



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO
INFECCIONES NOSOCOMIALES:
***PSEUDOMONAS AERUGINOSA* Y SU**
IMPORTANCIA, SUS CARACTERÍSTICAS Y SU
RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS

Autor: José María Alonso Martínez

D.N.I.: 47472151-J

Tutor: Dña. Rosalía Díez Orejas

Convocatoria: junio del 2015

RESUMEN

¿Y si la estancia en el hospital fuese más peligrosa que el propio motivo del ingreso? La respuesta a esa pregunta se resume en dos palabras: infecciones nosocomiales. Las infecciones nosocomiales son aquellas infecciones contraídas por el paciente en el hospital u otro establecimiento sanitario no presentes en el momento del ingreso y que, en ocasiones, tienen consecuencias más nefastas que el motivo por el que se ingresó. Las cuatro infecciones más prevalentes en España son las urinarias, las respiratorias, las bacteriemias y las postquirúrgicas, y son causadas por múltiples patógenos “escondidos” en el hospital, entre los que destaca *Pseudomonas aeruginosa*. Su versatilidad, cosmopolitismo y resistencia, sumado a sus factores de virulencia (pigmentos, Sistemas de Secreción, toxinas y biofilm), su capacidad de comunicación (*Quorum sensing*) y sus mecanismos de resistencia a antimicrobianos (biofilms, β -lactamasas, transportadores RND, proteína OprD, enzimas y mutaciones), lo convierten en una de las grandes amenazas ocultas en este entorno. Sus cualidades exigen unas medidas de control estrictas, así como el uso de terapias especiales como la combinación de antibióticos entre sí o junto con inhibidores de sus sistemas de resistencia, además de terapias innovadoras diseñadas exclusivamente con un objetivo: echar a *Pseudomonas aeruginosa* de nuestros hospitales.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones nosocomiales son definidas por la OMS de la siguiente manera: “*Una infección que se presenta en un paciente internado en un hospital o en otro establecimiento de atención de salud en quien la infección no se había manifestado ni estaba en período de incubación en el momento del internado. Comprende las infecciones contraídas en el hospital, pero manifiestas después del alta hospitalaria y también las infecciones ocupacionales del personal del establecimiento*” (1). Su desarrollo está condicionado por cuatro factores:

→**Intrínsecos**: factores inherentes o propios del individuo. El más relevante es la disminución de la competencia inmunitaria producida, entre otras causas, por la edad del paciente, una patología de base (como SIDA o insuficiencia renal) o debida a la intervención quirúrgica a la que ha sido sometido el paciente. También importantes son los trastornos de la deglución o la malnutrición (2).

→**Extrínsecos**: factores ajenos o exteriores al individuo, como son la gran variedad de técnicas invasivas y distintos procedimientos y tratamientos a los que se ve sometido el paciente y que contribuyen a crear vías de infección, tales como catéteres, ventilación mecánica o fármacos inmunosupresores (2).

Las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) y los quirófanos son las zonas del hospital donde más frecuentemente se puede desarrollar una infección nosocomial, ya que son grandes focos de factores tanto intrínsecos como extrínsecos. La baja competencia inmunitaria y las enfermedades de base de

los pacientes en estas zonas, sumado a la rotura de las barreras naturales de protección, la elevada exposición de los tejidos internos al medio y el uso de catéteres, ventiladores y demás dispositivos aumenta en gran medida el riesgo de desarrollar estas infecciones.

→Relacionados con el microorganismo: características de dicho microorganismo tales como su resistencia a antimicrobianos, su virulencia intrínseca o la cantidad de material infeccioso (1).

→Ambiente hospitalario: suma de personas “sanas”, enfermas y portadoras. La baja competencia inmunitaria en este ambiente sumada a los traslados entre los distintos servicios asistenciales hace del hospital un medio idóneo para el desarrollo de este tipo de infecciones (1).

En cuanto a la repercusión de las infecciones nosocomiales, tienen un gran efecto sobre tres unidades principales. Por una parte el **paciente**, ya que agravan la discapacidad y la tensión emocional de éste y son responsables de prolongar la estancia hospitalaria, provocando la pérdida de días de trabajo. Por otro lado el **hospital**, debido a que generan unos costes enormemente grandes provocados sobre todo por la prolongación del tiempo de estancia en él. Y por último el **estado**, por el aumento del gasto por pérdida de días de trabajo, mayor uso de medicamentos y realización de estudios diagnósticos entre otras cosas (1,3).

Según la OMS: “*Las infecciones nosocomiales agravan el desequilibrio existente entre la asignación de recursos para atención primaria y secundaria al desviar escasos fondos hacia el tratamiento de afecciones potencialmente prevenibles*” (1).

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es conocer los aspectos más relevantes de las infecciones nosocomiales en el entorno hospitalario español, así como las principales características de *Pseudomonas aeruginosa* como uno de los patógenos nosocomiales más prevalentes en los hospitales españoles actualmente.

En concreto, los objetivos de este trabajo son:

1. Contextualizar la importancia de las infecciones nosocomiales en el entorno hospitalario español, así como la identificación tanto de los patógenos nosocomiales más prevalentes como de las principales infecciones que provocan.
2. Explicar los aspectos principales de la problemática asociada a las infecciones nosocomiales, es decir, la dificultad en cuanto a su control y tratamiento eficaz.
3. Explicar las cualidades que convierten a *Pseudomonas aeruginosa* en un microorganismo patógeno tan relevante.
4. Explicar los aspectos más relevantes en relación con *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial, a saber, dónde puede encontrarse, que tipos de infecciones produce y a qué tipo de pacientes afecta.

5. Contextualizar la importancia de *Pseudomonas aeruginosa* como patógeno nosocomial en el entorno hospitalario español, así como las funciones de los principales organismos encargados de su estudio y control.
6. Explicar las características que permiten a muchas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ser resistentes a gran parte de los antimicrobianos habituales, así como las medidas empleadas tanto para su control como para su tratamiento eficaz.

METODOLOGÍA

Revisión bibliográfica de distintos artículos y revistas científicas de consulta on-line encontradas en google académico y pubmed, así como varios libros sobre microbiología procedentes de la biblioteca de Farmacia de la UCM, el vademécum virtual y artículos de la Oficina Española de Patentes y Marcas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1 Importancia de las infecciones nosocomiales en el entorno hospitalario español

Con objeto de conocer la importancia de las infecciones nosocomiales en el entorno hospitalario español se ha llevado a cabo una recopilación de los datos de incidencia y prevalencia de estas infecciones en los hospitales de enfermos agudos de España durante los años 1990-2014 a través del informe EPINE-EPPS del año 2014.

El EPINE (Estudio de Prevalencia de Infecciones Nosocomiales en España) es el organismo que, en colaboración con el EPPS (European Prevalence Survey of Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use), analiza cada año las medidas de frecuencia de las infecciones nosocomiales. Según dichos estudios, durante los años 1990-2014, la prevalencia ha ido disminuyendo gracias a las mejoras en atención hospitalaria y salud pública, aunque aún se mantiene en un 5,6% en 2014. A su vez, la edad media de aparición aumenta progresivamente desde los 49 años en 1990 hasta los 60 en 2014, debido principalmente al incremento en la esperanza y calidad de vida de la población y a los llamados “Hospitales de Día”, factores que retrasan la edad a la que el paciente precisa de intervención quirúrgica y a la cual aparecen factores de riesgo intrínsecos como patologías de base o disminución de la competencia inmunitaria (4).

2 Identificación de los patógenos nosocomiales más prevalentes y de las principales infecciones que provocan

Con objeto de conocer cuáles son los patógenos nosocomiales más prevalentes en los hospitales españoles, así como las principales infecciones asociadas a ellos, se ha llevado a cabo una búsqueda de dichos datos en distintos artículos y publicaciones científicas de consulta on-line, así como su

comparación con los datos disponibles en el ya mencionado informe del EPINE-EPPS del año 2014.

2.1 Patógenos nosocomiales más prevalentes en los hospitales de enfermos agudos de España en el año 2014

Las infecciones nosocomiales en los hospitales españoles son producidas en su mayoría por un grupo de siete patógenos (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*) más otros muchos minoritarios, algunos exógenos y otros presentes en la biota (3,4)

2.2 Principales infecciones provocadas por estos patógenos nosocomiales

Las principales infecciones nosocomiales son las urinarias, las respiratorias (manifestadas como neumonías), las bacteriemias y las asociadas a cirugía.

Las **neumonías** son las más prevalentes de las infecciones nosocomiales (26%) (3). Son causadas tanto por la biota del enfermo como por microorganismos exógenos, siendo los más comunes *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae*, seguidos por *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (5). Los patógenos colonizan el estómago, las vías respiratorias superiores y los bronquios y causan infección de los pulmones. Los pacientes de más riesgo son los sometidos a ventilación mecánica o los que presentan convulsiones o disminución de la consciencia (1,3).

Las **infecciones asociadas a cirugía** son las segundas infecciones nosocomiales tanto en frecuencia como en coste sanitario (19%). El microorganismo causante más común de este tipo de infecciones es *Staphylococcus aureus*, aunque también existen otros como es *Pseudomonas aeruginosa*. Su presencia depende tanto de factores exógenos (aire, instrumental usado, etc) como endógenos (biota y estado del paciente antes y durante la operación: competencia inmune, enfermedades concomitantes) (1,3).

Las **infecciones urinarias** ocupan la tercera posición en cuanto a morbilidad (17% del total de incidencia). Pueden ser causadas por la biota del enfermo (*Escherichia coli* o *Klebsiella pneumoniae*) o estar presentes en el ambiente (*Pseudomonas aeruginosa*), y están relacionadas en su mayoría con sondas vesicales de uso permanente (1,3).

Las **bacteriemias** son las menos comunes de las cuatro (14%), pero dependiendo del tipo de microorganismo causante pueden tener asociada una elevada letalidad. Los patógenos implicados son, generalmente, miembros de la biota cutánea, tanto permanente como transitoria, siendo los más habituales los Estafilococos coagulasa negativa, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Escherichia coli*. Suelen estar asociadas a implantación de catéteres, dispositivos intravasculares, etc (1,3).

3 Dificultad en cuanto al control y tratamiento eficaz de las infecciones nosocomiales

Con objeto de conocer los aspectos más relevantes en la problemática asociada a las infecciones nosocomiales, se ha llevado a cabo la consulta de uno de los artículos de la OMS en el cual se trata, entre otros, este tema.

La problemática de estas infecciones se centra principalmente en el control y en el tratamiento eficaz de las mismas.

El control del brote por parte del hospital engloba tres medidas primordiales, que son la detección de reservorios (pacientes infectados y/o fómites), detención de la transmisión (lavado de manos, aislamiento de infectados o de personas susceptibles, desinfección del ambiente) y modificación del riesgo para el huésped (control del uso de antibióticos para evitar en lo posible la creación de resistencias mediante distintas técnicas como la administración en rotación, la restricción de un determinado tratamiento o el uso discontinuado de un antimicrobiano) (1).

En cuanto al tratamiento, el gran problema a la hora de administrar un procedimiento eficaz contra este tipo de infecciones es el alto grado de resistencia que muchos de los microorganismos causantes poseen ante un amplio rango de antimicrobianos. Esta capacidad que actualmente poseen, en mayor o menor medida, muchas bacterias es consecuencia del uso excesivo de los antibióticos, del mal diagnóstico o de errores de prescripción entre otras causas, que generan mecanismos de resistencia que se suman a las resistencias intrínsecas propias de este tipo de microorganismos (1). Por tanto, el principal problema con las infecciones nosocomiales es su resistencia a los antibióticos, por lo que la mejor estrategia a seguir es evitar en la medida de lo posible que se produzca la infección.

4 Cualidades que hacen de *Pseudomonas aeruginosa* un microorganismo patógeno tan importante

Con objeto de conocer las características por las cuales *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno tan relevante, se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de distintos artículos científicos de consulta on-line y de diferentes libros sobre microbiología de la facultad de Farmacia, encontrando información sobre sus características generales, sus requerimientos nutricionales, sus factores de virulencia y sus infecciones asociadas más frecuentes.

Pseudomonas aeruginosa es uno de los patógenos nosocomiales más prevalentes del entorno hospitalario español, ocupando el segundo lugar en cuanto a frecuencia de aislamiento con un 11,2%, tras *Escherichia coli* (15,2%) (4). Asimismo, es también un patógeno potencialmente oportunista. Es un bacilo Gram negativo, oxidasa positivo, no-fermentador de la glucosa (6), con una gran movilidad gracias a sus fimbrias, pilis sexuales y su flagelo polar. Existen dos tipos de cepas en función del exopolisacárido que secreten: las no mucoides y las mucoides (7,8).

Este microorganismo presenta tres características clave para su patogenicidad: es versátil, es decir, es capaz de adaptarse fácil y rápidamente a cambios en el medio; es cosmopolita, capaz de vivir en múltiples medios; y es resistente, tanto a factores medioambientales como a antimicrobianos (7,8).

La versatilidad del patógeno radica en que posee unos requerimientos nutricionales muy sencillos, gracias a los cuales su cultivo es fácil en los medios comunes como son el agar sangre y el agar MacConkey en condiciones aeróbicas. Algunas de ellas presentan las llamadas placas autolíticas y betahemólisis en agar sangre (7,8). Otra característica de estos cultivos es la producción de piocianina, de color azul, y fluoresceína (o pioverdina), de color amarillo (7), cuya combinación dota al medio de una coloración verdosa. Además, dichos cultivos desprenden un olor dulzón característico debido a la síntesis de 2-aminocetofenona (7,8).

En *Pseudomonas aeruginosa*, la estructura que actúa como determinante antigénico es un lipopolisacárido constituido por el polisacárido O unido al lípido A por un oligosacárido. El polisacárido O tiene una gran heterogenicidad serológica, siendo los serogrupos más comúnmente aislados el O6, el O11 y, más raramente, el O12 (7,8).

4.1 Requerimientos nutricionales: bacteria cosmopolita

Pseudomonas aeruginosa posee unos requerimientos nutricionales sencillos, de ahí su amplia distribución en el ambiente. Es un patógeno aerobio y quimiorganotrofo, es decir, capaz de usar muchos compuestos orgánicos como fuentes de carbono y nitrógeno, e incluso a veces capaz de crecer en el agua destilada usando los restos de nutrientes (7,8). Además, es capaz de sobrevivir en poblaciones de baja densidad poblacional en un rango de temperatura entre los 4 y los 42°C (9). Estas características lo convierten en un microorganismo ubicuo, que puede habitar en los suelos en la materia orgánica en descomposición, en la vegetación y en los ambientes acuosos (incluso en ambientes acuosos inanimados). También puede colonizar a animales, desde gusanos y moscas de las plantas hasta mamíferos, incluyendo el ser humano, dónde *Pseudomonas aeruginosa* puede estar formando parte de la biota intestinal (7,8).

4.2 Factores de virulencia de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa tiene una elevada capacidad infecciosa gracias a los múltiples factores de virulencia que expresa, que le permiten mejorar y prolongar su adherencia a distintas superficies celulares y, por tanto, aumentar el tiempo de contacto con el tejido a infectar, transmitir toxinas directamente al citosol de la célula hospedadora, quelar el Fe^{3+} para adaptar el medio a sus requerimientos nutricionales o comunicarse con otras células bacterianas, entre otras funciones. Algunos de los factores de virulencia más relevantes de este patógeno son:

Pigmentos: piocianina y fluoresceína o pioverdina:

Piocianina (PYO): pigmento azul, hidrosoluble y no fluorescente. Su contribución al proceso infeccioso se debe a que es un componente redox que atraviesa las membranas celulares oxidando los nucleótidos como el NADPH y generando ROS (especies reactivas del oxígeno), que someten a la célula a estrés oxidativo. Un ejemplo son las células del epitelio respiratorio, las cuales sufren una disminución de su capacidad de cicatrización y de expulsión de las bacterias inhaladas y un aumento de la producción de mucus. Las ROS inducen la síntesis de los genes MUC2 y MUC5AC en la célula hospedadora, que regulan la producción de este mucus, aumentándola y obstruyendo las vías respiratorias y favoreciendo la infección. A largo plazo, estas ROS producen la activación del factor NF-KB, dando lugar a la transcripción de múltiples genes que codifican distintas moléculas proinflamatorias como son la IL-8 o el LTB4, las cuales actúan como atractores de neutrófilos, los que, en elevadas concentraciones, dañan el epitelio respiratorio (10).

Fluoresceína o pioverdina: pigmento de color amarillo, hidrosoluble y fluorescente. Es un sideróforo constituido por una cadena peptídica variable y un cromóforo. Tiene la capacidad de quelar al Fe^{3+} , metal importante nutricionalmente para *P. aeruginosa*. Posee una alta afinidad por este metal, siendo capaz de desplazarlo de su unión a la transferrina. Su contribución a la infección se debe a que el Fe^{3+} está presente en muy bajas concentraciones en los medios en los que crece *Pseudomonas aeruginosa*, como son los medios oxigenados, por ello lo quela, para poder aprovecharlo (11).

Sistema de Secreción Tipo III: complejo macromolecular constituido por el Sistema de Secreción o *Needle Complex* (“forma de aguja”), el Sistema de Traslocación y las toxinas efectoras. Su papel en la infección es el de transmitir toxinas desde la bacteria hasta el citosol de la célula hospedadora. El *Needle Complex* está formado por el cuerpo basal y el inyector. El primero es intracelular y comprende las membranas externas e internas de la bacteria y el peptidoglucano. En la membrana externa tiene secretinas (PscC) que forman poros en la dicha membrana. Este cuerpo basal lleva las toxinas efectoras desde el citosol bacteriano hasta el inyector, un sistema con forma de aguja hueca que transporta las toxinas hasta el Sistema de Traslocación, el cual forma un poro en la membrana de la célula hospedadora gracias a las proteínas PopB, PopD y PcrV, insertándose y transmitiendo las toxinas directamente al citosol de la misma (12).

Toxinas efectoras: exotoxinas A, S y T:

Exotoxina A: mono-ADP-ribosiltransferasa que afecta a la síntesis celular de proteínas mediante la catalización de la ADP ribosilación del factor 2 de elongación eucariótico. Es liberada como proenzima, y pasa a la forma completamente activa mediante proteólisis por la endoproteasa furina, entrando en la célula hospedadora por endocitosis. Su DL50 en ratones es de 0,5 μ g, es decir, esa es la concentración de toxina necesaria para matar a la mitad de la muestra (13).

Exotoxinas S y T: poseen un dominio GAP y un dominio ADPRT. El GAP las dota a ambas de la capacidad de inactivar a las GTPasas Rho, al Rac y al Cdc42, causando la desorganización del esqueleto de actina y provocando la fagocitosis de la célula. El dominio ADPRT tiene actividad ADP ribosilasa. En la ExoT coopera con el GAP para la desorganización del esqueleto de actina, retrasa la curación de heridas y provoca la apoptosis celular. En la ExoS también desorganiza el esqueleto actínico, inhibe la síntesis de ADN e induce la apoptosis (12).

Biofilms: estructura simple constituida por una matriz polimérica extracelular formada tanto por homo como por heteropolisacáridos, siendo éstos el ácido algínico o alginato en las cepas mucoides y los exopolisacáridos Psl (principal azúcar la manosa) y Pel (principal azúcar la glucosa) en las no mucoides. Su formación consta de tres procesos: adhesión, agregación celular y secreción de la matriz polisacáridica (14).

La adhesión se lleva a cabo mediante el pili tipo IV, constituido por una subunidad proteica o PilA y una secretina o PilQ que secreta el PilA fuera de la célula para que éste pueda formar un filamento polimérico fimbrial y posibilitar la adhesión a la superficie. PilA y PilQ son derivados de la prepilinas PilY1 y PilY2, las cuales participan en el ensamblaje y en la biosíntesis fimbrial (PilY1 y PilY2 respectivamente). En combinación con el pili tipo IV se encuentran el lipopolisacárido A, que mejora la adherencia a superficies hidrófobas, y el B, que mejora la adherencia a las hidrófilas. También participan en este primer proceso las lectinas PA-IL y PA-IIL, las cuales se encuentran en la membrana exterior del biofilm y se unen a residuos de galactosa (PA-IL) y a monosacáridos (PA-IIL) aumentando la adhesión (14).

Una vez llevado a cabo este proceso, se ha de producir la acumulación y la maduración del biofilm bacteriano, procesos marcados por la secreción de la sustancia polimérica extracelular. Las cepas no mucoides secretan los exopolisacáridos Psl y Pel, cuya síntesis está regulada por los genes *pslA-O* y *pelA-G* respectivamente. La maduración del biofilm y la producción de los exopolisacáridos dependen entre otras cosas del segundo mensajero di-GMP_c, cuyo aumento de concentración produce un incremento de la adhesión y de la acumulación, y del ADN extracelular, que compensa la carencia de alginato, sobretodo en los biofilms no maduros, estabilizándolos. En cambio, las cepas mucoides secretan el ácido algínico o alginato, un polisacárido cuya síntesis está regulada por los genes *algA*, *algC* y *algD*, los cuales codifican enzimas involucradas en la síntesis del precursor del alginato, el GDP-ácido manurónico, que finalmente da lugar al polisacárido (14).

Los biofilms permiten la adhesión de las colonias bacterianas a las superficies celulares dónde se va a producir la infección, favoreciendo la colonización. Además, constituye la resistencia intrínseca de las bacterias, protegiéndolas de los antimicrobianos y favoreciendo la permanencia de dicha infección. Aparte de las superficies celulares, los biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* tienen una

elevada afinidad por el plástico, tal y como se ha demostrado en los estudios “*in vitro*”. Esta característica permite al patógeno crecer en instrumental médico tal como catéteres, sondas y demás, favoreciendo el desarrollo de la infección nosocomial (14).

4.3 Quorum sensing (QS)

Proceso de comunicación intercelular que permite a las bacterias compartir información acerca de la densidad de células de la población y adaptar la expresión de genes que sintetizan factores de virulencia acordeamente. Más del 10% del genoma de *Pseudomonas aeruginosa* está controlado por el QS (15).

Pseudomonas aeruginosa tiene tres sistemas de QS, dos del tipo LuxI/LuxR y otro de tipo no LuxI/LuxR o PQS (*Pseudomonas Quinilone Signal*). En el primero, el LasI, un homólogo del LuxI, sintetiza el autoinductor 3-oxo-C12-homoserin lactona (3OC12HSL), el cual se une al LasR, un homólogo citoplasmático del LuxR, activando la transcripción de genes que codifican factores de virulencia como elastasas, proteasas y la exotoxina A, además de activar la transcripción del *lasI*, que da lugar al LasI. El segundo sistema QS es el resultado de otra de las dianas del complejo LasR-3OC12HSL, el gen *rhII*, un segundo homólogo del *luxI* que da lugar al RhlI. Éste sintetiza a otro autoinductor, el butanoil homoserin lactona (C4HSL). El autoinductor se une al RhlR, un segundo homólogo del LuxR, activando la transcripción de más genes que codifican factores de virulencia como son más elastasas, proteasas, piocianina y sideróforos (pioverdina), además de activar también al gen *rhII*, que sintetiza el RhlI. El tercer sistema se basa en la PQS, una 2-heptil-3-hidroxi-4-quinolona sintetizada a partir de genes (*pqsABCDH*) regulados por los dos sistemas anteriores. La PQS se une al PqsR, activando la síntesis de más PQS y de más factores de virulencia como son elastasas, proteasas, lectinas, piocianina, ramnolípidos, toxinas, etc. (15).

El sistema QS de *Pseudomonas aeruginosa* participa también en la formación del biofilm a través de la activación de la síntesis de los factores de virulencia anteriores. La regulación de la síntesis de ramnolípidos o de sideróforos entre otros contribuye a dicha formación (15).

En definitiva, el QS es un sistema de comunicación intercelular cuyo papel en el proceso infeccioso consiste en la participación entre otros del mantenimiento de las colonias, la regulación de la síntesis de factores de virulencia como exoenzimas y metabolitos, así como la formación del biofilm y el consiguiente aumento de la resistencia a antimicrobianos (14).

4.4 Principales patologías infecciosas causadas por *Pseudomonas aeruginosa*

Las patologías infecciosas causadas por *Pseudomonas aeruginosa* pueden dividirse en infecciones predominantemente nosocomiales, y por lo tanto contraídas en el entorno hospitalario, e infecciones contraídas en otros medios. Las más importantes de ambos grupos son:

Infecciones nosocomiales

Infecciones pulmonares (neumonías): localizadas en las vías respiratorias inferiores. Su gravedad varía desde una colonización asintomática hasta una bronconeumonía necrotizante grave (8). La capacidad de *P. aeruginosa* para formar biofilms gracias, entre otras cosas, a la comunicación entre las bacterias (*quorum sensing*) hace que sea común el desarrollo de fibrosis quística, una infección respiratoria crónica típica de los pacientes con este patógeno. Está caracterizada por inflamación de las vías aéreas, alteración de la producción de mucus y disminución del aclaramiento ciliar. Es una enfermedad que tiende a aparecer de forma repetida, acelerando la disminución de la función pulmonar y facilitando la aparición de infecciones como son las neumonías (16).

Infecciones urinarias: origen predominantemente nosocomial, apareciendo con frecuencia en pacientes sondados (8).

Bacteriemias: ocurren con frecuencia en diabéticos neutropénicos y quemados entre otros, iniciándose en infecciones respiratorias, urinarias, de piel y tejidos blandos (8).

Infecciones adquiridas fuera del hospital

Cutáneas: pueden darse por colonización de quemaduras (si se desarrolla en la unidad de quemados del hospital entraría a formar parte de las infecciones nosocomiales también), donde la falta de respuesta por parte de los neutrófilos lleva a una bacteriemia. También se puede producir una foliculitis por inmersión en agua contaminada, infecciones en individuos con acné o muy expuestos al agua (8).

Infecciones de oído: hay tres importantes: el oído de nadador (asociada a la natación), la otitis media crónica y la otitis externa maligna, infección que sufren los diabéticos y los ancianos mayormente y que puede invadir los tejidos subyacentes, producir daño en los pares craneales y los huesos y hacer peligrar la vida (8).

Infecciones oculares: se inician con daño corneal seguido de contacto con agua contaminada, lo que da lugar a una úlcera corneal que puede conllevar la pérdida del ojo (8).

Endocarditis: asociadas con drogodependientes por el material con el que preparan la droga, que puede estar contaminado por agua, dando lugar en muchos casos a una afectación de la válvula tricúspide (8).

5 Dónde puede encontrarse *Pseudomonas aeruginosa* en el hospital, qué infecciones provoca y a qué pacientes afecta

Con objeto de conocer en qué zonas del hospital puede encontrarse *Pseudomonas aeruginosa*, qué infecciones produce más frecuentemente y a quién se las produce, se han consultado distintos artículos científicos on-line y libros sobre microbiología de la facultad de Farmacia.

5.1 Dónde puede encontrarse en el hospital

En el ambiente hospitalario *Pseudomonas aeruginosa* puede crecer en ambientes húmedos como son la comida, las pilas, los baños e incluso en soluciones desinfectantes. A veces crece incluso en el agua destilada (6). Además, gracias a su capacidad de formar biofilms y a su elevada afinidad por el material plástico, puede crecer incluso en el instrumental médico como son los equipos de diálisis, las sondas, los catéteres o los sistemas de ventilación (9).

5.2 Tipos de infecciones y tipos de pacientes susceptibles

Pseudomonas aeruginosa, como patógeno nosocomial, causa tres tipos principales de infecciones: neumonías, infecciones del tracto urinario y bacteriemias. Cada una de ellas tiene un grupo de pacientes más susceptibles de padecerlas: la neumonía es mucho más prevalente en individuos con sistemas de ventilación mecánica, las infecciones del tracto urinario están más asociadas a pacientes con sondaje uretral y las bacteriemias a pacientes con catéter venoso central. Según el estudio de Olaechea *et al*, revisión bibliográfica de los datos recogidos por el ENVIN-UCI (uno de los sistemas de vigilancia de las infecciones nosocomiales en España), *Pseudomonas aeruginosa* ocupa el primer puesto en cuanto a microorganismos aislados en individuos con neumonía asociada a ventilación mecánica con un 17,8% de los aislamientos, seguido de *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina con un 12,3%. En infección urinaria asociada a sondaje uretral representa el 12,8%, ocupando la tercera posición tras *Escherichia coli* (28,3%) y *Candida albicans* (13,2%). En cuanto a las bacteriemias asociadas a catéter venoso central está en quinto lugar con un 5,5%, tras *Staphylococcus epidermidis* (24,1%), *Staphylococcus coagulasa negativa* (17,1%), *Enterococcus spp.* (10,5%) y *Candida spp.* (5,6%) (17).

6 Importancia de *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial en el entorno hospitalario español

Con objeto de conocer la importancia de *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial en los hospitales españoles, se ha realizado una búsqueda bibliográfica en artículos científicos de consulta on-line, así como una revisión del informe EPINE-EPPS del año 2014, encontrándose los datos de prevalencia, incidencia y mortalidad que definen dicha importancia.

6.1 Prevalencia e incidencia en el entorno hospitalario español

La prevalencia de *Pseudomonas aeruginosa* se calcula de media en un 11,2% respecto al total de patógenos nosocomiales, según el informe del EPINE del año 2014, ocupando el segundo lugar de los patógenos nosocomiales más aislados tras *E.coli* (15,2%) (4).

En cuanto a la incidencia, el alargamiento de la estancia hospitalaria es uno de los parámetros usados para medir la morbilidad. *Pseudomonas aeruginosa* está asociada a una prolongación de dicha estancia, tal y como lo demuestran en su estudio Micek *et al*, estudio de cohortes retrospectivas de 6 años de duración basado en las historias médicas de los pacientes y en la base de

datos de farmacia del hospital Barnes-Jewish, los cuales exponen que la estancia media de un individuo aumenta de $23,9 \pm 25,2$ días a $41,4 \pm 47,4$ días (18).

6.2 Mortalidad en el entorno hospitalario español

La mortalidad se mide por las complicaciones que se producen, que dependen del tipo de infección. En las respiratorias se puede producir una bronconeumonía bilateral difusa con formación de microabscesos y necrosis de los tejidos y que tiene una mortalidad de hasta un 70% (8). En las bacteriemias se puede producir una enfermedad hematológica, neutropenia, trombocitopenia, disminución de los niveles del hematocrito, una bacteriemia polimicrobiana y, finalmente, un shock séptico, que da lugar a lo que se conoce como “mortalidad en 30 días”, con un tasa de mortalidad de un 20,9% (19). En cuanto a las infecciones urinarias, se pueden producir distintas complicaciones que pueden llegar a ocasionar la muerte del paciente hasta en un 20% de los casos (8). Además, el hecho de que muchas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* sean multirresistentes a los antimicrobianos aumenta el riesgo de mortalidad en un 2,3% (OR=2,3) en comparación con el grupo control, según el estudio de Aloush *et al* (estudio de cohortes retrospectivas de 10 meses de duración comparando individuos con infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* y sin ella) (18).

Además, estas cepas multirresistentes producen incremento de otros parámetros, como demuestran en su estudio Aloush *et al*, como son el riesgo de cirugía para eliminar la fuente de la infección cuando no queda otra alternativa en un 2,5% (OR=2,5) y los procedimientos invasivos en un 5,4% (OR=5,4), así como el gasto sanitario en aproximadamente 31.900 dólares según el estudio de Harris *et al* (estudio de serie de casos de 22 pacientes con *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente) (18).

7 Funciones de los comités especialistas en las infecciones nosocomiales

Con objeto de conocer las funciones de los comités especializados en infecciones nosocomiales en España se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de un artículo dedicado a los sistemas de vigilancia y control de estas infecciones.

Un sistema de vigilancia consiste en un procedimiento de recogida, proceso, análisis y presentación de los resultados de frecuencia y distribución de un proceso patológico específico, en este caso de las infecciones nosocomiales. En España, existen cuatro sistemas de vigilancia de infecciones nosocomiales, cada uno de ellos cubriendo una función específica, ya sea recoger medidas de prevalencia, estudiar la incidencia para evaluar la calidad sanitaria o detectar epidemias, valorar cambios en las resistencias a antibióticos, etc. Todos ellos llevan a cabo sus estudios en base a la definiciones y directrices implantadas por el CDC (*Centers for Disease Control*) (20). Estos cuatro sistemas son EPINE, VICONOS, PREVINE y ENVIN-UCI.

EPINE o Estudio de Prevalencia de Infecciones Nosocomiales en España: se encarga de realizar una vez al año una encuesta transversal en los hospitales de enfermos agudos de España. Tiene el objetivo de medir la prevalencia de infecciones nosocomiales y de infectados globalmente y por localización de la infección, y comparar los resultados entre los distintos centros y entre las diferentes Comunidades Autónomas y ver la progresión a lo largo de los años (20). Como ejemplo de su labor están los datos de los patógenos nosocomiales más prevalentes en España dónde, como ya se mencionó, *Pseudomonas aeruginosa* ocupa el segundo puesto con un 11,2% (4).

VICONOS: sistema prospectivo de vigilancia epidemiológica basado en la recogida de datos de incidencia y dirigido fundamentalmente a servicios de cirugía y unidades de cuidados intensivos. Tiene como finalidad la vigilancia y control de la infección nosocomial por objetivos, entre los que se encuentran el control de la profilaxis preoperatoria, actuar de instrumento de evaluación para los programas de mejora de la calidad, la detección de epidemias a tiempo real o el estudio de los factores de riesgo de las infecciones entre otros (20).

PREVINE o Programa Específico para la Vigilancia de las Infecciones Nosocomiales en España: sistema que realiza un seguimiento prospectivo de los pacientes para determinar tasas de incidencia en los hospitales participantes, conseguir un protocolo común que permita comparar dichas tasas y obtener indicadores para gestión de calidad, así como una estimación de la incidencia de las infecciones nosocomiales en España mediante la agregación de los datos obtenidos en los diferentes hospitales (20).

ENVIN-UCI o Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva: vigila, calcula y compara las tasas de infecciones nosocomiales en la UCI de los distintos hospitales de España para hacer una valoración de la calidad asistencial y de las medidas empleadas para el control de estas infecciones, así como para determinar cambios en la sensibilidad-resistencia de los agentes patógenos en dichas unidades de cuidados intensivos (20).

8 Características por las cuales muchas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* son multirresistentes a los antimicrobianos

Con objeto de conocer qué características convierten a muchas de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* en resistentes a gran parte de los antimicrobianos se ha llevado a cabo una revisión de distintos artículos científicos de consulta on-line, así como una tesis doctoral sobre el tema, hallándose qué mecanismos son responsables de esta resistencia y qué se considera una cepa MDR.

8.1 Mecanismos de resistencia a antimicrobianos

Los mecanismos de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* son, en parte, responsables de la gravedad de las infecciones que causan y la dificultad para su tratamiento eficaz. Existen dos tipos de resistencia, la resistencia intrínseca y la extrínseca.

Resistencia intrínseca: biofilms

Constituyen la defensa intrínseca de *Pseudomonas aeruginosa* frente a los antimicrobianos, no sólo por separar físicamente el antibiótico de la bacteria, sino porque en los biofilms el patógeno expresa una serie de genes que codifican distintos sistemas de resistencia. Los tres genes más relevantes son el *ndvB*, el PA1875-1877 y el *tssCI*. El *ndvB* codifica una glucosiltransferasa implicada en la síntesis de glucanos cíclicos- β -1,3 capaces de unirse a los antimicrobianos y secuestrarlos, impidiendo su unión a sus dianas celulares. El PA1875-1877 forma parte de un operón que codifica una bomba que expulsa a los antibióticos de las células que están en el interior del biofilm. Por último, el *tssCI* es un componente de un sistema de secreción implicado también en la resistencia. En los biofilms se produce además la transferencia horizontal de plásmidos que dotan a la bacteria de sistemas de resistencia, como son por ejemplo las β -lactamasas, aumentando progresivamente el porcentaje de individuos de la población resistentes (21).

Resistencia extrínseca: β -lactamasas y otros mecanismos de resistencia extrínsecos

Enzimas β -lactamasas: poseen la capacidad de hidrolizar el anillo betalactámico de los antibióticos β -lactámicos, inactivándolos a un derivado ácido antes de que puedan unirse a su diana, el receptor PBP-1, proteína responsable de la formación de la pared celular. En el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, estas β -lactamasas son inducibles frente a la presencia del antibiótico y no son sustrato de muchos de los inhibidores. Pueden estar cromosómicamente codificadas (OXA- β -lactamasas) o transmitirse entre bacterias por plásmidos (ESBL). Se diferencian tres tipos en función de su espectro de acción, cada uno de ellos codificado por una serie de genes *bla* específicos (22). El primer tipo son las MBL o metalo- β -lactamasas, codificadas por genes como *bla_{IMP}*, resistentes a los inhibidores y activos frente a todos los β -lactámicos con excepción del aztreonam. El segundo son las ESBL o β -lactamasas de espectro extendido, codificadas por genes como *bla_{TEM-1}*, sensibles al ácido clavulánico y actúan sobre monobactams y cefalosporinas. El tercer tipo son las OXA- β -lactamasas, codificadas por genes como *bla_{OXA-48}* e hidrolizan a las oxacilinas y cloxacilinas (23).

Transportadores RND: sistemas de flujo de salida sobreexpresados en *Pseudomonas aeruginosa*, que expulsan a los antibióticos fuera del microorganismo impidiendo que lleven a cabo su función. En *P. aeruginosa* hay diez sistemas distintos, cada uno de ellos con una especificidad determinada: MexAB-OprM, Mex C1-OprJ, Mex EF-OprN, Mex XY-OprM, Mex JK-OprM/OprH, mex GHI-OpmD, Mex VW-OprM, Mex PQ-OpmE, Mex MN-OprM y Tri ABC-OpmH. El más importante, y el único que se expresa constitutivamente, es el Mex AB-OprM, que produce resistencia a macrólidos, carbapenems, cloranfenicol, trimetoprim, aminoglucósidos, sulfonamidas,

fluoroquinolonas, tetraciclinas y algunos β -lactámicos (sólidos o con inhibidores de β -lactamasas) (24,18).

Porina OprD: su pérdida está asociada con resistencia a imipenem y disminución de la susceptibilidad a meropenem (18).

Metilasas: los genes rmtA, rmtB, rmtC, rmtD, armA y npmA codifican seis metilasas que metilan el sitio A del ARN_r 16S impidiendo la unión de todos los aminoglucósidos conocidos a su diana (18).

Mutaciones en la ADN girasa y topoisomerasa IV: mutaciones en los genes gyrA y parC que codifican estas enzimas provocan resistencia a las fluoroquinolonas (18).

8.2 *Pseudomonas aeruginosa* como patógeno multirresistente (MDR)

Muchas de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* pertenecen a las llamadas MDR o *Multi-Drug Resistance*, caracterizadas por tener diversos mecanismos de resistencia a los antimicrobianos.

Aunque se han propuesto multitud de definiciones sobre qué se considera una cepa MDR, la más usada es la presencia de resistencia demostrada ante antibióticos de tres o más familias de antipseudomónicos, entre los que se incluyen las penicilinas antipseudomónicas (piperacilina), cefalosporinas (ceftazidima, cefepime), carbapenems (imipenem, meropenem, doripenem), fluoroquinolonas (ciprofloxacino), aminoglucósidos (gentamicina, tobramicina, amikacina), monobactamas (aztreonam) y polimixinas (colistina). Cuando una cepa muestra alguno de los mecanismos nombrados se convierte en resistente al grupo de antimicrobianos a los cuales afecte dicho mecanismo. Si una cepa expresa los suficientes de estos sistemas como para ser “inmune” a tres o más familias de antipseudomónicos, entonces se considera que es una cepa MDR (24).

Ésta característica provoca un incremento en los valores de morbilidad, mortalidad y otros parámetros, como son el riesgo de cirugía, la necesidad de empleo de procedimientos invasivos e incluso el coste sanitario. Viene determinada mayormente por el uso abusivo de una terapia antimicrobiana inapropiada que, no solo no es capaz de neutralizar al patógeno, sino que crea una presión selectiva que tiene como resultado el desarrollo de los mecanismos de resistencia extrínsecos que, sumados a los intrínsecos, dan lugar a las cepas MDR (18).

9 Medidas para el control y tratamiento de *Pseudomonas aeruginosa*

Con objeto de conocer cuáles son las medidas empleadas actualmente tanto para controlar como para tratar las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de distintos artículos científicos de consulta on-line, patentes de tratamientos, varios libros de microbiología de la facultad de Farmacia y la Guía Terapéutica Antimicrobiana “Mensa”.

9.1 Medidas de control

La presencia ubicua de *Pseudomonas aeruginosa* en el medio hospitalario hace imposible la idea de una completa eliminación del patógeno, por lo que las medidas de control deben centrarse en los tres aspectos clave de una infección, es decir, el foco, la vía de transmisión y el paciente:

El foco puede ser un fómite, como son equipos estériles y el utillaje médico, o personas, como ocurre en el caso de una infección endógena provocada tras una operación quirúrgica por ejemplo, en la cual el microorganismo puede pasar de su hábitat natural en el cuerpo a una localización ectópica, causando la infección. Para evitar ésto, se han de tomar medidas como son la esterilización de los fómites y de cualquier elemento que contenga un nivel de humedad propicio para el crecimiento de *P. aeruginosa* o el empleo de una profilaxis preoperatoria. Además, hay que tener cuidado con los antibióticos de amplio espectro, evitando su uso tanto para impedir la aparición de resistencias como para evitar que supriman a la biota microbiana normal, permitiendo el sobrecrecimiento de *P. aeruginosa* y aumentando el riesgo de infección endógena (7,8).

En cuanto a la vía de transmisión, puede ser una transmisión interpersonal o a través de fómites. Son necesarias tanto medidas de aislamiento adecuadas para evitar la contaminación cruzada entre pacientes, personal sanitario y visitantes como medidas de esterilización de los fómites (7,8).

Por último, para proteger al paciente susceptible de la infección, se llevan a cabo medidas como profilaxis antibiótica en caso de riesgo de exposición o aislamiento del paciente si se viese necesario (en situaciones de muy escasa respuesta inmune por ejemplo). Además, como se dijo en el foco, hay que tener cuidado con el uso de los antibióticos de amplio espectro, tanto por la aparición de resistencias como por la supresión de la biota microbiana normal (7,8).

9.2 Tratamiento

Según la Guía Terapéutica Antimicrobiana “Mensa”, el tratamiento frente a *Pseudomonas aeruginosa* ha de llevarse a cabo con ceftazidima, cefepima (cefalosporinas, β -lactámicos), imipenem, meropenem, doripenem (carbapenems, β -lactámicos), aztreonam (monobactama), ciprofloxacino (fluoroquinolona), tobramicina y amikacina (aminoglucósidos) o colisitina (polipéptido tensoactivo). Los β -lactámicos y monobactamas inhiben la síntesis de peptidoglucano, inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana (24,25,26); el ciprofloxacino inhibe a la topoisomerasa IV y a la ADN girasa, inhibiendo la replicación y transcripción del ADN; los aminoglucósidos impiden la transcripción del ADN, impidiendo la síntesis proteica; y la colistina interacciona con los fosfolípidos, alterando la permeabilidad de la membrana bacteriana (24,25,26).

En las cepas MDR, en las bacteriemias se recomienda el uso de un β -lactámico en perfusión continua (doripenem es el más activo) con amikacina o ciprofloxacino. En infecciones respiratorias, aminoglucósidos, aztreonam o colistina inhalados. En las urinarias, ciprofloxacino. Además, el uso

de un β -lactámico con azitromicina es útil en las cepas formadoras de biofilms, que son la mayoría. También, el uso de estos β -lactámicos con inhibidores de estructura 6- β -hidroximetil sulfona, que inhiben al gen bla_{TEM-1} encargado de la síntesis de las ESBL además de unirse covalente e irreversiblemente a estas β -lactamasas impidiendo su acción, es útil en las cepas MDR (27), como es el caso de piperacilina-tazobactam (25).

Otras terapias usadas en algunas ocasiones son, por ejemplo, la combinación de imipenem/ciprofloxacino con ertapenem en cepas no resistentes, consiguiéndose un aumento de la susceptibilidad a los dos primeros, debido a que el uso combinado disminuye su utilización y retrasa la aparición de resistencias (28). También, el empleo de oligómeros de alginato junto con azitromicina, ceftazidima, ciprofloxacino, aztreonam y primaxina potencian el efecto de éstos y aumentan su eficacia en el tratamiento de las cepas MDR (29). Por último, un tratamiento aún en investigación es el uso de glicanos como la fucosa o la glucosa, que desplazan a los glicanos naturales de su unión a las lectinas PA-II y PA-III, disminuyendo la adhesión del biofilm bacteriano (14).

Por tanto, parece que la mejor estrategia a la hora de tratar a una cepa MDR es el uso combinado de antimicrobianos con adyuvantes o con inhibidores, siendo los antibióticos más adecuados para este fin los β -lactámicos, ya sea reforzando su acción con otro antimicrobiano o mejorando su eficacia con un inhibidor de β -lactamasas.

CONCLUSIONES

-Las infecciones nosocomiales en España representan uno de los grandes problemas de salud pública actualmente, tal y como lo demuestran sus valores de prevalencia de 5,6%. Aunque bien es verdad que, año tras año, esta prevalencia va disminuyendo y la edad de aparición aumentando, indicadores de una mejora progresiva en la sanidad. Hay siete patógenos principales que las provocan, siendo *E. Coli* y *P. aeruginosa* los que encabezan la lista. Causan en su mayoría neumonías (26%), infecciones por cirugía (19%), infecciones urinarias (17%) y bacteriemias (14%).

-El control de estas infecciones en el hospital es difícil por las medidas especiales que son necesarias llevar a cabo sobre el foco, la vía de transmisión y el paciente, así como su tratamiento, por el alto nivel de resistencias de muchas de las cepas implicadas.

-*P. aeruginosa* es un patógeno muy importante, tanto en la comunidad como en el hospital. Ésta importancia radica en su versatilidad, su capacidad de ser cosmopolita y su resistencia al medio y a los antimicrobianos. Ésto, sumado a sus sencillos requerimientos nutricionales, sus múltiples factores de virulencia y su capacidad de comunicación intercelular hacen de él un patógeno difícil de tratar, causante de múltiples infecciones tanto dentro como fuera del hospital.

-Como patógeno nosocomial, *P. aeruginosa* puede estar presente en medio húmedos y, gracias a los biofilms, también en el utillaje médico. Ésto último es lo que da lugar a sus tres infecciones nosocomiales principales: neumonías (asociadas a ventilación mecánica), urinarias (asociadas a sondaje uretral) y bacteriemias (asociadas a catéter venoso central).

-A día de hoy, *P.aeruginosa* es el segundo patógeno nosocomial más aislado (11,2%) tras *E. coli* (15,2%). Es causante del alargamiento de la estancia hospitalaria en una media de unos 20 días y responsable de distintas complicaciones que pueden llegar a causar la muerte hasta en un 70% de los casos, como ocurre en las neumonías. Su control es responsabilidad de cuatro sistemas (EPINE, VICONOS, PREVINE, ENVIN-UCI) cada uno de ellos con una función determinada.

-El problema a la hora de tratar a *P. aeruginosa* es que muchas de las cepas poseen distintos sistemas de resistencia que convierten a algunas de ellas en multirresistentes a los antimicrobianos (MDR). Para su control, sanidad se centra en medidas destinadas a actuar sobre el foco, medidas para la vía de transmisión y medidas para el paciente. Y para el tratamiento se usan distintas estrategias como son el uso de β -lactámicos o de colistina por ejemplo para las cepas normales, y la combinación de antibióticos entre sí, con inhibidores de sus factores de resistencia o con otros coadyuvantes para las cepas MDR.

BIBLIOGRAFÍA

- (1).-Ducel, G. Fabry, J. Nicolle, L. Girard, R. Perraud, M. Prüss, A. Savey A. Prevención de las infecciones nosocomiales. Who.int. 2009; 2:70.
- (2).-Bajo Arenas JM, Lailla Vicens JM, Xercavins Montosa J. Vigilancia De La Infección Nosocomial, Indicador De Calidad. En: Kazlauskas S, Zarpardiel I, coordinadores. Fundamentos de Ginecología. 1ª ed. España: Médica Panamericana; 2009. p. 151-171.
- (3).-Pujol M, Limón E. Epidemiología general de las infecciones nosocomiales. Sistemas y programas de vigilancia. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2013; 31(2): 108-113.
- (4).-Informe EPINE-EPPS 2014
- (5).- Thakuria B, Singh P, Agrawal S, Asthana V. Profile of infective microorganisms causing ventilator-associated pneumonia: A clinical study from resource limited intensive care unit. J Anaesthesiol Clin Pharmacol. 2013; 29(3):361-366.
- (6).- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.
- (7).-García-Rodríguez JA, Picazzo JJ. Pseudomonas y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. En: Mosby, editor. Microbiología Médica. Vol1 Microbiología Médica General. 1ª ed. España: Mosby/Doyma Libros, S.A.; 1996. p. 291-306.
- (8).-Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. Pseudomonas y microorganismos relacionados. En: Elsevier, editor. Medical Microbiology. Edición Española. 4ª ed. España: Elsevier España, S.A.; 2003. p. 293-300.
- (9).-Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. Dominio Bacteria: las proteobacterias. En: Ricardo Guerrero, coordinador. Brock, biología de los microorganismos. Edición Española. 12ª ed. España: Pearson Education S.A.; 2009. p. 440-490.

- (10).-Rada B, Leto TL. Pyocyanin effects on respiratory epithelium: relevance in *Pseudomonas aeruginosa* airway infections. *Changes*. 2013; 29(2):997–1003.
- (11).-Cornelis P, Dingemans J. *Pseudomonas aeruginosa* adapts its iron uptake strategies in function of the type of infections. *Front Cell Infect Microbiol*. 2013; 3(75).
- (12).-Galle M, Carpentier I, Beyaert R. Structure and function of the Type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Protein Pept Sci*. 2012; 13(8):831–842.
- (13).-Ramachandran G. Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis: a brief review. *Virulence*. 2014; 5(1):213–218.
- (14).-Laverty G, Gorman S, Gilmore B. Biomolecular Mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* Biofilm Formation. *Pathogens*. 2014; 3(3):596–632.
- (15).-Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(11):1–25.
- (16).-Cullen L, McClean S. Bacterial Adaptation during Chronic Respiratory Infections. *Pathogens*. 2015;4(1):66–89.
- (17).-Olaechea PM, Insausti J, Blanco A, Luque P. Epidemiología e impacto de las infecciones nosocomiales. *Med Intensiva*. 2010; 34(4):256–267.
- (18).-Hirsch EB, Tam VH. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*. 2011; 10(4):441–451.
- (19).-Horino T, Chiba A, Kawano S, Kato T, Sato F, Maruyama Y, et al. Clinical Characteristics and Risk Factors for Mortality in Patients with Bacteremia Caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Intern Med*. 2012; 51(1):59–64.
- (20).-Bermejo B, de Jalón JG, Insausti J. Vigilancia y control de las infecciones nosocomiales: EPINE, VICONOS, PREVINE, ENVIN-UCI. *An Sist Sanit Navar*. 2009; 23(2):37–47.
- (21).-Zhang L, Fritsch M, Hammond L, Landreville R, Slatculescu C, Colavita A, et al. Identification of Genes Involved in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm-Specific Resistance to Antibiotics. *PLoS One*. 2013; 8(4):1–8.
- (22).-Suárez C, Gudiol F. Antibióticos betalactámicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009; 27(2):116–129.
- (23).-Hakemi Vala M, Hallajzadeh M, Hashemi A, Goudarzi H, Tarhani M, Sattarzadeh Tabrizi M, et al. Detection of ambler class A, B and D β -Lactamases among *Pseudomonas Aeruginosa* and *Acinetobacter Baumanni* clinical isolates from burn patients. *Ann Burns Fire Disasters*. 2014; 27(1):8–13.
- (24).-María Milagro Montero. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos. 2012. Tesis Doctoral.
- (25).-Mensa J, Gatell JM, García-Sánchez JE, Letang E, López-Suñé E, Marco F. Tratamiento de las infecciones producidas por microorganismos específicos. En: Escofet Zamora, S.L., editor literario. *Guía de Terapéutica Antimicrobiana 2014*. 24ª ed. España: Antares; 2014. P.223-445.
- (26).-Vademecum.es. España: Vidal Vademecum Spain; 2010 [actualización 31 May 2015; citado 31 May 2015]. Disponible en: <http://www.vademecum.es/>
- (27).-Papp-Wallace KM, Bethel CR, Gootz TD, Shang W, Stroh J, Lau W. Inactivation of a class A and a class C β -lactamase by 6 β -(hydroxymethyl)penicillanic acid sulfone. *Bioch Pharm*. 2012; 83(4):462–471.
- (28).-Sousa D, Castelo-Corral L, Gutiérrez-Urbón JM, Molina F, López-Calviño B, Bou G, et al. Impact of ertapenem use on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* imipenem susceptibility rates: Collateral damage or positive effect on hospital ecology? *J Antimicrob Chemother*. 2013; 68 (8):1917–25.
- (29).-“Oligómeros de alginato para usar para superar la multirresistencia a fármacos en bacterias”. Oficina Española de Patentes y Marcas. Patente nº 2444541. 2013.