

Actividad "in vitro" de diferentes antibacterianos sobre bacilos gram-negativos no fermentadores, excluidos *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.

C.A. VAY*, M.N. ALMUZARA, C.H. RODRÍGUEZ, M.L. PUGLIESE,
F. LORENZO BARBA, J.C. MATTERA, A.M.R. FAMIGLIETTI

Laboratorio de Bacteriología. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Hospital de Clínicas José de San Martín. Universidad de Buenos Aires, Avenida Córdoba 2351. CP 1120 Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina

*Correspondencia. E-mail: cavay@ffyba.uba.ar

RESUMEN

Los bacilos gram-negativos no fermentadores se encuentran ampliamente distribuidos en el medio ambiente. Además de causar dificultades en la identificación, a menudo presentan una marcada multiresistencia a los antimicrobianos incluyendo aquellos activos frente a *Pseudomonas aeruginosa*. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad "in vitro" de diferentes antimicrobianos sobre 177 aislamientos de bacilos gram-negativos no fermentadores (excluidos *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.) provenientes de especímenes clínicos. Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) se determinaron por el método de dilución en agar Mueller Hinton frente a los siguientes antibacterianos: ampicilina, piperacilina, piperacilina-tazobactama, sulbactama, cefoperazona, cefoperazona-sulbactama, ceftazidima, cefepima, aztreonam, imipenem, meropenem, colistina, gentamicina, amikacina, trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), cloranfenicol, eritromicina, rifampicina, norfloxacin, ciprofloxacina y minociclina. Sobre siete aislamientos: *Sphingobacterium multivorum* (2), *Sphingobacterium spiritivorum* (1), *Empedobacter brevis* (1), *Weeksella virosa* (1), *Bergeyella zoohelcum* (1) y *Oligella urethralis* (1) se ensayó la sensibilidad a amoxicilina-ácido clavulánico y ampicilina-sulbactama y no se determinó la actividad de cefoperazona ni de sulbactama. La multiresistencia fue comúnmente observada en los aislamientos de *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Chryseobacterium* spp., *Myroides* spp., *Achromobacter xylosoxidans* y *Ochrobactrum anthropi*. En cambio, *Pseudomonas stutzeri*, *Shewanella putrefaciens-algae*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Pseudomonas oryzihabitans*, *Bergeyella zoohelcum*, *Weeksella virosa* y *Oligella urethralis*, fueron ampliamente sensibles a los antibacterianos ensayados. Debido a la gran variabilidad observada en la sensibilidad a los antimicrobianos en las distintas especies, se hace imprescindible realizar la prueba de sensibilidad a los antibacterianos a fin de abordar la elección correcta del mismo. Debido a la marcada multiresistencia de algunas especies, surge la necesidad del desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos que posean actividad sobre este grupo de bacterias, así como también la búsqueda de combinaciones sinérgicas.

Palabras clave: bacilos gram-negativos no fermentadores, sensibilidad antibacteriana

SUMMARY

'In vitro' activity of different antimicrobial agents on gram-negative nonfermentative bacilli, excluding *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. Gram-negative nonfermentative bacilli (NFB) are widely spread in the environment. Besides of difficulties for identification, they often have a marked multiresistance to antimicrobial agents, including those active against *Pseudomonas aeruginosa*. The objective of this study was to evaluate the 'in vitro' activity of different antimicrobial agents on 177 gram-negative nonfermentative bacilli isolates (excluding *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp.) isolated from clinical specimens. Minimum inhibitory concentrations (MIC) were determined according to the Mueller Hinton agar dilution method against the following antibacterial agents: ampicillin, piperacillin, piperacillin-tazobactam, sulbactam, cefoperazone, cefoperazone-sulbactam, ceftazidime, cefepime, aztreonam, imipenem, meropenem, colistin, gentamicin, amikacin, trimethoprim-sulfamethoxazole, chloramphenicol, erythromycin, rifampin, norfloxacin, ciprofloxacin and minocycline. Seven isolates: *Sphingobacterium multivorum* (2), *Sphingobacterium spiritivorum* (1), *Empedobacter brevis* (1), *Weeksella virosa* (1), *Bergeyella zoohelcum* (1) and *Oligella urethralis* (1), were tested for amoxicillin-clavulanic acid and ampicillin-sulbactam susceptibility, and susceptibility to cefoperazone or sulbactam was not determined. Multiresistance was generally found in *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Chryseobacterium* spp., *Myroides* spp., *Achromobacter xylosoxidans*, and *Ochrobactrum anthropi* isolates. On the other hand, *Pseudomonas stutzeri*, *Shewanella putrefaciens-algae*, *Sphingomonas paucimobilis*, and *Pseudomonas oryzihabitans*, *Bergeyella zoohelcum*, *Weeksella virosa* and *Oligella urethralis* were widely susceptible to the antibacterial agents tested. As a result of the wide variation in antimicrobial susceptibility shown by different species, a test on susceptibility to different antibacterial agents is essential in order to select an adequate therapy. The marked multiresistance evidenced by some species, prompts the need to develop new antimicrobial agents active against this group of bacteria and to search for synergistic combinations.

Key words: gram-negative nonfermentative bacilli, antibacterial susceptibility

INTRODUCCIÓN

Los bacilos gram-negativos no fermentadores se encuentran ampliamente distribuidos en el medio ambiente. Son capaces de sobrevivir en el ambiente hospitalario: infusiones, agua destilada, soluciones salinas, tubuladuras, superficies húmedas, floreros, humidificadores, incubadoras, nebulizadores, catéteres y aún en soluciones desinfectantes. La capacidad psicrófila de algunas especies los ha involucrado como contaminantes de la sangre de banco y hemoderivados (58).

Desde el comienzo de la década del 60 otros bacilos gram-negativos no fermentadores además de los hasta entonces reconocidos (*P. aeruginosa*, *Burkholderia mallei* y *Burkholderia pseudomallei*), fueron asociados a infecciones oportunistas, en general de adquisición nosocomial o en huéspedes inmunocomprometidos (15, 23, 42, 55). No obstante, hoy, el papel patógeno de algunas especies no ha sido todavía aclarado.

Además de causar dificultades en la identificación, a menudo presentan una marcada multirresistencia a los antimicrobianos, incluyendo aquellos activos frente a *P. aeruginosa* (3, 17, 23).

Debido a las variaciones dentro y entre las especies en la sensibilidad a los antibacterianos, se hace imprescindible determinar la actividad "in vitro" a fin de abordar una antibióticoterapia adecuada.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad "in vitro" de diferentes antibióticos frente a bacilos gram-negativos no fermentadores (excluidos *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.), aislados de especímenes clínicos provenientes de pacientes atendidos en el Hospital de Clínicas José de San Martín.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron un total de 177 cepas de diferentes géneros y/o especies de bacilos gram-negativos no fermentadores (excluidos *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.) aisladas de especímenes clínicos durante el período 1994-2002 en el Hospital de Clínicas José de San Martín.

Todas las cepas fueron conservadas en leche descremada al 10% a 70 °C hasta el momento de su estudio y se identificaron de acuerdo a métodos convencionales (24, 56).

La sensibilidad a los antibacterianos se determinó por dilución en agar Mueller Hinton (Laboratorios Britania Argentina) con un multi-inoculador de tipo Steer, siguiendo las recomendaciones del NCCLS (40). Cada placa fue inoculada con 10⁴ UFC/ "spot.", e incubada a 35 °C durante 24 hs. en atmósfera ambiente. *Escherichia coli* ATCC 25922, *E.coli* ATCC 35218, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, fueron utilizadas como cepas controles.

Se tomaron como puntos de corte de sensibilidad aquellos recomendados por el NCCLS para bacilos gram-negativos diferentes de *Enterobacteriaceae*: ampicilina, ceftazidima, cefepima, aztreonam y cloranfenicol $\leq 8 \mu\text{g/ml}$; imipenem, meropenem, gentamicina, minociclina y norfloxacin $\leq 4 \mu\text{g/ml}$; ampicilina, piperacilina y cefoperazona $\leq 16 \mu\text{g/ml}$; ciprofloxacina $\leq 1 \mu\text{g/ml}$; trimetoprima-sulfametoxazol $\leq 2/38 \mu\text{g/ml}$; piperacilina-

tazobactama $\leq 16/2 \mu\text{g/ml}$ (41). Para colistina, rifampicina y sulbactama se tomaron como puntos de corte de sensibilidad aquellos recomendados por el Comité del Antibiograma de la Sociedad Francesa de Microbiología para *Acinetobacter* spp., *Steno-trophomonas maltophilia* y *Burkholderia cepacia* (52). De acuerdo a este documento se consideraron sensibles a colistina aquellas cepas cuya CIM fue $\leq 2 \mu\text{g/ml}$, CIM $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ para rifampicina y CIM $\leq 8 \mu\text{g/ml}$ para sulbactama.

Para eritromicina se tomó como punto de corte de sensibilidad una CIM $\leq 1 \mu\text{g/ml}$, también de acuerdo a las normas de la Sociedad Francesa de Microbiología para microorganismos no exigentes (52). Para ampicilina-sulbactama se tomó como punto de corte el recomendado por el NCCLS para *Enterobacteriaceae* (sensible: $\leq 8/4 \mu\text{g/ml}$; resistente: $\geq 32/16 \mu\text{g/ml}$) (41).

Debido a que no se han consignado aún los puntos de corte de cefoperazona-sulbactama y que la concentración utilizada de sulbactama fue la mitad de la de cefoperazona, se tomó como punto de corte de sensibilidad una CIM $\leq 16/8 \mu\text{g/ml}$ sobre la base del punto de corte de cefoperazona para bacilos gram-negativos distintos de *Enterobacteriaceae* (41).

Sobre siete aislamientos: *Sphingobacterium multivorum* (2), *Sphingobacterium spiritivorum* (1), *Empedobacter brevis* (1), *Weeksella virosa* (1), *Bergeyella zoohelcum* (1) y *Oligella urethralis* (1), se ensayó la sensibilidad a amoxicilina-ácido clavulánico y ampicilina-sulbactama y no se determinó la sensibilidad ni a cefoperazona ni a sulbactama.

Se determinó la producción de β -lactamasa en la cepa de *Oligella urethralis* por el método de la cefalosporina cromogénica (Nitrocefín, BBL). Como control positivo se usó una cepa de *Moraxella catarrhalis* de nuestra propia colección y como control negativo *S. aureus* ATCC 25923.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de CIM₅₀, CIM₉₀ e intervalos de CIM para los diferentes antimicrobianos ensayados se muestran en las Tablas 1 a 6.

La multirresistencia fue comúnmente observada en los aislamientos de *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Chryseobacterium* spp., *Myroides* spp., *A. xylooxidans* y *Ochrobactrum anthropi*. En cambio *Pseudomonas stutzeri*, *Shewanella putrefaciens-algae*, *Sphingomonas paucimobilis-parapaucimobilis*, *Pseudomonas oryzae*, *Oligella urethralis*, *Weeksella virosa* y *Bergeyella zoohelcum*, fueron ampliamente sensibles a los antibacterianos ensayados.

S. maltophilia exhibió un patrón de sensibilidad típico de este organismo; TMS, ciprofloxacina y minociclina fueron los antibacterianos más activos. Similares perfiles fueron descritos en la literatura (3, 15, 17, 33, 37, 42, 53), pero algunas comunicaciones alertan sobre un alto porcentaje de cepas de *S. maltophilia* resistentes a ciprofloxacina (18, 51, 54, 59).

Valdezate *et al.* en un estudio sobre 109 cepas de *S. maltophilia* demostraron que las quinolonas de última generación, entre ellas moxifloxacina, sparfloxacina y trovafloxacina, fueron mucho más activas que ciprofloxacina (53).

Como observaron otros autores, en nuestro estudio los antibióticos β -lactámicos fueron poco activos. Frente a los carbapenemes (imipenem y meropenem), la casi

Tabla 1. Sensibilidad cuantitativa de *S. maltophilia*, *A. xylosoxidans* subsp. *xylosoxidans* y *A. faecalis*

Especie o grupo (n° de cepas)	Antibiótico	CIM (µg/ml)		
		rango	50%	90%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (47)	Ampicilina	2->128	>128	>128
	Piperacilina	0,5-512	32	512
	Piperacilina-tazobactama	0,5-512	32	512
	Cefoperazona	4->128	16	128
	Cefoperazona-sulbactama	4-128	8	128
	Ceftazidima	1->128	32	128
	Cefepima	1->128	32	128
	Sulbactama	>128	>128	>128
	Imipenem	1->128	>128	>128
	Meropenem	0,125->128	>128	>128
	Aztreonam	8->128	>128	>128
	Colistina	0,125->128	4	64
	Gentamicina	0,125->128	32	>128
	Amicacina	0,125->128	128	>128
	Cotrimoxazol	0,032-32	0,5	8
	Cloranfenicol	1-64	8	32
	Eritromicina	16->128	64	128
	Rifampicina	0,5-32	8	16
	Minociclina	0,25-4	1	1
Norfloxacina	0,032-64	8	16	
Ciprofloxacina	0,016-32	0,5	2	
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> subsp. <i>xylosoxidans</i> (19)	Ampicilina	4->128	32	128
	Piperacilina	0,063-4	0,5	2
	Piperacilina-tazobactama	0,063-2	0,5	1
	Cefoperazona	2-8	2	4
	Cefoperazona-sulbactama	1-4	2	4
	Ceftazidima	1-32	4	16
	Cefepima	8-128	32	128
	Sulbactama	128->128	>128	>128
	Imipenem	0,5-4	2	4
	Meropenem	0,25-4	1	2
	Aztreonam	64-128	64	128
	Colistina	1-64	4	32
	Gentamicina	4->128	64	>128
	Amicacina	16->128	>128	>128
	Cotrimoxazol	0,063-64	1	32
	Cloranfenicol	8->128	32	128
	Eritromicina	8->128	64	>128
	Rifampicina	8-64	16	32
	Minociclina	2-64	4	8
Norfloxacina	8->128	16	64	
Ciprofloxacina	1->128	2	16	
<i>Alcaligenes faecalis</i> (<i>A. odorans</i>) (18)	Ampicilina	2->128	8	>128
	Piperacilina	0,5-512	1	64
	Piperacilina-tazobactama	0,25-256	0,5	32
	Cefoperazona	1-32	1	8
	Cefoperazona-sulbactama	0,5-2	0,5	2
	Ceftazidima	1-32	4	8
	Cefepima	4-64	8	16
	Sulbactama	128->128	128	>128

Tabla 2. Sensibilidad cuantitativa de *P. putida*, *Myroides* spp. y *Shewanella algae-putrefaciens*

Especie o grupo (n° de cepas)	Antibiótico	CIM (µg/ml)		
		rango	50%	90%
<i>Pseudomonas putida</i> (13)	Ampicilina	32->128	>128	>128
	Piperacilina	0,5-256	16	32
	Piperacilina-tazobactama	2-64	8	16
	Cefoperazona	8->128	16	32
	Cefoperazona-sulbactama	8-32	16	16
	Ceftazidima	0,5-128	4	32
	Cefepima	1-128	2	16
	Sulbactama	>128	>128	>128
	Imipenem	0,125-8	1	4
	Meropenem	1-16	2	8
	Aztreonam	16->128	16	32
	Colistina	0,125-64	0,5	32
	Gentamicina	0,063-128	0,25	128
	Amicacina	<0,125->128	0,5	32
	Cotrimoxazol	0,25->128	8	32
	Cloranfenicol	16->128	128	>128
	Eritromicina	16->128	32	>128
	Rifampicina	2-32	4	8
	Minociclina	1-8	2	2
	Norfloxacina	≤ 0,008-64	0,25	16
Ciprofloxacina	≤ 0,008-8	0,125	4	
<i>Myroides</i> spp. (12)	Ampicilina	8->128	32	128
	Piperacilina	16-128	32	128
	Piperacilina-tazobactama	16-128	32	128
	Cefoperazona	128->128	>128	>128
	Cefoperazona-sulbactama	128->128	>128	>128
	Ceftazidima	32->128	64	128
	Cefepima	16->128	16	128
	Sulbactama	128->128	>128	>128
	Imipenem	1-4	2	4
	Meropenem	2-4	4	4
	Aztreonam	32-64	32	64
	Colistina	>128	>128	>128
	Gentamicina	32->128	>128	>128
	Amicacina	128->128	>128	>128
	Cotrimoxazol	0,5-32	4	32
	Cloranfenicol	4->128	16	128
	Eritromicina	0,5->128	2	>128
	Rifampicina	1-8	2	4
	Norfloxacina	8->128	>128	>128
	Ciprofloxacina	0,5-128	32	128
Minociclina	0,25-0,5	0,5	0,5	

Tabla 2 – Continuación

<i>Shewanella algae</i> - <i>putrefaciens</i> (10)	Ampicilina	>0,063-32	0,5	4
	Piperacilina	0,25-4	0,5	2
	Piperacilina-tazobactama	0,25-2	1	2
	Cefoperazona	0,063-4	0,5	1
	Cefoperazona-sulbactama	0,125-4	0,5	0,5
	Ceftazidima	≤ 0,016-0,5	0,25	0,5
	Cefepima	≤ 0,125	≤ 0,125	≤ 0,125
	Sulbactama	2-<128	4	8
	Imipenem	0,125-2	1	2
	Meropenem	0,063-2	1	2
	Aztreonam	≤ 0,25-0,5	<0,25	0,5
	Colistina	0,125->128	2	4
	Gentamicina	≤ 0,063->128	0,25	0,5
	Amicacina	0,5->128	1	8
	Cotrimoxazol	<0,125-2	0,25	0,5
	Cloranfenicol	0,5-64	2	8
	Eritromicina	0,25-128	4	32
Rifampicina	0,5-32	0,5	2	
Norfloxacin	<0,032-32	0,25	2	
Ciprofloxacina	0,016-4	0,125	0,125	

totalidad de los aislamientos mostraron alto nivel de resistencia. Ha quedado demostrado que la resistencia a estos antimicrobianos es debida a la presencia de una carbapenemasa de clase B, denominada L1, una metaloenzima Zn-dependiente. Esta enzima hidroliza eficientemente a los carbapenemes, pero no afecta a ticarcilina ni a aztreonam y no es inhibida por el ácido clavulánico (48). Otra enzima, L2, exhibe actividad de cefalosporinasa e hidroliza a las cefalosporinas y al aztreonam y es inhibida por el ácido clavulánico. L2 es inactivada con mayor facilidad por el ácido clavulánico que por la tazobactama y la sulbactama (47) lo que explica la mayor actividad que posee la combinación ticarcilina-ácido clavulánico y la pobre actividad de las combinaciones piperacilina-tazobactama y cefoperazona-sulbactama, las que no mostraron ventajas con respecto al β -lactámico sólo, en este estudio.

La mayoría de las cepas fueron resistentes a las cefalosporinas de espectro extendido, hecho que se relaciona con la actividad de cefalosporinasa de la enzima L2. Ceftazidima y cefepima mostraron razonable actividad en unas pocas cepas de *S. maltophilia*. Sin embargo no existen estudios clínicos que avalen la utilidad de estas cefalosporinas en el tratamiento de las infecciones por *S. maltophilia* mas aún cuando se conoce que, salvo excepciones, este microorganismo posee β -lactamasas cromosómicas que hidrolizan a estos antibióticos. El único β -lactámico activo sobre *S. maltophilia* es

la asociación ticarcilina-ácido clavulánico, como ha sido demostrado por Lesco-Bornet *et al.* (33).

Trimetoprima-sulfametoxazol fue uno de los antibacterianos mas activos. Aún cuando el porcentaje de cepas resistentes fue bajo, su actividad bacteriostática limita su utilidad en pacientes con infecciones severas o inmunocomprometidos (59).

Trimetoprima-sulfametoxazol fue también el antibiótico mas activo sobre *B. cepacia*. La resistencia observada en este estudio en una de las cepas, fue hallada también por otros autores (17, 18, 37, 51). Piperacilina fue el antibiótico β -lactámico mas activo, mientras que ceftazidima y cefepima mostraron CIMs cercanas al punto de corte. Igual que lo informado por otros autores, fue común la resistencia a los carbapenemes (14, 18, 51). Sin embargo Lewis *et al.* encontraron CIMs de meropenem desde 1 a 16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ y de 0,063 a 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en pacientes con y sin enfermedad fibroquística, concluyendo que la mayoría de sus aislamientos fueron sensibles a este β -lactámico (35). Las cepas estudiadas mostraron también CIMs de meropenem más bajas que las de imipenem. En cepas de *B. cepacia* se ha encontrado una carbapenemasa, mucho más efectiva sobre imipenem que sobre meropenem (4).

Las quinolonas mostraron actividad variable sobre *B. cepacia* en este estudio al igual que en el de otros autores (2, 10, 14). Todas las cepas fueron resistentes a la colistina y la mayoría a los aminoglucósidos como ha sido descripto (17, 23).

Tabla 3. Sensibilidad cuantitativa de *C. gleum-indologenes*, *P. stutzeri* y *B. cepacia*

Especie o grupo (n° de cepas)	Antibiótico	CIM (µg/ml)		
		rango	50%	90%
<i>Chryseobacterium gleum-indologenes</i> (9)	Ampicilina	32->128	64	128
	Piperacilina	1-64	4	32
	Piperacilina-tazobactama	0,5-4	2	4
	Cefoperazona	4-64	4	8
	Cefoperazona-sulbactama	1-16	1	8
	Ceftazidima	1-64	4	8
	Cefepima	0,125-2	0,25	2
	Sulbactama	128->128	>128	>128
	Imipenem	0,5-32	2	16
	Meropenem	2-8	2	8
	Aztreonam	>128	>128	>128
	Colistina	>128	>128	>128
	Gentamicina	1-64	16	32
	Amicacina	2-64	32	32
	Cotrimoxazol	0,125-32	0,5	2
	Cloranfenicol	16-128	64	128
	Eritromicina	4-64	32	64
	Rifampicina	0,25-2	1	2
	Norfloxacina	1-8	2	4
	Ciprofloxacina	0,125-1	0,25	0,5
Minociclina	2-4	2	4	
<i>Pseudomonas stutzeri</i> (7)	Ampicilina	1-8	1	
	Piperacilina	0,5-2	1	
	Piperacilina-tazobactama	0,5-1	1	
	Cefoperazona	0,25-1	0,5	
	Cefoperazona-sulbactama	0,25-0,5	0,25	
	Ceftazidima	0,125-0,5	0,25	
	Cefepima	<0,125-0,25	<0,125	
	Sulbactama	64->128	128	
	Imipenem	0,125-0,5	0,25	
	Meropenem	<0,063-0,25	0,125	
	Aztreonam	<0,25-1	0,5	
	Colistina	0,016-2	0,25	
	Gentamicina	0,032-0,5	0,125	
	Amicacina	0,125-2	1	
	Cotrimoxazol	0,25-16	2	
	Cloranfenicol	8-64	64	
	Eritromicina	0,032-64	32	
	Rifampicina	0,125-4	4	
	Norfloxacina	0,016-0,25	0,125	
	Ciprofloxacina	0,016-0,032	0,032	
Minociclina	1-2	2		

Tabla 2 – Continuación

<i>Burkholderia cepacia</i> (11)	Ampicilina	>128	>128	>128
	Piperacilina	1-64	4	32
	Piperacilina-tazobactama	2-128	8	32
	Cefoperazona	8->128	64	>128
	Cefoperazona-sulbactama	4->128	32	>128
	Ceftazidima	1-16	8	16
	Cefepima	4-64	8	64
	Sulbactama	8->128	128	>128
	Imipenem	2-128	8	128
	Meropenem	2-32	8	16
	Aztreonam	8-64	16	64
	Colistina	128->128	>128	>128
	Gentamicina	2->128	32	64
	Amicacina	8->128	32	>128
	Cotrimoxazol	0,25-16	1	2
	Cloranfenicol	2->128	32	128
	Eritromicina	32->128	128	>128
	Rifampicina	2-32	16	32
	Norfloxacin	0,125-32	4	32
Ciprofloxacina	0,063-8	1	8	
Minociclina	2-32	2	16	

Ralstonia picketti mostró un perfil de sensibilidad similar al de *B. cepacia*, resultados coincidentes con los informados por Fass *et al.* (18).

Alcaligenes faecalis fue más sensible que *Achromobacter (Alcaligenes) xylosoxidans*. Meropenem e imipenem fueron los antibacterianos más activos. Cabe destacar que las CIMs de meropenem fueron más bajas que las de imipenem, observación también hallada por Edwards (14). Moderada actividad mostraron ceftazidima, cefoperazona, minociclina, piperacilina y colistina. Cefoperazona mostró CIMs una o dos diluciones más bajas que ceftazidima y esta última fue a su vez, más activa que cefepima. Trimetoprima-sulfametoxazol no fue activo sobre *A. faecalis*. Porcentajes significativos de cepas resistentes a cotrimoxazol fueron también descritos (17, 18). Ciprofloxacina, norfloxacina, aztreonam, gentamicina y amicacina no resultaron activos sobre la mayoría de las cepas de esta especie.

Piperacilina, meropenem, imipenem y cefoperazona fueron los antibióticos más activos sobre *A. xylosoxidans*. Ceftazidima fue más activa que cefepima, pero ambas mostraron menor actividad que cefoperazona. No obstante, tal como ha sido notado por otros investigadores (14), los carbapenemes fueron menos activos sobre esta especie que sobre *A. faecalis*. Los mecanismos de resistencia a los antibióticos β -lactámicos en esta especie, han sido relacionados con la producción de β -lactamasas; incluyendo tres diferentes tipos de cefalosporinasas constitutivas y al menos un tipo de penicilinas (21, 34). Fujii

et al. hallaron que esta última fue inhibida por ácido clavulánico y sulbactama (21). Sobre este aspecto Rolston, encontró que sus 14 aislamientos de *A. xylosoxidans* fueron inhibidos por sulbactama, pero no por ácido clavulánico (46). En contraposición a estas observaciones, en nuestras cepas, la actividad de cefoperazona/sulbactama fue la misma que la de cefoperazona sola, con excepción de una cepa donde sulbactama fue la responsable de la caída de la CIM de cefoperazona. En 1995 Decré *et al.* hallaron en 11 aislamientos de *A. xylosoxidans* una β -lactamasa de tipo Pse-1 que determinó la resistencia a ticarcilina, piperacilina y cefoperazona y fue inhibida por el ácido clavulánico. Más tarde, Senda fue el primero en describir dos cepas de *A. xylosoxidans* productoras de una carbapenemasa de clase C la que confería un alto nivel de resistencia a la ceftazidima y a la cefoperazona y un bajo nivel de resistencia a los carbapenemes (CIM = 8 μ g/ml) y que prácticamente no presentaba actividad sobre la piperacilina (CIM = 1 μ g/ml) (50). Este fenotipo no fue observado en las cepas del presente estudio.

Nuestros datos de sensibilidad "in vitro" mostraron que trimetoprima-sulfametoxazol fue activo sobre un poco más de la mitad de las cepas estudiadas. Diferentes porcentajes de cepas resistentes a este quimio-terápico fueron descritos en numerosas publicaciones (17, 18, 25, 51). Minociclina mostró moderada actividad y la mayoría de las cepas presentaron valores de CIM cercanos al límite de sensibilidad. Datos semejantes obtuvieron Fass

Tabla 4. Sensibilidad cuantitativa de *P. fluorescens*, *O. anthropi*, *R. picketti*, *D. acidovorans* y *C. meningosepticum*

Antibiótico	Especie o grupo (n° de cepas)				
	<i>P. fluorescens</i> (5)	<i>O. anthropi</i> (4)	<i>R. picketti</i> (3)	<i>D. acidovorans</i> (3)	<i>C. meningosepticum</i> (2)
	CIM (µg/ml) rango	CIM (µg/ml) rango	CIM (µg/ml) rango	CIM (µg/ml) rango	CIM (µg/ml) rango
Ampicilina	>128	>128	>128	8-16	>128
Piperacilina	2-8	>512	4-16	1-2	8-128
Piperacilina-Tazobactama	1-8	128->512	4-16	1-2	8-64
Sulbactama	>128	64-128	-	32-64	16-128
Cefoperazona	4-16	32->128	-	2-2	32-64
Cefoperazona-Sulbactama	2-16	64->128	-	1-2	4-8
Ceftazidima	1-8	>128	4-8	0,125-1	32->128
Cefepima	2-8	32-128	-	0,5-2	8->128
Aztreonam	32-64	>128	-	64-128	64->128
Imipenem	1-16	0,5-1	1-2	0,063-0,25	16-64
Meropenem	0,125-8	0,25-0,5	-	<0,063	16-32
Colistina	0,125-128	1->128	>128	0,125->128	>128
Gentamicina	0,063-1	1->128	32-128	32->128	32-128
Amicacina	0,25-0,5	8->128	32-64	4->128	32->128
Cotrimoxazol	2-16	0,125-0,5	0,125-0,5	0,125-2	4-16
Cloranfenicol	32->128	8-128	64-128	8-64	64-128
Eritromicina	32-64	16-32	8-128	8-64	2-16
Rifampicina	4-16	2-8	4-8	0,5-64	<0,25-0,5
Norfloxacin	0,016-0,5	0,5-4	1-8	0,016-2	8-32
Ciprofloxacina	0,016-0,063	0,125-1	0,5	0,016-0,25	0,125-2
Minociclina	1-4	0,5-1	-	4	1

y Barnishan sobre 29 cepas de *A. xylosoxidans* (CIM₅₀: 4 µg/ml) (17). Ciprofloxacina exhibió un comportamiento bimodal tal como fue descrito por Rolston (46). La mitad de los aislamientos fueron inhibidos por 1-2 µg/ml, mientras que el resto por concentraciones de 8->128 µg/ml. Estos resultados fueron similares a los de otros autores (18, 25, 32, 46, 51). Como han informado otros investigadores, los aminoglucósidos fueron inactivos sobre *A. xylosoxidans* (17, 25, 28, 32, 39).

La resistencia a múltiples antimicrobianos es bien conocida en los géneros *Chryseobacterium* y *Myroides* (3, 20, 27, 29, 43, 51, 57) incluyendo trimetoprima-sulfametoxazol y β-lactámicos (penicilinas, cefalosporinas y carbapenemes).

Chryseobacterium gleum-indologenes fue la "especie" del género menos resistente. Piperacilina, piperacilina-tazobactama, cefalosporinas de 3° y 4° generación, cotrimoxazol, rifampicina, ciprofloxacina y minociclina resultaron activos. Cefepima fue más activa que ceftazidima, atribuible a una cefalosporinasa de clase A (CGA-1), de espectro extendido, inhibible por ácido clavulánico con mayor afinidad por cefotaxima y ceftazidima que por cefepima (7). En el presente estudio también se observó que la sulbactama y la tazobactama mejoraron la actividad de la cefoperazona y piperacilina, respectivamente.

No todas las cepas de este grupo fueron resistentes a los carbapenemes. De hecho, más de la mitad presentaron una CIM ≤ 2 µg/ml. En *C. indologenes* y en *C. gleum* han sido descritas diferentes carbapenemasas, todas ellas metaloenzimas de clase B, no inhibidas por el ácido clavulánico (6, 8). En el primero se hallaron 4 tipos de carbapenemasas (IND 1-4): las cepas portadoras de las tres primeras presentan valores de CIM de carbapenemes de 32-64 µg/ml y las de la restante valores de CIM de 4 y 16 µg/ml para imipenem y meropenem, respectivamente (8). En *C. gleum* una carbapenemasa denominada CGB-1 confiere niveles de CIM de imipenem de 2 mg/ml y meropenem de 8 µg/ml (6). El rango de CIM hallado en el presente estudio (0,5-32 µg/ml para imipenem y 2-8 µg/ml para meropenem) muestra la posibilidad de la existencia de cualesquiera de estas carbapenemasas. Bellais *et al.* también han demostrado que tanto las carbapenemasas como la cefalosporinasa de *C. gleum-indologenes* no afectan a piperacilina lo que explicaría la actividad de este antibiótico sobre nuestros aislamientos.

Imipenem, meropenem, piperacilina y rifampicina mostraron moderada actividad sobre *Myroides* spp., mientras que minociclina fue el antibiótico más activo (CIM ≤ 0,5 µg/ml). El resto de los antimicrobianos no mostró actividad en este género.

Tabla 5. Sensibilidad cuantitativa de *P. oryzihabitans*, *S. paucimobilis*, *A. piechaudii*, *P. alcaligenes*, *B. diminuta* y *B. vesicularis*

Antibiótico	Especie o grupo (n° de cepas)					
	<i>P. oryzihabitans</i> (2) CIM (µg/ml) rango	<i>S. paucimobilis</i> (2) CIM (µg/ml) rango	<i>A. piechaudii</i> (1) CIM (µg/ml)	<i>P. alcaligenes</i> (1) CIM (µg/µl)	<i>B. diminuta</i> (1) CIM (µg/ml)	<i>B. vesicularis</i> (1) CIM (µg/ml)
Ampicilina	16-16	2-1	8	128	32	16
Piperacilina	4-2	128->128	0,5	16	64	0,125
Piperacilina-Tazobactama	2-2	32-64	0,5	8	8	0,063
Sulbactama	>128	0,5-1	>128	>128	128	4
Cefoperazona	2-2	>128	1	16	64	0,25
Cefoperazona-Sulbactama	4-4	2-2	2	16	32	0,5
Ceftazidima	0,125	2-8	8	8	16	0,125
Cefepima	0,25-0,5	8-8	16	2	32	0,25
Aztreonam	8-64	0,25-16	64	64	64	<0,125
Imipenem	0,125	0,063-0,125	1	0,5	1	0,5
Meropenem	<0,063	0,063-0,125	0,063	1	0,5	<0,063
Colistina	<0,125	128	0,2	1	16	32
Gentamicina	<0,063-0,063	0,063-0,125	4	0,25	0,25	0,25
Amicacina	0,125	0,5-1	16	0,5	4	1
Cotrimoxazol	0,5-1	0,125-0,25	1	1	4	0,25
Cloranfenicol	64	0,25-4	>128	64	1	0,25
Eritromicina	4-8	0,125	64	32	64	0,125
Rifampicina	2-2	0,25-0,5	16	4	0,5	0,25
Norfloxacin	0,125	0,063-4	8	0,125	8	0,125
Ciprofloxacina	0,125-0,032	0,016-0,5	1	0,016	4	0,125
Minociclina	0,5-1	<0,125-0,5	2	1	<0,125	<0,125

Las CIMs de meropenem e imipenem fueron de 1-4 µg/ml. Estos resultados concuerdan con los descritos por Mammeri *et al.*, quienes además demostraron la presencia de carbapenemasas de clase B (TUS-1 y MUS-1) con niveles de resistencia bajos o moderados para los carbapenemes (38). Aún no se han descrito los mecanismos que expliquen la resistencia a las cefalosporinas de última generación.

Dos tipos de β-lactamasas fueron descritos en *C. meningosepticum*: una cefalosporinasa de clase A (CM-2) de espectro extendido y dos carbapenemasas (5, 9, 22). La cefalosporinasa es inhibida por ácido clavulánico, sulbactama, tazobactama, imipenem y cefamicinas y está asociada con la resistencia a ceftazidima y aztreonam. No afecta a piperacilina y cefepima. Las carbapenemasas (BlaB-1 y GOB-1) confieren bajo nivel de resistencia a los carbapenemes e hidrolizan eficientemente a cefepima. La combinación de estos mecanismos explica porque *C. meningosepticum* es resistente a todas las cefalosporinas. El alto nivel de resistencia a los carbapenemes observado en las dos cepas estudiadas podría deberse a la suma de la actividad de las carbapenemasas y la impermeabilidad de la membrana externa (5).

Rifampicina y minociclina fueron los únicos antibacterianos que mostraron muy buena actividad en las dos cepas estudiadas de *C. meningosepticum*. Aunque la literatura menciona además a las fluorquinolonas junto con la rifampicina y la minociclina como los antibacterianos más activos sobre *C. meningosepticum* (20), otros estudios muestran la emergencia de cepas resistentes (51).

Trimetoprima-sulfametoxazol y ciprofloxacina fueron los antibióticos más activos sobre las cepas de *Sphingobacterium multivorum* y *spiritivorum* estudiadas. Resultados similares obtuvieron Spangler *et al.*, los que además demostraron que las nuevas fluorquinolonas - sparfloxacin y levofloxacina- fueron más activas que ciprofloxacina (51). La resistencia a imipenem observada en este estudio fue también informada por Spangler (51). Las tres cepas no mostraron resistencia cruzada con meropenem ni con cefepima. Aunque no se informó la actividad de imipenem, Higgins encontró que las tres cepas de *S. spiritivorum* estudiadas tuvieron una CIM de meropenem de 0,064 µg/ml (27). El mecanismo de resistencia de estas dos especies aún no ha sido dilucidado.

Bergeyella zoohelcum y *Weeksella virosa* fueron muy sensibles a los antimicrobianos, incluyendo los β-lac-

Tabla 6. Sensibilidad cuantitativa de *S. multivorum*, *S. spiritivorum*, *E. brevis*, *W. virosa*, *O. urethralis* y *B. zoohelcum*

Antibiótico	Especie o grupo (n° de cepas)					
	<i>S. multivorum</i> (2) CIM (µg/ml) rango	<i>S. spiritivorum</i> (1) CIM (µg/ml)	<i>Empedobacter brevis</i> (1) CIM (µg/ml)	<i>Weeksellia virosa</i> (1) CIM (µg/ml)	<i>Oligella urethralis</i> (1) CIM (µg/ml)	<i>Bergeyella zoohelcum</i> (1) CIM (µg/ml)
Ampicilina	32 - >128	32	>128	0,5	32	0,032
Ampicilina - sulbactama	64 - 128	32	>128	0,008	2	0,032
Amoxicilina - clavulánico	4	4	8	0,25	0,5	0,016
Piperacilina	64 - 256	32	16	0,25	32	0,5
Piperacilina - tazobactama	32 - 64	16	4	0,016	0,25	0,25
Cefoperazona - sulbactama	16 - 32	8	8	0,5	0,25	0,032
Ceftazidima	8 - 16	8	2	0,5	0,25	0,063
Cefepima	2	2	0,25	0,25	0,125	0,32
Aztreonam	>128	>128	4	ND	ND	ND
Imipenem	32	32	8	0,063	0,063	0,063
Meropenem	0,5	1	8	0,032	0,063	0,032
Colistina	>128	>128	>128	0,25	0,5	>128
Gentamicina	32	32	16	8	0,25	16
Amicacina	>128	>128	32	>128	1	>128
Cotrimoxazol	0,063 - 0,125	0,064	0,5	0,125	1	0,063
Cloranfenicol	4	4	2	1	ND	1
Eritromicina	8	4	0,5	0,5	0,5	2
Rifampicina	1	0,5	0,5	0,25	ND	0,5
Norfloxacin	0,5 - 1	1	0,5	0,063	0,063	>128
Ciprofloxacina	0,125 - 0,5	0,125	0,25	0,032	0,032	64
Minociclina	0,5	0,5	0,5	0,5	1	0,25

támicos, en contraposición a lo observado en otros géneros de la familia *Flavobacteriaceae*. Estos resultados también fueron comunicados por otros investigadores (18, 26). La única resistencia hallada correspondió a los antibióticos aminoglucósidos en ambas especies (18, 49).

Los perfiles de sensibilidad de *P. fluorescens* - *P. putida* fueron similares a los comunicados previamente (2, 3, 51). Ambas especies son habitualmente sensibles a carbapenemes y cefalosporinas de espectro extendido y monobactamas. Imipenem mostró CIMs 1 ó 2 diluciones más bajas que meropenem en *P. putida*. Dos cepas: una de *P. putida* y otra de *P. fluorescens*, mostraron moderada resistencia a ambos carbapenemes (CIM = 8-16 µg/ml); situación contemplada también por varios investigadores (14, 18, 31, 51). Han sido descritos recientemente aislamientos de *P. putida* productores de metalo β-lactamasas (IMI-1, VIM-1, IMP-12) (13, 36, 50).

Pocas comunicaciones han informado acerca de la sensibilidad a los antibacterianos de *O. anthropi*, un patógeno oportunista nosocomial emergente. Todas ellas coinciden en la multiresistencia (12, 27, 44). Trimetoprima-sulfametoxazol, imipenem, meropenem, ciprofloxacina y minociclina fueron los antibióticos más activos sobre nuestras cepas, tal como otros autores han comunicado (12, 16, 27, 44).

S. putrefaciens-algae y *P. stutzeri* fueron las especies uniformemente sensibles, tal como se describió en otras publicaciones (11, 15, 17, 18, 23, 30, 51).

Con respecto a *S. paucimobilis-parapaucimobilis* esta "especie" presenta la particularidad de ser resistente a piperacilina y cefoperazona y sensible a ampicilina (17, 45), como así lo demuestran nuestros resultados. La diferente actividad de cefoperazona y piperacilina con respecto a ampicilina podría estar relacionada con la presencia de un grupo piperacilo en la molécula de las dos primeras y la ausencia del mismo en las aminopenicilinas. La sensibilidad a los aminoglucósidos parece ser un marcador de gran utilidad para diferenciar este microorganismo de las especies de *Sphingobacterium* con las que comparte numerosas similitudes fenotípicas.

La actividad antibiótica de la sulbactama ha sido bien demostrada en *Acinetobacter* spp. Llama la atención la actividad "per se" que fue observada en los aislamientos de *S. paucimobilis-parapaucimobilis* y en la única cepa de *Brevundimonas vesicularis* incluida en este estudio. Ningún otro bacilo gram-negativo no fermentador mostró en este trabajo sensibilidad a la sulbactama.

Estos resultados demuestran que muchas de las especies de bacilos gram-negativos no fermentadores son multiresistentes, incluyendo los antibióticos β-lactámicos

y las fluorquinolonas. Trimetoprima-sulfametoxazol parecería una excelente opción terapéutica para las infecciones ocasionadas por *S. maltophilia*. No obstante, aún cuando el porcentaje de cepas resistentes es bajo, su actividad bacteriostática limita su utilidad en pacientes con infecciones severas o inmunocomprometidos (59).

Minociclina fue el antibacteriano que mostró muy buena actividad sobre todas las especies estudiadas, excepto sobre *Alcaligenes*, *Achromobacter* y *B. cepacia*. Cabe destacar la ventaja de su administración por vía oral, pero la desventaja de su actividad bacteriostática. Estos hallazgos abren el camino para investigar la actividad de las nuevas glicilglicinas, derivadas de minociclina, pero bactericidas y de uso parenteral.

Debido a la gran variabilidad observada en la sensibilidad de las diferentes especies, es imprescindible realizar la prueba de sensibilidad a los antibacterianos para abordar la elección correcta del mismo cuando estos organismos son responsables de enfermedades infecciosas.

De la marcada multirresistencia de algunas especies en particular, surge la necesidad del desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos que posean actividad sobre este grupo de bacilos gram-negativos, o bien ensayar combinaciones que demuestren sinergia antibacteriana.

Agradecimientos: este trabajo fue subsidiado con fondos del Proyecto UBACYT B066 y B080.

BIBLIOGRAFÍA

- Akova M, Bonfiglio G, Livermore (1991) Susceptibility to β -lactam antibiotics of mutant strains of *Xanthomonas maltophilia* with high and lower-level constitutively-expressed class I β -lactamases. J. Antimicrob. Chemother. 25: 199-208.
- Appelbaum P, Spangler S, Sollenberger L (1986) Susceptibility of non-fermentative gram-negative bacteria to ciprofloxacin, norfloxacin, aminofloxacin, pefloxacin and cefpirome. J. Antimicrob. Chemother. 18: 675-679.
- Appelbaum P, Tamin J, Stavitz R, Aber C, Pankuch A (1982) Sensitivity of 341 non-fermentative gram-negative bacteria to seven β -lactam antibiotics. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1:159-165.
- Baxter I, Lambert P (1994) Isolation and partial purification of a carbapenem-hydrolyzing metallo β -lactamase from *Pseudomonas cepacia*. FEMS Microbiol Lett. 122: 251-256.
- Bellais S, Aubert D, Naas T, Nordmann P (2000) Molecular and biochemical heterogeneity of class B carbapenem-hydrolyzing β -lactamase in *Chryseobacterium meningosepticum*. Antimicrob. Agents Chemother. 44:1878-1886.
- Bellais S, Naas T, Nordmann P (2002) Genetic and biochemical characterization of CGB-1, an Ambler class B carbapenem-hydrolyzing β -lactamase from *Chryseobacterium gleum*. Antimicrob. Agents Chemother. 46: 2791-2796.
- Bellais S, Naas T, Nordmann P (2002) Molecular and biochemical characterization of Ambler class A extended-spectrum β -lactamase CGA-1 from *Chryseobacterium gleum*. Antimicrob. Agents Chemother. 46: 966-970.
- Bellais S, Poirel L, Leotard S, Naas T, Nordmann P (2000) Genetic diversity of carbapenem-hydrolyzing metallo- β -lactamases from *Chryseobacterium (Flavobacterium) indologenes*. Antimicrob. Agents Chemother. 44: 3028-3034.
- Bellais S, Poirel L, Naas T, Girlich D, Nordmann P (2000) Genetic-biochemical analysis and distribution of Ambler class A β -lactamase CME-2, responsible for extended-spectrum cephalosporin resistance in *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum*. Antimicrob. Agents Chemother. 44: 1-9.
- Biedenbach D, Croco M, Barrett T, Jones R (1999) Comparative in vitro activity of gatifloxacin against *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia* species isolated including evaluation of disk diffusion and E test methods. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 18: 428-431.
- Brink A, van Straten A, Rensburg A (1995) *Shewanella (Pseudomonas) putrefaciens* bacteremia. Clin. Infect. Dis. 20: 1327-1332.
- Cieslak T, Robb M, Drabick C, Fisher G (1992) Catheter-associated sepsis caused by *Ochrhobacterium anthropi*: report of a case and review of related non-fermentative bacteria. Clin. Infect. Dis. 14: 902-907.
- Docquier J, Riccio M, Mugnaioli C, Luzzaro F, Endimiani A, Toniolo A, et al. (2003) IMP-12, a new plamid-encoded metallo- β -lactamase from a *Pseudomonas putida* clinical isolate. Antimicrob. Agents Chemother. 47: 1522-1528.
- Edwards J (1995) Meropenem: a microbiological overview J. Antimicrob. Chemother. 36 (S): 1-17.
- Elting S, Bodey G (1990) Septicemia due to *Xanthomonas* species and non-aeruginosa *Pseudomonas* species: increasing incidence of catheter-related infections. Medicine 69: 296-306.
- Ezzedine H, Mourad M, van Ossel (1994) An outbreak of *Ochrhobacterium anthropi* bacteremia in five organ transplant patients. J. Hosp. Infect. 27: 35-42.
- Fass R, Barnishan J (1980) In vitro susceptibilities of non-fermentative gram-negative bacilli other than *Pseudomonas aeruginosa* to 32 antimicrobial agents. Rev. Infect. Dis. 2: 841-851.
- Fass R, Barnishan J, Solomon M, Ayers L (1996) In vitro activities of quinolonas, β -lactams, tobramycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole against non-fermentative gram-negative bacilli. Antimicrob. Agents Chemother. 40: 1412-1418.
- Fass R, Prior R (1989) Comparative in vitro activities of piperacillin-tazobactam and ticarcillin-clavulanate. Antimicrob. Agents Chemother. 33: 1268-1274.
- Fraser S, Jorgensen J (1997) Reappraisal of the antimicrobial susceptibilities of *Chryseobacterium* and *Flavobacterium* species and methods for reliable susceptibility testing. Antimicrob. Agents Chemother. 41: 2738-2741.
- Fujii T, Sato K, Inove M, Mitsuhashi S (1985) Purification and properties of a beta-lactamase from *Alcaligenes xylosoxidans*. J. Antimicrob. Chemother. 16: 297-298.
- Fujii T, Sato K, Yokota E, Maefima T, Inove M, Mitsuhashi S (1987) Properties of a broad spectrum beta-lactamase isolated from *Flavobacterium meningosepticum* GN 14059. J. Antibiotics 41: 81-85.
- Gilardi GL (1972) Infrequently encountered *Pseudomonas* species causing infection in humans. Ann. Intern. Med. 77: 211-215.
- Gilardi GL (1986) Cultural and biochemical aspects for identification of glucose-nonfermenting gram-negative rods. En: Gilardi GL (Ed), Non fermentative gram-negative rods. Laboratory identification and clinical aspects, Marcel Dekker, Inc, New York, p.17-84.
- Glupezyński Y, Hansen W, Freney J, Yourassowsky E (1988) In vitro susceptibility of *Alcaligenes denitrificans* subsp. *xylosoxidans* to 24 antimicrobial agents. Antimicrob. Agents Chemother. 32: 276-278.
- Goldstein E, Citron D, Merriam C, Warren Y, Tyrrell K (2000)

- Comparative in vitro activities of ABT-773 against aerobic and anaerobic pathogens isolated from skin and soft-tissue animal and human bite wound infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44: 2525-2529.
27. Higgins C, Murtough S, Williamson E, Hiom S, Payne D, Russell A, *et al.* (2001) Resistance to antibiotics and biocides among non-fermenting gram-negative bacteria. *Clin. Microbiol. Infect.* 7: 308-315.
 28. Holmes B, Snell J, Lapage P (1977) Strains of *Achromobacter xylosoxidans* from clinical material. *J. Clin. Pathol.* 30: 595-601.
 29. Holmes B, Snell J, Lapage P (1979) *Flavobacterium odoratum*: a species resistant to a wide range of antimicrobial agents. *J. Clin. Pathol.* 32: 73-77.
 30. Kim J, Cooper R, Wetty-Wolf K, Harrel L, Zwadyk P, Klotman M (1989) *Pseudomonas putrefaciens* bacteremia. *Rev. Infect. Dis.* 11: 97-104.
 31. King A, Bethune L, Philips I (1996) The comparative in vitro activity of FK-037 (cefoselis), a new broad-spectrum cephalosporin. *Clin. Microbiol. Infect.* 1: 13-17.
 32. Legrand C, Anaissie E (1992) Bacteremia due to *Achromobacter xylosoxidans* in patients with cancer. *Clin. Infect. Dis.* 14: 479-484.
 33. Lesco-Bornet M, Bergogne-Bérézin E (1997) Susceptibility of 100 strains of *Stenotrophomonas maltophilia* to three β -lactams and five beta-lactam- β -lactamase inhibitor combinations. *J. Antimicrob. Chemother.* 40: 717-720.
 34. Levesque R, Roy PH, Letarte R, Pédrière JC (1982) A plamid-mediated cephalosporinase from *Achromobacter* species. *J. Infect. Dis.* 145: 753-761.
 35. Lewin C, Doherty C, Govan J (1993) In vitro activities of meropenem, PD 127391, PD 131628, ceftazidime, chloramphenicol, co-trimoxazole, and ciprofloxacin against *Pseudomonas cepacia*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37: 123-125.
 36. Lombardi G, Luzzaro F, Docquier J, Riccio M, Perilli M, Coli A, *et al.* (2002) Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo- β -lactamase. *J. Clin. Microbiol.* 40: 4051-4055.
 37. Louie A, Baltch A, Ritz WJ, Smith R (1991) Comparative in vitro susceptibilities of *Pseudomonas aeruginosa*, *Xanthomonas maltophilia*, and *Pseudomonas* spp. to sporfloxacin (CI-978, AT-4140, PD 131501) and reference antimicrobial agents. *J. Antimicrob. Chemother.* 27: 793-799.
 38. Mammeri H, Bellais S, Nordmann P (2002) Chromosome-encoded β -lactamases TUS-1 and MUS-1 from *Myroides odoratus* and *Myroides odoratimimus* (Formerly *Flavobacterium odoratum*), new members of the lineage of molecular subclass B1 metalloenzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 3561-3567.
 39. Mandell W, Garvey G, Neu H (1987) *Achromobacter xylosoxidans* bacteremia. *Rev. Infect. Dis.* 9: 1001-1005.
 40. National Committee for Clinical Laboratory Standards (1993) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 3rd ed. Approved Standard M7-A3 National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa. EE UU.
 41. National Committee for Clinical Laboratory Standards (2002) Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. 3rd ed. Approved Standards, Villanova, Pa. EE UU.
 42. Pedersen M, Marso E, Pickett J (1970) Non fermentative bacilli associated with man III. Pathogenicity and antibiotic susceptibility. *Am. J. Clin. Pathol.* 54: 178-192.
 43. Raimondi A, Moosdeen F, Williams J (1986) Antibiotic resistance pattern of *Flavobacterium meningosepticum*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 5: 461-463.
 44. Ramos J, Román A, Fernández-Roblas R, Cabello A, Soriano F (1996) Infection caused by *Ochrobactrum anthropi*. *Clin. Microbiol. Infect.* 1: 214-216.
 45. Reina J, Bassa A, Llompart I, Portela D, Borrel N (1991) Infections with *Pseudomonas paucimobilis*: report of four cases and review. *Rev. Infect. Dis.* 13: 1072-1076.
 46. Rolston K, Messer M (1990) The in-vitro susceptibility of *Alcaligenes denitrificans* subsp. *xylosoxidans* to 40 antimicrobial agents. *J. Antimicrob. Chemother.* 26: 857-860.
 47. Saino Y, Inoue M, Mitsushashi S (1984) Purification and properties of an inducible cephalosporinase from *Pseudomonas maltophilia* GN12873. *Antimicrob. Agents Chemother.* 25: 262-365.
 48. Saino Y, Kobayashi F, Inoue M, Mitsushashi S (1982) Purification and properties of inducible penicillin β -lactamase isolated from *Pseudomonas maltophilia*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 22: 564-570.
 49. Schreckenberger P, Daneshvar M, Weyant R, Hollis D (2003) *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and other nonfermentative gram-negative rods. En: Murray P, Baron E, Tenover J, Tenover F, Tenover R (Ed), *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. ASM Press, Washington DC, p. 749-779.
 50. Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S, *et al.* (1996) PCR detection of metallo- β -lactamase gene (bla IMP) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum β -lactams. *J. Clin. Microbiol.* 34: 2909-2913.
 51. Spangler S, Visalli M, Jacobs M, Appelbaum P (1996) Susceptibilities of non-*Pseudomonas aeruginosa* gram-negative non-fermentative rods to ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin, D-ofloxacin, sparfloxacin, ceftazidime, piperacillin, piperacillin-tazobactam, trimethoprim-sulfa-methoxazole, and imipenem. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40: 772-775.
 52. Statement 1996 CA-SFM (1996) Zone sizes and MIC break points for non-fastidious organisms. *Clin. Microbiol. Infect.* 2 (S): 46-49.
 53. Valdezate S, Vindel A, Baquero F, Cantón R (1999) Comparative in vitro activity of quinolones against *Stenotrophomonas maltophilia*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 18: 908-911.
 54. Vartivarian S, Anaissie E, Bodey G, Sprigg H, Rolston K (1994) A changing pattern of susceptibility of *Xanthomonas maltophilia* to antimicrobial agents: implications for therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38: 624-627.
 55. Vila Estapé J, Valls Lolla ME, Pumarola Suñé T, Jimenez de Anta Losada MT (1987) Bacilos gram-negativos no fermentadores aislados en enfermos hospitalizados. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 5: 88-92.
 56. von Graevenitz A (1995) *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, and other non fermentative gram-negative bacteria. En: Murray P, Baron E, Tenover J, Tenover F, Tenover R (Ed), *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed, ASM Press, Washington, DC, p. 520-532.
 57. von Graevenitz A, Grehn M (1977) Susceptibility studies on *Flavobacterium* IIb. *FEMS Microbiol. Lett.* 2: 289-292.
 58. von Graevenitz A (1985) Ecology, clinical significance, and antimicrobial susceptibility of infrequently encountered glucose-non fermenting gram-negative rods. En: Gilardi GL (Ed), *Non fermentative gram-negative rods. Laboratory identification and clinical aspects*. Marcel Dekker, Inc., New York p.181-232.
 59. Weiss K, Restieri C, De Carolis E, Laverdière M, Guay H (2000) Comparative activity of new quinolones against 326 clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. *J. Antimicrob. Chemother.* 45: 363-365.