



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**INFECCIONES NOSOCOMIALES,  
IMPORTANCIA DE *Pseudomonas aeruginosa*.**

Autor: Claudia Leralta González

Tutor: Rosalía Díez Orejas

Convocatoria: Junio-2017

## Resumen

Las infecciones nosocomiales (IN) son las infecciones que adquieren los pacientes ingresados en un hospital por un motivo distinto al ingreso. En este trabajo se pretende entender cómo un hospital puede ser foco de estas infecciones nosocomiales y como representan un problema sanitario y económico importante en la actualidad. La prevalencia de pacientes afectados por las infecciones nosocomiales en España representa alrededor de un 8%. La mortalidad de estos pacientes alcanza un 20% y el gran impacto económico oscila en 1.000 millones de euros al año. El problema de las infecciones nosocomiales va más allá de nuestro país, tanto es así que en Estados Unidos la magnitud del problema es similar a la de España. Los patógenos capaces de desencadenar las infecciones nosocomiales son numerosos, pero sobre todo destacan *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *S. epidermidis* entre otros, encontrándose ampliamente distribuidos en el entorno sanitario. El tercer patógeno nosocomial más prevalente en España en 2016 fue *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno de gran interés debido a la problemática de su infección, los sistemas de resistencia antibiótica (biofilm, bombas de eflujo, enzimas) y la complejidad del tratamiento. Actualmente el Sistema Sanitario Español tiene muy presente este tipo de infecciones y se han puesto en marcha medidas de prevención y control para disminuir al máximo el número de pacientes afectados por este tipo de infecciones en los hospitales.

## Introducción y Antecedentes

Las infecciones nosocomiales (IN) son una problemática importante y actual del Sistema Sanitario Mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) las define como: *“Una infección contraída en el hospital por un paciente internado por una razón distinta de esa infección. Una infección que se presenta en un paciente internado en un hospital o en otro establecimiento de atención sanitaria en quien la infección no se había manifestado ni estaba en período de incubación en el momento del ingreso. Comprende las infecciones contraídas en el hospital, pero manifestadas después del alta hospitalaria y también las infecciones ocupacionales del personal hospitalario”*(1).

La hospitalización de un paciente conlleva el riesgo de padecer una infección nosocomial sobre todo si el paciente posee ciertas características conocidas como factores de riesgo. Estos factores se dividen en dos tipos dependiendo de su origen:

➤ **Factores de riesgo intrínsecos:** Los factores de riesgo intrínsecos son aquellas cualidades inherentes del paciente y que suponen una mayor probabilidad de padecer una infección nosocomial. La **edad** es un factor de riesgo intrínseco importante, en la última década la edad de los pacientes con IN ha aumentado, en 2012 más del 50% de los pacientes eran mayores de 60 años (2).

Las **patologías previas** del paciente como inmunosupresión y neutropenia, elevan la prevalencia de infección nosocomial a un 12% respecto a pacientes en correcto estado de salud. La existencia de comorbilidades, es decir, patologías secundarias a la patología que se considera principal, como el coma, la hipoalbuminemia, la diabetes también son factores de riesgo intrínseco para una infección nosocomial (2). Los pacientes con más de cuatro comorbilidades, incluida la infección nosocomial, presentan una mortalidad del 61,4% (3).

➤ **Factores de riesgo extrínsecos:** Si los factores son externos al paciente y derivan de la hospitalización se denominan factores de riesgo extrínseco. Los principales factores de riesgo extrínseco se detallan en la Fig.-1 (Prevalencia de pacientes con Infección nosocomial en relación con factores de riesgo) y son la intubación como consecuencia de la ventilación mecánica, el catéter urinario, catéter vascular central, catéter vascular periférico e intervención quirúrgica (2).

En 2008 el mayor porcentaje de prevalencia de pacientes con infecciones nosocomiales se encontraba en pacientes con catéter urinario seguidos de catéter vascular central y en menor medida los pacientes con intubación. Las prevalecias para los años 2012 y 2016 son semejantes, pero se ve un claro aumento en el porcentaje de pacientes con intubación respecto al año 2008 y una disminución de prácticamente los demás factores de riesgo extrínsecos.

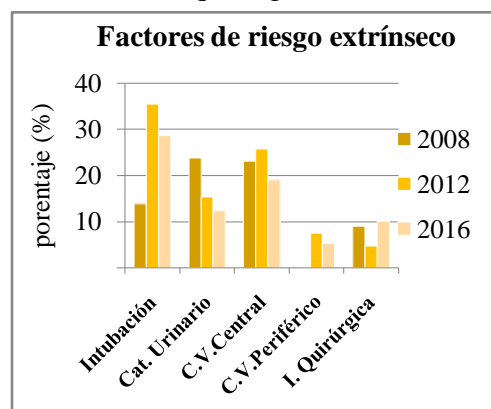


Fig. -1 Prevalencia de pacientes con Infección Nosocomial en relación con factores de riesgo.

Otro factor de riesgo extrínseco que destaca en infecciones nosocomiales es la antibioterapia. El 45% de los pacientes ingresados en hospitales reciben antimicrobianos, esto supone la disminución de la microbiota intestinal del individuo por lo que se generan las condiciones adecuadas para que *Clostridiumdifficile* colonice la superficie intestinal (4). Un 25% de los pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) padecen una infección nosocomial este hecho es debido a que el uso de antimicrobianos es muy superior al resto de unidades del hospital con un 68% de pacientes con antibióticos (5).

### Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es recalcar la importancia del gran problema sanitario que suponen las infecciones nosocomiales y destacar a *Pseudomonas aeruginosa* como uno de los principales patógenos responsables. En concreto los objetivos son:

1. Dimensionar la importancia de las Infecciones Nosocomiales en el entorno hospitalario de España: prevalencia, incidencia y mortalidad.

2. Comparar los aspectos epidemiológicos relevantes en las infecciones nosocomiales y el impacto económico entre España y Estados Unidos.
3. Identificar los principales patógenos nosocomiales en España, así como las infecciones que causan.
4. Explicar las características por las que *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno nosocomial tan relevante: los factores de virulencia, proceso infeccioso y resistencia antibiótica.
5. Estudiar la problemática del tratamiento de *Pseudomonas aeruginosa*.
6. Identificar los comités especialistas en infecciones nosocomiales y las medidas de control de Infecciones nosocomiales.

### **Metodología**

Revisión bibliográfica de revistas y artículos científicos a través de plataformas on-line como Pubmed y Google académico, además de consulta en distintos libros sobre microbiología procedentes de la biblioteca de la facultad de Farmacia de la UCM, el vademécum virtual y organismos oficiales como la OMS y el CDC.

### **Resultados y Discusión**

#### **1. Importancia de las infecciones nosocomiales en España: prevalencia, incidencia y mortalidad.**

De acuerdo al primer objetivo del trabajo se van a analizar los datos epidemiológicos de infecciones nosocomiales en España para dimensionar su importancia en prevalencia, incidencia, mortalidad e impacto económico en un rango temporal del 2008 al 2016.

La prevalencia de pacientes con infecciones nosocomiales en España es de media un 8% en los últimos ocho años, es decir, 8 de cada 100 pacientes ingresados en un hospital de España padecen una infección nosocomial. Durante este periodo de ocho años no se aprecia una disminución de la incidencia de las infecciones nosocomiales ya que el porcentaje de pacientes afectados se ha mantenido (2).

Cuando se trata de evaluar la gravedad de las infecciones nosocomiales se recurre a la puntuación McCabe que clasifica estas infecciones nosocomiales en enfermedad no fatal y enfermedad fatal. Con esta escala se determina que en el periodo de 2012 a 2016 la mortalidad de las infecciones nosocomiales supuso aproximadamente un 20%, lo equivalente a enfermedad fatal según la escala McCabe. Dentro de este porcentaje se encuentra la mortalidad temprana (antes de un mes) que

representa casi un tercio de la mortalidad en el año 2016 (2). Además es importante destacar que de media las infecciones nosocomiales alargan la estancia hospitalaria de 4 a 9 días (6).

En definitiva, el riesgo de mortalidad de un paciente con infección nosocomial aumenta 1,5 veces respecto a un paciente ingresado en un hospital libre de IN. Si al mantenimiento de la prevalencia y al notable porcentaje de mortalidad se le suma que las infecciones nosocomiales se encuentran entre las diez primeras causas de muerte en España en los últimos diez años, se hace notable el grave problema que representan en el ámbito sanitario (6).

## 2. Comparativa de infecciones nosocomiales en España y Estados Unidos. Aspectos epidemiológicos e impacto económico.

Con referencia al segundo objetivo sobre la relevancia de las infecciones nosocomiales a nivel internacional, se va a comparar España con Estados Unidos en el periodo de 2008 a 2016, tomando a este último como referencia de país desarrollado y la mayor potencia mundial.

En el estudio de la prevalencia se ha visto que ambos países presentan una prevalencia de infección nosocomial próxima al 8% en la última década. Durante el periodo estudiado las cifras de prevalencia se asemejan y se han mantenido constantes tanto en España como en EEUU, por lo que el porcentaje de pacientes afectados por IN en los hospitales de España y EEUU son semejantes (3).

Al comparar un aspecto tan relevante como es la mortalidad, se observan cifras semejantes en ambos países. Un 20% de los pacientes mueren a causa de IN en ambos países siendo el riesgo de mortalidad altamente probable en el caso de la neumonía nosocomial asociada a ventilación mecánica (NAVIM) y casos de sepsis grave (7).

Por último, el impacto económico de las infecciones nosocomiales en España asciende a 1.000 millones de euros al año, correspondiente a los medios para el diagnóstico, tratamiento y personal sanitario que varía en función del tipo de infección nosocomial. La comparativa del impacto económico entre España y Estados Unidos es útil para dimensionar las cifras invertidas en las infecciones nosocomiales. En la Fig.-2 (Comparación gasto en infecciones nosocomiales en España y EEUU. 2013), se detallan las cifras de cada país e infección, siendo estas cifras semejantes en ambos países. La infección más cara es la sepsis, cuesta unos 50.000€ por episodio y paciente, ya que es la más grave y requiere en general más tiempo de hospitalización, tratamiento y atención sanitaria (8).

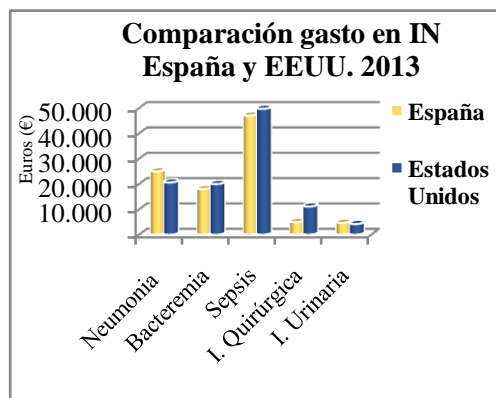


Fig.- 2 Comparación gasto en infecciones nosocomiales en España y EEUU.

La neumonía nosocomial y la bacteriemia requieren unos 20.000€ por su tratamiento más complejo, sin embargo, las infecciones quirúrgicas y urinarias no superan los 10.000€ por episodio y paciente, ya que suelen ser más localizadas y por tanto más sencillas a la hora de su tratamiento (9,10).

### 3. Principales patógenos nosocomiales

Una vez definida la relevancia de las infecciones nosocomiales en el entorno hospitalario se van a exponer los diferentes patógenos nosocomiales más prevalentes en España con el objetivo de entender y poder actuar mejor frente a estas infecciones.

Se van a clasificar los microorganismos nosocomiales en cuatro grupos debido a la mayor prevalencia que muestra en las infecciones nosocomiales encontrada en el informe ENVIN-UCI 2008 (5) y EPINE-2016 (2). Los cuatro grupos resultantes son los que se detallan en la leyenda de la Fig.-3 (Grupos de microorganismos): Bacilos gram negativo Enterobacterias, Cocos gram positivo; Bacilos gram negativo no fermentadores y Otros: Levaduras, Bacilos anaerobios, Virus. La comparación que se muestra en la Fig.-3 corresponde a los porcentajes de prevalencia de los principales patógenos nosocomiales en el año 2008 frente al año 2016. En

2008 el grupo mayoritario fueron los negativos fermentadores, seguidos de las Enterobacterias, en tercer lugar, los cocos gram positivo y por último el grupo formado por hongos, virus y bacilos anaerobios. Debido a los tratamientos y profilaxis utilizados durante este periodo, en 2016 los cocos gram positivo disminuyen y aumentan los grupos de bacilos gram negativo Enterobacterias y bacilos gram negativo no fermentadores.

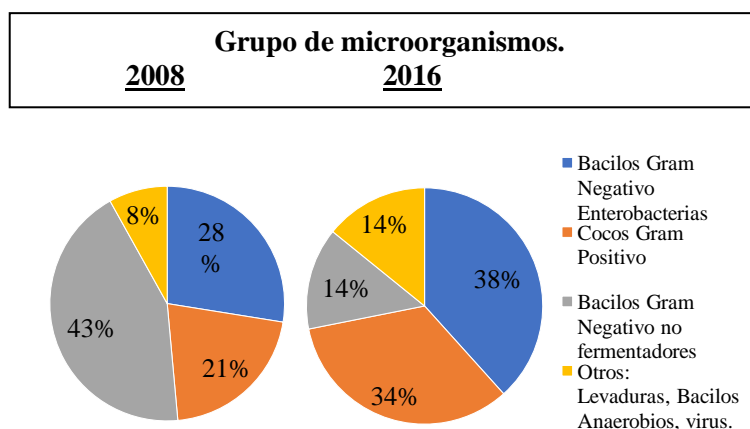


Fig.-3 Grupos de microorganismos.

Una vez identificados los grupos más prevalentes es importante ubicar los principales microorganismos nosocomiales en cada uno de estos grupos descritos. En el grupo de bacilos gram negativo Enterobacterias el bacilo que destaca en IN es *Escherichia coli*. Si se trata de cocos gram positivos se dividen en género *Staphylococcus* y género *Enterococcus*. Del género *Staphylococcus* el más importante al hablar de IN es: *Staphylococcus aureus*, seguido de *Staphylococcus epidermidis*. Y del género *Enterococcus* destaca *Enterococcus faecalis*. En el grupo de bacilos gram negativo no fermentadores destacan *P. aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* principalmente.

Por la importancia de conocer el patógeno más prevalente en infecciones nosocomiales se detalla la Fig.- 4 (Microorganismos aislados), donde se expone el porcentaje de infecciones nosocomiales correspondientes a cada patógeno durante el periodo 2008 a 2016. De los seis microorganismos mencionados, en el 2008 *P. aeruginosa* (14,07%) fue el mayoritario, seguido de *E. coli* (11,14%) y luego *S. aureus* (6,65%). A partir del 2012 *E. coli* (16,34%) es el principal responsable, seguido de *S. aureus* (10,35%) y *P. aeruginosa* ocupa al tercer lugar (10,5%). En cuanto a *E. faecalis*, *K. pneumonie* y *S. epidermidis* representan menores porcentajes de infecciones nosocomiales, variando ligeramente cada año (2).

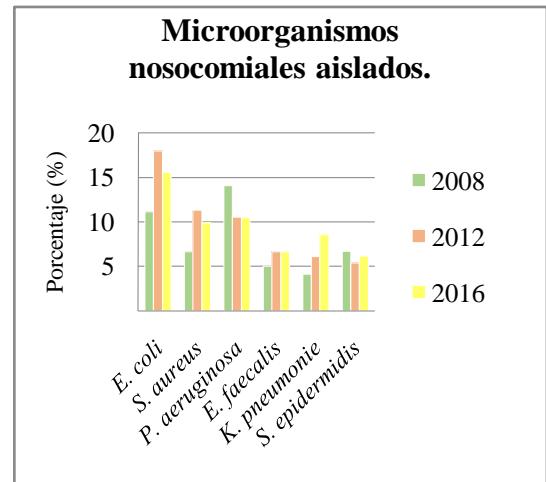


Fig. - 4 Microorganismos aislados.

La mayoría de estos patógenos se pueden encontrar en la microbiota del huésped. El patógeno que destaca en este aspecto y que establece una relación comensal con el huésped es *E. coli*. Este patógeno se puede encontrar de forma habitual en la microbiota intestinal de los individuos y producir infeccional cambiar de su localización habitual a otra cercana pero estéril, debido a este motivo presenta el mayor porcentaje en infecciones nosocomiales en los años 2012-2016.

Según la translocación que hagan los microorganismos desde su localización habitual a una nueva localización estéril son capaces de producir unas infecciones u otras. La Fig.- 5 (Relación de microorganismos con el foco de infección) relaciona el microorganismo nosocomial con el tipo de infección que produce en mayor o menor medida(11).

El principal responsable de infecciones respiratorias es *Staphylococcus aureus* seguido de *Pseudomonas aeruginosa* debido fundamentalmente a la intubación asociada a ventilación mecánica. Se trata de infecciones urinarias los patógenos predominantes son *Escherichia coli* y *P. aeruginosa* debido a la proximidad de su localización habitual en el intestino con el sistema urinario.

	Infección respiratoria	Infección Urinaria	Bacteriemia	Herida quirúrgica
<i>E. coli</i>	X	XXXX	XX	XXXX
<i>S. aureus</i>	XXXX	---	XXXXX	XXXXXX
<i>P. aeruginosa</i>	XXX	XXX	X	XX
<i>E. faecalis</i>	----	X	XXXX	XXX
<i>K. pneumonie</i>	XX	XX	XXX	X
<i>S. epidermidis</i>	----	---	XXXXXX	XXXXX

Fig. -5 Relación de microorganismos con el foco de infección.

En cuanto a las bacteriemias asociadas a catéter los predominantesson los *Staphylococcus* coagulasa negativos en particular *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* ya que se encuentran de forma habitual en la piel y pueden causar infección si pasan a zonas más profundas por el orificio de inserción de catéter. Por el mismo motivo los principales responsables de infecciones quirúrgicas son *S. aureus*, *S. epidermidis* y *E. coli* si la translocación se produce desde la piel o intestino a la herida quirúrgica sin barrera de protección.

#### 4. *Pseudomonas aeruginosa* como patógeno nosocomial relevante.

Haciendo referencia al cuarto objetivo, se va a profundizar en las características estructurales y fisiológicas de *Pseudomonas aeruginosa* ya que es uno de los patógenos más prevalentes y complicados de tratar en las infecciones nosocomiales. Pertenece al grupo de las *Gammaproteobacterias* género *Pseudomonas* especie *aeruginosa*. Se trata de un bacilo gram negativo quimiorganótrofo, no fermentador de lactosa, móvil, oxidasa y catalasa positivo y productor de pigmentos característicos.

Una de las características que posee este patógeno es su gran adaptabilidad al entorno debida a su baja exigencia nutricional (12). *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista ubicuo capaz de vivir en el suelo, en el agua y en el entorno hospitalario ya que es capaz de utilizar compuestos orgánicos como fuente de carbono y nitrógeno (13). Fundamentalmente se puede encontrar como miembro de la microbiota y en el entorno hospitalario. *P. aeruginosa* puede formar parte de la **microbiota** intestinal y en la piel de algunas personas por lo que pueden ser foco de infección para otros pacientes incluso para ellos mismos si el microorganismo cambia de localización en el huésped. También se puede encontrar en el **entorno hospitalario** contaminando ambientes húmedos, como sistemas de ventilación mecánica, fómites, catéteres, soluciones de limpieza, etc. Este patógeno presenta una elevada persistencia en estos ambientes, siendo capaz de sobrevivir desde 6 horas a 16 meses en superficies húmedas y 5 semanas en superficies secas (14). Debido a estas características *P. aeruginosa* es conocido como un patógeno “cosmopolita”: capaz de vivir en cualquier entorno.

Otra de las características más destacada de *P. aeruginosa* como patógeno nosocomial es su elevada resistencia antibiótica que facilita su supervivencia en el entorno y hospedador dificultando la eliminación y la resolución positiva de la infección nosocomial.

##### 4.1. Infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa*

Las infecciones nosocomiales producidas por *P. aeruginosa* se pueden diferenciar en dos grandes grupos en función del origen de este patógeno: origen interno o microbiota del huésped y origen externo o contaminación del entorno hospitalario.



El primer tipo de infecciones producidas por *P. aeruginosa* derivan de la presencia del patógeno en la microbiota. Como ya se ha mencionado *P. aeruginosa* se puede localizar en la microbiota del hospedador y el cambio de localización provoca infecciones como las derivadas de heridas quirúrgicas y las infecciones en quemaduras. Estos dos tipos de infecciones tienen en común el daño del epitelio y por tanto la disminución de la barrera de defensa por lo que facilita el cambio de localización de *P. aeruginosa* y la producción de la consiguiente infección. En el caso de estos dos tipos de infecciones, la liberación de factores de virulencia como pirocina y pioverdina originan una secreción purulenta y verdosa que puede alcanzar el tejido sano dando lugar a áreas necrosadas. Particularmente en infecciones en quemaduras son un grave problema en la Unidad de Quemados ya que si el patógeno se disemina de forma radial puede producir "ectima gangrenosum", un indicador de septicemia (15).

El segundo gran grupo son las infecciones causadas por la contaminación externa en el ambiente hospitalario estrechamente relacionado con los factores de riesgo extrínsecos. Una de las infecciones más prevalentes de *P. aeruginosa* y grave es la neumonía nosocomial. Está producida por la entrada del patógeno por vía aérea a través de ventiladores contaminados siendo capaz de establecerse en los pulmones en forma de biofilm y causar daño epitelial. La mayoría de los pacientes con neumonía nosocomial son también pacientes con Fibrosis Quística y otras comorbilidades que disminuyen la eficacia del sistema inmune. Las complicaciones que derivan de la neumonía son el empiema (pus en el espacio pleural) y abscesos pulmonares producidos por *P. aeruginosa*, *E. coli* y anaerobios estrictos como *Clostridium difficile* (15). Otras infecciones de origen externo son las infecciones urinarias e infecciones locales del catéter en función de cual sea el fómite contaminado: catéter urinario; catéter vascular central; catéter vascular periférico (16).

El paso a sangre de *P. aeruginosa* (bacteriemia) y el daño tisular puede producir una consecuencia muy grave como es la sepsis. La sepsis puede derivar de todas las infecciones anteriormente mencionadas si el patógeno invade los tejidos y alcanza el torrente sanguíneo. El daño necrótico producido en los tejidos y la concentración elevada de microorganismo en sangre dificulta el tratamiento y pone en serio peligro la vida del paciente. Además, estos pacientes suelen tener el sistema inmune comprometido por lo que se empeora el pronóstico.

En menor medida puede producir infecciones externas no nosocomiales como son la "otitis del nadador" e infecciones oculares, debido a la baja exigencia nutricional y ubicuidad de *P. aeruginosa*. Además de síndromes diarreicos por la elevada secreción de exotoxinas citotóxicas que pueden afectar a nivel intestinal (13).

## 4.2. Factores de virulencia de *Pseudomonas aeruginosa*

*P. aeruginosa* es capaz de producir todas las infecciones descritas anteriormente debido a que posee estructuras y productos secretados que actúan como **factores de virulencia**. Son fundamentales en la patogenia y en la supervivencia de este microorganismo. Estos factores principalmente se dividen en dos grupos: estructuras que se comportan como puntos de adhesión al hospedador (adhesinas); y productos secretados a través del sistema de secreción tipo III (T3SS).

### Adhesinas:

- **Flagelo, fimbrias y pilis:** *P. aeruginosa* consta de un solo flagelo polar que le proporciona gran movilidad debido al movimiento rotativo y de sacacorchos. Esto le permite la vida en ambientes acuáticos, colonizar al hospedador y es fundamental en la quimiotaxis bacteriana. Otras adhesinas de este microorganismo son las fimbrias y los pilis de tipo IV situados en los polos. Las fimbrias son las encargadas de adherirse a la superficie del hospedador mientras que los pili tipo IV realizan movimientos de “contracción” para la propulsión y facilitan la agregación de las colonias para la formación del biofilm. Además, los pilis son los encargados de la unión con otras bacterias para la transferencia de plásmidos durante la conjugación bacteriana (12).

- **Cápsula mucoide, exopolisacáridos y LPS:** La cápsula de *Pseudomonas aeruginosa* no está presente en todas las cepas, existe cepas capsuladas (mucoides) y cepas no capsuladas (no mucoides). Esta cápsula está formada por material mucoide que actúa como barrera directa frente a la fagocitosis y participa en la formación del biofilm. Gracias a esta cápsula se secretan los exopolisacáridos, fundamentalmente alginato en caso de cepas mucoides y los exopolisacáridos Psl y Pel en cepas no mucoides. Los exopolisacáridos tienen como principal papel la agregación de las colonias en la formación del biofilm. Las cepas no mucoides pueden evolucionar a cepas mucoides por la mutación del gen MucA, obteniendo las anteriores cualidades (12, 17).

*P. aeruginosa* al ser una bacteria gram negativa tiene LPS (lipopolisacárido) formado por tres partes unidas covalentemente: polisacárido O, lípido A y núcleo. El polisacárido O específico es imprescindible en el reconocimiento de la bacteria por los receptores del hospedador. El lípido A o pirógeno exógeno, tiene actividad tóxica que alerta al sistema inmune y desencadena la liberación de moléculas como neutrófilos y macrófagos encargados de la fagocitosis (11).

### Sistema de Secreción Tipo III (T3SS) y productos secretados:

El otro gran grupo de factores de virulencia son los productos secretados por *P. aeruginosa* a través del Sistema de Secreción Tipo III (T3SS). Este sistema está formado por un apéndice tipo aguja que genera un poro por el cual se inyectan los productos secretados directamente al citosol (18).

Los productos secretados fundamentalmente son toxinas, enzimas con distintas actividades y pigmentos. La toxina más potente de *P. aeruginosa* es la **exotoxina A**. Esta citotoxina consta de tres dominios: A1 encargado de la actividad enzimática ADP-ribosiltransferasa sobre el factor de elongación EF-2, por lo que inactiva su síntesis y causa la muerte de la célula; A2 de la penetración en la célula hospedadora y B que se fija al receptor (12,13).

La **Exotoxina S** es una exoenzima con actividad GTPasa N- terminal y ADP-ribosiltransferasa C-terminal sobre las proteínas G por lo que alteran la estructura del citoesqueleto de actina induciendo la apoptosis (12). La **ExoU** y la **Fosfolipasa C** son hemolisinas termolábiles que degradan lípidos y lecitina produciendo la pérdida de integridad de la membrana de la célula (13).

Las enzimas con actividad elastasa como **LasA** (serinaproteasa) y **LasB** (metaloproteasa de zinc) actúan de forma sinérgica degradando la elastina del tejido pulmonar, del epitelio tisular y corneal en función del lugar de infección (12). Otras enzimas son las **proteasas alcalinas** que participan en la degradación del tejido del hospedador y en la inactivación del complemento e inmunoglobulinas (13).

El género *Pseudomonas* es característico por la secreción de diferentes **pigmentos**. Esta cualidad sirve para la identificación de la especie *aeruginosa* dentro del género *Pseudomonas* ya que es la única que secreta piocina y pioverdina. La **piocina** es un pigmento azul no fluorescente con actividad redox capaz de aceptar y donar electrones oxidando moléculas como NAD(P)H y generando especies reactivas de oxígeno (ROS). Este estrés oxidativo actúa a nivel de la respiración celular, metabolismo y expresión génica. Además, la piocina inhibe las enzimas Duox1 y Duox2 encargadas de neutralizar las ROS, por lo que acentúan el daño epitelial. Ese daño oxidativo produce a largo plazo cambios en la expresión de genes en las células traqueobronquiales que derivan en la activación de la respuesta inflamatoria con aumento de IL-8 y moléculas de adhesión intercelular 1 (ICAM1) que atraen neutrófilos y otras moléculas proinflamatorias agravando el daño epitelial (17).

El pigmento minoritario de *P. aeruginosa* es la **pioverdina**, pigmento verde-amarillento y fluorescente con actividad siderófora. La capacidad quelante de este pigmento por el  $Fe^{3+}$  facilita el crecimiento a *P. aeruginosa* en medios aerobios y con concentraciones bajas de este metal (13,17). La ferripioverdina, (pioverdina unida al hierro) actúa también como molécula señal para la liberación de otros factores de virulencia como proteasas y exotoxina A (19).

### 4.3. Proceso infeccioso causado por *Pseudomonas aeruginosa*

Durante el proceso infeccioso que desencadena *P. aeruginosa* se producen diferentes etapas donde este microorganismo utiliza los factores de virulencia que posee ya descritos.

El **comienzo del proceso infeccioso** por *Pseudomonas aeruginosa* se puede dar por el contacto del huésped con el patógeno desde la propia **microbiota** o por el contacto externo con **fómites contaminados**, por tanto la primera etapa de la infección está estrechamente relacionada con la localización interna o externa de *P. aeruginosa*. Esta primera fase está favorecida por la rotura o pérdida del epitelio que sirve de barrera de protección para microorganismos. En el caso de la microbiota es más fácil cambiar de localización cuando no hay barreras que delimitan los sistemas, por ejemplo, en el caso de los quemados la exposición de los órganos es mayor al no tener el tejido epitelial sano. Lo mismo ocurre para infecciones respiratorias cuando la intubación del paciente con tubos intratraqueales contaminados para una ventilación mecánica y la rotura del epitelio facilita la entrada de *P. aeruginosa* al sistema respiratorio (15).

La segunda fase es la **adhesión y colonización**, las estructuras implicadas son los pilis de tipo IV, el flagelo y fimbrias. *Pseudomonas aeruginosa* consigue adherirse y colonizar la célula eucariota gracias al movimiento de contracción del pili tipo IV y el flagelo. Cuando se encuentra próxima se produce la interacción de estas estructuras con los receptores de membrana de la célula lo que desencadena una respuesta inflamatoria y se induce la expresión de más adhesinas que refuerzan la adhesión. También está mediada esta fase por el reconocimiento del LPS bacteriano por parte del sistema inmune del huésped, en particular los receptores tipo TLR5 (Toll-Like Receptor 5) que activan la vía NF- $\kappa$ B y receptores tipo NOD (NLR) que activan caspasas (12), lo que conlleva un daño epitelial y necrosis.

*P. aeruginosa* destaca como uno de los patógenos que es capaz de crecer en forma de biofilm. La mayoría de las ocasiones este bacilo gram negativo aprovecha esta ventaja de supervivencia para crecer de forma organizada y en comunidad. Así el principal factor de virulencia de *P. aeruginosa* es la formación del biofilm. Supone un mecanismo de defensa por la resistencia física al sistema inmune y a la acción de los antibióticos. Además les proporciona un nicho favorable para crecer, por la concentración de nutrientes y oxígeno. Para activar los genes que controlen la formación del **biofilm** estos factores de virulencia, utilizan un mecanismo de comunicación entre bacterias que se conoce como `` **Quorum sensing** `` (QS) (15). Este proceso de comunicación y supervivencia se realiza mediante dos sistemas tipo sistemas *lux*: lasR-lasI y rhIR- rhII (reguladores globales de expresión génica). Debido a la alta densidad de microorganismos y la proximidad de las

microcolonias estos sistemas se activan e induce la liberación de moléculas autoinductoras como AHL (acilhomoserinalactona) y c-di-GMP (monofosfato de di-guanosina cíclico). Como consecuencia final se liberan factores de virulencia y se activa la formación del biofilm (20). Gracias al QS las bacterias viven en estrecha asociación y les facilita el intercambio genético.

La estructura organizada del biofilm está compuesta fundamentalmente por agua y una matriz de exopolisacáridos que le confiere resistencia química y física. La matriz se forma a raíz de la activación del autoinductor c-di-GMP, esta molécula controla la síntesis y agrupación de los flagelos de las bacterias para facilitar la agregación. Otro papel importante de c-di-GMP es la secreción de los exopolisacáridos (alginato, Pel y Psl) que forman la matriz (12). En menor medida la matriz está formada por macromoléculas como DNA, proteínas y lípidos. Algunos lípidos como los ramnolípidos ejercen un papel importante en el mantenimiento del biofilm ya que son responsables del mantenimiento de los canales de agua, nutrientes y oxígeno en toda la biopelícula. La etapa final es la maduración del biofilm. Ya formada la estructura matricial, los microorganismos adheridos se van replicando, secretando sustancias al exterior y muriendo. En esta etapa hay una elevada tasa de transferencia horizontal de material genético y plásmidos de resistencia (21), por eso el crecimiento en biofilm supone una elevada tasa evolutiva a cada colonia de *P. aeruginosa*. Esta maduración está condicionada por el pH interno, la disponibilidad de nutrientes y la concentración de oxígeno (20). En definitiva, la estructura en biofilm aumenta la supervivencia de las colonias de *P. aeruginosa* y se convierte en una ardua tarea eliminarlo.

En algunos casos se produce un desprendimiento de las células del biofilm, produciéndose la **invasión**, las bacterias son capaces de migrar a otras localizaciones del organismo del hospedador y producir un nuevo daño tisular. Esto lo hacen gracias a los pilis, flagelos y fimbrias que le proporcionan movilidad y adherencia. Cuando *P. aeruginosa* disemina e invade los tejidos del huésped se produce la liberación de los productos citotóxicos secretados a través del T3SS. Las exotoxinas A, S y U alteran el DNA celular y producen la desintegración de la membrana celular. A su vez las elastasas y la fosfolipasa C degradan la elastina y lecitina de los tejidos por lo que acentúan el daño tisular. La liberación de pigmentos conduce a un aumento del estrés oxidativo que culmina con la necrosis de los tejidos del hospedador. Esta etapa de la infección es lo que se conoce clínicamente como sepsis por *P. aeruginosa* y es frecuente en pacientes con el catéter contaminado ya que es un foco permanente de infección si no se retira. Es una enfermedad muy grave que produce la muerte del 50% de los pacientes con sepsis nosocomial por *P. aeruginosa* (20).

#### 4.4. Resistencia antibiótica

Cuando se habla de *P. aeruginosa*, se debe incidir en su elevada resistencia antibiótica y el peligro a nivel sanitario que esto supone. Los factores que explican esta elevada resistencia se pueden clasificar según su origen en resistencia intrínseca como la formación del **biofilm**, **bombas de eflujo** y **enzimas** y factores de resistencia extrínseca que engloban cambios estructurales y mutaciones espontáneas que aumentan su resistencia antibiótica.

Respecto a la resistencia intrínseca de *P. aeruginosa* destaca la capacidad de crecimiento en **biofilm**. Las bacterias en crecimiento sésil o biopelícula son 1000 veces más resistentes a los antibióticos que las de crecimiento individual (22). La matriz de polisacáridos le proporciona una barrera física y química dificultando la penetración de los antimicrobianos además los sistemas de difusión se encuentran disminuidos. En el interior del biofilm el lento crecimiento es debido a la restricción de nutrientes y oxígeno por lo que los antibióticos que actúan en células de rápido crecimiento no son eficaces como los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Además el alginato es capaz de retener las células del sistema inmune que intenten neutralizarlas como son los anticuerpos y neutrófilos (20).

Dentro de este tipo de resistencia también se engloba la familia de transportadores de la división de células de nodulación-resistencia (**RND**): **las bombas de eflujo (Mex)**. Estos sistemas son capaces de expulsar los antibióticos administrados provocando así su resistencia, principalmente a quinolonas, tetraciclinas, cloranfenicol, trimetoprim, antibióticos beta-lactámicos, inhibidores de beta-lactamasa, detergentes, aminoglucósidos, eritromicina y cefalosporinas (22). El regulador transcripcional NF $\kappa$ B es el encargado de reprimir la mayoría de las bombas de eflujo. En cepas con mutaciones cromosómicas en el factor NF- $\kappa$ B y lo inhiban, las bombas están sobreexpresadas por lo que hay mayor expulsión de los antibióticos y por tanto mayor resistencia (23).

Por último existen dos grandes grupos de **enzimas de resistencia**. El primer grupo son las **metalo- $\beta$ -lactamasas**, hidrolizan el anillo de antibióticos  $\beta$ -lactámicos inactivándolos, excepto al aztreonam. Hay tres clases de estas enzimas: clase A, inhibidas por ácido clavulánico; clase B, inhibidas por EDTA y transferida por plásmidos y clase C eficaz frente a oxacilinas y cloxacilinas (22). El otro grupo principal de enzimas son las **cefalosporinasas**, capaces de degradar penicilina y cefalosporinas de 3ª generación, están codificadas por el gen AmpC, que se transfiere mediante plásmidos (24).

Por otro lado, los factores de resistencia extrínseca de *Pseudomonas aeruginosa* son principalmente las mutaciones espontáneas como la pérdida de la **porina OprD**, gracias a la cual se disminuye la

penetración de imipenem y la reducción de eficacia de meropenem; también la **metilación del sitio A en la subunidad 16S del RNA** dificultando la unión de los aminoglucósidos a su diana intracelular. El último ejemplo de mutaciones es la que produce la resistencia a fluoroquinolonas debido a la **mutación** de las enzimas **ADN-girasa** y **topoisomerasa IV** (22).

Una cualidad importante de *P. aeruginosa* es la alta tasa de mutación espontánea, desde 100 a 1000 veces superior a la tasa de mutación normal (21). Esta gran evolución es debida a la **transferencia horizontal de plásmidos de resistencia** que le permite intercambiar genes de resistencia entre las colonias de un biofilm e incluso entre otros bacilos gram negativo, por ello la resistencia antibiótica aumenta con cada nueva colonia. Los factores de resistencia tanto extrínsecos como intrínsecos están codificados por una serie de genes que pueden ser transferidos durante la conjugación bacteriana. Por ejemplo la mayoría de las bombas de eflujo son transferidas mediante la transferencia de plásmidos de resistencia, así como los genes que codifican para la metilación del sitio A del RNA (*rmtA*, *rmtB*, *rmtC*, *rmtD*, *armA* y *npmA*) y los genes que codifican las cefalosporinas y metalo- $\beta$ -lactamasas. Esta adaptabilidad genética está favorecida por la corta exposición a los antimicrobianos y los cambios ambientales a los que está sometida *P. aeruginosa* en el entorno hospitalario que favorecen estas mutaciones para aumentar la supervivencia (20).

### 5. Tratamiento de *Pseudomonas aeruginosa*

La elección de un tratamiento adecuado para una infección nosocomial es un punto clave en todo estudio de infecciones causadas por *P. aeruginosa*. Cuando se sospecha que un paciente tiene una IN producida por *P. aeruginosa* se debe evaluar si es necesario establecer un tratamiento empírico inmediato o se puede esperar a los resultados del antibiograma. Esto generalmente está condicionado por la gravedad de la infección, ya que, si se trata de neumonía, sepsis u otras infecciones complicadas se debe establecer un tratamiento empírico de forma rápida a diferencia de infecciones leves como otitis, infecciones urinarias o localizadas. El tratamiento indicado para una sospecha de infección por *P. aeruginosa* se inicia de forma combinada, administrando dos o más antibióticos antipseudomonales simultáneamente. Presenta las ventajas de aumentar la posibilidad de que sea sensible a uno, ejercen un efecto sinérgico en la mayoría de los casos y previenen las resistencias. El **tratamiento empírico combinado** consiste en un antibiótico  $\beta$ -lactámico: cefalosporina (ceftazidima, cefepima) o carbapenemes (imipenem, meropenem, doripenem); aztreonam (monobactama); un aminoglucósido (tobramicina, amikacina); polimixina (colistina) ajustando el más indicado para cada infección y paciente (25).

En el caso de *P. aeruginosa* existen dos tipos de cepas: cepas multidrug-resistant (MDR) y cepas no MDR. Las cepas MDR están definidas según la resistencia al menos a tres agentes de los antibióticos antipseudomonales usados en la clínica como aminoglucósidos, cefalosporinas, carbapenemas y fluoroquinolonas (22).

Tras los resultados e interpretación del antibiograma de los principales antibióticos antipseudomonales se obtiene el tipo de cepa causante de la infección. Si muestra sensibilidad a los antibióticos estudiados en el antibiograma la cepa se considera **cepa no MDR** o sensible y se evalúa la posibilidad de reducir el espectro antibiótico a monoterapia para reducir la posible toxicidad y no fomentar resistencias antibióticas (26). Sin embargo, si el antibiograma muestra que la cepa es MDR, se debe establecer un nuevo tratamiento eficaz.

En general para el tratamiento de **cepas MDR** se recomienda el tratamiento inicial con ceftolozano-tazobactam solo o asociado con aminoglucósido o colistina en perfusión continua, que permite mantener concentraciones séricas constantes superiores a la CMI (Concentración Mínima Inhibitoria) asegurando la eficacia (25).

Además de tener en cuenta el tipo de cepa de *P. aeruginosa* es igual de importante establecer el tratamiento en función de la localización de la infección. En el caso de **sepsis** se administra una cefalosporina (cefepima) junto a un carbapenem (imipenem) o ciprofloxacino y se baraja la posibilidad de añadir Vancomicina en función de la infección. Tras el antibiograma y el diagnóstico de sepsis por *P. aeruginosa* se establece una antibioterapia dirigida en función de la sensibilidad que muestre el microorganismo. Si se trata de una **neumonía nosocomial** asociada a Fibrosis Quística, Bronquiectasias, Bronquitis crónica complicada, intubación intratraqueal o neumonía por MDR se valora la administración por vía inhalatoria de aztreonam-lisina, tobramicina, amikacina. Cuando hay sospecha de **biofilm** se establece la asociación de un antibiótico  $\beta$ -lactámico y un macrólido (azitromicina o claritromicina) (25). Por último, en el grave caso de una **panresistencia** de *P. aeruginosa*, resistencia a todos los antibióticos usados, el tratamiento de elección son las polimixinas (colistina) (27).

En definitiva, la terapia de *P. aeruginosa* de elección son los antibióticos  $\beta$ -lactámicos junto con adyuvantes o inhibidores enzimáticos ya que presentan la mayor eficacia clínica.

## 6. Comités especialistas en Infecciones Nosocomiales.

Teniendo en cuenta que la prevención y control de las IN no es fácil, el principal objetivo es la reducción de los pacientes con IN y el coste asociado (9). Para ello existen multitud de comités especialistas que ejercen su función a diferentes niveles.



A nivel mundial la **OMS** establece una guía práctica de “Prevención de las infecciones nosocomiales”, donde recoge toda la información necesaria para prevenirlas y tratarlas adecuadamente (1). Otro organismo internacional implicado es la **CDC** (Centers for Disease Control and Prevention) se encarga de recoger la información y los planes establecidos para el control de estas infecciones nosocomiales, además de elaborar un informe anual de la situación mundial (28).

A nivel nacional, cada país establece unos comités que siguen las directrices implantadas por la OMS y la CDC para el control de las IN, en el caso de España son cuatro los sistemas específicos para ello. El único de los cuatro sistemas que se basa en el estudio de la prevalencia es el **EPINE** o Estudio de Prevalencia de Infecciones Nosocomiales de España, se encarga de realizar un informe anual a partir de encuestas transversales exhaustivas a los enfermos hospitalizados en España. Proporciona información como la prevalencia, mortalidad, patógenos más relevantes y sus localizaciones, así como la evolución de las infecciones nosocomiales a lo largo del tiempo. Los otros tres sistemas se basan en el estudio de la incidencia de las infecciones nosocomiales.

El **ENVIN-UCI** o Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nacional en Servicios de Medicina Intensiva se centra en el estudio epidemiológico del servicio de Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) de los hospitales de España para el seguimiento de los pacientes con IN y sus factores de riesgo además de facilitar la detección de los aumentos de resistencias antibióticas. También está presente en esta área el sistema **PREVINE** o Programa Específico para la Vigilancia de las Infecciones Nosocomiales, mediante el cual se persigue obtener un protocolo común en toda España para la actuación frente a las IN y definir los indicadores de calidad sanitaria. Por último, España cuenta con el programa **VICONOS** sistema prospectivo de vigilancia epidemiológica de la infección hospitalaria, enfocado a la prevención de la aparición de IN en servicios de cirugía y UCI evaluando tanto el coste como las medidas de control y facilita la detección precoz de casos (29).

A nivel intra-hospitalario hay multitud de proyectos para la prevención de estas IN. Un ejemplo es el “Proyecto Neumonía Zero” establecido en España en el año 2010 en base al proyecto Bacteremia Zero impulsado por la OMS. El proyecto consistía en la formación y entrenamiento del personal sanitario para la correcta manipulación de la vía aérea, higiene estricta de manos del personal, higiene bucal de pacientes y demás protocolos para la reducción del 50% de casos de neumonías nosocomiales que fue posible gracias al proyecto. Actualmente está en marcha la campaña de concienciación sobre la importancia del lavado de manos entre los profesionales sanitarios y población general para evitar la transmisión de infecciones nosocomiales (30).

## 6.1. Medidas de prevención y control:

Todos estos comités y sistemas coinciden en los niveles de actuación para prevenir las infecciones nosocomiales. El primer nivel donde actuar es el **foco** de la infección. Este foco puede ser la microbiota del paciente (foco interno) o el ambiente hospitalario (foco externo): zonas húmedas, ropa de cama, fómites. Los protocolos de desinfección y esterilización actúan a este nivel intentando disminuir al máximo la concentración de microorganismos en el foco. El siguiente nivel donde actuar es la interrupción de la **vía de transmisión** que puede ser interpersonal (persona a persona) o a través de fómites. Este punto de la cadena es donde más se puede incidir para la prevención de las IN, por ello se hace tanto hincapié en el lavado de manos, aislamiento de pacientes o el uso de material específico de protección como guantes, mascarillas, calzas y bata. El último eslabón de la cadena es el **paciente**. En cuanto a prevención es difícil incidir sobre éste ya que presenta ciertas características inherentes como su microbiota que hace más complicada la prevención de las IN. La medida más enfocada en el paciente es la profilaxis pre y post-operatoria. En el caso de *Pseudomonas aeruginosa* no se ha demostrado eficacia en la profilaxis antes de la aparición de un cultivo positivo por lo que las medidas que se toman están más enfocadas a los anteriores niveles de actuación sobre todo la interrupción de la transmisión del microorganismo (30).

### Conclusiones

- La prevalencia de las infecciones nosocomiales se ha mantenido durante el periodo de 2008 a 2016 con un 8% de pacientes afectados del total de hospitalizados.
- La mortalidad de un 20% de los pacientes y el impacto económico que asciende a 1.000 millones de euros al año hace de las infecciones nosocomiales una problemática importante en el Sistema Sanitario Español.
- La magnitud de las infecciones nosocomiales en España como en Estados Unidos es semejante en prevalencia, incidencia, mortalidad e impacto económico. Desde un punto de vista positivo España se encuentra a nivel de una potencia mundial como es Estados Unidos para hacer frente a la problemática de las infecciones nosocomiales.
- Los principales microorganismos nosocomiales en España se mantienen durante el periodo de 2008 a 2016 siendo los mayoritarios *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus epidermidis*.
- Los factores de riesgo extrínsecos son determinantes para la aparición de un tipo u otro de infección nosocomial siendo las mayoritarias las infecciones respiratorias, urinarias, quirúrgicas y bacteriemias.

- Debido a la forma de vida “*cosmopolita*” de *Pseudomonas aeruginosa* destaca como uno de los principales patógenos nosocomiales. Los factores de virulencia de este patógeno como el crecimiento en biofilm, las enzimas y las mutaciones adquiridas por transferencia de plásmidos facilitan la supervivencia en el huésped y agravan el proceso infeccioso.
- Dados los múltiples sistemas de resistencia que posee *Pseudomonas aeruginosa* es considerada una bacteria complicada a la hora de tratar y resolver las infecciones nosocomiales que produce.
- A pesar del amplio arsenal terapéutico para las infecciones nosocomiales, en el caso de *Pseudomonas aeruginosa* es necesario seleccionar el tratamiento adecuado teniendo en cuenta las múltiples resistencias. Por lo general se recurre a un tratamiento combinado de varios antibióticos antipseudomonales para aumentar la eficacia y evitar las posibles resistencias.
- A causa de la relevancia de las infecciones nosocomiales, en España se han establecido cuatro sistemas para su vigilancia y control: EPINE, ENVIN, PREVINE, VICONOS. Estos sistemas elaboran protocolos e informes bajo las directrices de la OMS y el CDC.

### **Bibliografía**

- (1). - Duce G, Fabry J, Nicolle L. Prevención de las infecciones nosocomiales. Guía práctica 2ª edición. Organización Mundial de la Salud. 2012.
- (2). -Informe EPINE-EPPS 1990-2015; 2014; 2015; 2016. Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene (SEMPSPH)
- (3). -Mette Koch A, Nilsen Miodini R, Merete Eriksen H, Jane Cox R, Harthug S. Mortality related to hospital-associated infections in a tertiary hospital; repeated cross-sectional studies between 2004-2011. Antimicrob Resist Infect Control. 2015; 4:57.
- (4). - Asensio A, Monge D. Epidemiología de la infección por *Clostridium difficile* en España. Enfermedades infecciosas y Microbiología clínica. Junio-julio 2012; 30(6):333-337.
- (5). - ENVIN-UCI Informe 2008. Grupo de trabajo de enfermedades infecciosas de la sociedad española de medicina intensiva crítica y unidades coronarias (SEMICYUC)
- (6). - Bajo JA, Bajo JM, Lailla JM. (2007) Vigilancia de la infección nosocomial, indicador de calidad. Capítulo 12. 2007
- (7). -Olaechea PM, Insausti J, Blanco A, Luque P. Epidemiología e impacto de las infecciones nosocomiales. Med Intensiva. 2010; 34(4):256–267.
- (8). - Iñigo J, Sendra JM, Díaz R, Bouza C, Sarría- Santamera A. Epidemiología y costes de la sepsis grave en Madrid. Estudio de altas hospitalarias. Medicina Intensiva vol.30:5 jun/jul. 2006.
- (9). -Gasto de la infección nosocomial o como mejorar la calidad: un programa dirigido a clínicos y gestores. Enero-julio 2013. EIDON nº 39:68-75.
- (10). -Umscheid CA, Mitchell MD, Doshi JA, Agarwal R, Williams K, Brennan PJ. Estimating the Proportion of Healthcare-Associated Infections That Are Reasonably Preventable and the Related Mortality and Costs. 2011 Feb; 32(2):101-14.
- (11). -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.

- (12). - Shaan L. Gellatly, Robert E.W. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. Hancock Centre for Microbial Diseases and Immunity Research, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada. Pathog Dis. 2013 Apr; 67(3):159-73.
- (13). -Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Pseudomonas* y microorganismos relacionados. En: Elsevier, editor. Medical Microbiology. Edición Española. 6ª ed. España: Elsevier España, S.A.; 2012. P.333-342.
- (14). - Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. BMC Infect Dis. 2006; 6:130.
- (15). -Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA. En: Ricardo Guerrero, coordinador. Brock, biología de los microorganismos. 14ª ed. España: Pearson Education S.A.; 2009. p. 166, 240-241, 357-358, 521-522, 648-651, 715-781, 867-891.
- (16).-Jawetz, Melnick, Adelberg. Microbiología Médica. 25 edición. Mac Graw Hill. Ed. Lange. 2010 p. 227.
- (17).- Rada B, Leto TL. Pyocyanin effects on respiratory epithelium: relevance in *Pseudomonas aeruginosa* airway infections. Changes. 2013; 29(2):997-1003.
- (18).-Galle M, Carpentier I, Beyaert R. Structure and Function of the Type III Secretion System of *Pseudomonas aeruginosa*. Current Protein and Peptide Science, 2012;13, 831-842.
- (19).- 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.
- (20). -Descripción de biofilms, desarrollo e importancia de su estudio. Impacto de las técnicas de micromanofabricación en sistemas biológicos.
- (21).- Cantón Moreno R, Gómez G. de la Pedrosa E, Fernández-Olmos A. Aspectos microbiológicos de las bronquiectasias. El problema de *Pseudomonas aeruginosa*. Monografías en Neumologías. 2013
- (22).- Hirsch EB, Tam VH. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res. 2011; 10 (4): 441-451.
- (23).- Kohler T, van Delden C, Curty LK, Hamzehpour MM, Pechere JC. Overexpression of the MexEF-OprN multidrug efflux system affects cell-to-cell signaling in *Pseudomonas aeruginosa*, J Bacteriol. 2001;183, 5213-5222.
- (24).- Ochoa S, López-Montiel F, Esalona G, Cruz-Córdova A, Dávila L, López- Martínez B, Jiménez-Tapia Y, Giono S, Eslava C, Hernández-Castro R, Xicohtencatl-Cortes J. Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociados con la formación de biopelículas. Boletín médico del Hospital Infantil de México. 2013; 70(2).
- (25).- Mensa J, Gatell JM, García- Sánchez JE, Letang E, López-Suñé E, Marco F. Tratamiento de las infecciones producidas por microorganismos específicos: *Pseudomonas aeruginosa*. En: Escofet Zamora, S.L., editor literario. Guía de Terapéutica Antimicrobiana 2016 26ª ed. España: Antares; 2014.p.433
- (26).- Bodí M, Garnacho J. *Pseudomonas aeruginosa*: tratamiento combinado frente a monoterapia. Hospital Universitario Joan XXIII de Tarragona, Tarragona. Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla. Med. Intensiva. 2007; 31(2):83-7.
- (27). - Vademecum.es. España: Vidal Vademécum Spain; 2016. Disponible en: <http://www.vademecum.es/>
- (28).-Healthcare-associated Infections (HAI) Progress Report. CDC 2014-2016.
- (29).- Bermejo B, de Jalón JG, Insausti J. Vigilancia y control de las infecciones nosocomiales: EPINE, VICONOS, PREVIENE, ENVIN-UCI. AN SistSanitNavar. 2009;23(2):37-47.
- (30).- Cantón R, Máiz L, Escribano A, Olveirae C, Oliver A, Asensio O, Gartnerh S, Roma E, Quintana-Gallego E, Salcedo A, Girón R, Barriom MI, Pastor MD, Pradoso C, Martínez-Martínez MT, Barberá J, Castón JJ, Martínez-Martínez L, Poveda JL, Vázquez C, de Gracia J, Solé A. Consenso español para la prevención y el tratamiento de la infección bronquial por *Pseudomonas aeruginosa* en el paciente con fibrosis quística. Elsevier. Arch Bronconeumol. 2015;51(3):140-150.