de utilización de antibióticos, aunque en varios estudios clínicos se ha utilizado una versión modificada del índice de homogeneidad de Peterson²⁶⁸ u otras puntuaciones ecológicas de diversidad (Simpson, Shannon-Weiner)²⁶⁹. Un índice de Peterson superior a 0.85 indica una heterogeneidad significativa (Peterson index = $1 - \{n / [2 \times (n - 1)]\} \times \sum (a_i - b_i)$ donde n es el número de antibióticos considerados en la ecuación, a_i es la proporción si todos los antibióticos se utilizaran por igual, y b_i es la proporción de un antibiótico determinado observada en el estudio).

6.1. Efectos de las estrategias de diversificación. Modelos matemáticos

Varios modelos matemáticos han evaluado la relación entre la prevalencia de uso de un antibiótico en una población determinada (proporción de pacientes en una unidad que recibe el antibiótico) y la prevalencia de individuos que serán portadores de un organismo resistente al mismo antibiótico, así como la cinética de dicho

proceso⁸²⁻⁸⁴. Estos modelos predicen que bajo una presión antibiótica constante, cuando la prevalencia de uso del antibiótico sobrepase un determinado umbral, la prevalencia de resistencia aumentará de forma exponencial hasta alcanzar un determinado *plateau*. En el entorno hospitalario, este proceso se completará en el plazo de varias semanas a pocos meses⁸⁴. De igual forma, una vez cesa la presión antibiótica, es esperable que la tasa de resistencia descienda con rapidez hasta los niveles de prevalencia de resistencia derivada de los pacientes que ingresan en la unidad ya colonizados o infectados por MR. En el hospital, es previsible que este descenso ocurra con relativa rapidez debido a un efecto “dilucional” siempre que la mayoría de los enfermos que ingresan en la unidad sean portadores de cepas sensibles. Si a lo largo de las semanas de desaparecer la presión antibiótica no disminuye consecuentemente la tasa de resistencia al mismo, hay que sospechar que existe algún reservorio en la unidad (ambiental o un paciente colonizado de larga estancia) del patógeno en cuestión o que se está utilizando un nuevo antibiótico que presenta resistencia cruzada con el anterior^{83,270}.

En ese contexto, una estrategia de administración preferente y restricción de un antibiótico en ciclos programados que eviten alcanzar una frecuencia indeseable de resistencia, con el consecuente descenso de la misma durante los siguientes ciclos de uso de otros antibióticos (con diferente mecanismo de resistencia), podría mantener a lo largo del tiempo la resistencia a cada uno de ellos por debajo de niveles clínicamente relevantes. En el diseño de la duración de los periodos hay que tener en cuenta que no se debe reintroducir el antibiótico previamente usado hasta que el nivel de resistencia al mismo haya disminuido al valor previo a su introducción o, de lo contrario, podría producirse el denominado “efecto trinquete (*ratchet*)” e ir aumentando la resistencia de forma progresiva en cada reintroducción del antibiótico²⁷¹. Los modelos también predicen que a medida que la duración de los ciclos se alarga, la media de pacientes portadores de patógenos resistentes a al menos uno de los antibióticos rotados aumenta, ya que equivaldría a hacer un uso homogéneo de los mismos²⁶³. Por el contrario si la duración del ciclo se acorta hasta ser de cero y, por lo tanto, cada antibiótico se administra solo a un paciente mientras que al siguiente se le administra un

antibiótico distinto, se conseguiría una situación en la que la proporción de individuos tratados con cada uno de los antibióticos disponibles sería la mínima posible y, en consecuencia también, la prevalencia de resistencia. Esta es precisamente la estrategia de mezcla, equivalente a una rotación con ciclos de duración cero. En las predicciones de estos modelos matemáticos deterministas, la estrategia de mezcla fomenta siempre un patrón heterogéneo de uso antibiótico y es más efectiva para el control de la resistencia antimicrobiana que las estrategias de rotación^{262,263}. Una de las presunciones de estos modelos es la de que el paciente continuará recibiendo el tratamiento asignado durante todo el ingreso en la unidad. Sin embargo, un modelo epidemiológico publicado recientemente²⁶⁴, que hace una aproximación más realista y tiene en cuenta la posibilidad de que el antibiótico programado sea sustituido por otro alternativo si aquel no es eficaz, predice la posibilidad de que esta “rotación ajustable” pueda ser mejor que la “mezcla ajustable” para suprimir la emergencia de la resistencia. La variable más importante de la que en estas circunstancias depende que la rotación supere a la mezcla es la duración de los ciclos. En la mayoría de las situaciones, este modelo predice que periodos de rotación ajustable de un mes suprimen la emergencia de resistencia de manera más eficaz que la mezcla ajustable, mientras que ciclos más prolongados son perjudiciales. Los mismos autores han desarrollado otro modelo estocástico, especialmente significativo para poblaciones pequeñas, en que la decisión de tratar a un paciente concreto con alguno de los diversos antibióticos disponibles se toma según la prevalencia de resistencia a los distintos agentes observada en las muestras clínicas previas (lo ideal sería en 1-2 semanas anteriores). Este modelo de “cambio informado” produce mejores resultados en cuanto a la adecuación del tratamiento empírico correcto y a la reducción de resistencia a los fármacos disponibles que la rotación o la mezcla “a ciegas”. La única situación que compromete la eficacia del modelo es la existencia de cepas resistentes a todos los fármacos disponibles, pero, aún así, el comportamiento es bueno hasta cifras de multiresistencia del 5%²⁷².

Por último, una práctica habitual cuestionada por los modelos matemáticos es la que se refiere a restringir o “reservar” un antibiótico activo solo para los

casos de infección debida a un MR al resto de agentes disponibles. Un desarrollo matemático reciente sugiere que la restricción o reserva (frente a uso normal del mismo en cualquier tipo de estrategia de uso general –mezcla o rotación– que se decida) aumenta el número de tratamientos empíricos incorrectos y la frecuencia de resistencia a todos los fármacos disponibles (incluido el objeto de reserva), sobre todo cuando la tasa de transmisión bacteriana es alta o la estancia es larga, incluso si la duración del tratamiento es corta o el tratamiento empírico se ajusta en menos de dos días²⁷³.

6.2. La rotación en la práctica clínica

Los principales trabajos que han abordado el tema de la rotación antibiótica en unidades de críticos se resumen en la Tabla anexa 1. Se han publicado otros trabajos en unidades de hemato-oncología²⁷⁴⁻²⁸¹, plantas de hospitalización²⁸², centros hospitalarios^{246,283} y en la comunidad²⁸⁴, además de varias revisiones²⁸⁵⁻²⁹⁰ y un metaanálisis de un conjunto muy seleccionado de estudios²⁶⁴.

El principal problema al analizar estos trabajos es la heterogeneidad. Los estudios se diferencian en casi todas las características posibles: población, objetivos, diseño, desenlaces, duración y número de ciclos y antibióticos usados y orden en el que se administran, lo que dificulta la interpretación de los resultados. De los estudios detallados en la Tabla anexa 1, tres evaluaron la sustitución de un antibiótico por otro de clase diferente²⁹¹⁻²⁹³, uno la sustitución de dos antibióticos²⁹⁴, nueve rotaron varios antibióticos de clases diferentes una sola vez^{265,266,268,295-300} y once rotaron varios antibióticos más de una vez³⁰¹⁻³¹⁰. En nueve estudios se mantuvo la rotación durante un año o más, con la finalidad de determinar sus efectos a largo plazo^{252,301-306,308,310}. Las comparaciones se hicieron entre los diferentes ciclos de uso preferente^{252,291,292,294-297}, entre un periodo basal y un periodo post-intervención^{266,299-302,305,307-310}, en cohortes simultáneas de pacientes sujetos y no a la intervención³⁰⁴ y entre diferentes estrategias^{265,268,298}.

Aunque cada uno de los estudios tiene sus propias debilidades, algunas cuestiones generales merecen una mención especial. En primer lugar,

los estudios en los que se cambia un antibiótico por otros, evalúan más bien el efecto de una sustitución programada de antibióticos que de una estrategia de rotación en sí, pues no se reintroducen los antibióticos previamente utilizados, que es lo que permitiría mantener una tasa de resistencia a todos ellos controlada a lo largo del tiempo. Lo ideal sería que la reintroducción del grupo de antibióticos rotados se realizara al menos tres veces²⁸⁸ y esto solo lo cumplieron ocho estudios^{301,302,304,306-310}. En segundo lugar, el diseño secuencial de la mayoría de ellos determina que los desenlaces puedan estar influidos por confusores temporales. Esto es particularmente cierto si durante el curso del estudio se realizan intervenciones adicionales que puedan reducir la presión antibiótica (por ejemplo a través de la restricción de algunos agentes junto con desescalado³⁰¹) o la transmisión de patógenos (debido habitualmente a la aplicación de nuevas medidas de control de infecciones^{266,268,305,310}). Otras tendencias seculares pueden, por el contrario, reducir el efecto de la intervención, como por ejemplo el aumento en la frecuencia de pacientes que ingresan ya colonizados por flora resistente, el incremento en la prevalencia de uso de antibióticos porque ingresen pacientes más graves con un mayor riesgo de infección o la prolongación de la estancia en la unidad. Por último, aunque no se produzcan cambios en las variables relacionadas con la transmisión (cumplimiento con la higiene de las manos y precauciones de barrera, probabilidad de contactos cruzados del personal sanitario con enfermos distintos), pueden producirse variaciones significativas a lo largo del tiempo en la prevalencia de pacientes colonizados por MR y tal variabilidad puede atribuirse erróneamente a la intervención³¹¹. La explicación de estas variaciones radica en el pequeño tamaño de la mayoría de las UCI, que determina puedan ocurrir cambios significativos de carácter aleatorio en variables de transmisión relevantes como la presión de colonización^{85,88}. El hecho de que el riesgo de adquisición de MR dependa de la presión de colonización resta fiabilidad a la significación estadística de las diferencias surgidas de comparaciones efectuadas por pruebas que presumen la independencia de los desenlaces entre pacientes. Ninguno de los estudios relativos a la rotación de antibióticos

ha utilizado métodos de análisis basados en métodos estocásticos destinados a capturar esta variabilidad debida al azar.

6.2.1. Efectos de la rotación programada de antibióticos en la resistencia

A pesar de los inconvenientes anteriormente mencionados, algunas observaciones son lo suficientemente repetitivas como para que puedan extraerse conclusiones verosímiles de estos trabajos. En primer lugar, el cambio de un antibiótico por otro, con el que no tenga resistencia cruzada, se asocia con un descenso en la prevalencia de resistencia de BGN al primer fármaco^{291,293,294}. En segundo lugar, el uso predominante de un antibiótico durante periodos iguales o superiores a tres meses suele asociarse a un incremento significativo en la prevalencia de resistencia de BGN al antibiótico en cuestión^{252,265,268,296,297,299,309}. La prevalencia de resistencia puede alcanzar cifras de entre el 25% y el 50% en 2-3 meses de uso predominante tanto de fluorquinolonas^{296,297,309} como de betalactámicos^{252,265,268,296,297}. Por otro lado, algunas experiencias concretas han sugerido que el uso preferente de un antibiótico puede promover la emergencia de resistencia en BGN a más de un antibiótico (multirresistencia) o a otro de una clase diferente (por ejemplo al imipenem en *P. aeruginosa* durante periodos de priorización de quinolonas)^{265,297}. De hecho, en algunos estudios, el aumento de la prevalencia de resistencia en *P. aeruginosa* o *A. baumannii* durante los periodos de uso prioritario de un antibiótico se han debido a la aparición de brotes epidémicos causados por cepas multirresistentes de esos microbios^{268,299}. Un estudio ha sugerido que la asociación entre prevalencia de utilización y adquisición de organismos resistentes (SARM, *P. aeruginosa* o enterobacterias) puede ser más acusada para unos antibióticos que otros, aun compartiendo el mismo mecanismo de resistencia (cefepime peor que Pip-Taz, por ejemplo)²⁵². Contrariamente a los resultados de estas experiencias, todos los estudios en los que la duración de los ciclos fue de un mes^{301,302,304,307,310} han demostrado estabilidad, tendencias favorables o francas reducciones en la tasa de resistencia de *P. aeruginosa*, otros BGN no fermentadores y *E. coli* a cefalosporinas, aminoglucósidos y quinolonas, las cuales se mantuvieron durante periodos de 3 a 6 años de aplicación

continuada. Por último, el efecto del uso preferente de un antibiótico sobre la resistencia puede ser en la práctica más prolongado tras la suspensión del mismo de lo que predicen los modelos matemáticos, debido al menos en parte a que los pacientes colonizados o infectados por MR suelen permanecer ingresados en la unidad durante más tiempo.

Recientemente se ha publicado un metaanálisis de 11 estudios, seleccionados con la intención de evitar los habituales inconvenientes que se atribuyen a estos trabajos⁹⁷. Los criterios de inclusión fueron que contaran con un periodo basal de comparación en la misma unidad u otra del mismo hospital, que no se hubiesen introducido medidas adicionales de control de infecciones y que aportaran los datos crudos respecto al número de aislamientos bacterianos. A pesar de que siete estudios se llevaron a cabo en unidades de cuidados intensivos^{299,301,302,304,307-309}, se consideró también una intervención de ámbito hospitalario restringida a aminoglucósidos²⁸³, otra en dos salas convencionales cuya publicación no figura en PUBMED³¹² y una última conducida en una unidad de hematología²⁷⁹. A pesar de estas limitaciones, los autores concluyeron que las estrategias de rotación se asociaron a una menor adquisición de cualquier infección y de infecciones por MR a los antibióticos rotados o multirresistentes. Mediante técnicas de análisis multivariado de metaanálisis pudo determinarse que la ventaja asociada con la rotación era tanto más acusada cuanto menor el nivel de resistencia basal a los antibióticos utilizados y que existía una variabilidad significativa dependiendo del microorganismo implicado (mayor beneficio en el caso de BGN resistentes distintos de *E. coli* que en este, y en *S. aureus* que en enterococos).

6.2.2. Comparación de distintas estrategias de uso de antibióticos

En tres estudios se han comparado distintas estrategias. En uno de ellos²⁶⁵, una rotación dual, es decir, en la que en cada trimestre se utilizaron distintos antibióticos dependiendo del tipo de infección (cefepime, ciprofloxacino, Pip-Taz, carbapenem para la neumonía y Pip-Taz, carbapenem, cefepime, ciprofloxacino para otras infecciones) se comparó con una rotación simple (carbapenem, ce-

fepime, ciprofloxacino, Pip-Taz para cualquier infección) durante un año. La rotación simple se asoció con un incremento en la incidencia de infecciones adquiridas en la unidad por BGN resistentes y a un aumento de la prevalencia de resistencia de los BGN a cefalosporinas, Pip-Taz y a más de un antibiótico. Estos resultados sugieren que una rotación que garantiza una cierta mezcla probablemente es superior a una rotación convencional con ciclos de tres meses.

Dos estudios han comparado específicamente una estrategia de rotación frente a otra de mezcla. En uno de ellos²⁹⁸, una tanda de rotación consistente en cuatro ciclos de un mes de duración, en los que en cada uno de ellos se utilizó preferentemente un betalactámico antipseudomónico distinto y ciprofloxacino, se asoció con una menor frecuencia de adquisición de *P. aeruginosa* resistente a cefepime (y una tendencia respecto a ceftazidima, carbapenémicos y cualquier betalactámico) que una tanda de cuatro meses de mezcla de los mismos antibióticos. No obstante, el cumplimiento de la rotación fue moderado ya que no más de un 45% de los pacientes recibió el antibiótico previsto durante el ciclo correspondiente. Este hecho indica que, en la práctica, hubo una considerable mezcla durante la rotación y recuerda la situación del estudio de rotación dual comentado anteriormente. En el segundo trabajo²⁶⁸ se compararon varias modalidades de uso que produjeron diferentes tasas de mezcla y rotación. El periodo de rotación estricta duró un año y durante él se alternó cada cuatro meses el uso preferente de carbapenems, cefalosporinas y Pip-Taz. Durante la rotación ocurrió un brote de *A. baumannii* resistente a carbapenémicos, se observó un incremento en la frecuencia de enterobacterias productoras de BLEE y hubo una mayor incidencia de infección por *E. faecalis*. En este estudio pudo constatarse que el grado de diversificación antibiótica, evaluado mediante el índice de Peterson, fue significativamente superior durante los periodos de mezcla o de uso individualizado de antibióticos (de acuerdo con protocolos según el tipo de infección y características del paciente) y que los desenlaces desfavorables observados se asociaron con índices de Peterson indicativos de un alto grado de homogeneidad en el uso de antibióticos.

Aunque hay suficiente evidencia de que el uso homogéneo de una sola clase de antibióticos conllevará a un aumento rápido del aumento de la resisten-

cia en la UCI, no hay una respuesta clara sobre qué estrategia de diversificación es la mejor. En cuanto a la rotación, todavía hay dudas de que pueda, en circunstancias tales como una excesiva duración de los periodos de uso predominante de una clase de antimicrobianos, aumentar la resistencia^{265,268,313}. Por otro lado, hay escasas comparaciones directas entre diferentes estrategias de diversificación y solo dos estudios previos han comparado estrategias de rotación *vs* mezcla en la UCI, con resultados contradictorios^{268,298}. En este contexto se planteó la investigación principal de esta tesis doctoral.

II. Hipótesis y objetivos

Con la intención de esclarecer qué táctica de diversificación de uso de antibióticos es más eficaz para disminuir la prevalencia de microorganismos resistentes o potencialmente resistentes (MRPR) en una unidad de críticos, se planteó si una estrategia de rotación de uso de antibióticos antipseudomónicos con ciclos de seis semanas era mejor que una estrategia de mezcla de los mismos antibióticos administrados a cada paciente consecutivo. Por otro lado, teniendo en cuenta que *P. aeruginosa* es el microorganismo más frecuentemente aislado en estas unidades y el que conlleva mayor dificultad de tratamiento, se planteó el analizar los factores de riesgo asociados con su adquisición. El conocimiento preciso de los mismos permitiría, por un lado, identificar a los pacientes a los que dirigir más acertadamente el tratamiento empírico y, por otro, decidir qué medidas de control de la infección serían más rentables en nuestro entorno, si la optimización del uso de antibióticos o la intensificación de las precauciones destinadas a evitar la transmisión cruzada. Los objetivos concretos del estudio se enumeran a continuación:

- 1º Comparar una estrategia de rotación de antibióticos antipseudomónicos con intervalos de seis semanas frente a una estrategia de mezcla de los mismos antibióticos en pacientes ingresados en una unidad de cuidados intensivos, respecto a la adquisición de MRPR, al desarrollo de infección por cualquier microorganismo o por MRPR, a la duración de la estancia en la unidad y a la mortalidad.
- 2º Analizar los factores de riesgo para la adquisición de *P. aeruginosa* y de sus variantes fenotípicas de resistencia a los distintos antibióticos (incluida la multiresistencia), con un especial énfasis en determinar el impacto de la exposición antibiótica, de la exposición a procedimientos o dispositivos y de la presión de colonización por *P. aeruginosa*.

III. Material y métodos

1. Población objeto de estudio

Se incluyeron de forma prospectiva todos los pacientes mayores de 18 años, ingresados en una UCI médica desde febrero de 2006 hasta diciembre de 2008. La unidad pertenece a un hospital universitario de 700 camas, tiene dos habitaciones individuales y un espacio central con seis cubículos y es la unidad de referencia para pacientes críticos procedentes de las salas de Medicina Interna, Hematología, Oncología y Enfermedades Infecciosas.

Después de un estudio piloto previo²⁹⁸, el director de la unidad decidió implementar una estrategia de uso de antibióticos intercalando periodos de mezcla con periodos de rotación de forma continuada. Con la finalidad de evaluar dicha política, se llevó a cabo durante tres años un cribado sistemático para la detección de MRPR, así como el registro de todas las variables clínicas que pudieran influir en dicho desenlace. Con este objetivo se incluyeron 969 pacientes (total de pacientes ingresados durante el periodo de estudio).

Para el análisis de los factores de riesgo de adquisición de *P. aeruginosa*, sin embargo, se incluyeron solo los pacientes con las siguientes características: por un lado, haber permanecido en la unidad más de 48 horas, ya que este es el periodo habitualmente establecido para diferenciar entre la colonización/infección en el momento del ingreso y la adquirida en la unidad³¹⁴; y, por otro, no estar colonizado o infectado al ingreso por *P. aeruginosa*, dadas las posibles dificultades, a pesar de la utilización de técnicas de tipaje molecular, para evaluar la adquisición de una nueva cepa durante la estancia en la unidad. En este subanálisis se incluyeron 782 pacientes.

Para el análisis de los factores de riesgo de adquisición de los diferentes fenotipos de resistencia se incluyeron todos los pacientes ingresados durante más de 48 horas, ya que la emergencia de resistencia a los antibióticos antipseudomónicos puede todavía ocurrir en cepas de *P. aeruginosa* presentes en el momento del ingreso (n=850 pacientes).

El protocolo fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Clínic de Barcelona, con el número de referencia 2616.

2. Procedimientos microbiológicos

Se obtuvieron frotis nasales, faríngeos, rectales y cultivos de secreciones respiratorias (aspirado traqueal, muestras broncoscópicas o esputo, según disponibilidad) en las primeras 48 horas del ingreso y tres veces por semana posteriormente hasta el deceso, el alta o los dos primeros meses de estancia en la UCI. La obtención de otras muestras clínicas se realizó según el criterio del médico responsable del paciente. Las muestras se cultivaron en medios convencionales y selectivos para el aislamiento de enterobacterias productoras de BLEE, BGN no fermentadores, SARM y ERV. No se obtuvieron muestras ambientales.

Los test de sensibilidad se realizaron por una técnica de microdilución de acuerdo con las guías del CLSI³¹⁵. Para el análisis, la sensibilidad intermedia se consideró resistencia. Los microorganismos con resistencia a múltiples antibióticos se definieron como multirresistentes (MDR), extensamente resistentes (XDR) o panresistentes según los criterios enumerados previamente¹⁴³.

La tipificación molecular se realizó mediante electroforesis en gel de campo pulsado según una técnica previamente descrita³¹⁶ con algunas modificaciones. Las cepas incubadas durante la noche en placas de agar sangre (Becton Dickinson) se utilizaron para preparar una suspensión de densidad 1.5 McFarland. Un mililitro de esta se centrifugó y el sedimento se resuspendió en 120 mL de tampón CSB [100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 10 mM EDTA] mezclándose con un volumen idéntico de agarosa fundida al 2% InCert® (Lonza). El ADN se digirió con 20 U del enzima SpeI (New England Biolabs) y se incubó a 37°C durante 17 horas. El ADN se hizo correr en un sistema CHEF-DR III

(Bio-Rad) con los siguientes parámetros: 6 V/cm a 14°C con pulsos de 5 a 25 segundos durante 20 horas. Los geles se tiñeron con SYBR[®] Safe (Invitrogen) y se documentaron en un ImageQuant[™] LAS 4000 (GE Healthcare). Las imágenes se analizaron mediante el coeficiente Dice y el método de grupo pareado no ponderado con promedio de ligazón (*unweighted pair group method with average linkage, UPGMA*) usando el programa InfoQuestFP versión 4.5 (Bio-Rad). Los aislados obtenidos se consideraron del mismo clon cuando se detectó una similitud mayor del 90%.

3. Variables clínicas

Se recogieron las siguientes variables: edad, género, enfermedades de base, diagnósticos al ingreso, puntuaciones de gravedad (APACHE II y SOFA) al ingreso, antibioterapia, corticoterapia (≥ 5 mg/día de prednisona o equivalente) y cirugía en el mes previo al ingreso, así como la exposición durante la estancia en la unidad a catéteres venosos y arteriales, sondaje vesical, intubación orotraqueal, ventilación mecánica invasiva, traqueostomía, otros procedimientos quirúrgicos, nutrición enteral y parenteral, terapia renal sustitutiva y cualquier terapia farmacológica administrada (antibióticos, drogas vasoactivas, corticoides, inmunosupresores y otros).

4. Uso de antibióticos

En la unidad de estudio se había implementado una política de utilización de antibióticos consistente en periodos consecutivos de mezcla-rotación de tres clases de antibióticos antipseudomónicos (meropenem, ceftazidima/piperacilina-tazobactam –Caz/Pip-Taz– y ciprofloxacino/levofloxacino). Cada periodo de mezcla duró 4,5 meses (18 semanas). Durante los periodos de mezcla, una clase distinta de antipseudomónicos se prescribió a cada paciente consecutivo. Se planificó que los periodos de rotación estuvieran compuestos por tres intervalos de seis semanas de duración. En cada intervalo se daría preferencia a una clase de antipseudomónicos. Debido a razones administrativas, la unidad se cerró durante un mes después del primer intervalo de seis semanas en dos de los periodos de rota-

ción. Por lo tanto, se decidió completar un periodo entero de 4,5 meses al reabrir la unidad. A efectos del análisis, el intervalo de seis semanas previo al cierre de la unidad y el periodo de 4,5 meses posterior a la reapertura se consideraron juntos como un periodo completo de rotación. El orden en el que se priorizaron las distintas clases de antibióticos se asignó de manera aleatoria al inicio de cada periodo de rotación. No se realizaron periodos de “lavado” ni entre los intervalos de la rotación ni entre los periodos de rotación y mezcla.

La decisión de administrar cobertura antipseudomónica y de elegir el antibiótico programado u otro corrió a cargo del médico responsable del paciente, de acuerdo con su criterio clínico. El mismo decidió también la administración de tratamiento combinado de betalactámico con fluorquinolona o aminoglucósido, el cual según los protocolos vigentes solo se recomendaba en los pacientes con sepsis grave. El aminoglucósido de elección para la terapia combinada fue amikacina en dosis única diaria, teniendo en cuenta que su administración durante más de cinco días o en monoterapia estaba desaconsejada.

5. Variables epidemiológicas

Los cultivos de vigilancia se comunicaron al médico tratante cuando fueron positivos para un microorganismo sospechoso de formar parte de un brote epidémico o bien requiriera precauciones de contacto de acuerdo con las guías vigentes en el hospital (SARM, ERV, enterobacterias productoras de BLEE, *P. aeruginosa* resistente al menos a tres clases de antipseudomónicos, considerando ceftazidima y Pip-Taz una sola clase, y *A. baumannii* MDR).

Las precauciones de contacto implicaron el traslado a una habitación individual cuando fue posible y en cualquier caso el uso de guantes y batas desechables siempre que se entrara a la habitación. Los pacientes previamente colonizados o infectados por SAMR, BGN multirresistente o ERV eran identificados al ingreso mediante una alarma electrónica y se sometían a precauciones de contacto, pero no se realizó aislamiento preventivo basado en factores de riesgo. Para la higiene de manos se utilizaron preferentemente preparados alcohólicos, aunque la tasa de cumplimiento de esta medida no fue cuantificada. Se realizó

descolonización nasal con mupirocina en los pacientes portadores de SARM. Se usó clorhexidina para la higiene oral de los pacientes pero no para el lavado corporal. Durante el estudio no se realizó descontaminación digestiva selectiva ni ninguna práctica adicional como el uso de profilaxis antibiótica extraordinaria (excepto la recomendada clínicamente en pacientes neutropénicos, cirróticos o infectados por el VIH). No hubo ningún cambio en las políticas de aislamiento o de higiene de manos durante la duración del estudio.

6. Definiciones

- a) **Microorganismos resistentes o potencialmente resistentes (MRPR):** SARM, ERV, enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftazidima o ambas) y BGN no fermentadores (*P. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas* spp. y *A. baumannii*).
- b) ***P. aeruginosa* multirresistente:** *P. aeruginosa* no susceptible al menos a un agente de tres o más categorías antibióticas de las descritas previamente¹⁴³.
- c) **Colonización:** se definió como el aislamiento de un MRPR en un cultivo de vigilancia o en una muestra clínica no estéril. Los pacientes con un MRPR aislado en las primeras 48 horas de estancia en la UCI se consideraron colonizados al ingreso. Los microorganismos aislados >48 horas después del ingreso en pacientes con una muestra previa negativa se consideraron adquiridos en la UCI.
- d) **Adquisición de resistencia:** se definió como el aislamiento de un organismo resistente en un paciente con una cepa sensible previa o con cultivos previos negativos.
- e) **Emergencia de resistencia** a un determinado antibiótico: se consideró a la conversión de un determinado pulstipo de susceptible a no susceptible (por lo que estos aislados están incluidos en la definición previa).
- f) **Transmisión cruzada:** se consideró cuando un paciente adquirió un pulstipo idéntico a otro aislado encontrado previamente en un paciente con el que hubiera coincidido durante su ingreso.

- g) Presión de colonización:** se estimó como la media diaria de la proporción de pacientes colonizados (número de pacientes colonizados dividido entre el número de pacientes en la unidad en un día) desde el día del ingreso hasta el día antes de la adquisición del microorganismo o hasta el alta si el paciente no lo adquirió⁸⁸.
- h) Tiempo en riesgo:** se contabilizó como el número de días hasta la detección del microorganismo o la resistencia en los pacientes que los adquirieron o toda la estancia en la UCI en los pacientes que no los adquirieron.
- i) Exposición antibiótica:** implicó al menos 24 horas de tratamiento.
- j) Infección:** se consideró el motivo de ingreso cuando el fallo orgánico que indujo el ingreso en la unidad fue una consecuencia directa de la disfunción del órgano infectado o sepsis.
- k) Shock séptico:** se diagnosticó en pacientes con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica e hipotensión mantenida a pesar de una adecuada sobrecarga de fluidos acompañado de alteraciones en la perfusión periférica, de acuerdo con la conferencia de consenso SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS³¹⁷.
- l) Sepsis adquirida en la UCI:** se definió como el cuadro de sepsis iniciado después de las 48 horas posteriores al ingreso en la unidad.
- m) Bacteriemia relacionada con el catéter:** se definió según las guías de la IDSA³¹⁸.
- n) Neumonía** se diagnosticó por la presencia de infiltrados de nueva aparición o progresivos en la radiografía de tórax y al menos dos de los siguientes criterios: fiebre $\geq 38^{\circ}\text{C}$ o hipotermia $\leq 35^{\circ}\text{C}$, leucocitosis $\geq 12000/\mu\text{L}$ o leucopenia $< 4000/\mu\text{L}$, o secreciones respiratorias purulentas. Cuando el paciente estaba ventilado invasivamente durante más de 48 horas, la neumonía se consideró asociada a la ventilación mecánica (NAV_M)³¹⁹.
- ñ) Traqueobronquitis:** se diagnosticó en pacientes sin criterio radiológico que cumplieran el resto de condiciones clínicas descritas en la definición previa.
- o) Otras infecciones:** se diagnosticaron de acuerdo con los criterios del CDC³¹⁴.

7. Análisis estadístico

Para la comparación de las dos estrategias de uso de antibióticos se agregaron los pacientes incluidos en los periodos de mezcla, por un lado, y los incluidos en los periodos de rotación, por el otro. En el análisis de los factores de riesgo de adquisición de *P. aeruginosa* se compararon las variables clínicas y exposiciones entre los pacientes que adquirieron *P. aeruginosa* y los que no la adquirieron, así como entre los pacientes que adquirieron resistencia a algún antipseudomónico y los que no. Para las variables continuas, se utilizó la media o mediana como medidas de tendencia central y la desviación estándar (DE) o el rango intercuartílico (RIQ), respectivamente, como medidas de dispersión. Los denominadores en las proporciones fueron siempre “número de pacientes”. En el análisis de las estrategias, la exposición individual a un antibiótico se expresó como el porcentaje de pacientes expuestos a dicho antibiótico, mientras que la presión antibiótica durante un periodo de tiempo determinado se expresó en forma de densidad de incidencia de uso, es decir, como el número de días de administración de un antibiótico por 100 pacientes-día de estancia en la UCI para el periodo considerado. En el análisis de los factores de riesgo de *P. aeruginosa*, la exposición previa a un antibiótico se estratificó en tres categorías: no exposición, exposición de 1-3 días y exposición >3 días. En ambos estudios, las proporciones se compararon mediante el test de χ^2 o el test exacto de Fisher's y las variables continuas se compararon mediante el estadístico T de Student o el test no paramétrico de Mann-Whitney. Para establecer las características asociadas independientemente con la adquisición de *P. aeruginosa* y con la adquisición de resistencia a ceftazidima, Pip-Taz, carbapenems, quinolonas y multiresistencia, se realizó un análisis multivariante mediante regresión logística binaria por pasos hacia delante. En estos modelos se introdujeron la edad, el score APACHE II y el score SOFA como variables dicotómicas, tomando las medianas como el valor de corte, mientras que la presión de colonización se dicotomizó por el valor mayor encontrado, correspondiente al percentil 95. En los modelos para predecir la adquisición de cepas resistentes a cada antipseudomónico o a múltiples fármacos, se utilizó el punto de corte de 72 horas para dicotomizar la exposición

antibiótica porque en otros estudios se ha establecido que es este el periodo de tiempo que mejor define la mínima duración que se asocia con resistencia^{320,321}. Las variables con un valor de $p < 0.3$ en el análisis univariado se introdujeron en el modelo multivariante. Los valores de $p \leq 0.05$ se consideraron significativos. Los cálculos se realizaron con el programa estadístico SPSS versión 20.0, SPSS Inc., IL, USA.

8. Financiación del estudio

Este trabajo de investigación ha sido financiado principalmente gracias a la subvención concedida por el Fondo de Investigaciones Sanitarias, Sub-dirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España (PI050167), cuyo investigador principal fue el Dr. José Antonio Martínez Martínez.

IV. Resultados

1. Comparación de estrategias: rotación frente a mezcla

1.1. Características de los pacientes y eventos clínicos

Durante los 35 meses del estudio, 969 pacientes fueron admitidos en la unidad, de los cuales 409 (42%) se incluyeron en tres periodos de mezcla y 560 (58%) en tres periodos de rotación. Las características de los pacientes al ingreso en la UCI durante los correspondientes periodos de mezcla y rotación se muestran en la Tabla 1. Los pacientes ingresados durante los periodos de rotación habían padecido con más frecuencia cirugía previa, infección de orina y bacteriemia relacionada con el catéter, tenían mayores puntuaciones de gravedad (APACHE II y SOFA) y presentaban shock con mayor frecuencia. Sin embargo, no se observaron diferencias en la duración de la estancia ni en la mortalidad.

Las exposiciones no-antibióticas durante la estancia en la unidad se muestran en la Tabla 2. Los pacientes incluidos en los periodos de mezcla recibieron con más frecuencia nutrición enteral, mientras que en rotación estuvieron más expuestos a intervenciones quirúrgicas.

1.2. Uso de antibióticos

Se prescribió algún antibiótico a 811 (83,6%) pacientes, de los cuales 613 (63,3%) recibieron un antibiótico antipseudomónico. La proporción de pacientes a los que se le administró cada clase de antibiótico se muestra en la Tabla 2 y la densidad de incidencia de uso de los antibióticos sometidos a intervención se muestra en la Tabla 3.

Tabla 1. Características de los pacientes al ingreso y desenlaces clínicos en cada periodo

Características	Mezcla (n=409)	Rotación (n=560)	OR (IC 95%)	P
Edad ≥ 60 años	240 (58,7)	298 (53,2)	0,8 (0,6-1)	0,09
Estancia previa a la UCI > 3 días	85 (20,8)	135 (24,1)	1,2 (0,9-1,7)	0,2
Enfermedades de base y otras condiciones				
Neoplasia de órgano sólido	49 (12)	51 (9,1)	0,74 (0,5-1,1)	0,2
Neoplasia hematológica	45 (11)	82 (14,6)	1,39 (0,9-2)	0,1
Trasplante de médula ósea	15 (3,7)	31 (5,5)	1,54 (0,8-2,9)	0,2
Insuficiencia cardíaca	24 (5,9)	44 (7,9)	1,37 (0,8-2,3)	0,2
Cirugía previa	76 (18,6)	143 (25,5)	1,5 (1,1-2,1)	0,01
Antibiótico previo en el mes previo	112 (27,4)	172 (30,7)	1,18 (0,9-1,6)	0,3
Shock	57 (13,9)	106 (18,9)	1,44 (1-2)	0,04
Motivos de ingreso				
Enfermedad respiratoria	19 (4,6)	15 (2,7)	0,56 (0,3-1,1)	0,1
Posquirúrgico	33 (8,1)	66 (11,8)	1,52 (1-2,4)	0,06
Infecciones prevalentes al ingreso				
Neumonía	127 (31,1)	143 (25,5)	0,76 (0,6-1)	0,06
Bacteriemia primaria	6 (1,5)	13 (2,3)	1,6 (0,6-4,2)	0,3
Infección del tracto urinario	11 (2,7)	32 (5,7)	2,19 (1,1-4,4)	0,02
Bacteriemia relacionada con el catéter	1 (0,2)	11 (2)	8,2 (1,1-63,6)	0,02
Microorganismos al ingreso^a				
<i>P. aeruginosa</i>	24 (5,9)	48 (8,6)	1,5 (0,9-2,5)	0,1
<i>B. cepacia</i>	1 (0,2)	1 (0,2)	0,7 (0-11,7)	0,8
<i>S. maltophilia</i>	2 (0,5)	4 (0,7)	1,5 (0,3-8)	0,7
<i>A. baumannii</i>	1 (0,2)	3 (0,5)	2,2 (0,2-21,2)	0,5
<i>Pseudomonas</i> spp.	1 (0,2)	1 (0,2)	0,73 (0-11,7)	0,8
<i>Klebsiella</i> R-CEF3g	2 (0,5)	9 (1,6)	3,3 (0,7-15,5)	0,1
<i>E. coli</i> R-CEF3g	15 (3,7)	27 (4,8)	1,3 (0,7-2,5)	0,4
Otros BGN R-CEF3g	5 (1,2)	15 (2,7)	2,2 (0,8-6,2)	0,1
SARM	17 (4,2)	14 (2,5)	0,6 (0,3-1,2)	0,2
Cualquier MRPR	61 (14,9)	107 (19,1)	1,4 (1-1,9)	0,1
Puntuaciones de gravedad				
APACHE II	18,9 (6,4)	20,1 (6,8)	-	0,006
SOFA	5,9 (3,9)	6,7 (3,4)	-	0,001
Desenlaces				
Duración de la estancia en la UCI	5 (3-9)	5 (3-9)	-	0,2
Mortalidad en la UCI	57 (13,9)	80 (14,3)	1,03 (0,7-1,5)	0,9
Mortalidad hospitalaria	95 (23,2)	129 (23)	0,99 (0,7-1,3)	0,9

Las variables categóricas están expresadas como número de pacientes (%) y las variables continuas como medias (desviación estándar). Otras variables no mostradas con un valor de $p > 0,3$ son: sexo masculino, VIH, neutropenia, trasplante de órgano sólido, cirrosis hepática, EPOC, diabetes, corticoides e inmunosupresores previos, ingreso o infección en el año previo, cardiovascular, sistema nervioso central y otras enfermedades como motivo de ingreso. a. Corresponde al número total de MRPR adquiridos (colonización más infección).

Tabla 2. Antibióticos y otras exposiciones durante el ingreso en la UCI

Exposiciones	Mezcla (n=409)	Rotación (n=560)	OR (IC 95%)	P
Exposiciones no antibióticas				
Intubación orotraqueal	247 (60,4)	307 (54,8)	0,8 (0,6-1)	0,1
Nutrición enteral	121 (29,6)	133 (23,8)	0,74 (0,6-1)	0,04
Traqueostomía	76 (18,6)	83 (14,8)	0,76 (0,5-1,1)	0,1
Cirugía	25 (6,1)	64 (11,4)	1,98 (1,2-3,2)	<0,001
Transfusiones sanguíneas	115 (28,1)	189 (33,8)	1,3 (1-1,7)	0,06
Corticoides	219 (53,5)	273 (48,8)	0,83 (0,6-1,1)	0,1
Exposiciones antibióticas				
Quinolona	159 (38,9)	157 (28)	0,61 (0,5-0,8)	<0,001
Meropenem	118 (28,9)	185 (33)	1,22 (0,9-1,6)	0,2
Ceftazidima	58 (14,2)	45 (8)	0,53 (0,4-0,8)	0,002
Piperacilina-tazobactam	82 (20)	106 (18,9)	0,93 (0,7-1,3)	0,7
Amikacina	16 (3,9)	38 (6,8)	1,79 (1-3,3)	0,05
Colistina	5 (1,2)	11 (2)	1,62 (0,6-4,7)	0,4
Otras penicilinas	111 (27,1)	115 (20,5)	0,69 (0,5-0,9)	0,02
Macrólidos	3 (0,7)	30 (5,4)	7,66 (2,3-25,3)	<0,001
Linezolid	22 (5,4)	18 (3,2)	0,58 (0,3-1,1)	0,1
Cualquier antibiótico	349 (85,3)	462 (82,5)	0,8 (0,6-1,2)	0,2
Cualquier antipseudomónico	263 (64,3)	350 (62,5)	0,93 (0,7-1,2)	0,6

Las variables están expresadas como número de pacientes (%). Otras variables no mostradas con $p \geq 0,2$ son: catéter venoso central, catéter arterial, sonda vesical, nutrición parenteral, sonda rectal, endoscopia, terapia renal sustitutiva, otras cefalosporinas, glicopéptidos, clindamicina, metronidazol, trimetoprim-sulfametoxazol, fluconazol y otros antifúngicos.

Durante los periodos de mezcla, una mayor proporción de pacientes recibió fluorquinolonas, ceftazidima y otras penicilinas (sobre todo amoxicilina-clavulánico), mientras que durante los periodos de rotación los pacientes recibieron amikacina o un macrólido con mayor frecuencia. Sin embargo, en términos de densidad de incidencia de uso, la exposición a Caz/Pip-Taz y fluorquinolonas fue significativamente mayor durante mezcla, mientras que la exposición a meropenem fue mayor durante rotación. A pesar de que hubo un pequeño aumento en la densidad de uso de cualquier antibiótico antipseudomónico durante rotación (38,1/100 pacientes-día vs. 37,5/100 pacientes-día), esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,1$).

La densidad de uso de los antibióticos bajo intervención durante los diferentes periodos de mezcla y rotación se muestra en la Figura 1. Con algunas excepciones, los antibióticos se administraron de acuerdo con la estrategia

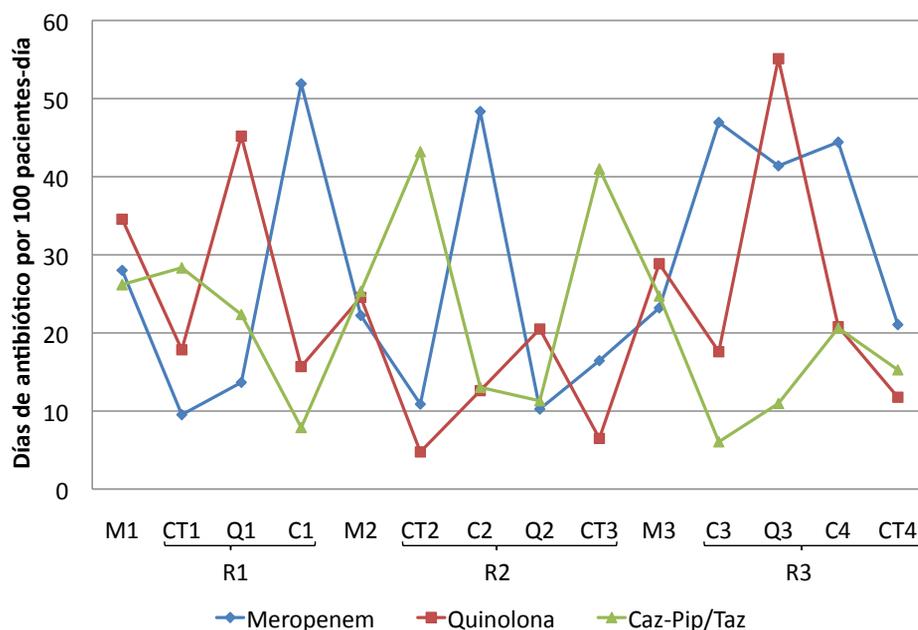
Tabla 3. Densidad de incidencia agregada del uso de antibióticos en los distintos periodos

Periodos (n° de pacientes)	Meropenem	Quinolonas	Caz/Pip-taz
Mezcla (409) ^a	24,7 ^b	29,4 ^c	25,5 ^d
Rotación (560)	29	21,5	20,3
Intervalos de meropenem (196)	48,1 ^e	16,7	12,5
Intervalos de quinolona (171)	23,1	41,5 ^e	16,3
Intervalos de Caz/Pip-Taz (193)	15,6	11,3	30,5 ^e

a: $p \leq 0,001$ comparado con la densidad de incidencia de uso del mismo antibiótico durante rotación. **b vs. c:** $p < 0,0001$; **c vs. d:** $p = 0,001$; **b vs. d:** $p = 0,6$. **e:** $p < 0,0001$ comparado con los otros antibióticos dentro del mismo periodo y con el mismo antibiótico en los distintos intervalos de rotación.

Figura 1. Densidad de incidencia de uso antibiótico en los diferentes periodos del estudio

Tres periodos de mezcla (M1, M2 y M3) alternados con tres periodos de rotación (R1, R2 y R3). El primer periodo de rotación compuesto por 3 intervalos de uso preferente en el orden Caz/Pip-Taz (CT1), quinolonas (Q1) y meropenem (C1); el segundo periodo con 4 intervalos en el orden: Caz/Pip-Taz (CT2), meropenem (C2), quinolonas (Q2) y Caz/Pip-Taz (CT3); y finalmente el tercer periodo con 4 intervalos en el orden meropenem (C3), quinolonas (Q3), meropenem (C4) y Caz/Pip-Taz (CT4).



planificada (Tabla 3). Durante los periodos de mezcla, la densidad de uso de meropenem y Caz/Pip-Taz fue similar; mientras que las quinolonas se usaron más que el resto de las clases de antipseudomónicos. Durante los periodos de

rotación, el antibiótico programado fue el más usado, tanto en frecuencia como en densidad de incidencia, dentro de su intervalo y esta utilización fue además mayor que el uso del mismo en los demás intervalos. Durante su ciclo correspondiente, meropenem, quinolonas y Caz/Pip-Taz se administraron al 78% (rango 73-82%), al 76% (rango 58-86%) y al 65% (rango 46-81%) de los pacientes que recibieron antipseudomónicos, respectivamente. Además, la incidencia de uso del antibiótico programado fue de 1,8 a 2,8 veces mayor que la del resto de antipseudomónicos. La única excepción ocurrió en el último periodo de rotación, en el que Caz/Pip-Taz no aumentó durante su intervalo. La densidad de uso de antibióticos detallada en los diferentes periodos se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Densidad de incidencia de uso de antibiótico detallada en los distintos periodos

Periodo (n° de pacientes)	Meropenem	Quinolona	Caz/Pip-Taz
Mezcla 1 (142)	28	34,5	26,2
CT1=Caz/Pip-Taz (52)	9,5	17,9	28,3 ^a
Q1=quinolona (50)	13,7	45,2 ^a	22,3
C1=meropenem (54)	51,9 ^a	15,7	7,9
Mezcla 2 (129)	22,2	24,5	25,3
CT2=Caz/Pip-Taz (43)	10,9	4,8	43,2 ^a
C2=meropenem (46)	48,3 ^a	12,6	13
Q2 =quinolona (61)	10,3	20,5 ^a	11,3
CT3=Caz/Pip-Taz (42)	16,5	6,5	41 ^a
Mezcla 3 (138)	23,2	28,9	24,7
C3=meropenem (54)	46,9 ^a	17,6	6,1
Q3 =quinolona (60)	41,4	55,1 ^a	10,9
C4=meropenem (42)	44,4 ^a	20,8	20,6
CT4=Caz/Pip-taz (56)	21,1	11,8	15,3 ^b

a. $p < 0,001$ comparado con la densidad de incidencia de uso de los otros antibióticos en el mismo periodo y con su propia incidencia de uso en los otros intervalos. **b.** $p > 0,2$ comparado con la densidad de incidencia de uso de los otros antibióticos en el mismo periodo.

1.3. Microorganismos e infecciones adquiridas en la UCI

Durante el estudio se obtuvieron y cultivaron 9.961 muestras de vigilancia, de las cuales 1.689 fueron de tracto respiratorio inferior, 2.783 de faringe, 2.809 de fosas nasales y 2.680 de recto. La media de muestras por paciente incluido fue de 3,2 frotis nasales, 3,1 frotis faríngeos, 3 frotis rectales y 1,9 muestras respiratorias (3,3 en pacientes intubados). La distribución de los microorganismos y las infecciones adquiridas en la UCI durante los periodos de mezcla y rotación se muestran en la Tabla 5. Hay que destacar que durante el primer periodo de mezcla hubo un brote de *B. cepacia* que afectó a 6 pacientes (2 colonizaciones y 4 infecciones) debido a una crema corporal contaminada durante el proceso de manufacturación. En cuanto a la adquisición de MRPR, hubo un aumento significativo en la prevalencia de *B. cepacia* durante el periodo de mezcla (totalmente atribuible al susodicho brote) y una tendencia no significativa durante rotación a una mayor frecuencia de *S. maltophilia* (no relacionada con ningún brote reconocible). En general, hubo una mayor tasa de adquisición de MRPR durante los periodos de mezcla, pero esta diferencia perdió la significación estadística al descontar los casos de *B. cepacia* que formaban parte del brote exógeno. En cuanto a las infecciones, una mayor proporción de pacientes en mezcla adquirió neumonía, aunque este exceso de casos no se debió a MRPR. En conjunto, la proporción de pacientes que adquirió una infección en la UCI no fue significativamente diferente entre rotación y mezcla.

1.4. Fenotipos de resistencia de *Pseudomona aeruginosa* en los distintos periodos

La proporción de pacientes que adquirió *P. aeruginosa* y sus fenotipos de resistencia en los diferentes periodos se muestra en la Tabla 6. No hubo diferencias entre mezcla y rotación en cuanto a la prevalencia de resistencia a los diferentes antipseudomónicos o multirresistencia. Durante los intervalos de uso preferente no hubo aumentos significativos en la prevalencia de resistencia al antibiótico programado comparado con la prevalencia de resistencia a ese antibiótico durante los periodos de uso no preferente. Sin embargo, durante los intervalos de meropenem hubo una tendencia a un aumento de resistencia a carbapenems

Tabla 5. Microorganismos e infecciones adquiridas en la UCI^{a,b}

Microorganismos	Mezcla (n=409)	Rotación (n=560)	OR (IC 95%)	P
Adquisición de <i>P. aeruginosa</i>	49 (12)	56 (10)	0,8 (0,5-1,2)	0,3
Infección por <i>P. aeruginosa</i>	17 (4,2)	23 (4,1)	1 (0,5-1,9)	1
Adquisición de <i>B. cepacia</i> ^c	7 (1,7)	1 (0,2)	0,1 (0-0,8)	0,01
Infección por <i>B. cepacia</i>	4 (1)	1 (0,2)	0,2 (0-1,6)	0,1
Adquisición de <i>S. maltophilia</i>	1 (0,2)	9 (1,6)	6,7 (0,8-52,8)	0,051
Infección por <i>S. maltophilia</i>	0 (0)	6 (1,1)	0,6 (0,6-0,61)	0,04
Adquisición de <i>A.baumannii</i>	3 (0,7)	2 (0,4)	0,5 (0,1-2,9)	0,4
Infección por <i>A.baumannii</i>	0 (0)	1 (0,2)	0,6 (0,55-0,61)	0,4
Adquisición de <i>Pseudomonas</i> spp.	2 (0,5)	2 (0,4)	0,7 (0,1-5,2)	0,8
Infección por <i>Pseudomonas</i> spp.	0 (0)	1(0,2)	0,6 (0,55-0,6)	0,4
Adquisición de <i>Klebsiella</i> R-CEF3g	4 (1)	5 (0,9)	0,9 (0,2-3,4)	0,9
Infección por <i>Klebsiella</i> R-CEF3g	0	0	-	-
Adquisición de <i>E. coli</i> R-CEF3g	12 (2,9)	15 (2,7)	0,9 (0,4-2)	0,8
Infección por <i>E. coli</i> R-CEF3g	2 (0,5)	0 (0)	0,4 (0,39-0,45)	0,1
Adquisición de otros BGN R-CEF3g	9 (2,2)	11 (2)	0,9 (0,4-2,2)	0,8
Infección por otros BGN R-CEF3g	0 (0)	1 (0,2)	0,6 (0,55-0,6)	0,4
Adquisición de SARM	8 (2)	7 (1,3)	0,6 (0,2-1,8)	0,4
Infección por SARM	1 (0,2)	1 (0,2)	0,7 (0-11,7)	0,8
Adquisición de cualquier MRPR ^d	83 (20,3)	86 (15,4)	0,7 (0,5-1)	0,046
Infección por cualquier MRPR ^e	24 (5,9)	29 (5,2)	0,9 (0,5-1,5)	0,6
Infecciones				
Traqueobronquitis	23 (5,6)	33 (5,9)	1,1 (0,6-1,8)	0,9
Por MRPR	13 (3,2)	14 (2,5)	0,8 (0,4-1,7)	0,5
Neumonía ^f	29 (7,1)	22 (3,9)	0,5 (0,3-0,9)	0,03
Por MRPR	13 (3,2)	13 (2,3)	0,7 (0,3-1,6)	0,4
Bacteriemia relacionada con el catéter	17 (4,2)	21 (3,8)	0,9 (0,5-1,7)	0,8
Por MRPR	8 (2)	7 (1,2)	0,6 (0,2-1,8)	0,4
Bacteriemia primaria	12 (2,9)	16 (2,9)	1 (0,5-2,1)	0,9
Por MRPR	4 (1)	7 (1,3)	1,3 (0,4-4,4)	0,7
Bacteriemia secundaria	11 (2,7)	8 (1,4)	0,5 (0,2-1,3)	0,2
Por MRPR	6 (1,5)	6 (1,1)	0,7 (0,2-2,3)	0,6
Infección del tracto urinario	5 (1,2)	5 (0,9)	0,7 (0,2-2,5)	0,6
Por MRPR	3 (0,7)	3 (0,5)	0,7 (0,1-3,6)	0,7
Otras infecciones	7 (1,7)	9 (1,6)	0,9 (0,3-2,5)	0,9
Por MRPR	1 (0,2)	0 (0)	0,4 (0,39-0,45)	0,2
Cualquier infección	68 (16,6)	81 (14,5)	0,9 (0,6-1,2)	0,4
Por MRPR ^g	24 (5,9)	29 (5,2)	0,9 (0,5-1,5)	0,6

a. Todas las cifras excepto los valores de p son número de pacientes (%). b. Adquisición corresponde al número total de microorganismos adquiridos (colonización e infección). Las infecciones corresponden a las adquiridas en la unidad debidas a cada MRPR, ya fueran éstos colonizadores al ingreso o adquiridos en la UCI. No se aisló ninguna cepa de ERV. c. Excluyendo 6 casos de un brote exógeno de *B. cepacia*: mezcla 1 (0,2%) y rotación 1 (0,2%) [OR 0,7 (0,1-11,7), p= 0,8]. d. Excluyendo 6 casos de un brote de *B. cepacia* (2 adquirieron otro MRPR): mezcla 79 (19,3%) y rotación 86 (15,4%) [OR 0,8 (0,5-1,1), p=0,1]. e. Excluyendo 4 casos de un brote de *B. cepacia* (ninguno adquirió otra infección por MRPR): mezcla 20 (4,9 %) y rotación 29 (5,2%) [OR 1,1 (0,6-1,9), p=0,8]. f. De 51 neumonías adquiridas, 44 fueron asociadas a ventilación mecánica y 7 no [25 (6,1%) en mezcla vs. 19 (3,4%) en rotación, p=0,04]. g. De los 53 pacientes que adquirieron alguna infección por MRPR, 25 (47,2%) adquirieron solo una infección y 28 (52,8%) más de una (de 2 a 5).

($p=0,07$), quinolonas ($p=0,06$), Caz/Pip-Taz ($p=0,09$) y MDR ($p=0,052$) cuando se comparó con los intervalos de Caz/Pip-Taz. Se observó una tendencia similar en cuanto a la resistencia a quinolonas durante los intervalos programados de meropenem al compararlos con los periodos de mezcla ($p=0,07$).

Tabla 6. Número y proporción de pacientes que adquirieron *P. aeruginosa* y sus fenotipos de resistencia en los diferentes periodos

Periodos (n° de pacientes)	Total de <i>P. aeruginosa</i>	Resistentes a meropenem	Resistentes a quinolona	Resistentes a Caz/Pip-Taz	MDR
Mezcla (409)	49 (12)	19 (4,6)	14 (3,4) ^a	18 (4,4)	12 (2,9)
Rotación (560)	56 (10)	27(4,8)	25 (4,5)	23 (4,1)	19 (3,4)
Intervalos de meropenem (196)	24 (12,2)	14 (7,1) ^d	13 (6,6) ^{a,c}	12 (6,1) ^b	10 (5,1) ^e
Intervalos de quinolona (171)	14 (8,2)	7 (4,1)	7 (4,1)	6 (3,5)	6 (3,5)
Intervalos de Caz/Pip-Taz (193)	18 (9,3)	6 (3,1) ^d	5 (2,6) ^e	5 (2,6) ^b	3 (1,6) ^e

Comparaciones entre periodos: a. $p=0,07$, b. $p=0,09$, c. $p=0,058$, d. $p=0,07$, e. $p=0,052$. Para todas las demás comparaciones $p>0,2$.

2. Factores de riesgo de adquisición de *Pseudomonas aeruginosa*

2.1. Características generales del subgrupo de estudio

Durante los 35 meses del estudio, un total de 850 pacientes estuvieron hospitalizados en la unidad durante más de 48 horas. Las características de los pacientes y las exposiciones se muestran en la Tabla 7. Una descripción de los motivos de ingreso se detallan en la Tabla anexa 2.

En cuanto a la exposición antibiótica, 746 (87,8%) pacientes recibieron un antibiótico, de los cuales 576 (67,8%) fue un antipseudomónico. La dosis media diaria de los antipseudomónicos fue de 6 g para ceftazidima, 3 g para meropenem, 12 g para Pip-Taz, 1.200 mg para ciprofloxacino, 500 mg para levofloxacino y 1 g para amikacina. La mediana (RIQ) de días de exposición a los antibióticos antipseudomónicos fue de 6 (3-11) para ceftazidima, 6 (3-10) para meropenem, 5 (3-8) para Pip-Taz, 6 (3-10) para ciprofloxacino, 4 (3-8) para levofloxacino y 4 (2-10) para amikacina.

Tabla 7. Características al ingreso, exposiciones durante la estancia en la UCI y desenlaces de los pacientes ingresados durante más de 48 horas

Características al ingreso	Total (n=850)
Edad	59,8 (17,3)
Sexo masculino	519 (61,1)
Días de estancia previos al ingreso en la UCI	4,6 (12,2)
Antibioticoterapia previa (\leq 1 mes)	258 (30,4)
APACHE II	20 (6,5)
SOFA	6,4 (3,6)
Shock	151 (17,8)
Motivo de ingreso:	
Infección	486 (57,2)
Enfermedad neurológica	99 (11,6)
Posquirúrgico	80 (9,4)
Enfermedad cardiovascular	66 (7,8)
Enfermedad respiratoria	28 (3,3)
Otros	91 (10,7)
Enfermedades de base:	
Diabetes mellitus	157 (18,5)
Neoplasia hematológica	114 (13,4)
Neoplasia sólida	85 (10)
EPOC	138 (16,2)
Otras ^a	193 (19,2)
Corticoesteroides (\leq 1 mes)	156 (18,4)
Inmunosupresores (\leq 1 mes)	90 (10,6)
Exposiciones durante la estancia en la UCI	
Catéter venoso central	833 (98)
Sonda urinaria	800 (94,1)
Sonda nasogástrica	573 (67,4)
Nutrición enteral	253 (29,8)
Nutrición parenteral	177 (20,8)
Intubación orotraqueal	511 (60,1)
Traqueostomía	158 (18,6)
Endoscopia	121 (34,2)
Cirugía	189 (22,2)
Terapia renal sustitutiva	77 (9,1)
Transfusiones sanguíneas	291 (34,2)
Cualquier antibiótico	746 (87,8)
Cualquier antipseudomónico:	576 (67,8)
Meropenem	281 (33,1)
Quinolona	306 (36)
Ceftazidima	103 (12,1)
Piperacilina-tazobactam	180 (21,2)
Amikacina	52 (6,1)
Desenlaces	
Días de estancia en la UCI	9,5 (10,3)
Mortalidad intra-UCI	117 (13,8)
Mortalidad intrahospitalaria	201 (23,6)

Otras^a: incluyen pacientes infectados por el VIH, cirrosis hepática, insuficiencia renal e insuficiencia cardíaca. Las variables categóricas está expresadas como número de pacientes (%) y las variables continuas como medias (desviación estándar).

Sesenta y ocho pacientes (8%) estaban colonizados al ingreso y de los restantes 782, 104 (13,3%) adquirieron al menos una cepa de *P. aeruginosa* durante la estancia en la UCI (cuatro pacientes no colonizados al ingreso adquirieron 2 cepas diferentes). Las cepas adquiridas pertenecían a 79 pulsotipos distintos, de las cuales 7 se obtuvieron de más de un paciente (desde 2 a 20 pacientes). La agrupación, que incluyó a 20 pacientes, correspondió en 16 ocasiones a una cepa con el fenotipo XDR. De los 104 pacientes que adquirieron *P. aeruginosa*, 20 (19,2%) fueron transmisiones cruzadas (13 del genotipo correspondiente al fenotipo XDR) y el resto fueron de origen desconocido.

Los sitios de detección primaria fueron el recto en 57 (54,8%) casos, fosas nasales o faringe en 16 (15,3%), tracto respiratorio inferior en 10 (9,6%), más de uno de esos sitios en 19 (18,2%) y otros sitios en 2 (1,9%). De los 57 pacientes con colonización rectal inicial exclusiva, 18 (31,5%) desarrollaron posteriormente colonización nasofaríngea (n=3) o del tracto respiratorio inferior (n=15). En 48 (46,1%) pacientes se aisló *P. aeruginosa* de una muestra respiratoria baja (en 24 como primer lugar de colonización y en 24 como localización secundaria) y de ellos 13 (27%) presentaron neumonía (11 NAVM). La detección en los aspirados traqueales o el esputo precedió al diagnóstico de neumonía en 7 pacientes (mediana de días previos 3, rango de 1 a 14) y coincidió con el diagnóstico clínico en los restantes 6 pacientes. La ocurrencia de neumonía fue más frecuente en los pacientes en los que se detectó en primer lugar *P. aeruginosa* en las vías respiratorias inferiores (8 de 24, 33,3%) que en otros sitios (5 de 80, 6,2%, p=0,002). Otras infecciones diagnosticadas en los 104 pacientes que adquirieron *P. aeruginosa* fueron traqueobronquitis asociada a la ventilación mecánica en 9, bacteriemia relacionada con el catéter en 3, bacteriemia primaria en 2 e infección de la herida quirúrgica en 1. La traqueobronquitis fue igualmente frecuente en los enfermos en los cuales *P. aeruginosa* se aisló primero en las vías respiratorias inferiores (2 de 24, 8,3%) que en los que se aisló primariamente en otros sitios (7 de 80, 8,7%, p=1). Por el contrario, las restantes 6 infecciones ocurrieron en pacientes en los que *P. aeruginosa* se aisló en primer lugar fuera del aparato respiratorio. Los lugares de adquisición primaria y secundaria se muestran en detalle en la Tabla anexa 3.

2.2. Factores de riesgo de adquisición de *Pseudomona aeruginosa*

Las cepas adquiridas eran susceptibles a todos los antipseudomónicos en 56 pacientes (53%), resistentes a uno o dos grupos de antipseudomónicos en 27 (26%), XDR en 17 (16%), MDR en 4 (4%) y panresistentes en uno (1%). En el momento de la adquisición, la resistencia a carbapenems, ceftazidima, quinolonas, Pip-Taz y amikacina se observó en 39 (37%), 30 (29%), 29 (28%), 19 (18%) y 1 (1%) cepas, respectivamente.

El análisis univariado de la relación entre las características de los pacientes o las exposiciones y la adquisición de *P. aeruginosa* se muestra en la Tabla 8. El análisis multivariado seleccionó el shock al ingreso, la intubación orotraqueal, la nutrición enteral ≤ 3 días, la nutrición parenteral ≤ 3 días, la traqueostomía y la presión de colonización $> 0,43$ como variables independientemente asociadas a la adquisición de *P. aeruginosa*, mientras que la exposición a fluorquinolonas >3 días fueron protectoras. El modelo completo se muestra en la Tabla 9.

2.3. Factores de riesgo de adquisición de resistencia a fármacos antipseudomónicos

El número de pacientes en los que se aisló *P. aeruginosa* resistente a los diferentes antibióticos antipseudomónicos durante la estancia en la UCI, el estado de resistencia cuando se aisló por primera vez y el número de adquisiciones debidas a transmisión cruzada se muestran en la Tabla 10. En la mayoría de los casos el fenotipo resistente se adquirió como tal y no emergió a partir de una cepa susceptible. Solo una cepa que se adquirió como susceptible fue el resultado de una transmisión cruzada, mientras esto se observó en el 41%-58% de las cepas adquiridas como resistentes a los diferentes betalactámicos antipseudomónicos y fluorquinolonas.

El análisis univariado de la asociación entre exposición previa a meropenem, ceftazidima, Pip-Taz, fluorquinolonas y amikacina con la adquisición de resistencia a los diferentes antipseudomónicos y múltiples antibióticos se muestra en la Tabla anexa 4.

Tabla 8. Relación entre adquisición de *P. aeruginosa*, características de los pacientes al ingreso y exposiciones en la UCI^a

Características	Adquisición de <i>P. aeruginosa</i> (n=104)	No adquisición de <i>P. aeruginosa</i> (n=678)	OR (95% IC)	p
Sexo masculino	68 (65,3)	408 (60,1)	1,25 (0,8-1,9)	0,3
Estancia previa a la UCI >3 días	36 (34,6)	143 (21,1)	1,98 (1,3-3,1)	0,002
Enfermedades de base y otras condiciones				
Neutropenia	4 (3,8)	15 (2,2)	1,77 (0,6-5,4)	0,3
Neoplasia hematológica	10 (9,6)	93 (13,7)	0,67 (0,3-1,3)	0,2
Cirrosis hepática	8 (7,7)	22 (3,2)	2,48 (1,1-5,7)	0,03
Antibioticoterapia en el mes previo	38 (36,5)	194 (28,6)	1,44 (0,9-2,2)	0,1
Shock	29 (27,9)	105 (15,5)	2,11 (1,3-3,4)	0,002
Motivos de ingreso				
Infección	67 (64,4)	369 (54,4)	1,52 (1-2,3)	0,1
Posquirúrgico	1 (1)	78 (11,5)	0,07 (0-0,5)	0,001
Puntuaciones de gravedad				
APACHE II \geq 20	63 (60,6)	328 (48,4)	1,64 (1,1-2,5)	0,02
SOFA \geq 7	64 (61,5)	306 (45,1)	1,95 (1,3-3)	0,002
Exposiciones no antibióticas durante la estancia en la UCI				
Días en riesgo, mediana (RIQ)	6 (4-11)	5 (3-8)	-	0,01
Presión de colonización ^b > 0,43	5 (4,8)	12 (1,8)	2,8 (1-8,1)	0,05
Periodos de mezcla	49 (47,1)	281 (41,5)	0,8 (0,5-1,2)	0,2
Catéter venoso central > 3 días	80 (76,9)	472 (69,6)	1,45 (0,9-2,4)	0,1
Sonda vesical				
No	2 (1,9)	45 (6,6)	1	
1-3 días	23 (22,1)	167 (24,6)	3,1 (0,7-13,6)	0,1
> 3 días	79 (76)	466 (68,7)	3,8 (0,9-16)	0,1
Intubación orotraqueal				
No	15 (14,4)	306 (45,1)	1	
1-3 días	23 (22,1)	187 (27,6)	2,5 (1,3-4,9)	0,01
> 3 días	66 (63,5)	185 (27,3)	7,3 (4-13,1)	<0,001
Nutrición enteral				
No	47 (45,2)	18 (76,4)	1	
1-3 días	21 (20,2)	40 (5,9)	5,8 (3,2-10,6)	<0,001
> 3 días	36 (34,6)	120 (17,7)	3,3 (2,1-5,3)	<0,001
Nutrición parenteral				
No	65 (62,5)	566 (83,5)	1	
1-3 días	10 (9,6)	21 (3,1)	4,1 (1,9-9,2)	<0,001
> 3 días	29 (27,9)	91 (13,4)	2,8 (1,7-4,5)	<0,001
Traqueostomía	48 (46,2)	84 (12,4)	6,06 (3,9-9,5)	<0,001
Endoscopia	21 (20,2)	77 (11,4)	1,97 (1,2-3,4)	0,01
Cirugía	18 (17,3)	68 (10)	1,88 (1,1-3,3)	0,03
Transfusiones sanguíneas	45 (43,3)	198 (29,2)	1,85 (1,2-2,8)	0,004

Exposiciones antibióticas durante la estancia en la UCI	Adquisición de <i>P. aeruginosa</i> (n=104)	No adquisición de <i>P. aeruginosa</i> (n=678)	OR (95% IC)	p
Fluorquinolona			1	
No	74 (71,2)	447 (65,9)	0,6 (0,3-1,3)	
1-3 días	9 (8,7)	85 (12,5)	0,9 (0,5-1,5)	0,2
> 3 días	21 (20,2)	146 (21,5)		0,6
Meropenem			1	
No	64 (61,5)	483 (71,2)		
1-3 días	10 (9,6)	64 (9,4)	1,2 (0,6-2,4)	0,7
> 3 días	30 (28,8)	131 (19,3)	1,7 (1,1-2,8)	0,02
Ceftazidima			1	
No	94 (90,4)	618 (91,2)		
1-3 días	0 (0)	23 (3,4)	-	1
> 3 días	10 (9,6)	37 (5,5)	1,8 (0,9-3,7)	0,1
Piperacilina-tazobactam			1	
No	79 (76)	549 (81)		
1-3 días	8 (7,7)	45 (6,6)	1,2 (0,6-2,7)	0,6
> 3 días	17 (16,3)	84 (12,4)	1,4 (0,8-2,5)	0,2
Amikacina			1	
No	99 (95,2)	655 (96,6)		
1-3 días	1 (1)	13 (1,9)	0,5 (0,1-3,9)	0,5
> 3 días	4 (3,8)	10 (1,5)	2,6 (0,8-8,6)	0,1
Cualquier antibiótico	102 (98,1)	578 (85,3)	8,82 (2,1-36,3)	<0,001
Cualquier antipseudomónico			1	
No	30 (28,8)	246 (36,3)		
1-3 días	22 (21,2)	188 (27,7)	1 (0,5-1,7)	0,9
> 3 días	52 (50)	244 (36)	1,7 (1,1-2,8)	0,02
Cualquier no antipseudomónico			1	
No	20 (19,2)	231 (34,1)		
1-3 días	20 (19,2)	146 (21,5)	1,6 (0,8-3)	0,2
> 3 días	64 (61,5)	301 (44,4)	2,5 (1,4-4,2)	<0,001

^a Las variables categóricas están expresadas como número de pacientes (%) y las continuas como mediana de días (RIQ). ^b Valor correspondiente al percentil 95. Las variables con una $p \leq 0,3$ introducidas en el análisis multivariado y que no se muestran en la tabla son las siguientes: infecciones al ingreso (neumonía, infección urinaria y bacteriemia primaria), catéter arterial, sonda nasogástrica, corticoesteroides, glicopéptidos, clindamicina, macrólidos, cotrimoxazol, linezolid, fluconazol, otras penicilinas y otras cefalosporinas. No se muestran las variables con un valor de $p > 0,3$ e incluyen las siguientes: edad; trasplante de médula ósea; trasplante de órgano sólido; neoplasia sólida; infección por VIH; insuficiencia cardíaca; EPOC; diabetes; corticoides previos e inmunosupresores; ingreso en el año previo; motivo de ingreso respiratorio, cardiovascular, neurológico y otros; bacteriemia relacionada con el catéter e infección de orina como infecciones prevalentes, terapia renal sustitutiva y metronidazol.

En el análisis multivariado, la exposición durante más de tres días a meropenem se asoció con la adquisición de resistencia a sí mismo y la exposición a amikacina durante más de tres días con la adquisición de resistencia a Pip-Taz, fluorquinolonas y multirresistencia. La exposición a fluorquinolonas, ceftazidima o Pip-Taz no se asoció a resistencia a sí mismos ni a ningún otro antipseudomónico. Los modelos completos se muestran en la Tabla 11.

Tabla 9. Análisis multivariado de los factores asociados a la adquisición de *P. aeruginosa* durante la estancia en la UCI^a

Variable	OR (95% CI)	p
Shock	2,1 (1,2-3,7)	0,01
Presión de colonización >0,43	4 (1,2-12,8)	0,02
Intubación orotraqueal		
No	Grupo de referencia	
1-3 días	2,5 (1,2-5)	0,01
> 3 días	3,6 (1,7-7,5)	0,001
Nutrición enteral		
No	Grupo de referencia	
1-3 días	3,6 (1,8-7,6)	0,001
> 3 días	1 (0,5-2,1)	1
Traqueostomía	4,4 (2,3-8,3)	<0,001
Nutrición parenteral		
No	Grupo de referencia	
1-3 días	3,9 (1,6-9,6)	0,003
> 3 días	1,1 (0,6-2,2)	0,7
Exposición previa a fluorquinolonas		
No	Grupo de referencia	
1-3 días	0,5 (0,2-1,2)	0,2
> 3 días	0,4 (0,2-0,8)	0,01

^aTest de bondad de ajuste al modelo de Hosmer-Lemeshow= 9,7 (p=0,2).

Tabla 10. Resistencia en *P. aeruginosa* a los distintos antibióticos en el momento de la detección y casos de transmisión cruzada [entre corchetes]^a

Resistencia antibiótica	Susceptible al ingreso	Adquirida en UCI susceptible	Adquirida en UCI resistente
Ceftazidima (n=40)	2 (5)	8 (20) [0]	30 (75) [15]
Carbapenems (n=46)	2 (4)	5 (11) [0]	39 (85) [16]
Pip-Taz (n=31)	1 (3)	11 (35) [1]	19 (61) [11]
Quinolonas (n=39)	2 (5)	8 (21) [0]	29 (74) [15]
Amikacina (n=1)	0	0	1 (100) [1]
MDR (n=31)	2 (6)	7 (23) [0]	22 (71) [14]

^aNúmero de pacientes (porcentaje).

La emergencia de resistencia en una cepa previamente sensible a un determinado antipseudomónico, después de ser expuesta al mismo antibiótico, ocurrió en 4 de 20 casos (20%) expuestos a ceftazidima (vs. 8/106 [8%] en no expuestos $p=0,1$), 6 de 13 (46%) expuestos a meropenem (vs. 1/95 [3%] en no expuestos, $p<0,001$), 3 de 20 (15%) expuestos a Pip-Taz (vs. 9/117 [8%] en no expuestos, $p=0,3$) y 8 de 28 (29%) expuestos a fluorquinolonas (vs. 2/94 [3%] en no expuestos, $p<0,001$).

Tabla 11. Análisis multivariado de los factores asociados a la adquisición de resistencia a cada antibiótico antipseudomónico y multirresistencia

Variable	OR (IC 95%)	p
Resistencia a carbapenems		
Sexo varón	2,7 (1,3-5,8)	0,009
Cirrosis	3,7 (1,3-10,6)	0,016
Cirugía urgente previa	4,9 (2,4-10,1)	<0,001
Endoscopia	3,1 (1,5-6,3)	0,003
Meropenem > 3 días	2,7 (1,4-5,2)	0,003
Resistencia a piperacilina-tazobactam		
Sexo varón	3,8 (1,4-10,2)	0,009
Cirugía urgente previa	2,7 (1,1-7,0)	0,037
Endoscopia	2,8 (1,2-6,6)	0,015
Sonda nasogástrica > 3 días	4,4 (1,6-12,0)	0,004
Amikacina > 3 días	5,9 (1,9-18,7)	0,003
Resistencia a ceftazidima		
Sexo varón	3,0 (1,3-6,8)	0,008
Cirugía urgente previa	2,6 (1,2-5,8)	0,015
Tratamiento inmunosupresor	2,8 (1,2-6,3)	0,015
Intubación orotraqueal > 3 días	4,5 (2,3-9,2)	<0,001
Resistencia a quinolonas		
Sexo varón	2,4 (1,1-5,4)	0,027
Cirugía urgente previa	3,3 (1,4-7,4)	0,005
Endoscopia	3,2 (1,5-6,7)	0,003
Sonda nasogástrica > 3 días	3,8 (1,6-9,2)	0,002
Amikacina > 3 días	5,0 (1,6-15,3)	0,005
Multirresistencia		
Sexo varón	3,1 (1,2-7,8)	0,018
Cirugía urgente previa	2,8 (1,1-7,3)	0,03
Endoscopia	3,7 (1,6-8,5)	0,002
Sonda nasogástrica > 3 días	3,3 (1,3-8,5)	0,014
Amikacina > 3 días	4,5 (1,3-15,2)	0,017

V. Discusión

1. Objetivo primario: Comparación de ambas estrategias (rotación frente a mezcla)

El hallazgo principal de esta tesis es que la estrategia de mezcla en comparación con la de rotación de betalactámicos antipseudomónicos y fluorquinolonas con una duración de los ciclos de 6 semanas, no difiere significativamente en cuanto a adquisición de MRPR, adquisición de cualquier infección, adquisición de infecciones por MRPR, duración de la estancia en la unidad o mortalidad.

Varios estudios previos han demostrado que una estrategia de rotación de la mayoría de antibióticos con periodos de uso predominante de tres o más meses, puede promover la resistencia al antibiótico programado o la multiresistencia en BGN e, incluso, favorecer el desarrollo de brotes por *A. baumannii* resistente a carbapenems o *P. aeruginosa* multiresistente^{265,268,294,296,297,299,309}. Nuestros datos demuestran que en comparación con la mezcla, la rotación no se asoció a la adquisición de MRPR ni a un aumento de la prevalencia de fenotipos resistentes de *P. aeruginosa*. En cuanto a este microorganismo, durante los ciclos de meropenem se observó a lo sumo una tendencia no significativa al aumento de resistencia a carbapenems, a los demás antibióticos bajo intervención y a la multiresistencia respecto a las respectivas tasas de resistencia observadas durante los periodos de priorización de Caz/Pip-Taz. Esto sugiere que ciclos de uso predominante de antipseudomónicos de 6 semanas pueden considerarse seguros para prevenir cualquier aumento significativo en la prevalencia de resistencia a estos antibióticos, incluidos los carbapenems en BGN no fermentadores. Ha de tenerse en cuenta que un aumento en la prevalencia de resistencia a un antibió-

tico dado durante su intervalo de uso preferente es un hecho esperable que no implica un detrimento en el control de la resistencia a lo largo de todo el periodo. La clave radica, probablemente, en que durante los intervalos siguientes y antes de la reintroducción del antibiótico, la resistencia al mismo haya disminuido hasta niveles iguales o inferiores a los existentes al inicio de su intervalo de uso predominante. De no ser este el caso, podría producirse un “efecto trinquete” que motivara un aumento progresivo de la resistencia con cada reintroducción²⁷¹. De hecho, cinco estudios previos en los que los ciclos duraron menos de 3 meses^{301,302,304,307,310} y dos en los cuales los ciclos fueron de 3 meses^{303,305} mostraron un beneficio en cuanto a la tasa de resistencia en BGN que, en algunas experiencias, se mantuvo durante los 3-6 años de implementación de la estrategia de rotación antibiótica^{307,310}. Más aún, un metaanálisis reciente²⁶⁴, que incluyó un selecto grupo de 11 estudios muy heterogéneos, algunos de los cuales se centraron solo en pacientes con neutropenia febril^{276,279}, agentes anti-grampositivos³⁰⁸ o aminoglicosidos²⁸³, concluyeron que en comparación con un uso homogéneo de antibióticos o con la utilización no reglada de los mismos, la rotación se asoció con menores tasas de infección en general y de infección por patógenos resistentes. Hay que destacar que de los seis estudios incluidos en el metaanálisis realizados en unidades de cuidados intensivos y concernientes a BGN, el único inefectivo y asociado a un brote de *P. aeruginosa* resistente, resultó ser también aquel en el que la duración de los ciclos fue mayor (3 meses)²⁹⁹.

Los beneficios relativos de la rotación frente a la mezcla se han explorado *in silico* (mediante simulación informática)^{262-264,322} y en dos estudios de cohortes previos^{268,298}. Los modelos matemáticos determinísticos predicen consistentemente que la mezcla siempre será superior a la rotación en cuanto a la disminución del desarrollo o la diseminación de la resistencia. Sin embargo, alguno de ellos ha sugerido que la rotación puede ser mejor que la mezcla en relación a la multiresistencia³²² y modelos recientes, que asumen un escenario más real en el cual es esperable que el tratamiento empírico incorrecto se cambie por uno activo, predicen una ventaja de la rotación sobre la mezcla en la mayoría de las situaciones clínicas siempre que la duración de los ciclos sea la correcta

(alrededor de un mes)²⁶⁴. En conjunto, estas simulaciones sugieren que las predicciones son altamente dependientes de los parámetros considerados y, por lo tanto, los resultados de una misma estrategia pueden ser muy diferentes dependiendo de la situación epidemiológica y de las prácticas predominantes en cada entorno clínico. Desafortunadamente, ningún estudio clínico previo ha resuelto las dudas respecto a este tema. En el único estudio que específicamente comparó la mezcla con la rotación²⁹⁸, un único periodo de 4 meses de rotación mensual de betalactámicos antipseudomónicos y ciprofloxacino, se asoció con una menor tasa de adquisición de *P. aeruginosa* resistente a cefepime que un único periodo de 4 meses de mezcla. Sin embargo, la adherencia a la rotación fue relativamente baja, ya que no más del 45% de los pacientes recibió el antibiótico programado durante su intervalo de uso preferente, lo que implica que, de hecho, hubo una parte considerable de mezcla durante el susodicho intervalo de rotación. En un segundo trabajo²⁶⁸, se compararon varias estrategias de 4 meses de duración, que producían diferentes tasas de mezcla y rotación. Se observó que durante los periodos de rotación había un menor índice de Peterson (menor heterogeneidad) que en los periodos de mezcla y esto se asoció con un brote de *A. baumannii* resistente a carbapenems, un aumento en las enterobacterias productoras de BLEE y una mayor incidencia de infecciones por *E. faecalis*.

El trabajo de esta tesis expande la experiencia previa de nuestro grupo²⁹⁸ y ha hecho posible recoger datos a lo largo de tres periodos de rotación y tres periodos de mezcla durante un total de 35 meses. La comparación de los datos agregados indica que el rendimiento de ambas estrategias es muy similar. Al analizar patógenos concretos, una mayor proporción de pacientes adquirió *S. maltophilia* durante la rotación, pero los números fueron muy pequeños y la diferencia no alcanzó significación estadística. Globalmente, la tasa de adquisición de MRPR fue 4,9 puntos porcentuales mayor durante la mezcla que en la rotación ($p=0.04$), pero esto se debió en parte a un brote fortuito de *B. cepacia* causado por una crema corporal contaminada, obviamente sin relación con la estrategia. En cuanto a los distintos tipos de infección, una mayor proporción de los pacientes adquirió neumonía durante los periodos de mezcla, pero el exceso

de casos no se debió a un mayor número de MRPR, por lo que la relación de este hallazgo con la estrategia en particular parece improbable.

El estudio presenta algunas limitaciones. En primer lugar se realizó en una única UCI médica de un hospital universitario, por lo que los resultados podrían no ser aplicables a otros centros. En segundo lugar la adherencia a la estrategia no fue perfecta. En un escenario ideal de mezcla se hubiera esperado una incidencia similar de uso de las tres clases de antibióticos bajo intervención; sin embargo, hubo una mayor utilización, aunque no extraordinariamente superior, de quinolonas que de betalactámicos. Este hecho puede ser atribuible a que, por un lado, las quinolonas se usaron no solo como cobertura antipseudomónica sino también para el tratamiento de la neumonía comunitaria grave y, por el otro, a su empleo en pautas de combinación con betalactámicos antipseudomónicos. En cuanto a los periodos de rotación, los datos agregados muestran que hubo un aumento significativo en la tasa de prescripción del antibiótico programado en los intervalos correspondientes, de manera que al menos el 65% de los pacientes a los que se administró tratamiento antipseudomónico recibió el antibiótico previsto. La única excepción ocurrió durante el último periodo de rotación, ya que el uso de Caz/Pip-Taz no aumentó como hubiera sido esperable. Por otro lado, la exposición a Caz/Pip-Taz y fluorquinolonas fue significativamente mayor durante los periodos de mezcla, mientras que la exposición a meropenem fue mayor durante los periodos de rotación. Aunque de nuevo las diferencias no fueron extraordinarias, no se puede descartar que la mayor frecuencia de adquisición de *S. maltophilia* durante la rotación no guardara relación con el aumento de uso de meropenem observado en la misma. Tampoco puede descartarse por completo que la rotación no haya podido mitigar los efectos contraproducentes del mayor uso del meropenem durante la misma. Como se discutirá más adelante, los antibióticos “menos peligrosos” en cuanto al riesgo de adquisición de *P. aeruginosa* y sus fenotipos de resistencia (quinolonas y Caz/Pip-Taz, respectivamente) se usaron con mayor frecuencia en los periodos de mezcla, mientras que el “más peligroso” (meropenem) se utilizó más en los periodos de rotación, a pesar de lo cual la mezcla no presentó ventaja respecto a la rotación. Creemos que estas

limitaciones no invalidan la interpretación de los resultados generales y que pueden considerarse como parte de la variabilidad esperable en la aplicación de cualquier política general de utilización de antibióticos en el mundo real.

Otro potencial confusor es la distribución desigual de las características de los pacientes en los distintos periodos. Aunque similares en muchos aspectos, los admitidos durante los periodos de rotación tuvieron una mayor prevalencia de shock y unas puntuaciones de gravedad (APACHE II y SOFA) más altas. Sin embargo, la diferencia en el shock fue apenas significativa y en cuanto a las diferencias en las puntuaciones, aunque resultaron estadísticamente significativas, no pueden considerarse clínicamente relevantes.

En conclusión, los resultados del presente estudio sugieren que la elección entre una estrategia de rotación o de mezcla de antibióticos en una unidad de cuidados intensivos, debería estar influenciada más por las posibilidades de implementación que por las diferencias en eficacia. Esperemos que la respuesta definitiva a este dilema se obtenga de un ensayo clínico multicéntrico que está en marcha en la actualidad³²³.

2. Objetivo secundario: Factores de riesgo de adquisición de *Pseudomonas aeruginosa*

Los hallazgos principales de este estudio son los siguientes: a) la presión de colonización y algunas características de los pacientes o instrumentalizaciones parecen ser factores de riesgo más relevantes que la exposición antibiótica en la adquisición de *P. aeruginosa*, b) la exposición a fluorquinolonas (levofloxacino o ciprofloxacino) durante más de tres días es protectora de la adquisición de *P. aeruginosa* y c) la exposición a meropenem se asocia a la adquisición de resistencia a carbapenems y la de amikacina a la adquisición de resistencia a Pip-Taz, a quinolonas y a multirresistencia.

Cuando la transmisión cruzada está involucrada en la adquisición de un microorganismo es esperable que la presión de colonización sea un factor de riesgo relevante. Aunque definida de diferentes formas, la presión de colonización se ha asociado independientemente a la adquisición de SARM^{324,325}, ERV^{88,292,326,327},

*C. difficile*³²⁸, *A. baumannii*^{95,329} y *P. aeruginosa*^{94,95,120} en unidades de cuidados intensivos. Sin embargo, en ningún estudio de SARM y solo en algunos de *A. baumannii*³²⁹ y *P. aeruginosa*^{120,330} se ajustó por exposición previa a antibióticos. Algunos trabajos indican que hay una interacción entre presión de colonización y antibióticos. En un estudio que investigaba predictores de adquisición de *P. aeruginosa* en la UCI, la exposición previa a antibióticos no antipseudomónicos durante tres o más días fue un factor de riesgo significativo solo cuando hubo al menos un paciente colonizado en la unidad⁹⁴. Este hecho concuerda con la noción de que en pacientes previamente no colonizados por un determinado microorganismo, los antibióticos solo pueden promover la adquisición del mismo favoreciendo su transmisión. En otro estudio sobre adquisición de *A. baumannii* resistente a imipenem, los antibióticos fueron un factor de riesgo solo para pacientes ingresados durante periodos en los que la presión de colonización fue baja³³⁰, sugiriendo que el rol de los antibióticos puede ser relativamente más importante cuando hay pocas oportunidades para la transmisión paciente a paciente. Hay incluso un estudio en el que la presión de colonización fue un predictor independiente de la adquisición de *P. aeruginosa* resistente a imipenem no relacionado con la transmisión cruzada. Sin embargo, este es un hallazgo paradójico que cuestionaría la capacidad discriminatoria del criterio normalmente utilizado (tipaje molecular y asociación temporal) para definir la transmisión paciente a paciente¹²⁰. Nuestros datos indican que la presión de colonización, medida como se describió originalmente⁸⁸, es un factor de riesgo independiente para la adquisición de *P. aeruginosa* en una UCI en la que la mayoría de los pacientes recibió en algún momento antibióticos (88.3% cualquiera de ellos y el 66.1% un antipseudomónico) y el 19% de los episodios de adquisición se debió a transmisión cruzada. En nuestra opinión, disponer de una medida diaria de la presión de colonización de los principales patógenos de interés en una UCI puede ser útil para cuantificar el riesgo de nuevas adquisiciones y establecer las medidas de control apropiadas encaminadas a prevenir este efecto indeseable.

En cuanto al papel de los antibióticos, el hallazgo más llamativo del estudio fue que las fluorquinolonas resultaron protectoras de la adquisición de

P. aeruginosa y más bien neutrales respecto a la adquisición de sus fenotipos de resistencia. En pacientes críticos, los pocos estudios previos que han investigado específicamente la adquisición de *P. aeruginosa* encontraron que las fluorquinolonas eran protectoras de que esta colonizara la faringe³³¹ o cualquier sitio¹³². En estudios de ámbito hospitalario, la exposición a levofloxacino (pero no a ciprofloxacino) se ha asociado con un menor riesgo de infecciones nosocomiales por *P. aeruginosa* sensible a fluorquinolonas¹¹⁴ y de colonización o infección por BGN (incluyendo *P. aeruginosa*) con resistencia a cefalosporinas mediada cromosómicamente³³². En un estudio previo de nuestro grupo llevado a cabo en dos UCI médicas, la exposición a quinolonas fue también un factor protector de la adquisición de *P. aeruginosa*¹³². Todos estos datos, junto con los del presente estudio, sugieren que las fluorquinolonas administradas a pacientes críticos, que no están previamente colonizados por *P. aeruginosa*, pueden disminuir la adquisición de este microorganismo, incluso en entornos donde la prevalencia de resistencia a quinolonas es de alrededor del 29%. Más sorprendente todavía es que en los estudios practicados por nuestro grupo no haya sido posible encontrar una asociación independiente entre la exposición previa a quinolonas antipseudomónicas y la adquisición de resistencia o multirresistencia en *P. aeruginosa*¹³². Una plétora de estudios previos de casos y controles o cohortes han asociado esta clase de antibióticos con resistencia a sí mismos¹¹¹⁻¹¹⁶, a betalactámicos antipseudomónicos^{110,119,121,123,124} o a múltiples fármacos^{46,49,126,128,130,131}. No disponemos de una explicación satisfactoria para esta discrepancia, pero el hecho de que en el presente trabajo se encuentre esta asociación (uso previo de quinolonas con resistencia a sí mismas y a múltiples fármacos); en el análisis univariado pero no el multivariado, sugiere que la significación observada en otras investigaciones puede deberse a no haber tenido en cuenta todos los confusores potenciales. En contraste con las quinolonas, nuestros datos confirman la implicación del uso previo de carbapenems en la adquisición de resistencia a sí mismos^{109,117-120}. Debe señalarse que en nuestra experiencia tanto quinolonas como carbapenems tuvieron una mayor propensión que ceftazidima o Pip-Taz a seleccionar resistencia a sí mismos cuando se administraron a pacientes previamente colonizados por

cepas sensibles. Estos datos sugieren que en pacientes críticos no colonizados por *P. aeruginosa* o con bajo riesgo de estarlo, las quinolonas podrían ser más seguras que los carbapenems en términos de riesgo de adquisición de cepas resistentes e incluso disminuir la prevalencia de *P. aeruginosa*. En otras circunstancias, ceftazidima o Pip-Taz pueden asociarse con un riesgo menor de adquisición de resistencia porque parecen tener menos tendencia que los carbapenems a seleccionar resistencia en pacientes previamente colonizados. Sin embargo, al intentar elegir un tratamiento empírico en pacientes con sepsis grave, sigue siendo apropiado evitar la administración del antipseudomónico recientemente usado, tener en cuenta las tasas locales de resistencia a *P. aeruginosa* y considerar el riesgo de otros microorganismos MDR³³³.

En este estudio, la administración previa de amikacina se asoció con la adquisición de resistencia a fluorquinolonas, Pip-Taz y MDR en el análisis multivariado. Un pequeño número de estudios previos han detectado una asociación entre la exposición a amikacina o aminoglucósidos y la adquisición de *P. aeruginosa* resistente a imipenem^{109,117}, ceftazidima¹⁰⁹, Pip-Taz¹⁰⁸ y múltiples fármacos^{115,334}. Consideramos que en nuestra serie esta asociación no se puede atribuir a la selección de mutantes hiperproductores de MexXY³³⁵, ya que no se observaron aumentos en la CMI de amikacina¹⁵⁶. A pesar de que estas asociaciones proceden de un análisis multivariado, todavía existe la posibilidad de que se trate de relaciones no causales que deberán ser validadas en otros estudios.

Muchos de los confusores distintos a los antibióticos encontrados en nuestro trabajo, que denotan exposición a dispositivos médicos, gravedad de la condición de base y duración del estado crítico han sido previamente reportados como factores de riesgo de adquisición de *P. aeruginosa*, de cepas con cualquier fenotipo de resistencia o de multirresistencia^{103,132,336,337}.

Este estudio adolece de algunas limitaciones específicas. En primer lugar, el número de cepas con los diferentes fenotipos de resistencia fue relativamente escaso, lo cual aumenta la incertidumbre de los resultados obtenidos de los modelos multivariados. En segundo lugar, no disponemos de información sobre el grado de cumplimiento con las medidas de control de la infección (higiene

de las manos, precauciones de contacto, probabilidad de “cohorting”). En tercer lugar no se hicieron cultivos de vigilancia ambientales durante el desarrollo del estudio, lo cual puede explicar al menos en parte la elevada frecuencia de origen “desconocido” de las cepas adquiridas.

La presente investigación tiene algunos aspectos positivos e innovadores. En primer lugar, la magnitud de la población estudiada y la frecuencia de obtención de muestras superan a las de la mayoría de los estudios previos. Ello ha permitido establecer de manera precisa el estado de portador y el momento de la adquisición de los microorganismos evaluados en una amplia muestra de pacientes críticos y, por tanto, otorga rigor a nuestros resultados. En segundo lugar, se trata del primer estudio comparativo de una estrategia de mezcla con una de rotación que ha incluido tres periodos consecutivos alternos de cada una de ellas a lo largo de 35 meses. Este hecho confiere robustez al análisis de las posibles diferencias entre ambas estrategias.

VI. Conclusiones

- 1^a En unidades de cuidados intensivos, una estrategia de rotación de antibióticos antipseudomónicos (meropenem, ceftazidima/piperacilina-tazobactam y ciprofloxacino/levofloxacino) con intervalos de seis semanas es similar a una estrategia de mezcla de los mismos antibióticos en términos de los siguientes desenlaces: adquisición de microorganismos resistentes o potencialmente resistentes, desarrollo de infección por cualquier microorganismo, desarrollo de infecciones por microorganismos resistentes o potencialmente resistentes, duración de la estancia y mortalidad.
- 2^a Intervalos de uso predominante de antibióticos antipseudomónicos (meropenem, ceftazidima/piperacilina-tazobactam y ciprofloxacino/levofloxacino) de 6 semanas de duración no se asocian a aumentos significativos en la prevalencia de resistencia a los mismos ni a multirresistencia en *P. aeruginosa*.
- 3^a En unidades de cuidados intensivos con una elevada prevalencia de uso de antibióticos, la presión de colonización y la exposición a ciertos procedimientos o dispositivos pueden ser más importantes que la exposición antibiótica como determinantes de la adquisición de *P. aeruginosa*. En estas unidades, la exposición a fluorquinolonas puede, de hecho, asociarse a un menor riesgo de adquisición de *P. aeruginosa*.
- 4^a Meropenem, en comparación con ceftazidima, piperacilina-tazobactam y fluorquinolonas, es el antibiótico que se asocia con un mayor riesgo de adquisición de *P. aeruginosa* resistente a sí mismo. Por otro lado, amikacina se asocia con la adquisición de resistencia a piperacilina-tazobactam, fluorquinolonas y multirresistencia.

En base a las conclusiones obtenidas de nuestro estudio, realizamos las siguientes recomendaciones:

- 1^a En unidades de cuidados intensivos, la elección entre una estrategia de rotación o mezcla destinadas a promover la heterogeneidad del uso de antibióticos ha de basarse más en aspectos prácticos relativos a su implementación que en cuestiones de eficacia.
- 2^a En unidades de cuidados intensivos, disponer de una medida diaria de la presión de colonización de los principales patógenos de interés puede ser útil para cuantificar el riesgo de nuevas adquisiciones y establecer las medidas de control apropiadas encaminadas a prevenirlas.
- 3^a En pacientes no colonizados por *P. aeruginosa*, o sin factores de riesgo de estarlo, la administración de quinolonas es probablemente segura en términos de riesgo de adquisición de cepas resistentes y puede, incluso, tener un efecto profiláctico de la adquisición de este microorganismo.
- 4^a A la hora de elegir una terapia antipseudomónica y si las circunstancias epidemiológicas lo permiten, es recomendable favorecer la utilización de piperacilina-tazobactam o ceftazidima frente a meropenem porque aquellas se asocian a un menor riesgo tanto de adquisición de cepas resistentes como de selección de mutantes resistentes en los pacientes ya colonizados o infectados por *P. aeruginosa*.
- 5^a Además de para minimizar la toxicidad, es recomendable no prolongar la administración de amikacina más de tres días, dado que ello puede asociarse con la adquisición de *P. aeruginosa* resistente a piperacilina-tazobactam, fluorquinolonas y multirresistente.

VII. Bibliografía

1. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med* 2006;34:344-53.
2. Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009;302:2323-9.
3. Erdem H, Inan A, Altindis S, et al. Surveillance, control and management of infections in intensive care units in Southern Europe, Turkey and Iran-a prospective multicenter point prevalence study. *J Infect* 2014;68:131-40.
4. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA* 1995;274:639-44.
5. Sociedad Española de Medicina Preventiva Salud Pública e Higiene. Estudio EPINE-EPPS 2015. Informe Global de España (resumen provisional). Disponible online en: <http://www.sempsph.com/es/noticias/epine-epps-2015>. Acceso el 3-10-2015.
6. Sociedad Española de Medicina Intensiva Crítica y Unidades Coronarias (SEMICYUC). Grupo de Trabajo de Enfermedades Infecciosas y sepsis. Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva. ENVIN-HELICS. Informe 2014. Disponible on line en: <http://hws.vhebron.net/envin-helics/>. Acceso el 3-10-2015.
7. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Crit Care Med* 2007;35:1244-50.
8. Kumar G, Kumar N, Taneja A, et al. Nationwide trends of severe sepsis in the 21st century (2000-2007). *Chest* 2011;140:1223-31.
9. Zaragoza R, Ramírez P, López-Pueyo MJ. Infección nosocomial en las unidades de cuidados intensivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2014;32:320-7.
10. Palomar M, Álvarez-Lerma F, Riera A, et al. Impact of a national multimodal intervention to prevent catheter-related bloodstream infection in the ICU: the Spanish experience. *Crit Care Med* 2013;41:2364-72.
11. Álvarez Lerma F, Sánchez García M, Lorente L, et al. Guidelines for the prevention of ventilator-associated pneumonia and their implementation. The Spanish 'Zero-VAP' bundle. *Med Intensiva* 2014;38:226-36.
12. Vincent JL. Increasing awareness of sepsis: World Sepsis Day. *Crit Care* 2012;16:152.
13. Stevenson EK, Rubenstein AR, Radin GT, Wiener RS, Walkey AJ. Two decades of mortality trends among patients with severe sepsis: a comparative meta-analysis. *Crit Care Med* 2014;42:625-31.

14. ProCESS Investigators, Yealy DM, Kellum JA, et al. A randomized trial of protocol-based care for early septic shock. *N Engl J Med* 2014;370:1683-93.
15. ARISE Investigators, ANZICS Clinical Trials Group, Peake SL, et al. Goal-directed resuscitation for patients with early septic shock. *N Engl J Med* 2014;371:1496-506.
16. Mouncey PR, Osborn TM, Power GS, et al. Trial of early, goal-directed resuscitation for septic shock. *N Engl J Med* 2015;372:1301-11.
17. Fridkin SK, Steward CD, Edwards JR, et al. Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in United States hospitals: project ICARE phase 2. Project Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology (ICARE) hospitals. *Clin Infect Dis* 1999;29:245-52.
18. Hanberger H, Garcia-Rodriguez JA, Gobernado M, Goossens H, Nilsson LE, Struelens MJ. Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups. *JAMA* 1999;281:67-71.
19. Meyer E, Schwab F, Schroeren-Boersch B, Gastmeier P. Dramatic increase of third-generation cephalosporin-resistant *E. coli* in German intensive care units: secular trends in antibiotic drug use and bacterial resistance, 2001 to 2008. *Crit Care* 2010;14:R113.
20. Brusselaers N, Vogelaers D, Blot S. The rising problem of antimicrobial resistance in the intensive care unit. *Ann Intensive Care* 2011;1:47.
21. Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESCAPE. *J Infect Dis* 2008;197:1079-81.
22. Peterson LR. Bad bugs, no drugs: no ESCAPE revisited. *Clin Infect Dis* 2009;49:992-3.
23. Ziakas PD, Thapa R, Rice LB, Mylonakis E. Trends and significance of VRE colonization in the ICU: a meta-analysis of published studies. *PLoS One* 2013;8:e75658.
24. Gastmeier P, Schröder C, Behnke M, Meyer E, Geffers C. Dramatic increase in vancomycin-resistant enterococci in Germany. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:1660-4.
25. European Center for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report. Antimicrobial resistance and healthcare-associated infections. 2014. Disponible en <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-annual-epidemiological-report.pdf>. Acceso el 10/10/2015.
26. Valdezate S, Miranda C, Navarro A, et al. Clonal outbreak of ST17 multidrug-resistant *Enterococcus faecium* harbouring an Inc18-like: Tn1546 plasmid in a haemo-oncology ward of a Spanish hospital. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:832-6.
27. López-Pueyo MJ, Barcenilla-Gaite F, Amaya-Villar R, Garnacho-Montero J. [Antibiotic multiresistance in critical care units]. *Med Intensiva* 2011;35:41-53.

28. De Kraker MEA, Jarlier V, Monen JCM, Heuer OE, van de Sande N, Grundmann H. The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:860-8.
29. Duerden B, Fry C, Johnson AP, Wilcox MH. The Control of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Blood Stream Infections in England. *Open forum Infect Dis* 2015;2: ofv035.
30. Maseda E, Mensa J, Valía JC, et al. Bugs, hosts and ICU environment: countering pan-resistance in nosocomial microbiota and treating bacterial infections in the critical care setting. *Rev Esp Quimioter* 2013;26:312-31.
31. World Health Organization. Antimicrobial resistance. Global report on surveillance. 2014. Disponible en <http://who.int/drugresistance/documents/situation-analysis/en/>. Acceso el 10/10/2015.
32. Morales G, Picazo JJ, Baos E, et al. Resistance to linezolid is mediated by the cfr gene in the first report of an outbreak of linezolid-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2010;50:821-5.
33. Sierra JM, Camoez M, Tubau F, et al. Low prevalence of Cfr-mediated linezolid resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Spanish hospital: case report on linezolid resistance acquired during linezolid therapy. *PLoS One* 2013;8:e59215.
34. Treviño M, Martínez-Lamas L, Romero-Jung PA, Giráldez JM, Alvarez-Escudero J, Requeiro BJ. Endemic linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* in a critical care unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28:527-33.
35. Seral C, Sáenz Y, Algarate S, et al. Nosocomial outbreak of methicillin- and linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* associated with catheter-related infections in intensive care unit patients. *Int J Med Microbiol* 2011;301:354-8.
36. Quiles-Melero I, Gómez-Gil R, Romero-Gómez MP, et al. Mechanisms of linezolid resistance among Staphylococci in a tertiary hospital. *J Clin Microbiol* 2013;51:998-1001.
37. Baos E, Candel FJ, Merino P, Pena I, Picazo JJ. Characterization and monitoring of linezolid-resistant clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* in an intensive care unit 4 years after an outbreak of infection by cfr-mediated linezolid-resistant *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;76:325-9.
38. Rodríguez-Baño J, López-Prieto MD, Portillo MM, et al. Epidemiology and clinical features of community-acquired, healthcare-associated and nosocomial bloodstream infections in tertiary-care and community hospitals. *Clin Microbiol Infect* 2010;16:1408-13.

39. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, et al. Risk factors and prognosis of nosocomial bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2010;48:1726-31.
40. Díaz MA, Hernández-Bello JR, Rodríguez-Baño J, et al. Diversity of *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain: second nationwide study. *J Clin Microbiol* 2010;48:2840-5.
41. Ruiz de Alegría C, Rodríguez-Baño J, Cano ME, et al. *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain: microbiological and clinical features. *J Clin Microbiol* 2011;49:1134-6.
42. Miró E, Agüero J, Larrosa MN, et al. Prevalence and molecular epidemiology of acquired AmpC β -lactamases and carbapenemases in Enterobacteriaceae isolates from 35 hospitals in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013;32:253-9.
43. Oteo J, Ortega A, Bartolomé R, et al. Prospective multicenter study of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from 83 hospitals in Spain reveals high in vitro susceptibility to colistin and meropenem. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:3406-12.
44. 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.
45. López-Cortés LE, Cisneros JM, Fernández-Cuenca F, et al. Monotherapy versus combination therapy for sepsis due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: analysis of a multicentre prospective cohort. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:3119-26.
46. Montero M, Sala M, Riu M, et al. Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* acquisition. Impact of antibiotic use in a double case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29:335-9.
47. Peña C, Gómez-Zorrilla S, Suarez C, et al. Extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk of bloodstream infection in hospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:2791-7.
48. Morata L, Cobos-Trigueros N, Martínez JA, et al. Influence of multidrug resistance and appropriate empirical therapy on the 30-day mortality rate of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:4833-7.
49. Gómez-Zorrilla S, Camoez M, Tubau F, et al. Antibiotic Pressure Is a Major Risk Factor for Rectal Colonization by Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Critically Ill Patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:5863-70.

50. Ammerlaan HSM, Harbarth S, Buiting a. GM, et al. Secular trends in nosocomial bloodstream infections: Antibiotic-resistant bacteria increase the total burden of infection. *Clin Infect Dis* 2013;56:798-805.
51. Hughes MG, Evans HL, Chong TW, et al. Effect of an intensive care unit rotating empiric antibiotic schedule on the development of hospital-acquired infections on the non-intensive care unit ward. *Crit Care Med* 2004;32:53-60.
52. Shorr AF. Review of studies of the impact on Gram-negative bacterial resistance on outcomes in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2009;37:1463-9.
53. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2003;36:53-9.
54. DiazGranados CA, Zimmer SM, Klein M, Jernigan JA. Comparison of mortality associated with vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococcal bloodstream infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2005;41:327-33.
55. Rottier WC, Ammerlaan HSM, Bonten MJM. Effects of confounders and intermediates on the association of bacteraemia caused by extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae and patient outcome: a meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:1311-20.
56. Nathwani D, Raman G, Sulham K, Gavaghan M, Menon V. Clinical and economic consequences of hospital-acquired resistant and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrob Resist Infect Control* 2014;3:32.
57. Tumbarello M, De Pascale G, Trecarichi EM, et al. Clinical outcomes of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in intensive care unit patients. *Intensive Care Med* 2013;39:682-92.
58. Neidell MJ, Cohen B, Furuya Y, et al. Costs of healthcare- and community-associated infections with antimicrobial-resistant versus antimicrobial-susceptible organisms. *Clin Infect Dis* 2012;55:807-15.
59. Paul M, Shani V, Muchtar E, Kariv G, Robenshtok E, Leibovici L. Systematic review and meta-analysis of the efficacy of appropriate empiric antibiotic therapy for sepsis. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:4851-63.
60. Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat Rev Microbiol* 2010;8:260-71.

61. Rudkin JK, Edwards AM, Bowden MG, et al. Methicillin resistance reduces the virulence of healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by interfering with the agr quorum sensing system. *J Infect Dis* 2012;205:798-806.
62. Tsuji BT, MacLean RD, Dresser LD, McGavin MJ, Simor AE. Impact of accessory gene regulator (agr) dysfunction on vancomycin pharmacodynamics among Canadian community and health-care associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2011;10:20.
63. Fowler VG, Sakoulas G, McIntyre LM, et al. Persistent bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection is associated with agr dysfunction and low-level in vitro resistance to thrombin-induced platelet microbicidal protein. *J Infect Dis* 2004;190:1140-9.
64. Schweizer ML, Furuno JP, Sakoulas G, et al. Increased mortality with accessory gene regulator (agr) dysfunction in *Staphylococcus aureus* among bacteremic patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:1082-7.
65. Skurnik D, Roux D, Cattoir V, et al. Enhanced in vivo fitness of carbapenem-resistant oprD mutants of *Pseudomonas aeruginosa* revealed through high-throughput sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:20747-52.
66. Sullivan E, Bensman J, Lou M, Agnello M, Shriner K, Wong-Beringer A. Risk of developing pneumonia is enhanced by the combined traits of fluoroquinolone resistance and type III secretion virulence in respiratory isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Crit Care Med* 2014;42:48-56.
67. Peña C, Cabot G, Gómez-Zorrilla S, et al. Influence of virulence genotype and resistance profile in the mortality of *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections. *Clin Infect Dis* 2015;60:539-48.
68. López-Cerero L, Navarro MD, Bellido M, et al. *Escherichia coli* belonging to the worldwide emerging epidemic clonal group O25b/ST131: risk factors and clinical implications. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:809-14.
69. Sahly H, Navon-Venezia S, Roesler L, et al. Extended-spectrum beta-lactamase production is associated with an increase in cell invasion and expression of fimbrial adhesins in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:3029-34.
70. Shin J, Ko KS. Comparative study of genotype and virulence in CTX-M-producing and non-extended-spectrum- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:2463-7.

71. Mathers AJ, Peirano G, Pitout JD. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev* 2015;28:565-91.
72. Oliver A, Mulet X, López-Causapé C, Juan C. The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Drug Resist Updat* 2015;21-22:41-59.
73. Bonten MJ, Mascini EM. The hidden faces of the epidemiology of antibiotic resistance. *Intensive Care Med* 2003;29:1-2.
74. Fàbrega A, Madurga S, Giralt E, Vila J. Mechanism of action of and resistance to quinolones. *Microb Biotechnol* 2009;2:40-61.
75. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2009;22:161-82.
76. 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.
77. Morita Y, Tomida J, Kawamura Y. Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. *Front Microbiol* 2014;4:422.
78. Ruppé É, Woerther P-L, Barbier F. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Ann Intensive Care* 2015;5:61.
79. Hsu J, Abad C, Dinh M, Safdar N. Prevention of endemic healthcare-associated *Clostridium difficile* infection: reviewing the evidence. *Am J Gastroenterol* 2010;105:2327-39; quiz 2340.
80. León C, Ostrosky-Zeichner L, Schuster M. What's new in the clinical and diagnostic management of invasive candidiasis in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2014;40:808-19.
81. Donskey CJ, Chowdhry TK, Hecker MT, et al. Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. *N Engl J Med* 2000;343:1925-32.
82. Austin DJ, Kristinsson KG, Anderson RM. The relationship between the volume of antimicrobial consumption in human communities and the frequency of resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:1152-6.
83. Levin BR. Minimizing potential resistance: a population dynamics view. *Clin Infect Dis* 2001;33 Suppl 3:S161-9.
84. Lipsitch M, Bergstrom CT, Levin BR. The epidemiology of antibiotic resistance in hospitals: paradoxes and prescriptions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:1938-43.

85. Austin DJ, Bonten MJ, Weinstein RA, Slaughter S, Anderson RM. Vancomycin-resistant enterococci in intensive-care hospital settings: transmission dynamics, persistence, and the impact of infection control programs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:6908-13.
86. Bonten MJ, Austin DJ, Lipsitch M. Understanding the spread of antibiotic resistant pathogens in hospitals: mathematical models as tools for control. *Clin Infect Dis* 2001;33:1739-46.
87. Grundmann H, Hellriegel B. Mathematical modelling: a tool for hospital infection control. *Lancet Infect Dis* 2006;6:39-45.
88. Bonten MJ, Slaughter S, Ambergen AW, et al. The role of 'colonization pressure' in the spread of vancomycin-resistant enterococci: an important infection control variable. *Arch Intern Med* 1998;158:1127-32.
89. Ajao AO, Harris AD, Roghmann MC, et al. Systematic review of measurement and adjustment for colonization pressure in studies of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant enterococci, and *Clostridium difficile* acquisition. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011;32:481-9.
90. Wang J, Wang M, Huang Y, et al. Colonization pressure adjusted by degree of environmental contamination: a better indicator for predicting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition. *Am J Infect Control* 2011;39:763-9.
91. Yoon YK, Lee SE, Lee J, et al. Risk factors for prolonged carriage of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* among patients in intensive care units: a case-control study. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:1831-8.
92. Popoola VO, Carroll KC, Ross T, Reich NG, Perl TM, Milstone AM. Impact of colonization pressure and strain type on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission in children. *Clin Infect Dis* 2013;57:1458-60.
93. Arvaniti K, Lathyris D, Ruimy R, et al. The importance of colonization pressure in multiresistant *Acinetobacter baumannii* acquisition in a Greek intensive care unit. *Crit Care* 2012;16:R102.
94. Boyer A, Doussau A, Thiébaud R, et al. *Pseudomonas aeruginosa* acquisition on an intensive care unit: relationship between antibiotic selective pressure and patients' environment. *Crit Care* 2011;15:R55.
95. DalBen MF, Basso M, Garcia CP, et al. Colonization pressure as a risk factor for colonization by multiresistant *Acinetobacter* spp. and carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. *Clinics (Sao Paulo)* 2013;68:1128-33.

96. Cobos-Trigueros N, Solé M, Castro P, et al. Acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* and its resistance phenotypes in critically-ill medical patients: role of colonization pressure and antibiotic exposure. *Crit Care* 2015;19:8-16.
97. Nijssen S, Bootsma M, Bonten M. Potential confounding in evaluating infection-control interventions in hospital settings: changing antibiotic prescription. *Clin Infect Dis* 2006;43:616-23.
98. Bonten MJ. Colonization pressure: a critical parameter in the epidemiology of antibiotic-resistant bacteria. *Crit Care* 2012;16:142.
99. Kollef MH, Chastre J, Fagon JY, et al. Global Prospective Epidemiologic and Surveillance Study of Ventilator-Associated Pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Crit Care Med* 2014:1-10.
100. Talon D, Mulin B, Rouget C, Bailly P, Thouverez M, Viel JF. Risks and routes for ventilator-associated pneumonia with *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:978-84.
101. Bonten MJ, Bergmans DC, Speijer H, Stobberingh EE. Characteristics of polyclonal endemicity of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in intensive care units. Implications for infection control. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1212-9.
102. Thuong M, Arvaniti K, Ruimy R, et al. Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* and risk factors for carriage acquisition in an intensive care unit. *J Hosp Infect* 2003;53:274-82.
103. Venier AG, Leroyer C, Slekovec C, et al. Risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* acquisition in intensive care units: a prospective multicentre study. *J Hosp Infect* 2014;88:103-8.
104. El Amari EB, Chamot E, Auckenthaler R, Pechère JC, Van Delden C. Influence of previous exposure to antibiotic therapy on the susceptibility pattern of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremic isolates. *Clin Infect Dis* 2001;33:1859-64.
105. Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, Samore MH. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1379-82.
106. Riou M, Carbonnelle S, Avrain L, et al. In vivo development of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from the lower respiratory tract of Intensive Care Unit patients with nosocomial pneumonia and receiving antipseudomonal therapy. *Int J Antimicrob Agents* 2010;36:513-22.
107. Lee SC, Fung CP, Liu PY, et al. Nosocomial infections with ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and outcome. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999;20:205-7.

108. Harris AD, Perencevich E, Roghmann MC, Morris G, Kaye KS, Johnson JA. Risk factors for piperacillin-tazobactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:854-8.
109. Fortaleza CM, Freire MP, Filho D de CM, de Carvalho Ramos M. Risk factors for recovery of imipenem- or ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among patients admitted to a teaching hospital in Brazil. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006;27:901-6.
110. Akhabue E, Synnestvedt M, Weiner MG, Bilker WB, Lautenbach E. Cefepime-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Emerg Infect Dis* 2011;17:1037-43.
111. Richard P, Delangle MH, Raffi F, Espaze E, Richet H. Impact of fluoroquinolone administration on the emergence of fluoroquinolone-resistant gram-negative bacilli from gastrointestinal flora. *Clin Infect Dis* 2001;32:162-6.
112. Paladino JA, Sunderlin JL, Forrest A, Schentag JJ. Characterization of the onset and consequences of pneumonia due to fluoroquinolone-susceptible or -resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:457-63.
113. Hsu DI, Okamoto MP, Murthy R, Wong-Beringer A. Fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Risk factors for acquisition and impact on outcomes. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:535-41.
114. Kaye KS, Kanafani ZA, Dodds AE, Engemann JJ, Weber SG, Carmeli Y. Differential effects of levofloxacin and ciprofloxacin on the risk for isolation of quinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:2192-6.
115. D'Agata EM, Cataldo MA, Cauda R, Tacconelli E. The importance of addressing multidrug resistance and not assuming single-drug resistance in case-control studies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006;27:670-4.
116. Gasink LB, Fishman NO, Weiner MG, Nachamkin I, Bilker WB, Lautenbach E. Fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: assessment of risk factors and clinical impact. *Am J Med* 2006;119:526.e19-25.
117. Harris AD, Smith D, Johnson JA, Bradham DD, Roghmann MC. Risk factors for imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients. *Clin Infect Dis* 2002;34:340-5.
118. Zavascki AP, Cruz RP, Goldani LZ. Risk factors for imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: A comparative analysis of two case-control studies in hospitalized patients. *J Hosp Infect* 2005;59:96-101.

119. Lautenbach E, Synnestvedt M, Weiner MG, et al. Imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: emergence, epidemiology, and impact on clinical and economic outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31:47-53.
120. Harris AD, Johnson JK, Thom KA, et al. Risk factors for development of intestinal colonization with imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit setting. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011;32:719-22.
121. Trouillet JL, Vuagnat A, Combes A, Kassis N, Chastre J, Gibert C. *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia: comparison of episodes due to piperacillin-resistant versus piperacillin-susceptible organisms. *Clin Infect Dis* 2002;34:1047-54.
122. Lautenbach E, Weiner MG, Nachamkin I, Bilker WB, Sheridan A, Fishman NO. Imipenem resistance among *Pseudomonas aeruginosa* isolates: risk factors for infection and impact of resistance on clinical and economic outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006;27:893-900.
123. Gasink LB, Fishman NO, Nachamkin I, Bilker WB, Lautenbach E. Risk factors for and impact of infection or colonization with aztreonam-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28:1175-80.
124. Lin KY, Lauderdale TL, Wang J, Chang SC. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Taiwan: Prevalence, risk factors, and impact on outcome of infections. *J Microbiol Immunol Infect* 2014:1-8.
125. López-Dupla M, Martínez JA, Vidal F, et al. Previous ciprofloxacin exposure is associated with resistance to β -lactam antibiotics in subsequent *Pseudomonas aeruginosa* bacteremic isolates. *Am J Infect Control* 2009;37:753-8.
126. Defez C, Fabbro-Peray P, Bouziges N, et al. Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infection. *J Hosp Infect* 2004;57:209-16.
127. Cao B, Wang H, Sun H, Zhu Y, Chen M. Risk factors and clinical outcomes of nosocomial multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Hosp Infect* 2004;57:112-8.
128. Paramythiotou E, Lucet J, Timsit JF, et al. Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in intensive care units: role of antibiotics with antipseudomonal activity. *Clin Infect Dis* 2004;38:670-7.
129. Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:43-8.

130. Lodise TP, Miller CD, Graves J, et al. Clinical prediction tool to identify patients with *Pseudomonas aeruginosa* respiratory tract infections at greatest risk for multidrug resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:417-22.
131. Rangaraj G, Granwehr BP, Jiang Y, Hachem R, Raad I. Perils of quinolone exposure in cancer patients: Breakthrough bacteremia with multidrug-resistant organisms. *Cancer* 2010;116:967-73.
132. Martínez JA, Delgado E, Martí S, et al. Influence of antipseudomonal agents on *Pseudomonas aeruginosa* colonization and acquisition of resistance in critically ill medical patients. *Intensive Care Med* 2009;35:439-47.
133. Chastre J, Wunderink R, Prokocimer P, Lee M, Kaniga K, Friedland I. Efficacy and safety of intravenous infusion of doripenem versus imipenem in ventilator-associated pneumonia: a multicenter, randomized study. *Crit Care Med* 2008;36:1089-96.
134. Ong DS, Jongerden IP, Buiting AG, et al. Antibiotic exposure and resistance development in *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter* species in intensive care units. *Crit Care Med* 2011;39:2458-63.
135. Lodise TP, Miller C, Patel N, Graves J, McNutt LA. Identification of patients with *Pseudomonas aeruginosa* respiratory tract infections at greatest risk of infection with carbapenem-resistant isolates. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28:959-65.
136. Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:557-84.
137. Livermore DM. Of *Pseudomonas*, porins, pumps and carbapenems. *J Antimicrob Chemother* 2001;47:247-50.
138. Vila J, Marco F. Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010;28:726-36.
139. Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol* 2014;5:643.
140. Fernández L, Breidenstein EB, Hancock RE. Creeping baselines and adaptive resistance to antibiotics. *Drug Resist Updat* 2011;14:1-21.
141. Kerr KG, Snelling AM. *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. *J Hosp Infect* 2009;73:338-44.
142. Sordé R, Pahissa A, Rello J. Management of refractory *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Infect Drug Resist* 2011;4:31-41.

143. Magiorakos A, Srinivasan A, Carey RB, 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.
144. Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clin Infect Dis* 2002;34:634-40.
145. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev* 2009;22:582-610.
146. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980; 289: 321-31.
147. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:969-76.
148. Viedma E, Juan C, Acosta J, et al. Nosocomial spread of colistin-only-sensitive sequence type 235 *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing the extended-spectrum beta-lactamases GES-1 and GES-5 in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:4930-3.
149. Moyá B, Beceiro A, Cabot G, et al. Pan- β -lactam resistance development in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains: molecular mechanisms, penicillin-binding protein profiles, and binding affinities. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:4771-8.
150. Sevillano E, Gallego L, García-Lobo JM. First detection of the OXA-40 carbapenemase in *P. aeruginosa* isolates, located on a plasmid also found in *A. baumannii*. *Pathol Biol (Paris)* 2009;57:493-5.
151. Cabot G, Ocampo-Sosa AA, Domínguez MA, et al. Genetic markers of widespread extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:6349-57.
152. Peña C, Suarez C, Tubau F, et al. Nosocomial outbreak of a non-cefepime-susceptible ceftazidime-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* strain overexpressing MexXY-OprM and producing an integron-borne PSE-1 beta-lactamase. *J Clin Microbiol* 2009;47:2381-7.
153. Vogne C, Aires JR, Bailly C, Hocquet D, Plésiat P. Role of the multidrug efflux system MexXY in the emergence of moderate resistance to aminoglycosides among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:1676-80.
154. Morita Y, Tomida J, Kawamura Y. MexXY multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol* 2012;3:408.

155. Hooper DC. Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis* 2001;7:337-41.
156. Solé M, Fàbrega A, Cobos-Trigueros N, et al. In vivo evolution of resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients admitted to an intensive care unit: mechanisms of resistance and antimicrobial exposure. *J Antimicrob Chemother* 2015;70:3004-13.
157. Shlaes DM, Gerding DN, John JF, et al. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Clin Infect Dis* 1997;25:584-99.
158. MacKenzie FM, Struelens MJ, Towner KJ, Gould IM. Report of the Consensus Conference on Antibiotic Resistance; Prevention and Control (ARPAC). *Clin Microbiol Infect* 2005;11:938-54.
159. Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, 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.
160. Rodríguez-Baño J, Paño-Pardo JR, Alvarez-Rocha L, et al. Programs for optimizing the use of antibiotics (PROA) in Spanish hospitals: GEIH-SEIMC, SEFH and SEMPSPH consensus document. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2012;30:22.e1-22.e23.
161. Sidler JA, Battagay M, Tschudin-Sutter S, Widmer AF, Weisser M. Enterococci, *Clostridium difficile* and ESBL-producing bacteria: epidemiology, clinical impact and prevention in ICU patients. *Swiss Med Wkly* 2014;144:w14009.
162. Corbella X, Domínguez MA, Pujol M, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage as a marker for subsequent staphylococcal infections in intensive care unit patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:351-7.
163. Honda H, Krauss MJ, Coopersmith CM, et al. *Staphylococcus aureus* nasal colonization and subsequent infection in intensive care unit patients: does methicillin resistance matter? *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31:584-91.
164. Patel M, Weinheimer JD, Waites KB, Baddley JW. Active surveillance to determine the impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization on patients in intensive care units of a Veterans Affairs Medical Center. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:503-9.
165. Sarikonda KV, Micek ST, Doherty JA, Reichley RM, Warren D, Kollef MH. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization is a poor predictor of intensive care unit-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections requiring antibiotic treatment. *Crit Care Med* 2010;38:1991-5.

166. Jang HC, Choi OJ, Kim GS, et al. Active surveillance of the trachea or throat for MRSA is more sensitive than nasal surveillance and a better predictor of MRSA infections among patients in intensive care. *PLoS One* 2014;9:e99192.
167. Ziakas PD, Anagnostou T, Mylonakis E. The prevalence and significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization at admission in the general ICU Setting: a meta-analysis of published studies. *Crit Care Med* 2014;42:433-44.
168. Hendrix CW, Hammond JM, Swoboda SM, et al. Surveillance strategies and impact of vancomycin-resistant enterococcal colonization and infection in critically ill patients. *Ann Surg* 2001;233:259-65.
169. Christiaens G, Ciccarella Y, Damas P, et al. Prospective survey of digestive tract colonization with enterobacteriaceae that produce extended-spectrum beta-lactamases in intensive care units. *J Hosp Infect* 2006;62:386-8.
170. Razazi K, Derde LP, Verachten M, Legrand P, Lesprit P, Brun-Buisson C. Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria in the intensive care unit. *Intensive Care Med* 2012;38:1769-78.
171. Eggimann P, Pittet D. Infection control in the ICU. *Chest* 2001;120:2059-93.
172. Pittet D, Allegranzi B, Boyce J. The World Health Organization Guidelines on Hand Hygiene in Health Care and their consensus recommendations. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009;30:611-22.
173. Cooper BS, Stone SP, Kibbler CC, et al. Isolation measures in the hospital management of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): systematic review of the literature. *BMJ* 2004;329:533.
174. Derde LP, Dautzenberg MJ, Bonten MJ. Chlorhexidine body washing to control antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: a systematic review. *Intensive Care Med* 2012;38:931-9.
175. Climo MW, Yokoe DS, Warren DK, et al. Effect of daily chlorhexidine bathing on hospital-acquired infection. *N Engl J Med* 2013;368:533-42.
176. Boyce JM, Pittet D, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Society for Healthcare Epidemiology of America. Association for Professionals in Infection Control. Infectious Diseases Society of America. Hand Hygiene Task Force. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23:S3-40.

177. Allegranzi B, Pittet D. Role of hand hygiene in healthcare-associated infection prevention. *J Hosp Infect* 2009;73:305-15.
178. McLaws ML. The relationship between hand hygiene and health care-associated infection: it's complicated. *Infect Drug Resist* 2015;8:7-18.
179. Grundmann H, Hori S, Winter B, Tami A, Austin DJ. Risk factors for the transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an adult intensive care unit: fitting a model to the data. *J Infect Dis* 2002;185:481-8.
180. Derde LP, Cooper BS, Goossens H, et al. Interventions to reduce colonisation and transmission of antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: an interrupted time series study and cluster randomised trial. *Lancet Infect Dis* 2014;14:31-9.
181. Harbarth S, Hawkey PM, Tenover F, Stefani S, Pantosti A, Struelens MJ. Update on screening and clinical diagnosis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Int J Antimicrob Agents* 2011;37:110-7.
182. Malhotra-Kumar S, Haccuria K, Michiels M, et al. Current trends in rapid diagnostics for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and glycopeptide-resistant enterococcus species. *J Clin Microbiol* 2008;46:1577-87.
183. Geiger K, Brown J. Rapid testing for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: implications for antimicrobial stewardship. *Am J Health Syst Pharm* 2013;70:335-42.
184. Gazin M, Paasch F, Goossens H, Malhotra-Kumar S, MOSAR WP2 and SATURN WP1 Study Teams. Current trends in culture-based and molecular detection of extended-spectrum- β -lactamase-harboring and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 2012;50:1140-6.
185. Polisenia J, Chen S, Cimon K, McGill S, Forward K, Gardam M. Clinical effectiveness of rapid tests for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitalized patients: a systematic review. *BMC Infect Dis* 2011;11:336.
186. Cepeda JA, Whitehouse T, Cooper B, et al. Isolation of patients in single rooms or cohorts to reduce spread of MRSA in intensive-care units: prospective two-centre study. *Lancet (London, England)* 2005;365:295-304.
187. Clancy M, Graepler A, Wilson M, Douglas I, Johnson J, Price CS. Active screening in high-risk units is an effective and cost-avoidant method to reduce the rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in the hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006;27:1009-17.

188. Harbarth S, Masuet-Aumatell C, Schrenzel J, et al. Evaluation of rapid screening and pre-emptive contact isolation for detecting and controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in critical care: an interventional cohort study. *Crit Care* 2006;10:R25.
189. Huang SS, Yokoe DS, Hinrichsen VL, et al. Impact of routine intensive care unit surveillance cultures and resultant barrier precautions on hospital-wide methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2006;43:971-8.
190. Jarlier V, Trystram D, Brun-Buisson C, et al. Curbing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 French hospitals through a 15-year institutional control program. *Arch Intern Med* 2010;170:552-9.
191. Kypraios T, O'Neill PD, Huang SS, Rifas-Shiman SL, Cooper BS. Assessing the role of undetected colonization and isolation precautions in reducing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission in intensive care units. *BMC Infect Dis* 2010;10:29.
192. Muder RR, Cunningham C, McCray E, et al. Implementation of an industrial systems-engineering approach to reduce the incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:702-8, 7 p following 708.
193. Jain R, Kralovic SM, Evans ME, et al. Veterans Affairs initiative to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 2011;364:1419-30.
194. Huskins WC, Huckabee CM, O'Grady NP, et al. Intervention to Reduce Transmission of Resistant Bacteria in Intensive Care. *Surv Anesthesiol* 2012;56:54-5.
195. Holzmann-Pazgal G, Monney C, Davis K, Wanger A, Strobel N, Zhong F. Active surveillance culturing impacts methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in a pediatric intensive care unit. *Pediatr Crit Care Med* 2011;12:e171-5.
196. Marshall C, Richards M, McBryde E. Do active surveillance and contact precautions reduce MRSA acquisition? A prospective interrupted time series. *PLoS One* 2013;8:e58112.
197. Edgeworth JD. Has decolonization played a central role in the decline in UK methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission? A focus on evidence from intensive care. *J Antimicrob Chemother* 2011;66 Suppl 2:ii41-7.
198. Calfee DP, Salgado CD, Milstone AM, et al. Strategies to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission and infection in acute care hospitals: 2014 update. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2014;35 Suppl 2:S108-32.
199. McGinagle KL, Gourlay ML, Buchanan IB. The use of active surveillance cultures in adult intensive care units to reduce methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-related morbidity, mortality, and costs: a systematic review. *Clin Infect Dis* 2008;46:1717-25.

200. Glick SB, Samson DJ, Huang ES, Vats V, Aronson N, Weber SG. Screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a comparative effectiveness review. *Am J Infect Control* 2014;42:148-55.
201. Gurieva T, Bootsma MC, Bonten MJ. Successful Veterans Affairs initiative to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections revisited. *Clin Infect Dis* 2012;54:1618-20.
202. Tacconelli E, De Angelis G, de Waure C, Cataldo MA, La Torre G, Cauda R. Rapid screening tests for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2009;9:546-54.
203. Edmiston CE, Krepel CJ, Seabrook GR, Lewis BD, Brown KR, Towne JB. Preoperative shower revisited: can high topical antiseptic levels be achieved on the skin surface before surgical admission? *J Am Coll Surg* 2008;207:233-9.
204. O'Horo JC, Silva GL, Munoz-Price LS, Safdar N. The efficacy of daily bathing with chlorhexidine for reducing healthcare-associated bloodstream infections: a meta-analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2012;33:257-67.
205. Chen W, Li S, Li L, Wu X, Zhang W. Effects of daily bathing with chlorhexidine and acquired infection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus*: a meta-analysis. *J Thorac Dis* 2013;5:518-24.
206. Noto MJ, Domenico HJ, Byrne DW, et al. Chlorhexidine bathing and health care-associated infections: a randomized clinical trial. *JAMA* 2015;313:369-78.
207. Choi EY, Park D-A, Kim HJ, Park J. Efficacy of chlorhexidine bathing for reducing healthcare associated bloodstream infections: a meta-analysis. *Ann Intensive Care* 2015;5:31.
208. Huang SS, Septimus E, Kleinman K, et al. Targeted versus Universal Decolonization to Prevent ICU Infection. *N Engl J Med* 2013;368:2255-65.
209. Ziakas PD, Zacharioudakis IM, Zervou FN, Mylonakis E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prevention strategies in the ICU: a clinical decision analysis. *Crit Care Med* 2015;43:382-93.
210. Horner C, Mawer D, Wilcox M. Reduced susceptibility to chlorhexidine in staphylococci: is it increasing and does it matter? *J Antimicrob Chemother* 2012;67:2547-59.
211. Deeny SR, Worby CJ, Tosas Auguet O, et al. Impact of mupirocin resistance on the transmission and control of healthcare-associated MRSA. *J Antimicrob Chemother* 2015.
212. Cassir N, Thomas G, Hraiech S, et al. Chlorhexidine daily bathing: impact on health care-associated infections caused by gram-negative bacteria. *Am J Infect Control* 2015;43:640-3.

213. Martínez-Reséndez MF, Garza-González E, Mendoza-Olazarán S, et al. Impact of daily chlorhexidine baths and hand hygiene compliance on nosocomial infection rates in critically ill patients. *Am J Infect Control* 2014;42:713-7.
214. Hayden MK, Lin MY, Lolans K, et al. Prevention of colonization and infection by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing enterobacteriaceae in long-term acute-care hospitals. *Clin Infect Dis* 2015;60:1153-61.
215. Bonten MJ. Selective digestive tract decontamination-will it prevent infection with multi-drug-resistant gram-negative pathogens but still be applicable in institutions where methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci are endemic. *Clin Infect Dis* 2006;43 Suppl 2:S70-4.
216. Liberati A, D'Amico R, Pifferi, Torri V, Brazzi L. Antibiotic prophylaxis to reduce respiratory tract infections and mortality in adults receiving intensive care. *Cochrane database Syst Rev* 2004:CD000022.
217. Silvestri L, van Saene HK, Milanese M, Gregori D, Gullo A. Selective decontamination of the digestive tract reduces bacterial bloodstream infection and mortality in critically ill patients. Systematic review of randomized, controlled trials. *J Hosp Infect* 2007;65:187-203.
218. Krueger WA, Lenhart FP, Neeser G, et al. Influence of combined intravenous and topical antibiotic prophylaxis on the incidence of infections, organ dysfunctions, and mortality in critically ill surgical patients: a prospective, stratified, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:1029-37.
219. De Smet AM, Kluytmans JA, Cooper BS, et al. Decontamination of the digestive tract and oropharynx in ICU patients. *N Engl J Med* 2009;360:20-31.
220. Oostdijk EA, Wittekamp BH, Brun-Buisson C, Bonten MJ. Selective decontamination in European intensive care patients. *Intensive Care Med* 2012;38:533-8.
221. Lingnau W, Berger J, Javorsky F, Fille M, Allerberger F, Benzer H. Changing bacterial ecology during a five-year period of selective intestinal decontamination. *J Hosp Infect* 1998;39:195-206.
222. Brun-Buisson C, Legrand P, Rauss A, et al. Intestinal decontamination for control of nosocomial multiresistant gram-negative bacilli. Study of an outbreak in an intensive care unit. *Ann Intern Med* 1989;110:873-81.
223. Daneman N, Sarwar S, Fowler RA, Cuthbertson BH, SuDDICU Canadian Study Group. Effect of selective decontamination on antimicrobial resistance in intensive care units: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2013;13:328-41.

224. Houben AJ, Oostdijk EA, van der Voort PH, et al. Selective decontamination of the oropharynx and the digestive tract, and antimicrobial resistance: a 4 year ecological study in 38 intensive care units in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:797-804.
225. Halaby T, Al Naiemi N, Kluytmans J, van der Palen J, Vandenbroucke-Grauls CM. Emergence of colistin resistance in Enterobacteriaceae after the introduction of selective digestive tract decontamination in an intensive care unit. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57:3224-9.
226. Lübbert C, Fauchoux S, Becker-Rux D, et al. Rapid emergence of secondary resistance to gentamicin and colistin following selective digestive decontamination in patients with KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae*: a single-centre experience. *Int J Antimicrob Agents* 2013;42:565-70.
227. World Health Organization. Global Strategy for Containment of Antimicrobial Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. 2001. Disponible en: <http://www.who.int/drugresistance/>. Acceso el 10/10/2015.
228. Ansari F, Gray K, Nathwani D, et al. Outcomes of an intervention to improve hospital antibiotic prescribing: interrupted time series with segmented regression analysis. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:842-8.
229. Dortch MJ, Fleming SB, Kauffmann RM, Dossett LA, Talbot TR, May AK. Infection reduction strategies including antibiotic stewardship protocols in surgical and trauma intensive care units are associated with reduced resistant gram-negative healthcare-associated infections. *Surg Infect (Larchmt)* 2011;12:15-25.
230. Dellit TH, Owens RC, McGowan JE, et al. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clin Infect Dis* 2007;44:159-77.
231. Slain D, Sarwari AR, Petros KO, et al. Impact of a Multimodal Antimicrobial Stewardship Program on *Pseudomonas aeruginosa* Susceptibility and Antimicrobial Use in the Intensive Care Unit Setting. *Crit Care Res Pract* 2011;2011:416426.
232. Coulter S, Merollini K, Roberts JA, Graves N, Halton K. The need for cost-effectiveness analyses of antimicrobial stewardship programmes: A structured review. *Int J Antimicrob Agents* 2015;46:140-9.
233. Sbarbaro JA. Can we influence prescribing patterns? *Clin Infect Dis* 2001;33 Suppl 3:S240-4.
234. Navarro-San Francisco C, Del Toro MD, Cobo J, et al. Knowledge and perceptions of junior and senior Spanish resident doctors about antibiotic use and resistance: results of a multicenter survey. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013;31:199-204.

235. Schwartzberg JG, Guttman R. Effect of training on physician attitudes and practices in home and community care of the elderly. *Arch Fam Med* 6:439-44.
236. Kett DH, Cano E, Quartin AA, et al. Implementation of guidelines for management of possible multidrug-resistant pneumonia in intensive care: an observational, multicentre cohort study. *Lancet Infect Dis* 2011;11:181-9.
237. Cobo Reinoso J, Oliva Domínguez J, Soler Vigil M, Martínez-Beltrán J, Pedraza Cezón L, Moreno Guillén S. Evaluation of an advisory program in antibiotic therapy. *Rev clínica española* 2002;202:78-83.
238. López-Medrano F, San Juan R, Serrano O, et al. Impact of a non-compulsory antibiotic control program (PACTA): cost reductions and decreases in some nosocomial infections. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005;23:186-90.
239. John JF, Fishman NO. Programmatic role of the infectious diseases physician in controlling antimicrobial costs in the hospital. *Clin Infect Dis* 1997;24:471-85.
240. Quale J, Landman D, Saurina G, Atwood E, DiTore V, Patel K. Manipulation of a hospital antimicrobial formulary to control an outbreak of vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 1996;23:1020-5.
241. Parienti JJ, Cattoir V, Thibon P, et al. Hospital-wide modification of fluoroquinolone policy and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* rates: a 10-year interrupted time-series analysis. *J Hosp Infect* 2011;78:118-22.
242. Thomas C, Riley T V. Restriction of third generation cephalosporin use reduces the incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea in hospitalised patients. *Commun Dis Intell Q Rep* 2003;27 Suppl:S28-31.
243. Peña C, Pujol M, Ardanuy C, et al. Epidemiology and successful control of a large outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:53-8.
244. Rahal JJ, Urban C, Horn D, et al. Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial *Klebsiella*. *JAMA* 1998;280:1233-7.
245. Sistanizad M, Kouček M, Miri M, et al. Carbapenem Restriction and its Effect on Bacterial Resistance in an Intensive Care unit of a Teaching Hospital. *Iran J Pharm Res IJPR* 2013;12:503-9.
246. Pakyz AL, Farr BM. Rates of *Stenotrophomonas maltophilia* colonization and infection in relation to antibiotic cycling protocols. *Epidemiol Infect* 2009;137:1679-83.

247. Bantar C, Sartori B, Vesco E, et al. A hospitalwide intervention program to optimize the quality of antibiotic use: impact on prescribing practice, antibiotic consumption, cost savings, and bacterial resistance. *Clin Infect Dis* 2003;37:180-6.
248. Ntagiopoulos PG, Paramythiotou E, Antoniadou A, Giamarellou H, Karabinis A. Impact of an antibiotic restriction policy on the antibiotic resistance patterns of Gram-negative microorganisms in an Intensive Care Unit in Greece. *Int J Antimicrob Agents* 2007;30:360-5.
249. Van der Zwet WC, Parlevliet GA, Savelkoul PH, et al. Nosocomial outbreak of gentamicin-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit controlled by a change in antibiotic policy. *J Hosp Infect* 1999;42:295-302.
250. Landman D, Chockalingam M, Quale JM. Reduction in the incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* following changes in a hospital antibiotic formulary. *Clin Infect Dis* 1999;28:1062-6.
251. Altunsoy A, Aypak C, Azap A, Ergönül Ö, Balık I. The impact of a nationwide antibiotic restriction program on antibiotic usage and resistance against nosocomial pathogens in Turkey. *Int J Med Sci* 2011;8:339-44.
252. Ginn AN, Wiklendt AM, Gidding HF, et al. The ecology of antibiotic use in the ICU: homogeneous prescribing of cefepime but not tazocin selects for antibiotic resistant infection. *PLoS One* 2012;7:e38719.
253. Lautenbach E, LaRosa LA, Marr AM, Nachamkin I, Bilker WB, Fishman NO. Changes in the prevalence of vancomycin-resistant enterococci in response to antimicrobial formulary interventions: impact of progressive restrictions on use of vancomycin and third-generation cephalosporins. *Clin Infect Dis* 2003;36:440-6.
254. Toltzis P, Yamashita T, Vilt L, et al. Antibiotic restriction does not alter endemic colonization with resistant gram-negative rods in a pediatric intensive care unit. *Crit Care Med* 1998;26:1893-9.
255. Reed EE, Stevenson KB, West JE, Bauer K a, Goff DA. Impact of formulary restriction with prior authorization by an antimicrobial stewardship program. *Virulence* 2013;4:158-62.
256. Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006;34:1589-96.
257. Daniels R, Nutbeam T, McNamara G, Galvin C. The sepsis six and the severe sepsis resuscitation bundle: a prospective observational cohort study. *Emerg Med J* 2011;28:507-12.

258. Bassetti M, De Waele JJ, Eggimann P, et al. Preventive and therapeutic strategies in critically ill patients with highly resistant bacteria. *Intensive Care Med* 2015;776-95.
259. Burke JP. Antibiotic resistance--squeezing the balloon? *JAMA* 1998;280:1270-1.
260. Du B, Chen D, Liu D, et al. Restriction of third-generation cephalosporin use decreases infection-related mortality. *Crit Care Med* 2003;31:1088-93.
261. McGowan JE. Antimicrobial resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. *Rev Infect Dis* 1983;5:1033-48.
262. Bonhoeffer S, Lipsitch M, Levin BR. Evaluating treatment protocols to prevent antibiotic resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:12106-11.
263. Bergstrom CT, Lo M, Lipsitch M. Ecological theory suggests that antimicrobial cycling will not reduce antimicrobial resistance in hospitals. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:13285-90.
264. Abel zur Wiesch P, Kouyos R, Abel S, Viechtbauer W, Bonhoeffer S. Cycling Empirical Antibiotic Therapy in Hospitals: Meta-Analysis and Models. *PLoS Pathog* 2014;10:e1004225.
265. Evans HL, Milburn ML, Hughes MG, et al. Nature of gram-negative rod antibiotic resistance during antibiotic rotation. *Surg Infect (Larchmt)* 2005;6:223-31.
266. Raymond DP, Pelletier SJ, Crabtree TD, et al. Impact of a rotating empiric antibiotic schedule on infectious mortality in an intensive care unit. *Crit Care Med* 2001;29:1101-8.
267. Takesue Y, Nakajima K, Ichiki K, et al. Impact of a hospital-wide programme of heterogeneous antibiotic use on the development of antibiotic-resistant Gram-negative bacteria. *J Hosp Infect* 2010;75:28-32.
268. Sandiumenge A, Diaz E, Rodriguez A, et al. Impact of diversity of antibiotic use on the development of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:1197-204.
269. Pakyz A, Powell JP, Harpe SE, Johnson C, Edmond M, Polk RE. Diversity of antimicrobial use and resistance in 42 hospitals in the United States. *Pharmacotherapy* 2008;28:906-12.
270. Martínez JA. Advantages and drawbacks of antibiotic cycling in the critical care setting. *Antibiotiques* 2007;9:25-33.
271. Magee JT. The resistance ratchet: Theoretical implications of cyclic selection pressure. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:427-30.
272. Kouyos RD, Abel Zur Wiesch P, Bonhoeffer S. Informed switching strongly decreases the prevalence of antibiotic resistance in hospital wards. *PLoS Comput Biol* 2011;7:e1001094.

273. Obolski U, Stein GY, Hadany L. Antibiotic Restriction Might Facilitate the Emergence of Multi-drug Resistance. *PLOS Comput Biol* 2015;11:e1004340.
274. Bradley SJ, Wilson AL, Allen MC, Sher HA, Goldstone AH, Scott GM. The control of hyperendemic glycopeptide-resistant *Enterococcus* spp. on a haematology unit by changing antibiotic usage. *J Antimicrob Chemother* 1999;43:261-6.
275. Dominguez EA, Smith TL, Reed E, Sanders CC, Sanders WE. A pilot study of antibiotic cycling in a hematology-oncology unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000;21:S4-8.
276. Cadena J, Taboada CA, Burgess DS, et al. Antibiotic cycling to decrease bacterial antibiotic resistance: a 5-year experience on a bone marrow transplant unit. *Bone Marrow Transplant* 2007;40:151-5.
277. Craig M, Cumpston AD, Hobbs GR, Devetten MP, Sarwari AR, Ericson SG. The clinical impact of antibacterial prophylaxis and cycling antibiotics for febrile neutropenia in a hematological malignancy and transplantation unit. *Bone Marrow Transplant* 2007;39:477-82.
278. Hashino S, Morita L, Kanamori H, et al. Clinical impact of cycling the administration of antibiotics for febrile neutropenia in Japanese patients with hematological malignancy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:173-8.
279. Chong Y, Shimoda S, Yakushiji H, et al. Antibiotic Rotation for Febrile Neutropenic Patients with Hematological Malignancies: Clinical Significance of Antibiotic Heterogeneity Sued O, ed. *PLoS One* 2013;8:e54190.
280. Cumpston A, Craig M, Hamadani M, Abraham J, Hobbs GR, Sarwari AR. Extended follow-up of an antibiotic cycling program for the management of febrile neutropenia in a hematologic malignancy and hematopoietic cell transplantation unit. *Transpl Infect Dis* 2013;15:142-9.
281. Kontopidou FV, Antoniadou A, Tsirigotis P, et al. The impact of an antimicrobial cycling strategy for febrile neutropenia in a haematology unit. *J Chemother* 2013;25:279-85.
282. Bruno-Murtha LA, Bruschi J, Bor D, Li W, Zucker D. A pilot study of antibiotic cycling in the community hospital setting. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:81-7.
283. Gerding DN, Larson TA, Hughes RA, Weiler M, Shanholtzer C, Peterson LR. Aminoglycoside resistance and aminoglycoside usage: Ten years of experience in one hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:1284-90.
284. Poirier C, Dinh A, Salomon J, Grall N, Andreumont A, Bernard L. Antibiotic cycling prevents urinary tract infections in spinal cord injury patients and limits the emergence of multidrug resistant organism. *J Infect* 2015;71:491-3.

285. John JF, Rice LB. The microbial genetics of antibiotic cycling. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000;21:S22-31.
286. Pujol M, Gudiol F. Evidence for antibiotic cycling in control of resistance. *Curr Opin Infect Dis* 2001;14:711-5.
287. Kollef MH. Is there a role for antibiotic cycling in the intensive care unit? *Crit Care Med* 2001;29:N135-42.
288. Brown EM, Nathwani D. Antibiotic cycling or rotation: A systematic review of the evidence of efficacy. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:6-9.
289. Masterton RG. Antibiotic cycling: more than it might seem? *J Antimicrob Chemother* 2005;55:1-5.
290. Fridkin SK. Routine cycling of antimicrobial agents as an infection-control measure. *Clin Infect Dis* 2003;36:1438-44.
291. Kollef MH, Vlasnik J, Sharpless L, Pasque C, Murphy D, Fraser V. Scheduled change of antibiotic classes: a strategy to decrease the incidence of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1040-8.
292. Puzniak LA, Mayfield J, Leet T, Kollef M, Mundy LM. Acquisition of vancomycin-resistant enterococci during scheduled antimicrobial rotation in an intensive care unit. *Clin Infect Dis* 2001;33:151-7.
293. Francetić I, Kalenić S, Huić M, et al. Impact of Aminoglycoside Cycling in Six Tertiary Intensive Care Units: Prospective Longitudinal Interventional Study. *Croat Med J* 2008;49:207-14.
294. Allegranzi B, Luzzati R, Luzzani A, et al. Impact of antibiotic changes in empirical therapy on antimicrobial resistance in intensive care unit-acquired infections. *J Hosp Infect* 2002;52:136-40.
295. Kollef MH, Ward S, Sherman G, et al. Inadequate treatment of nosocomial infections is associated with certain empiric antibiotic choices. *Crit Care Med* 2000;28:3456-64.
296. Van Loon HJ, Vriens MR, Fluit AC, et al. Antibiotic rotation and development of Gram-negative antibiotic resistance. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:480-7.
297. Damas P, Canivet JL, Ledoux D, et al. Selection of resistance during sequential use of preferential antibiotic classes. *Intensive Care Med* 2006;32:67-74.
298. Martínez JA, Nicolás JM, Marco F, et al. Comparison of antimicrobial cycling and mixing strategies in two medical intensive care units. *Crit Care Med* 2006;34:329-36.

299. Hedrick TL, Schulman AS, McElearney ST, et al. Outbreak of resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections during a quarterly cycling antibiotic regimen. *Surg Infect (Larchmt)* 2008;9:139-52.
300. Raineri E, Crema L, Dal Zoppo S, et al. Rotation of antimicrobial therapy in the intensive care unit: Impact on incidence of ventilator-associated pneumonia caused by antibiotic-resistant Gram-negative bacteria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29:1015-24.
301. Gruson D, Hilbert G, Vargas F, et al. Rotation and restricted use of antibiotics in a medical intensive care unit: Impact on the incidence of ventilator-associated pneumonia caused by antibiotic-resistant gram-negative bacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:837-43.
302. Gruson D, Hilbert G, Vargas F, et al. Strategy of antibiotic rotation: long-term effect on incidence and susceptibilities of Gram-negative bacilli responsible for ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med* 2003;31:1908-14.
303. Moss WJ, Beers MC, Johnson E, et al. Pilot study of antibiotic cycling in a pediatric intensive care unit. *Crit Care Med* 2002;30:1877-82.
304. Toltzis P, Dul MJ, Hoyen C, et al. The effect of antibiotic rotation on colonization with antibiotic-resistant bacilli in a neonatal intensive care unit. *Pediatrics* 2002;110:707-11.
305. Warren DK, Hill HA, Merz LR, et al. Cycling empirical antimicrobial agents to prevent emergence of antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria among intensive care unit patients. *Crit Care Med* 2004;32:2450-6.
306. Barie PS, Hydo LJ, Shou J, Larone DH, Eachempati SR. Influence of antibiotic therapy on mortality of critical surgical illness caused or complicated by infection. *Surg Infect (Larchmt)* 2005;6:41-54.
307. Bennett KM, Scarborough JE, Sharpe M, et al. Implementation of antibiotic rotation protocol improves antibiotic susceptibility profile in a surgical intensive care unit. *J Trauma* 2007;63:307-11.
308. Smith RL, Evans HL, Chong TW, et al. Reduction in rates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection after introduction of quarterly linezolid-vancomycin cycling in a surgical intensive care unit. *Surg Infect (Larchmt)* 2008;9:423-31.
309. Nijssen S, Fluit A, Van De Vijver D, Top J, Willems R, Bonten MJ. Effects of reducing beta-lactam antibiotic pressure on intestinal colonization of antibiotic-resistant gram-negative bacteria. *Intensive Care Med* 2010;36:512-9.
310. Sarraf-Yazdi S, Sharpe M, Bennett KM, Dotson TL, Anderson DJ, Vaslef SN. A 9-Year retrospective review of antibiotic cycling in a surgical intensive care unit. *J Surg Res* 2012;176:e73-8.

311. Pelupessy I, Bonten MJ, Diekmann O. How to assess the relative importance of different colonization routes of pathogens within hospital settings. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:5601-5.
312. Kheder SI, Eltayeb I SS. Optimizing Antimicrobial Drug Use in Surgery: An Intervention Strategy in A Sudanese Hospital to Combat The Emergence of Bacterial Resistant. *Sudan J Med Sci* 2012;6.
313. Bal AM, Kumar A, Gould IM. Antibiotic heterogeneity: from concept to practice. *Ann NY Acad Sci* 2010;1213:81-91.
314. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 1988;16:128-40.
315. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Wayne, PA, USA:Nineteenth Informational Supplement M100-S19. 2009.
316. Durmaz R, Otlu B, Koksall F, et al. The optimization of a rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Jpn J Infect Dis* 2009;62:372-7.
317. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003;31:1250-6.
318. Mermel LA, Allon M, Bouza E, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;49:1-45.
319. Ruiz M, Torres A, Ewig S, et al. Noninvasive versus invasive microbial investigation in ventilator-associated pneumonia: evaluation of outcome. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:119-25.
320. Hyle EP, Gasink LB, Linkin DR, Bilker WB, Lautenbach E. Use of different thresholds of prior antimicrobial use in defining exposure: impact on the association between antimicrobial use and antimicrobial resistance. *J Infect* 2007;55:414-8.
321. Patel N, McNutt LA, Lodise TP. Relationship between various definitions of prior antibiotic exposure and piperacillin-tazobactam resistance among patients with respiratory tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:2933-6.
322. Chow K, Wang X, Curtiss R, Castillo-Chavez C. Evaluating the efficacy of antimicrobial cycling programmes and patient isolation on dual resistance in hospitals. *J Biol Dyn* 2011;5:27-43.

323. van Duijn PJ, Bonten MJ. Antibiotic rotation strategies to reduce antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria in European intensive care units: study protocol for a cluster-randomized crossover controlled trial. *Trials* 2014;15:277.
324. Merrer J, Santoli F, Appéré de Vecchi C, Tran B, De Jonghe B, Outin H. 'Colonization pressure' and risk of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000;21:718-23.
325. Lucet JC, Paoletti X, Lolom I, et al. Successful long-term program for controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units. *Intensive Care Med* 2005;31:1051-7.
326. Puzniak LA, Leet T, Mayfield J, Kollef M, Mundy LM. To gown or not to gown: the effect on acquisition of vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 2002;35:18-25.
327. Drees M, Snyderman DR, Schmid CH, et al. Prior environmental contamination increases the risk of acquisition of vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 2008;46:678-85.
328. Lawrence SJ, Puzniak LA, Shadel BN, Gillespie KN, Kollef MH, Mundy LM. *Clostridium difficile* in the intensive care unit: epidemiology, costs, and colonization pressure. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;28:123-30.
329. Playford EG, Craig JC, Iredell JR. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit patients: risk factors for acquisition, infection and their consequences. *J Hosp Infect* 2007;65:204-11.
330. Castelo Branco Fortaleza CM, Moreira de Freitas F, da Paz Lauterbach G. Colonization pressure and risk factors for acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a medical surgical intensive care unit in Brazil. *Am J Infect Control* 2013;41:263-5.
331. Fortaleza CM, Figueiredo LC, Beraldo CC, Melo EC de, Póla PM, Aragão VD. Risk factors of oropharyngeal carriage of *Pseudomonas aeruginosa* among patients from a Medical-Surgical Intensive Care Unit. *Braz J Infect Dis* 2009;13:173-6.
332. Schwaber MJ, Cosgrove SE, Gold HS, Kaye KS, Carmeli Y. Fluoroquinolones protective against cephalosporin resistance in gram-negative nosocomial pathogens. *Emerg Infect Dis* 2004;10:94-9.
333. Bhat S, Fujitani S, Potoski BA, et al. *Pseudomonas aeruginosa* infections in the Intensive Care Unit: can the adequacy of empirical beta-lactam antibiotic therapy be improved? *Int J Antimicrob Agents* 2007;30:458-62.
334. Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:43-8.

335. Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T. Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-oprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:3322-7.
336. Falagas ME, Kopterides P. Risk factors for the isolation of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: a systematic review of the literature. *J Hosp Infect* 2006;64:7-15.
337. Voor In 't Holt AF, Severin JA, Lesaffre EM, Vos MC. A systematic review and meta-analyses show that carbapenem use and medical devices are the leading risk factors for carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:2626-37.
338. Merz LR, Warren DK, Kollef MH, Fridkin SK, Fraser VJ. The impact of an antibiotic cycling program on empirical therapy for Gram-negative infections. *Chest* 2006;130:1672-8.
339. Sandiumenge A, Lisboa T, Gomez F, Hernandez P, Canadell L, Rello J. Effect of antibiotic diversity on ventilator-associated pneumonia caused by ESKAPE Organisms. *Chest* 2011;140:643-51.

VIII. Anexos

Tabla anexa 1. Resumen de los estudios más importantes sobre rotación antibiótica en unidades de cuidados intensivos

Autor, año	Objetivo	Lugar (adhesión a la estrategia)	Descripción del ciclo (duración ciclos, núm. de pacientes). Agentes por orden de rotación
Kollef ²⁹¹ 1997	Incidencia de NAVM y por BGN	UCI cardiorotáica (>71%)	CAZ (PB, 353) CIP (6m, 327)
Kollef ²⁹⁵ 2000	% de tto inapropiado de IN	2 UCI: médica y quirúrgica (≥ 58%)	CAZ (6m, 1232) CIP (6m, 1243) FEP (5m, 1102)
Gruson ^{301,302} 2000 ^A 2003 ^B	^A Incidencia de NAVM por BGN-R ^B A largo plazo (81%)	UCI médica (NR)	- PB: CAZ+FQ (24m, 1004) - Rotación de βlac ± AG (1m): FEP±AMK, Pip-Taz±TOB, IMI±NET, TICAR-CLV ^A Durante (24m, 1024) ^B Durante (36m, 823)
Puzniak ²⁹² 2001	Incidencia de colonización por ERV	UCI médica (NR)	CAZ (6m, 389) CIP (6m, 351)
Raymond ²⁶⁶ 2001	Incidencia de IN, infección por MR y mortalidad	UCI quirúrgica-trauma (≥ 62%)	- PB observacional 1año (699) - Dual cycling 1año: (3m, 757): Neumonía: FEP, CIP, Pip-Taz, CAR Otras inf: Pip-Taz, CAR, FEP, CIP
Moss ³⁰³ 2002	Colonización por MR	UCI pediátrica médica (NR)	Rotación durante 18m (3m, 411): IMI, Pip-Taz, CAZ/CLI
Toltzis ³⁰⁴ 2002	Adquisición de MR (3 frotis semanales)	2 UCI neonatales (84%)	1. Atb según criterio médico (548) 2. Rotación durante 1 año (1m, 514): GEN, Pip-Taz, CAZ
Allegranzi ²⁹⁴ 2002	Prevalencia de resistencia en patógenos comunes	UCI médico-quirúrgica (NR)	- Uso preferente de (6m, 197): AMC o Pip-Taz - Uso preferente de (6m, 200): IMI (neumonía) FEP+metro (peritonitis) TMP/SMX (en vez de AMC)
Warren ³⁰⁵ 2004 ^C Merz ³⁰⁵ 2004 ^D Merz ³³⁸ 2006 ^E	^C Colonización entérica/ infección por BGN-R ^D Patrón de uso atb ^E Tto atb empírico inapropiado	UCI general (45-60%)	- PB observacional (5m, 242) - Rotación durante 2 años (930) en ciclos de 3-4m: FEP, FQ, CAR, Pip-Taz
Evans ²⁶⁵ 2005	Colonización entérica/ infección por BGN-R	UCI quirúrgica-trauma (misma que Raymond 2001) (72%)	- Rotación dual 1 año (3m, 792): Neumonía: FEP, CIP, Pip-Taz, CAR Otras inf: Pip-TAzCAR, FEP, CIP - Lavado de 6m sin rotación (369) - Rotación simple 1 año (3m, 695) CAR, FEP, CIP, Pip-Taz
Van Loon ²⁹⁶ 2005	Adquisición de BGN-R al atb en uso	UCI quirúrgica (96%)	Rotación 18m en ciclos de 4m: LEV (89), CPM (106), LEV (96), Pip-Taz (59)
Barie ³⁰⁶ 2005	Mortalidad en pacientes posquirúrgicos infectados	UCI quirúrgica (NR)	Rotación mensual durante 4 años CAR, Pip-Taz, CAZ, QUI (335)

Impacto clínico-microbiológico	Diseño/Otros resultados/Intervenciones paralelas/ Debilidades del estudio
↓ Incidencia de NAVM por BGN-R	Diseño antes-después. Sustitución de un atb y solo una vez. Sin estudio de colonización
↓ % Tto inapropiado para BGN ↓ Mortalidad en pacientes graves (APACHE>15). Durante FEP hubo más IN (incluyendo NAVM)	Diseño secuencial. Solo una tanda de rotación. No hay datos de la posible heterogeneidad de los efectos entre las dos UCI. El ↓ de mortalidad no se explica con el ↓ de tto empírico incorrecto. Sin estudio de colonización
^A ↓ NAVM, ↓ SARM, tendencia a ↓ BGN-R, ↑ S Paer a CAZ y AG, ↑ S Bcep a FEP y FQ, ↑ S Abau a FQ. ^B ↑ NAVM tardía, ↓ Incidencia Bcep	Diseño antes-después. No efectos en mortalidad. Otras intervenciones simultáneamente (restricción de CIP y CAZ, desescalado). Sin estudio de colonización
Sin cambios en la incidencia de ERV, CD, bacteriemia por Paer o SARM	Diseño antes-después. Sustitución de un atb. Tamaño muestral pequeño para detectar diferencias en las tasas de infección por CD o bacteriemia por Paer
↓ Infecciones por cocos G+ y BGN-R. ↓ Mortalidad atribuible a la infección	Diseño antes-después. Se cambió CAZ por FEP. Se introdujo lavado de manos con alcohol que afectó principalmente al periodo de rotación. Sin estudio de colonización
Sin diferencias en la colonización por MR ni en la tasa de bacteriemias	Diseño secuencial. Muestra pequeña para detectar diferencias. Desenlace estimado porque los frotis faríngeo y rectal se hacían dos veces al mes
Sin diferencias en IN ni en colonización por BGN-R	Estudio de dos cohortes paralelas. Poco poder para detectar diferencias en las tasas de infección, salvo en bacteriemia
Sin diferencias en la incidencia de IN, ↓ resistencia a meticilina en Saur y ECN, ↓ R a Pip-Taz en Paer, tendencia a ↑ R a IMI	Estudio antes-después. Solo un periodo de sustitución de antibióticos. Tamaño muestral pequeño para detectar diferencias en los desenlaces clínicos. Sin estudio de colonización
^C Sin diferencias en la adquisición de BGN-R, en NAVM, bacteriemia o mortalidad. ^D Mayor heterogeneidad en rotación. ^E Igual % de tto empírico inadecuado	Estudio antes-después. Se realizó una intervención de control de infecciones en los fisioterapeutas respiratorios. Los índices de severidad eran mayores en rotación, lo que podría explicar la mayor estancia media y una tendencia a mayor mortalidad. Frotis rectales semanales, pocos desenlaces
La rotación simple vs rotación dual: ↑ IN por BGN-R, ↑ R a FEP, Pip-Taz y MDR	Estudio antes-después. Solo una tanda de rotación en cada intervención. En rotación simple los pacientes eran más graves, hubo más IN, lo que determinó mayores cursos atb y más largos, por lo que la presión antibiótica fue probablemente mayor y esto podría haber empeorado la resistencia más que el esquema de rotación en sí mismo
↑ Colonización por BGN-R al atb en uso en los ciclos de LEV y Pip-Taz, no en CPM	Diseño secuencial. Cultivos respiratorios y rectales semanales. Solo se reintroduce un atb. Por razones desconocidas el uso de atb aumentó durante el último ciclo
Tasa de tto empírico correcto alta (94%), no influyó en la mortalidad. ↑ S en Kpne y Paer	Diseño secuencial. Tras el primer año hubo un brote externo de Abau MDR y se extremaron medidas de control de la infección. Sin estudio de colonización

Martínez ²⁹⁸ 2006	Comparar rotación vs. mezcla de β lac antipseudomónicos y FQ en la adquisición de BGN-R	2 UCI médicas (45%)	Mezcla (4m, 179) Rotación (4m, 167) con ciclos de 1m: CAZ/FEP, CIP, CAR, Pip-Taz En un orden en una UCI y el opuesto en la otra de forma simultánea
Damas ²⁹⁷ 2006	Susceptibilidad atb en aislados clínicos y cultivos de vigilancia	UCI general con 3 subunidades separadas (37-88%)	Rotación en ciclos de 8m (564) de CAZ/FEP, combinaciones de inhibidores de betalactamasas y FQ En orden diferente en cada unidad
Sandiumenge ²⁶⁸ 2006 Sandiumenge ³³⁹ 2011 (es el mismo)	Incidencia de colonización o infección y susceptibilidad atb en pacientes con NAVM	UCI general (59-69%)	1) Tto individualizado (10m, 777) 2) Rotación (12m, 614) de ciclos de 4m de CAR, CAZ/FEP, Pip-Taz 3) Restricción (12m, 556) en ciclos de 4m: Pip-Taz, CAZ/FEP, CAR 4) Mezcla (10m, 674): CAR, CIP, CAZ/FEP+CLI y Pip-Taz
Bennett ³⁰⁷ 2007 ^a Sarrafi-yazdi ³¹⁰ 2012 ^b	Susceptibilidad atb en muestras clínicas de Paer, Kpne, <i>E.coli</i>	UCI quirúrgica (NR)	- PB observacional de 1 año - Rotación un año (1m): Pip-Taz, IMI, CAZ, CIP (no refieren número de pacientes, solo 1.200 ingresos/año) b. Analizaron 6 años de rotación
Hedrick ²⁹⁹ 2008	Adquisición de BGN-R o muestras clínicas	UCI médica (37%)	- PB (4m, 59) - Rotación 18m (3m, 242): FEP (6 y 52), CIP (45), Pip-Taz (19), IMI (62)
Smith ³⁰⁸ 2008	Tasa infección por grampositivos (SARM, ERV)	UCI quirúrgica (80%)	- PB (48m, 2.764) - Rotación (24m, 1.429): LIN (3m), VAN (3m)
Francetic ²⁹³ 2008	Tasa de infección, susceptibilidad de BGN, consumo atb y costes	6 UCI (NR)	Sustitución de GEN 1 año (142) por AMI 1 año (155)
Nijssen ³⁰⁹ 2010	Colonización intestinal por enterobacterias-R	2 UCI: médica y neuroquirúrgica (NR)	- PB 8m, 457 - Rotación semanal durante 3m de: β lac (CEF, AMC, FQ) (176) - Periodo homogéneo de 3m de FQ (135) Empezando en cada UCI por una estrategia distinta
Raineri ³⁰⁰ 2010	Tasa de NAVM por BGN y resistencias	2 UCI médico-quirúrgicas (83-88%)	- PB 1 año - Rotación durante 1 año (3m): Pip-Taz, QUIN, CAR, CAZ/CEP
Ginn ²⁵² 2012	Infección o colonización por MR, estancia y mortalidad	2 UCI (60%)	Rotación (4m) durante 16m: UCI 1: FEP, Pip-Taz, FEP, Pip-Taz UCI 2: Pip-Taz, FEP, Pip-Taz Total FEP (516) vs Pip-Taz (678)

Abau: *A. baumannii*, **AG:** aminoglucósidos, **AMC:** amoxicilina-clavulánico, **AMK:** amikacina, **Atb:** antibiótico, **BGN:** bacilos gramnegativos, **Bcep:** *B. cepacia*, **β lac:** betalactámicos, **CAR:** carbapenems, **CAZ:** ceftazidima, **CEF:** cefalosporinas, **CD:** *C. difficile*, **CIP:** ciprofloxacino, **CL:** clindamicina, **CPM:** ceftiprome, **ECN:** *Staphylococcus coagulans* negativa, **ERV:** enterococo resistente a vancomicina, **FEP:** cefepime, **FQ:** fluorquinolona, **GEN:** gentamicina, **GLI:** glicopéptidos, **IMI:** imipenem,

<p>↑ Adquisición de Paer-R a FEP y tendencia a CAZ y CAR en mezcla No cambios en la IN, adquisición de SARM u otros BGN</p>	<p>Diseño secuencial cruzado. Solo compara un periodo de mezcla con uno de rotación. Poca adherencia a la estrategia. Poca muestra para detectar diferencias en la adquisición de infecciones y otros desenlaces. Frotis tres veces por semana</p>
<p>Sin cambios en la R global o tasas de infección ↑ Paer-R a FQ e IMI en ciclo de FQ y a FQ en ciclo de Pip-Taz. En enterobacterias ↑R a Pip-Taz en su ciclo y ↑ R a CEF en su ciclo</p>	<p>Secuencial cruzado. Solo un periodo de rotación por subunidad. Frotis dos veces a la semana (orofaríngeos, respiratorios y urinarios). Los datos de sensibilidad se muestran por periodos de tiempo y periodos de uso preferente de cada atb, pero el efecto de la rotación en cada subunidad no se describe</p>
<p>Brote de Abau durante ciclo de CAR, ↑BLEE durante ciclo de CAZ/FEP y <i>E. faecalis</i> durante rotación y restricción. Sin cambios en la incidencia de Paer o SARM</p>	<p>Diseño secuencial. Se inició un programa de infección de CVC durante el periodo de restricción. Los periodos de tto individualizado y mixing se asociaron a menor uso de CAZ/FEP que de otros βlac antipseudomónicos y a mayor heterogeneidad atb. Ciclos largos 4m, CAZ y Pip-Taz separados (comparten mecanismo de R)</p>
<p>a. ↑S en Paer a CAZ y Pip-Taz. Sin cambios en Ecoli, Kpne</p> <p>b. ↑S en Paer a CAZ/Pip-Taz y en E.coli a Pip-Taz</p>	<p>Estudio antes-después con grupo control. Se compararon las tasas de resistencia con una UCI médica sin intervenir (en esta ↑ la R a IMI y CIP en Paer y R a Pip-Taz en <i>E. coli</i>), pero no describen las características clínicas de ambas unidades. Se sacó CIP al año y medio. Sin estudio de colonización</p>
<p>En rotación: brote de Paer, ↓Abau, ↓ERV, ↓SARM, ↓ estancia, igual número de IN, tendencia a menor mortalidad</p>	<p>Estudio antes-después. Solo una tanda de rotación, debido al brote se acortó el periodo de Pip-Taz. Adherencia muy baja. Frotis rectales semanales. En rotación los pacientes tenían más edad</p>
<p>↓ la tasa de infección en general, y por SAMR, sin cambios en ERV ni CD. Ninguna R a LIN. Menor mortalidad</p>	<p>Estudio antes-después con control hospitalario (la tendencia fue al aumento de la infección por SARM). Tendencia a menor mortalidad en los ciclos de LIN. No constan variaciones en otros fármacos que pudieran influir en la tasa de SARM. CMI de VAN >1. Sin estudio de colonización</p>
<p>↓ R a GEN en BGN ↑ R a AMI en Abau ↓bacteriemias</p>	<p>Estudio antes-después. ↓consumo de atb y costes. Sin estudio de colonización</p>
<p>↓ del 35% de uso de βlac que no redujo la tasa de BGN-R a CEF</p>	<p>Diseño secuencial cruzado con grupo control (PB en ambas UCI). Se consideró la transmisión cruzada mediante genotipado de las cepas. Se agregaron los datos de las dos UCI. Dos frotis semanales</p>
<p>↓ NAVM por Paer ↓R a CEF en Paer y a cefazolina en Kpne, Serratia y Enterobacter</p>	<p>Estudio antes-después. No se implementaron otras estrategias. Sin estudio de colonización</p>
<p>↑colonización e infección por Paer y SARM en ciclos de FEP. Igual mortalidad</p>	<p>Diseño secuencial cruzado. Frotis perineales y BAS dos veces a la semana</p>

IN: infección nosocomial, **Kpne**: *K. pneumoniae*, **LEV**: levofloxacino, **LIN**: linezolid, **MDR**: multirresistente, **MR**: microorganismos resistentes, **NAVM**: Neumonía asociada a ventilación mecánica, **NET**: netilmicina, **NR**: no reportado, **Paer**: *P. aeruginosa*, **PB**: periodo basal, **Pip-Taz**: Piperacilina-tazobactam, **R**: resistente, **S**: sensible, **SARM**: *S. aureus* resistente a meticilina, **SmaI**: *S. maltophilia*, **TICAR-CLV**: ticarcilina-clavulánico, **TMP/SMX**: cotrimoxazol, **TOB**: tobramicina, **Tto**: tratamiento, **VAN**: vancomicina.

Tabla anexa 2. Motivos de admisión de los pacientes ingresados más de 48 horas (850 pacientes)

Motivos de ingreso	Número de pacientes (%)	Intubación (%)
Infección	486	273 (56,1)
Neumonía comunitaria	160 (32,9)	92 (57,5)
Neumonía nosocomial	74 (15,2)	57 (77)
Intraabdominal	61 (12,5)	37 (52,1)
EPOC reagudizado	55 (11,3)	28 (50,9)
Sistema nervioso central	26 (5,3)	15 (57,6)
Urinaria	23 (4,7)	2 (8,6)
Piel y partes blandas	16 (3,3)	11 (68,7)
Endocarditis	11 (2,2)	9 (81,8)
Aspergilosis o candidiasis invasivas	8 (1,6)	5 (62,5)
Bacteriemia primaria	7 (1,4)	0
Bacteriemia relacionada con el catéter	4 (0,8)	3 (75)
Tuberculosis miliar	3 (0,6)	2 (66,6)
Malaria grave	3 (0,6)	1 (33,3)
Otros focos	20 (4,1)	9 (45)
Sepsis de origen desconocido	15 (3)	2 (13,3)
Enfermedad neurológica	99	68 (68,6)
Status epilepticus	25 (25,3)	17 (68)
Coma metabólico o tóxico	20 (20,2)	15 (75)
Hemorragia intraparenquimatosa	19 (19,2)	16 (84,2)
Hemorragia subaracnoidea	15 (15,1)	8 (53,3)
Infarto isquémico	10 (8)	8 (80)
Hematoma subdural	4 (4)	1 (25)
Síndrome de Guillain-Barré	2 (2)	1 (50)
Otras	4 (4)	2 (50)
Posquirúrgico	80	71 (88,7)
Derivación coronaria	36 (45)	34 (94,4)
Reemplazo valvular	36 (45)	32 (88,8)
Ruptura de aneurisma aórtico	2 (2,5)	2 (100)
Resección gástrica	3 (3,8)	1 (33,3)
Otros	3 (3,8)	2 (66,6)
Enfermedad cardiovascular	66	43 (65,1)
Insuficiencia cardíaca	16 (24,2)	8 (50)
Paro cardíaco	15 (22,7)	14 (93,3)
Infarto agudo de miocardio	13 (19,6)	7 (53,8)
Shock cardiogénico	8 (12,1)	5 (62,5)
Síndrome de la vena cava superior	5 (7,6)	4 (80)
Taponamiento cardíaco	3 (4,5)	1 (33,3)
Ruptura de aneurisma aórtico	2 (3)	2 (100)
Arritmia maligna	2 (3)	1 (50)
Emergencia hipertensiva	2 (3)	1 (50)
Enfermedad respiratoria	28	19 (67,8)
Broncoaspiración	4 (14,2)	4 (100)
Hemorragia alveolar	3 (10,7)	1 (33,3)
Tromboembolismo pulmonar	3 (10,7)	2 (66,6)
Insuficiencia respiratoria aguda de otras causas	18 (64,2)	12 (66,6)
Otras	91	37 (40,6)
Miscelánea de enfermedades hepáticas, pancreáticas y gastrointestinales	13 (14,2)	6 (46,1)
Miscelánea de alteraciones metabólicas	20 (21,9)	12 (60)
Intoxicaciones agudas	29 (31,8)	12 (41,3)
Otras	29 (31,8)	7 (24,1)

Tabla anexa 3. Sitios de adquisición primaria y secundaria de *Pseudomona aeruginosa*

Sitio	Sitio primario de adquisición (múltiples sitios)	Sitio secundario de adquisición	Nº de pacientes con sitio implicado en cualquier momento (múltiples sitios)
Fosas nasales o faringe	34 (23) ^a	12	46 (39) ^b
Tracto respiratorio inferior	24 (14) ^c	24	48 (43) ^d
Recto	67 (10) ^e	8	75 (35) ^f
Herida quirúrgica	1	0	1 (0)
Sangre	1	0	1 (1) ^g

^a 11 pacientes tuvieron inicialmente un solo sitio colonizado, 1 en fosas nasales y 10 en faringe. Los sitios múltiples incluyeron: fosas nasales y faringe en 5 pacientes, faringe y tracto respiratorio inferior en 3, faringe y rectal en 3, fosas nasales, faringe y tracto respiratorio inferior en 6, fosas nasales, faringe y recto en 2 y los cuatro sitios en 4. ^b Los sitios múltiples incluyeron: fosas nasales y faringe en 3 pacientes, fosas nasales y tracto respiratorio inferior en 1, faringe y tracto respiratorio inferior en 6, faringe y recto en 2, fosas nasales, faringe y tracto respiratorio inferior en 5, fosas nasales, faringe y recto en 3, fosas nasales, tracto respiratorio inferior y recto en 1, faringe, tracto respiratorio inferior y recto en 4 y todos los sitios en 14. ^c Los sitios múltiples incluyeron: tracto respiratorio inferior y faringe en 3, tracto respiratorio inferior y recto en 1, tracto respiratorio inferior, fosas nasales y faringe en 6 y todos los sitios en 4. ^d Los sitios múltiples incluyeron: tracto respiratorio inferior y faringe en 6, tracto respiratorio inferior y recto en 11, tracto respiratorio inferior y fosas nasales en 1, tracto respiratorio inferior, fosas nasales y faringe en 5, tracto respiratorio inferior, recto y faringe o fosas nasales en 5 y todos los sitios en 15. ^e Los sitios múltiples incluyeron: recto y faringe en 3, recto y tracto respiratorio inferior en 1, recto, fosas nasales y faringe en 2 y todos los sitios en 4. ^f Los sitios múltiples incluyeron: recto y faringe en 1, recto y tracto respiratorio inferior en 11, recto y sangre en 1, recto, fosas nasales y faringe en 3, recto, fosas nasales y tracto respiratorio inferior en 1, recto, faringe y tracto respiratorio inferior en 4 y todos los sitios en 14. ^g Los sitios múltiples incluyeron sangre y recto.

Tabla anexa 4. Relación entre adquisición de resistencia a antibióticos antipseudomónicos y exposición previa a los distintos agentes

Adquisición de resistencia a	Nº de pac. (%)	Número (%) de pacientes previamente expuestos a														
		Ceftazidima	OR (IC)	p	Merope-nem	OR (IC)	p	Pip-Taz	OR (IC)	p	Quinolonas	OR (IC)	p	Amikacina	OR (IC)	p
Ceftazidima																
Si	40 (5)	6 (15)		16 (40)		9 (23)		14 (35)		4 (10)		14 (35)		4 (10)		4 (10)
No	810 (95)	60 (7)	2,2 (0,9-5,5)	0,08	173 (21)	2,5 (1,3-4,7)	0,006	116 (14)	1,7 (0,8-3,7)	0,15	187 (23)	1,8 (0,9-3,5)	0,08	21 (3)	2,0 (0,8-10,1)	0,007
Carbapenems																
Si	46 (5)	2 (4)		22 (48)		8 (17)		13 (28)		3 (7)		13 (28)		3 (7)		3 (7)
No	804 (95)	63 (8)	0,5 (0,1-2,3)	0,39	167 (21)	3,5 (1,9-6,4)	<0,001	114 (14)	1,3 (0,6-2,8)	0,55	186 (23)	1,3 (0,7-2,5)	0,4	22 (3)	2,5 (0,7-8,6)	0,14
Pip-Taz																
Si	31 (4)	7 (23)		14 (45)		8 (26)		11 (36)		5 (16)		11 (36)		5 (16)		5 (16)
No	819 (96)	62 (8)	3,6 (1,5-8,6)	0,003	177 (22)	3 (1,4-6,2)	0,002	118 (14)	2,1 (0,9-4,7)	0,08	191 (23)	1,8 (0,9-3,8)	0,12	21 (3)	7,3 (2,6-20,9)	<0,001
Quinolonas																
Si	39 (5)	5 (13)		16 (41)		9 (23)		16 (41)		5 (13)		16 (41)		5 (13)		5 (13)
No	811 (95)	61 (8)	1,8 (0,7-4,8)	0,23	174 (22)	2,5 (1,3-4,9)	0,004	115 (14)	1,8 (0,8-3,9)	0,12	184 (23)	2,4 (1,2-4,6)	0,01	20 (3)	5,8 (2,1-16,4)	<0,001
MDR																
Si	31 (4)	4 (13)		14 (45)		7 (23)		12 (39)		4 (13)		12 (39)		4 (13)		4 (13)
No	819 (96)	62 (8)	1,8 (0,6-5,3)	0,28	176 (22)	3,0 (1,5-6,2)	0,002	119 (15)	1,7 (0,7-4,1)	0,22	189 (23)	2,1 (1,0-4,4)	0,04	21 (3)	5,6 (1,8-17,5)	0,001

IX. Producción científica

1. Artículos derivados de los resultados de la tesis:

Artículo publicado:

- “Acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* and its resistance phenotypes in critically-ill medical patients: role of colonization pressure and antibiotic exposure”. Nazaret Cobos-Trigueros, Mar Solé, Pedro Castro, Jorge Luis Torres, Cristina Hernández, Mariano Rinaudo, Sara Fernández, Álex Soriano, José María Nicolás, Josep Mensa, Jordi Vila, José Antonio Martínez. *Crit Care*. 2015 May 4; 19 (1):218. (FI 4.48)

Artículo en revisión:

- “Evaluation of a Mixing versus a Cycling Strategy of Antibiotic Use in Critically-ill Medical Patients: Impact on Acquisition of Resistant Microorganisms and Clinical Outcomes”. Nazaret Cobos-Trigueros, Mar Solé, Pedro Castro, Jorge Luis Torres, Mariano Rinaudo, Laura Morata, Cristina Hernández, Sara Fernández, Álex Soriano, José María Nicolás, Josep Mensa, Jordi Vila, José Antonio Martínez. *Plos One* (FI 3.234).

2. Artículos complementarios relacionados con la tesis:

- “In vivo evolution of resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients admitted to an intensive care unit: mechanisms of resistance and antimicrobial exposure”. Solé M, Fàbrega A, Cobos-Trigueros N, Zamorano L, Ferrer-Navarro M, Ballesté-Delpierre C, Reustle A, Castro P, Nicolás JM, Oliver A, Martínez JA, Vila J. *J Antimicrob Chemother*. 2015 Nov; 70 (11): 3004-13. (FI 5.313).
- “Acquisition of resistant microorganisms and infections in HIV-infected patients admitted to the ICU”. Cobos-Trigueros N, Rinaudo M, Solé M, Castro P, Pumarol J, Hernández C, Fernández S, Nicolás JM, Mallolas J, Vila J, Morata L, Gatell JM, Soriano A, Mensa J, Martínez JA. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014 Apr; 33 (4): 611-20. (FI 2.67)
- “Comparison of acquisition of resistant microorganisms and infections in critically-ill patients with and without malignancies”. Rinaudo M, Cobos-Trigueros N, Solé M, Castro P, Hernández C, Nicolás JM, Vila J, Morata L, Pumarol J, Soriano A, Mensa J, Martínez JA. *Minerva Anesthesiol*. 2013 Nov; 79 (11):1217-28. (FI 2.13)

RESEARCH

Open Access

Acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* and its resistance phenotypes in critically ill medical patients: role of colonization pressure and antibiotic exposure

Nazaret Cobos-Trigueros^{1*}, Mar Solé², Pedro Castro³, Jorge Luis Torres⁵, Cristina Hernández³, Mariano Rinaudo³, Sara Fernández³, Álex Soriano¹, José María Nicolás³, Josep Mensa¹, Jordi Vila^{2,4} and José Antonio Martínez¹

Abstract

Introduction: The objective of this work was to investigate the risk factors for the acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* and its resistance phenotypes in critically ill patients, taking into account colonization pressure.

Methods: We conducted a prospective cohort study in an 8-bed medical intensive care unit during a 35-month period. Nasopharyngeal and rectal swabs and respiratory secretions were obtained within 48 hours of admission and thrice weekly thereafter. During the study, a policy of consecutive mixing and cycling periods of three classes of antipseudomonal antibiotics was followed in the unit.

Results: Of 850 patients admitted for ≥ 3 days, 751 (88.3%) received an antibiotic, 562 of which (66.1%) were antipseudomonal antibiotics. A total of 68 patients (8%) carried *P. aeruginosa* upon admission, and among the remaining 782, 104 (13%) acquired at least one strain of *P. aeruginosa* during their stay. Multivariate analysis selected shock (odds ratio (OR) =2.1; 95% confidence interval (CI), 1.2 to 3.7), intubation (OR =3.6; 95% CI, 1.7 to 7.5), enteral nutrition (OR =3.6; 95% CI, 1.8 to 7.6), parenteral nutrition (OR =3.9; 95% CI, 1.6 to 9.6), tracheostomy (OR =4.4; 95% CI, 2.3 to 8.3) and colonization pressure >0.43 (OR =4; 95% CI, 1.2 to 5) as independently associated with the acquisition of *P. aeruginosa*, whereas exposure to fluoroquinolones for >3 days (OR =0.4; 95% CI, 0.2 to 0.8) was protective. In the whole series, prior exposure to carbapenems was independently associated with carbapenem resistance, and prior amikacin use predicted piperacillin-tazobactam, fluoroquinolone and multiple-drug resistance.

Conclusions: In critical care settings with a high rate of antibiotic use, colonization pressure and non-antibiotic exposures may be the crucial factors for *P. aeruginosa* acquisition, whereas fluoroquinolones may actually decrease its likelihood. For the acquisition of strains resistant to piperacillin-tazobactam, fluoroquinolones and multiple drugs, exposure to amikacin may be more relevant than previously recognized.

Introduction

Previous exposure to antibiotics is considered an imperative risk factor for the acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* and the subsequent development of infection [1]. According to the classical paradigm, non-antipseudomonal agents would promote acquisition of any *P. aeruginosa* strain [2,3], whereas drugs with antipseudomonal activity would select

those resistant to the particular class of antimicrobial drug used [4]. Resistance acquisition driven by exposure to antipseudomonal agents can be reached by either selecting mutants in patients previously colonized or infected by susceptible phenotypes [5,6] or promoting selection of an already resistant strain [7]. Many study researchers have reported that prior exposure to a given antipseudomonal agent is associated with the acquisition of strains resistant to it [4,8-16], to unrelated agents [8-10,14,17-20] or to multiple drugs [13,21-27]. However, not enough data have

* Correspondence: fncobos@clinic.ub.es

¹Department of Infectious Diseases, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), University of Barcelona, Barcelona, Spain

Full list of author information is available at the end of the article



© 2015 Cobos-Trigueros et al.; licensee BioMed Central. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly credited. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

been provided to ascertain which of the above-mentioned processes is preferentially involved [26,28].

There are discrepancies regarding the magnitude of the risk of resistance acquisition associated with the different antipseudomonal agents. In patients previously colonized or infected by *P. aeruginosa*, carbapenems and fluoroquinolones may have a greater tendency to select resistant mutants than other agents [5,6,29,30]. In addition, prior exposure to fluoroquinolones or carbapenems has commonly been associated with the acquisition of strains resistant to unrelated antibiotics and multiple drugs [10,15,17–22,24,26,31]. However, there are some exceptions. In a case–control study [24], cephalosporins and aminoglycosides (but not quinolones) were the main predictors of a multidrug-resistant (MDR) phenotype, and, in a cohort study [28], quinolones were protective against the acquisition of *P. aeruginosa* and had no role in the acquisition of resistant phenotypes.

Part of the discrepancies among studies regarding the role of previous use of antibiotics on *P. aeruginosa* resistance may be due to local differences in transmission rates, because exposure to antipseudomonal agents in previously non-colonized patients necessarily requires transmission from other patients or environmental sources to foster the acquisition of resistant strains. However, variables influencing transmission, such as colonization pressure [32], have rarely been taken into account in studies aimed at defining the influence of antibiotics on the acquisition of any *P. aeruginosa* or of strains with specific resistance phenotypes [2,3,14,33]. An accurate picture of the most meaningful epidemiological and exposure variables is essential to designing effective control measures directed at curbing the increasing incidence of the resistance of this important pathogen.

During a 3-year period, we were able to systematically obtain multisite surveillance cultures from patients admitted to a medical intensive care unit (ICU). This allowed us to investigate in detail the factors associated with the acquisition of *P. aeruginosa* and its different resistance phenotypes, taking into account both significant exposures (including antibiotics) and colonization pressure.

Materials and methods

Study population

From February 2006 to December 2008, all patients admitted to an 8-bed adult medical ICU of a 700-bed university hospital who stayed in the unit for at least 3 days (72 hours) were prospectively included in the study. The study unit has two individual rooms and a central space with six cubicles, and it is the reference unit for critically ill medical patients from the internal medicine, haematology, oncology and infectious diseases wards.

After a previous pilot experience [34], the director of the study unit decided to implement a mixing and cycling

strategy of antibiotic use on a regular basis. To evaluate this policy, a prospective study of systematic screening for the detection of resistant or potentially resistant microorganisms was carried out during the first 3 years of its implementation. The present study was an analysis using clinical and microbiological data collected during the prospective screening program with the aim of investigating the risk factors for *P. aeruginosa* acquisition. The study protocol was approved by the Research Ethics Committee of the University Hospital Clinic of Barcelona, which waived the requirement of informed consent (approval reference number 2616).

Microbiological procedures

Swabbing of nares, pharynx and rectum, as well as respiratory secretions (tracheobronchial aspirate, bronchoscopic samples or sputum), were obtained within 48 hours of admission and thrice weekly thereafter until discharge or the first 2 months of the ICU stay. Other clinical samples were obtained as deemed necessary by the attending physician. Samples were cultured in conventional agar media. No environmental cultures were taken. Susceptibility testing was done by using a microdilution technique according to Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines [35]. For the purpose of analysis, intermediate susceptibility was considered as resistance. Molecular typing was performed by pulse-field gel electrophoresis as previously described [36]. Resistance to multiple antibiotics was defined as MDR, extensively drug-resistant (XDR) or pandrug-resistant (PDR) as described elsewhere [37].

Clinical variables

Demographics, clinical variables, severity scores (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II and Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)) upon admission and exposures during ICU stay were prospectively collected from all admitted patients as previously described. These data are shown in Table 1 [34].

Antibiotic use

For the duration of the study, a policy of consecutive mixing and cycling periods of three classes of antipseudomonal agents (meropenem, ceftazidime/piperacillin-tazobactam and ciprofloxacin/levofloxacin) was implemented in the study unit. Each period lasted 4.5 months. During mixing, a different antipseudomonal antibiotic class was prescribed to each consecutive patient. Cycling periods were divided in three consecutive 6-week intervals in which a different antibiotic class was given to every patient. The decision to provide antipseudomonal antibiotics was made by the attending physician based on clinical judgment. Amikacin in a once-daily dose was the aminoglycoside favoured for antipseudomonal antibiotic coverage, but its administration as monotherapy or for >5 days was discouraged. The

Table 1 Patient characteristics on admission, exposures during the ICU stay and outcomes of the entire population^a

Characteristics on admission	Total (N =850)
Age (yr)	59.8 (17.3)
Male sex	519 (61.1)
Pre-ICU stay (days)	4.6 (12.2)
Prior antibiotic (≤ 1 mo)	258 (30.4)
APACHE II score	20 (6.5)
SOFA score	6.4 (3.6)
Shock on admission	151 (17.8)
Reason for admission	
Infection	486 (57.2)
CNS disease	99 (11.6)
Postsurgical	80 (9.4)
Cardiovascular disease	66 (7.8)
Respiratory disease	28 (3.3)
Others	91 (10.7)
Underlying diseases	
Diabetes mellitus	157 (18.5)
Haematological malignancy	114 (13.4)
Solid malignancy	85 (10)
COPD	138 (16.2)
Others ^b	193 (19.2)
Prior corticosteroids (≤ 1 mo)	156 (18.4)
Immunosuppressive therapy	90 (10.6)
Exposures during ICU stay	
Central venous catheter	833 (98)
Bladder catheter	800 (94.1)
Nasogastric tube	573 (67.4)
Enteral nutrition	253 (29.8)
Parenteral nutrition	177 (20.8)
Orotracheal intubation	511 (60.1)
Tracheostomy	158 (18.6)
Endoscopy	121 (34.2)
Surgery	189 (22.2)
Renal replacement therapies	77 (9.1)
Packed red blood cell transfusion	291 (34.2)
Any antibiotic	746 (87.8)
Any non-antipseudomonal antibiotic	593 (69.8)
Any antipseudomonal antibiotic:	576 (67.8%)
Carbapenem	281 (33.1)
Quinolone	306 (36)
Ceftazidime	103 (12.1)
Piperacillin-tazobactam	180 (21.2)
Amikacin	52 (6.1)

Table 1 Patient characteristics on admission, exposures during the ICU stay and outcomes of the entire population^a (Continued)

Outcomes	
Length of stay (days)	9.5 (10.3)
In-ICU mortality	117 (13.8)
In-hospital mortality	201 (23.6)

^aAPACHE II, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II; CNS, Central nervous system; COPD, Chronic obstructive pulmonary disease; ICU, Intensive care unit; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment. ^bOthers include patients with HIV infection, hepatic cirrhosis, renal failure and heart failure. Categorical variables are expressed as number of patients (%) and continuous variables as mean (standard deviation).

decision to administer combination treatment with a β -lactam and a fluoroquinolone or amikacin was also made by the attending physician, and, in accordance with current protocols, it was encouraged only for patients with severe sepsis or septic shock.

Epidemiological variables

The results of surveillance cultures were communicated to the attending physician either when they yielded a microorganism requiring contact precautions according to current isolation practices in the hospital (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA); vancomycin-resistant enterococci (VRE); enteric Gram-negative bacilli producing extended-spectrum β -lactamases; *P. aeruginosa* resistant to at least three classes of antipseudomonal agents, considering ceftazidime and piperacillin-tazobactam or ciprofloxacin and levofloxacin as single classes) or when an outbreak was suspected. Contact precautions implied the transfer to an individual room when available and, in any case, the wearing of gowns and gloves when entering the cubicle or room. Patients with prior MRSA, MDR Gram-negative bacilli and VRE were automatically identified by an electronic tag on admission, but preventive isolation based on risk factors was never performed. Hand hygiene was primarily based on alcohol-based hand rubs. Decolonization with mupirocin was carried out only in patients with MRSA present exclusively in nares. Chlorhexidine was used for oral hygiene, but not for body bathing. Selective decontamination of the digestive tract or any additional practice, such as the use of extraordinary prophylactic antibiotics (except as clinically recommended in neutropenic, cirrhotic or HIV patients), was not performed during the study. There were no changes in isolation or hand hygiene practices during the study period.

Definitions

Colonization was defined as the isolation of *P. aeruginosa* from a surveillance culture or non-sterile clinical sample. Patients with *P. aeruginosa* isolated within 48 hours of ICU admission were considered to be colonized upon

admission. Organisms isolated 48 hours after admission in patients with previous negative specimens were considered as ICU-acquired. Infection was considered the reason for admission when the organic failure leading to critical care was understood to be a direct consequence of either the dysfunction of the infected organ or sepsis. *Acquisition of resistance* was defined as the isolation of a resistant organism in a patient with a previous sensitive strain or prior negative cultures. *Emergence of resistance* to a given antibiotic refers to the conversion of a genotypically defined strain from susceptible to non-susceptible; hence, these isolates were also included in the previous definition. Cross-transmission was considered to have occurred when a patient acquired a pulsotype identical to that of an isolate previously found in a patient who stayed in the unit during the same period. Colonization pressure was estimated as the average of the daily proportion of colonized patients (number of patients colonized divided by number of patients in the unit on a given day) from the day of admission until the day before acquisition of the microorganism or until discharge if the patient did not acquire the microorganism [38]. Time at risk was the number of days until the detection of the microorganism and/or resistance in patients who acquired it and the whole length of ICU stay if the patient did not acquire it. *Exposure to antibiotics* meant at least 24 hours of treatment.

Statistical analysis

For continuous variables, means (with standard deviations) or medians (with interquartile ranges (IQRs)) were used as measures of central tendency (dispersion). Denominators in proportions were always 'number of patients'. Proportions were compared by using the χ^2 test or Fisher's exact test, and continuous variables were compared by using the *t*-test or Mann-Whitney *U* test. Multivariable logistic regression analysis (step-forward procedure) was used to evaluate characteristics associated with the acquisition of *P. aeruginosa* and acquisition of resistance to ceftazidime, piperacillin-tazobactam, carbapenems and quinolones. For the purpose of analysing the risk factors associated with the acquisition of *P. aeruginosa*, patients colonized or infected with this microorganism upon admission were excluded, owing to uncertainty about the ability to detect their new episodes of acquisition. However, the whole cohort was considered when we analysed the risk factors for the acquisition of resistance to the different antipseudomonal antibiotics, because resistance could emerge in strains of *P. aeruginosa* present upon admission. Age, APACHE II score and SOFA score were introduced into the models as dichotomous variables, taking the median as the cutoff value, whereas colonization pressure was dichotomized by the highest observed value (95th percentile). In multivariate models predicting the acquisition of strains resistant to each antipseudomonal agent

and multiple drugs, a cutoff of 72 hours was used to dichotomize antibiotic exposure because in previous studies it appeared to be the best time span for defining the minimal duration of exposure associated with resistance [39,40]. Variables with a *P*-value <0.3 in the univariate analysis were introduced into the multivariate model. Calculations were done using the IBM SPSS version 20.0 statistical software package (IBM, Armonk, NY, USA).

Results

During the 35-month study period, a total of 850 patients were hospitalized in the unit for 72 hours or more. Patient characteristics and exposures are shown in Table 1, and a detailed description of the reasons for admission is provided in Additional file 1.

In regard to antibiotic exposure, 751 patients (88.3%) received an antibiotic, 562 (66.1%) of which were antipseudomonal agents. The median daily dosages of antipseudomonal antibiotics were 6 g for ceftazidime, 3 g for carbapenems (meropenem or imipenem; there was no exposure to ertapenem), 12 g for piperacillin-tazobactam, 1,200 mg for ciprofloxacin, 500 mg for levofloxacin and 1 g for amikacin. The median days (IQR) of exposure to antipseudomonal antibiotics were 6 (3 to 11) for ceftazidime, 6 (3 to 10) for carbapenems, 5 (3 to 8) for piperacillin-tazobactam, 6 (3 to 10) for ciprofloxacin, 4 (3 to 8) for levofloxacin and 4 (2 to 10) for amikacin. The median (IQR) length of ICU stay was 5 (4 to 10) days.

During the study period, a total of 9,561 surveillance samples were obtained and cultured, of which 1,646 proceeded from the lower respiratory tract, 2,664 from the pharynx, 2,690 from the nares and 2,561 from the rectum. The mean numbers per included patient was 3.2 for nasal swabs, 3.1 for pharyngeal swabs, 3 for rectal swabs and 1.9 for respiratory samples (3.3 in intubated patients).

A total of 68 patients (8%) were colonized with *P. aeruginosa* upon admission, and of the remaining 782, 104 (13.3%) acquired at least one strain of *P. aeruginosa* during their ICU stay (4 patients acquired 2 different strains). Acquired isolates belonged to 79 distinct pulsotypes, of which 7 were obtained from more than 1 patient (from 2 to 20). The more numerous cluster, which included 20 patients, corresponded to a strain that had a XDR phenotype on 16 occasions. Of the 104 patients who acquired *P. aeruginosa*, in 20 (19.2%) acquisition was due to cross-transmission (13 of the XDR genotype) and in the remaining patients the origin was unknown. The sites of primary detection were the rectum in 57 cases (54.8%), the nares or pharynx in 16 (15.3%), the lower respiratory tract in 10 (9.6%), more than one of these sites in 19 (18.2%) and other sites in 2 (1.9%). Of the 57 patients with initial unique rectal colonization, 18 (31.5%) had

subsequent nasopharyngeal (n =3) or lower respiratory tract colonization (n =15). In all, 48 patients (46.1%) eventually had *P. aeruginosa* isolated from a lower respiratory sample (in 24 as a first site of colonization and in 24 as a secondary one), of whom 13 (27%) had pneumonia (11 ventilator-associated). Detection in tracheal aspirates or sputum preceded pneumonia in seven patients for a median of 3 days (range, 1 to 14), and it was coincidental with its clinical diagnosis in the remaining six patients. Pneumonia occurred more frequently in patients with first detection of *P. aeruginosa* in the lower respiratory (8 of 24 (33.3%)) than in other sites (5 of 80 (6.2%)) ($P =0.002$). Other infections diagnosed in the 104 patients who acquired *P. aeruginosa* were ventilator-associated tracheobronchitis in 9, catheter-related bacteraemia in 3, primary bacteraemia in 2 and a surgical wound infection in 1. Tracheobronchitis was equally common in patients with first detection of *P. aeruginosa* in the lower respiratory tract (2 of 24 (8.3%)) than in other sites (7 of 80 (8.7%)) ($P =1$), whereas the 6 other infections occurred in patients in whom *P. aeruginosa* was first detected outside the lower respiratory tract. Sites of primary and secondary acquisition are shown in detail in Additional file 2.

Risk factors for acquisition of *Pseudomonas aeruginosa*

The acquired strains were susceptible to all antipseudomonal antibiotics in 56 patients (53%), PDR in 1 (1%), XDR in 17 (16%), MDR in 4 (4%) and resistant to 1 or 2 groups of antipseudomonal antibiotics in 27 (26%). Upon acquisition, resistance to carbapenems, piperacillin-tazobactam, ceftazidime, fluoroquinolones and amikacin was observed in 39 (37%), 19 (18%), 30 (29%), 29 (28%) and 1 (1%) strains, respectively.

The univariate analysis of the relationship between patient's characteristics or exposures and the acquisition of *P. aeruginosa* is shown in Table 2. Multivariate analysis selected shock, orotracheal intubation, enteral nutrition for ≤ 3 days, parenteral nutrition for ≤ 3 days, tracheostomy and colonization pressure >0.43 as being independently associated with the acquisition of *P. aeruginosa*, whereas exposure to fluoroquinolones for >3 days was protective. The complete model is shown in Table 3.

Risk factors for the acquisition of resistance to antipseudomonal agents

The number of patients in whom *P. aeruginosa* resistant to the different antipseudomonal antibiotics was isolated during the ICU stay, the resistance status when first isolated and the number of acquisitions due to cross-transmissions are stated in Table 4. In most cases, the resistance phenotype was acquired as such and did not emerge from a susceptible one. Only one strain acquired as susceptible was the result of cross-transmission, whereas this was observed in 41% to 58% of the strains acquired

as resistant to the different antipseudomonal β -lactams or fluoroquinolones.

Univariate analysis of the association of prior exposure to carbapenems, ceftazidime, piperacillin-tazobactam, fluoroquinolones and amikacin with acquisition of resistance to the different antipseudomonal antibiotics and multiple drugs is shown in Additional file 3.

In multivariate analysis, carbapenem exposure for more than 3 days was associated with acquisition of resistance to itself, and amikacin exposure for more than 3 days was associated with acquisition of resistance to piperacillin-tazobactam and fluoroquinolones as well as MDR. Exposure to fluoroquinolones, piperacillin-tazobactam or ceftazidime was not associated with acquisition of resistance to themselves or to other antipseudomonal agents. Complete models are shown in Additional file 4.

Emergence of resistance to a given antipseudomonal agent from a previous susceptible strain after exposure to itself occurred in 4 (20%) of 20 patients exposed to ceftazidime (vs 8 (8%) of 106 non-exposed; $P =0.1$), 6 (46%) of 13 exposed to carbapenems (vs 1 (3%) of 95 non-exposed; $P <0.001$), 3 (15%) of 20 exposed to piperacillin-tazobactam (vs 9 (8%) of 117 non-exposed; $P =0.3$) and 8 (29%) of 28 exposed to fluoroquinolones (vs 2 (3%) of 94 non-exposed; $P <0.001$).

Discussion

The main findings of this study are the following: (1) colonization pressure and several patient conditions or instrumentations seem to be more relevant risk factors than exposure to antibiotics for the acquisition of *P. aeruginosa*; (2) exposure to fluoroquinolones (levofloxacin or ciprofloxacin) for >3 days was protective against the acquisition of this pathogen; (3) exposure to carbapenems predicted resistance to themselves; and (4) amikacin exposure was associated with the acquisition of resistance to piperacillin-tazobactam, quinolones and multiple drugs.

Whenever cross-transmission is involved in the acquisition of a given microorganism, it is expected that colonization pressure should be a relevant risk factor. Although defined in different ways, colonization pressure has been independently associated, in the ICU setting, with the acquisition of MRSA [41], VRE [38], *Clostridium difficile* [42], *Acinetobacter baumannii* [33,43] and *P. aeruginosa* [16,33,44]. However, in none of the MRSA studies, and in only some on *A. baumannii* [43,45] or *P. aeruginosa* [16], was adjustment for prior antibiotic exposure performed. Some reports indicate that there is an interaction between colonization pressure and antibiotics. In one study in which investigators searched for predictors of *P. aeruginosa* acquisition in the ICU [44], prior exposure to ≥ 3 days of non-antipseudomonal antibiotics was a significant risk factor only when there was at least one

Table 2 Relationship between *Pseudomonas aeruginosa* acquisition, characteristics on admission and exposures in the ICU^a

Characteristics	Acquisition of <i>P. aeruginosa</i> (n =104)	No acquisition of <i>P. aeruginosa</i> (n =678)	OR (95% CI)	P-value
Male sex	36 (34.6)	270 (39.8)	0.8 (0.5 to 1.2)	0.3
Pre-ICU hospital stay >3 days	36 (34.6)	143 (21.1)	1.98 (1.3 to 3.1)	0.002
Underlying diseases				
Neutropenia	4 (3.8)	15 (2.2)	1.77 (0.6 to 5.4)	0.3
Haematological malignancy	10 (9.6)	93 (13.7)	0.67 (0.3 to 1.3)	0.2
Liver cirrhosis	8 (7.7)	22 (3.2)	2.48 (1.1 to 5.7)	0.03
Other conditions on admission				
Prior antibiotic (≤1 mo)	38 (36.5)	194 (28.6)	1.44 (0.9 to 2.2)	0.1
Shock	29 (27.9)	105 (15.5)	2.11 (1.3 to 3.4)	0.002
Reason for admission				
Infection	67 (64.4)	369 (54.4)	1.52 (1 to 2.3)	0.1
Postsurgical	1 (1)	78 (11.5)	0.07 (0 to 0.5)	0.001
Severity scores				
APACHE II score ≥20	63 (60.6)	328 (48.4)	1.64 (1.1 to 2.5)	0.02
SOFA score ≥7	64 (61.5)	306 (45.1)	1.95 (1.3 to 3)	0.002
Non-antibiotic exposures				
Days at risk, median (IQR)	6 (4 to 11)	5 (3 to 8)	–	0.01
Colonization pressure ^b >0.43	5 (4.8)	12 (1.8)	2.8 (1 to 8.1)	0.05
Mixing periods	49 (47.1)	281 (41.5)	0.8 (0.5 to 1.2)	0.2
CVC >3 days	80 (76.9)	472 (69.6)	1.45 (0.9 to 2.4)	0.1
Bladder catheterization				
No	2 (1.9)	45 (6.6)	1	
1 to 3 days	23 (22.1)	167 (24.6)	3.1 (0.7 to 13.6)	0.1
>3 days	79 (76)	466 (68.7)	3.8 (0.9 to 16)	0.1
Intubation				
No	15 (14.4)	306 (45.1)	1	
1 to 3 days	23 (22.1)	187 (27.6)	2.5 (1.3 to 4.9)	0.01
>3 days	66 (63.5)	185 (27.3)	7.3 (4 to 13.1)	<0.001
Enteral nutrition				
No	47 (45.2)	18 (76.4)	1	
1 to 3 days	21 (20.2)	40 (5.9)	5.8 (3.2 to 10.6)	<0.001
>3 days	36 (34.6)	120 (17.7)	3.3 (2.1 to 5.3)	<0.001
Parenteral nutrition				
No	65 (62.5)	566 (83.5)	1	
1 to 3 days	10 (9.6)	21 (3.1)	4.1 (1.9 to 9.2)	<0.001
>3 days	29 (27.9)	91 (13.4)	2.8 (1.7 to 4.5)	<0.001
Tracheostomy	48 (46.2)	84 (12.4)	6.06 (3.9 to 9.5)	<0.001
Endoscopy	21 (20.2)	77 (11.4)	1.97 (1.2 to 3.4)	0.01
Surgery	18 (17.3)	68 (10)	1.88 (1.1 to 3.3)	0.03
Blood transfusion	45 (43.3)	198 (29.2)	1.85 (1.2 to 2.8)	0.004
Antibiotic exposures during the ICU stay				
Fluoroquinolone				
No	74 (71.2)	447 (65.9)	1	

Table 2 Relationship between *Pseudomonas aeruginosa* acquisition, characteristics on admission and exposures in the ICU^a (Continued)

1 to 3 days	9 (8.7)	85 (12.5)	0.6 (0.3 to 1.3)	0.2
>3 days	21 (20.2)	146 (21.5)	0.9 (0.5 to 1.5)	0.6
Carbapenem				
No	64 (61.5)	483 (71.2)	1	
1 to 3 days	10 (9.6)	64 (9.4)	1.2 (0.6 to 2.4)	0.7
>3 days	30 (28.8)	131 (19.3)	1.7 (1.1 to 2.8)	0.02
Ceftazidime				
No	94 (90.4)	618 (91.2)	1	
1 to 3 days	0 (0)	23 (3.4)	–	1
>3 days	10 (9.6)	37 (5.5)	1.8 (0.9 to 3.7)	0.1
Piperacillin-tazobactam				
No	79 (76)	549 (81)	1	
1 to 3 days	8 (7.7)	45 (6.6)	1.2 (0.6 to 2.7)	0.6
>3 days	17 (16.3)	84 (12.4)	1.4 (0.8 to 2.5)	0.2
Amikacin				
No	99 (95.2)	655 (96.6)	1	
1 to 3 days	1 (1)	13 (1.9)	0.5 (0.1 to 3.9)	0.5
>3 days	4 (3.8)	10 (1.5)	2.6 (0.8 to 8.6)	0.1
Any antibiotic	102 (98.1)	578 (85.3)	8.82 (2.1 to 36.3)	<0.001
Any antipseudomonal antibiotic				
No	30 (28.8)	246 (36.3)	1	
1 to 3 days	22 (21.2)	188 (27.7)	1 (0.5 to 1.7)	0.9
>3 days	52 (50)	244 (36)	1.7 (1.1 to 2.8)	0.02
Any non-antipseudomonal antibiotic				
No	20 (19.2)	231 (34.1)	1	
1 to 3 days	20 (19.2)	146 (21.5)	1.6 (0.8 to 3)	0.2
>3 days	64 (61.5)	301 (44.4)	2.5 (1.4 to 4.2)	<0.001

^aAPACHE II, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II; CI, Confidence interval; CVC, Central venous catheter; ICU, Intensive care unit; IQR, Interquartile range; OR, Odds ratio; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment. Variables are expressed in terms of frequency as number of patients (%) and in terms of duration as median days (IQR). ^bValue corresponding to the 95th percentile. Variables with $P \leq 0.3$ introduced in the multivariate analysis and not shown include the following: infections on admission (pneumonia, urinary tract infection and primary bacteraemia), arterial catheter, nasogastric tube, corticosteroids, glycopeptides, clindamycin, macrolide, trimethoprim-sulphamethoxazole, linezolid, fluconazole, other penicillins and other cephalosporins. Variables with a P -value >0.3 are not shown and include the following: age; bone marrow transplant; solid organ transplant; solid organ cancer; haemodialysis; HIV infection; heart failure; chronic obstructive pulmonary disease; diabetes; prior corticosteroid and immunosuppressive therapy; admission within the previous year; respiratory, cardiovascular, central nervous system and other diseases as reasons for admission; catheter-related bacteraemia as prevalent infection; and renal replacement therapy.

colonized patient in the unit. This fact supports the notion that, in previously non-colonized patients, antibiotics cannot promote acquisition of resistance without relying on transmission. In another study on imipenem-resistant *A. baumannii* acquisition, antimicrobials were found to be a risk factor only for patients admitted during periods in which colonization pressure was low [45], suggesting that the role of antibiotics may be relatively more important when there are fewer opportunities for patient-to-patient transmission. Our data indicate that colonization pressure, measured as originally described [38], was an independent risk factor for the acquisition of *P. aeruginosa* in a critical care setting where most patients were exposed to antibiotics

(87% to any drug and 64.7% to an antipseudomonal antibiotic) and 19% of the acquisition episodes were due to cross-transmission. We think that having a daily colonization pressure chart for the main pathogens of interest in a given ICU may therefore be useful for quantifying the risk of new acquisitions and establish the appropriate control measures aimed at preventing this untoward event.

In regard to the role of antibiotics, the most striking finding of the present study was that fluoroquinolones were actually protective for the acquisition of *P. aeruginosa* and rather neutral for the acquisition of its resistance phenotypes. In critically ill patients, in the few previous

Table 3 Multivariate analysis of factors associated with *Pseudomonas aeruginosa* acquisition during ICU stay^a

Variables	OR (95% CI)	P-value
Shock	2.1 (1.2 to 3.7)	0.01
Colonization pressure >0.43	4 (1.2 to 12.8)	0.02
Intubation		
No	Reference group	
1 to 3 days	2.5 (1.2 to 5)	0.01
>3 days	3.6 (1.7 to 7.5)	0.001
Enteral nutrition		
No	Reference group	
1 to 3 days	3.6 (1.8 to 7.6)	0.001
>3 days	1 (0.5 to 2.1)	1
Tracheostomy	4.4 (2.3 to 8.3)	<0.001
Parenteral nutrition		
No	Reference group	
1 to 3 days	3.9 (1.6 to 9.6)	0.003
>3 days	1.1 (0.6 to 2.2)	0.7
Prior exposure to fluoroquinolones		
No	Reference group	
1 to 3 days	0.5 (0.2 to 1.2)	0.2
>3 days	0.4 (0.2 to 0.8)	0.01

^aCI, Confidence interval; ICU, Intensive care unit; OR, Odds ratio. Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test value of 9.7 ($P=0.2$).

studies in which researchers have specifically investigated *P. aeruginosa* acquisition, findings have been that fluoroquinolones are protective against it in the pharynx [46] or in any site [28]. In hospital-wide studies, levofloxacin (but not ciprofloxacin) has been reported to be protective against nosocomial infection due to fluoroquinolone-susceptible *P. aeruginosa* [12] and also against Gram-negative bacilli (including *P. aeruginosa*) colonization or infection with chromosomally mediated cephalosporin resistance [47]. All these data, including ours, suggest that fluoroquinolones, when administered to critically ill patients not previously colonized by *P. aeruginosa*, may decrease the burden of new acquisition, even in settings where the prevalence of resistance to fluoroquinolones is around

29%. Even more surprising is the persistent inability of our group to find an independent association between prior exposure to antipseudomonal quinolones and the acquisition of a particular resistant phenotype or MDR [28]. A plethora of previous case-control or cohort studies have linked this antibiotic class with resistance to themselves [11-13], to antipseudomonal β -lactams [10,17-19] or to multiple drugs [21,23,25-27]. We do not have a satisfactory explanation of this discrepancy, but the fact that we found such association (of prior use of quinolones with resistance to themselves and MDR) in the univariate analysis, but not in the multivariate analysis, enhances the absolute need of careful consideration of potential confounders. In contrast to fluoroquinolones, the present data confirm the involvement of prior carbapenem use in acquisition of resistance to itself [9,14-16]. It is of note that, in our experience, both quinolones and carbapenems had a higher propensity than ceftazidime or piperacillin-tazobactam to select resistance to themselves when administered to patients previously colonized with susceptible strains. These data suggest that, in critically ill patients not colonized by *P. aeruginosa* or at low risk of carriage, quinolones may be safer than carbapenems in terms of risk of acquisition of resistant strains and may even lower the burden of *P. aeruginosa*. In other circumstances, ceftazidime and piperacillin-tazobactam can be associated with a lower risk of resistance acquisition because they apparently have a lesser tendency than carbapenems to select resistance in patients previously colonized. However, when trying to select an appropriate empirical antibiotic regimen in patients with severe sepsis, it remains appropriate to avoid the administration of a recently used antipseudomonal antibiotic, to take into consideration the local rates of *P. aeruginosa* resistance if this pathogen is an issue and to consider the risk of other MDR microorganisms [48].

In the present study, previous administration of amikacin was associated with the acquisition of resistance to fluoroquinolone, piperacillin-tazobactam and multiple drugs in the multivariate analysis. A small number of prior studies have also noted an association between amikacin or aminoglycosides and acquisition of *P. aeruginosa* resistant

Table 4 *Pseudomonas aeruginosa* resistance to antibiotics when first detected and cross-transmission cases^a

Resistant antibiotics	Upon admission as susceptible	Acquired in ICU as susceptible	Acquired in ICU as resistant
Ceftazidime (n =40)	2 (5)	8 (20) [0]	30 (75) [15]
Carbapenems (n =46)	2 (4)	5 (11) [0]	39 (85) [16]
Piperacillin-tazobactam (n =31)	1 (3)	11 (35) [1]	19 (61) [11]
Quinolones (n =39)	2 (5)	8 (21) [0]	29 (74) [15]
Amikacin (n =1)	0	0	1 (100) [1]
MDR (n =31)	2 (6)	7 (23) [0]	22 (71) [14]

^aICU, Intensive care unit; MDR, Multidrug-resistant. Number of patients in whom *P. aeruginosa* resistant to the different antipseudomonal antibiotics was isolated during ICU stay, resistance status of the strains when first detected (percentage) and number of cases due to cross-transmission [in brackets].

to imipenem, [9,14] ceftazidime [9], piperacillin-tazobactam [8] and multiple drugs [13,24]. We consider that such an association cannot be attributed to the selection of MexXY overproducers [49], because no increase in amikacin minimum inhibitory concentrations were observed. Although relying on multivariate analysis, there is still room for non-casual associations; hence, these should be validated in other studies.

Many of the non-antibiotic-related confounders in our study denoting exposure to medical devices, severity of the underlying condition and duration of critical status have previously been reported as risk factors for the acquisition of any *P. aeruginosa* or strains with single-drug resistance or MDR phenotypes [3,28,50].

This study has several limitations, the most obvious being that it was conducted in a single medical ICU whose results may not be applicable to other settings with different epidemiological characteristics. In addition, the number of outcomes regarding the different resistance phenotypes and MDR were scarce, thus increasing uncertainty about the quality of the multivariate models. On the other hand, as sensitivity of surveillance cultures was probably not complete, the colonization status of some patients could have been misclassified. Finally, information about compliance with infection control measures during the study period and surveillance cultures from the environment was not available.

Conclusions

In ICU settings with a high rate of antibiotic use, colonization pressure and non-antibiotic exposures may be more important than antibiotics as determinants of *P. aeruginosa* acquisition; antipseudomonal quinolones may actually prevent it; and, regarding the acquisition of resistance to selected β -lactams (piperacillin-tazobactam), fluoroquinolones and multiple drugs, exposure to amikacin may be a more crucial risk factor than previously recognized.

Key messages

- In ICU settings with a high rate of antibiotic use, colonization pressure and non-antibiotic exposures are the main determinants of *P. aeruginosa* acquisition.
- Fluoroquinolones may prevent the acquisition of *P. aeruginosa*.
- Carbapenem exposure is associated with acquisition of carbapenem resistance, and amikacin exposure is associated with acquisition of resistance to piperacillin-tazobactam and fluoroquinolones and MDR.
- In previously sensitive strains of *P. aeruginosa*, emergence of resistance occurs more frequently after exposure to carbapenems and fluoroquinolones than to ceftazidime or piperacillin-tazobactam.

Additional files

Additional file 1: Reasons for admission of the entire cohort (850 patients).

Additional file 2: Sites of primary and secondary *P. aeruginosa* acquisition.

Additional file 3: Relationship between acquisition of resistance to antipseudomonal antibiotics and prior exposure to different agents.

Additional file 4: Multivariate analysis of factors associated with acquisition of resistance to each antipseudomonal agent and MDR.

Abbreviations

APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; CI: Confidence interval; CNS: Central nervous system; COPD: Chronic obstructive pulmonary disease; CVC: Central venous catheter; ICU: Intensive care unit; IQR: Interquartile range; MDR: Multidrug-resistant; MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; OR: Odds ratio; PDR: Pandrug-resistant; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; VRE: Vancomycin-resistant enterococci; XDR: Extensively drug-resistant.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

JAM, PC, JMN, JV, AS and JM participated in the conception, design, analysis and interpretation of the data and drafted the manuscript. NC participated in the collection, analysis and interpretation of the data and drafted the manuscript. MS performed microbiological analysis and participated in analysis and interpretation of the data. CH, MR, SF and JLT participated in acquisition and interpretation of the data and revised the manuscript critically. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

This study was supported by a grant from the Fondo de Investigación Sanitaria, Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España (PI050167 to JAM); by a grant from the Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació de la Generalitat de Catalunya (2014SGR653 to MS); and by funding from the European Community (SATURN, contract HEALTH-F3-2009241796 to MS). NC is the recipient of a Río Hortega grant (CM12/00155) from the Instituto de Salud Carlos III and has also been supported by Fundación Privada Máximo Soriano Jiménez.

Author details

¹Department of Infectious Diseases, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), University of Barcelona, Barcelona, Spain. ²ISGlobal, Barcelona Center for International Health Research (CRESB), Hospital Clínic, University of Barcelona, Barcelona, Spain. ³Medical Intensive Care Unit, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), University of Barcelona, Barcelona, Spain. ⁴Department of Clinical Microbiology, Hospital Clínic, School of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain. ⁵Department of Internal Medicine, University Hospital of Salamanca, Institute of Biomedical Research of Salamanca (IBSAL), Salamanca, Spain.

Received: 26 February 2015 Accepted: 10 April 2015

Published online: 04 May 2015

References

1. Kollef MH, Chastre J, Fagon JY, François B, Niederman MS, Rello J, et al. Global prospective epidemiologic and surveillance study of ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Crit Care Med*. 2014;42:2178–87.
2. Bonten MJ, Bergmans DC, Speijer H, Stobberingh EE. Characteristics of polyclonal endemicity of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in intensive care units. Implications for infection control. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:1212–9.
3. Venier AG, Leroyer C, Slekovec C, Talon D, Bertrand X, Parer S, et al. Risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* acquisition in intensive care units: a prospective multicentre study. *J Hosp Infect*. 2014;88:103–8.

4. El Amari EB, Chamot E, Auckenthaler R, Pechère JC, Van Delden C. Influence of previous exposure to antibiotic therapy on the susceptibility pattern of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremic isolates. *Clin Infect Dis*. 2001;33:1859–64.
5. Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, Samore MH. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:1379–82.
6. Riou M, Carbonnelle S, Avrain L, Mesaros N, Pirnay JP, Bilocq F, et al. In vivo development of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from the lower respiratory tract of Intensive Care Unit patients with nosocomial pneumonia and receiving antipseudomonal therapy. *Int J Antimicrob Agents*. 2010;36:513–22.
7. Lipsitch M, Bergstrom CT, Levin BR. The epidemiology of antibiotic resistance in hospitals: paradoxes and prescriptions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:1938–43.
8. Harris AD, Perencevich E, Roghmann MC, Morris G, Kaye KS, Johnson JA. Risk factors for piperacillin-tazobactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:854–8.
9. Fortaleza CMCB, Freire MP, de Carvalho Moreira Filho D, de Carvalho Ramos M. Risk factors for recovery of imipenem- or ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among patients admitted to a teaching hospital in Brazil. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006;27:901–6.
10. Akhbarue E, Synnestvedt M, Weiner MG, Bilker WB, Lautenbach E. Cefepime-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Emerg Infect Dis*. 2011;17:1037–43.
11. Richard P, Delangle MH, Raffi F, Espaze E, Richet H. Impact of fluoroquinolone administration on the emergence of fluoroquinolone-resistant Gram-negative bacilli from gastrointestinal flora. *Clin Infect Dis*. 2001;32:162–6.
12. Kaye KS, Kanafani ZA, Dodds AE, Engemann JJ, Weber SG, Carmeli Y. Differential effects of levofloxacin and ciprofloxacin on the risk for isolation of quinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:2192–6.
13. D'Agata EMC, Cataldo MA, Cauda R, Tacconelli E. The importance of addressing multidrug resistance and not assuming single-drug resistance in case-control studies. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006;27:670–4.
14. Harris AD, Smith D, Johnson JA, Bradham DD, Roghmann MC. Risk factors for imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients. *Clin Infect Dis*. 2002;34:340–5.
15. Lautenbach E, Synnestvedt M, Weiner MG, Bilker WB, Vo L, Schein J, et al. Imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: emergence, epidemiology, and impact on clinical and economic outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31:47–53.
16. Harris AD, Johnson JK, Thom KA, Morgan DJ, McGregor JC, Ajao AO, et al. Risk factors for development of intestinal colonization with imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit setting. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011;32:719–22.
17. Trouillet JL, Vuagnat A, Combes A, Kassis N, Chastre J, Gibert C. *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia: comparison of episodes due to piperacillin-resistant versus piperacillin-susceptible organisms. *Clin Infect Dis*. 2002;34:1047–54.
18. Gasink LB, Fishman NO, Nachamkin I, Bilker WB, Lautenbach E. Risk factors for and impact of infection or colonization with aztreonam-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007;28:1175–80.
19. Lin KY, Lauderdale TL, Wang JT, Chang SC. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Taiwan: prevalence, risk factors, and impact on outcome of infections. *J Microbiol Immunol Infect*. In press. doi: 10.1016/j.jmii.2014.01.005.
20. López-Dupla M, Martínez JA, Vidal F, Almela M, Soriano A, Marco F, et al. Previous ciprofloxacin exposure is associated with resistance to β -lactam antibiotics in subsequent *Pseudomonas aeruginosa* bacteremic isolates. *Am J Infect Control*. 2009;37:753–8.
21. Defez C, Fabbro-Peray P, Bouzuges N, Gouby A, Mahamat A, Daurès JP, et al. Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infection. *J Hosp Infect*. 2004;57:209–16.
22. Cao B, Wang H, Sun H, Zhu Y, Chen M. Risk factors and clinical outcomes of nosocomial multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Hosp Infect*. 2004;57:112–8.
23. Paramythiotou E, Lucet J, Timsit JF, Vanjak D, Paugam-Burtz C, Trouillet J, et al. Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in intensive care units: role of antibiotics with antipseudomonal activity. *Clin Infect Dis*. 2004;38:670–7.
24. Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:43–8.
25. Lodise TP, Miller CD, Graves J, Furuno JP, McGregor JC, Lomaestro B, et al. Clinical prediction tool to identify patients with *Pseudomonas aeruginosa* respiratory tract infections at greatest risk for multidrug resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:417–22.
26. Gómez-Zorrilla S, Camoez M, Tubau F, Periche E, Cañizares R, Domínguez MA, et al. Antibiotic pressure is a major risk factor for rectal colonization by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:5863–70.
27. Montero M, Sala M, Riu M, Belvis F, Salvado M, Grau S, et al. Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* acquisition: impact of antibiotic use in a double case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29:335–9.
28. Martínez JA, Delgado E, Martí S, Marco F, Vila J, Mensa J, et al. Influence of antipseudomonal agents on *Pseudomonas aeruginosa* colonization and acquisition of resistance in critically ill medical patients. *Intensive Care Med*. 2009;35:439–47.
29. Chastre J, Wunderink R, Prokocimer P, Lee M, Kaniga K, Friedland I. Efficacy and safety of intravenous infusion of doripenem versus imipenem in ventilator-associated pneumonia: a multicenter, randomized study. *Crit Care Med*. 2008;36:1089–96.
30. Ong DSY, Jongerden JP, Buiting AG, Leverstein-van Hall MA, Speelberg B, Kesecioglu J, et al. Antibiotic exposure and resistance development in *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter* species in intensive care units. *Crit Care Med*. 2011;39:2458–63.
31. Lodise TP, Miller C, Patel N, Graves J, McNutt LA. Identification of patients with *Pseudomonas aeruginosa* respiratory tract infections at greatest risk of infection with carbapenem-resistant isolates. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007;28:959–65.
32. Ajao AO, Harris AD, Roghmann MC, Johnson JK, Zhan M, McGregor JC, et al. Systematic review of measurement and adjustment for colonization pressure in studies of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant enterococci, and *Clostridium difficile* acquisition. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011;32:481–9.
33. DalBen MF, Basso M, Garcia CP, Costa SF, Toscano CM, Jarvis WR, et al. Colonization pressure as a risk factor for colonization by multiresistant *Acinetobacter* spp and carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. *Clinics (Sao Paulo)*. 2013;68:1128–33.
34. Martínez JA, Nicolás JM, Marco F, Horcajada JP, Garcia-Segarra G, Trilla A, et al. Comparison of antimicrobial cycling and mixing strategies in two medical intensive care units. *Crit Care Med*. 2006;34:329–36.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 19th informational supplement. CLSI Document M100-S19. Wayne, PA: CLSI; 2009.
36. Durmaz R, Otlu B, Koksall F, Hosoglu S, Ozturk R, Ersoy Y, et al. The optimization of a rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Jpn J Infect Dis*. 2009;62:372–7.
37. Magiorakos A, 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.
38. Bonten MJ, Slaughter S, Ambergen AW, Hayden MK, van Voorhis J, Nathan C, et al. The role of "colonization pressure" in the spread of vancomycin-resistant enterococci: an important infection control variable. *Arch Intern Med*. 1998;158:1127–32.
39. Hyle EP, Gasink LB, Linkin DR, Bilker WB, Lautenbach E. Use of different thresholds of prior antimicrobial use in defining exposure: impact on the association between antimicrobial use and antimicrobial resistance. *J Infect*. 2007;55:414–8.
40. Patel N, McNutt LA, Lodise TP. Relationship between various definitions of prior antibiotic exposure and piperacillin-tazobactam resistance among patients with respiratory tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:2933–6.
41. Merrer J, Santoli F, Appéré de Vecchi C, Tran B, De Jonghe B, Outin H. "Colonization pressure" and risk of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000;21:718–23.
42. Lawrence SJ, Puzniak LA, Shadel BN, Gillespie KN, Kollef MH, Mundy LM. *Clostridium difficile* in the intensive care unit: epidemiology, costs, and colonization pressure. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007;28:123–30.

43. Playford EG, Craig JC, Iredell JR. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit patients: risk factors for acquisition, infection and their consequences. *J Hosp Infect.* 2007;65:204–11.
44. Boyer A, Doussau A, Thiébaud R, Venier AG, Tran V, Boulestreau H, et al. *Pseudomonas aeruginosa* acquisition on an intensive care unit: relationship between antibiotic selective pressure and patients' environment. *Crit Care.* 2011;15:R55.
45. Castelo Branco Fortaleza CM, Moreira de Freitas F, da Paz Lauterbach G. Colonization pressure and risk factors for acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a medical surgical intensive care unit in Brazil. *Am J Infect Control.* 2013;41:263–5.
46. Fortaleza CMCB, Figueiredo LC, Beraldo CC, de Melo EC, Póla PMS, Aragão VDN. Risk factors of oropharyngeal carriage of *Pseudomonas aeruginosa* among patients from a medical-surgical intensive care unit. *Braz J Infect Dis.* 2009;13:173–6.
47. Schwaber MJ, Cosgrove SE, Gold HS, Kaye KS, Carmeli Y. Fluoroquinolones protective against cephalosporin resistance in Gram-negative nosocomial pathogens. *Emerg Infect Dis.* 2004;10:94–9.
48. Bhat S, Fujitani S, Potoski BA, Capitano B, Linden PK, Shutt K, et al. *Pseudomonas aeruginosa* infections in the intensive care unit: can the adequacy of empirical β -lactam antibiotic therapy be improved? *Int J Antimicrob Agents.* 2007;30:458–62.
49. Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T. Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:3322–7.
50. Voor in 't holt AF, Severin JA, Lesaffre EMEH, Vos MC. A systematic review and meta-analyses show that carbapenem use and medical devices are the leading risk factors for carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:2626–37.

**Submit your next manuscript to BioMed Central
and take full advantage of:**

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



Status update for your submission to PLOS ONE: PONE-D-15-39335 - [EMID:9fd9f873b4a2cfc7]

em.pone.b33c5.47430d.37a866e0@editorialmanager.com en nombre de KWF PLOS [em@editorialmanager.com]

Enviado:miércoles, 18 de noviembre de 2015 20:30

Para: COBOS, NAZARET (ICMID)

PONE-D-15-39335

Evaluation of a Mixing versus a Cycling Strategy of Antibiotic Use in Critically-ill Medical Patients: Impact on Acquisition of Resistant Microorganisms and Clinical Outcomes.

Mrs. Nazaret Cobos-Trigueros

PLOS ONE

Dear Mrs. Cobos-Trigueros,

Thank you for your submission to PLOS ONE.

We would like to take this opportunity to update you with regards to the current status of your manuscript, as we are aware that it is taking longer than we anticipated for you to receive a decision on your submission.

As you know, we always strive to provide authors with decisions as quickly as possible. Unfortunately, this is not always possible especially when it proves necessary to consult external referees. In regards to your manuscript PONE-D-15-39335, it appears that we are waiting for a review, which is currently outstanding. We are aware of this delay, and are following up with the relevant individuals to move your paper forward as swiftly as possible. Once all the reviews are submitted, the Academic Editor will be able to make a decision regarding your manuscript, and inform you of their decision.

We appreciate your patience, and hope you will contact us if you have any questions or concerns.

Kind Regards,

KWF Editorial Services

On behalf of

PLOS ONE

Submissions Being Processed for Author Nazaret Cobos-Trigueros

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Current Status
View Submission View QC Results Send E-mail	PONE-D-15-39335	Evaluation of a Mixing versus a Cycling Strategy of Antibiotic Use in Critically-Ill Medical Patients: Impact on Acquisition of Resistant Microorganisms and Clinical Outcomes.	Sep 9 2015 12:02PM	Under Review

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

[<< Author Main Menu](#)

In vivo evolution of resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients admitted to an intensive care unit: mechanisms of resistance and antimicrobial exposure

Mar Solé^{1†}, Anna Fàbrega^{1†}, Nazaret Cobos-Trigueros², Laura Zamorano³, Mario Ferrer-Navarro¹, Clara Ballesté-Delpierre¹, Anna Reustle¹, Pedro Castro², José María Nicolás², Antonio Oliver³, José Antonio Martínez² and Jordi Vila^{1,2*}

¹ISGlobal, Barcelona Ctr. Int. Health Res. (CRESIB), Hospital Clínic - Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain; ²Hospital Clínic, IDIBAPS, University of Barcelona, Barcelona, Spain; ³University Hospital Son Espases, Palma de Mallorca, Spain

*Corresponding author. Servei de Microbiologia, Centre de Diagnòstic Biomèdic, Hospital Clínic, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Villarroel 170, Barcelona 08036, Spain. Tel: +34-93-2275522; Fax: +3493-2279372; E-mail: jvila@ub.edu

†These authors equally contributed to this work.

Received 1 April 2015; returned 13 May 2015; revised 23 June 2015; accepted 4 July 2015

Objectives: The main objective of this study was to investigate the relationship among the *in vivo* acquisition of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates, the underlying molecular mechanisms and previous exposure to antipseudomonal agents.

Methods: PFGE was used to study the molecular relatedness of the strains. The MICs of ceftazidime, cefepime, piperacillin/tazobactam, imipenem, meropenem, ciprofloxacin and amikacin were determined. Outer membrane protein profiles were assessed to study OprD expression. RT-PCR was performed to analyse *ampC*, *mexB*, *mexD*, *mexF* and *mexY* expression. The presence of mutations was analysed through DNA sequencing.

Results: We collected 17 clonally related paired isolates [including first positive samples (A) and those with MICs increased ≥ 4 -fold (B)]. Most B isolates with increased MICs of imipenem, meropenem and ceftazidime became resistant to these drugs. The most prevalent resistance mechanisms detected were OprD loss (65%), *mexB* overexpression (53%), *ampC* derepression (29%), quinolone target gene mutations (24%) and increased *mexY* expression (24%). Five (29%) B isolates developed multidrug resistance. Meropenem was the most frequently (71%) received treatment, explaining the high prevalence of *oprD* mutations and likely *mexB* overexpression. Previous exposure to ceftazidime showed a higher impact on selection of increased MICs than previous exposure to piperacillin/tazobactam.

Conclusions: Stepwise acquisition of resistance has a critical impact on the resistance phenotypes of *P. aeruginosa*, leading to a complex scenario for finding effective antimicrobial regimens. In the clinical setting, meropenem seems to be the most frequent driver of multidrug resistance development, while piperacillin/tazobactam, in contrast to ceftazidime, seems to be the β -lactam least associated with the selection of resistance mechanisms.

Introduction

Nosocomial infections are of particular importance among patients admitted to ICUs. In Europe, the percentage of such infections has been reported to be >20 , the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* being the second most frequently isolated microorganism.¹ The incidence of patients with positive samples on admission and those acquiring the pathogen during ICU stay reportedly ranges from 12% to 34%.²⁻⁴ These infections threaten the successful outcome of ICU patients, not only since *P. aeruginosa* isolates display high rates of resistance to most antibiotics but also because MDR strains are increasingly prevalent.^{5,6} This situation is more relevant among isolates collected from ICU

patients because of a trend towards higher rates of resistance, particularly to quinolones and β -lactams.⁷ The high intrinsic antibiotic resistance levels described for this multifaceted pathogen, together with its remarkable capacity for acquiring additional resistance mechanisms, explains this complex scenario and defines a serious therapeutic challenge when the need to combat these infections is presented.

The most important antipseudomonal agents include β -lactams (e.g. cefepime, ceftazidime, piperacillin/tazobactam, imipenem and meropenem), quinolones (e.g. ciprofloxacin) and aminoglycosides (e.g. amikacin and gentamicin).⁷ The chromosomal mechanisms leading to increased MICs of these compounds have been extensively studied. Broad-range mechanisms

have been described, such as overexpression of the chromosomally encoded cephalosporinase *ampC* and increased efflux. AmpC hyperproduction has been reported to contribute to resistance or decreased susceptibility to most β -lactam compounds.⁷ Mutations acquired within the *ampR* gene, a positive transcriptional regulator,⁸ or in the *ampD* and *dacB* genes,^{9,10} two negative modulators, derepress *ampC*. Moreover, inactivation of *ampD* homologues, i.e. *ampDh2* and *ampDh3*, has also been reported to increase *ampC* expression once AmpD is inactivated.¹¹

The most relevant and prevalent efflux systems characterized in *P. aeruginosa* are MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN and MexXY, with different profiles of exportable substrates, including quinolones, penicillins, cephalosporins, carbapenems and aminoglycosides.^{7,12} Mutations reported in several regulators up-regulate their expression: MexR,¹³ NalC¹⁴ and NalD¹⁵ are repressors for MexAB-OprM, NfxB for MexCD-OprJ¹⁶ and MexZ for MexXY,^{17,18} whereas for MexEF-OprN, MexT acts as a positive regulator (frequently silent among clinical isolates due to an 8 bp insertion)^{19,20} that activates *mexS*, an upstream gene that negatively modulates MexEF levels.²¹

Two additional specific mechanisms have also been reported. Firstly, the loss or decreased production of the OprD protein, which is used as an entrance channel for carbapenems such as imipenem and meropenem,²² contributes to decreasing susceptibility to these compounds.²³ Secondly, the acquisition of mutations in the quinolone resistance-determining regions (QRDRs) of the target genes for quinolones compromises their antimicrobial activity, particularly in the case of ciprofloxacin.²⁴

Several reports have studied the mechanisms leading to multidrug resistance in *P. aeruginosa* strains.^{10,18,25} Other reports have assessed the risk factors and impact of antimicrobial treatment in ICU patients on the increasing rates of drug resistance.^{2,4} Nonetheless, there is a lack of studies on both the *in vivo* acquisition of resistance or decreased susceptibility to antipseudomonal compounds in *P. aeruginosa* strains collected from ICU patients, and the molecular mechanisms underlying this condition. The aim of this study was to investigate the *in vivo* acquisition of antimicrobial resistance in *P. aeruginosa* strains and to characterize the mechanisms of resistance selected during hospitalization of patients admitted to an ICU in a hospital in Barcelona, Spain. Moreover, the influence of the antimicrobial treatment on the selection of resistance in *P. aeruginosa* isolates was also considered.

Materials and methods

Study design, sample collection and bacterial isolates

All patients admitted for >48 h to an 8 bed medical ICU of a tertiary hospital from March 2006 to December 2008 were included in the study. The study protocol was performed according to the Declaration of Helsinki and approved by the research ethics committee of the hospital (approval reference number 2616). Within 48 h of admission and thrice weekly thereafter, cultures of nasal, pharynx, tracheal aspirates and rectum were performed and screened for the presence of *P. aeruginosa* isolates. Other clinical samples were obtained as deemed necessary by the attending physician. When more than one positive sample was obtained from a single patient, the selection of the bacterial isolates was as follows: A isolates were recovered from the first positive sample; and B isolates were clonally related isolates subsequently recovered from the same patient displaying a ≥ 4 -fold increase in the MIC of the most relevant

antipseudomonal agents (ceftazidime, cefepime, piperacillin/tazobactam, imipenem, meropenem, ciprofloxacin or amikacin).

Moreover, the number of days of antibiotic treatment was recorded after the first detection of a *P. aeruginosa*-positive sample (acquisition of A isolate) until acquisition of the paired B isolate was detected.

Molecular typing

The genetic relatedness of all the *P. aeruginosa* isolates was assessed by PFGE as previously reported with some modifications.²⁶ Strains were grown overnight on blood agar plates (Becton Dickinson) to prepare a 1.5 McFarland density. One millilitre of this bacterial suspension was centrifuged and pellets were resuspended in 120 μ L of CSB buffer [100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 10 mM EDTA] and mixed with an equal volume of molten 2% InCert[®] agarose (Lonza). The DNA was digested with 20 U of SpeI enzyme (New England Biolabs) and incubated at 37°C for 17 h. The digested DNA was run in a CHEF-DR III system (Bio-Rad) with the following running parameters: 6 V/cm at 14°C with pulse times ramping from 5 to 25 s for 20 h. Gels were stained with SYBR[®] Safe (Invitrogen) and documented in an ImageQuant[™] LAS 4000 (GE Healthcare). Pair images were analysed with the Dice coefficient and the unweighted pair group method with average linkage (UPGMA) using InfoQuestFP software version 4.5 (Bio-Rad). All paired isolates obtained from the same patient were considered as the same clone when >90% similarity was detected.

Susceptibility testing

The MICs of ceftazidime, cefepime, piperacillin/tazobactam, imipenem, meropenem, ciprofloxacin and amikacin were determined for all the A and B isolates. *P. aeruginosa* ATCC 27853 was included as a control. The broth microdilution method and interpretation of clinical breakpoints were based on CLSI guidelines.²⁷

Outer membrane protein profile

The expression profile of the outer membrane proteins was performed for the paired isolates suspected of having decreased OprD production: B isolates displaying a ≥ 4 -fold increase in the MICs of imipenem and/or meropenem, as well as A isolates already showing an MIC of imipenem ≥ 8 mg/L. In both situations the A and B isolates were compared. Four millilitres of overnight culture grown at 37°C with shaking was centrifuged at 13 000 rpm for 4 min. Pellets were rinsed twice with chilled Tris-Mg buffer (10 mM Tris-HCl, 5 mM MgCl₂, pH 7.3) and resuspended in 1 mL of the same buffer. Bacterial cells were broken by sonication (two cycles of 6 \times 5 s). Unbroken cells were removed by centrifugation for 2 min at 5000 rpm. Supernatants were centrifuged again at 13 000 rpm for 30 min at 4°C. Pellets were further resuspended in 0.8 mL of 2% sodium lauroyl sarcosinate prepared in Tris-Mg buffer and incubated for 25 min at room temperature. Samples were centrifuged at 13 000 rpm for 30 min at 4°C and pellets resuspended in 40 μ L of 1 \times Laemmli buffer. Protein samples were loaded on 10% SDS-PAGE and the gel was stained with Coomassie Brilliant Blue R-250 (Bio-Rad). Bands of molecular mass ~44–46 kDa were recovered and identified by peptide mass fingerprinting using MALDI-TOF.

Gene expression analysis

The expression of the genes encoding the four major *P. aeruginosa* efflux pumps *mexB*, *mexD*, *mexF* and *mexY* and that of *ampC* was determined by RT-PCR for all paired isolates and PAO1²⁸ (as a control) following previously described protocols.²⁵ Briefly, strains were grown in 10 mL of LB broth at 37°C and shaking to the late log phase (OD₆₀₀=1) and collected by centrifugation. Total RNA was isolated using the RNeasy Mini Kit (Qiagen), dissolved in water and treated with 2 U of turboDNase

(Ambion) for 30 min at 37°C to remove contaminating DNA. A 50 ng sample of purified RNA was then used for one-step RT-PCR amplification using the Quantitect SYBR green RT-PCR Kit (Qiagen) with an Eco Real-Time PCR System apparatus (Illumina). Previously described primers^{11,29} were used for the amplification of these genes and the *rpsL* gene (used as reference to normalize the relative amount of mRNA). Overexpression of the *ampC*, *mexD*, *mexF* and *mexY* genes was considered when the corresponding mRNA level was at least 10-fold higher than that of PAO1, negative if less than 5-fold higher and borderline if between 5- and 10-fold higher. Overexpression of *mexB* was considered when the corresponding mRNA level was at least 3-fold higher than that of PAO1, negative if less than 2-fold higher and borderline if between 2- and 3-fold higher.

PCR amplification, sequencing and detection of mutations

The QRDRs of the four quinolone target genes (*gyrA*, *gyrB*, *parC* and *parE*) were analysed for the presence of mutations after PCR amplification and sequencing in all paired isolates with increasing MICs of ciprofloxacin and those already resistant to this compound. The regulators of the major efflux systems were likewise screened for mutations in paired isolates showing increased expression of the corresponding pumps: *mexR*, *nalC* and *nalD* for MexAB-OprM, *nfxB* for MexCD-OprJ, *mexT* and *mexS* for MexEF-OprN, and *mexZ* for MexXY. In addition, the most important proteins described as influencing AmpC expression, *ampR*, *ampD*, *ampDh2*, *ampDh3* and *dacB*, were also studied for paired isolates displaying AmpC hyperproduction. Lastly, the *oprD* gene was also studied for the presence of mutations. The primers and conditions used for PCR amplification and sequencing are shown in Table S1 (available as Supplementary data at JAC Online). Amplicons were purified and sent to Beckman Coulter Genomics (Essex, UK) for sequencing reactions. Detection of mutations was performed using the Bioedit software by comparison with the available genome of *P. aeruginosa* PAO1 RefSeq NC_002516.2.

Statistical analysis

Proportions were compared by the Fisher's exact test. Calculations were made using the SPSS 20.0 version statistical package. *P* values <0.05 were considered statistically significant.

Results and discussion

P. aeruginosa-positive samples

A total of 850 patients were admitted to the ICU during the study period and, of these, 172 (20%) were reported to be positive for the presence of a *P. aeruginosa* isolate during their stay in the ICU. However, only 53 patients (6.2%) presented at least two positive samples belonging to the same clone. Among these 53 patients, paired isolates with increased MICs were recovered from 17 (32%) and were selected to study the mechanisms of antimicrobial resistance acquired during ICU stay.

The parameter for selection was to observe a ≥ 4 -fold increase in the MICs of any of the compounds studied on comparing the A (the first *P. aeruginosa* strain recovered) and B (clonally related *P. aeruginosa* strains with increased MICs) isolates. Moreover, these 17 paired isolates were not clonally related.

Antimicrobial susceptibility

The MICs of ceftazidime, cefepime, piperacillin/tazobactam, imipenem, meropenem, ciprofloxacin and amikacin were evaluated in all the A and B isolates (Table 1). The 17 paired isolates were classified into three groups according to the MIC of imipenem.

Group I included six paired isolates in which both A and B isolates were susceptible or intermediate to imipenem (MICs 2–4 mg/L). Group II was made up of six paired isolates for which all B isolates, compared with their paired A isolate, displayed a 4- to 16-fold increase in the MIC of imipenem (8–32 mg/L), thereby reaching the resistance breakpoint (Figure 1). Lastly, group III included the remaining five paired isolates, all of which were already resistant to imipenem (MICs 8–64 mg/L). In the case of meropenem a similar scenario was observed, albeit with lower MICs. Up to nine paired isolates showed increased MICs; however, not all group II strains could be classified as resistant (89% reached the resistance breakpoint) (Figure 1).

Concerning the remaining antibiotics, 8, 6, 9 and 10 isolates showed a ≥ 4 -fold increase in the MICs of ceftazidime, cefepime, piperacillin/tazobactam and ciprofloxacin, respectively (Figure 1). In comparison with the values observed for carbapenems, the percentage of resistant strains among the B isolates was slightly lower for ceftazidime (75%, MIC ≥ 32 mg/L) and much lower for cefepime (0%, MIC ≥ 32 mg/L), piperacillin/tazobactam (22%, MIC 256 mg/L) and ciprofloxacin (10%, MIC 4 mg/L). Contrarily to these results, no increase ≥ 4 -fold was observed in the MICs of amikacin in any case (MICs ranged from 1 to 8 mg/L).

Mechanisms of resistance

On studying the mechanisms of resistance acquired in the B isolates during ICU stay and those already present in the A isolates (Figure 2), the two most frequently detected were decreased OprD production (35% and 29%, respectively) and *mexB* overexpression (35% and 18%, respectively). *ampC* derepression was the third most prevalent mechanism, being mainly detected in the B isolates (24% versus 6% in A isolates). Nonetheless, it is worth mentioning that when moderate overexpression was considered (10- to 15-fold increased expression versus PAO1, strains 155A and 162B) no clear association was found with a specific phenotype of increased MICs. Only when higher expression values (>100 -fold) were recorded (i.e. strains 72B, 81B and 163B) were higher MICs observed for β -lactam compounds. Similar results suggesting a modest role for low-level *ampC* overexpression have already been reported.¹⁰

According to previous results,³⁰ OprD loss was associated with a uniform impact on the MICs of imipenem: all the strains showing reduced or no OprD production (B isolates of group II and A isolates of group III) were resistant. The strains in the present study did not show an association between increased MICs of imipenem and *ampC* overexpression, thus confirming previous reports;¹¹ OprD loss was likely to be the only mechanism underlying this phenotype. In contrast, but in agreement with the literature,^{30,31} we found a higher susceptibility to meropenem, and hence, OprD loss was insufficient to raise the MICs above the resistance breakpoint, requiring additional resistance mechanisms (i.e. *mexAB* overexpression), as previously described.^{32,33}

Concerning the B isolates with increased MICs of non-carbapenem β -lactams, we observed a higher prevalence of increased expression of *mexB* (35%) versus *ampC* derepression (18%). The first phenotype was clearly associated with a ≥ 4 -fold increase in the MICs of ceftazidime [*mexB* overexpression was present in 5 of 8 (63%) strains with an increase in the MIC of ceftazidime versus 1 of 9 (11%) strains without an increase, *P*=0.049] and piperacillin/tazobactam [6/9 (67%) versus 0/8,

was seen on increasing the MIC of cefepime. In the present study, decreased susceptibility to cefepime was more often (67%) associated with increased efflux (i.e. *mexB* and *mexY* overexpression).

Increased *mexY* expression was only observed in three A isolates (18%) and one B isolate (6%) (Figure 2), being a phenotype poorly associated with a specific pattern of resistance. However, as previously reported,¹⁷ a trend was observed for increased MICs of cefepime (4–8 mg/L), particularly in strain 87B, for which *mexY* overexpression was the only broad-range mechanism of resistance. *MexXY* overproduction has also been reported to increase the MICs of aminoglycosides.^{12,35} However, additional results have shown a limited impact on increased amikacin resistance in the absence of additional mechanisms, such as aminoglycoside-modifying enzymes.¹⁷ Similarly, in the present study, no important change was seen in the MIC of amikacin in any paired isolate.

Lastly, acquisition of QRDR mutations was more frequently detected among B isolates (18%) (Figure 2), which were all recovered from patients who received at least 1 day of treatment with ciprofloxacin. Nonetheless, in terms of increased MICs of ciprofloxacin among B isolates, the most frequent mechanism was overexpression of efflux pumps (80%), particularly *MexAB* (63%). This phenotype was associated with a 4- to 8-fold increase in the MIC of ciprofloxacin, whereas higher increments (16- to 33-fold) were related to QRDR mutations and, surprisingly, to overexpression of either *mexD* or *mexF*. Concerning these two efflux pumps, increased levels were observed in only one (6%) B isolate each (Figure 2), with similar prevalences of 4%³⁶ and 8.7%,³² respectively being reported. Only strain 163A showed high-level resistance to ciprofloxacin (MIC 32 mg/L), attributable to the presence of two QRDR mutations and simultaneous *mexY* overexpression. Similarly, ciprofloxacin-resistant mutants (MICs 8 to >32 mg/L, equivalent to 16- to 64-fold initial values) have been reported to harbour two QRDR mutations and overexpression of either *mexB* or *mexD*.³⁷ In contrast, despite showing one QRDR mutation and overexpression of an efflux system, two B isolates (87B and 37B) had MICs of ciprofloxacin of 2 and 0.5 mg/L, respectively.

All the phenotypes of increased MICs detected in the B isolates were related to specific mechanisms of resistance with only one exception, strain 162B, with a 4-fold increase in the MIC of ciprofloxacin. Other particular scenarios differed from the expected *in vitro* results regarding increased *mexB* transcription: (i) some B isolates had no increase in the MICs of any of the exportable substrates, such as meropenem (125B and 155B), ciprofloxacin (13B) and several β -lactams (166B and 37B). Contrarily, all *mexB*-overexpressing B isolates showed an increase in the MIC of piperacillin/tazobactam; and (ii) some A isolates (66A and 162A) showed MICs of meropenem and ciprofloxacin below the expected values. Other studies have also described efflux pump overproducers with low MICs of some compounds, such as ceftazidime, cefepime and ciprofloxacin.³² It has been suggested that the efflux pump *MexAB-OprM* may partially lose its ability to efficiently transport β -lactam antibiotics in *nfxB* mutants.³⁶ Likewise, certain clinical isolates may adapt to environmental situations leading to impaired *mexB* overexpression or partial loss of its pumping activity, hence justifying this incomplete phenotype.

MDR phenotype

Acquisition of an MDR phenotype is usually related to the acquisition of several mechanisms of resistance that trigger an increase

in the MIC of several unrelated compounds and are usually necessary to reach the breakpoints established for an isolate to be classified as resistant. Most studies have reported the combination of several mechanisms underlying MDR phenotypes.^{18,37} In the present study, five (29%) B isolates showed the acquisition of two different mechanisms during the study period. However, on considering the mechanisms present in the A isolates, a total of 12 (71%) B isolates harboured two to four different mechanisms and among these isolates only one (6%) overexpressed two efflux pumps (37B, *mexB* and *mexY*). It is of note that among the B isolates only two (33%) group I strains harboured multiple mechanisms of resistance, whereas the same was observed in five (83%) and five (100%) strains of groups II and III, respectively. These latter strains had the phenotype of *OprD* loss in common.

Even though the strains included in this study showed low-level resistance to meropenem (MICs 8–16 mg/L), the mechanisms involved were similar to those previously associated with higher levels of resistance, namely *OprD* loss plus overexpression of *mexB* (six strains), *mexY* (strain 41B) or both pumps (strain 37B). In agreement with these results, several studies have associated meropenem resistance (MICs 16–128 mg/L) with the coexpression of down-regulation of the *oprD* gene and increased *mexB* transcription, in addition to the overexpression of additional efflux pumps (*mexY* and/or *mexF*) in particular situations.^{32,37}

On analysing the number of strains with an MDR phenotype, defined as resistance to three or more compounds among the antimicrobials studied, five (29%) B isolates were classified as MDR [154B and 13B (group II) and 124B, 81B and 163B (group III)]. These results reveal a common trait for all these strains in that all were resistant to imipenem and most were resistant to meropenem. Previously reported analyses conducted with samples collected from ICU patients have shown that the percentage of multidrug resistance varies widely according to the study. High values have been documented in the USA¹⁸ and Iran,³⁸ with incidences of 54% and 60%, respectively. In contrast, other studies performed in Canada³⁹ and the Netherlands¹⁷ have reported lower percentages of 13% and 34%, respectively. Nonetheless, in the second study, isolates were considered MDR when resistance to at least two antimicrobial compounds was detected.

However, concerning the A isolates, none of the strains could be considered MDR. Likewise, Ortega *et al.*² did not find any MDR isolate prior to ICU admission. These results highlight the pressure that occurs in ICUs in regard to the selection of resistant strains since antimicrobial treatment, including antipseudomonal compounds, is extensively used. A similar study conducted by Riou *et al.*⁴⁰ also reported the negative impact of the antimicrobial regimens prescribed on the selection of resistance. These authors described a higher prevalence of late isolates resistant to cefepime and ciprofloxacin, whereas a higher percentage of such isolates were found to be resistant to meropenem and ceftazidime in the present study. As detected in both studies, amikacin-resistant isolates accounted for a low percentage or were even absent in our study.

Prior antibiotic exposure, increased MICs and emergence of resistance mechanisms

Sixteen out of 17 patients carrying B strains were exposed to antipseudomonal agents after the isolation of the corresponding A strain: 12 (71%) to meropenem, 7 (41%) to ciprofloxacin, 6

(35%) to ceftazidime and 6 (35%) to piperacillin/tazobactam. The median (range) days of exposure was 8 (2–22) for meropenem, 7 (1–18) for ciprofloxacin, 6 (2–17) for ceftazidime and 7 (1–15) for piperacillin/tazobactam. The only strain not exposed to these antibiotics (72B) showed an increase in the MICs of ceftazidime, cefepime and piperacillin/tazobactam MICs due to AmpC hyperproduction. However, it is important to take into account that this strain was previously exposed to ceftriaxone, a non-antipseudomonal β -lactam compound. This condition may explain the development of AmpC hyperproduction, according to previous reports showing the beneficial effects of replacing ceftriaxone with cefotaxime in terms of selection of AmpC hyperproducer enterobacterial strains.⁴¹

Exposure to meropenem, albeit without significant results, was more frequent among patients with: (i) strains showing a ≥ 4 -fold increase in the MICs of carbapenems [8/9 (89%)] than in those without an increase [4/8 (50%), $P=0.1$]; and (ii) strains losing OprD expression [6/6 versus 6/11 (55%), $P=0.1$]. Indeed, as expected, previous carbapenem (meropenem) exposure was required for the selection of OprD mutants in all cases. In terms of *mexB* overexpression, the vast majority [5/6 (83%)] of strains had been exposed to meropenem, although this previous treatment was also frequent among strains not developing *mexB* overexpression [7/11 (64%)]. These results mainly indicate the existence of two similarly important different mutational pathways leading to meropenem resistance upon treatment with this drug: OprD loss [5/9 (56%)] and *mexB* overexpression [4/9 (44%)]. It is noteworthy that all the B isolates displaying an MDR phenotype had been previously exposed to meropenem.

Previous ceftazidime exposure was significantly more frequent in patients with strains showing a ≥ 4 -fold increase in the MICs of ceftazidime [5/8 (63%)] than in those without an increase [1/9 (11%), $P=0.049$], and there was also a trend to an association with increased piperacillin/tazobactam MICs [5/9 (56%) versus 1/8 (13%), $P=0.1$]. However, previous exposure to piperacillin/tazobactam was not associated with increased MICs to this combination [3/9 (33%) versus 3/8 (38%), $P=1$] or to ceftazidime [3/8 (38%) versus 3/9 (33%), $P=1$]. In regard to the mechanisms of resistance, prior exposure to ceftazidime showed a trend, albeit not significant, towards being associated with acquisition of *mexB* overexpression [4/6 (68%) versus 2/11 (18%), $P=0.1$] but no trend towards an association with AmpC hyperproduction [1/4 (25%) versus 5/13 (38%), $P=1$]. No association was observed between exposure to piperacillin/tazobactam and the acquisition of *mexB* overexpression [2/6 (33%) versus 4/11 (36%), $P=1$] or AmpC hyperproduction [2/4 (50%) versus 4/13 (31%), $P=0.5$].

Lastly, prior exposure to quinolones more commonly occurred in patients with strains in which the MICs of ciprofloxacin increased ≥ 4 -fold [7/10 (70%) versus 2/7 (29%), $P=0.15$] and in those that acquired a QRDR mutation [3/3 versus 6/14 (43%), $P=0.2$]. Thus, all strains developing QRDR mutations had previously been exposed to ciprofloxacin.

These data suggest that the piperacillin/tazobactam combination has the lowest potential for selecting overproducing efflux pump and AmpC derepressed mutants. Therefore, it may be the least ecologically dangerous antipseudomonal β -lactam and hence the drug of choice in the treatment of patients with no previous exposure to *P. aeruginosa*. The lower ability of piperacillin/tazobactam to select for AmpC hyperproduction may be due to the slight inhibitory activity of tazobactam against this

β -lactamase class and the higher activity of this combination against derepressed mutants.^{42,43} In the clinical setting, some reports have suggested a lower potential of piperacillin/tazobactam than cephalosporins for selecting AmpC derepressed mutants in patients with bacteraemia by *Enterobacter* spp.⁴⁴ However, this effect has not been described in patients with *P. aeruginosa*. According to our data, ceftazidime exposure seems to primarily select for *mexB* overexpression, whereas data available in the literature have reported the ease of selecting AmpC hyperproduction *in vitro*,⁴⁵ a trait usually present in clinical strains resistant to this antibiotic.²⁵ It should also be noted that nearly all strains developing *mexB* overexpression had been additionally exposed to meropenem, making it difficult to determine the impact of each antimicrobial therapy. Antibiotic exposure at the site of infection or colonization may differ according to the clinical condition of the patient and dose schedules, hence the prevalence of the several mechanisms underlying the increase in the MICs of a given antibiotic may vary in different clinical settings.⁴⁶ As has been previously observed,^{45,47} the present data confirm that OprD loss and QRDR mutations are very specific signatures of carbapenem and quinolone exposure, respectively.

Mutations underlying the resistance phenotype

The molecular mechanisms responsible for the resistance phenotypes observed are described in Table 1. The gene expression values obtained from RT-PCR analyses are detailed in Table S2. Mutations considered to behave as polymorphisms are included in Table S3. MexR can be considered to be the most relevant target for the acquisition of mutations leading to MexAB overproduction.^{48,49} Similarly, in this study all but one *mexB* overproducer strain carried an impaired *mexR* coding sequence, whereas none of the strains analysed harboured mutations within *nalC* or *nalD*. Among the three different amino acid changes identified, only Thr-69→Pro has been previously reported.⁵⁰ The remaining substitutions (Ile-72→Ser and Thr-98→Ile) are, however, located close to previously described mutations.^{32,48,50} Strain 13B did not acquire any mutation in the three regulators characterized, and hence we propose it be named the *nalE*-type mutant. Strain 13A carried an amino acid substitution in MexR that was not associated with any phenotypic change (Gly-58→Glu). Although this mutation has been previously found in *mexB* overproducers,⁵⁰ this substitution may actually be a polymorphism, and additional undetected mutations in the *nalC*, *nalD* or *nalE* loci may be the real mechanism.

The only strain overexpressing *mexD* carried a previously characterized mutation in the *nfxB* gene (Glu-146→Lys).⁵¹ Strain 87B, reported to overexpress *mexF*, showed the active form of MexT but acquired an amino acid change in MexS, Pro-254→Ser. To our knowledge, this modification has not been previously reported but has a change located close to this position (Ala-255→Asp).⁵² Lastly, overexpression of *mexY* was related to mutations in the *mexZ* gene in three out of the four paired isolates of this study. The results revealed an uncharacterized amino acid change, Phe-24→Ser. However, strain 163A showed a WT sequence for the *mexZ* gene, as previously reported.¹⁷

Loss or decreased production of the OprD protein was mainly related to different deletions followed by two strains with nucleotide insertions. There were two exceptions, strain 13B and paired isolates 81A and 81B, which showed decreased OprD production

in the absence of any mutation similar to what has been described in a previous study.¹⁰ However, we did not observe a simultaneous decrease in the production of the OprD protein in the *mexF*-overproducer strain 144B, as reported in the literature.^{19,21}

For two of the three isolates with high levels of *ampC* derepression, amino acid substitutions could be detected (Table 1): the previously reported change Asp-135→Asn,³⁷ in AmpR (strain 81B), and one uncharacterized substitution in DacB (Gly-267→Arg, strain 163B). Strain 72B, however, did not acquire any modification in any of the genes tested in the present study. The two strains with moderate AmpC hyperproduction (155A and 162B) were also negative for the presence of differential mutations. Additional mutations were observed, although they were considered to be polymorphisms (Table S3). Paired isolates 81A and 81B displayed a mutation in AmpD (Asp-28→Gly) that was previously characterized in a clinical isolate also harbouring a mutation in DacB.¹⁰ The A and B paired isolates 155 and 163 showed a different termination of the last 14 amino acids of AmpR. This study suggests that additional regulatory mechanisms, like uncharacterized loci, may alter AmpC expression/function.

Concerning quinolone resistance, previously characterized amino acid substitutions were detected in all four QRDRs (Table 1): (i) Thr-83→Ile, the most prevalent GyrA mutation;^{29,53} (ii) Glu-468→Asp in GyrB, a mutation reported to greatly increase the MIC of ciprofloxacin (8- to 16-fold), as observed in this study;⁵³ (iii) Ser-87→Trp in ParC, with a controversial role since no increase has been reported in the MIC of ciprofloxacin,⁵³ and in the present study it was concomitantly detected with a *gyrA* mutation; and (iv) Ala-473→Val in ParE,⁵³ although a particularly low MIC of ciprofloxacin (0.06 mg/L) was seen in our strains. According to these results and previous studies,^{29,53} *gyrB* mutations in *P. aeruginosa* strains seem to play a more important role in increasing the MIC of ciprofloxacin than *parC* mutations, which are not found alone in clinical isolates but rather are concomitantly detected with other target gene mutations.

The results presented here support the need for several resistance mechanisms to raise the MICs of these antipseudomonal compounds above the resistance breakpoints. Nevertheless, the presence of decreased OprD production alone allows clinical isolates to be classified as imipenem resistant. Previous exposure to ceftazidime showed the highest impact on the acquisition of resistance to this drug, whereas the lowest impact was seen for piperacillin/tazobactam. Taking into account that no strain was resistant to amikacin, the use of piperacillin/tazobactam and/or amikacin seems to be appropriate for treating these complicated infections in this particular patient population.

Funding

This study was supported by the Ministerio de Economía y Competitividad, Instituto de Salud Carlos III, co-financed by the European Regional Development Fund (ERDF) 'A Way to Achieve Europe,' the Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI RD12/0015), and the Spanish Ministry of Health (FIS PI05/0167 to JAM, FIS PI11/02024 to J. V. and FIS PI12/00103 to A. O.). This study was also supported by grant 2014SGR0653 from the Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació, of the Generalitat de Catalunya and by funding from the Innovative Medicines Initiative (Translocation, contract IMI-JU-6-2012-115525) and the European Community (MagicBullet, contract

HEALTH-F3-2011-278232). A. F. is sponsored by the Barcelona Institute for Global Health (ISGlobal). N. C.-T. is the recipient of a Rio Hortega grant (CM12/00155) from the Instituto de Salud Carlos III.

Transparency declarations

None to declare.

Supplementary data

Tables S1–S3 are available as Supplementary data at JAC Online (<http://jac.oxfordjournals.org/>).

References

- Hanberger H, García-Rodríguez JA, Gobernado M et al. Antibiotic susceptibility among aerobic Gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups. *JAMA* 1999; **281**: 67–71.
- Ortega B, Groeneveld AB, Schultz C. Endemic multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in critically ill patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; **25**: 825–31.
- Boyer A, Doussau A, Thiebault R et al. *Pseudomonas aeruginosa* acquisition on an intensive care unit: relationship between antibiotic selective pressure and patients' environment. *Crit Care* 2011; **15**: R55.
- Venier AG, Leroyer C, Slekovec C et al. Risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* acquisition in intensive care units: a prospective multicentre study. *J Hosp Infect* 2014; **88**: 103–8.
- Glupczynski Y, Delmee M, Goossens H et al. Distribution and prevalence of antimicrobial resistance among Gram-negative isolates in intensive care units (ICU) in Belgian hospitals between 1996 and 1999. *Acta Clin Belg* 2001; **56**: 297–306.
- Obritsch MD, Fish DN, MacLaren R et al. National surveillance of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from intensive care unit patients from 1993 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**: 4606–10.
- Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev* 2009; **22**: 582–610.
- Balasubramanian D, Kumari H, Mathee K. *Pseudomonas aeruginosa* AmpR: an acute-chronic switch regulator. *Pathog Dis* 2014; **73**: 1–15.
- Juan C, Macía MD, Gutierrez O et al. Molecular mechanisms of β -lactam resistance mediated by AmpC hyperproduction in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; **49**: 4733–8.
- Moya B, Beceiro A, Cabot G et al. Pan- β -lactam resistance development in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains: molecular mechanisms, penicillin-binding protein profiles, and binding affinities. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; **56**: 4771–8.
- Juan C, Moya B, Perez JL et al. Stepwise upregulation of the *Pseudomonas aeruginosa* chromosomal cephalosporinase conferring high-level β -lactam resistance involves three AmpD homologues. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**: 1780–7.
- Masuda N, Sakagawa E, Ohya S et al. Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; **44**: 3322–7.
- Poole K, Tetro K, Zhao Q et al. Expression of the multidrug resistance operon *mexA-mexB-oprM* in *Pseudomonas aeruginosa*: *mexR* encodes a regulator of operon expression. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; **40**: 2021–8.

- 14 Cao L, Srikumar R, Poole K. MexAB-OprM hyperexpression in NalC-type multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: identification and characterization of the *nalC* gene encoding a repressor of PA3720-PA3719. *Mol Microbiol* 2004; **53**: 1423–36.
- 15 Sobel ML, Hocquet D, Cao L et al. Mutations in PA3574 (*nalD*) lead to increased MexAB-OprM expression and multidrug resistance in laboratory and clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; **49**: 1782–6.
- 16 Poole K, Gotoh N, Tsujimoto H et al. Overexpression of the *mexC-mexD-oprJ* efflux operon in *nfxB*-type multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 1996; **21**: 713–24.
- 17 Llanes S, Hocquet D, Vogne C et al. Clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* overproducing MexAB-OprM and MexXY efflux pumps simultaneously. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**: 1797–802.
- 18 Kiser TH, Obritsch MD, Jung R et al. Efflux pump contribution to multidrug resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmacotherapy* 2010; **30**: 632–8.
- 19 Kohler T, Epp SF, Curty LK et al. Characterization of MexT, the regulator of the MexE-MexF-OprN multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 1999; **181**: 6300–5.
- 20 Maseda H, Saito K, Nakajima A et al. Variation of the *mexT* gene, a regulator of the MexEF-oprN efflux pump expression in wild-type strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol Lett* 2000; **192**: 107–12.
- 21 Sobel ML, Neshat S, Poole K. Mutations in PA2491 (*mexS*) promote MexT-dependent *mexEF-oprN* expression and multidrug resistance in a clinical strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 2005; **187**: 1246–53.
- 22 Trias J, Nikaido H. Outer membrane protein D2 catalyzes facilitated diffusion of carbapenems and penems through the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; **34**: 52–7.
- 23 Kohler T, Michea-Hamzehpour M, Epp SF et al. Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux systems. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; **43**: 424–7.
- 24 Jalal S, Wretling B. Mechanisms of quinolone resistance in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Drug Resist* 1998; **4**: 257–61.
- 25 Cabot G, Ocampo-Sosa AA, Tubau F et al. Overexpression of AmpC and efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from bloodstream infections: prevalence and impact on resistance in a Spanish multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; **55**: 1906–11.
- 26 Durmaz R, Otlu B, Koksali F et al. The optimization of a rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Jpn J Infect Dis* 2009; **62**: 372–7.
- 27 Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-third Informational Supplement M100-S23*. CLSI, Wayne, PA, USA, 2013.
- 28 Stover CK, Pham XQ, Erwin AL et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature* 2000; **406**: 959–64.
- 29 Oh H, Stenhoff J, Jalal S et al. Role of efflux pumps and mutations in genes for topoisomerases II and IV in fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Microb Drug Resist* 2003; **9**: 323–8.
- 30 Livermore DM. Of *Pseudomonas*, porins, pumps and carbapenems. *J Antimicrob Chemother* 2001; **47**: 247–50.
- 31 Pai H, Kim J, Kim J et al. Carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; **45**: 480–4.
- 32 El Amin N, Giske CG, Jalal S et al. Carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa*: alterations of porin OprD and efflux proteins do not fully explain resistance patterns observed in clinical isolates. *APMIS* 2005; **113**: 187–96.
- 33 Riera E, Cabot G, Mulet X et al. *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem resistance mechanisms in Spain: impact on the activity of imipenem, meropenem and doripenem. *J Antimicrob Chemother* 2011; **66**: 2022–7.
- 34 Kumari H, Balasubramanian D, Zincke D et al. Role of *Pseudomonas aeruginosa* AmpR on β -lactam and non- β -lactam transient cross-resistance upon pre-exposure to subinhibitory concentrations of antibiotics. *J Med Microbiol* 2014; **63**: 544–55.
- 35 Vogne C, Aires JR, Bailly C et al. Role of the multidrug efflux system MexXY in the emergence of moderate resistance to aminoglycosides among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**: 1676–80.
- 36 Jeannot K, Elsen S, Kohler T et al. Resistance and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains overproducing the MexCD-OprJ efflux pump. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; **52**: 2455–62.
- 37 Cabot G, Bruchmann S, Mulet X et al. *Pseudomonas aeruginosa* ceftolozane-tazobactam resistance development requires multiple mutations leading to overexpression and structural modification of AmpC. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; **58**: 3091–9.
- 38 Bayani M, Siadati S, Rajabnia R et al. Drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter cloacae* isolated from ICU, Babol, Northern Iran. *Int J Mol Cell Med* 2013; **2**: 204–9.
- 39 Zhanel GG, DeCorby M, Laing N et al. Antimicrobial-resistant pathogens in intensive care units in Canada: results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) study, 2005–2006. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; **52**: 1430–7.
- 40 Riou M, Carbonele S, Avrain L et al. In vivo development of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from the lower respiratory tract of intensive care unit patients with nosocomial pneumonia and receiving antipseudomonal therapy. *Int J Antimicrob Agents* 2010; **36**: 513–22.
- 41 Grohs P, Kerneis S, Sabatier B et al. Fighting the spread of AmpC-hyperproducing Enterobacteriaceae: beneficial effect of replacing ceftriaxone with cefotaxime. *J Antimicrob Chemother* 2014; **69**: 786–9.
- 42 Akova M, Yang Y, Livermore DM. Interactions of tazobactam and clavulanate with inducibly- and constitutively-expressed Class I β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 1990; **25**: 199–208.
- 43 Knapp CC, Sierra-Madero J, Washington JA. Activity of ticarcillin/clavulanate and piperacillin/tazobactam (YTR 830; CL-298,741) against clinical isolates and against mutants derepressed for class I β -lactamase. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1989; **12**: 511–5.
- 44 Harris PN, Ferguson JK. Antibiotic therapy for inducible AmpC β -lactamase-producing Gram-negative bacilli: what are the alternatives to carbapenems, quinolones and aminoglycosides? *Int J Antimicrob Agents* 2012; **40**: 297–305.
- 45 Henrichfreise B, Wiegand I, Luhmer-Becker I et al. Development of resistance in wild-type and hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* strains exposed to clinical pharmacokinetic profiles of meropenem and ceftazidime simulated in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; **51**: 3642–9.
- 46 Morero NR, Monti MR, Argarana CE. Effect of ciprofloxacin concentration on the frequency and nature of resistant mutants selected from *Pseudomonas aeruginosa* *mutS* and *mutT* hypermutators. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; **55**: 3668–76.
- 47 Tam VH, Ledesma KR, Schilling AN et al. In vivo dynamics of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* selection after suboptimal dosing. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; **64**: 427–33.
- 48 Srikumar R, Paul CJ, Poole K. Influence of mutations in the *mexR* repressor gene on expression of the MexA-MexB-OprM multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 2000; **182**: 1410–4.

- 49** Ziha-Zarifi I, Llanes C, Kohler T et al. In vivo emergence of multidrug-resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa* overexpressing the active efflux system MexA-MexB-OprM. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; **43**: 287–91.
- 50** Jalal S, Wretling G, Gotoh N et al. Rapid identification of mutations in a multi-drug efflux pump in *Pseudomonas aeruginosa*. *APMIS* 1999; **107**: 1109–16.
- 51** Monti MR, Morero NR, Miguel V et al. *nfxB* as a novel target for analysis of mutation spectra in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One* 2013; **8**: e66236.
- 52** Caughlan RE, Jones AK, Delucia AM et al. Mechanisms decreasing *in vitro* susceptibility to the LpxC inhibitor CHIR-090 in the Gram-negative pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; **56**: 17–27.
- 53** Bruchmann S, Dotsch A, Nouri B et al. Quantitative contributions of target alteration and decreased drug accumulation to *Pseudomonas aeruginosa* fluoroquinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; **57**: 1361–8.

Acquisition of resistant microorganisms and infections in HIV-infected patients admitted to the ICU

N. Cobos-Trigueros · M. Rinaudo · M. Solé · P. Castro · J. Pumarol · C. Hernández · S. Fernández · J. M. Nicolás · J. Mallolas · J. Vila · L. Morata · J. M. Gatell · A. Soriano · J. Mensa · J. A. Martínez

Received: 27 July 2013 / Accepted: 7 October 2013
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

Abstract Whether critically ill human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients are at risk of acquiring nosocomial infections and resistant or potentially resistant microorganisms (RPRMs) remains to be clarified. The aim was to compare the acquisition of RPRMs, infections and mortality in critically ill HIV-infected and non-infected patients. An observational, prospective cohort study of patients admitted to a medical intensive care unit (ICU) was undertaken. Swabbing of nares, pharynx and rectum, and culture of respiratory secretions were obtained within 48 h of admission and thrice weekly thereafter. Clinical samples were obtained as deemed necessary by the attending physician. Clinical variables, severity scores on admission and exposures during ICU stay were collected. Logistic regression was used to evaluate ICU mortality. Out of the 969 included patients, 64 (6.6 %) were HIV-infected. These patients had a higher Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II score

on admission (19.5 ± 6.6 vs. 21.1 ± 5.4 , $p=0.02$), stayed longer in the care unit and were more exposed to several invasive devices and antibiotics. There were no differences in the rate of acquisition of RPRMs and the only difference in ICU-acquired infections was a significantly higher incidence of catheter-related bacteraemia (3 % vs. 9 %, $p=0.03$). The ICU-related mortality was similar in both groups (14 % vs. 16 %, $p=0.70$) and in HIV-infected patients, it tended to be associated with a lower CD4 cell count ($p=0.06$). Despite a longer ICU stay, critically ill HIV-infected patients did not show a higher rate of RPRMs acquisition. The rate of ICU-acquired infection was similar between HIV-infected and non-infected patients, except for catheter-related bacteraemia, which was higher in the HIV-infected population. Mortality was similar in both groups.

Introduction

Since the advent of the potent combination of antiretroviral therapy (ART) in 1996, several studies have reported an increased admission rate of human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients to the intensive care unit (ICU), as well as a better survival. It has been estimated that 4–12 % of hospitalised HIV-infected patients require ICU care. The reasons for admission have also changed, being less often related to opportunistic infections and more to problems unrelated to HIV infection [1, 2]. In some series, more than half of ICU admissions were for non-HIV-related critical illnesses [1–7]. These patients may also require critical care due to other co-morbidities, such as hepatitis or chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [3, 4].

The extent to which HIV-infected patients in comparison to other critically ill medical patients behave regarding the acquisition of nosocomial infections and resistant or potentially resistant microorganisms (RPRMs) remains to be clarified. In addition to the characteristic cellular immune

N. Cobos-Trigueros and M. Rinaudo contributed equally to this article.

N. Cobos-Trigueros (✉) · C. Hernández · J. Mallolas · L. Morata · J. M. Gatell · A. Soriano · J. Mensa · J. A. Martínez
Department of Infectious Diseases, Hospital
Clínica-IDIBAPS—Barcelona Centre for International Health
Research (CRESIB), Barcelona University, Villarroel 170,
08036 Barcelona, Spain
e-mail: fncobos@clinic.ub.es

M. Rinaudo (✉) · P. Castro · J. Pumarol · C. Hernández · S. Fernández · J. M. Nicolás
Medical Intensive Care Unit, Hospital Clínica-IDIBAPS—Barcelona
Centre for International Health Research (CRESIB), Barcelona
University, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain
e-mail: marianorinaudo@gmail.com

M. Solé · J. Vila
Department of Clinical Microbiology, Hospital
Clínica-IDIBAPS—Barcelona Centre for International Health
Research (CRESIB), Barcelona University, Barcelona, Spain

dysfunction, HIV-infected patients present other immune disturbances, such as inadequate humoral immunity, abnormal chemotaxis, phagocytosis and bactericidal activity, as well as a higher rate of colonisation by *Staphylococcus aureus*, which may lead to an increased susceptibility to bacterial infections inside the ICU [8, 9]. In fact, immunosuppression is often considered to be a risk factor of acquiring infections by resistant organisms and poor prognosis [10].

The main objective of this study was to compare the ICU acquisition of RPRMs, infections and mortality in critically ill HIV-infected and non-HIV-infected patients.

Materials and methods

Study population

From February 14th, 2006 to December 31st, 2008, all patients admitted to an eight-bed adult medical ICU of a 700-bed university hospital who stayed in the unit for at least 24 h were prospectively included in the study. The study protocol was approved by the Research Ethics Committee of the Hospital Clinic of Barcelona.

Data collection and definitions

Swabbing of nares, pharynx and rectum, and culture of respiratory secretions (tracheobronchial aspirates or sputum) were obtained within 48 h of admission and thrice weekly thereafter until discharge or the first two months of ICU stay. Other clinical samples were obtained as deemed necessary by the attending physician. No environmental cultures were taken. Susceptibility testing was done by a microdilution technique according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines [11]. For the purpose of analysis, intermediate susceptibility was considered as resistance.

The following microorganisms were considered as RPRMs: methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), vancomycin-resistant enterococci, enteric Gram-negative bacilli resistant to third-generation cephalosporins (cefotaxime, ceftazidime or both) and non-fermentative Gram-negative bacilli (*Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Acinetobacter baumannii*) [11].

Demographics, clinical variables, severity scores (APACHE II; Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; APS; Acute Physiology Score; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment) on admission and exposures during ICU stay were prospectively collected from all admitted patients [12–14]. From HIV-infected patients, specific data about ART, and the most recent CD4 cell count and plasma HIV RNA viral load were also recorded. The primary outcome variables were the acquisition of RPRMs and infections during ICU stay, as well as mortality.

Patients with positive surveillance cultures within 48 h of ICU admission were considered to be colonised on admission. Colonisation was defined as the isolation of a target microorganism from a surveillance culture or non-sterile clinical sample. Microorganisms isolated after 48 h in patients with previous negative specimens for those bacteria were considered as ICU-acquired. Infections diagnosed within 48 h of admission were considered as being of non-ICU origin and those diagnosed after 48 h as ICU-acquired. Exposure to antibiotics meant at least 24 h of treatment.

In our institution, HIV infection was not, by itself, a reason for denial of ICU admission to patients requiring critical care. Patients not suspected to be HIV-infected in whom a specific test for the diagnosis of HIV infection was not deemed necessary by the attending physician were considered as non-HIV-infected. Prior ART use was defined as receiving at least two types of antiretroviral drugs at the time of hospital admission [15].

Infection was considered the reason for admission when the organic failure leading to critical care was meant to be a direct consequence of either the dysfunction of the infected organ or sepsis. Septic shock was defined according to the SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS consensus conference [16]. ICU-acquired sepsis was defined as sepsis occurring more than 48 h after admission to the ICU. Catheter-related bacteraemia was defined according to the Infectious Diseases Society of America (IDSA) guidelines [17]. The diagnosis of pneumonia required the presence of new and/or progressive infiltrates on chest radiographs, and at least two of the following criteria: fever ≥ 38 °C or hypothermia ≤ 35 °C, leucocytosis $\geq 12,000/\mu\text{L}$ or leucopaenia $< 4,000/\mu\text{L}$, or purulent respiratory secretions. When the patient was invasively ventilated for more than 48 h, pneumonia was considered ventilator-associated pneumonia (VAP) [18]. Patients without radiological criteria of pneumonia but fulfilling the above-mentioned clinical criteria were considered to have tracheobronchitis. The diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia was based on the identification of *Pneumocystis* in bronchoalveolar lavage fluid [19]. Other infections were diagnosed according to the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) criteria [20].

Statistical analysis

Clinical variables and exposures were compared between HIV-infected and non-HIV-infected patients. Proportions were compared by using the χ^2 or Fisher's exact test. Continuous variables were compared by using the *t*-test (or Mann–Whitney test) and analysis of variance (ANOVA) (or Kruskal–Wallis test). Correlations between continuous variables were assessed by the non-parametric Spearman correlation coefficient. Multivariable logistic regression analysis (step-forward procedure) was used to evaluate patient characteristics associated with ICU mortality. In these models, potential

explanatory variables included age, gender, diagnosis at admission, HIV status, lymphoma, cirrhosis, diabetes, previous corticosteroids, other previous immunosuppressors, previous antibiotics, septic shock on admission, APACHE II and SOFA scores on admission, orotracheal intubation (as a marker of invasive devices), corticosteroids and immunosuppressors during ICU stay, enteral and parenteral nutrition, exposure to selected antibiotics (antipseudomonal agents, trimethoprim-sulfamethoxazole, non-antipseudomonal third-generation cephalosporins), status of having on admission or acquiring an RPRM during ICU stay and having a clinical infection on admission or acquiring one during ICU stay. Variables with a p -value <0.3 in the univariate analysis were introduced in the multivariate model. During analysis, a significant interaction between the APACHE II score and having a haematological malignancy (HM) was found, meaning that mortality in these particular patients was much less associated with an increasing APACHE score than in other patients. In order to address this interaction, the APACHE score was dichotomised by the median of the entire population (19 points) and a logistic model was built in which an interaction “APACHE by HM” variable stratified in four categories (“low APACHE and non-HM”, “low APACHE and HM”, “high APACHE and HM”, “high APACHE and non-HM”) was introduced. Calculations were done by using the SPSS version 17.0 statistical package. p -values less than 0.05 were considered statistically significant.

Results

Demographic and clinical characteristics

During the 35-month study period, 969 patients were admitted to the ICU, of which 64 (6.6 %) were HIV-infected. The clinical and epidemiological characteristics on admission are shown in Table 1. Compared with non-HIV-infected patients, those with HIV infection were significantly younger (the mean age was 45.2 vs. 61 years), more frequently were smokers, had an alcohol and intravenous drug addiction, more often had cirrhosis, had more infections in the last year and had more frequently received antibiotics in the previous month. On the other hand, non-HIV-infected patients more often had diabetes, heart failure and COPD. HIV-infected patients were more frequently admitted to the unit due to an infection and presented a higher prevalence of septic shock. They were also more severely ill with higher APACHE II and APS scores, even though the SOFA score was similar to non-HIV-infected patients.

The median [interquartile range (IQR)] pre-admission CD4 cell count and viral load were 200 cells/ μ L (78–392) and 2,752 HIV RNA copies/mL (0–59,054), respectively, and there was a modest but significant negative correlation between these two variables (Spearman $R=-0.29$, $p=0.02$). In the present study,

44 (69 %) patients were under ART before admission (12 for less than six months and 32 for more than six months). Pre-admission receipt of ART was not significantly associated with the CD4 cell count (median 208 cells/ μ L, IQR=101–399, in patients with ART vs. 158, IQR=28–389, in those without ART, $p=0.2$), but it was strongly associated with the viral load (median 100 copies/mL, IQR=0–3,589, in patients with ART vs. 111,350, IQR=23,061–325,550, in those without ART, $p<0.001$). Pre-admission CD4 count or HIV viraemia was not associated to the previous time a patient was under ART. Sixteen (25 %) patients under ART received it during ICU admission, while it was temporally discontinued in the remaining patients, mainly due to difficulty in oral administration or intestinal absorption.

The reasons for admission of HIV-infected patients are shown in Table 2. Among the 49 patients admitted with an infection (77 % of cases), the most prevalent diagnosis was pneumonia ($n=33$, 52 %). Pneumonia was due to *P. jirovecii* in six patients (three of which required intubation and died) and in two due to cytomegalovirus, one with *P. jirovecii* as a co-pathogen and another with *P. aeruginosa*. Six patients had meningitis, of which two were caused by *Cryptococcus neoformans*. One patient presented Guillain-Barré syndrome associated with cytomegalovirus infection and two patients had ART toxicity. A total of 12 (19 %) patients were admitted for reasons directly related to HIV infection.

Exposures during ICU stay

During admission, patients with HIV infection were significantly exposed for longer to central venous, arterial and urinary catheters, nasogastric tube, parenteral nutrition, corticosteroids, orotracheal intubation, mechanical ventilation and to certain antibiotics, such as clindamycin, piperacillin-tazobactam, trimethoprim-sulfamethoxazole, levofloxacin, non-antipseudomonal cephalosporins and fluconazole (Table 3).

Outcomes

Methicillin-susceptible *S. aureus* colonisation was more frequently recorded on admission in HIV-infected patients (11 [17 %] vs. 68 [8 %] in non-HIV patients, $p=0.01$). However, no acquisition of methicillin-susceptible *S. aureus* was observed in this population during their ICU stay (0 vs. 3.1 % in non-HIV patients, $p=0.3$) and no infections due to this microorganism were diagnosed. There were no differences in the rate of RPRMs neither at admission nor during the patient’s stay in the unit. Regarding ICU-acquired infections, the only difference observed was a significantly higher incidence of catheter-related bacteraemia in HIV-infected patients (Table 4), which was due to Gram-positive

Table 1 Clinical and epidemiological characteristics of the study population

Features	HIV-uninfected group (905)	HIV-infected group (64)	<i>p</i> -Value
Age (years) mean	61.0±17.1	45.2±11.0	<0.0001
Male gender (%)	542 (60 %)	51 (80 %)	0.014
Underlying diseases			
Lymphoma	33 (4 %)	8 (13 %)	0.005
Leukaemia	85 (9 %)	1 (2)	0.04
Hepatic cirrhosis	27 (3 %)	10 (16 %)	0.0001
Heart failure	68 (8 %)	0	0.02
COPD	150 (17 %)	3 (5 %)	0.007
Diabetes mellitus	179 (20 %)	6 (9 %)	0.046
Current smoker	248 (27 %)	43 (67 %)	<0.0001
Alcohol abuse	121 (13 %)	15 (23 %)	0.04
Intravenous drug addiction	7 (1 %)	13 (20 %)	<0.0001
Other conditions on admission			
Prior antibiotic (≤1 month)	254 (28 %)	30 (47 %)	0.003
Infections during the last year	227 (25 %)	31 (48 %)	0.0001
Length of stay until ICU admission (median, IQR)	3 (1–11)	3 (1.25–7.5)	0.9
Septic shock on admission	140 (16 %)	23 (36 %)	<0.0001
Reason for admission			
Infection	481 (53 %)	49 (77 %)	0.0003
Postsurgical	99 (11 %)	0	0.002
Severity scores			
APACHE II	19.5±6.6	21.1±5.4	0.02
APS	15±5.6	16.5±5.2	0.03
SOFA	6.3±3.7	6.4±4	0.7
Outcome			
In-ICU mortality	127 (14 %)	10 (16 %)	0.7
In-hospital mortality	206 (23 %)	18 (28 %)	0.4

Variables with *p*-value >0.3 are not shown ("Underlying diseases": neutropaenia, bone marrow transplant, solid organ transplant, solid organ cancer, haemodialysis; "Other conditions on admission": prior corticosteroids (within the previous month), immunosuppressive therapy, prior admission (≤1 year), direct ICU admission from ED; "Reason for admission": respiratory disease, cardiovascular disease, CNS disease, others)
 HIV: human immunodeficiency virus, COPD: chronic obstructive pulmonary disease, ICU: intensive care unit, APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation, APS: Acute Physiology Score, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, ED: emergency department, CNS: central nervous system
 Quantitative variables were expressed as means and standard deviation (SD)

cocci in all cases (five episodes caused by *S. epidermidis* and one by *E. faecium*). The median length of stay in the ICU was longer in patients with HIV infection (8 vs. 5 days, *p* = 0.0009).

In HIV-infected patients, the ICU and hospital mortality were 16 % (10 out of 64 patients) and 28 % (18 out of 64 patients), respectively, and none of these rates were significantly different to those of non-HIV-infected patients (Table 1).

Multivariate analysis showed that having a haematological malignancy with an APACHE II score >19 [odds ratio (OR) 4.59, 2.45–8.63] or ≤19 (OR 9.64, 3–31), an APACHE II score >19 with a non-haematological malignancy condition (OR 3.7, 1.37–9.96), SOFA score (OR 2.21, 1.12–1.29, per increasing point), having bacteraemia of an unknown source on admission (OR 6.1, 1.27–27.1), admission (taking postoperative care/ other diagnosis as the reference) due to a respiratory (OR 11.8, 3.21–43.7), cardiovascular (OR 3.06, 1–9.61), infectious (OR 5.6, 2.06–15.2) and neurological (OR 4.99, 1.68–14.8) disease, orotracheal intubation (OR 11.3, 4.98–25.6), receipt of corticosteroids other than hydrocortisone (OR 2.33, 1.33–4.08)

during ICU stay, need for renal replacement therapy (OR 2.33, 1.23–4.41), administration of any anti-*Aspergillus* antifungals (OR 3.37, 1.6–7.1) and administration of linezolid (OR 2.86, 1.23–6.65) were independent predictors of mortality, whereas receipt of antipseudomonal antibiotics (OR 0.25, 0.13–0.47) and non-antipseudomonal third-generation cephalosporins (OR 0.49, 0.27–0.89) were protective. HIV infection, having on admission or acquiring an RPRM during ICU stay and having a clinical infection on admission or acquiring one during ICU stay were not selected as independent predictors of mortality.

HIV-infected patients who died in the ICU had a non-significant trend towards having a lower CD4 cell count than that of those who survived (median 82 cells/μL, IQR=36–232, vs. 208, IQR=89–422, *p*=0.06). The length of ICU stay tended to be negatively correlated with the CD4 cell count, without reaching statistical significance (Spearman *R*=−0.21, *p*=0.08). In regards to the ICU acquisition of RPRMs, HIV-infected patients who acquired *P. aeruginosa* had a significantly lower CD4 cell count (median 78 cells/μL, IQR 36–200) than that of those who did not acquire this microorganism (median 208

Table 2 Detailed reason for admission of HIV-infected and HIV-uninfected patients

Reason for admission	HIV-infected, n (%) ^a	HIV-uninfected, n (%)
Infections ^b	49 (77%)	481 (53%)
Community-acquired pneumonia	23 (36 %) ^c	139 (15 %)
<i>P. jirovecii</i> pneumonia	6 (9 %) ^d	–
CMV pneumonia	2 (3 %) ^{d,e}	1 (0.1 %)
Hospital-acquired pneumonia	4 (6 %) ^e	70 (8 %)
Biliary/intraabdominal	6 (9 %)	64 (7 %)
Meningitis/encephalitis	6 (9 %) ^{e,f}	23 (3 %)
Other infections	3 (5 %) ^g	168 (19 %) ^h
Sepsis of unknown origin	3 (5 %)	16 (2 %)
Others	15 (23%)	424 (47%)
Respiratory failure	2 (3 %) ⁱ	22 (2 %)
Cardiovascular disease	2 (3 %) ^j	88 (10 %)
Neurological	4 (6 %) ^k	100 (11 %)
Miscellaneous	7 (11 %) ^l	204 (22 %)

^a The sum of the percentages is greater than 100 % because there are patients with more than one infection

^b 225 infections present on admission were not considered the reason for admission

^c Two patients had concomitant community-acquired pneumonia and meningitis

^d One patient had pneumonia due to *P. jirovecii* and CMV

^e One patient had pneumonia due to *P. aeruginosa* and CMV

^f Two due to *C. neoformans*

^g 1 (2 %) odontogenic infection, 1 (2 %) spondylitis, 1 (2 %) miliary tuberculosis

^h 76 (8 %) tracheobronchitis, 20 (2 %) urinary tract infections, 13 (1 %) skin/soft tissue infections, 13 (1 %) gastroenteritis/enterocolitis, 11 (1 %) endovascular infections, 33 (4 %) miscellaneous

ⁱ One due to alveolar haemorrhage and one due to vasculitis

^j 1 (2 %) ischaemic stroke, 1 (2 %) acute myocardial infarction

^k 2 (3 %) status epilepticus, 2 (3 %) Guillain-Barré syndrome

^l 2 (3 %) diabetic ketoacidosis, 1 (2 %) lactic acidosis (ART toxicity), 1 (2 %) cocaine intoxication, 1 (2 %) suicide attempt with carbamazepine, 2 (3 %) distributive shock (one due to abacavir toxicity and one associated to Castleman's disease)

cells/ μ L, IQR 90–420, $p=0.04$) and also showed a non-significant trend towards having a higher viral load (median 22,381 copies/mL, IQR 1,995–256,200 vs. median 1,500, IQR 0–37,857, $p=0.1$). It is of note, however, that the three patients who acquired VAP due to *P. aeruginosa* had a CD4 cell count ranging from 294 to 578 cells/ μ L. The ICU acquisition of other RPRMs, development of in-ICU clinical infections and overall hospital mortality were neither significantly associated with the CD4 cell count nor viral load ($p>0.2$ for all comparisons, data not shown). Receiving ART before admission was not associated with the acquisition of RPRMs, ICU-acquired infections or ICU mortality ($p>0.3$ for all comparisons, data not shown).

Discussion

The main finding of our study was that, in the ICU setting, HIV-infected patients presented a similar risk of acquiring RPRMs or infections as patients without HIV infection, with the exception of catheter-related bacteraemia. In addition, prognosis was neither related to HIV infection nor to the acquisition of RPRMs or infections during ICU stay.

In the present study, HIV-infected patients admitted to the ICU had several demographic and clinical characteristics different from non-HIV-infected patients, such as younger age, male gender predominance and a higher prevalence of smoking, alcohol and intravenous drug addiction, lymphoma, liver cirrhosis, and infection and septic shock on admission. On the other hand, non-HIV-infected patients more often had diabetes and COPD, which may be related to the fact that they were older. These differential traits were not unexpected and respond to the epidemiologic characteristics of HIV infection in developed countries. Men account for 71 % of new HIV infections, two-thirds from homosexual contact and 15–20 % from heterosexual contact. In both men and women, approximately 20 % of new infections are due to intravenous drug use [21]. Besides an increased frequency of lymphoma, non-Hodgkin's lymphoma, cervical cancer and anal cancer (in both men and women) also occur much more frequently in HIV-positive than in HIV-negative individuals [22, 23]. HIV-infected patients are also more susceptible to severe liver injury and progression of cirrhosis, especially in the setting of co-infection with viral hepatitis and alcohol use [24].

In this study, septic shock at ICU admission was also observed more frequently among HIV-infected patients, probably due to the fact that the main reason for admission was bacterial infections, which contrasts with what happened before the advent of highly active ART when opportunistic infections were the most frequent cause for ICU admission [25]. In the present study, only 12 (19 %) patients were admitted with a condition directly related to HIV infection (six *P. jirovecii* pneumonia, one CMV pneumonia, one miliary tuberculosis, two cryptococcal meningitis and two ART severe adverse events), a rate which is even lower than the figure of 34 % reported in one recent study [26]. The association between sepsis and a higher rate of mortality in the critically ill HIV-AIDS population has been shown in previous studies [27, 28]. It has been estimated that sepsis is a major determinant of 28-day and 6-month mortality in HIV-infected patients admitted to the ICU (adjusted HR 3.13 and 3.35, respectively) [28]. However, our data show that to be admitted due to an infection was an independent predictor of ICU mortality for all patients and, therefore, not just limited to the HIV-infected population. It has also been reported that pneumonia is the most common infection that needs admission to the ICU (52–55.6 %), which is in accordance to the 52 % pneumonia rate observed in our cohort. In the present study, 9 % of HIV-

Table 3 Exposures during ICU admission^a

Exposure ^a	HIV-uninfected group (905)	HIV-infected group (64)	<i>p</i> -Value
Length of hospital stay	17 (9–34.5)	19.5 (10–37)	0.4
Length of ICU stay	5 (3–9)	8 (4–17)	0.0009
Most frequently used invasive devices			
Central venous catheter (CVC)	869 (96 %)	63 (98 %)	0.5
CVC days	5 (3–9)	8 (4–17)	0.004
More than one CVC	393 (43 %)	39 (61 %)	0.008
Arterial catheter	810 (90 %)	56 (88 %)	0.6
Arterial catheter days	5 (3–9)	9 (4.25–18)	0.0002
Bladder catheter	834 (92 %)	61 (95 %)	0.5
Bladder catheter days	5 (3–9)	8 (4–18)	0.0009
Nasogastric tube	590 (65 %)	41 (64 %)	0.9
Nasogastric tube days	6 (3–13)	12 (4.5–19.5)	0.0005
Parenteral nutrition	156 (17 %)	24 (38 %)	0.0002
Parenteral nutrition days	9 (4–15.75)	7.5 (5–14.25)	0.7
Methylprednisolone	371 (41 %)	26 (41 %)	
Hydrocortisone	82 (9 %)	14 (22 %)	0.002
Corticosteroids days	5 (3–9)	11 (5–15)	0.0005
Orotracheal intubation	519 (57 %)	35 (55 %)	0.7
Intubation days	4 (2–7)	10 (5–12)	<0.0001
Mechanical ventilation	555 (61 %)	37 (58 %)	0.6
Mechanical ventilation days	3 (2–9)	12 (5.5–14)	<0.0001
Tracheostomy	143 (16 %)	16 (25 %)	0.07
Renal clearance techniques	79 (9 %)	5 (8 %)	1
Most frequently used antibiotics ^b			
Glycopeptides	291 (32 %)	25 (39 %)	0.3
Glycopeptides days	5 (3–9)	8 (5–13)	0.04
Macrolides	28 (3 %)	5 (8 %)	0.05
Clindamycin	66 (7)	11 (17)	0.01
Clindamycin days	4 (3–8)	11 (4–18)	0.01
Trimethoprim–sulfamethoxazole	37 (4 %)	21 (33 %)	<0.0001
Trimethoprim–sulfamethoxazole days	9 (3–14)	11 (7–17.5)	0.4
Fluconazole	141 (16 %)	28 (44 %)	<0.0001
Fluconazole days	7 (4–13)	8.5 (5–18.75)	0.3
Antipseudomonal agents	565 (62 %)	47 (73 %)	0.08
Antipseudomonal days	5 (3–9.75)	8 (3–13)	0.05
Levofloxacin	176 (20 %)	25 (39 %)	0.0006
Levofloxacin days	4 (3–7)	7 (3–9)	0.1
Ciprofloxacin	127 (14 %)	4 (6 %)	0.08
Ciprofloxacin days	5 (3–10)	13.5 (9.25–15.5)	0.02
Piperacillin–tazobactam	172 (19 %)	16 (25 %)	0.2
Piperacillin–tazobactam days	4 (3–7)	7.5 (5.25–11)	0.004
Other cephalosporins	189 (21 %)	31 (48 %)	<0.0001
Other cephalosporins days	4 (3–6)	6 (3–9)	0.06

^a Exposure is expressed in terms of frequency as the number of patients (% of exposed) and in terms of duration as median days (interquartile range) in exposed patients

^b Only antibiotics used with therapeutic intention are included (empiric or after microbial isolation); prophylactic antibiotics are not considered

infected patients had *P. jirovecii* pneumonia (Table 2), a prevalence which is in the lower range of that reported in previous studies (3–25 %) [5, 6, 26]. However, mortality among these patients remains very high, as it was corroborated

in our study, since three out of six patients (50 %) required mechanical ventilation and died. Similarly to previous studies, approximately 23 % of patients were admitted for reasons not related to an infection [5, 26].

Table 4 Microorganisms and infections on admission and during stay in the unit^a

Microorganism or infection	HIV-uninfected group (905)	HIV-infected group (64)	<i>p</i> -value
Microorganism			
<i>P. aeruginosa</i>			
On admission ^b	66 (7)	6 (9)	0.5
During ICU stay ^b	96 (11)	9 (14)	0.5
ICU-acquired infection	37 (4)	3 (5)	0.7
<i>B. cepacia</i>			
On admission ^b	2 (0.2)	0	1
During ICU stay ^b	7 (1)	1 (2)	0.3
ICU-acquired infection	5 (1)	0	1
<i>S. maltophilia</i>			
On admission ^b	5 (1)	1 (2)	0.3
During ICU stay ^b	9 (1)	1 (2)	0.5
ICU-acquired infection	6 (1)	0	1
<i>A. baumannii</i>			
On admission ^b	4 (0.4)	0	1
During ICU stay ^b	5 (0.6)	0	1
ICU-acquired infection	1 (0.1)	0	1
<i>Pseudomonas</i> spp.			
On admission ^b	1 (0.1)	1 (2)	0.1
During ICU stay ^b	4 (0.4)	0	1
ICU-acquired infection	1 (0.1)	0	1
Enterobacteriaceae resistant to third-generation cephalosporins			
On admission ^{b,c}	67 (7)	6 (9)	0.6
During ICU stay ^{b,d}	53 (6)	3 (5)	1
ICU-acquired infection	3 (0.3)	0	1
Methicillin-resistant <i>S. aureus</i>			
On admission ^b	32 (4)	0	0.3
During ICU stay ^b	14 (2)	1 (2)	1
ICU-acquired infection	2 (0.2)	0	1
Any RPRMs			
On admission ^b	154 (17)	14 (22)	0.3
During ICU stay ^b	155 (17)	14 (22)	0.3
ICU-acquired infection	52 (6)	3 (5)	1
Infection			
Tracheobronchitis			
On admission	192 (21)	6 (9)	0.02
ICU-acquired	54 (6)	2 (3)	0.3
ICU-acquired due to RPRMs	27 (3)	0	0.3
Pneumonia			
On admission	236 (26)	34 (53)	<0.0001
ICU-acquired ^e	47 (5)	4 (6)	0.8
ICU-acquired due to RPRMs	23 (3)	3 (5)	0.2
Catheter-related bacteraemia			
On admission	12 (1)	0	1
ICU-acquired	32 (3)	6 (9)	0.03
ICU-acquired due to RPRMs	15 (2)	0	0.6
Primary bacteraemia			

Table 4 (continued)

Microorganism or infection	HIV-uninfected group (905)	HIV-infected group (64)	<i>p</i> -value
On admission	17 (2)	2 (3)	0.3
ICU-acquired	27 (3)	1 (2)	0.7
ICU-acquired due to RPRMs	11 (1)	0	1
Secondary bacteraemia			
On admission	47 (5)	5 (8)	0.4
ICU-acquired	18 (2)	1 (2)	1
ICU-acquired due to RPRMs	12 (1)	0	1
Urinary tract infection			
On admission	41 (5)	2 (3)	1
ICU-acquired	9 (1)	1 (2)	0.5
ICU-acquired due to RPRMs	6 (1)	0	1
Other infections			
On admission	192 (21)	21 (33)	0.04
ICU-acquired	15 (2)	1 (2)	1
ICU-acquired due to RPRMs	1 (0.1)	0	1

HIV: human immunodeficiency virus, ICU: intensive care unit, RPRMs: resistant or potentially resistant microorganisms

^a All figures except *p*-values are number of patients (%)

^b Corresponds to the total number of acquired RPRMs (colonisation plus infection)

^c 46/67 (69%) HIV-uninfected and 5/6 (83%) HIV-infected patients were extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *E. coli*, *K. pneumoniae* or *P. mirabilis*

^d 27/53 (51%) HIV-uninfected and 1/3 HIV-infected patients were ESBL-producing *E. coli* or *K. pneumoniae*

^e 41 (5%) and 3 (5%) were ventilator-associated pneumonia in the HIV-uninfected group and HIV-infected group, respectively ($p=1$)

There are relatively few data concerning the predisposition of HIV-infected patients to acquire RPRMs and infections during admission to a medical ICU. It is of note that we did not find that HIV-infected patients were significantly more colonised with this type of microorganism on admission. An increased rate of RPRMs would have been expected, since this population had been more frequently exposed to antibiotics within the previous month and had more infections during the last year. In addition, although patients with HIV infection stayed for longer in the ICU and were more frequently and/or exposed for longer to steroids, orotracheal intubation and other invasive devices, as well as to several antibiotics, the rate of acquisition of RPRMs was not significantly higher. The only ICU-acquired infection that was more prevalent among HIV-infected patients was catheter-related bacteraemia. The explanation for these findings is unclear; however, it might be attributed to the prophylactic effect of increased exposure to antibiotics such as trimethoprim-sulfamethoxazole or antipseudomonal agents. The prophylactic activity of antibiotics, in particular quinolones, against the

acquisition of ampC-producing enteric Gram-negative bacilli and *P. aeruginosa* had been previously described [29, 30]. On the other hand, the higher incidence of catheter-related bacteraemia may be due to the fact that these patients had more often several central venous catheters (probably associated to the higher rate of septic shock at admission), received more frequently parenteral nutrition and their stay in the unit was longer. Other studies have shown that the central venous catheter is a major cause of bacteraemia in this population [31, 32]. An increased rate of methicillin-susceptible *S. aureus* colonisation on admission was also observed in the present study [8, 9], but no infections due to these microorganisms were diagnosed in HIV-infected patients. Our finding of a significant association between the ICU acquisition of *P. aeruginosa* and a lower CD4 cell count may be consistent with previous studies documenting that a low CD4 cell count (usually below 50/ μ L) was an independent risk factor for infection due to *P. aeruginosa* in this population [33, 34].

In regards to prognosis, the overall and ICU mortality were similar in both groups. This similarity occurred despite the fact that HIV-infected patients had a higher prevalence of factors associated with ICU mortality, such as longer intubation, infection diagnosis on admission and higher APACHE II scores. The explanation for this finding may lay on a greater exposure to protective factors such as antipseudomonal antibiotics or third-generation cephalosporins, which suggest that the eventual untoward impact of sepsis on survival can be lessened by the corresponding use of appropriate antimicrobial therapy. We did not find that the acquisition of RPRMs or infections during ICU stay were independent predictors of ICU mortality. The extent to which ICU-acquired infections in general or those due to resistant microorganisms in particular increase mortality beyond what would be expected on the basis of severity of illness is still a matter of controversy. Studies that did not find an independent association of ICU-acquired infections (including those due to RPRMs) with mortality are not exceptional in the critical care literature [35–37]. In addition, there is evidence that, when appropriate multistate or causal inference models are applied, the attributable mortality of ICU-acquired infections such as VAP may be lower than previously estimated (in the range of 4–8 %) [38, 39]. In any case, timely and appropriate antibiotic therapy is likely to be a modifying factor that may render the attributable mortality of ICU-acquired infections almost negligible [40]. The independent association of some antibiotic exposures with mortality deserves comment. When the administration of a given drug is associated with death, it may be quite difficult to establish whether this was due to a deleterious effect of the drug or just the result of preferentially administering that therapy to sicker patients. We think that the independent association of anti-*Aspergillus* antifungals with death belongs to the latter category. However, the observation that linezolid was associated with ICU mortality raises concern. In a clinical

trial on patients with catheter-related bacteraemia, linezolid was associated with increased mortality in the subset of patients with no pathogens at baseline [41]. In a recent case-control study of critically ill patients, a non-significant trend toward increased mortality in those with renal insufficiency receiving linezolid was noted [42]. Further studies, therefore, are necessary to provide a definite answer to this relevant question.

In HIV-infected patients, we noted a non-significant trend towards the association of a lower CD4 cell count with an increased mortality and length of ICU stay. These observations are consistent with the results of previous studies showing an association of low CD4 cell counts with increased mortality, although the finding that, in the critical care setting, it is an independent predictor of mortality remains elusive [43–45].

While early initiation of ART has shown to improve survival in patients with AIDS-related opportunistic infections [7], it remains questionable as to whether ART should be started during ICU stay due to issues of toxicity, bioavailability and drug interactions [3].

The present study has some common drawbacks of observational studies performed in a single institution with a limited number of participants, such as a low power to detect significant differences, difficulties in establishing causal relationships and the limitations when trying to apply results to other epidemiological scenarios. However, its strength resides on the frequent and thorough sampling method, allowing an accurate detection of the acquisition of RPRMs during ICU stay.

In conclusion, critically ill HIV-infected patients admitted to our ICU did not show a higher rate of RPRMs acquisition. The only most frequently acquired infection was catheter-related bacteraemia and mortality was similar in HIV-infected and non-infected patients.

Acknowledgments This work was supported by a grant from the “Fondo de Investigaciones Sanitarias, Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España” (PI050167).

Nazaret Cobos-Trigueros is the recipient of a Río Hortega grant (CM12/00155) from the Instituto de Salud Carlos III.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Akgün KM, Pisani M, Crothers K (2011) The changing epidemiology of HIV-infected patients in the intensive care unit. *J Intensive Care Med* 26:151–164
2. Castro Rebollo P, Nicolás JM, Gatell JM (2007) HIV in the intensive care unit. In: Rello J, Kollef MH, Díaz E, Rodríguez A (eds) *Infectious diseases in critical care*, 2nd edn. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp 51–62
3. Huang L, Quartin A, Jones D et al (2006) Intensive care of patients with HIV infection. *N Engl J Med* 355:173–181

4. Crothers K, Huang L, Goulet JL et al (2011) HIV infection and risk for incident pulmonary diseases in the combination antiretroviral therapy era. *Am J Respir Crit Care Med* 183:388–395
5. Chiang H-H, Hung C-C, Lee C-M et al (2011) Admissions to intensive care unit of HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral therapy: etiology and prognostic factors. *Crit Care* 15: R202
6. Casalino E, Wolff M, Ravaud P et al (2004) Impact of HAART advent on admission patterns and survival in HIV-infected patients admitted to an intensive care unit. *AIDS* 18:1429–1433
7. Zolopa A, Andersen J, Powderly W et al (2009) Early antiretroviral therapy reduces AIDS progression/death in individuals with acute opportunistic infections: a multicenter randomized strategy trial. *PLoS One* 4:e5575
8. Nguyen MH, Kauffman CA, Goodman RP et al (1999) Nasal carriage of and infection with *Staphylococcus aureus* in HIV-infected patients. *Ann Intern Med* 130:221–225
9. Padoveze MC, de Jesus Pedro R, Blum-Menezes D et al (2008) *Staphylococcus aureus* nasal colonization in HIV outpatients: persistent or transient? *Am J Infect Control* 36:187–191
10. American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America (2005) Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 171:388–416
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2009) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Nineteenth informational supplement. CLSI document M100–S19. CLSI, Wayne
12. Martínez JA, Nicolás JM, Marco F et al (2006) Comparison of antimicrobial cycling and mixing strategies in two medical intensive care units. *Crit Care Med* 34:329–336
13. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP et al (1985) APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 13:818–829
14. Vincent JL, Moreno R, Takala J et al (1996) The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 22:707–710
15. Department of Health and Human Services, Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, Office of AIDS Research Advisory Council. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents, 2007. Available online at: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>
16. Levy MM, Fink MP, Marshall JC et al (2003) 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 31:1250–1256
17. Mermel LA, Allon M, Bouza E et al (2009) Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 49:1–45
18. Ruiz M, Torres A, Ewig S et al (2000) Noninvasive versus invasive microbial investigation in ventilator-associated pneumonia: evaluation of outcome. *Am J Respir Crit Care Med* 162:119–125
19. Thomas CF Jr, Limper AH (2004) Pneumocystis pneumonia. *N Engl J Med* 350:2487–2498
20. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG et al (1988) CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 16:128–140
21. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2007) HIV/AIDS surveillance report, 2005. Vol. 17. Rev ed. CDC, Atlanta, pp 16–1
22. Mbulaiteye SM, Biggar RJ, Goedert JJ et al (2003) Immune deficiency and risk for malignancy among persons with AIDS. *J Acquir Immune Defic Syndr* 32:527–533
23. Petroll AE, Hare CB, Pinkerton SD (2008) The essentials of HIV: a review for nurses. *J Infus Nurs* 31:228–235
24. Puoti M, Spinetti A, Ghezzi A et al (2000) Mortality for liver disease in patients with HIV infection: a cohort study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 24:211–217
25. Schein RM, Fischl MA, Pitchenik AE et al (1986) ICU survival of patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Crit Care Med* 14:1026–1027
26. Adlakha A, Pavlou M, Walker DA et al (2011) Survival of HIV-infected patients admitted to the intensive care unit in the era of highly active antiretroviral therapy. *Int J STD AIDS* 22:498–504
27. Coquet I, Pavie J, Palmer P et al (2010) Survival trends in critically ill HIV-infected patients in the highly active antiretroviral therapy era. *Crit Care* 14:R107
28. Japiassú AM, Amâncio RT, Mesquita EC et al (2010) Sepsis is a major determinant of outcome in critically ill HIV/AIDS patients. *Crit Care* 14:R152
29. Schwaber MJ, Cosgrove SE, Gold HS et al (2004) Fluoroquinolones protective against cephalosporin resistance in gram-negative nosocomial pathogens. *Emerg Infect Dis* 10:94–99
30. Martínez JA, Delgado E, Martí S et al (2009) Influence of antipseudomonal agents on *Pseudomonas aeruginosa* colonization and acquisition of resistance in critically ill medical patients. *Intensive Care Med* 35:439–447
31. Petrosillo N, Viale P, Nicastrì E et al (2002) Nosocomial bloodstream infections among human immunodeficiency virus-infected patients: incidence and risk factors. *Clin Infect Dis* 34: 677–685
32. Ortega M, Almela M, Soriano A et al (2008) Bloodstream infections among human immunodeficiency virus-infected adult patients: epidemiology and risk factors for mortality. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 27:969–976
33. Meynard JL, Barbut F, Guiguet M et al (1999) *Pseudomonas aeruginosa* infection in human immunodeficiency virus infected patients. *J Infect* 38:176–181
34. Vidal F, Mensa J, Martínez JA et al (1999) *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18:473–477
35. Soufir L, Timsit JF, Mahe C et al (1999) Attributable morbidity and mortality of catheter-related septicemia in critically ill patients: a matched, risk-adjusted, cohort study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 20:396–401
36. Peres-Bota D, Rodriguez H, Dimopoulos G et al (2003) Are infections due to resistant pathogens associated with a worse outcome in critically ill patients? *J Infect* 47:307–316
37. Shorr AF (2009) Review of studies of the impact on Gram-negative bacterial resistance on outcomes in the intensive care unit. *Crit Care Med* 37:1463–1469
38. Timsit JF, Zahar JR, Chevret S (2011) Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia. *Curr Opin Crit Care* 17: 464–471
39. Bekaert M, Timsit JF, Vansteelandt S et al (2011) Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a reappraisal using causal analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 184:1133–1139
40. Agrafiotis M, Siempos II, Ntaidou TK et al (2011) Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 15:1154–1163
41. Wilcox MH, Tack KJ, Bouza E et al (2009) Complicated skin and skin-structure infections and catheter-related bloodstream infections: noninferiority of linezolid in a phase 3 study. *Clin Infect Dis* 48:203–212
42. Sterzik H, Soriano A, Mohamad AM et al (2011) Is linezolid a risk factor for Gram-negative bacillus infections in intensive care unit patients? A comparative study with vancomycin. *Scand J Infect Dis* 43:765–770
43. Dickson SJ, Batson S, Copas AJ et al (2007) Survival of HIV-infected patients in the intensive care unit in the era of highly active antiretroviral therapy. *Thorax* 62:964–968

44. Alves C, Nicolás JM, Miró JM et al (2001) Reappraisal of the aetiology and prognostic factors of severe acute respiratory failure in HIV patients. *Eur Respir J* 17:87–93
45. Khouli H, Afrasiabi A, Shibli M et al (2005) Outcome of critically ill human immunodeficiency virus-infected patients in the era of highly active antiretroviral therapy. *J Intensive Care Med* 20:327–333

Comparison of acquisition of resistant microorganisms and infections in critically-ill patients with and without malignancies

M. RINAUDO ¹, N. COBOS-TRIGUEROS ², M. SOLÉ ³, P. CASTRO ¹, C. HERNÁNDEZ ^{1,2}, J. M. NICOLÁS ¹, J. VILA ³, L. MORATA ², J. PUMAROL ¹, A. SORIANO ², J. MENSA ², J. A. MARTÍNEZ ²

¹Medical Intensive Care Unit, Hospital Clínic-IDIBAPS, Barcelona Centre for International Health Research (CRESIB, Universitat de Barcelona), Barcelona, Spain; ²Department of Infectious Diseases, Hospital Clínic-IDIBAPS, Barcelona Centre for International Health Research (CRESIB, Universitat de Barcelona), Barcelona, Spain; ³Department of Clinical Microbiology, Hospital Clínic-IDIBAPS- Barcelona Centre for International Health Research (CRESIB, Universitat de Barcelona), Barcelona, Spain

ABSTRACT

Background. Patients with malignancies are often considered at risk of acquiring infections by resistant or potentially resistant microorganisms (RPRMs). However, data supporting this contention is scarce. We have compared critically ill patients with haematological malignancies (HM), solid tumours (ST) and without cancer (NC) in terms of acquisition of RPRMs, infections and mortality.

Methods. Observational, prospective cohort study of patients admitted to a medical intensive care unit (ICU). Swabbing of nares, pharynx and rectum, and culture of respiratory secretions were obtained within 48 h of admission and thrice weekly thereafter. Clinical samples were obtained as deemed necessary by the attending physician. Clinical variables, severity scores on admission and exposures during ICU stay were also collected. Multivariable logistic regression analysis was used to evaluate ICU mortality.

Results. Out of 969 included patients 127 (13.1%) had HM and 93 (9.6%) had ST. Patients with malignancies were more frequently exposed to central venous catheterization, methylprednisolone, and any antipseudomonal antibiotic whereas they were less commonly exposed to invasive mechanical ventilation. Patients with HM were more often admitted with an infection. There were no differences among groups in terms of RPRMs acquisition during ICU stay or prevalence of ICU-acquired infections due to any microorganism, including RPRMs. Having a HM was an independent predictor of mortality regardless of APACHE II score.

Conclusion. Critically ill cancer patients did not show a higher rate of RPRMs acquisition nor ICU-acquired infections. Mortality was higher in the HM group and it was not accurately predicted on admission by APACHE II score. (*Minerva Anestesiol* 2013;79:1217-28)

Key words: Hematological neoplasms - Critical care - Cross infection - *Pseudomonas aeruginosa*.

Significant progress in the early diagnosis and intensive management of severe complications in patients with malignancies, as well as advances in chemotherapy, conditioning regimes and hematopoietic stem cell transplantation

(HSCT), have resulted in a great improvement in overall survival rates among these patients.^{1, 2} It has been estimated that 7% to 15% of hospitalized patients with cancer require admission to the intensive care unit (ICU).^{3, 4}

Patients with malignancies are more sus-

Comment in p. 1205.

ceptible to acquire infections, with almost 10 times more episodes of sepsis than patients without cancer.⁵⁻⁷ Moreover, they present a mean increasing case-fatality rate of more than 50%.⁶⁻⁸ This fact may have several explanations such as neutropenia induced by chemotherapy, which is the most important factor in determining susceptibility to bacterial infections, and immunosuppression associated with malignancies or their treatment. Oncological chemotherapy has been shown to contribute to an increased incidence of nosocomial infections,⁹ a greater use of antibiotics and more infections associated with resistant or potentially resistant microorganisms (RPRMs).¹⁰ In addition, immunosuppression, whether due to disease or administration of immunosuppressive drugs, has often been considered a risk factor for acquiring infections by resistant organisms and poor prognosis.¹¹ However, there is relatively few data concerning the epidemiology and patterns of acquisition of nosocomial infections and RPRMs as well as their prognosis in cancer patients admitted to the medical ICU.^{7, 11} Even the association between immunosuppression and acquisition of RPRMs has been recently questioned.¹² Therefore, the extent to which patients with haematological malignancies (HMs) or solid tumours (STs) in comparison to critically ill non-cancer (NC) patients behave regarding the acquisition of nosocomial infections and RPRMs remains to be clarified. The main objectives of this study are to compare critically-ill patients with and without malignancies in terms of ICU acquisition of RPRMs, infections, and mortality.

Materials and methods

Study population

From February 14th, 2006 to December 31st, 2008, all patients admitted to an eight-bed adult medical ICU of a 700-bed university hospital who stayed in the unit for at least 24 hours were prospectively included in the study. The study protocol was approved by the Research Ethics Committee of Hospital Clínic of Barcelona.

Data collection and definitions

Swabbing of nares, pharynx and rectum, and culture of respiratory secretions (tracheobronchial aspirates or sputum) were obtained within 48 hours of admission and thrice weekly thereafter until discharge or the first two months of ICU stay. Other clinical samples were obtained as deemed necessary by the attending physician. No environmental cultures were taken. Susceptibility testing was done by a microdilution technique according to the CLSI guidelines.¹³ For the purpose of analysis, intermediate susceptibility was considered as resistance.

The following microorganisms were considered as RPRMs: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), vancomycin-resistant enterococci, enteric gram-negative bacilli resistant to third-generation cephalosporins (cefotaxime, ceftazidime or both), and non-fermentative gram-negative bacilli (*Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Acinetobacter baumannii*).¹³

Demographics, clinical variables, severity scores (APACHE II and SOFA) on admission and exposures during ICU stay were prospectively collected from all admitted patients.¹⁴⁻¹⁶ The primary outcomes were the acquisition of RPRMs and infections during ICU stay as well as mortality.

Patients with positive surveillance cultures within 48 hours of ICU admission were considered to be colonized on admission. Colonization was defined as the isolation of a target microorganism from a surveillance culture or non-sterile clinical sample. Microorganisms isolated after 48 hours in patients with previous negative specimens for those bacteria were considered as ICU-acquired. Infections diagnosed within 48 hours of admission were considered as being of non-ICU origin and those diagnosed after 48 hours as ICU-acquired. Exposure to antibiotics meant at least 24 hours of treatment.

Infection was considered the reason for admission when the organ failure leading to critical care was meant to be a direct consequence of either the dysfunction of the infected organ or sepsis. Septic shock was defined according to SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS consensus

conference.¹⁷ ICU-acquired sepsis was defined as sepsis occurring more than 24 hours after admission to the ICU. Catheter-related bacteremia was defined according to IDSA guidelines.¹⁸ The diagnosis of pneumonia required the presence of new and/or progressive infiltrates in chest radiograph, and at least two of the following criteria: fever ≥ 38 °C or hypothermia ≤ 35 °C, leukocytosis $\geq 12000/\mu\text{L}$ or leucopenia $< 4000/\mu\text{L}$, or purulent respiratory secretions. When the patient was invasively ventilated for more than 48 h, pneumonia was considered ventilator-associated pneumonia (VAP).¹⁹ Patients without radiological criteria of pneumonia but fulfilling the above mentioned clinical criteria were considered to have tracheobronchitis. Other infections were diagnosed according to CDC criteria.²⁰

Cancer was identified as solid or haematological malignancy diagnosed before admission to the ICU. HMs were grouped as: Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma, acute leukaemia, chronic leukaemia, multiple myeloma, primary amyloidosis, and myelodysplastic syndromes. STs were classified in urological, lower gastrointestinal, upper gastrointestinal, head and neck, gynaecological, pancreas-liver-biliary, brain and others. Patients with a prior history of cancer and with complete remission for over five years were not considered in the cancer group. Neutropenia was defined as an absolute neutrophil count of less than 1000 cells/mm³.²¹

Statistical analysis

Clinical variables and exposures were compared between patients with HM, ST and NC patients. Proportions were compared using the χ^2 or Fisher's exact test. Continuous variables were compared by using the t-test (or Mann-Whitney test) and ANOVA (or Kruskal-Wallis test). Multivariable logistic regression analysis (step-forward procedure) was used to evaluate patient characteristics associated with ICU mortality. Variables with a P-value < 0.3 in the univariate analysis were introduced in the multivariate model. During analysis, a significant interaction between APACHE II score and the patient group was found, meaning that mortality in HM patients was much less associated

with an increasing APACHE score than in ST or NC patients. In order to address this interaction, the APACHE score was dichotomized by the median of the entire population (19 points) and a new logistic model was built in which an interaction "APACHE by patient group" variable stratified in four categories ("low APACHE and non-HM", "low APACHE and HM", "high APACHE and HM", "high APACHE and non-HM") was introduced. Calculations were done by using SPSS 17.0 version statistical package.

Results

Demographic and clinical characteristics

During the 35-month study period, 969 patients were admitted to the ICU, of which 127 (13.1%) had HM and 93 (9.6%) ST. Seven patients had a HM and a history of ST but only the haematological disease was active on admission and they were considered in the HM group. The primary sites of ST were urogenital (N.=22; 24%), lower gastrointestinal (N.=19; 20%), lung (N.=12; 13%), head and neck (N.=12; 13%), gynaecologic (N.=9; 10%), pancreas/liver/biliary tract (N.=7; 8%), upper gastrointestinal (N.=4; 4%), brain (N.=4; 4%), and others (N.=11; 12%). HM included non-Hodgkin's lymphomas (N.=36; 28%), acute leukaemia (N.=32; 25%), chronic leukaemia (N.=17; 14%), myeloma (N.=17; 14%), amyloidosis (N.=12; 9%), myelodysplastic syndromes (N.=8; 6%) and Hodgkin's lymphoma (N.=5, 4%). Forty-six patients (4.7%) had underwent HSCT (10 autologous and 36 allogeneic).

The main clinical and epidemiological characteristics on admission are shown in Table I. Compared with NC and the ST groups, patients with HM were significantly younger, more often had neutropenia and HSCT, had more infections prior admission within the last year, and had received more corticosteroids, immunosuppressive drugs and antibiotics in the previous month.

On admission, HM patients presented a higher prevalence of infection than the other two groups and shock was more frequent in both HM and ST than in NC patients. In addition,

TABLE I.—Clinical and epidemiological characteristics of the study population.

Features	NC (N. 749)	HM (N. 127)	ST (N. 93)	P
Age (years)	60.47±17.6	53.88±15.6	64.65±14	<0.0001
Male gender (%)	456 (60.9)	75 (59.1)	62 (66.7)	0.5
<i>Reason for admission</i>				
Infection	378 (50.5)	92 (72.4)	60 (64.5)	<0.0001
Respiratory disease	25 (3.3)	5 (3.9)	4 (4.3)	0.85
Cardiovascular disease	78 (10.4)	7 (5.5)	6 (6.5)	0.1
CNS disease	95 (12.7)	2 (1.6)	8 (8.6)	0.0007
Postsurgical	91 (12.1)	0 (0)	8 (8.6)	0.0002
Others	82 (10.9)	21 (16.5)	7 (7.5)	0.09
<i>Severity scores</i>				
APACHE II (median, IQR)	19 (14-22)	21 (18-25)	23 (18.5-26)	<0.0001
APS (median, IQR)	14 (10-19)	15 (11-19)	15 (11.5-19)	0.4
SOFA (median, IQR)	6 (3-9)	7 (5-9)	5 (4-8)	0.01
<i>Other conditions on admission</i>				
Prior corticosteroids (≤ 1 month)	90 (12)	68 (53.5)	15 (16.1)	<0.0001
Immunosuppressive therapy	24 (3.2)	64 (50.4)	13 (14)	<0.0001
Prior antibiotic (≤ 1 month)	171 (22.8)	78 (61.4)	35 (37.6)	<0.0001
Prior admission (≤ 1 year)	256 (34.2)	101 (79.5)	61 (65.6)	<0.0001
Infections during the last year	152 (20.3)	75 (59.1)	31 (33.3)	<0.0001
Transfer from other hospital wards	345 (46)	82 (64.5)	62 (66.6)	<0.0001
Hospital LOS until ICU admission (median, IQR)	2 (1-7)	13 (3-25)	5 (2-11)	<0.0001
Shock on admission	105 (14)	37 (29.1)	21 (22.6)	<0.0001
<i>RPRMs on admission</i>				
<i>P. aeruginosa</i>	53 (7.1)	11 (8.7)	8 (8.6)	0.7
Other non-fermenters ^a	9 (1.2)	4 (3.1)	1 (1.1)	0.2
<i>Enterobacteriaceae</i> resistant to cephalosporins	54 (7.2)	11 (8.7)	8 (8.6)	0.8
Methicillin-resistant <i>S. aureus</i>	24 (3.2)	4 (3.1)	4 (4.3)	0.8
Any RPRMs	123 (16.4)	25 (19.7)	20 (21.5)	0.4
<i>Infections on admission^b</i>				
Tracheobronchitis	178 (23.8)	5 (3.9)	15 (16.1)	<0.0001
Pneumonia	199 (26.6)	45 (35.4)	26 (28)	0.11
Catheter-related bacteremia	4 (0.5)	5 (3.9)	3 (3.2)	0.001
Primary bacteremia	7 (0.9)	9 (7.1)	3 (3.2)	<0.0001
Urinary tract infection	34 (4.5)	2 (1.6)	7 (7.5)	0.1
Other infections	151 (20.2)	44 (34.6)	18 (19.4)	0.001
<i>Underlying diseases</i>				
HIV infection	52 (6.9)	9 (7.1)	3 (3.2)	0.4
Neutropenia	3 (0.4)	18 (14.2)	2 (2.2)	<0.0001
HSCT				<0.0001
Autologous	1 (0.1)	32 (25.2)	3 (3.2)	
Allogenic	0	10 (7.9)	0	
COPD	118 (15.8)	11 (8.7)	24 (25.8)	0.03
Diabetes mellitus	154 (20.6)	15 (11.8)	16 (17.2)	0.06
<i>Toxic habits</i>				
Current smoker	237 (31.6)	30 (23.6)	24 (25.8)	0.12
Alcohol abuse	115 (15.4)	6 (4.7)	15 (16.1)	0.005
<i>Outcome</i>				
In-ICU mortality	91 (12.1)	32 (25.2)	14 (15.1)	0.005
In-hospital mortality	144 (19.2)	49 (38.6)	31 (33.3)	<0.0001

a. Includes *B. cepacia*, *S. maltophilia*, *A. baumannii* and *Pseudomonas spp.* b. 132 patients had an infection on admission that was not considered to be the reason for admission according to the definition provided in Methods. Quantitative variables are expressed as means and Standard Deviation (SD). Categorical variables are expressed as number of cases (%).

NC: Non-cancer Group; HM: Hematological malignancy group; ST: solid tumor group; CNS: central nervous system; APACHE II: Acute Physiology And Chronic Health Evaluation; APS: Acute Physiology Score; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; IQR: interquartile range; LOS: Length of stay; RPRMs: Resistant or potentially resistant microorganisms; HIV: human immunodeficiency virus; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; ICU: intensive care unit,

TABLE II.—*Exposures during ICU admission.*^a

Exposure	NC (N. 749)	HM (N. 127)	ST (N. 93)	P
Hospital LOS (days)	15 (9-30)	29 (16-62)	19 (11-35.5)	<0.0001
ICU LOS (days)	5 (3-9)	5 (3-10)	5 (3-9)	0.13
CVC	714 (95.3)	125 (98.4)	93 (100)	0.03
More than 1 CVC	316 (42.2)	67 (52.8)	49 (52.7)	0.02
Arterial catheter	676 (90.3)	106 (83.5)	84 (90.3)	0.07
Bladder catheter	693 (92.5)	113 (89)	89 (95.7)	0.16
Nasogastric tube	516 (68.9)	55 (43.3)	60 (64.5)	<0.0001
Nasogastric tube days	5 (3-12)	10 (5-25)	5 (2-12)	0.02
Rectal tube	29 (3.9)	11 (8.7)	3 (3.2)	0.04
Enteral nutrition	210 (28)	22 (17.3)	22 (23.7)	0.03
Parenteral nutrition	117 (15.6)	42 (33.1)	21 (22.6)	<0.0001
Methylprednisolone	287 (38.3)	64 (50.4)	46 (49.5)	0.01
Immunosuppressors	21 (2.8)	34 (26.8)	3 (3.2)	<0.0001
Orotracheal intubation	457 (61)	52 (40.9)	45 (48.4)	<0.0001
Intubation days	4 (2-7)	6.5 (3-11.75)	5 (2-7)	0.001
Tracheostomy	120 (16)	18 (14)	21 (22.6)	0.2
Endoscopy	77 (10.3)	29 (22.8)	17 (18.3)	0.0001
Surgery	62 (8.3)	13 (10.2)	14 (15.1)	0.09
Renal replacement therapies	61 (8.1)	14 (11)	9 (9.7)	0.5
Packed red cell transfusion	204 (27.2)	68 (53.5)	32 (34.4)	<0.0001
Most frequently used antibiotics				
Carbapenems	180 (24)	87 (68.5)	36 (38.7)	<0.0001
Ceftazidime	74 (9.9)	18 (14.2)	11 (11.8)	0.3
Piperacillin-tazobactam	137 (18.3)	20 (15.7)	31 (33.3)	0.001
Levofloxacin	149 (19.9)	32 (25.2)	20 (21.5)	0.4
Ciprofloxacin	104 (13.9)	11 (8.7)	16 (17.2)	0.15
Amikacin	20 (2.7)	21 (16.5)	10 (10.8)	<0.0001
Any antipseudomonal	433 (57.8)	106 (83.5)	73 (78.5)	<0.0001
Other penicillins	207 (27.6)	8 (6.3)	11 (11.8)	<0.0001
Other cephalosporins	180 (24)	21 (16.5)	19 (20.4)	0.15
Glycopeptides	209 (27.9)	79 (62.2)	28 (30.1)	<0.0001
Macrolides	27 (3.6)	6 (4.7)	0	0.13
Clindamycin	65 (8.7)	3 (2.4)	9 (9.7)	0.04
Metronidazole	23 (3.1)	14 (11)	7 (7.5)	0.0001
Trimethoprim-sulfamethoxazole	39 (5.2)	15 (11.8)	4 (4.3)	0.01
Linezolid	28 (3.7)	8 (6.3)	4 (4.3)	0.4
Fluconazole	113 (15.1)	32 (25.2)	24 (25.8)	0.002
Any anti-Aspergillus antifungal	21 (2.8)	48 (37.8)	5 (5.4)	<0.0001

a. Exposure is expressed in terms of frequency as number of patients (% of exposed) and in terms of duration as median days (interquartile range). Days of device use refers only to those patients exposed to the device. Duration of exposure is expressed as median days (interquartile range). Otherwise, figures are number of patients (%).

ICU: intensive care unit; NC: non-cancer group; HM: haematological malignancy Group; ST: solid tumour group; LOS: length of stay; CVC: central venous catheter.

cancer patients had a higher APACHE II score than NC, and HM had a significantly higher SOFA score than the other groups.

Regarding microbiologic isolations on admission, no differences between groups in the prevalence of each one of the RPRMs were

observed. In regards to clinical infections on admission, tracheobronchitis was less common among HM patients, whereas pneumonia, catheter-related bacteremia and primary bacteremia were more frequent in both cancer groups (Table I).

TABLE III.—*Microorganisms and infections acquired during ICU stay.*^a

	NC (N.=749)	HM (N.=127)	ST (N.=93)	P
<i>Microorganisms</i>				
<i>P. aeruginosa</i>	83 (11.1)	10 (7.9)	12 (12.9)	0.4
Other non-fermenters ^b	22 (2.9)	3 (2.4)	1 (1.1)	0.5
Enterobacteriaceae resistant to cephalosporins	50 (6.7)	3 (2.4)	3 (3.2)	0.08
Methicillin-resistant <i>S. aureus</i>	13 (1.7)	1 (0.8)	1 (1.1)	0.7
Any RPRMs ^c	136 (18.2)	17 (13.4)	16 (17.2)	0.4
<i>Infections</i>				
Tracheobronchitis	40 (5.3)	9 (7.1)	7 (7.5)	0.6
- Due to RPRMs	19 (2.5)	3 (2.4)	5 (5.4)	0.3
Pneumonia ^d	37 (4.9)	10 (7.9)	4 (4.3)	0.35
- Due to RPRMs	20 (2.7)	4 (3.1)	2 (2.1)	0.9
Catheter-related bacteremia	28 (3.7)	7 (5.5)	3 (3.2)	0.6
- Due to RPRMs	9 (1.2)	4 (3.1)	2 (2.1)	0.22
Primary bacteremia	22 (2.9)	4 (3.1)	2 (2.2)	0.9
- Due to RPRMs	10 (1.3)	0 (0)	1 (1.1)	0.4
Urinary tract infection	6 (0.8)	1 (0.8)	3 (3.2)	0.08
- Due to RPRMs	4 (0.5)	1 (0.8)	1 (1)	0.8
Other infections	11 (1.5)	3 (2.4)	2 (2.2)	0.7
- Due to RPRMs	1 (0.1)	0 (0)	0 (0)	0.9
Infection due to any RPRMs ^e	38 (5.1)	8 (6.3)	7 (7.5)	0.56

a. All figures except p-values are number of patients (%). b. Includes *B. cepacea*, *S. maltophilia*, *A. baumannii* and *Pseudomonas spp.* c. No vancomycin-resistant enterococci were isolated. d. 33 (89%), 8 (80%) and 3 (75%) were ventilator-associated pneumonia in NC, HM and ST patients, respectively (p=0.5). e. This number is lower than the sum of infected patients with RPRMs in each category because patients may have had more than one RPRMs infection.

ICU: Intensive Care Unit; HM: Hematological malignancy Group; NC: Non-cancer Group; ST: Solid tumour Group; RPRMs: resistant or potentially resistant microorganisms

Exposures during ICU stay

Exposures during ICU stay are shown in Table II. Although HM patients stayed longer in the hospital than NC and ST patients, ICU length of stay (LOS) was similar, with a median of 5 days for all three groups. During their ICU stay, patients with malignancies were more likely to be exposed to central venous catheterization, to more than one central venous catheter, to endoscopy and to methylprednisolone HM patients were more frequently exposed than the other two groups to rectal tube, to parenteral nutrition, to immunosuppressors and to blood products, but less exposed to nasogastric tube and enteral nutrition. Cancer patients were less frequently exposed to intubation and mechanical ventilation than NC patients.

In regards to antibiotics, HM patients received more frequently certain antibiotics such as carbapenems, glycopeptides, metronidazole, trimethoprim-sulfamethoxazole, and antifungals with activity against *Aspergillus* (voriconazole,

candins, amphotericin). Amikacin, fluconazole and any antipseudomonals were more frequently indicated in both groups of cancer patients than in NC patients.

Outcomes

A total de 169 (17.4%) patients acquired a RPRM during their ICU stay. The rectum (alone or simultaneously with other sites) was the most common first place of acquisition of gram-negative bacilli (81 patients, 48%), and it was involved in 74 (70%), 11 (42%) and 56 (100%) patients who acquired *P. aeruginosa*, other non-fermenters and *Enterobacteriaceae* resistant to cephalosporins, respectively. Conversely, MRSA was found in nasal or pharyngeal swabs in 13 out of 15 (87%) patients. Median (interquartile range) days to acquisition were 6 (4-11), 12 (4-20), 5.5 (3-10.75) and 5 (4-9) for *P. aeruginosa*, other non-fermenters, enteric gram-negative bacilli and MRSA, respectively. During ICU stay, 149 (15.3%) patients acquired an infection, of

TABLE IV.—*Univariate analysis of risk factors for ICU mortality.*^a

Features	Survivors (N.=832)	Non-survivors (N.=137)	P
<i>Underlying diseases</i>			
Neutropenia	15 (1.8)	8 (5.8)	0.004
Allogenic HSCT	20 (2.4)	16 (11.7)	<0.0001
Hepatic cirrhosis	27 (3.2)	10 (7.3)	0.03
Surgery previous to ICU admission	197 (23.7)	22 (16.1)	0.04
<i>Other conditions on admission</i>			
Current smoker	262 (31.5)	29 (21.2)	0.01
Prior corticosteroids (≤ 1 month)	132 (15.9)	41 (29.9)	0.0001
Immunosuppressive therapy	72 (8.7)	29 (21.2)	<0.0001
Prior antibiotic (≤ 1 month)	230 (27.6)	54 (39.4)	0.005
Prior admission (≤ 1 year)	347 (41.7)	71 (51.8)	0.03
Shock on admission	122 (14.7)	41 (29.9)	<0.0001
Type of cancer: acute leukemia	19 (2.3)	13 (9.5)	0.0001
<i>Reason for admission</i>			
Infection	441 (53)	89 (65)	0.009
Respiratory disease	25 (3)	9 (6.6)	0.04
Postsurgical	99 (11.9)	0	<0.0001
Others	102 (12.3)	8 (5.8)	0.02
<i>Prevalent infections on admission</i>			
Pneumonia	217 (26.1)	53 (38.7)	0.002
Primary bacteremia	13 (1.6)	6 (4.4)	0.02
Any infection	557 (66.9)	105 (76.6)	0.02
<i>Severity scores on admission</i>			
High APACHE II and non-HM	54 (6.5)	21 (15.3)	<0.0001
Low APACHE II and non-HM	429 (51.6)	15 (10.9)	
Low APACHE II and HM	41 (4.9)	11 (8)	
High APACHE II and HM	308 (37)	90 (65.7)	
SOFA	6 (3-8)	10 (7-12)	<0.0001
<i>In-ICU exposures</i>			
Multiple CVC	331 (39.8)	101 (73.7)	<0.0001
Arterial catheter	736 (88.5)	130 (94.9)	0.02
Bladder catheter	762 (91.6)	133 (97.1)	0.02
Nasogastric tube	504 (60.6)	127 (92.7)	<0.0001
Rectal tube	32 (3.8)	11 (8)	0.04
Enteral nutrition	203 (24.4)	51 (37.2)	0.002
Parenteral nutrition	126 (15.1)	54 (39.4)	<0.0001
Methylprednisolone	320 (38.5)	77 (56.2)	0.0001
Immunosupresors	39 (4.7)	19 (13.9)	<0.0001
Orotracheal intubation	427 (51.3)	127 (92.7)	<0.0001
Tracheostomy	120 (14.4)	39 (28.5)	<0.0001
Surgery	68 (8.2)	21 (15.3)	0.007
Renal replacement	48 (5.8)	36 (26.3)	<0.0001
Packed red cells transfusion	234 (28.1)	70 (51.1)	<0.0001
Other penicillins	182 (21.9)	44 (32.1)	0.01
Linezolid	26 (3.1)	14 (10.2)	0.0006
Trimethoprim-sulfamethoxazole	42 (5)	16 (11.7)	0.005
Any anti-Aspergillus antifungal	44 (5.3)	30 (21.9)	<0.0001
<i>ICU-acquired RPRMs</i>			
Cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae	43 (5.2)	13 (9.5)	0.04
<i>P. aeruginosa</i>	76 (9.1)	29 (21.2)	0.0001

(Continua)

TABLE IV.—Univariate analysis of risk factors for ICU mortality.^a

Features	Survivors (N.=832)	Non-survivors (N.=137)	P
Other non-fermenters	18 (2.2)	8 (5.8)	0.02
Any RPRM	129 (15.5)	40 (29.2)	0.0001
<i>ICU-acquired infections</i>			
Pneumonia	37 (4.4)	14 (10.2)	0.005
Urinary tract infection	6 (0.7)	4 (2.9)	0.04
Primary bacteremia	21 (2.5)	7 (5.1)	0.09
Any infection	111 (13.3)	38 (27.7)	<0.0001
Infection due to <i>P. aeruginosa</i>	28 (3.4)	12 (8.8)	0.003
Infection due to any RPRM	38 (4.6)	15 (10.9)	0.002

Quantitative variables are expressed as means and Standard Deviation (SD). Categorical variables are expressed as number of cases (%).

a. Variables with p-value >0.3 are not shown (General characteristics: age, gender; Underlying diseases: autologous HSCT, COPD, Hemodialysis, HIV infection, solid organ transplant, heart failure, diabetes mellitus, Other conditions on admission: alcohol abuse, infections during the last year; Hospital LOS previous to ICU admission, others types of cancer different from acute leukaemia, emergency surgery; Reasons for admission: cardiovascular and CNS diseases; Prevalent infections on admission: urinary tract infection, tracheobronchitis, catheter-related bacteremia, In-ICU exposures: CVC, any antipseudomonal antibiotic, Non-antipseudomonal cephalosporins, fluconazol; ICU-acquired RPRMs: MRSA; ICU acquired infections: tracheobronchitis, catheter-related bacteremia, other infections, infections due to MRSA, infections due to ESBL, infections due to other non-fermenters.).

ICU: intensive care unit; HSCT: hematopoietic stem cell transplantation; APACHE II: Acute Physiology And Chronic Health Evaluation; HM: hematological malignancy SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; CVC: central venous catheter; RPRMs: resistant or potentially resistant microorganisms; IQR: interquartile range.

which 53 (35.5%) were due to RPRMs and appeared at a median of 12 (7-18) days.

No differences between groups in the prevalence of acquisition of each one of the RPRMs during ICU stay were observed. Prevalence of ICU-acquired infections due to any microorganism or to RPRMs was not significantly different among the groups. A higher proportion of HM (8/17, 47%) and ST (7/16, 44%) patients than NC (38/136, 28%) patients acquiring a RPRM eventually had an infection due to these microorganisms, although none of these differences reached statistical significance (HM *vs.* NC, P=0.1; ST *vs.* NC, P=0.2) (Table III). Considering the different RPRMs, the rate of patients who became colonized but not infected was significantly higher for *Enterobacteriaceae* resistant to cefalosporins (53/56, 95%) than for *P. aeruginosa* (65/105, 62%, P<0.0001) and other non-fermenters (14/26, 54%, P=0.0001). The proportion of patients merely colonized by MRSA (13/15 patients, 87%) was not significantly different from that of other RPRMs.

In HM patients, ICU and hospital mortality were 25.2% (32 out of 127 patients) and 38.6% (49 out of 127), respectively, and these rates were significantly higher than those in NC and ST patients (Table I). Univariate analysis

of factors potentially associated with mortality is shown in Table IV. A significant interaction between APACHE II score and the patient group was found, meaning that mortality of HM patients did not depend on APACHE II to the same extent as in the other groups. Median (interquartile range) APACHE II was 20 (18-24) and 22.5 (17.25-29.75) for HM patients who survived and died, respectively (P=0.053). When APACHE score was dichotomized by the median of the whole population (19 points), mortality in HM patients was not significantly different for those with ≤19 than for those with a higher score (11/52, 21.2% *vs.* 21/75, 28%, P=0.4). Multivariate analysis that included this interaction variable is shown in Table V. After adjusting for confounding, being a HM patient with low (OR 9.86, 3.1-31) or high (OR 3.3, 1.2-9) APACHE II score was still associated with ICU mortality. Neither neutropenia on admission or ICU acquisition of RPRMs or infection due to these microorganisms were independent predictors of mortality.

Discussion

The main finding of the present study is that cancer patients did not seem to be particularly prone to acquire RPRM or infections during

TABLE V.—*Multivariate analysis of factors associated with ICU mortality.*

Variable	OR (95% CI)
APACHE II by patient group ^a	
Low APACHE II and non-HM	Reference group
Low APACHE II and HM	9.64 (3-31)
High APACHE II and HM	4.59 (2.45-8.63)
High APACHE II and non-HM	3.7 (1.37-9.96)
SOFA score	2.21 (1.12-1.29) ^b
Bacteremia from unknown source on admission	6.1 (1.37-27.1)
Reason for admission	
Postsurgical/other diagnosis	Reference group
Respiratory disease	11.8 (3.21-43.7)
Cardiovascular disease	3.06 (1-9.61)
Infection	5.6 (2.06-15.2)
CNS disease	4.99 (1.68-14.8)
Intubation	11.3 (4.98-25.6)
Receipt of corticosteroids other than hydrocortisone during ICU stay	2.33 (1.33-4.08)
Need for renal replacement therapy	2.33 (1.23-4.41)
Receipt of anti- <i>Aspergillus</i> antifungals	3.37 (1.6-7.1)
Receipt of linezolid	2.86 (1.23-6.65)
Receipt of antipseudomonal antibiotics	0.25 (0.13-0.47)
Receipt of non-antipseudomonal third generation cephalosporins	0.49 (0.27-0.89)

a. Low and high APACHE II score means ≤ 19 and >19 , respectively. b. Per increasing point of SOFA score.
 ICU: intensive care unit; APACHE II: Acute Physiology And Chronic Health Evaluation; HM: hematological malignancy; SOFA: sequential organ failure assessment; CNS: central nervous system.

their stay in a medical ICU. In addition, prognosis was not related to the acquisition of these pathogens or infections during ICU stay but rather to the condition of having a haematological malignancy, to the severity of illness on admission and to particular exposures.

In the present study 22.7% of patients admitted to a general medical ICU had cancer, mostly HMs (N.=127, 57.7%; STs, N.= 93, 42.3%), in contrast to many studies where the majority had STs.^{1, 4, 5, 22, 23} This is probably due to the fact that in our hospital haematological patients are preferentially transferred to the medical ICU involved in this study when they become critically ill. An interesting aspect of our study was that it included patients consecutively admitted to a general medical ICU, allowing us to make direct comparisons between cancer and non-cancer patients.

In the present study, infection was the main cause of admission for HM patients (72.4%) with a predominance of pneumonia and primary bacteremia, as previously reported.^{10, 24} Sepsis has been recognized as one of the major reasons

for ICU admission in cancer patients. Cancer has been reported in about 17% of medical admissions associated with sepsis,⁸ with a higher incidence in patients with haematological cancer, probably due to associated leucopenia,²⁵ almost universal use of venous catheters and other disruptions of defence mechanisms. In this population the high prevalence of infection on admission probably explains the increased prevalence of shock and the higher SOFA score at ICU entry and the more frequent use of several antibiotics during ICU stay. There were not many noteworthy differences among groups in regards to ICU exposures, except a significant lower prevalence of intubation in cancer patients, a lower exposure to enteral nutrition in HM patients, a higher prevalence of use of methylprednisolone in the population with cancer and an increased exposure to immunosuppressors and blood products in HM patients. Interestingly, although the proportion of patients with malignancies that needed intubation was lower than that in non-cancer patients, the incidence of pneumonia was not different. This may be due

to the fact that, although cancer patients were less often intubated, those that required intubation were exposed to it during a longer period of time (Table II).

There are relatively few data concerning the predisposition of cancer patients to acquire RPRMs and infections during admission to a medical ICU. It is of note that we did not find that patients with cancer were significantly more colonized with this type of microorganisms on admission. An increased rate of RPRMs would have been expected since this population (particularly HM patients) had been more frequently hospitalized within the previous year, more commonly transferred to the UCI from hospital wards and more frequently exposed to antibiotics. We do not think our data denies the influence of the above mentioned well established risk factors for acquisition of RPRMs.²⁶ However, it questions the intrinsic influence of cancer and underlines the importance that different epidemiological settings may have on the risk of RPRMs acquisition. In our centre, many haematological patients eventually admitted to the ICU are cared while hospitalized in a specialized ward with individual rooms and are subjected to protective isolation, which may prevent the acquisition of exogenous flora. In regards to acquisition of RPRMs or infections due to these organisms during ICU stay we were again unable to find any significant difference between cancer and non-cancer patients. In fact, the only trend observed was towards an increased rate of acquisition of cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* in non-cancer patients. This observation agrees with previous studies suggesting that immunosuppression is not an independent predictor of ICU-acquired multiple-resistant microorganisms¹² and may also be related to the fact that cancer patients were less frequently exposed to orotracheal intubation and nasogastric tube (particularly HM patients) and similarly exposed to high-risk antibiotics such as fluoroquinolones.²⁷

In regards to prognosis, we did not find that acquisition of RPRMs or infections during ICU stay were independent predictors of ICU mortality. The extent to which ICU-acquired infections in general or those due to resistant

microorganisms in particular increase mortality beyond what would be expected on the basis of severity of illness is still a matter of controversy. Studies that did not find an independent association of ICU-acquired infections (including those due to RPRMs) with mortality are not exceptional in the critical care literature.²⁸⁻³⁰ In addition, there is evidence that when appropriate multistate or causal inference models are applied, attributable mortality of ICU-acquired infections such as ventilator-associated pneumonia may be lower than previously estimated (in the range of 4-8%).^{31, 32} In any case, timely and appropriate antibiotic therapy is likely to be a modifying factor that may render attributable mortality of ICU-acquired infections almost negligible.³³

Some other findings of our multivariate analysis predicting mortality deserve some comment. Stepping into the model treatment-related variables such as antibiotics was allowed. When a given drug is selected as a "protective factor", the finding is reassuring and may be interpreted as additional evidence of its intended effect. This is the case of antipseudomonal agents or non-antipseudomonal cephalosporins in the present study. However, when some drug exposures are associated with death, it may be virtually impossible to establish whether this was due to a putative deleterious effect of the drug or just the result of preferentially administering that therapy to desperately ill patients. We think that the independent association of anti-*Aspergillus* antifungals with death belongs to the latter category. However, the observation that linezolid was associated with ICU mortality raises some concern. In a randomized, double-blinded trial on patients with nosocomial pneumonia due to MRSA, patients receiving linezolid had a better clinical response than those treated with vancomycin,³⁴ which is a definitive proof of its clinical efficacy. However, in another clinical trial on patients with catheter-related bacteremia, linezolid was associated with increased mortality in the subset of patients with no pathogens at baseline.³⁵ In a recent case-control study of critically ill patients, a non-significant trend toward increased mortality in those with renal insufficiency re-

ceiving linezolid was noted.³⁶ Further studies, therefore, are necessary to provide a definite answer to this relevant question.

In the present study, HM patients had a worse prognosis, and in this population the APACHE score on admission was not as good predictor of mortality as in ST and NC patients. The lack of association of APACHE II score with mortality in HM patients has been previously reported.^{3, 5, 37}

The present study has some typical drawbacks of observational studies performed in a single institution, such as the difficulties in establishing causal relationships and the possible limitations when trying to apply results to other epidemiological scenarios. However, its strength resides on the frequent and throughout sampling method allowing an accurate detection of acquisition of RPRMs during ICU stay.

Conclusions

In conclusion, critically ill patients with malignancies admitted to our ICU neither had a higher rate of RPRMs acquisition nor ICU-acquired infections compared with non-cancer patients. Furthermore, patients with HMs had a higher mortality that was not accurately predicted by the APACHE II score on admission, being HMs an independent predictor of poor outcome.

Key messages

— Critically ill patients with malignancies neither had a higher rate of acquisition of resistant or potentially resistant microorganisms nor ICU-acquired infections.

— In regards to prognosis, acquisition of resistant or potentially resistant microorganisms or infections during ICU stay were not independent predictors of ICU mortality.

— Patients with haematological malignancies had a higher mortality that was not accurately predicted by the APACHE II score on admission, being haematological malignancies an independent predictor of poor outcome.

References

1. Taccone FS, Artigas AA, Sprung CL, Moreno R, Sakr Y, Vincent JL. Characteristics and outcomes of cancer patients in European ICUs. *Crit Care* 2009;13: R15.
2. Brenner H. Long-term survival rates of cancer patients achieved by the end of the 20th century: a period analysis. *Lancet* 2002;360:1131-5.
3. Bird GT, Farquhar-Smith P, Wigmore I, Potter M, Gruber PC. Outcomes and prognostic factors in patients with haematological malignancy admitted to a specialist cancer intensive care unit: a 5 yr study. *Br J Anaesth* 2012;108:452-459.
4. Soares M, Caruso P, Silva E, Teles JM, Lobo SM, Friedman G *et al.* Characteristics and outcomes of patients with cancer requiring admission to intensive care units: a prospective multicenter study. *Crit Care Med* 2010;38:9-15.
5. Namendys-Silva SA, González-Herrera MO, Texcocoano-Becerra J, Herrera-Gómez A. Clinical characteristics and outcomes of critically ill cancer patients with septic shock. *Q J Med* 2011;104:505-11.
6. Williams MD, Braun LA, Cooper LM, Johnston J, Weiss RV, Qualy RL *et al.* Hospitalized cancer patients with severe sepsis. Analysis of incidence, mortality, and associated costs of care. *Crit Care* 2004;8:R291-298.
7. Danai PA, Moss M, Mannino DM, Martin GS. The epidemiology of sepsis in patients with malignancy. *Chest* 2006;129:1432-40.
8. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29:1303-10.
9. Velasco E, Thuler LC, Martins CA, Dias LM, Gonçalves VM. Nosocomial infections in an oncology intensive care unit. *Am J Infect Control* 1997;25:458-62.
10. Berghmans T, Crokaert F, Markiewicz E, Sculier JP. Epidemiology of infections in the adult medical intensive care unit of a cancer hospital. *Support Care Cancer* 1997;5:234-40.
11. American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:388-416.
12. Nseir S, Di Pompeo C, Diarra M, Brisson H, Tissier S, Boulo M *et al.* Relationship between immunosuppression and intensive care unit-acquired multidrug-resistant bacteria: a case-control study. *Crit Care Med* 2007;35:1318-23.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Wayne, PA, USA: Nineteenth Informational Supplement M100-S19. CLSI; 2009
14. Martínez JA, Nicolás JM, Marco F, Horcajada JP, García-Segarra G, Trilla A *et al.* Comparison of antimicrobial cycling and mixing strategies in two medical intensive care units. *Crit Care Med* 2006;34:329-36.
15. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985;13:818-29.
16. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H *et al.* The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 1996;22:707-10.
17. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D *et al.* for the International Sepsis Definitions Conference 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003;31:1250-6.
18. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P,

- O'Grady NP *et al.* Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;49:1-45.
19. Ruiz M, Torres A, Ewig S, Marcos MA, Alcón A, Lledó R *et al.* Noninvasive versus invasive microbial investigation in ventilator-associated pneumonia: evaluation of outcome. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:119-25.
 20. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 1988;16:128-40.
 21. Darmon M, Azoulay E, Alberti C, Fieux F, Moreau D, Le Gall JR *et al.* Impact of neutropenia duration on short-term mortality in neutropenic critically ill cancer patients. *Intensive Care Med* 2002;28:1775-80.
 22. Regazzoni CJ, Irrazabal C, Luna CM, Poderoso JJ. Cancer patients with septic shock: mortality predictors and neutropenia. *Support Care Cancer* 2004;12:833-9.
 23. Groeger JS, White P Jr, Nierman DM, Glassman J, Shi W, Horak D *et al.* Outcome for cancer patients requiring mechanical ventilation. *J Clin Oncol* 1999;17:991-7.
 24. Poletti V, Salvucci M, Zanchini R, Molinari AL, Zuffa E, Poletti G *et al.* The lung as a target organ in patients with hematologic disorders. *Haematologica* 2000;85:855-64.
 25. Blot F, Guiguet M, Nitenberg G, Leclercq B, Gachot B, Escudier B. Prognostic factors for neutropenic patients in an intensive care unit: respective roles of underlying malignancies and acute organ failures. *Eur J Cancer* 1997;33:1031-7.
 26. Nseir S, Grailles G, Soury-Lavergne A, Minacori F, Alves I, Durocher A. Accuracy of American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America criteria in predicting infection or colonization with multidrug-resistant bacteria at intensive-care unit admission. *Clin Microbiol Infect* 2010;16:902-8.
 27. Rangaraj G, Granwehr BP, Jiang Y, Hachem R, Raad I. Perils of quinolone exposure in cancer patients. *Cancer* 2010;116:967-73.
 28. Soufir L, Timsit JF, Mahe C, Carlet J, Regnier B, Chevret S. Attributable morbidity and mortality of catheter-related septicemia in critically ill patients: a matched, risk-adjusted, cohort study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999;20:396-401.
 29. Peres-Bota D, Rodriguez H, Dimopoulos G, DaRos A, Mélot C, Struelens MJ *et al.* Are infections due to resistant pathogens associated with a worse outcome in critically ill patients? *J Infect* 2003;47:307-16.
 30. Shorr AF. Review of studies of the impact of Gram-negative bacterial resistance on outcomes in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2009;37:1463-9.
 31. Timsit JF, Zahar JR, Chevret S. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia. *Cur Opin Crit Care* 2011;17:464-71.
 32. Bekaert M, Timsit JF, Vansteelandt S, Depuydt P, Vésin A, Garrouste-Orgeas M *et al.* Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a reappraisal using causal analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:1133-9.
 33. Agrafiotis M, Siempos II, Ntaidou TK, Falagas ME. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2011;15:1154-63.
 34. Wunderink RG, Niederman MS, Kollef MH, Shorr AF, Kunkel MJ, Baruch A *et al.* Linezolid in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nosocomial pneumonia: a randomized, controlled study. *Clin Infect Dis*. 2012;54:621-9.
 35. Wilcox MH, Tack KJ, Bouza E, Herr DL, Ruf BR, Ijzerman MM *et al.* Complicated skin and skin-structure infections and catheter-related bloodstream infections: noninferiority of linezolid in a phase 3 study. *Clin Infect Dis*. 2009;48:203-12.
 36. Sterzik H, Soriano A, Mohamad AM, Martínez JA, Fernandez J, Cobos N *et al.* Is linezolid a risk factor for Gram-negative bacillus infections in intensive care unit patients? A comparative study with vancomycin. *Scand J Infect Dis*. 2011;43:765-70.
 37. Afessa B, Tefferi A, Hoagland HC, Letendre L, Peters SG. Outcome of recipients of bone marrow transplants who required intensive care unit support. *Mayo Clin Proc* 1992;67:117-22.

Conflicts of interest.—The authors certify that there is no conflict of interest with any financial organization regarding the material discussed in the manuscript.

Funding.—This work was supported by a grant from the Fondo de Investigaciones Sanitarias, Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España, PI050167.

Received on January 24, 2013 - Accepted for publication on May 28, 2013.

Corresponding author: M. Rinaudo, MD, Medical Intensive Care Unit, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. E-mail: marianorinaudo@gmail.com.

X. Documento del Comité Ético de Investigación Clínica

D. Xavier Carné Cladellas, Jefe del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Clínic de Barcelona y Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC)

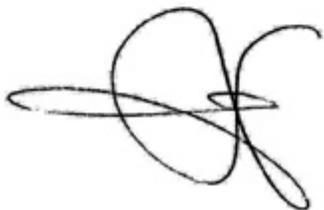
CERTIFICA:

Que el Comité Ético de Investigación Clínica, según consta en el acta de la reunión celebrada en el día de hoy, ha analizado el proyecto de investigación titulado:

Comparación de dos estrategias de uso de antibióticos con actividad anti-P. Aeruginosa (rotación frente a mezcla) en la adquisición de bacilos gram negativos resistentes en pacientes ingresados en una unidad de cuidado intensivo médica

cuyo investigador principal es el Dr **Martínez Martínez, José Antonio** entendiendo que dicho estudio se ajusta a las normas éticas esenciales y criterios deontológicos que rigen en este Centro, y, por tanto, ha decidido su aprobación.

Lo que firmo en Barcelona, a 22/06/2005



Ref: 2616

D. Ramon Gomis de Barbarà, Director de Investigación del
Hospital Clínic de Barcelona, y Presidente del CEIC

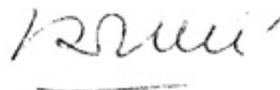
CERTIFICA:

Que el Comité de Investigación del Hospital Clínic, en la sesión
celebrada en el día de hoy, ha analizado el proyecto de investigación
titulado:

*Comparación de dos estrategias de uso de antibióticos con actividad anti-
P. Aeruginosa (rotación frente a mezcla) en la adquisición de bacilos
gram negativos resistentes en pacientes ingresados en una unidad de
cuidado intensivo médica*

cuyo investigador principal es el Dr. **Martínez Martínez, José Antonio**
entendiendo que dicho estudio se incluye en una de las líneas de
investigación biomédica acreditadas en este centro, cumpliendo
los requisitos metodológicos necesarios, y que es viable en todos
sus términos, por lo que lo ha considerado adecuado y ha decidido
su aprobación.

Lo que firmo en Barcelona, a 22/06/05



Ref: 2616

