

ARTYKUŁ ORYGINALNY/ORIGINAL PAPER

Otrzymano/Submitted: 05.12.2010 • Poprawiono/Corrected: 14.03.2011 • Zaakceptowano/Accepted: 15.03.2011

© Akademia Medycyny

Przewlekła kolonizacja drzewa oskrzelowego u dorosłych chorych na mukowiscydozę***Bronchial tree colonization in cystic fibrosis adult patients*****Tomasz Piorunek, Szczepan Cofta, Joanna Goździk, Halina Batura-Gabryel**

Katedra i Klinika Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

**Streszczenie**

Wstęp. Mukowiscydoza - zwłóknienie torbielowate (*cystic fibrosis* - CF) jest najczęściej występującą chorobą genetyczną rasy białej, wywołaną mutacją pojedynczego genu, dziedziczną w sposób autosomalny recesywny, prowadzącą do przedwczesnej śmierci. Przyczyną choroby są mutacje genu zlokalizowanego na długim ramieniu 7 chromosomu kodującego białko CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*). Prowadzi to w konsekwencji do zaburzeń transportu sodu oraz wody i gromadzenia się w drogach oddechowych gęstego, lepkiego śluzu. W następstwie dochodzi do stałej kolonizacji dróg oddechowych drobnoustrojami, później do rozwoju przewlekłego zakażenia i postępującego uszkodzenia układu oddechowego. **Material i metody.** Badania przeprowadzono na grupie 33 dorosłych w wieku od 18 do 38 lat chorujących na mukowiscydozę, w tym 17 kobiet i 16 mężczyzn, hospitalizowanych z powodu zaostrzenia choroby oskrzelowo-płucnej. Bronchofiberoskopię z pobraniem wycinków do badania histopatologicznego i płukaniem oskrzelowo-pęcherzykowym (BAL - *bronchoalveolar lavage*) przeprowadzono przy wykorzystaniu toru wizyjnego firmy Pentax. Diagnostyka mikrobiologiczna prowadzona była zgodnie z obowiązującymi procedurami. **Wyniki.** Kolonizacja drzewa oskrzelowego u poszczególnych dorosłych chorych była zróżnicowana. W badaniach mikrobiologicznych materiału uzyskanego z BAL wyhodowano drobnoustroje sklasyfikowane do 13 różnych gatunków. *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* zostały wykryte u 1/3 chorych. Ich rola w rozwoju przewlekłego zakażenia prowadząca do uszkodzenia i niewydolności układu oddechowego jest dobrze znana. Znaczenie zakażenia innymi patogenami w przebiegu mukowiscydozy nie zostało do końca wyjaśnione. *Anestezjologia i Ratownictwo 2011; 5: 11-16.*

Słowa kluczowe: mukowiscydoza, bronchofiberoskopia, kolonizacja układu oddechowego

Abstract

Background. *Cystic fibrosis* (CF) is the most common single-gene related disease in Caucasians with autosomal recessive trait of inheritance. The basic abnormality was established as mutation of the gene encoding cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) protein located on the long arm of chromosome 7. CFTR protein is present on the apical surface of cells in exocrine glands. Finally the ducts of exocrine glands are plugged by accumulation of viscous and dehydrated mucus. Then as for instance in bronchial tree occurs bacterial colonization. **Material and methods.** Recurrent respiratory tract infection due to bacterial pathogens is the main cause of progressive pulmonary damage leading to pulmonary failure in cystic fibrosis (CF) patients. The studies were performed on 33 cystic fibrosis (CF) adult patients with exacerbation, aged 18-38 years (17 females

and 16 males). Fiberoptic bronchoscopy (Pentax) was performed in all patients and segmental bronchi samples of mucous membrane and broncho-alveolar lavage were taken. Identification of pathogens was performed using the standard protocol. **Results.** Thirteen various microorganisms was detected in bronchial tree. *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* were found in 1/3 of patients with CF exacerbation. These pathogens are well known cause of the most prevalent and severe chronic lung infection and are the main cause of progressive pulmonary damage leading to pulmonary failure in patients with CF. The role of others pathogens infection in the course of CF is not exactly explained. *Anestezjologia i Ratownictwo 2011; 5: 12-16.*

Keywords: cystic fibrosis, fiberoptic bronchoscopy, respiratory system colonization

Wstęp

Mukowiscydoza - zwłóknienie torbielowate (*cystic fibrosis* - CF) jest najczęściej występującą chorobą genetyczną rasy białej, wywołaną mutacją pojedynczego genu, dziedziczną w sposób autosomalny recesywny, prowadzącą do przedwczesnej śmierci. Przyczyną choroby są mutacje genu zlokalizowanego na długim ramieniu 7 chromosomu kodującego białko CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), pełniące między innymi funkcję kanału chlorkowego zależnego od cAMP, usytuowanego na szczycowej powierzchni komórek nabłonkowych gruczołów wydzielania zewnętrznego. W konsekwencji dochodzi do nieprawidłowego przetransportowania jonów chlorkowych, prowadzącego do zaburzeń transportu sodu i wody. Gromadzący się w drogach oddechowych gęsty, lepki śluz zamyka oskrzeliki, powodując rozdęcie i odcinkową niedodmę tkanki płucnej. W następstwie dochodzi do stałej kolonizacji dróg oddechowych drobnoustrojami, później do rozwoju przewlekłego, ropnego zakażenia i postępującego uszkodzenia układu oddechowego [2].

Wczesna infekcja dróg oddechowych w mukowiscydozie jest najczęściej wywołana przez *S. aureus* i *H. influenzae*, mikroorganizmy, często wykrywane u młodszych dzieci z chorobami przewlekłymi i u dorosłych z rozstrzeniami oskrzeli z przyczyn innych niż mukowiscydoza. *H. influenzae* to powszechnie izolowane bakterie w pierwszym roku życia, a *S. aureus* nierzadko pierwszym patogenem u dzieci młodszych. Wykazano, że ponad 80% pacjentów z mukowiscydozą jest zakażonych tymi bakteriami [3]. W późniejszym okresie życia w drogach oddechowych tych chorych wykrywane są *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*,

czy *Achromobacter xylosoxidans* oraz grzyby z rodzaju *Aspergillus* i prątki niegruźlicze. Większość zakażeń ma charakter przewlekły i przebiega z pogorszeniem funkcji układu oddechowego oraz wzrostem śmiertelności chorych. W zaawansowanej chorobie oskrzelowo-płucnej *S. maltophilia* i *A. xylosoxidans* występują powszechniej niż *B. cepacia*, lecz powodują mniej istotne następstwa [4].

Wykazano, że kolonizacja dróg oddechowych grzybami u chorych na mukowiscydozę może być związana z progresją choroby i częstą antybiotykoterapią o szerokim spektrum. Kolonie *Candida spp.* izolowane, u co najmniej 50-75% pacjentów traktowane są zwykle jako nieszkodliwe komensale. Obecność *Aspergillus spp.* (najczęściej *Aspergillus fumigatus*) stwierdza się u ponad 25% chorych. Pozostałe infekcje grzybicze dotyczą 8,6% pacjentów i obejmują *Scedosporium apiospermum*, *Wangiella dermatitidis* i *Penicillium emersonii* [5].

Coraz częściej w materiale pochodzącym z dróg oddechowych osób chorych na mukowiscydozę stwierdza się prątki niegruźlicze. Stanowią one 13% przypadków. Najczęściej izolowane są *Mycobacterium avium complex* (72%) i *Mycobacterium abscessus* (16%). Wzrost prątków niegruźliczych stwierdzano częściej u starszych chorych i zakażonych *S. aureus*, rzadziej w przypadku współistnienia zakażenia *P. aeruginosa* [6].

Wielonarządowy charakter zmian, a w szczególności postępujące zaburzenia anatomiczne i czynnościowe układu oddechowego w przebiegu mukowiscydozy prowadzą nieuchronnie do przedwczesnej śmierci chorych. Progresja zmian oskrzelowo-płucnych uwarunkowana jest obecnością procesu zapalnego obejmującego wszystkie struktury płuc.

Cel pracy

Celem pracy było wskazanie najczęstszych patogenów drzewa oskrzelowego w grupie dorosłych chorych na mukowiscydozę w przebiegu choroby oskrzelowo-płucnej.

Materiał i metody badań

Badania przeprowadzono na grupie 33 dorosłych w wieku od 18 do 38 lat (średnia wieku 23,6) chorujących na mukowiscydozę, w tym 17 kobiet i 16 mężczyzn, hospitalizowanych z powodu zaostrzenia choroby oskrzelowo-płucnej.

Bronchofiberoskopię z pobraniem wycinków do badania histopatologicznego i płukaniem oskrzelowo-pęcherzykowym (BAL - *bronchoalveolar lavage*) przeprowadzono przy wykorzystaniu toru wizyjnego firmy Pentax. Wzrokowa ocena obejmowała drogi oddechowe do poziomu oskrzeli subsegmentarnych i dalszych dostępnych badaniu. Zwracano uwagę na nieprawidłowości anatomiczne drzewa oskrzelowego oraz stopień przekrwienia i obrzęku błony śluzowej, a także ilość i charakter wydzieliny oskrzelowej. Następnie w obszarze największych zmian oskrzelowo-płucnych stwierdzanych na radiogramach klatki piersiowej wykonywano BAL.

Diagnostyka mikrobiologiczna infekcji dróg oddechowych pacjentów z mukowiscydozą prowadzona była zgodnie z procedurami opracowanymi na podstawie międzynarodowych rekomendacji: *Cystis fibrosis Foundation Consensus Conference on Infection Control Participants* z 2003 roku oraz *UK Cystis Fibrosis Trust Microbiology Laboratory Standards Working Group* z 2010 roku. Materiał do badań stanowiła płwocina oraz BAL. Do Laboratorium Mikrobiologii próbki transportowane były w temperaturze pokojowej w możliwie najkrótszym czasie. Maksymalny czas transportu wynosił 4 godziny. Przed posiewem materiał upłynniano przy pomocy preparatu mukolitycznego bromheksyna (Aflegan). W celu oceny jakości pobranego materiału dla wszystkich próbek wykonano preparat barwiony metodą Grama. Badanie płwociny wykonywano metodą półilościową, a BAL-u metodą ilościową. Dobór podłoży mikrobiologicznych służących do posiewu oraz warunki i czas inkubacji umożliwiały wykrycie większości drobnoustrojów istotnych w mukowi-

scydozie: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* (różne fenotypy), *Burkholderia cepacia complex*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Ralstonia spp.*, *Pandora spp.*, *Candida spp.* oraz *Aspergillus spp.* Zastosowano podłoża firmy bioMerieux i Becton Dickinson.

Identyfikacja drobnoustrojów prowadzona była przy pomocy manualnych i automatycznych testów biochemicznych oraz testów lateksowych firmy bioMerieux. Lekowrażliwość określano metodą dyfuzyjno-krążkową wg Kirby-Bauer, automatyczną w analizatorze Vitek2 Compact firmy bioMerieux oraz określając MIC przy pomocy pasków z gradientem stężenia leków - E-test®. Interpretację lekowrażliwości opierano zawsze na aktualnych rekomendacjach amerykańskich CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*).

Wykrywanie prątków kwasoopornych przeprowadzano metodą automatyczną, z wykorzystaniem kolorymetrycznego systemu MB/BacT.

Identyfikację *Chlamydomphila pneumoniae* w biopłacie błony śluzowej oskrzela wykonywano metodą PCR (*polymerase chain reaction*). W celu potwierdzenia obecności DNA genomowego zastosowano zestaw diagnostyczny PCR - *Chlamydomphila pneumoniae* (DNA - Gdańsk) oraz parę starterów dla β -globiny (TIB MolBiol, Poznań).

Wyniki badań

W badaniach mikrobiologicznych materiału uzyskanego z BAL wyhodowano drobnoustroje sklasyfikowane do 13 różnych gatunków. Stwierdzono obecność *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* MSSA (methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*), odpowiednio u 12 i 11 chorych. *Staphylococcus aureus* MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) i *Streptococcus viridans* wykazano u 9 pacjentów. W 7 przypadkach stwierdzono występowanie *Neisseria spp.*, w 3 *Haemophilus influenzae* oraz po 2 przypadki *Klebsiella pneumoniae*, *Burkholderia cepacia* i *Candida albicans*. U nielicznych chorych wykazano obecność *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella lacunata*, *Stenotrophomonas maltophilia* i *Candida sake*. W analizowanym materiale u żadnego pacjenta nie potwierdzono obecności prątków kwasoopornych (tabela 1).

Tabela 1. Częstości występowania bakterii i grzybów w materiale z BAL chorych na mukowiscydozę

Rodzaj bakterii	BAL	
	n	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	36,36
<i>Staphylococcus aureus</i> MSSA	11	33,33
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	9	27,27
<i>Streptococcus viridans</i>	9	27,27
<i>Neisseria</i> spp.	7	21,21
<i>Haemophilus influenzae</i>	3	9,09
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	6,06
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	6,06
<i>Candida albicans</i>	2	6,06
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	3,03
<i>Moraxella lacunata</i>	1	3,03
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	3,03
<i>Candida sake</i>	1	3,03
Prątki gruźlicy	0	0,00
MOTT	0	0,00

Występowanie jednocześnie 4 gatunków bakterii i grzybów wykazano u 2 chorych, 3 różne patogeny obecne były w 7 przypadkach. W takiej samej grupie stwierdzono pojedyncze gatunki bakterii. U 7 chorych kolonizacji drzewa oskrzelowego przez *Pseudomonas aeruginosa* towarzyszyło zakażenie *Staphylococcus aureus*, w tym u 5 pacjentów było to MRSA (tabela 2).

Zastosowanie metody PCR w grupie 22 osób, spośród 33 chorych na mukowiscydozę pozwoliło na stwierdzenie obecności *Chlamydomydia pneumoniae* DNA w biopatach błony śluzowej oskrzeli u 7 z nich.

Omówienie

Beringer, O'Carroll i Saiman stwierdzili, że zakażenie bakteryjne jest najważniejszą przyczyną postępującego uszkodzenia układu oddechowego prowadzącego do przedwczesnej śmierci. Udział poszczególnych gatunków drobnoustrojów w zakażeniach dróg oddechowych u chorych na mukowiscydozę zmienia się z wiekiem.

U młodszych dzieci najczęściej stwierdza się występowanie *Staphylococcus aureus* i *Haemophilus influenzae*. U dzieci w starszym wieku i dorosłych następuje kolonizacja bakteriami *Pseudomonas aeruginosa* i u części chorych *Burkholderia cepacia* oraz *Stenotrophomonas maltophilia*. Przewlekła kolonizacja *Staphylococcus aureus* sięgająca 90% przypadków, jako czynnik uszkadzający funkcję płuc i oskrzeli nie została

jednoznacznie określona. Powodem tego stanu jest współistnienie zakażeń innymi drobnoustrojami [7-9]. Kolonizacja dróg oddechowych przez *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Burkholderia cepacia*, także według Millera i Beringera stanowi istotny czynnik zaburzający funkcję płuc. Drugorzędną rolę w przebiegu mukowiscydozy przypisuje się wirusom RSV i grypy, a także bakteriom *Haemophilus influenzae* i grzybom *Aspergillus fumigatus*. Zaobserwowano wzrastającą częstość występowania *Mycobacterium* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* i *Alcaligenes xylosoxidans*, jednak ich wpływ na zmiany oskrzelowo-płucne w przebiegu choroby nie został jasno określony. *Staphylococcus aureus* był pierwszym patogenem rozpoznanym u chorych na mukowiscydozę, występującym z częstością prawie 50%. Jednak najważniejsze znaczenie odgrywa *Pseudomonas aeruginosa*, szczególnie fenotyp śluzowy [10,11].

Quintas i wsp. oraz Semczuk i wsp. w materiale uzyskanym z dróg oddechowych od dzieci stwierdzili występowanie *Staphylococcus aureus* z częstością 48%, *Haemophilus influenzae* 17% i *Pseudomonas aeruginosa* 13%. Około 6% przypadków stanowił *Staphylococcus aureus* MRSA. Zakażenie *Haemophilus influenzae* rozpoznawano częściej poniżej 10 roku życia, *Pseudomonas aeruginosa* u dzieci starszych, a *Staphylococcus aureus* z równą częstością we wszystkich grupach wiekowych [12,13]. Rajan i Saiman stwierdzili, że do zakażenia bakteriami *Staphylococcus aureus* i *Haemophilus influenzae* dochodzi zwykle w pierwszej dekadzie życia oraz, że *Pseudomonas aeruginosa* może być pierwszym patogenem izolowanym u dzieci. W okresie do 18 roku życia zakażenie *Pseudomonas aeruginosa* dotyczy ok. 80%, a *Burkholderia cepacia* ok. 3,5% chorych. Autorzy podkreślają udział *Stenotrophomonas maltophilia* i *Alcaligenes xylosoxidans* oraz prątków niegruźliczych w rozwoju zmian zapalnych [14].

Diagnostyka mikrobiologiczna materiału własnego pochodzącego z BAL od dorosłych chorych wykazała obecność 12 różnych gatunków bakterii, w tym *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Burkholderia cepacia*. Kolonizacja dróg oddechowych przez *Pseudomonas aeruginosa* związana była z większymi zmianami zapalnymi w obrazie bronchoskopowym, niedożywieniem i młodszy wiekiem chorych. W 21% kolonizacji drzewa oskrzelowego wraz z *Pseudomonas aeruginosa* wyhodowano także *Staphylococcus aureus*, w tym u 5 pacjentów MRSA.

Dodatkowy udział grzybów w rozwoju zmian

Tabela 2. Występowanie bakterii i grzybów w materiale z BAL u dorosłych chorych na mukowiscydozę

Lp.	P. ae.	S.a MS	S.a. MR	St. v.	N. sp.	H. in.	K. pn.	B. ce.	C. al.	C. p.	S. pn.	M. la.	S. ma.	C. sa.
1	+													
2	+			+						+				
3				+	+					+				
4		+												
5				+	+	+								
6		+		+	+									+
7			+	+										
8			+				+			+			+	
9	+	+												
10	+		+			+								
11				+	+									
12				+						+				
13	+													
14							+							
15		+						+						
16		+									+			
17				+	+									
18	+		+		+									
19									+					
20	+		+											
21	+	+												
22			+	+	+									
23		+												
24		+												
25	+		+											
26		+						+						
27		+				+				+				
28												+		
29	+	+							+					
30			+											
31	+													
32	+		+							+				
33										+				

P.ae - *Pseudomonas aeruginosa*, S.a MS - *Staphylococcus aureus* MSSA, S.a. MR - *Staphylococcus aureus* MRSA, St. V - *Streptococcus viridans*, N. sp - *Neisseria spp.*, H. in. - *Haemophilus influenzae*, K. pn. - *Klebsiella pneumoniae*, B. ce. - *Burkholderia cepacia*, C. al. - *Candida albicans*, C. p. - *Chlamydomyces pneumoniae*, S. pn. - *Streptococcus pneumoniae*, M. la. - *Moraxella lacunata*, S. ma. - *Stenotrophomonas maltophilia*, C. sa - *Candida sake*

zapalnych stwierdzono jedynie u 3 chorych. Zakażenie *Chlamydomyces pneumoniae* może towarzyszyć zaostrzeniom mukowiscydozy [15]. Bezpośrednie wykrycie *Chlamydomyces pneumoniae* w materiale uzyskanym z dolnych dróg oddechowych metodą hodowli lub PCR pozwala potwierdzić rozpoznanie. Czułość hodowli jest jednak wciąż mniejsza niż 100% [16]. We własnym materiale badawczym, który stanowiły wycinki błony śluzowej oskrzeli, pochodzące od 22 chorych, występowanie *Chlamydomyces pneumoniae* wykazano testem nested PCR u 31% spośród nich.

Pierre-Audigier i wsp. stwierdzili występowanie

prątków niegruźliczych u 33 (13,4%) spośród 385 chorych na mukowiscydozę w wieku 1-24 lat. *Mycobacterium abscessus* stanowił 39,4%, *Mycobacterium avium complex* (MAC) 21,2%, *Mycobacterium gordonae* 18,2% i inne 21,2%. Prątki niegruźlicze stwierdzano znacznie rzadziej poniżej 15 roku życia [17]. Podobne spostrzeżenia poczynili Elbert D.L. [18].

Badania własne materiału pochodzącego z BAL, przeprowadzone na obecność prątków kwasoopornych w badanej populacji pacjentów dorosłych nie potwierdziły ich występowania w żadnym przypadku.

Mukowiscydoza jest chorobą, w której wzajemne

oddziaływanie wielu czynników, w tym kolonizacja drzewa oskrzelowego drobnoustrojami powoduje przewlekły stan zapalny i prowadzi do postępujących zaburzeń czynnościowych i zmian anatomicznych układu oddechowego.

Wnioski

1. Kolonizacja drzewa oskrzelowego u poszczególnych dorosłych chorych na mukowiscydozę jest zróżnicowana.
2. *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* są drobnoustrojami najczęściej identyfikowanymi w drogach oddechowych pacjentów dorosłych z mukowiscydozą.

3. Współwystępowanie kilku gatunków bakterii chorobotwórczych u dorosłych jest zjawiskiem powszechnym.

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Adres do korespondencji:

Tomasz Piorunek
Katedra i Klinika Pulmonologii, Alergologii
i Onkologii Pulmonologicznej
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Szamarzewskiego 84, 60-569 Poznań
☎ (+48 61) 841 70 61
✉ t_piorun@op.pl

Piśmiennictwo

1. Zastosowanie badań molekularnych w diagnostyce i badań przesiewowych mukowiscydozy. Stanowisko Polskiej Grupy Roboczej Mukowiscydozy przy Zarządzie Głównym Polskiego Towarzystwa Pediatrycznego (1993). *Pediatrics Polska* 1994;69:384-5.
2. Wang SS, FitzSimmons SC, O'Leary LA, Rock MJ, Gwinn ML, Khoury MJ. Early diagnosis of cystic fibrosis in the newborn period and risk of *Pseudomonas aeruginosa* acquisition during the first 10 years of life: a registry-based longitudinal study. *Pediatrics* 2001;107:274-9.
3. Cystic Fibrosis Foundation Patent Registry. 2001 Annual Data Report to the Center Directors. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation 2002.
4. Thomassen MJ, Demko CA, Klinger JD, Stern RC. *Pseudomonas cepacia* colonization among patients with cystic fibrosis: a new opportunist. *Am Rev Respir Dis* 1985;131:791-6.
5. Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infection in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:918-51.
6. Olivier KN, Weber DJ, Wallace RJ Jr, Faiz AR, Lee JH, Zhang Y, et al. Nontuberculous mycobacteria. I multicenter prevalence study in cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:828-34.
7. Beringer PM, Appleman MD. Unusual respiratory bacterial flora in cystic fibrosis: microbiologic and clinical features. *Curr Opin Pulm Med* 2000;6:545-50.
8. O'Carroll MR, Syrmis MW, Wainwright CE, Greer RM, Mitchell P, Coulter C, et al. Clonal strains of *Pseudomonas aeruginosa* in paediatric and adult cystic fibrosis units. *Eur Respir J* 2004;24:101-6.
9. Saiman L, Siegel J. Infection control in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:57-71.
10. Miller MB, Gilligan PH. Laboratory aspects of management of chronic pulmonary infections in patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 2003;41:4009-15.
11. Beringer PM, Appleman MD. Unusual respiratory bacterial flora in cystic fibrosis: microbiologic and clinical features. *Cur Opin Pulm Med* 2000;6:545-50.
12. Quintas S, Pereira L, Lito L, Barreto C. Epidemiological survey of bacteria isolated from the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Rev Port Pneumol* 2003;IX(5 Suppl. 1):35-6.
13. Semczuk K, Dmeńska H, Dzierżanowska D, Kołodziejczyk M, Gabińska E, Zaręba H. Analiza drobnoustrojów izolowanych z dróg oddechowych chorych na mukowiscydozę leczonych w IP-CZD w latach 1999-2002. *Pneumonol Alergol Pol* 2005;73:41-7.
14. Rajan S, Saiman L. Pulmonary infection in patients with cystic fibrosis. *Semin Respir Infect* 2002;17:47-56.
15. Emre U, Bernius M, Roblin PM, Gaerlan PF, Summersgill JT, Steiner P, et al. Chlamydia pneumoniae infection in patients with cystic fibrosis. *Clin Infect Dis* 1996;22:819-23.
16. Dalhoff K, Maass M. Chlamydia pneumoniae pneumonia in hospitalized patients. Clinical Characteristics and diagnostic value of polymerase chain reaction detection in BAL. *Chest* 2002;110:351-6.
17. Pierre-Audigier C, Ferroni A, Sermet-Gaidelus I, Le Bouereis M, Offredo C, Vu-Thien H, et al. Age-related prevalence and distribution of nontuberculous mycobacterial species among patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 2005;43:3467-70.
18. Elbert DL, Olivier KN. Nontuberculous mycobacteria in cystic fibrosis. *Infect Dis Clin North Am* 2002;16:221-33.