

Patógenos multirresistentes en la fibrosis quística

R. Cantón^a, R. Girón^b, L. Martínez-Martínez^c, A. Oliver^a, A. Solé^d, S. Valdezate^a y L. Máiz^e

^aServicio de Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. ^bServicio de Neumología. Hospital de la Princesa. Madrid. ^cServicio de Microbiología. Hospital Virgen Macarena. Sevilla. ^dUnidad de Fibrosis Quística. Hospital La Fe. Valencia. ^eUnidad de Fibrosis Quística. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción

La infección pulmonar es una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad en el paciente con fibrosis quística (FQ). La evolución en el tiempo, su calidad de vida y sus expectativas de supervivencia son proporcionales al número anual de exacerbaciones y a la carga de microorganismos en las secreciones respiratorias^{1,2}. El particular nicho ecológico del pulmón en los pacientes con FQ, el incremento de la edad y los tratamientos antimicrobianos prolongados determinan que, con elevada frecuencia, se encuentren microorganismos multirresistentes que hacen aún más difícil el control de la progresión de la colonización y el deterioro de la función pulmonar. En este sentido, es importante definir y conocer los patrones de sensibilidad de los microorganismos que habitualmente colonizan la vía aérea del paciente con FQ, los aspectos clínicos relacionados con la colonización por patógenos multirresistentes y las opciones terapéuticas específicas para cada situación. El diagnóstico microbiológico y la detección de estos patógenos en las muestras respiratorias son imprescindibles para un correcto control y seguimiento de estos pacientes.

En abril de 2001 la Fundación Sira Carrasco para la ayuda a la FQ reunió en Madrid a pediatras, neumólogos y microbiólogos para dar a conocer, entre otros, un documento que sirviese de reflexión y guía de información sobre estos patógenos. La importancia de los microorganismos multirresistentes en la FQ se había constatado en una encuesta realizada con anterioridad³, en la que el 86% de los representantes de las diferentes unidades de FQ de España manifestaron que la multirresistencia era un problema acuciante, que podría condicionar el futuro de los tratamientos antimicrobianos y la calidad de vida de estos pacientes. En el presente trabajo se recogen los aspectos más sobresalientes de dicho documento, analizando el concepto de multirresistencia, su aplicación particular a los patógenos en la FQ, los factores que determinan su aparición, su repercusión clínica y algunos aspectos relacionados con el seguimiento microbiológico de los pacientes con aislamientos multirresistentes.

Concepto de multirresistencia

El concepto de multirresistencia se empezó a utilizar a finales de la década de los sesenta y durante los años setenta aplicado a cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM)⁴ y de *Streptococcus pneumoniae*⁵ que presentaban un perfil de resistencia que afectaba a dos o más agentes antibacterianos utilizados habitualmente en el tratamiento de las infecciones producidas por estos microorganismos. Con posterioridad, se aplicó a patógenos oportunistas, que presentan resistencia intrínseca o natural a numerosos antimicrobianos.

En la FQ, el término multirresistencia se utiliza de manera dual. En primer lugar, se aplica a un grupo de microorganismos que desarrollan resistencias durante el tratamiento, entre los que destaca *Pseudomonas aeruginosa*⁶. En un segundo grupo se incluyen los patógenos con resistencia intrínseca y que tienen un interés creciente: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* y *Achromobacter (Alcaligenes) xylosoxidans*⁷. La resistencia intrínseca es aquella inherente o natural de la bacteria, que no ha sido adquirida por un proceso de mutación o a partir de material genético de otra bacteria. En la FQ el origen de la multirresistencia es un proceso multifactorial en el que intervienen aspectos relacionados con el propio microorganismo, otros derivados del uso de los antimicrobianos y también los del hospedador, en particular el nicho ecológico pulmonar en el que se asientan los microorganismos. Este último desempeña un papel importante en la FQ.

Patógenos multirresistentes en la infección-colonización pulmonar en la fibrosis quística

Patógenos multirresistentes por el desarrollo de resistencias durante el proceso de infección-colonización

En este apartado se incluyen aquellos patógenos que inicialmente son sensibles a los antibióticos utilizados en el tratamiento de la infección respiratoria crónica del paciente con FQ y que, con el tiempo, pueden adquirir un fenotipo de multirresistencia. De forma general las bacterias tienen dos formas de perder sensibilidad a los antibióticos: a) mediante la adquisición de determinan-

Correspondencia: Dr. Rafael Cantón.
Servicio de Microbiología. Hospital Ramón y Cajal.
Ctra. de Colmenar, km 9,100, 28034 Madrid.
Correo electrónico: rcanton@hrc.insalud.es

tes de resistencia externos, a través de plásmidos, transposones, integrones o procesos de transformación, y *b*) a través de mutaciones en genes propios, cuya alteración conlleva la resistencia. En la FQ, como en la mayoría de las infecciones crónicas, el mecanismo preponderante es el último. Entre los patógenos que utilizan esta vía, el más característico e importante es *P. aeruginosa*, aunque la lista puede ampliarse a *S. aureus*, *Haemophilus influenzae*, *S. pneumoniae* y las enterobacterias.

Pseudomonas aeruginosa

Este microorganismo habitualmente es "sensible" a los antimicrobianos de elección cuando se aísla en los estadios iniciales de colonización. No obstante, presenta un cierto nivel de resistencia intrínseca a todos los antibióticos debido a la escasa permeabilidad de su membrana externa, a la expresión de un mecanismo de eliminación activa de antimicrobianos y a la producción de una betalactamasa (AmpC), que le confieren resistencia a ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico y cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, con la excepción de la ceftazidima. Esta betalactamasa no afecta a carboxi y ureidopenicilinas (ticarcilina y piperacilina), a ceftazidima ni a las cefalosporinas de cuarta generación (cefepima), monobactámicos (aztreonam) y carbapenemas (imipenem y meropenem)⁶. El mecanismo más habitual de resistencia a estos antibióticos, con la excepción de las carbapenemas, es la hiperproducción de su betalactamasa cromosómica⁸. Cuando esta situación se produce, *P. aeruginosa* es resistente a ticarcilina, piperacilina, ceftazidima, cefepima y aztreonam. En este caso, la asociación de tazobactam no mejora la actividad de la piperacilina.

Para que aparezcan resistencias a los carbapenemas, *P. aeruginosa* tiene que expresar un nivel moderado o alto de AmpC y, además, sufrir una mutación adicional en otros genes. En el caso de imipenem el mecanismo es la disminución o la pérdida de expresión de la proteína de membrana OprD, a través de la que este antibiótico entra en la bacteria. Esta alteración no afecta de forma significativa a meropenem y la resistencia a éste depende de la hiperexpresión de bombas de expulsión, que eliminan el antibiótico de la célula bacteriana una

vez que ha entrado⁶. En muchas ocasiones se produce una superposición de diferentes mecanismos, por lo que aparecen perfiles complejos de multirresistencia^{9,10}. En la tabla I se resumen los mecanismos que afectan a cada uno de los grupos de antibióticos en *P. aeruginosa*.

La resistencia a los aminoglucósidos de *P. aeruginosa* en la FQ también se debe a mutaciones que llevan a la hiperexpresión de una bomba de expulsión y no a la adquisición de enzimas modificadoras de aminoglucósidos, que es el mecanismo más frecuente en los aislamientos procedentes de otros procesos infecciosos¹¹. De igual forma, la resistencia a las quinolonas se produce por hiperexpresión de estas bombas, muchas veces unidas a mutaciones en las topoisomerasas, que son las dianas de acción de estos antibióticos¹². *P. aeruginosa* debe considerarse resistente a cotrimoxazol, cloramfenicol y tetraciclina. Asimismo, los macrólidos no tienen actividad antimicrobiana sobre este microorganismo, aunque disminuyen la expresión de algunos factores de patogenicidad y tienen un efecto inmunomodulador del que pueden beneficiarse los pacientes con FQ¹³.

Varios aspectos condicionan la frecuente aparición de cepas multirresistentes de *P. aeruginosa* en la FQ. En estos aislamientos son frecuentes las mutaciones que propician la hiperexpresión de bombas de expulsión. Estas bombas confieren resistencias a prácticamente todos los antibióticos^{14,15}, y se ha constatado que durante el tratamiento con un antibiótico determinado pueden seleccionarse cepas resistentes tanto a este compuesto como a otros antibióticos no utilizados anteriormente. Recientemente se ha demostrado que una elevada proporción de las cepas de *P. aeruginosa* aisladas en los pacientes con FQ presentan una tasa de mutación hasta 1.000 veces mayor de lo normal, lo que facilita enormemente la aparición de resistencias¹⁶. Asimismo, el particular crecimiento de *P. aeruginosa* formando biopelículas y el desarrollo de una cápsula de alginato, que genera su típico aspecto mucoso, dificultan el acceso del antibiótico¹⁷. Estos factores, unidos al prolongado y frecuente tratamiento antibiótico en los pacientes con FQ, favorecen la frecuente aparición con el transcurso de los años de cepas de *P. aeruginosa* multirresistentes.

TABLA I
Principales mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* y antibióticos afectados

Clase	Antibiótico	Mecanismo de resistencia
Penicilinas	Ticarcilina	Desrepresión de la betalactamasa cromosómica AmpC
	Carbenicilina	Hiperexpresión de bombas de expulsión (MexAB-OprM)
	Piperacilina	Betalactamasas plasmídicas
Penicilina-inhibidor de betalactamasa	Ticarcilina-clavulánico	Desrepresión de la betalactamasa cromosómica AmpC
	Piperacilina-tazobactam	Hiperproducción de betalactamasas plasmídicas
Cefalosporinas	Ceftazidima	Hiperexpresión de bombas de expulsión (MexAB-OprM)
	Cefepima	Desrepresión de la betalactamasa cromosómica AmpC
Carbapenemas	Imipenem	Hiperexpresión de bomba de expulsión (MexCD-OprJ)
	Meropenem	Pérdida de la proteína OprD + AmpC ↑ (imipenem [®])
Aminoglucósidos	Gentamicina	MexAB-OprM ↑ + AmpC ↑ + OprD ↓ (meropenem [®])
	Tobramicina	Hiperexpresión de la bomba de expulsión (MexXY)
	Amicacina	Modificación enzimática
Quinolonas	Ciprofloxacina	Mutaciones en la topoisomerasa (gyrA)
Polimixinas	Colistina	Hiperexpresión de las bombas de expulsión
		Cambios de lipopolisacárido (LPS)

Staphylococcus aureus

Implicado en la colonización pulmonar de los pacientes con FQ, especialmente en los estadios iniciales de la infección, no suele causar grandes problemas de multi-resistencia. La mayoría de las cepas son resistentes a las penicilinas. Esta característica se debe a la producción de una betalactamasa plasmídica fácilmente inhibida por el ácido clavulánico y el sulbactam. La presencia de este mecanismo no supone un problema terapéutico, ya que existen numerosos antibióticos betalactámicos estables a esta betalactamasa, como cloxacilina, cefalosporinas y las combinaciones de amoxicilina-ácido clavulánico y ampicilina-sulbactam. Más preocupante es el mecanismo de resistencia mediado por la expresión de una proteína fijadora de penicilina (PBP) inusual, denominada PBP2a, que determina la resistencia a la meticilina. La expresión de la PBP2a conlleva resistencia a todos los betalactámicos. Además, las cepas de SARM también suelen ser resistentes a otros grupos de antibióticos, como macrólidos, quinolonas y aminoglucósidos. Por suerte, estas cepas, que causan enormes problemas en los pacientes hospitalizados, no son muy frecuentes en la FQ¹⁸. Una posible explicación para su baja frecuencia es la de que los pacientes con FQ se infectan normalmente por cepas sensibles a la meticilina, que no contienen el determinante de resistencia a la meticilina (gen *mec*). Como este tipo de resistencia no se debe a un proceso de mutación, sino que requiere la adquisición de los correspondientes genes, el paciente necesitaría infectarse con una cepa de SARM que desplazase a la suya propia, situación poco frecuente¹⁹.

Haemophilus influenzae

Es otro patógeno importante en los estadios iniciales de colonización pulmonar en los pacientes con FQ. El mecanismo de resistencia a los antibióticos betalactámicos más frecuente en *H. influenzae* es la producción de la betalactamasa plasmídica TEM-1. Esta enzima confiere resistencia a las penicilinas y es inhibida por el ácido clavulánico²⁰. Aunque este mecanismo es habitual entre los aislamientos de FQ, es relativamente fácil encontrar cepas con resistencia a betalactámicos por mutaciones en las PBP. Este mecanismo confiere un perfil de resistencia relativamente amplio que incluye amoxicilina-ácido clavulánico, cefalosporinas de primera y segunda generación y, ocasionalmente, reducción de la actividad de cefalosporinas de tercera generación y carbapenemas²¹. Las mutaciones en las proteínas de membrana externa (OMP), a través de las cuales entran estos antibióticos, y su participación en la resistencia está poco estudiada. Recientemente, la aparición de cepas de *H. influenzae* con gran resistencia a quinolonas, como consecuencia de tratamientos prolongados con ciprofloxacina en los pacientes con FQ, puede agravar el problema de la multiresistencia en esta especie²².

Streptococcus pneumoniae

No se considera un patógeno típico de la FQ, ya que rara vez produce infecciones crónicas en estos pacientes. No obstante, al igual que en los pacientes no fibróticos, puede producir infecciones respiratorias agudas. Al

no tratarse de una infección crónica, los patrones de resistencia no difieren de los aislamientos encontrados en los pacientes sin FQ¹⁹. Hay que tener en cuenta que España es uno de los países con mayores tasas de resistencia a la penicilina (40-45%) y que muchos de los aislamientos que son resistentes a la penicilina lo son también a eritromicina, claritromicina y azitromicina²³.

Enterobacteriaceae

De forma ocasional se pueden hallar enterobacterias en el tracto respiratorio de los pacientes con FQ, aunque raramente producen infección crónica^{19,24}. Esta situación se produce como consecuencia de tratamientos prolongados con colistina en aerosol, que seleccionan ciertas especies de enterobacterias, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii* y *Serratia marcescens*, con resistencia intrínseca a este antimicrobiano. También se ha observado que los tratamientos prolongados con ceftazidima o aztreonam pueden seleccionar enterobacterias con hiperproducción de betalactamasa cromosómica o con betalactamasas plasmídicas de espectro extendido, y en ambos casos produce un patrón de resistencia a todos los betalactámicos utilizados habitualmente en la FQ, con excepción de las carbapenemas²⁵.

Patógenos con resistencia intrínseca en la FQ

Durante las últimas décadas se ha producido un incremento de las expectativas de vida del paciente con FQ². Este hecho ha sido posible gracias a un mejor conocimiento de los múltiples factores involucrados en esta enfermedad y a la mejora de los tratamientos antimicrobianos. Sin embargo, los compuestos capaces de "controlar" las infecciones pulmonares por los patógenos clásicos (*S. aureus*, *H. influenzae* y *P. aeruginosa*) aportan ventajas "ecológicas" a microorganismos multiresistentes, como son *S. maltophilia*, *B. cepacia*, *A. xylosoxidans* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores⁷. Todos estos patógenos se caracterizan por presentar resistencia intrínseca a múltiples antibióticos, por lo que pueden seleccionarse durante el tratamiento antimicrobiano.

Stenotrophomonas maltophilia

Es intrínsecamente resistente a la mayoría de los antimicrobianos debido a la superposición de mecanismos en los que están implicados la permeabilidad y la expulsión activa^{26,27}. Además, presenta un perfil de multiresistencia amplio a betalactámicos, debido a la producción de metalobetalactamasas (betalactamasas L1), que hidrolizan de forma eficaz las carbapenemas, y de betalactamasas de clase A de espectro extendido (betalactamasas L2), que hidrolizan todas las cefalosporinas²⁸. Los betalactámicos más activos son el moxalactam, no utilizado por problemas de toxicidad hematológica, y ticarcilina-ácido clavulánico, no comercializado en España. El resto de los antibióticos tiene una actividad variable. Entre los que presentan mejor actividad destacan las nuevas fluoroquinolonas (moxifloxacina y levofloxacina), con porcentajes de resistencia inferiores al 10%²⁹, y el cotrimoxazol, considerado, a pesar de su es-

caso poder bactericida, como de elección en las infecciones por *S. maltophilia*²⁸. Dado que las resistencias frente a este último antimicrobiano están aumentando, se recomienda administrarlo en asociación con otros fármacos, entre ellos colistina, ticarcilina-ácido clavulánico o doxiciclina^{28,30}. También se ha propuesto la administración de minociclina, que presenta incluso mejor actividad que doxiciclina³¹. Los aminoglucósidos tampoco son una buena opción terapéutica, ya que la mayoría de las cepas presenta una enzima modificante constitutiva y sistemas de bombeo que afectan a estos antimicrobianos^{32,33}. En la tabla II se indican de manera esquemática la actividad *in vitro* de los diferentes antimicrobianos frente a *S. maltophilia*.

Burkholderia cepacia

B. cepacia agrupa 6 genovares diferentes, I a VI, de los cuales el II (denominado *B. multivorans*), el III y el VI representan la mayoría de las *Burkholderia* aisladas en la FQ^{34,35}. Al igual que *S. maltophilia*, es intrínsecamente resistente a la mayoría de los antimicrobianos utilizados habitualmente en la FQ, incluyendo la colistina (tabla II). Es resistente a las penicilinas, pero con sensibilidad variable a las asociaciones de penicilinas e inhibidores de betalactamasa (piperacilina-tazobactam, ticarcilina-ácido clavulánico). También son resistentes a las cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, pero sin afectar por completo a ceftazidima, cefepima, moxalactam y el monobactámico aztreonam³⁶. Pueden aparecer sensibles *in vitro* a imipenem y a meropenem. Sin embargo, no son de elección, ya que pueden expresar una carbapenemasa³⁷. También son resistentes a los aminoglucósidos, aunque estos pueden mostrar sinergia en asociación con los betalactámicos. Otras asociaciones ensayadas con éxito *in vitro* son cloramfenicol-ceftazidima y cloramfenicol-minociclina e, incluso, asociaciones de tres fármacos, entre ellos un betalactámico, ciprofloxacino y tobramicina³⁸. Cabe destacar que minociclina es más activa *in vitro* que doxiciclina y tetraciclina³⁹.

Achromobacter xylosoxydans

Es un patógeno oportunista con un perfil de resistencia que incluye colistina, aminoglucósidos, penicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación (tabla II).

Aunque no todos los aislamientos presentan resistencia a la ceftazidima, ésta no se considera tratamiento de elección, ni siquiera en asociación con otros antimicrobianos. Su multiresistencia se debe fundamentalmente a la presencia de una betalactamasa cromosómica inducible⁴⁰. Imipenem y meropenem tampoco son del todo activos, y en algunos trabajos se alcanzan cifras del 40% de resistencia⁷. Igualmente, la actividad de las asociaciones piperacilina-tazobactam y ticarcilina-ácido clavulánico es variable, aunque estas asociaciones presentan sinergia con aminoglucósidos. El cotrimoxazol también es activo, pero con escaso poder bactericida. Por contra, las nuevas fluoroquinolonas son más activas, al igual que la minociclina y la doxiciclina⁴¹.

Otros bacilos gramnegativos no fermentadores

Entre los que se aíslan en la FQ destacan *Burkholderia gladioli* y *Ralstonia picketti*, anteriormente incluidas en el género *Pseudomonas*. El perfil de resistencia es menos amplio que el de *B. cepacia* y *S. maltophilia*⁸. Por el momento, no está aclarada su relevancia clínica.

Aspectos clínicos relacionados con los patógenos multirresistentes en la fibrosis quística

La mayoría de los pacientes con FQ son colonizados en los estadios iniciales por *H. influenzae* y *S. aureus*¹. En esta fase, la utilización de antimicrobianos como profilaxis es controvertida, ya que no existen evidencias claras de los beneficios derivados de esta actitud, puesto que podría adelantarse la colonización por *P. aeruginosa*⁴².

La colonización por cepas de SARM no parece aumentar la morbimortalidad en la FQ, pero la limitación terapéutica derivada de esta situación es importante, ya que la mayoría de estos aislamientos son también resistentes a aminoglucósidos, macrólidos y quinolonas. La incidencia de la infección por SARM en estos pacientes es variable, y oscila entre el 5 y el 30%. En series amplias se ha observado un incremento del número de pacientes con FQ colonizados por este patógeno¹, que podría estar en relación con el aumento generalizado de las infecciones por SARM en los hospitales. En el fibrotico quístico parece demostrado que el contagio suele ser nosocomial y no a través de otros pacientes con

TABLA II
Perfil de resistencia en *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* y *Achromobacter xylosoxydans*

Porcentaje de resistencia	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Achromobacter xylosoxydans</i>
0-25%	Moxalactam, minociclina, doxiciclina, moxifloxacino, levofloxacino, cotrimoxazol	Moxalactam, ceftazidima, cefepima, minociclina, doxiciclina	Moxalactam, minociclina, doxiciclina, moxifloxacino, levofloxacino, cotrimoxazol
25-50%	Ciprofloxacino, cloramfenicol, ticarcilina-ácido clavulánico	Cotrimoxazol, meropenem, imipenem, aztreonam, cloramfenicol	Ciprofloxacino, cloramfenicol, ticarcilina-ácido clavulánico, piperacilina-tazobactam
50-75%	Colistina piperacilina-tazobactam, ceftazidima, cefepima	Moxifloxacino, levofloxacino, ticarcilina-ácido clavulánico, piperacilina-tazobactam	Meropenem, imipenem, ceftazidima, cefepima
75-100%	Tobramicina, amicacina, tetraciclina, aztreonam, meropenem, imipenem	Tobramicina, amicacina, tetraciclina, colistina, rifampicina	Tobramicina, amicacina, tetraciclina, aztreonam

FQ⁴³, ya que el riesgo de colonización está en relación con el número de ingresos hospitalarios, su duración y el estado de deterioro de la función pulmonar^{18,44}. En algunos pacientes la colonización por este tipo de cepas no suele prolongarse más allá de un mes⁴⁴, lo que indica el posible desplazamiento por otras cepas de *S. aureus* sensibles con mayor ventaja ecológica en ausencia de presión selectiva de antimicrobianos. No obstante, en los pacientes con mayor deterioro pulmonar su eliminación es más difícil⁴⁴. Desde el punto de vista del seguimiento, el paciente con FQ colonizado con cepas de SARM debe ser aislado durante su ingreso hospitalario.

Mientras que la colonización por *S. aureus* decrece con la edad de los pacientes, la debida a *P. aeruginosa* se incrementa de forma gradual hasta ser el patógeno más importante. Este hecho, parcialmente explicado, está en relación con la presencia de receptores específicos en la superficie de las células epiteliales del paciente con FQ, el crecimiento formando biopelículas y la evolución hacia la multirresistencia. Por técnicas moleculares se ha demostrado que *P. aeruginosa* puede estar presente en el árbol respiratorio antes de que los cultivos sean positivos⁴⁵. La colonización inicial se produce por morfotipos no mucosos, y en los primeros estadios no se objetivan modificaciones importantes en el estado del paciente. Sin embargo, existe un cambio relativamente rápido a morfotipos mucosos; la colonización crónica se establece y el desarrollo de resistencias es parejo a la utilización de antimicrobianos¹⁹. Asimismo, existe una correlación entre el deterioro de la función pulmonar, las exacerbaciones y el incremento de los recuentos de *P. aeruginosa*⁴⁶. Los ciclos repetidos con antimicrobianos para controlar la infección favorecen el desarrollo de variantes resistentes, que rápidamente se asientan en el pulmón del paciente con FQ, haciendo prácticamente imposible su eliminación. La segregación de los pacientes colonizados por *P. aeruginosa* multirresistente no es una práctica realizada habitualmente, ya que menos del 30% de las unidades de FQ de España lleva a cabo recomendaciones ante esta situación. No obstante, se aconseja tomar medidas de barrera en caso de ingreso hospitalario, para evitar su transmisión a otros pacientes³.

Por otra parte, los ciclos repetidos de antibióticos para el control de la colonización y las exacerbaciones por *P. aeruginosa* pueden facilitar la selección de otros patógenos oportunistas multirresistentes⁷. El aumento de la edad de los pacientes ha evidenciado esta situación. Los datos de prevalencia anual del Registro de la Fundación Americana de Pacientes con FQ indican que durante el período 1995-1999 se ha producido un aumento de la colonización por *S. maltophilia*, y se llega a cifras del 6,4%, con un rango de variación entre centros participantes entre el 0 y el 28%¹. Respecto de *B. cepacia*, la tasa de colonización general no ha variado de forma sustancial, aunque algunos centros alcanzan un 13,6%. Para *A. xylosoxidans* los valores son inferiores, con porcentajes cercanos al 2%. No obstante, existen trabajos que elevan esta cifra hasta alcanzar valores cercanos al 9%⁴⁷. Según la edad de los pacientes existe una tendencia general a incrementar su incidencia a partir

de los 10 años, alcanzando valores máximos a partir de los 18 años para *S. maltophilia* y *B. cepacia* y de los 24 años para *Achromobacter* spp. En España, en un trabajo de seguimiento de 8 años en una unidad de FQ, el porcentaje de pacientes con aislamiento de *S. maltophilia* y *A. xylosoxidans* fue del 5,3 y el 3,5%, respectivamente⁴⁸.

Los aislamientos de *S. maltophilia* en la FQ presentan una gran variabilidad clonal, en contra de lo que sucede en los pacientes hospitalizados sin FQ. En éstos la transmisión se produce a través de fómites o respiradores. En un trabajo reciente se ha evidenciado que la colonización por *S. maltophilia* se produce atendiendo a tres patrones diferentes: a) en un único episodio, situación que acontece en el 55% de los pacientes; b) en episodios repetidos por clones diferentes (20%), o c) en episodios repetidos con la persistencia del mismo clon (25%)⁴⁹. La repercusión clínica de la colonización por este microorganismo es controvertida, entre otras causas por el bajo número de pacientes que integra los estudios y los diferentes aspectos que se debe tener en cuenta. Sin embargo, parece claro que en los pacientes con cultivo positivo para *S. maltophilia*, los valores del volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) en la función pulmonar son menores que los de los pacientes con cultivos negativos. Este hecho estaría en relación con los factores de riesgo asociados con su aparición y podría contribuir a un deterioro clínico más rápido, ya que la tasa de mortalidad es mayor⁵⁰⁻⁵².

Una situación análoga sucede con el complejo *B. cepacia*, y es significativamente mayor la tasa de mortalidad en los pacientes colonizados por este organismo. En estas circunstancias, se asocia con un rápido deterioro de la función pulmonar y con un incremento de la morbilidad, sin que quede claro si es causa o consecuencia de este deterioro. En algunos casos puede existir una colonización asintomática o producirse el denominado "síndrome cepacia", con grave deterioro y consecuencias negativas para el paciente. Su efecto sobre el FEV₁ tampoco es claro, ya que se alcanzan valores menores o mayores que los del grupo control dependiendo del estudio^{53,54}. Para algunos autores, el hallazgo de *B. cepacia* supone la restricción en el contacto con otros pacientes con FQ y la contraindicación para trasplante pulmonar. No obstante, con la adecuación del tratamiento antimicrobiano e inmunosupresor se puede mejorar las tasas de mortalidad postrasplante anteriormente observadas⁵⁵.

A diferencia de los dos microorganismos anteriores, el bajo número de pacientes que presentan una colonización crónica por *A. xylosoxidans* impide conocer cuál es su verdadera trascendencia clínica. En algunos casos se ha documentado un deterioro del estado clínico con exacerbaciones pulmonares agudas, aunque esto suele producirse en el seno de una colonización concomitante con *P. aeruginosa*⁵⁶. Durante los últimos años se ha insistido en conocer la capacidad de transmisión de estos microorganismos entre los diferentes pacientes. Mientras que algunos clones de *B. cepacia* presentan una gran capacidad de transmisión entre los pacientes, originando brotes en centros de FQ, con *A. xylosoxidans* no parece que exista esta posibilidad⁷. Como factores de

riesgo de colonización por estos patógenos multirresistentes se han señalado la utilización de la antibioterapia de amplio espectro, sobre todo en aquellos casos en los que se realizan distintos regímenes a lo largo del año, y la hospitalización frecuente⁸.

Opciones de tratamiento en la infección-colonización por patógenos multirresistentes en la fibrosis quística

El tratamiento antimicrobiano en los pacientes con FQ colonizados por microorganismos multirresistentes está limitado por el propio perfil de resistencia. Debe estar guiado por los resultados de las pruebas de sensibilidad *in vitro*, y hay que elegir combinaciones de antimicrobianos que aseguren un efecto bactericida sinérgico. Las vías utilizadas son las mismas que las empleadas con el resto de los patógenos e incluyen la intravenosa, la oral y la tópica, en este caso por vía inhalatoria. Las dosis utilizadas son, en general, superiores a las habituales, para asegurar la obtención de concentraciones inhibitorias en el lugar de la infección. En la tabla III se incluyen diferentes opciones terapéuticas en función del perfil de multirresistencia de los diferentes patógenos. Asimismo, en la tabla IV se indican las

dosis y vías de administración de los distintos antimicrobianos. Estas pautas están recomendadas en función de aspectos microbiológicos del patógeno implicado y del mecanismo de resistencia presente. Además, se debe valorar aspectos clínicos relacionados con el paciente⁵⁷.

Pseudomonas aeruginosa multirresistente

Durante los últimos años se ha propugnado la utilización de penicilinas con actividad anti-*Pseudomonas* en asociación con aminoglucósidos, como tratamiento de primera elección en la colonización por *P. aeruginosa*, generalmente piperacilina o ticarcilina y tobramicina o ampicacina⁵⁸. El aumento de las resistencias por despresión enzimática que implica la afectación de penicilinas y también de ceftazidima y cefepima ha impulsado la utilización de los carbapenemes; también el de fluoroquinolonas, en muchos casos por vía oral, debido a su buena biodisponibilidad y adecuadas concentraciones en el lugar de la infección⁵⁹. Sin embargo, el incremento de las resistencias a las quinolonas ha hecho que su utilización haya sido desplazada por antibióticos por vía inhalada, colistina y tobramicina. En estos pacientes es habitual combinar la vía oral con la inhalatoria⁶⁰, y se pautan, entre otras, ciprofloxacino oral simultáneamen-

TABLA III
Opciones de tratamiento en la infección-colonización por patógenos multirresistentes en el paciente con fibrosis quística

Microorganismo	Fenotipo	Tratamiento de elección ^a	Tratamiento alternativo ^{a,b}
<i>S. aureus</i>	MET ^R y resto de betalactámicos	Cotrimoxazol	Vancomicina ^b o teicoplanina
<i>P. aeruginosa</i>	CAZ ^R	Ciprofloxacino	Meropenem o imipenem ± tobramicina o colistina ^{c,e}
	IMP ^R	Ciprofloxacino	Meropenem ± tobramicina o colistina ^{c,e}
			Ceftazidima, cefepima o aztreonam ± tobramicina o colistina ^{c,e}
	TOB ^R	Ciprofloxacino	Ticarcilina ± tobramicina o colistina ^{c,e}
			Piperacilina o piperacilina/tazobactam ± tobramicina o colistina ^{c,e}
		Meropenem o imipenem ± tobramicina ^d o colistina ^{c,e}	
		Ceftazidima, cefepima o aztreonam ± tobramicina ^b o colistina ^{c,e}	
		Ticarcilina ± tobramicina o colistina ^c	
		Piperacilina o piperacilina/tazobactam ± tobramicina o colistina ^{c,e}	
		Meropenem o imipenem ± tobramicina o colistina ^{c,e}	
		Cefepima o aztreonam ± tobramicina o colistina ^{c,e}	
		Ticarcilina ± tobramicina o colistina ^{c,e}	
		Piperacilina o piperacilina/tazobactam ± tobramicina o colistina ^{c,e}	
		Meropenem ± tobramicina o colistina ^{c,e}	
		Imipenem ± tobramicina o colistina ^{c,e}	
		Meropenem ^d ± tobramicina o colistina ^{c,e}	
		Meropenem ^b ± tobramicina ^c ± colistina ^{c,e}	
<i>S. maltophilia</i>	SXT ^S	Cotrimoxazol	Moxifloxacina o levofloxacina
	SXT ^R	Moxifloxacina o levofloxacina	Minociclina o doxiciclina ± moxifloxacino o levofloxacino
<i>B. cepacia</i>		Meropenem + ampicacina o tobramicina	Ticarcilina/ácido clavulánico ± aztreonam
			Meropenem + cotrimoxazol o minociclina o moxifloxacino
<i>A. xylosoxidans</i>			meropenem + moxifloxacina + rifampicina
			Minociclina o doxiciclina ± cloranfenicol
			Ceftazidima + cloramfenicol
			Piperacilina/tazobactam ± tobramicina
		Ticarcilina/ácido clavulánico ± tobramicina	
		Meropenem + minociclina	
		Meropenem + moxifloxacina o levofloxacino	

MET: meticilina; CAZ: ceftazidima; IMP: imipenem; TOB: tobramicina; MER: meropenem; CIP: ciprofloxacino; SXT: cotrimoxazol
^RResistente al antibiótico indicado; ^Ssensible al antibiótico indicado; ^aestos tratamientos están recomendados en función de los aspectos microbiológicos y del mecanismo de resistencia relacionado. Además, deben valorarse aspectos clínicos relacionados con el paciente (consultar referencia 57); ^balgunos tratamientos alternativos se utilizan de elección en exacerbación grave; ^cutilizar la colistina preferentemente por vía inhalada; ^dutilizar la dosis máxima; ^eno comercializado en España.

TABLA IV
Dosis y vía de administración de los antimicrobianos utilizados en el paciente con fibrosis quística frente a los microorganismos multirresistentes

Antimicrobiano	Vía	Pauta	
		< 50 kg	> 50 kg
Ticarcilina	i.v.	200-300 mg/kg/día en 3-4 dosis	2-4 g/6-8 h
Piperacilina	i.v.	200-300 mg/kg/día en 3-4 dosis	2-4 g/6-8 h
Piperacilina-tazobactam	i.v.	200-300 ^a mg/kg/día en 3-4 dosis	2-4 ^a g/6-8 h
Ticarcilina-clavulánico ^b	i.v. (o i.m.)	200-300 ^c mg/kg/día en 3-4 dosis	3 ^c g/4-8 h
Ceftazidima	i.v. (o i.m.)	100-150 mg/kg/día en 3 dosis	1-3 g/8-12 h
Cefepima	i.v. (o i.m.)	100-150 mg/kg/día en 3 dosis	1-3 g/8-12 h
Aztreonam	i.v. o i.m.	100-150 mg/kg/día en 3-4 dosis	1-3 g/8-12 h
Imipenem	i.v. (o i.m.)	40-60 mg/kg/día en 3-4 dosis	0,5-2 g/6-8 h
Meropenem	i.v.	40-60 mg/kg/día en 3-4 dosis	0,5-2 g/6-8 h
Tobramicina	i.v. o i.m.	3-10 mg/kg/día en 1-3 dosis	160 mg/8 h o 480 mg/24 h
	Aerosol ^d	300 mg/12 h	300 mg/12 h
Amicacina	i.v. o i.m.	15-22,5 mg/kg/día en 1-3 dosis	0,5 g/12 h o 1 g/24 h
Cloramfenicol	Oral o i.v.	70-100 mg/kg/día	0,5-1 g/6-8 h
Rifampicina	Oral o i.v.	10-20 mg/kg/día	0,6 mg/24 h
Ciprofloxacino	Oral	20-30 mg/kg/día en 2 dosis	0,5-0,75 g/12 h
	i.v.	15 mg/kg/día en 2 dosis	0,4 g/8-12 h
Levofloxacino	Oral o i.v.		0,5 g/12-24 h
Moxifloxacino	Oral o i.v.		0,4 g/12-24 h
Doxicilina	Oral o i.v.	2-4 mg/kg/día en 1-2 dosis	200 mg 1 ^a dosis + 100 mg/12 h
Minociclina	Oral o i.v.	4 mg/kg/día en 2 dosis	200 mg 1 ^a dosis + 100 mg/12 h
Cotrimoxazol	Oral, i.m., i.v.	6/30-12/60 mg/kg/día en 2 dosis	0,16/0,8 g/12 h
Vancomicina	i.v.	40 mg/kg/día en 2-4 dosis	0,5 g/6 h o 1 g/12 h
Teicoplanina	i.v. o i.m.	10 mg/kg/12 h 3 dosis + 6-10/kg/día	0,4 g/12-24 h
Colistina ^b	i.v. (o i.m.)	50.000 U/kg/día en 3 dosis	2.000.000 U/8 h
	Aerosol	50.000 U/kg/día en 2-3 dosis	2.000.000 U/8-12 h

^aExpresado como piperacilina; ^bno comercializado en España; ^cexpresado como ticarcilina; ^dcorresponde a la tobramicina específica para la vía inhalatoria (TOBI, Chiron, Seattle, WA, EE.UU.). Entre paréntesis vía escasamente utilizada.

te con colistina o tobramicina en aerosoles. En los pacientes colonizados con *P. aeruginosa* se ha demostrado que el tratamiento antimicrobiano disminuye el número de ingresos hospitalarios y mejora la función respiratoria². El uso continuo de ciclos de antibióticos por vía intravenosa para controlar los recuentos bacterianos en el esputo es controvertido⁶¹, y se prefiere la utilización continuada de aerosoles con tobramicina o colistina⁴⁵.

Staphylococcus aureus resistente a la meticilina

Ninguno de los antibióticos betalactámicos utilizados en terapéutica es útil en el tratamiento de la infección por SARM. Hasta el momento, los glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina) son el tratamiento de elección. Se han utilizado con éxito en la FQ, tanto por vía inhalada⁶² como intravenosa^{7,44}. El tratamiento intravenoso con vancomicina es la pauta recomendada por la mayoría de las unidades de FQ españolas (84,6%)³. No obstante, su uso debe controlarse debido al posible impacto sobre la selección de cepas con sensibilidad disminuida a glucopéptidos^{61,63}. Para el resto de los antibióticos (cotrimoxazol, rifampicina, eritromicina, tetraciclinas, fosfomicina o fluoroquinolonas) debe documentarse la sensibilidad de las cepas de SARM implicadas dado el perfil de multirresistencia que suelen presentar. En la actualidad existen dos nuevos fármacos (quinupristina-dalfopristina y linezolid), el primero del grupo de la sinergistinas y el segundo del de las oxazolidinonas, con actividad sobre

este microorganismo, que podrían ser opciones terapéuticas adecuadas en los pacientes con FQ.

Stenotrophomonas maltophilia

El cotrimoxazol es la primera opción terapéutica en las infecciones producidas por *S. maltophilia*²⁸. No obstante, debido a su escaso poder bactericida, debe asociarse con otros antibióticos, ticarcilina-ácido clavulánico o doxicilina⁸. También es útil la asociación con levofloxacino o moxifloxacino, dada su mejor actividad intrínseca que ciprofloxacino frente a *S. maltophilia*²⁹ y su mejor farmacocinética en el pulmón⁶⁴. El uso de aminoglicósidos, incluso por vía inhalada, no tiene efecto beneficioso, ya que este microorganismo es capaz de sobrevivir a concentraciones muy elevadas de tobramicina⁶⁵. También se ha utilizado con éxito minociclina, más activa que doxicilina frente a este microorganismo³¹. En las unidades de FQ en España se usan pautas en asociación, y se emplean cotrimoxazol, doxicilina o minociclina en monoterapia o en combinación con las nuevas fluoroquinolonas³.

Burkholderia cepacia

La mayoría de los antibióticos con actividad anti-*Pseudomonas* son inactivos frente a *B. cepacia*. El tratamiento de la infección por este patógeno requiere combinaciones, dobles o triples, con demostrada actividad sinérgica. Los tratamientos más utilizados asocian

meropenem y ampicilina, cloramfenicol y minociclina, cloramfenicol y ceftazidima, meropenem y minociclina, y meropenem y una nueva fluoroquinolona. También existen pautas de tres antibióticos, entre ellas un betalactámico, una fluoroquinolona y rifampicina^{8,2}.

Achromobacter xylosoxidans

La experiencia con este microorganismo es más limitada. Se han utilizado combinaciones en las que se asocia una carbapenema con un aminoglucósido o ticarcilina-ácido clavulánico con tobramicina⁸. En España también se utiliza piperacilina-tazobactam en asociación con aminoglucósidos o una fluoroquinolona³.

Detección de patógenos multirresistentes en muestras respiratorias de los pacientes con fibrosis quística. Estudio de sensibilidad y clonalidad de los microorganismos multirresistentes

La detección e identificación de los microorganismos que colonizan la vía aérea del fibrótico quístico y el estudio de su sensibilidad a los antimicrobianos son esenciales para un correcto seguimiento de estos pacientes. Esta actitud favorece la elección del tratamiento, establece un mejor control de las exacerbaciones y de la colonización y contribuye a la mejora de las condiciones de vida de los pacientes con FQ.

La Fundación Americana para la FQ publicó en 1995 un documento de consenso en el que se establecían las bases del estudio y seguimiento microbiológico del paciente con FQ⁶⁶. La muestra habitual es el esputo, aunque si las circunstancias lo requieren, se puede obtener broncoaspirados y muestras por catéter telescópico. En los niños pequeños se puede estudiar muestras orofaríngeas, ya que en éstos su microflora suele representar la presente en el bronquio⁶⁷. Dada la escasa fluidez del esputo de estos pacientes, éste debe ser homogeneizado antes de proceder a su siembra. Normalmente se utiliza acetilcisteína o ditiotreitól⁶⁸. Antes de la homogenización, se recomienda la realización de una tinción de Gram, ya que se estima que hasta el 10% de los esputos de estos pacientes puede ser de baja calidad⁶⁶. La siembra debe realizarse de forma cuantitativa. Con esta práctica se consigue un recuento de los distintos patógenos y se facilita el reconocimiento de los diferentes morfotipos de *P. aeruginosa*.

La flora bacteriana en el pulmón del fibrótico quístico se asocia con un número limitado de microorganismos. Sin embargo, puede incluir patógenos oportunistas poco habituales, a los que de forma reciente se les está prestando una mayor atención⁸. El empleo sistemático de medios selectivos diferenciales facilita su detección, ya que la producción de alginato por las variantes mucosas de *P. aeruginosa* puede ocultar la presencia de otros microorganismos.

El medio de manitol-sal, selectivo para *S. aureus*, es apropiado para las cepas resistentes a la meticilina y las posibles variantes dependientes de timidina⁶⁸. No obstante, debe incluirse un medio general (agar sangre) que facilite el crecimiento de estas variantes. El medio de

agar sangre también es adecuado para *S. pneumoniae* y puede utilizarse para el recuento total de la microflora en la muestra respiratoria. La detección de *H. influenzae* se puede mejorar utilizando agar chocolate con bacitracina y colistina¹⁹ e incubación en anaerobiosis para dificultar el crecimiento de *P. aeruginosa*. Dado que algunos de los patógenos multirresistentes lo son también a bacitracina y colistina (*A. xylosoxidans*, *B. cepacia* y la gran mayoría de las cepas de *S. maltophilia*), se debe observar con cuidado este medio, ya que puede albergar su crecimiento.

Para *P. aeruginosa* es adecuado el medio de MacConkey aunque también se recomienda agar cetrimida^{19,69}. El primero es selectivo para cualquier bacilo gramnegativo y permite el reconocimiento de las enterobacterias y de los bacilos gramnegativos no fermentadores, incluyendo los multirresistentes. El desarrollo de *P. aeruginosa* debe ser inspeccionado simultáneamente en el medio de agar sangre. Con ello se facilita la diferenciación de sus morfotipos. La incubación debe prolongarse al menos 48 h, sobre todo en los pacientes con tratamiento antimicrobiano, ya que algunos morfotipos de *P. aeruginosa* y los bacilos gramnegativos no fermentadores tienden a desarrollarse más lentamente. Para alguno de estos últimos se recomienda la utilización de medios selectivos diferenciales^{8,24,68}. Por su mayor importancia clínica, aun cuando no existan evidencias para sospechar una colonización por *B. cepacia*, se debe incluir un medio específico para este patógeno. El medio PC (contiene ticarcilina y colistina) y el medio OFPLB (medio de oxidación-fermentación, polimixina, lactosa y bacitracina) han dado resultados apropiados, con una sensibilidad y especificidad superiores al 95%⁶⁹. Para evitar el crecimiento de hongos, a estos medios puede añadirse nistatina y, también, vancomicina para impedir el crecimiento de grampositivos⁷⁰. Además, se debe incubarlos a 35 °C las primeras 48 h y posteriormente a 30 °C.

S. maltophilia y *A. xylosoxidans* crecen adecuadamente en MacConkey y pueden identificarse correctamente utilizando sistemas comerciales. Por contra, la identificación de otros bacilos gramnegativos no fermentadores, entre ellos *Ralstonia picketti* y *Burkholderia gladioli*, debe confirmarse en laboratorios de referencia.

La frecuencia con la que deben realizarse los cultivos microbiológicos depende de la edad del paciente, de su situación clínica y del tipo de tratamiento al que esté sometido. Se recomienda realizar un cultivo microbiológico al menos cada 3 meses a cada paciente y en cualquier momento en el que se produzca un deterioro de su estado clínico. Esta práctica debe seguirse en los pacientes colonizados por microorganismos multirresistentes y es imprescindible en el control postratamiento tras el aislamiento de estos patógenos.

El estudio de sensibilidad debe cubrir las posibilidades terapéuticas de cada patógeno y permitir la caracterización fenotípica de los diferentes mecanismos de resistencia. En ocasiones, en situaciones de multirresistencia, es imprescindible la realización de estudios de sinergia, bien utilizando curvas de letalidad o sistemas en tablero de ajedrez. La caracterización final de los

mecanismos de multirresistencia suele requerir laboratorios de referencia. En el caso de *P. aeruginosa*, el estudio de sensibilidad debe individualizarse para cada morfotipo, ya que su comportamiento frente a los distintos antimicrobianos puede ser diferente¹⁹.

Uno de los aspectos más interesantes del seguimiento microbiológico, particularmente con los patógenos multirresistentes, estriba en la demostración de la clonalidad de los diferentes aislados a lo largo del tiempo. Con ello pueden evidenciarse patrones de colonización crónica o situaciones esporádicas y su relación con la clínica⁴⁹. Con las modernas técnicas y la ayuda de la biología molecular pueden demostrarse posibles transmisiones entre los diferentes pacientes.

Agradecimiento

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Dra. Lucrecia Suárez su continuo estímulo para la escritura de este documento y al Dr. José Luis Álvarez-Sala Walter la lectura crítica de nuestro trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Cystic Fibrosis Foundation. Patient Registry Annual Data Report 1999. Bethesda, Maryland, 2000.
- Hodson ME. Treatment of cystic fibrosis in the adult. *Respiration* 2000;67:595-607.
- Fundación Sira Carrasco para la ayuda a la fibrosis quística. Encuesta patógenos multirresistentes y fibrosis quística, 2000.
- Borowsky J, Kamienska K, Rutecka I. Methicillin-resistant staphylococci. *Br Med J* 1964;1:983.
- Jacobs MR, Koornhof HJ, Robins-Browne RM, Stevenson CM, Vermaak ZA, Freiman I, et al. Emergence of multiply resistant pneumococci. *N Engl J Med* 1978;299:735-40.
- Hancock RE, Speert DP. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. *Drug Res Updates* 2000;3:247-55.
- Beringer PM, Appleman MD. Unusual respiratory bacterial flora in cystic fibrosis: microbiologic and clinical features. *Curr Opin Pulm Med* 2000;6:545-50.
- Giwerzman B, Lambert P, Rosdahl VT, Shand GH, Hoiby N. Rapid emergence of resistance in *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients due to in-vivo selection of stable partially derepressed β -lactamase producing strains. *J Antimicrob Chemother* 1990;26:247-59.
- Ballesteros S, Fernández-Rodríguez A, Villaverde R, Escobar H, Pérez-Díaz JC, Baquero F. Carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* from cystic fibrosis patients. *J Antimicrob Chemother* 1996;38:39-45.
- Köhler T, Michea-Hamzehpour M, Epp SF, Pechere JC. Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux systems. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:424-7.
- Westbrock-Wadman S, Sherman DR, Hickey MJ, Coulter SN, Zhu YQ, Warrenner P, et al. Characterization of a *Pseudomonas aeruginosa* efflux pump contributing to aminoglycoside impermeability. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2975-83.
- Jalal S, Ciofu O, Hoiby N, Gotoh N, Wretling B. Molecular mechanisms of fluoroquinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:710-2.
- Howe RA, Spencer RC. Macrolides for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections? *J Antimicrob Chemother* 1997;40: 153-5.
- Alonso A, Campanario E, Martínez JL. Emergence of multidrug-resistant mutants is increased under antibiotic selective pressure in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology* 1999;145:2857-62.
- Poole K, Krebs K, McNally C, Neshat S. Multiple antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: evidence for involvement of an efflux operon. *J Bacteriol* 1993;175:7363-72.
- Oliver A, Cantón R, Campo P, Baquero F, Blázquez J. High-frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Science* 2000;288:1251-3.
- Ah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol* 2001;9:34-9.
- French GL. MRSA in cystic fibrosis. *J Hosp Infect* 1998;40:179-91.
- Cantón R, Oliver A, Baquero F. Microbiología de las vías respiratorias en la fibrosis quística. En: Dapena Fernández FJ, editor. Fibrosis quística, atención integral, manejo clínico y puesta al día. Granada: Alhula, 1998; p. 105-58.
- Blondeau JM, Tillotson GS. Antimicrobial susceptibility patterns of respiratory pathogens — A global perspective. *Semin Respir Infect* 2000;15:195-207.
- Möller LVM, Regelink AG, Grasselie H, Dankert J, Van Alphen L. Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* in the respiratory tracts of patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:319-24.
- Campos J, Roman F, Georgiou M, García C, Gomez-Lus R, Cantón R, et al. Long-term persistence of ciprofloxacin-resistant *Haemophilus influenzae* in patients with cystic fibrosis. *J Infect Dis* 1996;174:1345-7.
- Fenoll A, Jado I, Vicioso D, Pérez A, Casal J. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and antibiotic resistance in Spain: Update (1990-1996). *J Clin Microbiol* 1998;36:3447-54.
- Gilligan PH. Microbiology of airway disease in patients with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 1991;4:35-51.
- Cantón R, Morosini MI, Ballesteros S, Álvarez ME, Escobar H, Maiz L, et al. Lung colonization with *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum beta-lactamases. *Pediatr Pulmonol* 1997;24:213-7.
- Lecso-Bornet M, Pierre J, Sarkis-Karam D, Lubera S, Bergogne-Berezin E. Susceptibility of *Xanthomonas maltophilia* to six quinolones and study of outer membrane proteins in resistant mutants selected in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:669-71.
- Alonso A, Martínez JL. Multiple antibiotic resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:1140-2.
- Denton M, Kerr KG. Microbiology and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev* 1998;11:57-80.
- Valdezate S, Vindel A, Loza E, Baquero F, Cantón R. Antimicrobial susceptibilities of unique *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1581-4.
- Taylor RF, Gaya H, Empey DW. A new approach to the treatment of *Xanthomonas maltophilia* respiratory infection in patients with cystic fibrosis. *Respir Med* 1998;92:363-4.
- Kurlandsky LE, Fader RC. In vitro activity of minocycline against respiratory pathogens from patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2000;29:210-2.
- Zhang L, Xian-Zhi L, Poole K. Multiple antibiotic resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*: involvement of a multidrug efflux system. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:287-93.
- Lambert T, Ploy MC, Denis F, Courvalin P. Characterization of the chromosomal aac(6)-Iz gene of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2366-1.
- Vandame P, Mahenthalingam E, Holmes B, Coenye T, Hoste B, De Vos P, et al. Identification and population structure of *Burkholderia stabilis* sp. (formerly *Burkholderia cepacia* genovar IV). *J Clin Microbiol* 2000;37:1042-7.
- Coenye T, LiPuma JJ, Henry D, Hoste B, Vandemeulebroecke K, Gillis M, et al. *Burkholderia cepacia* genovar VI, a new member of the *Burkholderia cepacia* complex isolated from cystic fibrosis patients. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001;51:271-9.
- Bonacorsi S, Fitoussi F, Lhopital S, Bingen E. Comparative in vitro activities of meropenem, imipenem, temocillin, piperacillin, and ceftazidime in combination with tobramycin, rifampin, or ciprofloxacin against *Burkholderia cepacia* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:213-7.
- Baxter IA, Lambert PA. Isolation and partial purification of a carbapenem-hydrolysing metallo-beta-lactamase from *Pseudomonas cepacia*. *FEMS Microbiol Lett* 1994;122:251-6.
- Bonacorsi S, Fitoussi F, Lhopital S, Bingen E. Comparative in vitro activities of meropenem, imipenem, temocillin, piperacillin, and ceftazidime in combination with tobramycin, rifampin, or ciprofloxacin against *Burkholderia cepacia* isolates from cystic fi-

- brosis patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:213-7.
39. Burns JL, Saiman L. *Burkholderia cepacia* infections in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:155-6.
 40. Decre D, Arlet G, Bergogne-Berezin E, Philippon A. Identification of a carbenicillin-hydrolyzing beta-lactamase in *Alcaligenes denitrificans* subsp. *xylosoxydans*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:771-4.
 41. Fass RJ, Barnishan J, Solomon MC, Ayers LW. In vitro activities of quinolones, beta-lactams, tobramycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole against nonfermentative gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1412-8.
 42. Ratjen F, Comes G, Paul K, Posselt H, Wagner T, Harms K. Effect of continuous antistaphylococcal therapy on the rate of *P. aeruginosa* acquisition in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2001;31:13-6.
 43. Givney R, Vickery A, Holliday A, Pegler M, Benn R. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a cystic fibrosis unit. *J Hosp Infect* 1997;35:27-36.
 44. Thomas SR, Gyi KM, Gaya H, Hodson ME. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: impact at a national cystic fibrosis center. *J Hosp Epidemiol* 1998;40:203-9.
 45. Ratgen F. Changes in strategies for optimal antibacterial therapy in cystic fibrosis. *Int J Antimicrob Agents* 2001;17:93-6.
 46. Ballesteros S, Escobar H, Villaverde R, Negredo P, Elia M, Ojeda-Vargas M, et al. Microbiological parameters and clinical evolution in cystic fibrosis. In: Escobar H, Baquero F, Suárez L, editors. *Clinical ecology of cystic fibrosis*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1993; p. 55-62.
 47. Burns JL, Emerson J, Stapp JR, Yim DL, Krzewinski J, Loudon L, et al. Microbiology of sputum from patients at cystic fibrosis centers in the United States. *Clin Infect Dis* 1998;27:158-63.
 48. Ferrer Marcelles A, Bellver Moreira P, Cobos Barroso N, Liñan Cortes S, Codina Grau G, Fernández Pérez F. Fibrosis quística: estudio microbiológico durante un período de 8 años. *Arch Bronconeumol* 1995;31:494-500.
 49. Valdezate S, Vindel A, Maiz L, Baquero F, Escobar H, Cantón R. Persistence and variability of *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis patients, Madrid, 1991-1998. *Emerg Infect Dis* 2001;7:113-22.
 50. Demko CA, Stern RC, Doershuk CF. *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis: incidence and prevalence. *Pediatr Pulmonol* 1998;25:304-8.
 51. Denton M. *Stenotrophomonas maltophilia* an emerging problem in cystic fibrosis patients. *Rev Med Microbiol* 1997;8:15-9.
 52. Talmaciu I, Varlotta L, Mortensen J, Schidlow DV. Risk factors for emergence of *S. maltophilia* in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2000;30:10-5.
 53. Mundhi K, Edenborough FP, Gumery L, O'Hickey S, Smith EG, Smith DL, et al. Outcome for patients colonized with *Burkholderia cepacia* in a Birmingham adult cystic fibrosis clinic at the end of an epidemic. *Thorax* 1996;51:374-7.
 54. Frangolias DD, Mahenthiralingam E, Rae S, Raboud JM, Davidson AG, Wittmann R, et al. *Burkholderia cepacia* in cystic fibrosis: variable disease course. *Am J Crit Care Med* 1999;160:1572-7.
 55. Chaparro C, Maurer J, Gutiérrez C, Krajden M, Chan C, Winton T, et al. Infections with *Burkholderia cepacia* in cystic fibrosis: outcome following transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:43-8.
 56. Peltroche-Llacsahuanga H, Haase G, Kentrup H. Persistent airway colonization with *Alcaligenes xylosoxydans* in two brothers with cystic fibrosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;17:132-4.
 57. Máiz L, Baranda F, Coll R, Prados C, Vendrell M, Escribano A, et al. Normativa del diagnóstico y tratamiento de la afectación respiratoria en la fibrosis quística. *Arch Bronconeumol* 2001;37:316-24.
 58. Banerjee D, Stableforth D. The treatment of respiratory pseudomonas infection in cystic fibrosis: what drug which way? *Drugs* 2000;60:1053-64.
 59. Doring G, Conway SP, Heijerman HG, Hodson ME, Hoiby N, Smyth A, et al. Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus. *Eur Respir J* 2000;16:749-67.
 60. Escribano Montaner A. Diagnóstico y tratamiento de la exacerbación infecciosa en la fibrosis quística. *Arch Bronconeumol* 2000;36:525-32.
 61. Nir M, Lanug S, Johansen HK, Koch C. Long-term survival and nutritional data in patients with cystic fibrosis treated in a Danish center. *Thorax* 1996;51:1023-7.
 62. Maiz L, Cantón R, Mir N, Baquero F, Escobar H. Aerosolized vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1998;26:287-9.
 63. Firdkin SK. Vancomycin-intermediate and -resistant *Staphylococcus aureus*: what the infectious disease specialist needs to know. *Clin Infect Dis* 2001;32:108-15.
 64. Stein GE. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of newer fluoroquinolones. *Clin Infect Dis* 1996;23(Suppl 1):S19-24.
 65. Mooney L, Kerr KG, Denton M. Survival of *Stenotrophomonas maltophilia* following exposure to concentrations of tobramycin used in aerosolized therapy for cystic fibrosis patients. *Int J Antimicrob Agents* 2001;17:63-6.
 66. Saiman L. Microbiology and infectious diseases in cystic fibrosis. Washington, DC: Cystic Fibrosis Foundation, 1995.
 67. Ramsey BW, Wentz KR, Smith AL, Richardson M, Williams-Warren J, Hedges DL, et al. Predictive value of oropharyngeal cultures for identifying lower airway bacteria in cystic fibrosis patients. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:331-7.
 68. Gilligan P. Report on the consensus document for microbiology and infectious diseases in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Newsletter* 1996;18:83-7.
 69. Van Pelt C, Verduin CM, Goessens WHF, Vos MC, Tummler B, Segonds C, et al. Identification of *Burkholderia cepacia* spp. in the clinical microbiology laboratory: comparison of conventional and molecular methods. *J Clin Microbiol* 1999;37:2158-64.
 70. Henry DA, Campbell ME, LiPuma JJ, Speert DP. Identification of *Burkholderia cepacia* isolates from patients with cystic fibrosis and use of a simple new selective medium. *J Clin Microbiol*