

Arkadiusz Kuziemski, Beata Czerniak, Krystyna Frankowska, Ewa Gonia

## EPIDEMIOLOGIA MOLEKULARNA SZCZEPÓW *ACINETOBACTER BAUMANNII* IZOLOWANYCH W LATACH 2008 – 2010 W SZPITALU UNIWERSYTECKIM NR 2 W BYDGOSZCZY

### MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF *ACINETOBACTER BAUMANNII* STRAINS ISOLATED IN THE YEARS 2008-2010 IN UNIVERSITY HOSPITAL NO. 2 IN BYDGOSZCZ

Szpital Uniwersytecki nr 2 im. dr Jana Biziela w Bydgoszczy

#### STRESZCZENIE

**WSTĘP.** Rejestry zakażeń szpitalnych prowadzone w Oddziale Anestezjologii i Intensywnej Terapii (OAIIT) Szpitala Uniwersyteckiego (SU) nr 2 w Bydgoszczy wykazywały w latach 2007-2010 wzmożoną zapadalność na zakażenia bakteryjne o etiologii *Acinetobacter baumannii*. Specyfika Oddziału stwarza ryzyko przeniesienia bakterii środowiskowych tworzących florę szpitalną Oddziału do innych Oddziałów zgodnie z kierunkiem przemieszczania się chorych.

**MATERIAL I METODY.** W celu określenia wielkości tego ryzyka przez 3 lata kolekcjonowano poprzez zamrożenie zbliżone fenotypowo ze względu na oporność na antybiotyki szczepy *Acinetobacter* (ogółem 146 izolatów), z których wybrano 12, poddanych genotypowaniu. Molekularną diagnostykę różnicową prowadzono przy użyciu metody pulsacyjnej elektroforezy żelowej (PFGE).

**WYNIKI.** Wyniki badań molekularnych szczepów *Acinetobacter* (izolowanych z materiałów istotnych klinicznie) poddano analizie w kontekście dochodzeń epidemiologicznych. Na ich podstawie ustalono, że są co najmniej dwa szczepy epidemiczne *Acinetobacter baumannii*, jeden z nich był izolowany tylko od chorych leczonych w OAIIT. Niepokojący jest fakt izolacji tego genotypu od pacjenta, który nigdy nie był leczony w OAIIT. Transmisja zakażeń szpitalnych wywołanych szczepami epidemicznymi *Acinetobacter baumannii*, izolowanymi od tej pory od pacjentów OAIIT, stwarza realne ryzyko, że mogą one stać się florą szpitalną kolejnych Oddziałów.

**SŁOWA KLUCZOWE:** *epidemiologia molekularna, Oddział Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Acinetobacter baumannii*

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** Hospital infection registers prepared by Anaesthesiology and Intensive Care Unit (AICU) of J.Biziel University Hospital no. 2 in Bydgoszcz in the years 2007-2010 indicated to high incidence of bacterial infections of *Acinetobacter baumannii* aetiology. The specificity of the Unit poses the risk of hospital infection with environmental bacteria constituting the bacterial flora of the Unit to other units of the hospital in accordance with the direction of the patients relocation.

**MATERIAL AND METHODS.** In order to determine the aforementioned risk, the authors had collected and stored (in frozen state) *Acinetobacter* strains of similar phenotype as regards the resistance (146 isolates were collected in total) for 3 years and then the genotype of 12 selected isolates was determined. Differential molecular diagnosis was performed using pulsed field gel electrophoresis (PFGE).

**RESULTS.** Results of the molecular tests of *Acinetobacter* strains (isolated from clinically significant material) were analysed in the context of epidemiologic investigations. On the basis of the results, the authors found out that there are at least two epidemic strains of *Acinetobacter baumannii*; one of them was isolated from patients treated in AICU only. It is alarming that genotype has been isolated from the patient who has never been treated in AICU. Transfer of hospital infections caused by *Acinetobacter baumannii* strains isolated so far from AICU patients poses real threat that those bacteria can become part of bacterial flora in other hospital units.

**KEY WORDS:** *Molecular epidemiology, Intensive Care Unit, Acinetobacter baumannii*

## WSTĘP

Analiza rejestrowanych w OAiIT zakażeń szpitalnych wykazała, że dominującym czynnikiem etiologicznym są szczepy *Acinetobacter baumannii* (około 30% wszystkich zakażeń), których fenotyp wykazywał wielooporność (tab I). Większość chorych leczonych w OAiIT była po uzyskaniu poprawy przekazywana do macierzystych Oddziałów. Wśród izolowanych w szpitalu bakterii *Acinetobacter baumannii* były szczepy, które reprezentowały zbliżony fenotyp w zakresie oporności do tych, które były traktowane jako flora szpitalna OAiIT. Niektóre z nich były izolowane z materiału klinicznego pobranego od chorych, którzy nigdy nie byli leczeni w OAiIT. Na podstawie prowadzonych przez Zespół Kontroli Zakażeń Szpitalnych (ZKZS) dochodzeń epidemiologicznych ustalono, że istnieje ryzyko iż szczepy *Acinetobacter baumannii* są poprzez chorych przenoszone do innych Oddziałów. Z tego powodu zdecydowano się wykorzystać metody epidemiologii molekularnej w prowadzeniu dochodzeń epidemiologicznych. W latach 2008-2010 izolaty *Acinetobacter baumannii* spełniające kryteria (materiał kliniczny, zbliżony profil oporności) były zamrażane i kolekcjonowane (ogółem 146 szczepów). Spośród nich wybrano 12 szczepów, które zostały poddane genotypowaniu metodą pulsacyjnej elektroforezy żelowej. Jest to metoda często stosowana w molekularnych dochodzeniach epidemiologicznych (1,5,12).

Celem pracy była ocena ryzyka przeniesienia bakterii środowiskowych tworzących florę szpitalną Oddziału Anestezjologii i Intensywnej Terapii (OAiIT) Szpitala Uniwersyteckiego nr 2 w Bydgoszczy do innych oddziałów zgodnie z kierunkiem przemieszczania się chorych.

## MATERIAŁ I METODY

Pobierany materiał istotny klinicznie był diagnozowany mikrobiologicznie w następujący sposób:

**Szczepy bakteryjne.** Przedmiotem badań było 12 szczepów *A. baumannii* wyizolowanych ze 146 próbek materiałów klinicznych pochodzących od pacjentów hospitalizowanych w różnych oddziałach Szpitala Uniwersyteckiego nr 2 im. Jana Biziela w Bydgoszczy w okresie od grudnia 2008r. do października 2010r. Badanym materiałem były: mocz, wydzielina z dróg oddechowych, wydzielina ze zmian ropnych i dodatkowo posiewy krwi prowadzone w automatycznym systemie

BacTAlert 120 (bioMerieux). Do posiewów używano gotowych podłoży produkcji bioMerieux: Columbia agar z krwią owczą i MacConkey agar, a dla próbek materiału z dolnych dróg oddechowych dodatkowo agar czekoladowy wybiórczy dla *Hemophilus spp.* Hodowle prowadzono w warunkach tlenowych i w atmosferze wzbogaconej CO<sub>2</sub>, w temperaturze 36°C ± 1°C i oceniano je po 24 godz. inkubacji. W przypadku braku wzrostu drobnoustrojów inkubację przedłużano o dalsze 24 godziny. Niefermentujące glukozy, katalazo-dodatnie, oksydazo-ujemne, Gram-ujemne ziarniakopalczki kierowano do identyfikacji w kierunku *Acinetobacter spp.*

**Identyfikacja szczepów.** Przynależność gatunkową oznaczano na podstawie profili biochemicznych przy użyciu testu NEFERMtest 24 (PLIVA-Lachema Diagnostika) wg instrukcji producenta, braku hemolizy na podłożu agarowym z krwią owczą i zdolności do wzrostu w temp. 44°C.

**Lekowrażliwość szczepów.** Wykonano metodą dyfuzyjno – krążkową na podłożu Mueller-Hintona (bioMerieux) z zastosowaniem krążków bibułowych (Oxoid). Oznaczano wrażliwość na następujące antybiotyki i chemioterapeutyki: piperacylina (100µg), piperacylina/tazobactam (100/10µg), ampicylina/sulbactam (100/10µg), ceftazydym (30µg), cefepim (30µg), imipenem (10µg), meropenem (10µg), gentamycyna (10µg), amikacyna (30µg), ciprofloksacyna (5µg), tetracyklina (30µg) i trimetoprim/sulfametoksazol (1,25/23,75µg). Wyniki odczytywano po 20 godz. inkubacji w temp. 35°C ± 1°C. Przy interpretacji wyników przyjmowano kryteria zgodne z zaleceniami CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (1,2). Do wewnętrznej kontroli oznaczeń stosowano szczepy *Escherichia coli ATCC 25922*, *Escherichia coli ATCC 27853* i *Pseudomonas aeruginosa ATCC27853*. Lekowrażliwość była oznaczana zgodnie z zaleceniami Krajowego Ośrodka ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów.

**Przechowywanie szczepów:** izolaty przechowywano w probówkach z bulionem tryptozowo – sojowym z dodatkiem 20% glicerolu (BD Diagnostics) w temp. -75°C (zamrażarka laboratoryjna niskotemperaturowa Platinum 340V produkcji Angelantoni Industrie Włochy). Diagnostyka mikrobiologiczna materiału klinicznego i izolacja szczepów oraz ich przechowywanie były prowadzone w zakładzie mikrobiologicznym SU nr 2.

W grudniu 2010 r. spośród 146 przechowywanych szczepów wybrano 12. Ustalono następujące kryteria wyboru: zbliżona oporność, materiał kliniczny, odstęp czasu około 90 dni pomiędzy pobraniami materiału. Do badań genetycznych przekazano izolaty wyhodowane z: krwi - 5, moczu - 2, wymazy z BAL - 2, wymazy z ran - 3. Wybrane izolaty genotypowano przy użyciu pulsacyjnej elektroforezy żelowej (PFGE) według schematu:

**Przygotowanie bloczków żelowych z zawiesiną *Acinetobacter baumannii* do lizy komórek.** Szczepy *Acinetobacter baumannii* rozsiewano na powierzchni pożywki agarowej CASO + 0,6% ekstrakt drożdżowy i inkubowano płytki w temperaturze 37°C przez noc. Po inkubacji zbierano wymazówką wyrosłe kolonie i zawieszano w 2 ml buforu CSB (100mM Tris HCl, 1.0 mM EDTA, pH 8.0). Następnie mierzono gęstość optyczną (GO) na fotometrze przy długości fali 600 nm. Jeżeli wynik pomiaru był GO = 1,0, pobierano 400 µl zawiesiny. Jeżeli wartości pomiaru były większe lub mniejsze, to przeliczano ilość potrzebnej zawiesiny według wzoru: 1,0 x 400: GO. Zawiesinę umieszczano w probówce Eppendorfa o poj. 1,5 ml i dodawano 20 µl proteinazy K (20mg/ml). Następnie dodawano w przypadku szczepów *A. baumannii* 1% SeaKem Gold agarozę z detergentem jonowym (na 1 próbkę: 370 µl 1,0% żelu agarozowego, 30 µl 10% SDS), mieszano i наносono do otworów znajdujących się na plastikowej płytce, podklejonej taśmą. Żel pozostawiano do zestalenia na 15 min.

**Liza komórek.** Bufor do lizy komórek miał następujący skład: 50mM Tris, pH 8.0; 50 mM EDTA, pH 8.0; 1% N-laurosylsarkozyna, 0.1 mg/ml, proteinazy K (20.0 mg/ml). Bufor rozlewano po 4 ml do probówek i umieszczano w nim zestalone szablony żelowe. Lizę komórek prowadzono w łaźni wodnej w temperaturze 57°C przez noc bez mieszania. Następnie przemywano szablony 2 razy wodą destylowaną i 4 razy buforem TE (10mM Tris, 1mM EDTA, pH 8.0). Po ostatnim myciu szablony pozostawiano w 5 ml buforu TE, 8.0 i przechowywano w temperaturze 4–6°C. Tak przygotowane szablony poddawano działaniu enzymu restrykcyjnego.

#### Wykonanie cięcia DNA enzymem restrykcyjnym.

Przed poddaniem działaniu enzymu restrykcyjnego szablony agarozowe cięto na pół i umieszczano w probówkach Eppendorfa o poj. 1,5 ml. Szablony zawierające zawiesinę *A. baumannii* przemywano roztworem: 180 µl wody destylowanej i 20 µl 10x bufor Tango (ilość na 1 próbkę) i inkubowano w termomikserze w temperaturze 37°C przez 10 min. Następnie szablony te poddawano działaniu enzymu restrykcyjnego. Roztwór z enzymem restrykcyjnym składał się z: 175 µl wody destylowanej, 20 µl 10x bufor Tango, 5 µl enzymu *Xba*I (10 U/µl) – ilość na 1 próbkę. Próbkę inkubowano w termomikserze w 37°C przez noc mieszając przy 300 obr/min. Po restrykcji enzymem szablony żelowe wyjmowano i układano na grzebieniu, który następnie umieszczano w płynnym 1% żelu agarozowym (Pulsed Field Agarose). Po zestaleniu żel poddawano elektroforezie w aparacie do elektroforezy w zmiennym polu elektrycznym CHEF-DRIII w buforze TBE (45.0 mM Tris-HCl, pH 8.0; 45.0 mM kwas borowy, 1mM EDTA, pH 8.4) o temperaturze 140°C. Czas pulsu początkowego wyniósł 2.2 s, a końcowego 63.8 s. Czas migracji wyno-

sił 19 h przy napięciu 6V/cm i kącie 120° Jako markera wielkości używano szablonów agarozowych, które zwierały zawiesinę konktamerów λ. Po elektroforezie żel wybarwiano w roztworze wodnym bromku etydy (500 ml wody i 50 µl bromku etydy) przez 0,5 godz. Następnie żel odbarwiano w wodzie destylowanej przez 20 min. Żel analizowano w świetle UV (UVP AutoChemi® Syatem). Badania 12 izolatów *Acinetobacter baumannii* przy użyciu pulsacyjnej elektroforezy żelowej wykonano w Laboratorium Mikrobiologicznym Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Bydgoszczy.

Wyniki badań zostały opracowane statystycznie przy użyciu oprogramowania Microsoft Office 2007 firmy Microsoft.

## WYNIKI

Wybrane do badań molekularnych szczepy *Acinetobacter baumannii* były wielooporne. Fenotyp oporności wykazywał wrażliwość tylko na antybiotyki z grupy karbapenemów i kolistynę. Każdy z 3 szczepów spośród

Tabela I. Zestawienie liczby przypadków zakażeń szpitalnych w tym zakażeń wywołanych przez *Acinetobacter baumannii* zarejestrowanych w latach 2007 – 2010 w Oddziale Anestezjologii i Intensywnej Terapii Szpitala Uniwersyteckiego nr 2 im. Jana Bizuela w Bydgoszczy

Table I. Tabularized overview of hospital infections recorded in the years 2007 – 2010 in the Anaesthesiology and Intensive Care Unit of Jan Biziel University Hospital no. 2 in Bydgoszcz

ROK	Liczba wszystkich zakażeń	Liczba zakażeń wywołanych przez <i>Acinetobacter baumannii</i> (%)
2007	41	8 (19,5%)
2008	69	18 (26%)
2009	108	33 (30%)
2010	129	44 (34,1%)

Tabela II. Wyniki badań molekularnych 12 szczepów *Acinetobacter baumannii* genotypowanych przy użyciu pulsacyjnej elektroforezy żelowej

Table II. The molecular tests results

Materiał biologiczny	Liczba badanych szczepów	Pulsotypy				
		P <sub>3</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>4</sub>	P <sub>5</sub>
Krew	5	3	1	-	1	-
Mocz	2	-	1	1	-	-
BAL	2	1	-	-	-	1
Wymazy	3	1	2	-	-	-
RAZEM	12	5	4	1	1	1

12 genotypowanych wykazywał unikalny wzór restrykcyjny. Pozostałe 9 szczepów składało się z 2 genotypów wykazujących identyczny układ prążków. Jeden z nich szczep P3 występował pięciokrotnie, szczep P1 czterokrotnie. Z krwi najczęściej izolowano szczep P3 (3x). W wymazach z ran P1 izolowano dwukrotnie. Pochodzenie materiału pobranego do badań w kontekście wykrytych pulsotypów przedstawiono w tabeli (tab II).

Przeprowadzone dochodzenie epidemiologiczne wykazało, że 6 pacjentów, od których pobrano materiał do badań, było leczonych w OAiIT, a następnie w innych Oddziałach szpitala. U 4 spośród nich izolowano szczep P3, a u pozostałych szczepy P2 i P5. Szczep P1 był czterokrotnie izolowany od chorych leczonych w różnych Oddziałach, ale nigdy nie przebywali oni w OAiIT. Wyniki dochodzenia wskazują, że genotypy *Acinetobacter* wykrywane w OAiIT (P2, P3, P5) poza uzyskanym od jednego chorego, nie były izolowane od chorych leczonych w innych Oddziałach. W jednym przypadku chory nigdy nie był leczony w OAiIT, a izolowano od niego z krwi szczep P3 (pacjent Oddziału Neurologii – 2010 rok). Podczas jego pobytu w Oddziale Neurologii nie był leczony żaden chory, który przebywałby jednocześnie w OAiIT. W 2008 r. i 2009 r. u dwóch pacjentów z Oddziału Neurologii izolowano szczep P1. Wyniki dochodzenia epidemiologicznego przedstawiono w tabeli III.

Tabela III. Wyniki dochodzenia epidemiologicznego – wyizolowane pulsotypy od pacjentów z podziałem na oddziały na których byli leczeni

Table III. The epidemiologic investigation results

Pulsotyp	Pacjenci leczeni na oddziałach		
	anestezjologii i intensywnej terapii oraz neurologii	neurologii	pozostałych bez anestezjologii i intensywnej terapii
P <sub>1</sub>	-	2	2
P <sub>3</sub>	4	1	-
P <sub>4</sub>	-	-	1
P <sub>5</sub>	1	-	-
P <sub>2</sub>	1	-	-
RAZEM	6	3	3

## DYSKUSJA

Zakażenia szpitalne rejestrowane w OAiIT charakteryzują się wysoką zapadalnością, a ich etiologia często wynika z obecności patogenów w środowisku. Należą do nich szczepy *Acinetobacter baumannii*, które fenotypowo prezentują wielooporność i stanowią florę szpitalną tych Oddziałów, będąc jednocześnie przyczyną wysokiej śmiertelności w przebiegu tych zakażeń (2,6,7,9,10,13). OAiIT są interdyscyplinarnymi jednostkami szpitalnymi, w których ruch chorych jest

determinowany przez stan zagrożenia życia pacjenta. Po uzyskaniu poprawy klinicznej chorzy wracają do swoich pierwotnych Oddziałów. U wielu spośród nich rozpoznaje się zakażenie szpitalne, do którego doszło w OAiIT (5,9,13). Istnieje realne ryzyko, że mogą one stać się wektorem przenoszącym bakterie występujące w środowisku OAiIT do innych Oddziałów szpitalnych. Przeprowadzone przez nasz Zespół badanie, dzięki zastosowaniu metod epidemiologii molekularnej miało wykryć, czy w naszym szpitalu dochodzi do takich przypadków. Genotypowanie szczepów *A. baumannii* wykazało, że są dwa szczepy epidemiczne, a jeden z nich „pulsotyp P3” był izolowany od chorych leczonych w OAiIT. Pulsotyp P1 nie był wykrywany w materiale pochodzącym od chorych leczonych w OAiIT. Izolacja pulsotypu P3 od chorego nigdy nielezonego w OAiIT jest dowodem na przeniesienie zakażenia w Oddziale Neurologicznym, w którym do tej pory on nie występował.

Z dochodzenia epidemiologicznego wynika, że nie ma podstaw aby uznać, że przeniesiono zakażenie z pacjenta na pacjenta. Wobec tego jedyną możliwą drogą zakażenia to przeniesienie zakażenia ze środowiska na pacjenta. Wyniki naszego badania wskazują, że ryzyko przeniesienia flory bakteryjnej środowiskowej, występującej do tej pory tylko w OAiIT, jest realne, a wektorem przenoszącym patogeny są chorzy. W pracy badaczy argentyńskich, bez użycia metod epidemiologii molekularnej, wykazano możliwą drogę szerzenia się w środowisku szpitalnym klonów *Acinetobacter* poprzez chorych przemieszczających się pomiędzy oddziałami (4). Jest to wynik zbieżny z naszymi obserwacjami, aczkolwiek stwierdzono potencjalnie możliwą transmisję przez ręce personelu (chwilowa kontaminacja), wykluczając drogę powietrzną. W literaturze podkreśla się udział w przenoszeniu patogenów środków ochrony osobistej i rąk personelu (8,11). Zostało to potwierdzone wynikami badań naukowców z Baltimore, którzy wykryli łatwość kontaminacji rąk, rękawiczek i fartuchów zwłaszcza bakteriami z rodzaju *A. baumannii*.

Z naszych badań wynika, że procedury higieniczne stosowane w naszym szpitalu są skuteczne, ponieważ wykryliśmy, że genotypy *A. baumannii* będące florą szpitalną OAiIT, nie są, poza jednym przypadkiem, obecne w pozostałych Oddziałach. Z drugiej strony pomimo presji wywieranej przez środki dezynfekcyjne i antybiotyki epidemiczne, klony *A. baumannii* utrzymują się w środowisku OAiIT od wielu lat dominując w etiologii zakażeń szpitalnych. Do podobnych wniosków na podstawie trzyletnich badań doszli autorzy ze szpitala w Filadelfii, aczkolwiek wyniki badań molekularnych (rep-PCR) wskazywały na zanik dominującego w latach 2006-2007 klonu i wyparcie go przez zupełnie

inny (3). Jest to dowód na wysoki potencjał mutageny szczepów *A. baumannii*.

Kolonizacja środowiska kolejnych Oddziałów wieloopornymi szczepami utrudnia i podwyższa koszty antybiotykoterapii, potęguje ryzyko pojawiania się nowych szczepów epidemicznych wśród bakterii środowiskowych z wyższym potencjałem do wykształcenia nowych mechanizmów oporności.

### WNIOSKI

1. Pacjenci Oddziałów OAiT zakażeni wieloopornymi patogenami środowiskowymi mogą stać się wektorem przenoszącym je do innych Oddziałów.
2. Zespół Kontroli Zakażeń Szpitalnych powinien monitorować ryzyko przeniesienia patogenów.
3. Do Zespołu Kontroli Zakażeń Szpitalnych należy opracowanie metod zapobiegania szerzenia się wieloopornych patogenów w środowisku szpitalnym.

### PIŚMIENNICTWO

1. Adams-Haduch JM, Onuoha EO, Bogdanovich T, i in. Molecular epidemiology of carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter baumannii* in the United States. *J Clin Microbiol.* 2011 Sep 14. (Epub ahead of print).
2. Ansaldi F, Canepa P, Bassetti M, i in. Sequential outbreaks of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in intensive care units of a tertiary referral hospital in Italy: combined molecular approach for epidemiological investigation. *J Hosp Infect.* 2011 Oct;79(2):134-40. Epub 2011 Aug 5.
3. Baang JH, Axelrod P, Decker BK, i in. Longitudinal epidemiology of multidrug-resistant (MDR) *Acinetobacter* species in a tertiary care hospital. *Am J Infect Control.* 2011 Aug 10. (Epub ahead of print). Barbolla RE, Centron D, Maimone S, i in. Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* spread in an adult intensive care unit under an endemic setting. *Am J Infect Control.* 2008;36(6):444-52.
5. Cetin ES, Durmaz R, Tetik T, i in. Epidemiologic characterization of nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections in a Turkish university hospital by pulsed-field gel electrophoresis. *Am J Infect Control.* 2009 Feb;37(1):56-64. Epub 2008 Oct 3.
6. Dent LL, Marshall DR, Pratap S, I in. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: a descriptive study in a city hospital. *BMC Infect Dis.* 2010 Jul. 7;10:196.
7. Durante-Mangoni E, Zarrilli R. Global spread of drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: molecular epidemiology and management of antimicrobial resistance. *Future Microbiol.* 2011 Apr;6(4):407-22.
8. Morgan DJ, Liang SY, Smith CL, i in. Perencevich EN. Frequent multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* contamination of gloves, gowns, and hands of healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010 Jul;31(7):716-21.
9. Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. *N Engl J Med.* 2008;358:1271-1281, March 20, 2008.
10. Nowak J, Pacholczyk A, Petroniec V, i in. Wyniki molekularnych dochodzeń epidemicznych u chorych zakażonych szczepami z rodzaju *Acinetobacter*. *Pneumonol Alergol Pol.* 2010; 78, 6: 386–391.
11. Rożkiewicz D. Ręce personelu jako potencjalne źródło zakażeń szpitalnych. *Zakażenia* 5/2011: 6-12.
12. Villalon P, Valdezate S, Medina-Pascual MJ, i in. Clonal diversity of nosocomial epidemic *Acinetobacter baumannii* strains isolated in Spain. *J Clin Microbiol.* 2011 Mar;49(3):875-82. Epub 2010 Dec 22.
13. Zarrilli R, Giannouli M, Tomasone F, i in. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. *J Infect Dev Ctries.* 2009 Jun 1;3(5):335-41.

Otrzymano: 1.02.2012 r.

Zaakceptowano do druku: 12.06.2012 r.

#### Adres do korespondencji:

Arkadiusz Kuziemski

Szpital Uniwersytecki nr 2 im. dr Jana Biziela

ul. Ujejskiego 75 85-168 Bydgoszcz

e-mail: ArkadiuszKuziemski@interia.pl

tel.: (52) 365 57 29