



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

IMPORTANCIA CLÍNICA Y PRINCIPALES
FACTORES DE VIRULENCIA DE
Pseudomonas aeruginosa

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE
ACTUALIZACIÓN**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

BRENDA PAOLA ESTRADA ORDAZ

ASESOR: RAÚL GARZA VELASCO



Ciudad Universitaria, CDMX

2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Raúl Garza Velasco

VOCAL: Profesor: Alejandro Camacho Cruz

SECRETARIO: Profesor: Luis Ángel Maldonado Manjarrez

1er. SUPLENTE: Profesor: Hugo Antonio Hernández Pérez

2° SUPLENTE: Profesora: Lila Lubianka Domínguez Ramírez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

BIBLIOTECA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM Y BIBLIOTECAS DEL SECTOR SALUD

ASESOR DEL TEMA:

QFB. Raúl Garza Velasco _____

SUSTENTANTE:

Brenda Paola Estrada Ordaz _____

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
(p)ppGpp	Molécula de señalización bacteriana de alarma
3-OC12-HSL	Acil-homoserina lactona
AAC	Aminoglucósido acetiltransferasa
ABC	Casete de unión de trifosfato de adenosina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNe	Ácido desoxirribonucleico extracelular
ADP	Adenosín difosfato
ADPRT	Adenosín difosfato ribosil transferasa
AF	Agente Fotosensibilizador
AgNP	Nanopartículas de plata
AgO	Antígeno O
AMP	Péptidos antimicrobianos
ANT	Aminoglucósido nucleótido transferasa
APACHE	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation</i>
APH	Aminoglucósido fosfotransferasa
Apr	Proteasa alcalina
AQs	Alquil-quinolonas
ARN	Ácido ribonucleico
ARNr	Ácido ribonucleico ribosomal
ASL	Airway Surface Liquid
ATP	Adenosín trifosfato
ATs	Autotransportadores
attI1	Sitio de recombinación específico
BAL	Lavado broco-alveolar
Bam	Mecanismo de ensamble barril-beta
BGN	Bacilos Gram Negativos
BLEE	β -lactamasas de espectro extendido
BSI	Bloodstream infections
CAE	Canal Auditivo Externo
CDC	Centros para el control y prevención de las enfermedades
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
DAMP	Patrones Moleculares Asociados a Daño
di-GMP	Diguanilato
DSE	Extracto Dyer Ex Eichler

Abreviatura	Significado
EF-2	Factor de elongación 2
EGC	Enfermedad Granulomatosa Crónica
EI	Endocarditis infecciosa
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
EPS	Exopolisacáridos
ET-1	Endotelina-1
ExIA	Exolisina
FEV1	Volumen espiratorio forzado en el primer segundo
FIM	Imipenemasa de Florencia
FQ	Fibrosis Quística
GalAG2	Dendrímero péptido β -fenilgalactosil
gamma-TuRC	Gamma-tubulina
GAP	Proteína activadora de GTPasa
GIM	Imipenemasa de Alemania
HACEK	<i>Haemophilus, Aggregatibacter, Cardiobacterium, Eikenella y Kingella</i>
HAQ	4-hidroxi-2-alkilquinolina
hBD-3	β -defensina-3 humana
HCILP	Hospitales de Cuidados Intensivos a Largo Plazo
Hcp	Proteína hemolisina correguladora
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular 1
IL-	Interleucina
IMP	Imipenemasa
INF- γ	Interferón gamma
intl1	Gen de la integrasa
IPTB	Infección de Piel y Tejidos Blandos
ISQ	Infecciones en el Sitio Quirúrgico
ITSAVC	Infección del Torrente Sanguíneo Asociada a una Vía Central
ITU	Infecciones del Tracto Urinario
ITUAC	Infecciones del Tracto Urinario Asociadas a Catéter
IV	Intravenosa
LasA	Elastasa A
LasB	Elastasa B
LecA	Lectina A
LecB	Lectina B
LipA	Lipasa A
LoxA	Lipoxigenasa

Abreviatura	Significado
LPS	Lipopolisacáridos
MAbs	Anticuerpos monoclonales
MALDI-TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption - Ionisation-Time of Flight Mass Spectrometry
MATE	Familia extrusión de compuestos tóxicos y multifármacos
MBL	Metalo-betalactamasas
MDR	Multidrug resistant
MFS	Superfamilia facilitadora principal
MyD88	Gen de respuesta primaria de diferenciación mieloide 88
NAC	Neumonía Adquirida en la Comunidad
NAH	Neumonía Adquirida en Hospital
NAM	N-aril malonamidas
NAVM	Neumonía Asociada a Ventilación Mecánica
NBF	No formadores de biopelículas
NDM	Metalo- β -lactamasa de Nueva Delhi
NE	Elastasa de neutrófilos
NETs	Neutrophil extracellular traps
NHSN	Red Nacional de Seguridad de la Atención Médica
NOD	Dominio de oligomerización y unión a nucleótidos
NOS	Especies reactivas de nitrógeno
OEA	Otitis Externa Aguda
OMCS	Otitis Media Crónica Supurativa
OMF	Outer Membrane Factor
OMS	Organización Mundial de la Salud
OMVs	Outer Membrane Vesicles
PA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PAMPs	Pathogen-Associated Molecular Patterns
Pch	Pioquelina
PCN	Piocianina
PD	Parámetros farmacodinámicos
PDR	Pandrug- resistant
PEA	Exotoxina A
PIP3	Fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato
PK	Parámetros farmacocinéticos
PKC	proteín-kinasa C
PLC	Fosfolipasa C
PMN	Polimorfonucleares

Abreviatura	Significado
PQS	Señal Quinolona de <i>Pseudomonas</i>
PRR	Receptores de reconocimiento de patrones
Pvd	Pioverdina
QS	<i>Quorum Sensing</i>
RND	Familia de división celular de nodulación de resistencia
ROS	Especies reactivas de oxígeno
rRNA	Ribosomal ribonucleic acid
SBF	Formación de biopelículas fuertes
SCPN	Nanopartículas de polímero monocatenario
Sec	Sistema general de secreción
SLPI	Inhibidor de la proteasa leucocitaria secretora
SMR	Pequeña familia MDR
SPM	Metalo- β -lactamasa de Sao Paulo
sRNAs	Small RNAs
SST1	Sistema de secreción tipo I
SST2	Sistema de secreción tipo II
SST3	Sistema de secreción tipo III
SST4	Sistema de secreción tipo IV
SST5	Sistema de secreción tipo V
SST6	Sistema de secreción tipo VI
STAMP	Péptido antimicrobiano dirigido específicamente
TAM	Módulo de translocación y ensamble
Tat	Translocación de gemelos de arginina
TC	Tomografías computarizadas
TFD	Terapia fotodinámica
TLR	Toll-like receptor
TNF- α	Factor de necrosis tumoral α
UCI	Unidad de cuidados intensivos
UDI	Usuarios de drogas intravenosas
UV	Ultravioleta
Vgr	Proteína con repetición valina-glicina
VIM	Metalo β -lactamasa codificada por integrones de Verona
XDR	Extensively drug resistant

ÍNDICE

JURADO ASIGNADO:.....	i
ABREVIATURAS	ii
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS.....	4
I. CARACTERÍSTICAS GENERALES	6
1.1. Taxonomía	6
1.2. Morfología microscópica.....	8
1.3. Estructura del genoma	8
1.4. Cultivo y diferenciación.....	9
1.5. Identificación en el laboratorio	12
II. PRINCIPALES ENFERMEDADES OCASIONADAS POR <i>Pseudomonas</i>	
<i>aeruginosa</i>	17
2.1. Infecciones de heridas por quemaduras	19
2.2. Infecciones de oído.....	22
Otitis externa aguda (OEA)	22
Otitis media crónica supurativa (OMCS)	24
2.3. Infecciones oculares.....	25
Endoftalmitis	25
Queratitis.....	26
2.4. Infecciones de la piel	30
Ectima gangrenoso.....	30
Paroniquia y síndrome de la uña verde	32
Foliculitis	33
Fascitis necrotizante	33
2.5. Infección de huesos y articulaciones.....	34
Artritis séptica.....	34
Osteomielitis	35
2.6. Infecciones del torrente sanguíneo (BSI)	35
2.7. Endocarditis infecciosa (EI)	38
2.8. Infecciones del tracto urinario (ITU).....	39
2.9. Infecciones en los sitios quirúrgicos (ISQ).....	41

2.10. Infecciones del tracto respiratorio	41
Fibrosis quística (FQ)	41
Bronquiectasia	51
Neumonía por <i>P. aeruginosa</i>	59
III. FACTORES DE VIRULENCIA DE <i>P. aeruginosa</i>	64
3.1. Factores asociados a la superficie bacteriana	64
<i>Pili</i> y flagelos	64
Lipopolisacáridos (LPS)	65
Sistemas de secreción de enzimas y proteínas	68
Sistema general de secreción (Sec)	71
Sistema de secreción de tipo I (SST1)	74
Sistema de secreción de tipo III (SST3)	75
Sistema de secreción de tipo VI (SST6)	76
Interacción SST3/SST6 para regular respuestas bacterianas y del hospedero	77
Sistema de secreción de tipo II (SST2)	81
Sistema de secreción de tipo V (SST5)	81
Vesículas de membrana externa (OMVs)	82
3.2. Factores de virulencia que son liberados	83
Exopolisacáridos	83
Sideróforos	84
Proteasas	85
Toxinas	85
Exolisina (ExIA)	86
Exotoxina A (PEA)	86
Lipasa A (LipA)	87
Fosfolipasa C (PLC)	87
Lipoxigenasa (LoxA)	88
Leucocidina	88
Piocianina (PCN)	89
3.3. Factores de interacción entre células bacterianas	89
<i>Quorum Sensing</i> (QS)	89
Biopelículas	91

IV. MULTIRRESISTENCIA DE <i>P. aeruginosa</i> A LOS ANTIBIÓTICOS	94
4.1. Mecanismos de resistencia intrínsecos	95
Permeabilidad de la membrana externa	95
Sistemas de eflujo	96
Enzimas que inactivan antibióticos	99
4.2. Mecanismos adquiridos de resistencia	100
Resistencia por mutaciones	100
Adquisición de genes de resistencia	103
4.3. Mecanismos de resistencia adaptativos	105
Resistencia mediada por biopelículas	105
Células persistentes	107
<i>Swarming y surfing</i>	108
V. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN	110
5.1. Tratamientos con antibióticos	110
Antibióticos actualmente disponibles para el tratamiento de infecciones por <i>P. aeruginosa</i> MDR/XDR.	110
5.2. Tratamientos experimentales alternativos a los antibióticos	110
Terapia con fagos	110
Terapia fotodinámica (TFD).....	116
Nanopartículas	118
Péptidos antimicrobianos (AMP).....	119
Estrategias para inhibir la formación de biopelículas e interferir en la detección de <i>quorum</i>	120
Afectación de la homeostasis del hierro en <i>P. aeruginosa</i>	122
Inhibición de lectinas	123
Inmunoterapia y vacunas.....	124
5.3. Prevención de infecciones por <i>P. aeruginosa</i>	127
CONCLUSIONES	128
REFERENCIAS	131

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Representación circular del genoma PAO1 de <i>P. aeruginosa</i>	10
Ilustración 2. <i>Queratitis por P. aeruginosa</i>	26
Ilustración 3. Lesión por ectima gangrenoso	31
Ilustración 4. Síndrome de la uña verde y Folliculitis.....	32
Ilustración 5. Sistemas de secreción de proteínas en <i>P. aeruginosa</i>	70
Ilustración 6. Ciclo de desarrollo de biopelículas de <i>P. aeruginosa</i>	93
Ilustración 7. Estructura y regulación de la bomba de eflujo RND.....	97

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características que fundamentan la identificación de las especies fluorescentes de <i>Pseudomonas</i> en muestras clínicas.....	15
Tabla 2. Características que fundamentan la identificación de las especies no fluorescentes de <i>Pseudomonas</i> en muestras clínicas.....	16
Tabla 3. Agentes microbiológicos más frecuentes detectados en las bronquiectasias	52
Tabla 4. Factores que incrementan el riesgo de infección nosocomial	63
Tabla 5. Principales factores de virulencia de <i>P. aeruginosa</i>	67
Tabla 6. Principales genes de <i>P. aeruginosa</i> implicados en la resistencia mutacional a los antibióticos.....	101
Tabla 7. Antibióticos utilizados para el tratamiento de infecciones por <i>P. aeruginosa</i> con base en los resultados de susceptibilidad	111

INTRODUCCIÓN

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria oportunista que se adapta fácilmente a las condiciones aerobias, microaerófilas y anaerobias, siempre que existan desde muy limitadas hasta abundantes fuentes de nutrientes. Desafortunadamente, también es capaz de ocasionar serias enfermedades en humanos, las cuales van desde infecciones del torrente circulatorio en los pacientes inmunocomprometidos hasta infecciones del tracto urinario, pasando por inflamación de los folículos pilosos en la piel.

Adicionalmente, este patógeno causa queratitis y úlceras corneales originadas, en ambos casos debido al descuido o al empleo inadecuado de lentes de contacto, todo ello incluyendo a los individuos aparentemente sanos. Sin embargo, este microorganismo es quizá mejor conocido por su capacidad para infectar los tejidos dañados por heridas o quemaduras y ocasionar infecciones en los pulmones, tanto de personas con fibrosis quística, como de los pacientes hospitalizados que padecen de neumonía asociada al uso de ventiladores mecánicos.

La afinidad de *P. aeruginosa* hacia los tejidos afectados o quemados se puede entender con base a su ubicuidad en el medio ambiente. Bajo estas condiciones, suele tomar ventaja de su notable capacidad para proliferar. Así mismo, destaca su

sorprendente facilidad para adherirse, agregarse y formar biopelículas en cualquier clase de superficie, por lo que representa una de las principales causas de muerte en enfermos que han superado el trauma inicial de las quemaduras, obligando al médico a vigilar cuidadosa y constantemente a los individuos involucrados.

Entre sus numerosos y eficaces factores de virulencia figuran sus flagelos, *pili* tipo IV, lectinas, la matriz de sus biopelículas, lipopolisacáridos, sideróforos, sus efectivos sistemas de secreción de proteínas (entre los que destaca el de tipo III que se describirá posteriormente), hemolisinas, proteasas, fosfolipasas, exotoxinas, bombas de eflujo para expulsar a ciertos antibióticos, así como un sólido y sofisticado mecanismo de *quorum sensing* (QS) que regula la expresión de diversas moléculas destinadas a la protección del microorganismo en contra de las respuestas del sistema inmune del hospedero.

Pseudomonas aeruginosa es *de facto* una de las bacterias más resistentes a los antimicrobianos, pero durante las infecciones que establece las cepas clínicas suelen adquirir eficazmente mayor tolerancia a los fármacos a través de la transferencia horizontal de genes, lo que complica en alto grado la elección adecuada de los antibióticos que pueden salvar la vida de los pacientes debilitados internados en las unidades de cuidado intensivo (UCI) dentro de los nosocomios. Por este motivo, la comunidad científica se encuentra en una intensa búsqueda de otras estrategias o moléculas que permitan detener su especial resistencia a los antibióticos, debido sobre todo a que la producción de este tipo de medicamentos

no ha proporcionado nuevas alternativas efectivas contra este patógeno en los últimos 20 años.

El presente trabajo pretende actualizar los principales datos con que se cuenta acerca de *P. aeruginosa*, incluyendo los aspectos relativos a las enfermedades que provoca al humano, sus crecientes factores de virulencia, sus progresivos patrones de resistencia y las estrategias terapéuticas que se analizan hoy en día para tratar de combatirlo eficazmente.

OBJETIVOS

- Señalar las principales propiedades microbiológicas de *P. aeruginosa*, que permiten llevar a cabo su aislamiento, diferenciación e identificación en el laboratorio.
- Describir las características más importantes asociadas a las enfermedades infecciosas ocasionadas por *P. aeruginosa*, subrayando los aspectos más relevantes sobre su transmisión, signos, síntomas y riesgos para los pacientes afectados.
- Enumerar los principales factores de virulencia de este patógeno oportunista, mencionando sus respectivas funciones durante la patogenia y/o su supervivencia en los tejidos del hospedero.
- Describir los tipos de respuestas con que el sistema inmune humano trata de contener el crecimiento de *P. aeruginosa* y los que tienen que ver con el progreso de la enfermedad y el deceso de los pacientes.
- Señalar los antibióticos utilizados para tratar de contener el crecimiento y diseminación de *P. aeruginosa*, sus principales mecanismos para adquirir

resistencia a los antimicrobianos y el desarrollo de otros agentes terapéuticos que aún se encuentran en estudio.

I. CARACTERÍSTICAS GENERALES

1.1. Taxonomía

El género *Pseudomonas* pertenece al grupo I de homología rRNA en la gamma subclase de las Proteobacterias y sólo se reduce a la inclusión de otras especies del género, doce de las cuales son relevantes clínicamente en humanos. Estas últimas se dividen en dos grupos, con base en su capacidad para producir pigmentos fluorescentes (88, 234).

El grupo fluorescente incluye a *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. veronii*, *P. monteilii* y *P. masselii*; produce pioverdina, un pigmento hidrosoluble amarillo verdoso o amarillo-café que aparecen azul-verdosos cuando se les hace incidir luz UV. Numerosas cepas de *P. aeruginosa* producen un pigmento azul de fenazina denominado piocianina. Cuando la pioverdina se combina con la piocianina se crea el azul-verdoso brillante característico de la especie, el cual muchas veces puede detectarse en las heridas infectadas crónicas. Esta característica separa a *P. aeruginosa* de los otros integrantes del grupo fluorescente (96, 132).

Las especies no fluorescentes son *P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. alcaligenes*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. luteola* y *P. oryzihabitans* (191, 270).

Con base en secuenciación de los genes 16S rRNA, el género ahora se divide en 3 principales linajes, representados por *P. pertucinogena*, *P. aeruginosa* y *P. fluorescens*, las cuales abarcan 254 especies validadas (106, 264).

Pseudomonas spp. es muy versátil, siendo capaz de sobrevivir en un amplísimo rango de hábitats (77, 265), en donde la mayoría de estas bacterias crecen como biopelículas unidas a las superficies, llegando a ser limosas o formando agregados suspendidos (6). Aunque la cantidad de células libres planctónicas puede ser muy bajo, el número total de células de *P. aeruginosa* (biopelículas + células libres) suele ser alto, aún con nutrientes mínimos. En los servicios de salud, puede encontrarse en lavabos, fregaderos, equipos respiradores, agua y equipos de perforación para dentistas (234).

La taxonomía basada en pruebas genómicas continuará originando modificaciones, por lo que los laboratorios clínicos deberán estar pendientes de estos cambios (105, 191).

Pseudomonas spp. incluye especies a las cuales se les considera como aerobias cuando los microbiólogos se basan en su óptimo crecimiento en los medios rutinarios de laboratorio, aunque en la actualidad varios autores afirman que la mayoría de sus especies son facultativas y llegan a proliferar en condiciones anaerobias (80, 270).

1.2. Morfología microscópica

Se trata de bacilos cortos Gram negativos sin agrupación que miden 0.5 a 1 μm por 1.5 a 5 μm , dependiendo de la fase de su crecimiento. Son no esporulados, móviles, con un único flagelo polar y presentan un metabolismo en presencia de oxígeno, como su aceptor final de electrones. En diversas cepas de *P. aeruginosa*, los nitratos pueden ser utilizados como aceptor final, lo que permite su desarrollo en anaerobiosis. La fermentación del piruvato no es suficiente para su crecimiento, pero le permiten sobrevivir en condiciones anaeróbicas, como las que suelen prevalecer en el esputo (26, 30).

La morfología asociada a la tinción de Gram no puede distinguir entre *P. aeruginosa*, otras especies del género y microorganismos fermentadores o no fermentadores. El microorganismo suele presentar un solo flagelo polar monótrico, lo que origina un tipo de movimiento (nado derecho o de reversa) diferente al de las bacterias con flagelos peritricos (81, 265).

1.3. Estructura del genoma

El repertorio genético de *P. aeruginosa* refleja el carácter adaptativo de esta especie bacteriana. La versatilidad metabólica la proporcionan genes que codifican enzimas que participan en las vías metabólicas, reguladores transcripcionales y sistemas reguladores. La secuencia completa del genoma de la cepa PAO1 de *P.*

aeruginosa fue publicada por Stover y cols en 2000. Posteriormente, se secuenciaron los genomas completos de varias cepas (191, 319). El genoma de *P. aeruginosa* PAO1 se utiliza como referencia para comparar con los genomas de otras cepas. *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 tiene un genoma muy grande y complejo, alrededor de 6,3 Mbp (contenido de G + C 66,6%), que codifica 5700 genes, incluidos 5584 marcos de lectura abiertos (ORF) predichos. Además, se estima que 150 de los genes identificados en *P. aeruginosa* PAO1 codifican proteínas de la membrana externa relacionadas con la adhesión, el movimiento, los antibióticos y la producción del factor de virulencia (Ilustración 1), lo que representa un número mucho mayor en comparación con otros genomas (53, 162, 319, 360).

1.4. Cultivo y diferenciación

El fenotipo mucoso puede evidenciar la producción de biopelículas *in vitro*, aunque éstas resultan relativamente pequeñas (de hasta 100 µm), lo que no siempre permite detectarlas (34, 145, 146).

En los exámenes directos se puede apreciar que el microorganismo puede crecer lentamente, requiriendo 2 a 3 días de incubación (370). Su desarrollo *in vivo* en las biopelículas de pulmón o en la expectoración de pacientes con fibrosis quística, demuestra ser más lento que *in vitro* y manifiesta la presencia de diversas bacterias latentes o durmientes (34).

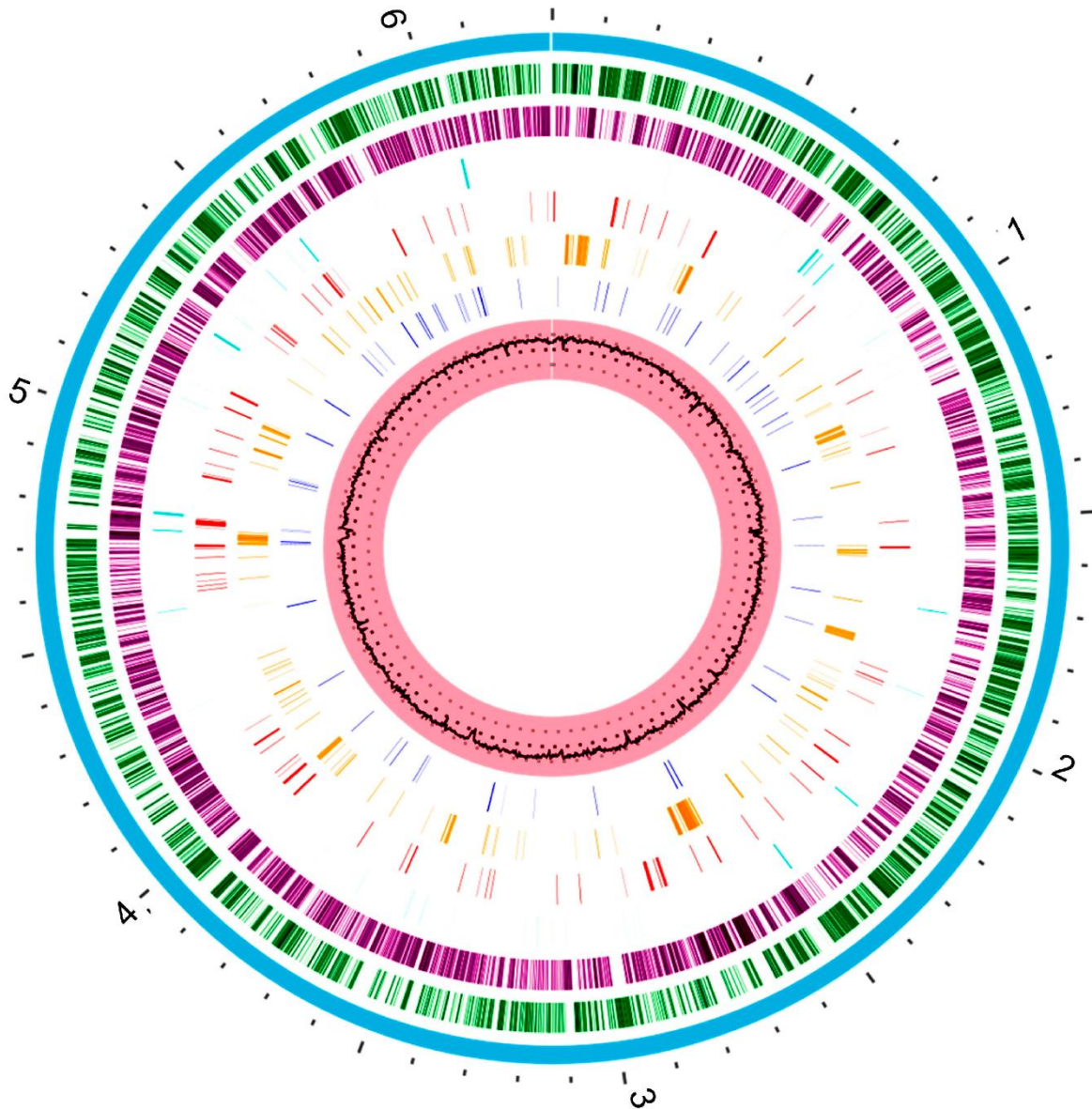


Ilustración 1. Representación circular del genoma PAO1 de *P. aeruginosa* generado con www.patricbrc.org. Este genoma contiene alrededor de 6,3 Mbp. El círculo rosa que contiene un círculo negro en el medio es el porcentaje de contenido de G + C (66,6%). Las barras de color azul oscuro representan un objetivo de droga. Las barras naranjas representan genes que codifican factores de virulencia y las barras rojas genes que codifican resistencia a los antimicrobianos. Las barras cian representan regiones no codificantes. El círculo violeta y verde oscuro representan las regiones codificantes inversa y directa del genoma, respectivamente. Finalmente, el círculo azul que cubre todas las regiones representa el cromosoma completo (319).

Los fenotipos mucoide y no mucoide pueden observarse simultáneamente sobre el crecimiento en las placas, ya que suelen ocurrir mutaciones en el gen *algT*, como también se ha observado en la misma clona cuando parte de sus integrantes se localizan en distintos sitios anatómicos, a los cuales buscan adaptarse (30, 329).

La carencia de éxito y la persistencia de células bacterianas después de la terapia son perfectamente predictibles cuando se observan biopelículas o restos de ellas en las muestras (101). En este caso, el médico puede consultar al microbiólogo buscando el mejor tratamiento en contra de las biopelículas de *P. aeruginosa* (145). La terapia antibiótica puede disminuir (aunque rara vez erradicar) la cantidad de bacterias en esputo y suprimir la diseminación de la infección, lo que al menos implica el mejoramiento de la condición clínica del paciente y el mantenimiento de la función pulmonar (91, 101, 145).

El aislamiento de *Pseudomonas* no siempre se relaciona con alguna enfermedad infecciosa; sin embargo, su presencia a nivel intracelular en los neutrófilos tiene significado clínico, lo que puede ser evaluado al microscopio (145, 359).

El microorganismo tiene requerimientos nutricionales sencillos y desarrolla perfectamente en caldos y agares diversos, como agar tripticaseína soya, agar sangre al 5%, agar chocolate, agar eosina azul de metileno, agar MacConkey y muchos otros medios utilizados para su aislamiento a partir de muestras clínicas. Otros medios selectivos contienen inhibidores como acetamida, nitrofurantoína, fenantrolina o ceftrimida. Actualmente, la ceftrimida y una combinación de

fenantrolina con C-390 son los agentes selectivos de mayor preferencia, aunque se han reportado algunas cepas causantes de fibrosis quística que pueden ser inhibidas por la ceftriaxona y el ácido nalidíxico, lo que obliga a combinar el empleo de medios selectivos y no selectivos para analizar cada muestra (105, 106).

Los agares MacConkey, sangre de borrego o caballo y chocolate son medios muy útiles para aislar a este microorganismo y a otros patógenos que podrían encontrarse en las muestras, como *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, micobacterias no tuberculosas, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter*, *Burkholderia* o *Aspergillus spp* (105). Las placas deben incubarse hasta por 48 a 72 h para abarcar cepas de más lento desarrollo, aunque ocasionalmente conviene esperar hasta 5 días para incluir a cepas asociadas a infecciones crónicas que tardan más tiempo en crecer (370).

1.5. Identificación en el laboratorio

En general, la identificación de éste y muchos otros microorganismos llega a ser más eficaz cuando los microbiólogos disponen de la tecnología MALDI-TOF MS, la cual ha ido reemplazando a los sistemas convencionales de identificación fenotípica en diversos laboratorios clínicos (344), reconociéndose que esta metodología también provee información acerca de las capacidades fisiológicas y bioquímicas de las bacterias (294).

Cabe subrayar que *P. aeruginosa* pertenece al grupo fluorescente del género *Pseudomonas*, debido principalmente a que produce el pigmento pioverdina, el cual fluoresce bajo luz UV de corta longitud de onda; ello se detecta con mayor facilidad en los cultivos obtenidos en el medio King B (80, 180).

La mayoría de las cepas, exceptuando a las que ocasionan fibrosis quística, también sintetiza el pigmento azul-verdoso denominado piocianina, que es detectable en el medio King B (96). Estos pigmentos aparecen en mayor concentración cuando las cepas enfrentan carencia de hierro, ya que se trata de muy efectivos sideróforos implicados en la procuración del vital metal. Lógicamente, los medios que presentan coloración no facilitan la visualización de estos compuestos (80).

La mayor parte de las cepas de *P. aeruginosa* son fácilmente reconocibles en el aislamiento primario, con base en la morfología colonial, producción de pigmentos difusibles, olor característico a uvas o tortilla de maíz y reacción positiva a la prueba de las oxidasas (26, 88). Las principales pruebas para llevar a cabo su identificación en el laboratorio se resumen en la tabla 1.

Las colonias generalmente son planas y difusibles con bordes dentados, manifestando un cierto brillo metálico que se asocia frecuentemente a la autólisis bacteriana (381). Otras morfologías son posibles, incluyendo a las variantes suaves, mucoides y pequeñas (137, 139, 255, 350).

Pseudomonas aeruginosa se diferencia de otras especies en cuanto a su posibilidad de crecer a 42°C. Además de la producción de pigmentos, las pruebas que apoyan su identificación suelen ser la oxidasa, la alcalinización del medio triple azúcar hierro y la reducción de nitratos a nitritos (183, 204). Los aislamientos mucoides obtenidos a partir de pacientes con fibrosis quística pueden experimentar varios cambios fenotípicos, incluyendo lento crecimiento, pérdida de movilidad y producción de pigmentos. Las variantes que originan colonias pequeñas pueden requerir de mayores lapsos de incubación y también llegan a carecer de movilidad; además, suelen adherirse fuertemente a la superficie del agar (por ser hiperpiliadas) y a autoagregarse en los medios líquidos (350).

Tabla 1. Características que fundamentan la identificación de las especies fluorescentes de *Pseudomonas* en muestras clínicas. (144)

Prueba	a	b	c	d	e	f
Oxidasa	99	97	100	100	100	100
Crecimiento:						
MacConkey	100	100	100	ND	ND	ND
Cetrimida	94	89	81 (6)	ND	90	100
6% NaCl	65	43	100	ND	0	100
42°C	100	0	0	0	0	0
Reducción de Nitratos	98	19	0	100	0	0
Gas de Nitratos	93	3	0	100	0	0
Pioverdina	65	96	93	100	100	100
Piocianina	97	0	0	0	0	0
Arginina dihidrolasa	100	97	100	100	100	100
Lisina descarboxilasa	0	0	0	ND	0	0
Ornitina descarboxilasa	0	0	0	ND	0	0
Hidrólisis de:						
Urea	48 (9)	21 (31)	31 (44)	25	50	ND
Gelatina (7 días)	82	100	0	13	0	92
Acetamida	100	6 (12)	0	0	0	ND
Esculina	0	0	0	ND	0	0
Almidón	0	0	0	ND	0	8
Ácido de:						
Glucosa	97	100	100	100	100	100
Fructosa	ND	ND	ND	100	100	100
Xilosa	90	100	100	100	0	0
Lactosa	>1	24	25 (3)	ND	0	0
Sacarosa	0	48	0	100	0	17
Maltosa	<1	2	31	ND	0	17
Manitol	70	53	25	ND	0	75
Citrato de Simmons	95	93	94 (6)	ND	100	100
# de flagelos	1	>1	>1	1	ND	1

CLAVES: a = *P. aeruginosa*; b = *P. fluorescens*; c = *P. putida*; d = *P. veronii*; e = *P. monteilii*; f = *P. mosseilii*; ND = sin datos.

Los datos corresponden a porcentajes de cepas positivas; los porcentajes dentro de paréntesis representan cepas con reacciones tardías.

Tabla 2. Características que fundamentan la identificación de las especies no fluorescentes de *Pseudomonas* en muestras clínicas. (144)

Prueba	i	ii	iii	iv	v	vi
Oxidasa	100	100	100	96	0	0
Crecimiento:						
MacConkey	100	100	100	96	100	100
Cetrimida	4	75 (25)	56 (18)	15	0	25 (28)
6% NaCl	80 (16)	100	62 (6)	41	74	62
42°C	69	100	94	V	94	33
Reducción de Nitratos	100	100	100	54	62	6
Gas de Nitratos	100	100	0	0	0	0
Pioverdina	0	0	0	0	0	0
Piocianina	0	0	0	0	0	0
Arginina dihidrolasa	0	100	78	12	100	14
Lisina descarboxilasa	0	0	0	0	0	7
Ornitina descarboxilasa	0	0	0	0	0	3
Hidrólisis de:						
Urea	33 (22)	50	3 (6)	0	26 (38)	77
Gelatina (7 días)	0	0	0	0	61	17
Acetamida	0	0	ND	ND	ND	ND
Esculina	0	0	0	0	100	0
Almidón	100	0	0	0	0	0
Ácido de:						
Glucosa	96 (4)	100	9	0	100	100
Fructosa	ND	ND	79 (21)	0	ND	ND
Xilosa	93 (7)	75 (25)	18 (12)	0	100	100
Lactosa	0	0	0	0	3 (24)	14 (22)
Sacarosa	0	0	0	0	12	25
Maltosa	100	0	0	0	100	97
Manitol	89 (4)	0	0	0	76 (18)	100
Citrato de Simmons	82 (14)	100	26 (9)	57 (8)	100	97
# de flagelos	1	1	1	1	>1	1

CLAVES: i = *P. stutzeri*; ii = *P. mendocina*; iii = *P. pseudoalcaligenes*; iv = *P. alcaligenes*; v = *P. luteolai*; vi = *P. oryzihabitans*; ND = sin datos.

Los datos corresponden a porcentajes de cepas positivas; los porcentajes dentro de paréntesis representan cepas con reacciones tardías.

II. PRINCIPALES ENFERMEDADES OCASIONADAS POR *Pseudomonas aeruginosa*

La eficaz colonización de los tejidos humanos por parte de *P. aeruginosa* suele ocurrir con mayor frecuencia en regiones anatómicas húmedas tales como el perineo, el conducto auditivo, las axilas y el tracto intestinal. El microorganismo también ha sido aislado a partir de entornos húmedos e inanimados dentro de los hospitales, incluidos los sifones y desagües de los fregaderos, inodoros, duchas, máquinas de hielo, entornos de cocina, trapeadores, agua de jarrones de flores, e inclusive, en las soluciones para limpieza. De hecho, puede convertirse en un problema más especial cuando contamina medicamentos multidosis o dispositivos médicos, incluidos los endoscopios, ventiladores, monitores de presión, equipos de diálisis y similares (8, 41).

Pseudomonas aeruginosa está implicada en infecciones adquiridas, tanto en la comunidad (fuera de los nosocomios), como en los hospitales, aunque es bastante más frecuente en estos últimos. En los Estados Unidos, esta especie representa el sexto patógeno más común implicado en todas las infecciones adquiridas en hospitales, según lo informó en 2016 la Red Nacional de Seguridad de la Atención Médica (NHSN, por sus siglas en inglés). Además, es el segundo patógeno más común asociado a la neumonía relacionada con ventiladores y ocupa el tercer lugar

entre las infecciones del tracto urinario asociadas a catéteres; es el quinto patógeno en infecciones del sitio quirúrgico y el décimo en las infecciones del torrente sanguíneo (BSI, por sus siglas en inglés) vinculadas a catéteres. Los pacientes de alto riesgo hacia las infecciones hospitalarias por *P. aeruginosa* incluyen a quienes ingresan a las UCI y a aquellos que sufren de quemaduras, neutropenia o fibrosis quística (FQ) (16, 276, 328).

Las tasas de *P. aeruginosa* en las infecciones dentro de los hospitales de cuidados intensivos de largo plazo (HCILP) son incluso más altas que las informadas en los entornos hospitalarios. Cabe señalar que los pacientes ingresados a los HCILP generalmente requieren atención prolongada, incluyendo hemodiálisis, ventilación mecánica, medicación intravenosa y cuidado de heridas. El microorganismo es la causa más común de infecciones del tracto urinario asociadas a catéteres y de neumonías asociadas a ventiladores en los HCILP. Cuando se comparan sus tasas de infecciones en los HCILP con las observadas en las UCI, las cifras implicadas en los HCILP resultan mayores (16, 261).

En general, a la infección por *P. aeruginosa* se le considera característicamente nosocomial. No obstante, ha habido un reconocimiento cada vez mayor de su afectación a la comunidad. En el ámbito no hospitalario, la infección por *Pseudomonas* se relaciona con la exposición al agua de baños recreativos (piscinas, jacuzzis, spas), así como con el uso de lentes de contacto, en particular a los de uso prolongado. Las heridas punzantes, incluidas las relacionadas con zapatillas de deporte contaminadas, pueden provocar osteomielitis en los pies. Por

otra parte, la endoftalmitis causada por el microorganismo puede ocurrir después de algún traumatismo ocular y comprometer al órgano visual; además, también figura la endocarditis en consumidores de drogas administradas por vía intravenosa (8, 149).

Pseudomonas aeruginosa exhibe una gran cantidad de diferentes mecanismos de resistencia. Por lo tanto, no sorprende que sus tasas de resistencia a los antimicrobianos y a múltiples fármacos destaquen entre las más altas, en comparación con otros patógenos humanos. Aún más preocupante es la carencia de nuevos agentes antimicrobianos que debieran desarrollarse para combatir las infecciones ocasionadas por esta especie (16, 302).

2.1. Infecciones de heridas por quemaduras

Si bien las quemaduras tienen importantes consecuencias psicológicas y físicas para el paciente, desafortunadamente la invasión de los tejidos implicados siempre ha representado uno de los principales factores que aumentan la tasa de mortalidad en los individuos quemados (223). A pesar de los protocolos de atención estándar, las heridas por quemaduras significan un gran nicho para el crecimiento y la reproducción de bacterias como *Proteus*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli* y *Klebsiella*, entre las cuales *P. aeruginosa* es considerada como el principal agente causal de infecciones en tejidos quemados. Esta bacteria es una oportunista con capacidad de expresar numerosos factores de virulencia y que evidencia resistencia a casi todas las clases de antibióticos, lo que suele relacionarse con su

capacidad para ocasionar infecciones crónicas y provocar el fracaso de los tratamientos en su contra (184, 236).

Debe considerarse que cuando *P. aeruginosa* causa infecciones en quemaduras graves, la sepsis representa una de las principales causas de muerte en los pacientes involucrados. Se reporta una mortalidad de hasta 75% debido a septicemias causadas por esta y otras bacterias. Un estudio realizado en hospitales militares del sur de Jordania entre junio de 1990 y mayo de 1998 estableció que el microorganismo era una causa común (42.6%) de infección invasiva en heridas por quemaduras. Por otra parte, otro trabajo del hospital Al-Kendi, entre octubre de 2007 y junio de 2008, demostró que *P. aeruginosa* era una causa frecuente (48.9%) de invasión de quemaduras (216, 302).

Los principales factores asociados a las infecciones de quemaduras suelen ser la destrucción térmica de la piel y la depresión concomitante de la respuesta inmune celular, local y sistémica, del hospedero. Aunque la superficie de las heridas ocasionadas por quemaduras es estéril, inmediatamente después de la lesión térmica (dentro de las primeras 48 h), los microorganismos colonizan la herida, la cual es rica en proteínas y tejido necrótico no vascular. Inicialmente los tejidos son colonizados por microorganismos Gram positivos, como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, antes de la infección por *P. aeruginosa*. Con el tiempo, otras bacterias y levaduras también colonizan las heridas, proviniendo del tracto gastrointestinal o del respiratorio superior de los pacientes (184,

216). Estudios recientes con individuos quemados demostraron que la lesión térmica provoca una producción deficiente de péptidos defensivos del hospedero (β -defensinas) en los tejidos vecinos a la quemadura, lo que predispone al enfermo. El deterioro de la inmunidad del hospedero y la pérdida de la integridad de la piel permiten que patógenos oportunistas ingresen al cuerpo y ocasionen infecciones. Un experimento realizado en modelos de animales quemados dio como resultado el desarrollo de biopelículas por *P. aeruginosa* completamente desarrolladas en 48 a 72 h. Evidentemente, estas estructuras bacterianas reducen aún más el efecto del tratamiento de la herida, ya que los microorganismos son más resistentes a la acción de los antibióticos (273).

La infección de quemaduras por *P. aeruginosa* suele manifestarse como un pigmento verde en el tejido graso subcutáneo, con aspecto eritematoso; luego se convierte en una lesión nodular, necrótica y negra. Un estudio realizado en la India encontró *P. aeruginosa* en el 54.9% de los pacientes quemados, con un alto nivel (76.8%) de resistencia a múltiples fármacos (223, 302).

González y cols realizaron un estudio para monitorear el efecto del exudado de heridas por quemaduras sobre el crecimiento y la expresión de factores de virulencia de *P. aeruginosa*. Los resultados indicaron que el microorganismo puede crecer en el exudado de heridas por quemaduras, aunque a una tasa de duplicación menor en comparación con su control normal; otros patógenos comunes de heridas por quemaduras no lograron desarrollar (108). También se observó un aumento en

la expresión de todos los factores de virulencia, como el *quorum sensing* (QS), la piocianina, la pioverdina, la elastasa y el ramnolípido, cuando se cultivó a *P. aeruginosa* en el exudado de una quemadura (108, 302).

Unas moléculas de señalización intracelular, como la 4-hidroxi-2-alkilquinolina (HAQ), que participan en la quelación del hierro parecen dictar el curso de la infección. Que y cols demostraron por primera vez que muestras clínicamente importantes de *P. aeruginosa* aisladas de infección activa en heridas humanas por quemaduras producen y excretan niveles detectables de HAQ (273, 302).

2.2. Infecciones de oído

Otitis externa aguda (OEA)

La OEA puede ocurrir hasta en un 10% de la población. Se presenta como una inflamación generalizada del canal auditivo externo (CAE) que es debida casi exclusivamente a una infección bacteriana. Puede ocurrir en cualquier grupo etario, aunque se observa con mayor frecuencia entre los 2 y los 18 años, con una incidencia máxima entre los 5 y los 14 años. Cabe señalar que algunos casos se han relacionado con el uso de instrumentos de irrigación auditiva contaminados con bacterias. Cuando se trata de infecciones, las bacterias causan más del 90% de las OEA, siendo *P. aeruginosa* la especie aislada más comúnmente. La OEA resulta en una carga personal sustancial, debido al mayor uso de medicamentos y a la incapacidad para realizar las actividades diarias (226, 336).

El CAE es un tubo que va desde el oído externo hasta la membrana timpánica y está cubierto por una fina capa de piel. Se cree que el cerumen representa un componente importante en la defensa del CAE contra las infecciones, ya que es ácido y contiene lisozima, la cual suele impedir el crecimiento bacteriano para proteger el CAE. Es probable que los cambios en el entorno del CAE puedan predisponer a la infección (10, 226).

Factores de riesgo. Numerosos estudios han detectado factores de riesgo asociados a la OEA. Probablemente el de mayor importancia sea nadar en agua dulce contaminada. Los episodios previos de la OEA pueden ser factores predisponentes, como también lo son los audífonos y tapones para los oídos. Estos dispositivos pueden favorecer las infecciones, al causar lesiones en la piel del canal auditivo. El clima cálido y húmedo también puede ser un factor contribuyente, así como la limpieza excesiva del canal auditivo, que eliminaría el cerumen, lo que potencialmente provocaría una infección. Comorbilidades como la diabetes y la desnutrición también pueden predisponer a la infección del CAE (226, 271).

Complicaciones de la OEA. Las complicaciones de la OEA suelen ser poco frecuentes. Algunas personas presentan episodios repetidos de OEA o inflamación persistente del CAE durante más de 3 meses, condición que se conoce como otitis externa crónica. Otras complicaciones incluyen abscesos en el CAE, que involucran crecimientos microbianos dolorosos generadores de pus y persisten después de la

infección. La estenosis, un estrechamiento del canal auditivo, se debe a la acumulación de piel gruesa y seca. La celulitis puede ocurrir como resultado de OEA y las bacterias pueden penetrar capas más profundas de la piel del CAE como resultado del daño, lo que obligaría a un tratamiento más prolongado. La otitis externa maligna es una complicación rara pero muy grave de la OEA, que se produce principalmente en adultos inmunodeprimidos. La infección se propaga al hueso y cartílago que rodea el CAE (10, 226, 336).

Otitis media crónica supurativa (OMCS)

Pseudomonas aeruginosa también es uno de los principales causantes de OMCS, conocida como otitis media mucosa crónica activa, otomastoiditis crónica y tímpano-mastoiditis crónica. La bacteria causa inflamación crónica del oído medio y de la cavidad mastoidea, lo que además resulta en una secreción recurrente del oído o pérdida de audición por otorrea, debido a la perforación de la membrana timpánica. La OMCS puede causar secreción del oído, pérdida de audición o, en raras ocasiones, complicaciones como fiebre, otalgia, vértigo, meningitis, parálisis del nervio facial y absceso cerebral. Mittal y cols, utilizando ensayos realizados en animales y células humanas, demostraron que las cepas otopatógenas de *P. aeruginosa* pueden entrar y sobrevivir dentro de los macrófagos (175). La endocitosis de bacterias por células humanas depende de la polimerización de actina, mientras que la expresión de OprF juega un papel importante en la supervivencia intracelular de *P. aeruginosa*. Un centro de atención terciaria ubicado en Uttarakhand, India, realizó un estudio para conocer la prevalencia de *P.*

aeruginosa entre pacientes que padecen OMCS, encontrando que *P. aeruginosa* es una de las principales causas de OMCS (32.1%) incluyendo un número sustancial de cepas resistentes a múltiples fármacos (MDR, por sus siglas en inglés). Cada año se notifican en todo el mundo más de 700 millones de casos de OMCS, y se considera que los niños menores de 5 años son más vulnerables al microorganismo (10, 302, 366).

2.3. Infecciones oculares

Endoftalmitis

La endoftalmitis es una infección grave y de rápida progresión que afecta a los humores acuoso y/o vítreo del ojo, lo que a menudo provoca pérdida de la visión. Los enfermos presentan dolor ocular intenso, disminución de la agudeza visual e hipopión (material purulento y una capa de glóbulos blancos en la cámara anterior) (Ilustración 2A) (247). Las infecciones se deben predominantemente a lesiones penetrantes en el ojo o a complicación de la cirugía ocular asociada a cataratas. La endoftalmitis endógena por bacteriemia es rara y sólo ocurre en 2 a 6% de todos los casos; generalmente hay otros focos de infección presentes. Los resultados de la endoftalmitis endógena son de mal pronóstico: el 32% de los pacientes requiere de “contar los dedos”, el 44% queda ciego y el 25% requiere evisceración o enucleación (16).

Se han informado numerosos brotes nosocomiales después de cirugías de cataratas. Los síntomas suelen aparecer 1 a 14 días después de la operación. Las fuentes incluyen soluciones e instrumentos quirúrgicos contaminados, deficiencias en las prácticas de control de infecciones y contaminación por microbiota conjuntival o palpebral (16, 92).

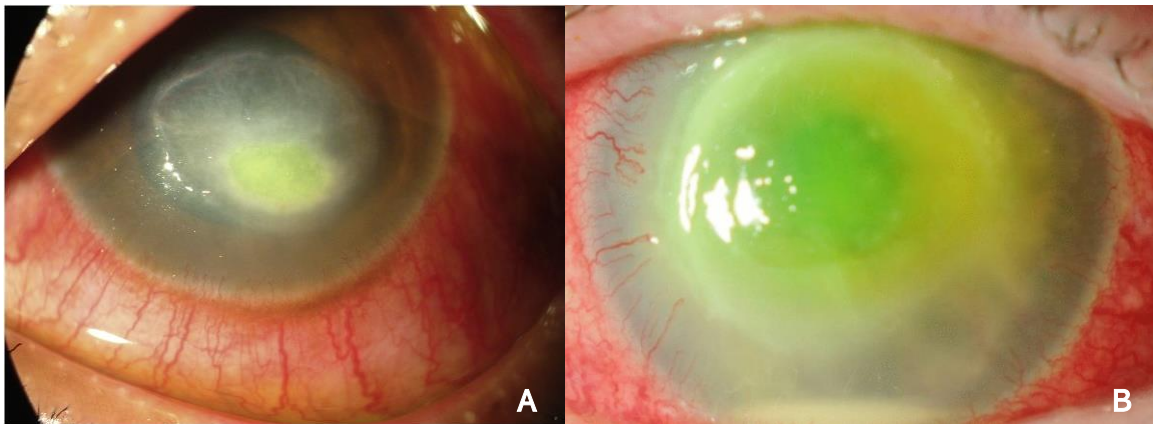


Ilustración 2. *Queratitis por P. aeruginosa.* **(A)** Se muestra infiltrados corneales difusos que se extienden desde el centro hasta la periferia media de la córnea (6,5 mm de diámetro), defecto epitelial superpuesto (diámetro en el meridiano más largo = 2,9 mm), con un margen irregular e inyección perilimbal y difusa (310). **(B)** *Queratitis por P. aeruginosa.* Absceso en forma de anillo y el hipopión (presencia de células inflamatorias en la cámara anterior del ojo) (142).

Queratitis

La queratitis es una enfermedad oftalmológica en la que la córnea se inflama y puede provocar la pérdida parcial o total de la visión en casos graves. La enfermedad suele ser el resultado de alguna infección por bacterias, hongos, virus o protozoos, o de daños no infecciosos, como los ocasionados por traumatismo ocular, exposición a productos químicos o luz ultravioleta. Frecuentemente, la

queratitis microbiana abarca la ulceración de la córnea, con neovascularización posterior, cicatrización y pérdida de visión. La etiología y la aparición de la queratitis microbiana varían geográficamente, dependiendo en gran medida del clima y el nivel de industrialización. Después de las cataratas, la queratitis bacteriana es la segunda causa más importante de ceguera legal en todo el mundo (51, 142).

En los casos de queratitis bacteriana, los agentes causales más comunes son *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Streptococcus spp.* y *Enterobacteriaceae*. En los casos asociados al uso de lentes de contacto, *P. aeruginosa* es consistentemente el microorganismo aislado más frecuentemente de los raspados corneales (142, 306).

La queratitis bacteriana suele presentarse en forma repentina, con dolor ocular, enrojecimiento, visión borrosa, lagrimeo, fotofobia y secreción purulenta. El dolor agudo es el principal síntoma en el 30 a 44% de los casos relacionados con lentes de contacto. La progresión del dolor se produce en 14% de los enfermos, pudiendo calificarse de moderado a intenso en aproximadamente nueve de cada diez casos que presentan un cuadro agudo. Asimismo, el enrojecimiento es un síntoma recurrente en el 31% de los casos con queratitis microbiana relacionada con lentes de contacto. El dolor con adelgazamiento rápido del estroma y descemetocèle debe generar la inmediata sospecha de infección por *P. aeruginosa*. El diagnóstico de queratitis bacteriana se basa en los síntomas, la historia, los

factores de riesgo presentes, el examen clínico, el frotis y cultivo del raspado corneal (306, 310).

La queratitis por *P. aeruginosa* se presenta típicamente con una lesión epitelial grande y daño estromal difuso, dentado y de rápida necrosis, con una apariencia de color blanco-amarillento (Ilustración 2A). La lesión puede extenderse hacia el endotelio en las formas graves y, en última instancia, provoca la perforación corneal. Las otras características importantes de la queratitis por *Pseudomonas* son la apariencia de vidrio esmerilado y la pérdida de transparencia del estroma corneal circundante. Oka y cols informaron abscesos anulares en el 50% de los casos con queratitis por *Pseudomonas* ligados al uso de lentes de contacto (252, 310).

Respuesta del hospedero. Una característica importante de la queratitis por *P. aeruginosa* es la presentación de un absceso anular (Ilustración 2B), en el que la acumulación en forma de anillo de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) rodea la lesión central. Las lesiones dentadas y satélites también se asocian a queratitis por este microorganismo, aunque a las primeras aparentan el resultado de un proceso fúngico. Gran parte del daño causado al ojo durante la queratitis microbiana se debe a la sobreestimulación del sistema inmunológico del hospedero por parte de “células extrañas” ubicadas en el ojo. En la córnea, los macrófagos y las células dendríticas desempeñan un papel muy importante al inicio de la respuesta inmune innata. La expresión de receptores de reconocimiento de patrones (PRR, por sus siglas en inglés), como los receptores tipo toll (TLR) y los de tipo NOD (dominios de

oligomerización de unión a nucleótidos), permite al sistema inmune del individuo reconocer estructuras patógenas conservadas conocidas como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). La activación de los PRR da como resultado la producción de una cascada de citoquinas inflamatorias como IL-1, IL-6 e IL-8 a través de NF- κ B. En macrófagos, los receptores TLR4 y TLR5 reconocen a la flagelina y al lipopolisacárido (LPS) de *P. aeruginosa* por lo que inician una vía proinflamatoria mediada por el gen de respuesta primaria de diferenciación mieloide 88 (MyD88). Se ha demostrado que el tratamiento previo con flagelina actúa de forma protectora en modelos murinos, al amortiguar la regulación positiva de IL-24, que suprime las respuestas inmunes mucosas tempranas y, consecuentemente, conduce a una mayor gravedad de la enfermedad. La estimulación de la respuesta inflamatoria provoca daño corneal, la consiguiente cicatrización y pérdida de la visión (51, 252).

Lógicamente, el reclutamiento prolongado de PMN y de otros glóbulos blancos se asocia a cicatrices corneales; de hecho, existen pruebas en ratones en el sentido de que una reducción en el reclutamiento de PMN en la córnea, conduce a la reducción significativa del daño tisular. Sin embargo, no está claro si una reducción en la respuesta de PMN se asocia a una mayor invasión tisular y a retención de patógenos en la córnea (142, 306).

Además de la cascada inflamatoria inicial, existen varios factores que protegen al ojo como parte integral del sistema inmunológico innato. Aquellos incluyen

compuestos químicos que siempre están presentes en el líquido lagrimal y ayudan en la protección generalizada contra patógenos microbianos. El hierro también es un nutriente esencial para los microorganismos y, por lo tanto, la lactoferrina presente en el líquido lagrimal secuestra al hierro, lo cual ocurre en todos los tejidos del organismo humano. El peptidoglicano de la pared celular bacteriana suele ser destruido mediante la enzima lisozima, y los lípidos de membrana presentes en ciertas bacterias pueden escindirse mediante la acción de la fosfolipasa A2 secretora. Las células de la superficie ocular también producen otros factores protectores al detectar presencia de bacterias: por ejemplo, las defensinas, que crean poros en las membranas celulares bacterianas, y los metabolitos del ácido araquidónico, que pueden ayudar al reclutamiento de leucocitos (51, 142, 252, 306).

2.4. Infecciones de la piel

Ectima gangrenoso

En general, el ectima gangrenoso corresponde a una manifestación característica de la bacteriemia por *P. aeruginosa* en los pacientes inmunocomprometidos, especialmente en aquellos con neutropenia. Se ha observado en aproximadamente entre el 1.3 y el 3% de los casos de bacteriemia por *P. aeruginosa*. Sin embargo, el ectima gangrenoso también puede ser causado por otras bacterias, incluidas *S. aureus* y *Citrobacter freundii*, hongos y virus; además, se ha documentado que ocurre entre hospederos inmunocompetentes, aunque lógicamente con una incidencia mucho menor, e inclusive, en ausencia de bacteriemia. Sin lugar a duda, la presencia de esta lesión cutánea debería generar una alta sospecha de

bacteriemia por *P. aeruginosa*, pues la lesión resulta de la invasión bacteriana perivascular de la túnica media y la adventicia de arterias y venas con necrosis isquémica secundaria. Las lesiones inician como máculas rojas únicas, o múltiples que progresan a vesículas y hasta lesiones ampollosas o pustulosas. Se produce hemorragia y necrosis en la parte central, seguidas por el desarrollo de una escara gris negruzca con eritema circundante, en un plazo de 12 a 18 h (Ilustración 3). Todas las partes del cuerpo pueden verse afectadas, pero las áreas anogenital y axilar son las más involucradas. En cuanto a la histología, se observa necrosis epidérmica y dérmica superior, infiltrado de células inflamatorias, vasculitis necrotizante y trombosis vascular (8, 305).



Ilustración 3. Lesión por ectima gangrenoso. Mujer de 21 años con leucemia mieloide aguda. La lesión comenzó en su rodilla izquierda después de 5 días de quimioterapia, como una mácula eritematosa indolora (A), que progresó rápidamente hacia una pústula violácea (B). En los cultivos de sangre y heridas creció *P. aeruginosa* (8).

Paroniquia y síndrome de la uña verde

La paroniquia es la inflamación aguda o crónica de los pliegues ungueales proximales y laterales. *Pseudomonas aeruginosa* puede causar paroniquia aguda o crónica y, en estos casos, el dedo afectado duele y aparece edematoso con secreción de pus. El síndrome de la uña verde es una extensión de la paroniquia crónica, con una coloración verde azulada de la placa ungueal, debido a la difusión de piocianina y pioverdina producidas por *Pseudomonas spp.* a través del lecho ungueal (Ilustración 4A) (8,16, 24).

El síndrome de la uña verde se limita comúnmente a una o dos uñas, con afectación parcial o completa de la placa ungueal. La infección se caracteriza por una placa ungueal indolora con piel eritematosa o sensible alrededor de la uña. Un individuo infectado puede favorecer la diseminación de la bacteria en forma autóloga, al rascar o frotar la piel, especialmente cuando la superficie cutánea está dañada (238, 302).

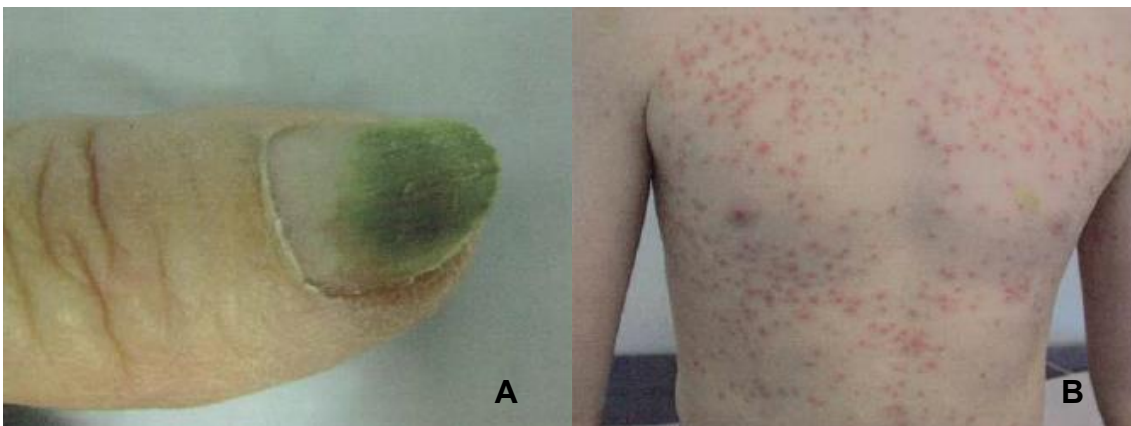


Ilustración 4. Síndrome de la uña verde y Foliculitis. **(A)** Síndrome de la uña verde causado por *P. aeruginosa*. **(B)** Lesiones producidas por *P. aeruginosa* en la región del tronco (16).

Foliculitis

La foliculitis debida a *P. aeruginosa* por el uso del jacuzzi corresponde a una infección del infundíbulo (segmento superior) del folículo piloso, justo debajo de la superficie de la piel (8). Se trata de una foliculitis superficial maculopapular dolorosa y pruriginosa que se torna vesículo-pustulosa en las 24 a 48 h posteriores a la exposición; asimismo, su remisión es espontáneamente en 7 a 14 días (8, 321).

Generalmente, inicia con la aparición repentina de numerosas pápulas y pústulas dolorosas, grandes y monomorfas (Ilustración 4B). Las lesiones a menudo se concentran en partes del cuerpo que han estado en contacto con agua contaminada y suelen aparecer de 8 a 48 h después de la exposición. En los pacientes inmunodeprimidos, la foliculitis puede progresar a ectima gangrenoso; de hecho, en pacientes con SIDA la infección puede provocar nódulos subcutáneos o foliculitis progresiva con celulitis. Una complicación en los niños es el síndrome de los “pies calientes”, el cual se caracteriza por la presencia de nódulos plantares dolorosos (153, 302).

Fascitis necrotizante

La infección por *P. aeruginosa* en la piel y las capas fasciales es un trastorno poco común pero particularmente grave. Se caracteriza por destrucción e inflamación progresiva, que además produce una necrosis cutánea fulminante y la muerte. La propagación de la fascitis necrotizante resulta directamente proporcional al grosor de la capa subcutánea, a medida que avanza a lo largo del plano fascial. Una

variación específica de la fascitis necrotizante se conoce como gangrena de Fournier y se caracteriza por malestar escrotal, dolor perineal, edema, ampollas y necrosis (65, 278, 302).

2.5. Infección de huesos y articulaciones

Por lo general, los huesos y las articulaciones son áreas estériles, pero las bacterias pueden alcanzar dichos sitios por diseminación hematológica o por focos de infección contiguos, exógenos y endógenos (302, 313). *Pseudomonas aeruginosa* es una causa común de infecciones óseas en pacientes con dispositivos permanentes o prótesis utilizadas en ortopedia y neurocirugía. Además, la osteomielitis vertebral, la artritis séptica sacroilíaca y la artritis séptica esternoclavicular se han documentado ampliamente en usuarios de drogas intravenosas (UDI) (8, 222).

Artritis séptica

Pseudomonas aeruginosa llega a presentarse en 10% de los casos de artritis séptica esternoclavicular; los factores de riesgo más comunes incluyen el uso de drogas intravenosas, diabetes mellitus, traumatismos serios y vías venosas centrales infectadas (302). La artritis séptica esternoclavicular y sacroilíaca causada por este microorganismo ocurre casi exclusivamente en UDI. Antes de los 80s, *P. aeruginosa* se detectaba en la artritis séptica esternoclavicular, relacionándose con

la inyección de tripelenamina y pentazocina y como resultado de bacteriemia secundaria a la inyección de drogas ilícitas contaminadas (8, 165).

Osteomielitis

Las manifestaciones clínicas de la osteomielitis vertebral por *P. aeruginosa* suelen ser frecuentemente fiebre, dolor de cuello o de espalda (8). En un estudio de 454 pacientes con osteomielitis, se observó que el microorganismo estuvo implicado en 4.4% de los casos. Tummala y cols reportaron que *P. aeruginosa* es el patógeno más común que causa osteomielitis entre los microorganismos Gram negativos (302, 374).

La osteomielitis del pie por *Pseudomonas* puede ser consecuencia de heridas punzantes en la superficie plantar y de la inoculación del patógeno por el uso de zapatillas deportivas contaminadas. La mayoría de los casos se reportan en niños, aunque también afecta a adultos, con dolor en el pie y celulitis superficial alrededor de la herida. La especie también tiene el potencial para afectar el pie diabético, especialmente cuando ocurre una exposición frecuente al agua (8, 224, 304).

2.6. Infecciones del torrente sanguíneo (BSI)

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno humano importante, en especial cuando se trata de infecciones nosocomiales. Varios estudios publicados sobre las BSI han conducido a la clasificación de esta especie en la lista de los cinco principales

agentes causales Gram negativos. Más recientemente, en EUA se ha confirmado a *P. aeruginosa* como causa de BSI, asociándola a considerables tasas de morbilidad y mortalidad (18, 284).

Las BSI debidas a *P. aeruginosa* se asocian a tasas de mortalidad entre 43.2 y 58.8%, involucrando a cepas MDR en 16.7 a 28% de las BSI ocasionadas por esta especie; sin duda, la mayor mortalidad se debe a cepas MDR. Evidentemente, la BSI *por P. aeruginosa* suele representar una bacteriemia adquirida en el hospital, en comparación con todas las BSI por bacterias Gram negativas (51% frente a 27%), como lo determinó un estudio de 13 años de todas las BSI en un gran centro médico universitario. Se estima que *P. aeruginosa* representa el 4% de todas las BSI asociadas a vías centrales (134, 281).

Desafortunadamente, los pacientes que padecen de neoplasias hematológicas presentan mayor riesgo de desarrollar bacteriemia *por P. aeruginosa* durante la hospitalización y, desde luego, los individuos con inmunodeficiencias e insuficiencia renal también son susceptibles de contraer este tipo de cuadros. Otro dato infortunado es el relativo a la tasa de mortalidad en los niños con bacteriemia *por P. aeruginosa*, la cual oscila entre 14.5 y 50%. El mal pronóstico se asocia fuertemente a múltiples factores, como enfermedades subyacentes, gravedad de la infección (shock séptico o insuficiencia respiratoria), los propios cuidados intensivos, la resistencia a múltiples fármacos y el inadecuado tratamiento antimicrobiano. Un estudio prospectivo de Cattaneo y Osmon también reveló que las infecciones del

torrente sanguíneo por *P. aeruginosa* se asocian a una mayor mortalidad hospitalaria. Osmon y cols también mostraron que la bacteriemia ocasionada por esta especie genera costos sanitarios sustanciales, en comparación con las infecciones del torrente sanguíneo causadas por otros patógenos (64, 127, 147).

Si bien existe cierta variación en la cantidad de decesos de los diferentes estudios, ello es reflejo de la multitud de factores que afectan los resultados asociados a las infecciones del torrente sanguíneo. Entre los principales factores de riesgo relacionados con mortalidad, destacan: las edades avanzadas, alta puntuación APACHE (*High Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*), sepsis, estado funcional deficiente, bacteriemia polimicrobiana e inadecuados tratamientos antimicrobianos iniciales. La invasión sanguínea suele provenir de infecciones primarias en diferentes regiones, incluyendo neumonía, infección del tracto urinario, infección intraabdominal complicada (peritonitis, abscesos) y endocarditis. Sin embargo, el origen de la bacteriemia también puede ser desconocido hasta en 40% de los casos. Las manifestaciones pueden incluir sepsis y shock séptico, con evidencia de fiebre, taquicardia, taquipnea, hipotensión y cambios en el estado mental, variando estos desde confusión hasta coma, aunque son bastante más frecuentes la insuficiencia multiorgánica con síndrome de dificultad respiratoria del adulto y la insuficiencia renal aguda ligada a defectos de coagulación (8, 334).

Una posibilidad relativamente frecuente de la BSI por *P. aeruginosa* es la aparición de ectima gangrenoso; si bien este no es patognomónico, la presencia de las

lesiones cutáneas características debe generar la sospecha de este patógeno (8, 16).

2.7. Endocarditis infecciosa (EI)

Pseudomonas aeruginosa puede causar EI, principalmente en válvulas nativas, aunque también lo hace en las protésicas. Sus complicaciones son comunes y las tasas de mortalidad son altas, oscilando entre el 36 y el 60%. En los lustros anteriores, más del 90% de los casos se referían a UDI; no obstante, los UDI sólo se relacionaban con 4% de los casos, involucrando a bacilos aeróbicos Gram negativos no HACEK (*Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella* y *Kingella*), según una encuesta multinacional que incluyó a 49 pacientes entre 2000 y 2005 (63, 196). En este sentido, la mayoría de los UDI con EI por *P. aeruginosa* habían utilizado tripelenamina y pentazocina con agua o parafernalia contaminada. Los pacientes presentan predominantemente endocarditis en el lado derecho, pero las manifestaciones clínicas de la endocarditis por este microorganismo semejan a las de otros orígenes. Cabe mencionar que la endocarditis del lado izquierdo también ocurre en usuarios de drogas inyectables no intravenosas, aunque esto ocurre con baja frecuencia y está ligada predominantemente a alguna infección nosocomial posterior a procedimientos invasivos (8, 159, 348).

La endocarditis infecciosa debida a *P. aeruginosa* es rara, excepto entre los UDI, representando menos de 0.5% de los casos totales. Una revisión reciente de 27

casos durante 20 años reveló que el 75% estaba relacionado con atención médica; la mitad había requerido cirugía y un tercio recayó después de un tratamiento aparentemente adecuado, debido a la resistencia a múltiples antibióticos por parte de *P. aeruginosa* (94, 194, 333).

2.8. Infecciones del tracto urinario (ITU)

Las ITU son causadas principalmente por bacterias Gram negativas, siendo *Escherichia coli* y otras enterobacterias las que encabezan la lista de los principales agentes etiológicos. Las ITU son comunes en pacientes hospitalizados y representan entre el 20 y el 49% de las infecciones nosocomiales (82, 228, 249).

Sin embargo, el tracto urinario es también uno de los sitios más frecuentes de infecciones asociadas a la atención sanitaria; por lo que se refiere a *P. aeruginosa*, se atribuyen a esta especie entre 7 y 10% de las ITU diagnosticadas en pacientes hospitalizados. El mayor riesgo de este tipo de infecciones es su alta implicación entre las principales causas de invasión del torrente sanguíneo, conduciendo a una mortalidad mayor que la de otras infecciones bacterianas del torrente sanguíneo. Las tasas de resistencia de *Pseudomonas* a los antibióticos utilizados para tratar las ITU han ido en progresivo y peligroso aumento, pues el microorganismo muestra una creciente tolerancia a múltiples fármacos (119, 228, 337).

La sepsis posterior a las ITU por *P. aeruginosa* suele ser mortal en pacientes de edad avanzada, individuos inmunocomprometidos y personas con diabetes. La alteración de la capa epitelial del tracto urinario durante la aplicación de catéteres promueve la colonización bacteriana, con base en la formación de biopelículas. En este sentido, las ITU asociadas a catéteres representan del 20 al 49% de todas las infecciones nosocomiales y el patógeno ingresa por las vías extraluminal o intraluminal del dispositivo plástico (228, 287). Peñaranda y cols demostraron que *P. aeruginosa* puede sobrevivir intracelularmente en las células epiteliales de la vejiga, establecer una infección estable y mostrarse tolerante a los antibióticos en modelos *in vivo* e *in vitro*. Estají y cols aislaron 70 cepas de *P. aeruginosa* provenientes de pacientes iraníes con ITU; sus hallazgos mostraron una alta diversidad genética entre las cepas y 35% de los casos eran ITU asociadas a catéter. Las cepas aisladas también mostraron resistencia a los antibióticos beta-lactámicos, a través de los genes SHV y TEM. *Pseudomonas aeruginosa* causa entre 1 y 4% de ITU después de una cistoscopia flexible. Sorbetes y cols informaron sobre un brote que alcanzó hasta el 10.2% de afectados después de efectuar la exploración de la vejiga con un cistoscopio contaminado (109, 249, 302).

Sin lugar a duda, las ITU ocasionadas por *P. aeruginosa* suelen ser muy difíciles de tratar, debido a la virulencia multifactorial de la especie, pero sobre todo a su notable resistencia a los antibióticos (83, 228, 358).

2.9. Infecciones en los sitios quirúrgicos (ISQ)

Las infecciones que se ubican en los sitios quirúrgicos involucrados pueden afectar la piel, el tejido subcutáneo, los tejidos blandos y cualquier parte de los órganos y espacios afectados con las incisiones practicadas por el cirujano. Su importancia es incuestionable, ya que representan el 17% de las infecciones nosocomiales (243, 303).

Entre las infecciones asociadas a la atención médica, notificadas a la Red Nacional de Seguridad de la Atención Médica de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) entre 2011 y 2014, se evidenció que el 5.7% de las referentes al sitio quirúrgico fueron secundarias, siendo las cirugías mamarias y las cardíacas las más asociadas a *P. aeruginosa*. Datos obtenidos en Inglaterra entre 2000 y 2013 mostraron que las especies de *Pseudomonas* ocasionaban anualmente entre 4.3 y 6.5% de todas las ISQ y que, además, las infecciones por *P. aeruginosa* posteriores a la cirugía suelen ser particularmente peligrosas. Un estudio retrospectivo sobre cirugías cardíacas realizadas en un hospital universitario durante 7 años mostró que las infecciones por *P. aeruginosa* se relacionaron a mayores mortalidades (7, 12, 231, 281).

2.10. Infecciones del tracto respiratorio

Fibrosis quística (FQ)

La FQ es un trastorno genético autosómico recesivo causado por una mutación en un gen que codifica para el regulador de conductancia transmembranal de la fibrosis quística (CFTR), correspondiente a un canal de transporte de iones cloruro y bicarbonato que mantiene el equilibrio osmótico a lo largo de extensas superficies epiteliales (218, 256). La FQ es una enfermedad multiorgánica, aunque su mortalidad se debe principalmente a las complicaciones pulmonares (256, 286).

De acuerdo con estudios acerca de la biología y fisiopatología de la FQ, *P. aeruginosa* es un agente causal destacado en lo referente a la infección pulmonar crónica. Este es el patógeno predominante en pacientes adultos con FQ, pues aproximadamente tres cuartas partes de los individuos con FQ son infectados por este microorganismo. Numerosos estudios también encuentran que la infección por este agente etiológico es un determinante de la función pulmonar decreciente y, por ese motivo, una de las principales causas de insuficiencia respiratoria y mortalidad entre los pacientes (83, 218).

El regulador de conductancia transmembranal. La disfunción del CFTR provoca incapacidad para regular el transporte de iones cloruro y bicarbonato a través del epitelio, lo que resulta en una disfunción multiorgánica, en la que las principales manifestaciones clínicas de la FQ incluyen un alto contenido de cloruro en el sudor (parámetro que es la base de la técnica de diagnóstico estándar para la FQ), íleo meconial, obstrucción intestinal distal, insuficiencia pancreática exocrina, alteración del crecimiento, infertilidad masculina e infecciones pulmonares crónicas y recurrentes debidas a patógenos oportunistas (125, 218, 285).

En términos generales, los déficits en la respuesta inmune debido a la disfunción del CFTR traen como resultado una clara predisposición a infecciones pulmonares agudas y, en última instancia, a las crónicas con patógenos oportunistas. Posteriormente, una combinación de productos inmunes inflamatorios del hospedero y los factores de virulencia bacteriana provocan un daño pulmonar progresivo a lo largo de la vida del paciente con FQ, lo que resulta en insuficiencia respiratoria, la obligada candidatura para un trasplante de pulmón y, finalmente, la muerte (218, 311).

Los pacientes con FQ pueden mostrar cambios permanentes en la arquitectura pulmonar dentro de los primeros 5 años de vida: a la edad de 3 años, los enfermos a menudo muestran atrapamiento de aire, obstrucción mucosa y bronquiectasias (agrandamiento duradero de las vías respiratorias), detectables con base en tomografías computarizadas (TC); también se observan niveles elevados de marcadores inflamatorios (por ejemplo, la elastasa de neutrófilos), así como infección polimicrobiana neumónica, con patógenos que persisten hasta las últimas etapas de la enfermedad (sobre todo *S. aureus* y *P. aeruginosa*) (56, 86, 218).

Fisiopatología pulmonar de la FQ. La incapacidad para secretar iones cloruro y bicarbonato hacia la luz de las vías respiratorias, normalmente equilibra la reabsorción de sodio a través de un canal diferente, denominado canal epitelial de Na^+ . La reabsorción de sodio sin oposición trae como resultado la absorción neta de agua por parte del epitelio respiratorio, lo que resulta en la deshidratación del

líquido de la superficie de las vías respiratorias (ASL, por sus siglas en inglés). Este fluido desempeña múltiples funciones, pero la principal consiste en la hidratación del moco, un componente clave de la respuesta inmune innata. Cabe mencionar que un moco deshidratado compromete en última instancia su eliminación mediante el aparato mucociliar, representando al mismo tiempo un nido efectivo para la colonización y la infección por patógenos oportunistas (110, 208, 218).

Una segunda hipótesis sobre el desarrollo de la enfermedad pulmonar por FQ se sustenta en la alteración del pH del ASL: la baja funcionalidad del CFTR reduce la secreción de bicarbonato hacia la luz de las vías respiratorias, lo que resulta en una disminución del pH del ASL; de hecho, algunos estudios han demostrado que el ASL de pacientes con FQ es más ácido que el de las personas sanas. Por obvio, un ASL más ácido dentro del pulmón tiene múltiples consecuencias (56, 208).

En primer lugar, ocurre una reducción de la muerte bacteriana, debido al evidente compromiso de los péptidos antimicrobianos (AMP) catiónicos. Los AMP son pequeñas moléculas del sistema inmune innato, presentes en las secreciones epiteliales y leucocitarias, con amplia actividad antimicrobiana contra patógenos bacterianos y virales, y con aparentes funciones inmunomoduladoras. Las actividades de destrucción microbiana de los AMP presentes en las vías respiratorias de la FQ, incluida la de la β -defensina-3 humana (hBD-3) y la catelicidina humana LL-37, se ven muy reducidas a pH ácido (47, 208).

En segundo lugar, como se observa en el modelo FQ de cerdo, independientemente del volumen del ASL, el cambio de pH también causa fijación de moco, lo que complica el desprendimiento de moco del epitelio pulmonar. Este efecto también promueve la obstrucción mucosa y reduce la función mucociliar; no obstante, el mecanismo podría deberse al pH ácido del ASL más que a la deshidratación (208, 218, 286).

El ambiente proinflamatorio y oxidante en la FQ. De manera congruente con hallazgos en modelos animales de enfermedad pulmonar por FQ, el BAL (lavado bronco-alveolar) tomado de pacientes con 4 semanas de edad cuyo cultivo fue negativo para patógenos comunes, contiene concentraciones más altas de citocinas proinflamatorias relevantes (IL-6, IL-8, TNF- α y derivados del ácido araquidónico) que el BAL de controles sanos. Los pacientes con FQ también muestran concentraciones reducidas de mediadores antiinflamatorios (como IL-10, lipoxina y ácido docosahexanoico) en el BAL, en comparación con el de los pacientes sanos. La concentración de glutatión, un antioxidante crítico, se reduce en las vías respiratorias, en tanto que las células inmunes producen un exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que predispone a los pacientes a un mayor daño tisular debido al estrés oxidativo. Tomando en cuenta estos hallazgos, un equilibrio crítico entre los mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios, así como entre las moléculas oxidantes y antioxidantes, suele perderse al interior de los pulmones (125, 218, 274).

Múltiples mecanismos se proponen sobre cómo la inflamación basal en la FQ promueve la posterior infección bacteriana. Una posible explicación tiene que ver con el exceso de citocinas proinflamatorias dentro de las vías respiratorias, que a su vez es responsable del excesivo reclutamiento temprano de células inflamatorias, específicamente neutrófilos. Los neutrófilos activados liberan múltiples productos que impulsan la patología pulmonar en la FQ y predisponen a la infección de los pacientes (por ejemplo, las serín proteasas y la elastasa de los neutrófilos). Las proteasas y peptidasas de estos PMN pueden degradar antimicrobianos innatos vitales, incluidas las defensinas, e inclusive, varios componentes del sistema del complemento, contribuyendo así a una mayor vulnerabilidad hacia la infección bacteriana (83, 218, 286).

Papel de los neutrófilos en la FQ. Diversos autores han argumentado que, en comparación con los neutrófilos sanos, los que se relacionan con la FQ exhiben funciones efectoras aberrantes, incluida la reducción en la fagocitosis y degranulación, así como una alterada cloración, lo que afecta la producción de ROS en el fagolisosoma. Estos defectos dependientes del CFTR en los neutrófilos resultan finalmente en una reducción de la muerte bacteriana. Si bien la presencia de CFTR en los neutrófilos alguna vez fue tema de debate, el canal de cloruro ahora se ha visto ubicado en los fagolisosomas de estos PMN y su disfunción se debe directamente a la reducción de la cloración de los productos bacterianos fagocitados. Un estudio demostró que la disfunción del CFTR altera el flujo de sodio y de los cloruros hacia dentro del neutrófilo, lo que resulta en una escasa degranulación de los lisosomas. En particular, los neutrófilos de pacientes tratados

con el nuevo potenciador de CFTR, denominado *ivacaftor* (que mejora el flujo de cloruro a través del CFTR en pacientes con la mutación específica G551D), mostraron una mejora en el defecto de degranulación, proceso determinante de la destrucción bacteriana. Este tipo de trabajos ha explicado por qué, a pesar de una afluencia excesiva de neutrófilos hacia el pulmón con FQ, sus objetivos antimicrobianos no se cumplen (218, 352, 373).

Es importante mencionar que el motivo del deterioro primario de los neutrófilos en la enfermedad pulmonar por FQ no está completamente esclarecido y sigue estando a debate, ya que algunos estudios han rechazado directamente que los neutrófilos en la FQ no son deficientes en cuanto a la fagocitosis, la producción de ROS o la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs, por sus siglas en inglés) (que parece ser un proceso dependiente del estallido oxidativo). En cuanto a otras disfunciones primarias de neutrófilos, como la asociada a la enfermedad granulomatosa crónica (EGC), destaca la indeseada diseminación de las infecciones sistémicas invasivas; cabe destacar que, en la FQ, las poblaciones infectantes permanecen localizadas en el pulmón y rara vez muestran infecciones diseminadas. Esta observación clínica sugiere que los defectos funcionales de los neutrófilos en esta enfermedad son probablemente menos evidentes que en otras afecciones (52, 83, 218).

Autofagia disfuncional. Aunque la relación entre el deterioro de la función del CFTR y la anulada autofagia sigue sin estar claro, existen varias hipótesis interesantes; por ejemplo:

- a) Las proteínas de la maquinaria autofágica están secuestradas dentro de agregados citosólicos consistentes en proteínas CFTR mal plegadas (218, 286).

- b) Las células de la FQ exhiben una acumulación de ciertos microARN, que regularían, específicamente a la baja, la traducción de proteínas relacionadas con la autofagia (218, 286).

En última instancia, la desregulación de la autofagia en la FQ da como resultado una mayor producción de citocinas inflamatorias, la mayor producción de ROS endógenos, así como una capacidad reducida para eliminar la infección bacteriana (como se demuestra en macrófagos de FQ *in vitro* y modelos murinos de FQ *in vivo*). Como tal, la perturbación de la autofagia representa otro ejemplo de afectación, por el CFTR, de las defensas inmunitarias innatas, promoviendo tanto la inmunopatología como la predisposición a las infecciones oportunistas como las ocasionadas por *P. aeruginosa* (125, 218).

La infección bacteriana precede a la inflamación. La respuesta a la pregunta sobre qué ocurre primero en un pulmón con FQ, si la inflamación (es decir, la desregulación primaria de la respuesta inmune) o la infección bacteriana, aquella sigue siendo motivo de discusión. Hasta ahora se han discutido estudios en los que defectos de la respuesta inmune, particularmente en la inmunidad innata, predisponen a los pacientes a una inflamación temprana y a una infección

bacteriana secundaria. Sin embargo, en contraste con los argumentos antes mencionados, otros trabajos que han usado muestras de pacientes con FQ, así como el modelo porcino de FQ, subrayan a la infección bacteriana como el primer evento que impulsa la inflamación en pulmones con FQ (218, 274, 286).

De hecho, un estudio histórico del tejido pulmonar fetal con FQ sugiere que el pulmón con FQ temprana es histopatológicamente normal y, por lo tanto, indistinguible del tejido fetal sin FQ y libre de inflamación neutrofílica. El mismo estudio también demostró que las citocinas proinflamatorias como IL-6 e IL-8 son similares en los tejidos fetales con y sin FQ, lo que indica ausencia de inflamación intrínseca en la etapa prenatal de la enfermedad. Además, múltiples estudios clínicos prospectivos realizados por Armstrong y cols sugieren que las concentraciones de marcadores de la inflamación (citocinas proinflamatorias, número total de neutrófilos y elastasa de neutrófilos) en el BAL de bebés menores de 1 año diagnosticados con FQ, sólo se encuentran elevadas en respuesta a una infección bacteriana y ello se resuelve con terapia antimicrobiana. Los bebés con FQ que no presentan infección (ya sea que nunca hayan sido infectados o sean asintomáticos) no muestran altas significativas en cuanto a las concentraciones de marcadores inflamatorios, en comparación con controles sin FQ. Por el contrario, los pacientes jóvenes que no pueden eliminar su infección muestran una mayor elevación en las concentraciones de marcadores inflamatorios. Estos estudios clínicos sugieren que la infección no solo inicia la inflamación en el pulmón con FQ, sino que probablemente también la mantiene activa (218, 274).

Eventos después de una infección pulmonar en la FQ. En virtud de que es muy probable que la fisiopatología pulmonar de la FQ sea multifactorial, podría especularse que los primeros eventos de la enfermedad pulmonar por FQ se desarrollan de la siguiente manera:

- i. Los defectos dependientes del CFTR en la inmunidad innata predisponen al paciente a la infección inicial (208, 218, 274).
- ii. La infección bacteriana provoca inflamación, caracterizada por la producción de citocinas proinflamatorias y la afluencia de neutrófilos (que producen en abundancia antimicrobianos como LL-37 y ROS) (208, 218, 274).
- iii. La respuesta inflamatoria es fuerte pero ineficaz en lo tocante a la eliminación de la infección, (debido a las adaptaciones bacterianas y a la capacidad para evadir la inmunidad); al parecer inflige daño colateral en el tejido del hospedero debido a déficits intrínsecos en cuanto a moléculas antiinflamatorias y antioxidantes endógenas (como IL-10 y glutatión) (208, 218, 274).

Si bien estos eventos pueden originar las manifestaciones tempranas de la enfermedad, la persistencia de otros factores infecciosos e inflamatorios a lo largo de la enfermedad impulsa la cronicidad y la pérdida de la función pulmonar (218, 286).

Bronquiectasia

La bronquiectasia corresponde a una enfermedad común, caracterizada clínicamente por un síndrome de tos, producción de expectoración e infecciones respiratorias y, radiológicamente, por una dilatación anormal y permanente de los bronquios. Es decir, se trata de un trastorno complejo y muy heterogéneo en cuanto a su presentación clínica, gravedad y respuesta al tratamiento. El padecimiento se asocia a desafortunados resultados clínicos y es coincidente con una mala calidad de vida y una alta mortalidad; su incidencia y prevalencia ha aumentado en los últimos 10 años, especialmente en los grupos de mayor edad, aunque a pesar de ello la fisiopatología de las bronquiectasias aún no se conoce como sería requerido (60, 221, 317).

La infección bronquial crónica suele ser un evento común en las bronquiectasias y por lo general se asocia a malos pronósticos, así como a diversas etiologías, abarcando a bacterias, micobacterias y hongos (221, 317). Los agentes más comunes se señalan en la Tabla 3.

La presencia de *P. aeruginosa* se asocia a una disminución de la función pulmonar, con exacerbaciones y una mayor mortalidad en las bronquiectasias. Estudios en muestras de vías respiratorias de pacientes estables han revelado una frecuencia de 15 a 50% de esta especie (13, 317).

Tabla 3. Agentes microbiológicos más frecuentes detectados en las bronquiectasias. (317)

Bacterias	Micobacterias no tuberculosas	Hongos	Virus
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Complejo <i>Mycobacterium avium</i>	Hongos filamentosos	Coronavirus
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Absceso de micobacteria</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	Gripe A
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>micobacteria xenopi</i>	<i>Scediosporum apiospermum</i>	Gripe B
<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycobacterium simiae</i>	<i>Fusarium spp. y Penicillium geni</i>	Herpes simple
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Mycobacterium gordonae</i>	Levaduras diversas	Rinovirus
<i>Stenotrophomona maltophila</i>		<i>Candida spp.</i>	
		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
		<i>Trichosporon beigell</i>	

En virtud de la dilatación bronquial crónica, suele ocurrir un drenaje inadecuado del moco y el consecuente riesgo de infección bacteriana. Los pacientes con fibrosis quística, otras formas de bronquiectasias y enfermedad pulmonar obstructiva crónica grave, suelen ser particularmente vulnerables a *P. aeruginosa*, por lo que sus cuadros no ceden a la acción de antibióticos intravenosos. La infección crónica está relacionada con una grave restricción del flujo de aire y, en consecuencia, con un daño pulmonar extenso. Davies y cols evaluaron la tasa de deterioro de la enfermedad pulmonar en individuos con y sin infección por *P. aeruginosa*, encontrando que la presencia de este microorganismo representa un claro

marcador de la gravedad de la enfermedad, aunque extrañamente no acelera la disminución de la función pulmonar. Su colonización en personas sin FQ llega a ser del 25%. En un estudio de 2018 en individuos con bronquiectasias no relacionadas con FQ, Kwok y cols encontraron que la especie se aísla aproximadamente en el 27% del total de casos. De hecho, en comparación con los pacientes no colonizados por *P. aeruginosa*, aquellos enfermos producían mayores volúmenes de esputo y más de tres lóbulos pulmonares estaban afectados en el 66% de los casos; de hecho, 24% de los pacientes necesitaron hospitalización y 18% requirieron terapia con macrólidos a largo plazo (60, 253, 302).

Métodos de diagnóstico. La infección bacteriana crónica representa una parte importante de la patología de las bronquiectasias, por lo que se recomienda realizar cultivos de esputo de vigilancia y elegir la terapia antibiótica con los resultados de las pruebas de resistencia *in vitro*. Sin embargo, las técnicas de cultivo tradicionales pueden estar limitadas por factores como el volumen de esputo, el tiempo transcurrido entre la obtención de la expectoración y la incubación y la eficacia con que crece el patógeno. Las técnicas diferentes al cultivo, como las basadas en estudios de los ácidos nucleicos como la pirosecuenciación, se pueden aplicar directamente a muestras de esputo o BAL (213, 227, 253).

Byun y cols compararon las técnicas tradicionales de cultivo de esputo y BAL con la secuenciación del gen que codifica para el ARNr 16S, en pacientes adultos con bronquiectasias clínicamente estables y exacerbadas. El grupo observó que los

cultivos típicos de esputo o BAL solo detectaban microorganismos dominantes y, en algunos pacientes, a ningún agente etiológico. Por el contrario, la secuenciación del gen ARNr 16S detectó la presencia de bacterias en todos los sujetos enfermos e identificó a una cantidad de ellas por paciente. En los casos en los que los resultados del cultivo de esputo o BAL fueron negativos, la secuenciación del ARNr 16S reveló la participación abundante de al menos tres microorganismos. En algunos casos, los microorganismos dominantes detectados mediante el cultivo fueron relativamente escasos en la secuenciación del ARNr 16S. De manera importante e inesperada, la secuenciación del ARNr 16S de muestras de BAL no reveló diferencias significativas en la abundancia relativa entre los estados estable y exacerbado de las bronquiectasias (157, 213, 227).

Cox y cols analizaron la variabilidad longitudinal del microbioma pulmonar mediante la realización mensual de pruebas de secuenciación ARNr 16S durante 6 meses en pacientes con bronquiectasias predominantemente idiopáticas o postinfecciosas. En paralelo, obtuvieron cultivos microbiológicos de esputo para efectuar la comparación de los resultados. Las muestras tradicionales de esputo se obtuvieron en estados definidos del curso clínico del paciente: inicial, estable, exacerbado, durante el tratamiento de la exacerbación y la recuperación. Los resultados mostraron una riqueza de microorganismos, revelada por la secuenciación del ARNr 16S; en total, se detectaron 352 unidades taxonómicas en las muestras, la mayoría en muy baja abundancia. *Haemophilus influenzae* fue el microorganismo más frecuente, seguido por *P. aeruginosa* y *Streptococcus spp.* Por

el contrario, en los cultivos de esputo se obtuvo con mayor frecuencia a *P. aeruginosa*, seguida por *S. aureus* y *H. influenzae*. Los resultados de los cultivos tradicionales que fueron negativos sí dieron positividad con la técnica de secuenciación (213, 227, 346).

Secuenciación del genoma completo. Esta técnica es particularmente relevante en las bronquiectasias, porque puede mostrar el *modus operandi* de bacterias clave durante la enfermedad. Hilliam y cols realizaron una secuenciación comparativa del genoma completo en 189 aislamientos de *P. aeruginosa*, a partir de muestras de esputo de 93 pacientes con bronquiectasia e infección crónica. Su trabajo reveló varias situaciones (213, 227):

- Además de la diversidad de cepas entre los distintos pacientes, existen múltiples linajes clonales distintos de la especie en el mismo paciente (infección multilinaje), lo que tiene implicaciones de gran complejidad al determinarse la fuente de adquisición (213, 227).
- Ocurren mutaciones que mejoran la adaptación de la especie al entorno pulmonar, como su conversión a cepa mucoide, el desarrollo de *quorum sensing* y la producción de exopolisacáridos que contribuyen a la formación de biopelículas (213, 227).

Neutrófilos en las bronquiectasias. Cabe señalar que los neutrófilos se consideran componentes clave en la fisiopatología de las bronquiectasias, ya que son reclutados en el pulmón por las interleucinas IL-8, IL-1 β , IL-17, leucotrieno B4 y TNF- α . Todos estos mediadores inflamatorios se liberan a partir del epitelio bronquial, para activar neutrófilos e iniciar la producción de ROS, diversas hidrolasas y productos de los gránulos tales como mieloperoxidasa, elastasa de neutrófilos (NE), proteína fijadora de heparina, resistina, metaloproteinasas de matriz, etc. El problema consiste en que, al acumularse estos componentes en las vías respiratorias, perpetúan una inflamación crónica (221, 317).

Trampas extracelulares de neutrófilos (NETs). Las NETs son liberadas por los neutrófilos en respuesta a múltiples estímulos, incluida la infección bacteriana; contienen ADN, histonas y otras proteínas antimicrobianas. Un estudio reciente de Keir y cols demostró que las proteínas asociadas a las NETs figuran entre las más abundantes en el esputo y se relacionan fuertemente con la gravedad de la enfermedad (189, 317).

Elastasa de neutrófilos (NE). A la fecha, la NE es probablemente el biomarcador más prometedor evaluado en el esputo de las bronquiectasias; se trata de una serina proteasa de 29 kD almacenada en gránulos azurófilos que pueden liberarse durante la degranulación, la eyección de las NETs o la muerte celular. La NE tiene un papel proinflamatorio, ralentiza la frecuencia del latido de los cilios y

estimula la secreción de moco. Los estudios clínicos han demostrado su fuerte asociación a la gravedad de la enfermedad, al aumento de la carga bacteriana, al número de exacerbaciones y a la mortalidad (60, 317).

Macrófagos en la bronquiectasia. La eliminación de las células apoptóticas por parte de los macrófagos, llamada eferocitosis, también representa un mecanismo clave para la resolución de la inflamación, en virtud de que una eferocitosis alterada suele estar ligada al aumento de la inflamación y al daño de las vías respiratorias con necrosis secundaria, debido en este caso con la liberación de productos de la granulación. En las bronquiectasias, el papel de los macrófagos ha sido menos estudiado, aunque se sabe que su cantidad en las biopsias de los pacientes está notablemente aumentada, si bien su función pudiera estar afectada (13, 317).

Células epiteliales bronquiales. Algunas de las funciones principales de las células epiteliales bronquiales consisten en la eliminación del moco y la protección relativa de las vías respiratorias contra infecciones bacterianas. Los cilios se mueven de manera coordinada para eliminar el exceso de moco, evitando con ello su acumulación y el establecimiento de infecciones bacterianas. Las células epiteliales también liberan mediadores proinflamatorios que desencadenan la migración de neutrófilos hacia el sitio de la infección (317, 346).

Uno de dichos mediadores es el potente vasoconstrictor endotelina-1 (ET-1), el cual muestra una amplia gama de actividades biológicas en el tracto respiratorio, como

promover la adhesión de neutrófilos a las células endoteliales, para efectuar su consecuente migración hacia las áreas afectadas. Varios estudios sugieren un papel nocivo de ET-1 para los pacientes con bronquiectasia por *P. aeruginosa*. El aumento de la expresión en la superficie epitelial de la glicoproteína adhesiva para recolectar a la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) de los leucocitos, podría representar otro mecanismo regulatorio de las vías respiratorias hacia los patógenos bacterianos. La ICAM-1 conduce a una mayor adherencia de los neutrófilos en las células epiteliales de las vías respiratorias, a través de los receptores de superficie de los neutrófilos CD11/CD18, lo que parece mejorar las funciones fagocíticas y promueve una mayor inflamación (187, 317).

Péptidos antimicrobianos (AMP). Los AMP son importantes en la defensa pulmonar del hospedero, destacando la lisozima, la lactoferrina y la catelicidina LL-37 (mediadores proinflamatorios liberados por los neutrófilos, macrófagos y el epitelio de las vías respiratorias); además, el inhibidor de la proteasa leucocitaria secretora (SLPI) producido por células del epitelio bronquial, cuyas funciones son antiinflamatorias. Un estudio prospectivo sugirió que los pacientes con enfermedad más grave al inicio del estudio experimentaban una desregulación de los AMP de las vías respiratorias. En especial, se apreciaban niveles más altos de LL-37 y más bajos de SLPI, lo que se relacionó con el índice de gravedad de las bronquiectasias, un volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV 1) más bajo y la infección por *P. aeruginosa* (60, 187, 317).

Mucinas. Son el principal componente del moco en condiciones de salud y corresponden a las glicoproteínas responsables de la protección o conservación de la mucosidad. MUC5AC y MUC5B son las principales mucinas detectadas en el esputo. Los estudios experimentales confirmaron el papel crucial de las mucinas en la defensa de las vías respiratorias; sin embargo, se ha propuesto que la concentración de mucina es significativamente mayor en pacientes con bronquiectasias que en los sujetos sanos, relacionándolo con la inflamación de las vías respiratorias y la carga bacteriana. Recientemente, se concluyó que el esputo de enfermos con bronquiectasias presenta un mayor porcentaje de sólidos, concentraciones de mucina total e individual, presión osmótica y módulos elásticos y viscosos, sugiriendo que el moco hiperconcentrado de las vías respiratorias es característico de la enfermedad y podría representar un objetivo de la farmacoterapia (13, 60, 317).

Neumonía por *P. aeruginosa*

Se estima que *P. aeruginosa* tiene una prevalencia del 7.1 al 7.3% en todas las infecciones asociadas a la atención sanitaria. En tal sentido, el sitio afectado más comúnmente es el tracto respiratorio inferior y en especial los pulmones. Este microorganismo corresponde a la bacteria Gram negativa más frecuentemente identificada en la neumonía nosocomial, lo que supone que su prevalencia ha aumentado durante la última década. En pacientes de las UCI, *P. aeruginosa* es responsable de un porcentaje aún mayor de infecciones asociadas a la atención sanitaria. Un extenso estudio observacional internacional de prevalencia puntual de

infecciones en pacientes de las UCI reveló que *P. aeruginosa* representa el 16.2% de las infecciones de los pacientes y alcanza el 23% de todas las infecciones adquiridas en las UCI, siendo el tracto respiratorio el sitio más común de las infecciones (35, 281, 335).

La neumonía causada por *P. aeruginosa* se divide en cuatro categorías: (1) neumonía adquirida en el hospital, que ocurre 48 h o más después de la hospitalización; (2) neumonía asociada a ventilador, que se desarrolla más de 48 a 72 h después de la intubación endotraqueal; (3) neumonía asociada a la atención médica que ocurre en pacientes no hospitalizados, que habitan en hogares para ancianos o en centros de atención a largo plazo; inclusive, aquellos que recibieron terapia antimicrobiana intravenosa o quimioterapia o cuidado de heridas, y/o que asistieron a un hospital o clínica de diálisis en los 30 días previos a la infección actual; y (4) neumonía adquirida en la comunidad, en donde *P. aeruginosa* es una causa muy poco común. El microorganismo casi siempre se aísla a partir de muestras de pacientes ancianos con enfermedades concomitantes, sobre todo la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Un buen ejemplo es el aumento de las infecciones por *P. aeruginosa* en los residentes de asilos; también existen informes de casos de neumonía adquirida en la comunidad (en personas “sanas”), aunque ello ocurre generalmente en fumadores (302, 335).

Según los datos del sistema de vigilancia nosocomial de infecciones de Francia (REA-RAISIN), de 2004 a 2006 *P. aeruginosa* fue la causa más común de neumonía

(25%) entre todos los patógenos Gram negativos y Gram positivos. Asimismo, Weber y cols estiman que más del 90% de los casos de neumonía asociada a ventilador se produce en pacientes internados en las UCI, si bien el 67% de la neumonía asociada a hospitales ocurrió en enfermos no internados en dichas unidades. *Pseudomonas aeruginosa* representó el 17.5% de los casos de neumonía asociada a ventilación mecánica y el 9.3% de todos los casos de neumonía asociada a hospitales. Por su parte, los porcentajes de *P. aeruginosa* implicados en neumonías adquiridas en la comunidad varían entre 0.3 y 11%, mientras que las cifras son del 2.2 al 20% en neumonías asociadas a la atención sanitaria (262, 302, 364).

El paso inicial de la patogénesis corresponde a la colonización del tracto respiratorio superior por microorganismos potencialmente patógenos, incluidos *Pseudomonas* y *Escherichia coli*. La microaspiración de estos microbios, ya sea a través del tubo endotraqueal o a través de alguna lesión, les permite ingresar al tracto respiratorio inferior, lo que, combinado con la deteriorada inmunidad del hospedero, da como resultado una infección clínicamente activa. La aspiración de microbios gastrointestinales también podría contribuir, aunque en menor medida. Los pacientes con ventilación mecánica que presentan mayores riesgos de adquirir neumonía asociada a ventilación mecánica (NAVM) son los de 70 años o mayores, destacando quienes presentan enfermedad pulmonar preexistente, lesión neurológica o nivel reducido de conciencia, y evidencia clínica de aspiración (11, 95, 203, 320).

La lipooxigenasa de *P. aeruginosa* (LoxA). Morello y cols demostraron la expresión de LoxA en aislados clínicos de *P. aeruginosa*. Cuando esta enzima es secretada en los pulmones, llega a causar la oxidación de una amplia gama de ácidos grasos poliinsaturados del tejido hospedero, lo que da como resultado la producción de mediadores lipídicos bioactivos. También inhibe la secreción de importantes quimiocinas y el reclutamiento de leucocitos. En general, podría afirmarse que promueve la persistencia de la bacteria en el ambiente pulmonar y juega algún importante papel en la patogénesis. Una mutación en el gen *mucA* suele dar como resultado la sobreproducción de polímero de alginato, lo que da origen al fenotipo mucoso que aporta mayor protección a *P. aeruginosa*. En un estudio retrospectivo realizado entre 2012 y 2014, se estudió a 75 pacientes con neumonía por este microorganismo, tratados en un hospital de referencia en Corea del Sur. Los datos de este estudio fueron sorprendentes, ya que propusieron que la mutación en el gen *mucA* podría considerarse un predictor independiente de mortalidad (11, 35, 242, 262, 302).

Tabla 4. Factores que incrementan el riesgo de infección nosocomial. (95, 307, 364)

Factores del paciente		Factores sanitarios	
Crónico	Agudo	Procedimientos invasivos	Tratamientos
Edad avanzada mayor a 70 años	Cirugías previas	Intubación endotraqueal o nasal	Transfusión de sangre
Desnutrición	Traumatismos	Inserción de catéter venoso central	Terapia antimicrobiana reciente
Tabaquismo	Quemaduras	Soporte renal extracorpóreo	Tratamientos inmunosupresores
Enfermedad pulmonar crónica	/	Drenajes quirúrgicos	Profilaxis de úlceras por estrés
		Tubo nasogástrico	Posición reclinada
Diabetes		Traqueotomía	Nutrición parenteral
		Catéter urinario	Duración de la estancia en la UCI

III. FACTORES DE VIRULENCIA DE *P. aeruginosa*

En general, la virulencia de las bacterias patógenas implica su capacidad de infectar al hospedero y causarle enfermedades a través de factores que contribuyen a la adherencia bacteriana, a la colonización e invasión de los tejidos, a su supervivencia en el hospedero, a la diseminación y a la producción de toxinas. Los factores de virulencia de *P. aeruginosa* han sido ampliamente estudiados, buscando la manera de restarle eficacia a una especie que destaca entre las de mayor peligrosidad para los humanos, en especial cuando estos se encuentran debilitados o inmunocomprometidos, en cuyo caso el pronóstico de sus padecimientos resulta particularmente complicado (85, 88, 244, 279).

3.1. Factores asociados a la superficie bacteriana

***Pili* y flagelos**

Los *pili* tipo IV de *P. aeruginosa* representan fimbrias compuestas por repeticiones de pilina de 15 KDa, con 3 subtipos denominados *pili* tipo IVa, IVb y tipo IVb-Tad, asociados a la movilidad por contracción y “nado” y a la adhesión a diversas superficies. Desempeñan un importante papel en la formación de biopelículas, regulación de factores de virulencia e intercambio de genes de resistencia mediante conjugación. Las repeticiones extensión-retracción de los *pili* IV están sustentadas

por ATPasas citoplásmicas que promueven la movilidad, quimiotaxis y adherencia, las cuales contribuyen a la organización de microcolonias, la formación de biopelículas y la captación de DNA. Estas importantes adhesinas también capacitan a la bacteria para lograr un contacto íntimo con diversas superficies, influyendo de modo determinante en la formación de biopelículas regulando los niveles de diguanilato (di-GMP) cíclico (48, 76, 257, 267, 326, 357).

Por su parte, los flagelos de *P. aeruginosa* corresponden a apéndices prominentes de la superficie bacteriana, en los cuales se comprimen o pliegan las subunidades de flagelina, a fin de conferir al microorganismo movilidad y quimiotaxis, contribuyendo a la adherencia vía la flagelina y la tapa proteica FliD de su punta, además de promover la maduración de la biopelícula (15, 258).

Los flagelos suelen desencadenar la activación de la respuesta inmune a través de TLR5 y son altamente inmunógenos. De hecho, las vacunas preparadas con antígeno flagelar y un coctel que incluye a la flagelina B han disparado una efectiva inmunidad protectora en el modelo de ratón (135, 258).

Lipopolisacáridos (LPS)

Los LPS de la membrana externa representan un componente importante de la membrana externa de las bacterias Gram negativas, incluyendo a *P. aeruginosa*. El núcleo de oligosacáridos internos y externos, así como el denominado antígeno O (AgO), han sido muy estudiados debido a su inmunogenicidad y accesibilidad. Como

destacados PAMPs, los LPS suelen ser potentes activadores de la respuesta inmune mediante varias vías de transducción de señales, incluidas las del receptor TLR4 y del CFTR (155, 268).

Paradójicamente, los LPS pueden estimular a los neutrófilos para que liberen NETs, con los cuales capturan patógenos, aunque, desde luego, ello también protege a la bacteria de la fagocitosis (155, 268).

La interacción LPS-células eucariontes también contribuye a la adherencia de *P. aeruginosa* a los tejidos de su hospedador y es notable que varias vacunas dirigidas contra los LPS han sido creadas con resultados esperanzadores, si bien la mayoría ha fallado en cuanto a proporcionar una eficacia satisfactoria (90, 276).

Tabla 5. Principales factores de virulencia de *P. aeruginosa*. (71, 276)

	Factores de virulencia	Participación
Asociados a la superficie bacteriana	Flagelos	Movilidad, formación de biopelículas, adherencia bacteriana
	Pili tipo IV	Adhesión a células del hospedero, movilidad, formación de biopelículas
	Lipopolisacáridos (LPS)	Estimulación de la respuesta inflamatoria del hospedero
	<i>Sistemas de secreción</i>	
	Tipo I (SST1)	Liberación de proteasas alcalinas, procuración de hierro
	Tipo II (SST2)	Liberación de hidrolasas
	Tipo III (SST3)	Inyección de efectores virulentos dentro de las células del hospedero
	Tipo V (SST5)	Liberación de proteínas de adherencia y de producción de biopelículas
	Tipo VI (SST6)	Liberación de toxinas dirigidas hacia bacterias vecinas
Liberados	<i>Exopolisacáridos</i>	
	Alginato	Formación de biopelículas
	Pel y Psl	Formación de biopelículas
	<i>Sideróforos</i>	
	Pioverdina	Procuración de hierro
	Pioquelina	Procuración de hierro
	<i>Proteasas</i>	
	Proteasa alcalina	Defensa bacteriana, regulación del QS
	Elastasas A y B (LasA y LasB)	Degradación de elastina pulmonar
	Proteasa IV	Degradación de proteínas de defensa del hospedero
	<i>Toxinas</i>	
	ExoS, ExoT, ExoU, ExoY	Efectoras del SST3, destrucción o modificación del citoesqueleto de las células eucariontes, apoptosis en células del hospedero
	Exotoxina A	Muerte celular por inhibición de síntesis de proteínas
	Fosfolipasa C (PLC)	Degradación del sistema de membranas en células eucariontes
	Leucocidina	Destrucción de células del sistema inmune del hospedero

Tabla 5. Continúa...

	Exolisina	Formación de poros en células hospederas para su destrucción
	Lipoxigenasa (LoxA)	Regulación del proceso de invasión bacteriana
	Lipasa A (LipA)	Inmunomodulación, destrucción de tejidos
	Piocianina (PCN)	Supresión de la respuesta inmune, citotoxicidad en células hospederas
Célula-célula	<i>Quorum sensing</i>	Regulación de la producción de numerosos factores de virulencia
	Biopelículas	Promoción de la evasión del sistema inmune, resistencia a antibióticos

Sistemas de secreción de enzimas y proteínas

Pseudomonas aeruginosa produce una importante cantidad de factores de virulencia, los cuales libera en el hospedero a través de sus eficaces sistemas de secreción. Estos corresponden básicamente a estructuras conformadas por proteínas ensambladas que llevan a cabo el transporte de los factores de virulencia y otras moléculas que permiten a la bacteria competir con sus homólogos en los nichos ecológicos naturales. Lógicamente, dichas estructuras continúan atravesando la membrana y la pared celular del microorganismo, para liberar a las proteínas transportadas, desde el citoplasma hacia el exterior, e inclusive, en el caso del sistema de secreción de tipo III (SST3), las deposita en el interior de las células eucariotas que funcionan como el “blanco” de la bacteria (290, 365).

Con base en las rutas de secreción de las proteínas de transportación, los sistemas de secreción de esta especie se dividen en 2 categorías: sistemas de secreción de

un paso (SST1, SST3, SST4 y SST6) y sistemas de secreción de dos pasos (SST2 y SST5). Los sistemas de un solo paso secretan proteínas desde el citosol bacteriano hasta la superficie de la bacteria o más allá, mientras que los sistemas de dos pasos requieren una breve permanencia de las proteínas transportadas en el espacio periplásmico, antes de ser liberadas hacia los ambientes externos a la bacteria (168, 342).

Aunque se trata de un proceso natural, cuando esos sistemas son utilizados para la exportación de factores de virulencia adquieren la denotación de determinantes de patogenicidad, en virtud de que liberan adhesinas, toxinas, exoenzimas, proteasas y otras moléculas necesarias para establecer la infección (276, 365).

Por tal motivo, la mayoría de los patógenos han evolucionado importantes sistemas de secreción que trasladan a sus factores de virulencia fuera de su citoplasma y sobre su estructura superficial o hacia el medio que las circunda, e inclusive, hacia el interior de las células que fungen como su “blanco” (168, 276).

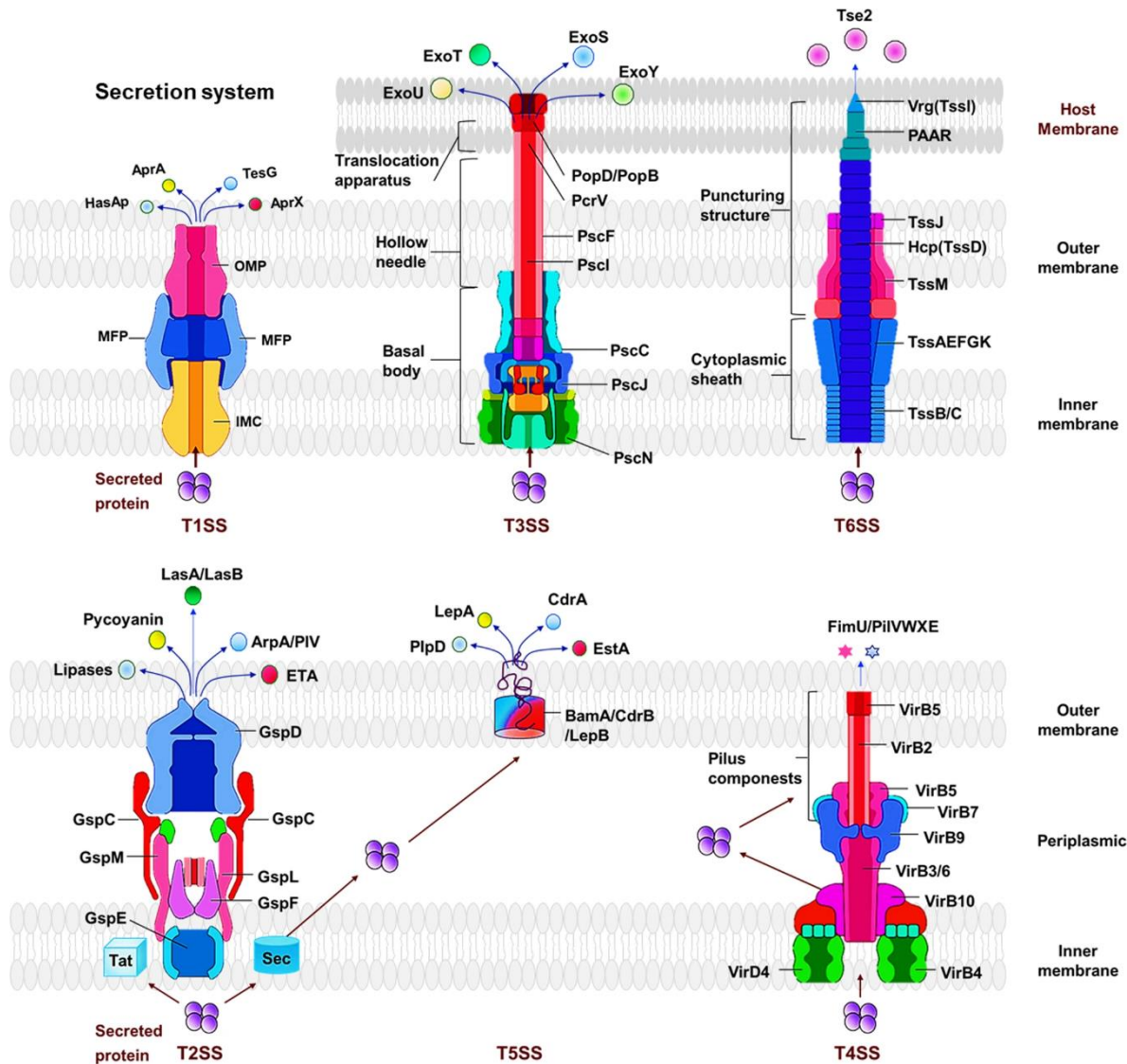


Ilustración 5. *Sistemas de secreción de proteínas en P. aeruginosa.* Los sistemas de secreción se dividen en dos clases principales: sistemas de secreción de un paso (T1SS, T3SS, T6SS) y sistemas de secreción de dos pasos (T2SS, T5SS). Las exoproteínas del sistema de secreción de un solo paso se absorben directamente en el citoplasma a través de su mecanismo de secreción afín. Por el contrario, las exoproteínas del sistema de secreción de dos pasos se exportan primero al periplasma a través del sistema Sec o Tat y luego cruzan las membranas externas a través de mecanismos de secreción específicos (276).

Sistema general de secreción (Sec)

En virtud de que las bacterias Gram negativas presentan dos capas de lípidos, a través de las cuales sus proteínas deben ser transportadas al medio extracelular, sus sistemas de secreción son más numerosos, complicados y diversos que los de las Gram positivas. La exportación de proteínas, desde el citoplasma y a través de la membrana celular de Gram positivas o desde la membrana interna de las Gram negativas, está mediada parcialmente por sistemas de secreción que resultan comunes a ambos tipos de bacterias (44, 103, 212).

En este último caso, los microorganismos Gram negativos exportan proteínas que llegan a su periplasma, por lo que deben utilizar algunos sistemas de secreción adicionales para transportar moléculas proteicas a través de la membrana externa. Además, las bacterias Gram negativas cuentan con otros sistemas de secreción que no emplean los sistemas comunes para ambas clases de bacterias. Estos sistemas de secreción adicionales son estructuras multi-proteicas que les permiten transportar proteínas a través de las membranas interna y externa (276, 316).

El denominado sistema general secretorio (Sec) es común a ambos tipos de bacterias y se ha estudiado a profundidad en *Bacillus subtilis*, *E. coli* y muchas otras especies. Las proteínas secretadas son sintetizadas como precursores con 15 a 26 aminoácidos líderes, o bien, con una secuencia señal situada en su grupo amino terminal; ésta contiene 10 a 12 residuos hidrofóbicos precedidos por uno o dos residuos cargados y sucedidos por un sitio de ruptura para proteasas (43, 44, 356).

La secuencia señal es separada por una peptidasa líder en este sitio, durante el traslado de la molécula desde el citoplasma y a través de la membrana, mientras se libera al resto de la proteína. Las mutaciones en el sitio de ruptura no evitan el transporte, pero resultan frecuentemente en el anclado de la proteína a la propia membrana, en vez de que ésta sea liberada al medio externo o al periplasma (43, 44, 276).

En algunos casos, los lípidos son unidos a proteínas, específicamente en un residuo de cisteína localizado más allá del sitio de ruptura. La exportación y escisión por una peptidasa líder distinta a la que se empleó para transportar a otra proteína origina que las lipoproteínas involucradas queden ancladas a la membrana interna, aunque, en algunas bacterias Gram negativas, sí llegan a ser movidas a la membrana externa. En las Gram positivas, las lipoproteínas son expuestas sobre la superficie y pueden actuar como antígenos superficiales de los microorganismos (9, 14, 44).

La secuencia señal es requerida para que la proteína secretada sea reconocida y transportada por el sistema general Sec, cuyo sello distintivo consiste en que sólo exporta proteínas no plegadas. La mayor parte de la secreción ocurre post-traduccionamente, por lo cual la proteína sustrato está mayoritaria o plenamente sintetizada, aunque en algunas moléculas localizadas en la membrana el proceso ocurre co-traduccionamente. En la vía post-traducciona, dos proteínas citoplásmicas son responsables de unir y dirigir a la proteína que será secretada.

Cabe señalar que SecB es una chaperona tetramérica que se une a las proteínas sustrato que contienen péptidos señal, al salir del ribosoma (9, 44, 356)

En las bacterias Gram negativas, el péptido señal presenta una región que se une a ciertos segmentos de las proteínas y las conserva sin pliegues hasta que son liberadas hacia SecA. En las Gram positivas no existe SecB, por lo que es probable que otras proteínas actúen como chaperonas para liberar a las proteínas sustrato hacia SecA. Ésta corresponde a un dímero que actúa como motor ATPasa para proveer parte de la energía de la translocación, ya que la energía restante parece ser provista por un motivo protón fuerza a través de la membrana (14, 37, 44).

SecA se une al complejo translocasa SecYEG, la cual forma un canal a través de la membrana celular. SecB libera a la proteína sustrato (no plegada) al complejo ADP-SecA-SecYEG, mientras las proteínas adicionales (SecD, SecE y YajC) ayudan a estabilizar ese complejo. El N terminal de la proteína que contiene al péptido señal es ensartado a través de un poro conformado por SecA-SecYEG y permanece unido a SecA en su interfase con SecYEG. La unión ADP es intercambiada por ATP, lo que induce un cambio conformacional que libera a SecB del complejo. La hidrólisis del ATP es entonces acoplada a la cadena polipeptídica, a través del canal SecYEG. El péptido señal se ancla al complejo y es separado por una peptidasa líder, después de que el péptido es liberado. El ADP es nuevamente intercambiado por ATP y la unión, así como el ciclo de hidrólisis, se repiten hasta que la proteína entera es secretada a través de la membrana (44, 276, 375).

En las bacterias Gram positivas, la proteína madura se pliega al emerger a través de SecYEG y es liberada a la superficie bacteriana o directamente al medio. En las Gram negativas, la proteína transportada se pliega en el espacio periplásmico, en donde permanece o es transportada a través de la membrana externa (44, 126, 375).

Sistema de secreción de tipo I (SST1)

En *P. aeruginosa* se han detectado dos SST1, los cuales llevan a cabo, respectivamente, la secreción de Apr (proteasa alcalina) y la de Has (103). El sistema de secreción de Apr consta de 3 componentes principales: AprD, que se une al ATP y se conoce como transportador ABC; AprE, que funge como adaptador; y AprF, denominado factor de la membrana externa (OMF, por sus siglas en inglés). Este es precisamente el encargado de secretar dos proteínas: la AprA o proteasa alcalina y AprX, una proteína cuya función resulta aún desconocida (36, 319).

El SST1 se encuentra presente en numerosas bacterias, como *P. aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Neisseria meningitidis* y *E. coli* (330), para liberar proteasas y lipasas. La proteína transportada contiene un carbono terminal que es reconocido por el transportador ABC y éste la transfiere a través de las membranas interna y externa en un solo paso (36, 316).

El sistema de secreción de Has se conforma por HasD (el transportador ABC), HasE (adaptador), HasF y OMF. Este sistema de secreción participa en la regulación de

hierro y secreta una proteína extracelular de unión a grupos *heme*, a la cual se denomina HasAp (4, 57).

Sistema de secreción de tipo III (SST3)

El SST3 de *P. aeruginosa* desempeña una muy destacada función en la virulencia y en el QS; se descubrió desde 1996 (369), por lo que representa uno de los sistemas más estudiados de secreción de toxinas con importantes efectos virulentos (164). El regulón SST3 comprende 5 operones, los cuales juegan papeles fundamentales en la biogénesis y translocación de las secreciones de tipo III (36).

Estructuralmente, el SST3 es similar a una jeringa molecular y contiene 5 componentes elementales: el complejo aguja, el aparato de translocación, las proteínas reguladoras, las efectoras y las chaperonas (72). Secreta proteínas efectoras de virulencia como ExoS, ExoT, ExoY y ExoU (112, 115, 379), pero lo hace literalmente en el interior de las células del hospedero, a las que obstaculiza sus señales intracelulares, hasta causar la muerte de la célula eucarionte involucrada.

Diversos factores regulan los genes SST3 de *P. aeruginosa*. Por ejemplo, tanto el MgtC como el OprF de la cepa PAO1 de *P. aeruginosa* regulan al SST3 y también los daños inducidos por ExoS a los macrófagos del hospedero (116). El SST3 es regulado positivamente por las proteínas PsrA, HigB, Vfr y DeaD (158, 200, 219, 308), pero negativamente por MexT, AlgZR, GacAS/LadS/RetS y MgtE (36, 59, 121, 122, 166).

El SST3 es muy importante para *P. aeruginosa* y para otras bacterias Gram negativas, en virtud de que se encarga de secretar factores de invasión y de promoción de la evasión de las respuestas inmunes, para lograr el establecimiento, proliferación y diseminación del microorganismo (36, 98, 167).

Sistema de secreción de tipo VI (SST6)

El SST6 representa un sistema interesante recién identificado, con ciertas funciones relevantes en la virulencia, pero, sobre todo, resulta trascendental en la interacción bacteriana y competencia con microorganismos ambientales (66). Al parecer, el genoma de *P. aeruginosa* está constituido por la denominada Isla de Secreción Hcp, que codifica tres componentes H1-SST6, H2-SST6 y H3-T6SS (67, 345), con aproximadamente 15 a 20 genes en cada caso (37). Además, el SST6 consta de 13 componentes *core*, está dividido en una estructura tipo placa-base, con un tubo interior enfundado y eficazmente ensamblado a dicha placa base y un importante complejo transmembranal (36, 382).

El SST6 ensamblado semeja a una cola de fago invertida, con la Hcp (proteína hemolisina corregulada) unida a la proteína con repetición valina-glicina (Vgr); este último complejo forma la terminación distal del dispositivo de “punción” de la bacteria (148). La cubierta o funda origina que transiten los efectores hacia dentro de las células “blanco” mediante un mecanismo de contracción (353). Asimismo, ClpV, una ATPasa del SST6, provee de la energía necesaria para la funcionalidad del aparato secretorio (27, 36).

Mecánicamente, el proceso de secreción realizado por SST6 requiere de otros elementos; por ejemplo, de la maquinaria H2-SST6, para liberar a la toxina antibacteriana Tle3, lo que requiere del adaptador citoplásmico Tla3 (32). El sistema GacAS/Rsm regula al SST6 (en concreto a los componentes H1-SST6 y H3-SST6) por activación de RsmY/Z para inhibir la unión de RsmA/RsmN a fha 1/tssA1 (154). El H3-SST6 secreta TseF para facilitar la importación del complejo PQS-Fe³⁺ dentro de las células, incorporándolo a vesículas de membrana externa (OMVs) mediante la señal quinolona de *Pseudomonas* (PQS) (36, 199).

Cabe agregar que el sistema QS desempeña una función crucial en la expresión de este sistema de secreción: en *P. aeruginosa* regula diferencialmente 3 loci de codificación de SST6 (HSI-I, HSI-II y HSI-III) a través de las proteínas LasR y MvfR (197). Los sistemas reguladores del QS, *Las* y *Rhl*, controlan la expresión de H2-SST6 en las cepas PAO1 de *P. aeruginosa* (293) y el MvfR modula directamente la expresión de múltiples proteínas, que incluyen factores de virulencia y otros reguladores en la cepa PA14 (36, 225).

Los sustratos dependientes de H1-SST6 tienen una gran cobertura de los investigadores, mientras en realidad poco se conoce acerca de los asociados a H2-SST6 y H3-SST6 (36, 66, 131, 345).

Interacción SST3/SST6 para regular respuestas bacterianas y del hospedero

Al parecer, los sistemas SST3 y SST6 regulan las respuestas del hospedero y de la bacteria, incluidas la apoptosis y la respuesta inflamatoria, la colonización, la movilidad, la formación de biopelículas y la interacción o competencia bacteriana (152, 292). La regulación, interacción e interconversión entre ambos sistemas podrían resultar especialmente útiles para funcionar bajo condiciones de presión ambiental (280). El switch entre ambos sistemas está regulado directamente por RtcB, una proteína de unión al RNA, lo que podría controlar la colonización, el establecimiento y la patogenicidad de *P. aeruginosa* (78). YbeY regula ambos sistemas de secreción y la formación de biopelículas al controlar a RetS (367). La función del SST3 es regulada por varios sistemas, incluidos los de los principales 4 genes reguladores, *exsA*, *exsC*, *exsD* y *exsE*, involucrados en la activación de la transcripción de los efectores clásicos ExoS, ExoT, ExoU y ExoY (84, 138).

ExoS es una proteína de 48.3 kDa que contiene 453 aminoácidos de longitud y participa en la apoptosis del hospedero, vía su región proteína activadora de GTPasa (GAP) o mediante su actividad de ADP-ribosil transferasa (ADPRT) (171, 185). Además, la ExoS posee una actividad de ADPRT, que induce apoptosis en células afectadas por *P. aeruginosa*, reconociendo a una variedad de proteínas Ras (163).

ExoU es el efector más grande, con 687 aminoácidos y 73.9 kDa (107); además, es el más citotóxico de los 4, porque induce rápidamente la muerte celular y se le considera el principal manejador del fenotipo citotóxico (133). Desregula la inflamación innata, por envenenamiento y destrucción de células inmunes, que

incluyen a macrófagos, neutrófilos, células epiteliales y células endoteliales; ello le permite a la bacteria persistir, proliferar y diseminarse, provocando sepsis, enfermedad de Alzheimer, síndrome de distrés respiratorio agudo, entre otras (171). Mecanísticamente, ExoU reprime transitoriamente a la caspasa-1 y la activación del inflammasoma NLR4, inhibiendo la liberación de IL-1 β , IL-18 y los proinflamatorios patrones moleculares asociados a daño (DAMPs), y suprimiendo la respuesta inmune del hospedero (203, 324). Además, la ExoU puede activar los factores de transcripción AP-1 para incrementar la producción de IL-8 e inducir daño inflamatorio del tejido por la vía JNK/MAPK (111).

ExoT contiene 457 aminoácidos (48.5 kDa), tiene actividades de GAP y ADPRT y puede inducir apoptosis fosforilando proteínas Crk. La fosforilación de p38 β y JNK induce apoptosis, que subsecuentemente interfiere la vía de señalización para supervivencia mediada por la integrina, destruyendo la estabilidad de los sitios de adhesión focal (362). Estudios recientes muestran que la ExoT de *P. aeruginosa* induce el arresto de G1 del ciclo celular en células de melanoma, sugiriendo su potencial para regular el ciclo celular (237).

ExoY tiene 378 aminoácidos (41.7 kDa) y se le ha detectado en 80 a 100% de las cepas (360). Juega un papel directo en el escape inmune inhibiendo la activación de TAK1, que es un factor clave en la vía inducible TGF que modula las respuestas inmunes contribuyendo a la supervivencia y a la severidad de la infección (140). Además, regula las respuestas inflamatorias del hospedero, retardando la activación de NF-kB y de la caspasa-1 (161).

Los componentes del SST6 y sus efectores son diversos y complejos, más allá de su “blanco” bacteria-célula. Se le ha detectado en aproximadamente 200 bacterias Gram negativas, incluida *P. aeruginosa* (292). Para competir y sobrevivir en el medio ambiente, el componente H1-SST6 mata a otras bacterias, inyectando al efector de moléculas Tse2 en las bacterias “blanco”, el cual posee actividad antibacteriana y provee ventajas para el crecimiento de *P. aeruginosa*. Además, para protegerse a sí misma de las toxinas Tse2, la especie también produce antitoxina Tse2 (371).

Similarmente, H1-Tse1 y Tse3 son inyectadas en el periplasma de otras bacterias para hidrolizar su péptidoglicano, actividad que puede ser contrarrestada por las proteínas periplásmicas Tse1 y Tse3 (288). De la Tse4 a la Tse7 también muestran actividad antibacteriana asociada a inmunidad homóloga (266). Las enzimas fosfolipasa D, PldA y PldB de Tle 5, son inyectadas a otras bacterias por H2-SST6 y H3-SST6, para ejercer una eficaz actividad antibacteriana (75). Por su parte, VgrG2b es inyectada dentro de las células epiteliales por H2-SST6, reconoce al componente del anillo gamma-tubulina (gamma-TuRC) y promueve el reclutamiento de PI3K en la membrana apical (182, 291). Adicionalmente, PldA/B reconoce a la vía PI3K del hospedero (fosfoinositide 3 kinasa)/Akt para remodelar al fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP3) y a la actina en la membrana apical, lo que es esencial para la colonización del hospedero por *P. aeruginosa* (176). Los genes relacionados con SST6 hcp1/hcp3 y lasR resultan significativamente eficaces en la formación de biopelículas fuertes (SBF, por sus siglas en inglés), al compararse a la de los grupos no formadores de biopelículas (NBF) de *P. aeruginosa* (176).

Colectivamente, el SST6 es un arma antibacteriana poderosa que inyecta a varios efectores para competir con otras bacterias y permitir la colonización y formación de biopelículas (248).

Sistema de secreción de tipo II (SST2)

La función del SST2 es una de las menos caracterizadas, aunque se estima que excreta proteínas desde el periplasma del microorganismo (248). Existen 2 diferentes vías en el SST2: la secretoria general (Sec) y la translocación de gemelos de arginina (Tat) (195). Las proteínas secretadas primero transitan a través de la membrana interna, permanece brevemente en el periplasma y entonces son secretadas al ambiente extracelular (126, 250). La vía Sec consta de una proteína componente, una proteína motor y un canal integrado a la membrana llamada SecYEG translocasa. Las proteínas son secretadas con una secuencia señal SecB para guiarlas al periplasma o al ambiente extracelular (341). La vía Tat de las bacterias Gram negativas se conforma de los elementos TatA y TatB, los cuales establecen si la proteína es retenida en el periplasma o es translocada al medio extracelular, gracias a un motivo conocido como arginina gemela (123). Funcionalmente, el SST2 participa en la secreción de la guanilato ciclasa ExoA, de las proteasas LasA y LasB y de otros múltiples factores, varios de los cuales se han propuesto como potenciales “blancos” terapéuticos (36, 104, 325).

Sistema de secreción de tipo V (SST5)

El SST5 de *P. aeruginosa* se compone por 5 subtipos (Va, Vb, Vc, Vd y Ve) y exporta proteínas a través de la membrana interna mediante la vía general Sec (74). Las proteínas del sistema de secreción tipo V frecuentemente son referidas como autotransportadores (ATs). Típicamente, el SST5 consiste en sólo una cadena polipeptídica con un translocador tipo barril-beta que presenta un dominio en la membrana y un pasajero extracelular (o región efectora) (232). Bajo la regulación del complejo Bam (mecanismo de ensamble barril-beta) y el complejo TAM (módulo de translocación y ensamble), las proteínas de la membrana externa se pliegan para originar una conformación barril-beta que les permite insertarse en la membrana externa (323). El SST5 libera una gran variedad de proteínas, incluidas EstA, LepB y LepA. EstA presenta actividad de esterasa y está implicada en la producción de rhamnolípidos y en la formación de biopelículas (36, 232).

Vesículas de membrana externa (OMVs)

Las OMVs son componentes bacterianos que se pueden liberar espontáneamente al ambiente durante el crecimiento de numerosas bacterias Gram negativas. Por tal motivo, se han caracterizado como un nuevo mecanismo de secreción que puede liberar una gran cantidad de proteínas y lípidos destinadas a las células hospederas (40, 186, 299).

Estas estructuras pueden empacar y desplazar a cuantiosas proteínas y ácidos nucleicos, lipoproteínas, proteínas periplásmicas (citolisina A de *E. coli*, enterotoxina lábil al calor de *E. coli*, leucotoxina de *Actinobacillus antinomycetemcomitans*),

plásmidos que contienen fragmentos de DNA cromosomal, fagos de DNA y factores de virulencia (LPS, fosfatasa alcalina, fosfolipasa C, beta-lactamasas) (160, 179).

La secreción de OMVs por *P. aeruginosa* ha sido implicada en diversos procesos asociados a virulencia, incluida la resistencia a las drogas, la regulación de la densidad bacteriana y el escape del sistema inmune del hospedero (38, 169, 172, 173, 351).

Mecánísticamente, *P. aeruginosa* secreta OMVs para liberar factores de virulencia y sRNAs en las células epiteliales del pulmón, a través de la capa de moco (23, 29, 38-40, 181), aunque también podrían conducir a un incremento de la hidrofobicidad de la superficie celular, mejorando el ambiente para producir biopelículas (322). Las OMVs son controladas por los sistemas *quorum sensing*, que habilitan a la bacteria para colonizar al hospedero y escapar de su sistema inmune (23, 114, 181, 322).

Las OMVs son inmunógenas y auto-adyuvantes, lo que origina que se piense en ellas como vacunas potenciales; tal es el caso de la vacuna OMV anti-*N. meningitidis*. Además, no sólo son importantes constituyentes funcionales, sino también un posible mecanismo liberador de drogas (22, 220, 340).

3.2. Factores de virulencia que son liberados

Exopolisacáridos

Generalmente, se trata de azúcares extracelulares liberados por *P. aeruginosa* para incrementar su tolerancia a las condiciones ambientales difíciles como desecación, agentes oxidantes y diversos elementos de la defensa del hospedero (113). También son importantes en la formación de biopelículas y pueden actuar como adhesinas, contribuyendo a la persistencia bacteriana en los tejidos de los pacientes (97). El alginato, Psl y Pel son 3 destacados exopolisacáridos de la especie; de hecho, el alginato es secretado por cepas aisladas de pacientes de fibrosis quística, mientras que Psl y Pel son producidas principalmente por cepas obtenidas del medio ambiente (113). Aunque los mecanismos de su acción aún permanecen poco comprendidos, los anticuerpos anti-alginato y anti-Psl se han desarrollado para llevar a cabo pruebas de terapia antivirulencia (207).

Sideróforos

Se trata de importantes agentes quelantes de compuestos de hierro, los cuales son secretados por el microorganismo para su procuración de hierro. Los dos sideróforos producidos por *P. aeruginosa* son el péptido fluorescente pioverdina (Pvd) y la pioquelina (Pch), ésta con una afinidad relativamente menor hacia el metal. La Pvd y Pch son quelantes de Fe^{3+} , a partir de la transferrina y lactoferrina, para promover el crecimiento bacteriano y ambos son requeridos por la especie para manifestar su completa virulencia. A pesar de su baja afinidad por el hierro, la Pch puede ser producida por la bacteria en lugar de Pvd, lo que indica su indispensable función en los nichos del hierro (260, 300).

Proteasas

La proteasa alcalina (Apr) es un factor de virulencia secretado mediante el SST1 y controlado por el circuito del QS (37); puede degradar componentes del complemento, IFN- γ y TNF- α , a fin de contrarrestar la defensa inmune del hospedero y ayudar a la supervivencia del microorganismo (68).

Por su parte, las elastasas LasA y LasB actúan sobre la elastina, un importante componente del tejido pulmonar y de los vasos sanguíneos, afectando la función respiratoria y causando hemorragia pulmonar. La proteasa IV está significativamente asociada a la virulencia corneal de *P. aeruginosa* (43, 252).

La proteasa IV no sólo interfiere la acción inmunitaria del hospedero degradando varias moléculas importantes biológicamente, como los componentes del complemento, las inmunoglobulinas y las proteínas surfactantes, sino también provoca daño a los tejidos y favorece a la infección mediante la hidrolización de fibrinógeno, lactoferrina, transferrina y elastina. Como se trata de una serín proteasa, se sabe que inhibidores de ella pueden elaborarse y desarrollarse como agentes terapéuticos, para prevenir el daño a los tejidos por *P. aeruginosa* (68, 252).

Toxinas

Los 4 destacados efectores secretados por el SST3: ExoS, ExoT, Exo U y ExoY, son comúnmente señalados como toxinas de *P. aeruginosa*. ExoS y ExoT son citotoxinas bifuncionales con la GAP y la ADPRT. Por tal razón, ambas pueden

interrumpir el citoesqueleto de actina del hospedero, para interferir la adhesión célula a célula e inducir apoptosis a las células hospederas. ExoU es una potente fosfolipasa y el más virulento efector SST3 que causa rápida necrosis y muerte celular. ExoS y ExoU casi nunca coexisten en una misma cepa. ExoY es una adenilato-ciclasa o nucleodil-ciclasa que incrementa significativamente los niveles de cAMP, cGMP, cUMP y, a un nivel menor, cCMP. ExoT y ExoY son las dos más frecuentes efectores SST3 y se encuentran en más del 90% de los aislamientos (151, 152). Mientras las cepas que expresan ExoS se relacionan estrechamente a pobres pronósticos en los pacientes infectados, las cepas que expresan ExoU son más resistentes a los antibióticos (2, 150). Otras toxinas importantes son las siguientes:

Exolisina (ExIA)

Es una toxina formadora de poros identificada en los aislamientos clínicos de *P. aeruginosa* CLJ1, que carece de un *locus* SST3. La ExIA está codificada por un exclusivo elemento genético de 2 genes *exIA-exIB* y muestra una clara actividad de citolisina; induce la alteración de la permeabilidad de la membrana plasmática en células eucariontes y ello resulta en muerte celular necrótica, un proceso dependiente de la adhesión bacteriana sustentada por los *pili* tipo IV (28, 98).

Exotoxina A (PEA)

Sin lugar a duda, corresponde a uno de los factores más tóxicos secretado por el SST2, bajo la regulación de hierro y el metabolismo de la glucosa (21). La PEA suele ser más importante en los tejidos de pacientes quemados; su mecanismo de acción es determinante, ya que inhibe síntesis proteica, catalizando la ADP-Ribosilación del factor de elongación 2 (EF-2) e induce apoptosis a las células del hospedero (233).

Lipasa A (LipA)

Es la más destacada lipasa secretada por el SST2 de *P. aeruginosa* (343). Puede causar graves estragos en los tejidos, sobre todo al degradar el principal lípido surfactante de los pulmones: el dipalmitoil-fosfatidil colina, así como las principales membranas celulares del hospedero. Además, los estudios han mostrado que la LipA interactúa con el alginato de la matriz extracelular de las biopelículas, sobre todo a través de interacciones electrostáticas, lo que contribuye a la resistencia bacteriana a diversas drogas (347, 377).

Fosfolipasa C (PLC)

Ésta es producida por la especie en dos formas: hemolítica y no hemolítica. Varios estudios han mostrado que la primera induce permeabilidad vascular en el hospedero, daño de órganos y muerte celular; además, bajas concentraciones de ella pueden incrementar la expresión de IL-8 y causar una excesiva acumulación de neutrófilos involucrados en la inflamación pulmonar y la consecuente destrucción

del tejido. La PLC hemolítica también inhibe el estallido respiratorio de neutrófilos, interfiriendo a una proteín-kinasa C (PKC) específica, lo que contribuye a la supervivencia de *P. aeruginosa* en un ambiente inmune rico en neutrófilos y a la posterior cronicidad de la infección bacteriana. Estudios realizados en animales han mostrado que la inhibición de la PLC hemolítica favorece un significativo efecto protector hacia la función de los pulmones infectados (240, 355).

Lipoxigenasa (LoxA)

Ésta puede interferir la señalización del metabolismo de lípidos del hospedero y efectúa la regulación del proceso de invasión bacteriana (242). Durante la invasión de los pulmones, LoxA oxida a una gran variedad de ácidos grasos poli-insaturados y al producir mediadores como lipoxina A4, da lugar a la muerte celular en tejidos del hospedero (210). La LoxA también inhibe la expresión de quimiocinas tales como MIP y KC, con el subsecuente reclutamiento desordenado de células del sistema inmune (5, 170). De hecho, se considera que la inhibición de LoxA alivia la severidad de la infección por el microorganismo (79).

Leucocidina

La leucocidina también corresponde a un factor de virulencia que resulta citotóxico para los leucocitos del sistema inmune (42), causando su hinchamiento al incrementar la permeabilidad de su membrana plasmática. Ello atenúa en

consecuencia la acción inmune y contribuye, por lo tanto, al avance de la infección (143).

Piocianina (PCN)

Se trata de un metabolito secundario azul con actividad redox encontrado en la expectoración de los pulmones infectados por la especie. Esta característica de la PCN facilita su ingreso a la membrana citoplásmica del hospedero, en donde el estrés oxidativo que induce contribuye a su citotoxicidad en las células del hospedero (130, 276).

3.3. Factores de interacción entre células bacterianas

Quorum Sensing (QS)

El QS corresponde a todo un sistema de comunicación célula a célula, por el que la bacteria reconoce a pequeñas moléculas-señal propias denominadas autoinductores. Ello resulta fundamental para coordinar la expresión de múltiples genes implicados en los comportamientos de toda la comunidad bacteriana, virulencia y formación de biopelículas. (85, 235).

Bajo ciertas condiciones en las que ocurre una adecuada densidad bacteriana, los autoinductores serán producidos y se ensamblarán a sus receptores para controlar la transcripción de genes de toxicidad relacionados (269, 368).

En *P. aeruginosa*, el QS ocurre mediante al menos 3 sistemas: *Las*, *Rhl* y *Pqs*, en orden jerárquico (225, 368).

Las depende de la síntesis de la molécula autoinductora N-3-oxo-dodecanoil-homoserina lactona, por parte de la *LasI* sintetasa. La dodecanoil-homoserina lactona se acopla al factor de transcripción *LasR* y lo activa, pudiendo éste incorporarse a su sitio “blanco” en las regiones promotoras de diversos genes, para impulsar su transcripción (117, 295).

Entre los blancos de *Las* se encuentran genes asociados a factores de virulencia, a inhibidores del propio sistema *Las* (como la proteína *RsaL*) y a los sistemas *Rhl* y *Pqs* (117, 269).

Rhl depende de la síntesis de la molécula autoinductora N-butanoil-homoserina lactona, por parte de la *Rhl* sintetasa y de su acoplamiento al factor de transcripción *RhIR*, con lo cual éste se activa y puede incorporarse a su sitio específico en las regiones promotoras de sus genes “blanco” favoreciendo su transcripción (235, 269).

Entre los genes “blanco” del sistema *Rhl* están algunos factores de virulencia, en especial el de la PCN. *RhIR* activa la transcripción de los operones *phzA1-G1* y *phzA2-G2*, así como la del gen *phzM*, todos ellos indispensables para la síntesis de PCN (225, 276).

Pqs basa su función en la síntesis de moléculas alquil-quinolonas (AQs), mediante la biotransformación del ác. antranílico, vía las enzimas codificadas en el operón *pqsABCDE* y su acoplamiento al factor de transcripción PqsR, ya sea de PqS o HHQ. La activación de PqsR favorece la transcripción de al menos 35 genes y del operón *pqsABCDE* (117, 235).

En resumen (117, 269):

- *Las* activa a LasR. Éste activa la transcripción de diversos genes
- Rhl activa a EhIR. Éste activa la transcripción del gen de la PCN.
- Pqs activa a PqsR. Éste activa la transcripción de al menos 35 genes y del operón *pqsABCDE*.

El QS juega un papel clave en la virulencia de *P. aeruginosa*, como la regulación de la liberación de múltiples factores de virulencia (incluyendo elastasa, proteasa alcalina, exotoxina A, rhamnolípidos, pocianina y lipasa) y promoviendo la maduración de las biopelículas (254, 282).

Biopelículas

Corresponden a agregados celulares de bacterias revestidas por sustancias poliméricas extracelulares, los cuales suelen ayudar a las bacterias que se encuentran en condiciones desfavorables, como temperaturas fluctuantes, deficiencia de nutrientes y presencia de antibióticos, al tiempo en que se incrementa

la adherencia y persistencia bacteriana sobre superficies bióticas y abióticas (129, 329).

La capacidad para formar biopelículas representa uno de los más significativos sellos distintivos de *P. aeruginosa* y las biopelículas más altamente estructuradas pueden encontrarse en los tejidos de los pacientes infectados crónicamente. El desarrollo de estas estructuras es complicado y multi-regulado (Ilustración 6), por lo que el QS juega un papel esencial y los factores de virulencia relacionados con él (como LipA y LipC) pueden incrementar la densidad y robustecimiento de las biopelículas. Una biopelícula impide la libre difusión de los antibióticos, disminuye la eficacia de la fagocitosis y la eventual liberación de fragmentos de ella puede generar trombos y la obstaculización de conductos del organismo. Por esta razón, las sondas y catéteres en las que llegan a formarse deben ser retiradas del hospedero y reemplazadas oportunamente (81, 329, 331).

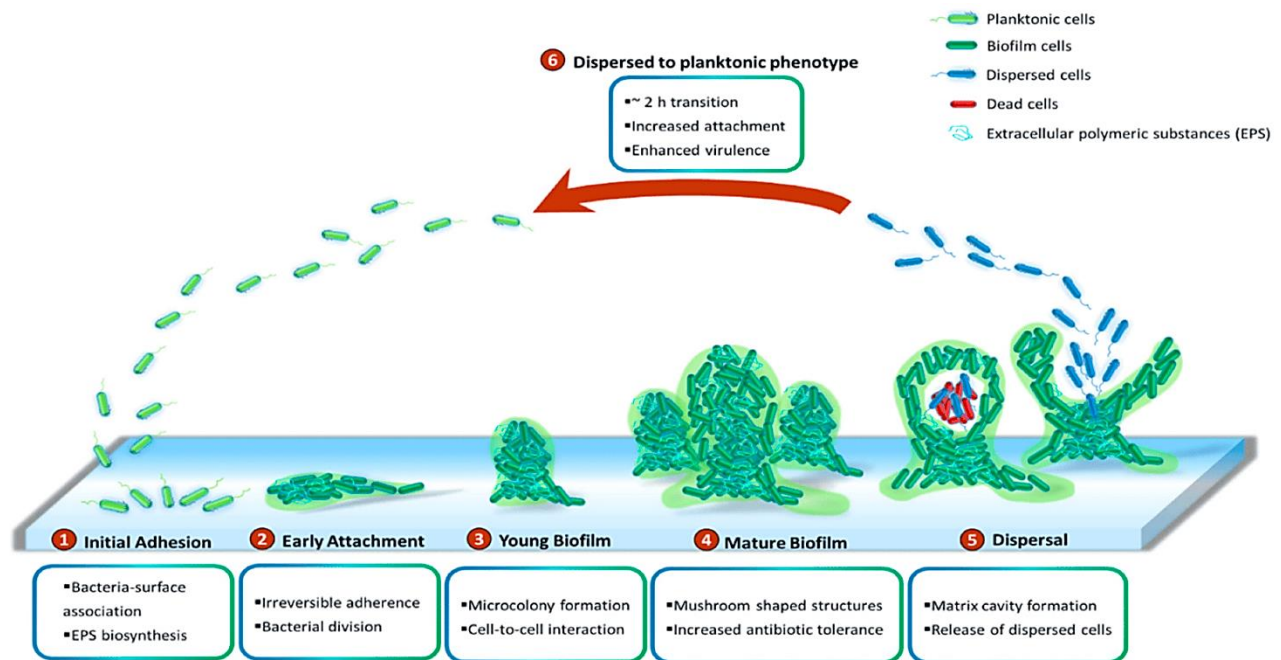


Ilustración 6. *Ciclo de desarrollo de biopelículas de P. aeruginosa.* El ciclo de desarrollo se divide en seis etapas. Inicialmente, las bacterias se asocian con la superficie y producen sustancias poliméricas extracelulares (EPS), que incluyen proteínas, polisacáridos, lípidos y ADNe. A continuación, tiene lugar la división celular y la transición de la unión reversible a la irreversible. Los siguientes pasos son la formación de microcolonias y el posterior desarrollo de estas microcolonias en estructuras en forma de hongo. La interacción entre células y la producción de factores de virulencia desempeñan funciones esenciales en la maduración y la solidez de las biopelículas. Luego se forma una cavidad de matriz en el centro de la microcolonia mediante autólisis celular para alterar la matriz y liberar a la población dispersa. Finalmente, las células liberadas experimentan una transición de aproximadamente 2 h hacia fenotipos planctónicos que posteriormente ocupan espacios no colonizados (329, 315).

IV. MULTIRRESISTENCIA DE *P. aeruginosa* A LOS ANTIBIÓTICOS

Los antibióticos son fármacos potentes que se utilizan para efectuar el tratamiento de las infecciones bacterianas, aunque el uso inadecuado de estos medicamentos ha impulsado la propagación de la resistencia a los antibióticos en la mayoría de las bacterias. *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista muy difícil de combatir y más comúnmente se encuentra involucrado en infecciones ambientales y adquiridas al interior de los hospitales (17). Esta especie frecuentemente resulta resistente a varios antibióticos, por lo que es ubicado en la categoría “crítica” en el listado de patógenos prioritarios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), para la investigación en el desarrollo de nuevos antibióticos (41).

Pseudomonas aeruginosa se puede clasificar como multidrogo-resistente (MDR) cuando la cepa correspondiente no es susceptible a ≥ 1 agente en ≥ 3 categorías de antimicrobianos; asimismo, es categorizado como ampliamente resistente a los medicamentos (XDR) cuando no es susceptible a ≥ 1 agente en todas las categorías de antimicrobianos, excepto en 1 o 2; finalmente, se le considera como pan-resistente a los medicamentos (PDR) si es resistente a la totalidad de antimicrobianos en cualquier categoría (41, 89).

4.1. Mecanismos de resistencia intrínsecos

Permeabilidad de la membrana externa

La membrana externa de las bacterias Gram negativas como *P. aeruginosa*, actúa como una eficaz barrera selectiva que llega a evitar la penetración de antibióticos a su célula; se trata de una bicapa asimétrica de fosfolípidos y LPS, incrustada a las porinas que forman canales de proteínas cuya estructura es de tipo barril- β . Generalmente, la familia de las porinas se puede dividir en cuatro clases: a) las porinas no específicas, que permiten la difusión lenta de la mayoría de las pequeñas moléculas hidrófilas; b) las porinas específicas, que poseen sitios específicos para unirse a un conjunto particular de moléculas; c) las porinas cerradas, que son proteínas de la membrana externa reguladas por iones responsables de la captación de complejos iónicos; y d) las porinas de eflujo, que son componentes importantes de las bombas de eflujo. En *P. aeruginosa*, la proteína OprF es la principal porina no específica; OprB, OprD, OprE, OprO y OprP son porinas específicas; y OprC y OprH pertenecen a las porinas cerradas. Por su parte, sus porinas de eflujo incluyen a OprM, OprN y OprJ (198, 261).

La permeabilidad de la membrana externa de *P. aeruginosa* es extremadamente restrictiva. OprF es la porina predominante en el microorganismo y se le responsabiliza de la captación no específica de iones y azúcares, incluidos algunos trisacáridos y tetrasacáridos; sin embargo, su eficiencia es baja en cuanto a la permeabilidad de antibióticos. OprF es capaz de plegarse en dos conformeros: el conformero cerrado de dos dominios, que consta de un barril- β transmembrana

N-terminal y un dominio globular periplásmico C-terminal, y el confórmero de canal abierto con un dominio transmembranal. El confórmero cerrado es su estructura dominante en los canales y solo una pequeña fracción forma canales abiertos, lo que representa menos del 5% de estas proteínas. La presencia de canales OprF, en su mayoría cerrados, podrían explicar por qué la permeabilidad de la membrana externa de *P. aeruginosa* es mucho menor que la de otras bacterias (259, 261).

Como se mencionó anteriormente, el microorganismo posee una serie de porinas específicas, incluida la OprB específica para carbohidratos, la OprD específica para aminoácidos básicos, la OprP específica para fosfato y la OprO específica para pirofosfato. Entre estas porinas, OprD participa en la absorción de antimicrobianos, presentando sitios de unión para los carbapenémicos, una clase de antibióticos β -lactámicos menos tradicionales, por lo que su ausencia aumenta la resistencia a esta clase de fármacos. Además, OprH es la porina más pequeña de *P. aeruginosa* y su sobreexpresión se asocia a una mayor resistencia a la polimixina B (de la clase de las polimixinas) y a la gentamicina (de la clase de los aminoglucósidos), mediante la estabilización de la membrana externa, vía la modificación del LPS, la cual se encuentra relacionada con bajas concentraciones de Mg^{2+} (261, 338).

Sistemas de eflujo

Generalmente, las bombas bacterianas de eflujo se dividen en cinco familias: las dos antiguas superfamilias ligadas al casete de unión al trifosfato de adenosina

(ABC) y la superfamilia facilitadora principal (MFS); las tres familias restantes son más pequeñas y corresponden a la de expulsión de compuestos tóxicos y multifármacos (MATE), la MDR (SMR) y la familia RND (por *Resistance-Nodulation-cell división*) (275). En *P. aeruginosa*, las bombas de eflujo RND representan los principales sistemas de eflujo de múltiples fármacos responsables de la resistencia a los antibióticos. De hecho, este patógeno posee al menos 12 bombas de eflujo RND, de las cuales cuatro son de relevancia clínica y las principales contribuyentes a la resistencia a los antibióticos: MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN y MexXY-OprM (Ilustración 7) (129, 192).

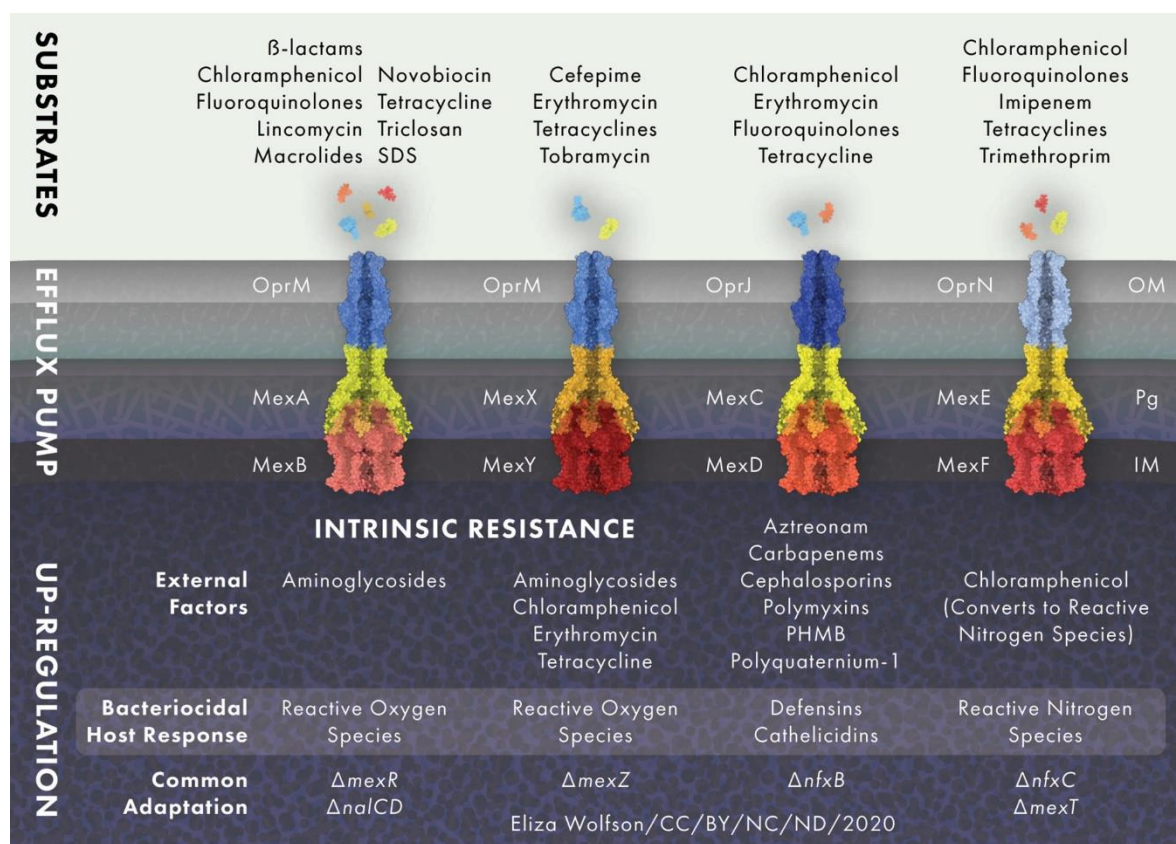


Ilustración 7. Estructura y regulación de la bomba de eflujo RND. La expresión de la bomba de eflujo de RND se modula en respuesta al estrés externo. MexAB-OprM y MexXY-OprM están regulados positivamente por (ROS) y MexEF-OprN es

inducida por especies reactivas de nitrógeno (NOS), mientras que MexCD-oprJ responde a agentes que dañan la membrana y MexXY-PprM a sustancias bloqueadoras de ribosomas, como cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina y aminoglucósidos. Las adaptaciones comunes que conducen a la regulación positiva de las bombas de eflujo incluyen la pérdida de los reguladores transcripcionales activos como mexR, nalC y nalD para MexAB-OprM, pérdida de represor transcripcional mexZ para MexXY-OprM, pérdida del regulador transcripcional nfxB para el sistema de eflujo MexCD-OprJ y mutaciones de tipo nfxC y/o pérdida del activador transcripcional activo mexT para MexEF.OprN (193).

Todas las bombas de eflujo RND se ubican en la membrana citoplasmática, el periplasma y la membrana externa; el complejo se conforma por: la proteína de la bomba de eflujo activa secundaria, incrustada en la membrana interna; la proteína-factor de membrana externa; y una proteína de fusión de membrana que se extiende a través del periplasma. Las bombas de eflujo funcionan con fuerza motora de protones y son capaces de exportar fármacos al medio ambiente, tanto desde el periplasma como desde el citosol. El eflujo y la membrana externa de baja permeabilidad funcionan de manera colaborativa, por lo que los antibióticos que logran permear la membrana externa son rápidamente expulsados y regresan al medio ambiente (192, 193, 327).

Las bombas de eflujo no sólo funcionan para el eflujo del antimicrobiano, sino también son reclutadas en respuesta al estrés celular. Las señales de respuesta al estrés, incluidos diversos factores del hospedero, detergentes u otros inductores endógenos, pueden funcionar como desencadenantes de la selección de mutantes que expresan sistemas de eflujo para resistencia a los antimicrobianos, inclusive en ausencia de los antibióticos correspondientes. Por ejemplo, la inflamación en un pulmón con FQ determina que *P. aeruginosa* se encuentre continuamente expuesta

a ROS, lo que probablemente impulse una alta prevalencia de mutantes que sobre-expresan MexAB-OprM y MexXY-OprM (188, 192, 193).

Enzimas que inactivan antibióticos

Los antibióticos a menudo contienen enlaces químicos (por ejemplo, en amidas y ésteres), por lo que las bacterias que producen hidrolasas pueden inactivarlos, degradándolos o alterándolos, lo que se traduce en resistencia hacia ellos. *Pseudomonas aeruginosa* es altamente resistente a varios antimicrobianos, incluida la penicilina, las cefalosporinas y el aztreonam, merced a su producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Además, esta bacteria también es resistente a la terapia combinada cefazolina-tazobactam, a través de su BLEE GES-6. Se considera que las BLEE de *P. aeruginosa* representan el mecanismo más importante en términos de lucha contra los antibióticos, por lo que actualmente resulta indispensable el diseño y desarrollo de fármacos antimicrobianos más potentes (118, 276).

El gen inducible *ampC* codifica para la enzima β -lactamasa, que tiene potencial para escindir el enlace amida del anillo β -lactámico, inactivando así a numerosos antibióticos β -lactámicos. Tres conjuntos de β -lactamasas: A, C y D, actúan desde un residuo de serina ubicado en el sitio activo. Las enzimas de la clase B son metaloenzimas que requieren de iones Zn^{2+} para afectar a las cefalosporinas anti-*Pseudomonas*. Varios investigadores han ilustrado sobre la existencia de BLEE en

múltiples aislamientos de *P. aeruginosa*, lo que confirma su eficaz protección contra los antibióticos β -lactámicos como las penicilinas y las cefalosporinas (128, 328).

Desde los ángulos enzimáticos, *P. aeruginosa* puede modificar los grupos amino y los glicosídicos de los antibióticos aminoglucósidos, originando resistencia a ellos. Las enzimas modificadoras de los aminoglucósidos, actualmente conocidas como transferasas, utilizan tres mecanismos comunes para llevar a cabo su acción, destacando la participación de la fosfotransferasa (APH), acetiltransferasa (AAC) y adeniltransferasa (ANT). Estas enzimas propician la resistencia hacia diferentes antibióticos, realizando reacciones químicas. La APH puede inactivar a la estreptomicina, transfiriéndole un fosfato al grupo 3'-hidroxilo de los aminoglucósidos. La AAC puede causar resistencia a la gentamicina uniéndole un acetilo al grupo amino de las posiciones 3' y 6' del aminoglucósido. La ANT confiere a *P. aeruginosa* resistencia a la amikacina, al transferirle a la estructura de esta última grupos adenilo a sus aminos o hidroxilos (49, 276).

4.2. Mecanismos adquiridos de resistencia

Resistencia por mutaciones

Los cambios mutacionales pueden reducir la absorción de antibióticos, aunque también generan modificaciones en las moléculas que fungen como objetivos de los antibióticos o sobre-expresan bombas de eflujo y enzimas que inactivan a los antimicrobianos; todo ello incrementa la probabilidad de que *P. aeruginosa* sobreviva en los tejidos del hospedero, aún en presencia de fármacos (50, 261).

Además de un gran resistoma intrínseco, el patógeno muestra una capacidad excepcional para desarrollar una mayor resistencia antimicrobiana a todos los antibióticos disponibles, experimentando mutaciones cromosómicas. La tabla 6 proporciona un resumen de los principales genes que aumentan los niveles de resistencia y, por lo tanto, que proporcionan una forma eficaz al resistoma mutacional del microorganismo (141, 149, 162).

Tabla 6. Principales genes de *P. aeruginosa* implicados en la resistencia mutacional a los antibióticos. (149)

Gen(es)	Mecanismo de resistencia	Antibióticos afectados
<i>gyrA</i>	Modificación del objetivo de las fluoroquinolonas (ADN girasa)	Fluoroquinolonas
<i>gyrB</i>	Modificación del objetivo de las fluoroquinolonas (ADN girasa)	Fluoroquinolonas
<i>parC</i>	Modificación del objetivo de las fluoroquinolonas (ADN topoisomerasa IV)	Fluoroquinolonas
<i>parE</i>	Modificación del objetivo de las fluoroquinolonas (ADN topoisomerasa IV)	Fluoroquinolonas
<i>pmrA, pmrB, pho Q, cprS, colR, col S</i>	Modificación del lipopolisacárido (adición del resto 4-amino-4-desoxi- L -arabinosa a la porción del lípido A)	Polimixinas
<i>parR</i>	Modificación de lipopolisacárido (adición del resto 4-amino-4-desoxi- L -arabinosa a la porción del lípido A)	Polimixinas
	Regulación negativa de OprD	Imipeno, meropeno
	Hiperproducción de MexEF-OprN	Fluoroquinolonas
	Hiperproducción de MexXY	Fluoroquinolonas, aminoglucósidos, cefepima

Tabla 6. Continúa...

<i>parS</i>	Modificación del lipopolisacárido (adición del resto 4-amino-4-desoxi- L -arabinosa a la porción del lípido A)	Polimixinas
	Regulación negativa de OprD	Imipenen, meropenen
	Hiperproducción MexEF-OprN	Fluoroquinolonas
	Hiperproducción MexXY	Fluoroquinolonas, aminoglucósidos, cefepima
<i>mexR, nalC, nalD</i>	Hiperproducción MexAB-OprM	Fluoroquinolonas, ceftazidima, cefepima, piperacilina-tazobactam, meropenem, ceftazidima-avibactam
<i>nfxB</i>	Hiperproducción MexCD-OprJ	Fluoroquinolonas, cefepima
<i>mexS</i>	Hiperproducción MexEF-OprN	Fluoroquinolonas
	Regulación negativa de OprD	Imipeno, meropeno
<i>mexT</i>	Hiperproducción MexEF-OprN	Fluoroquinolonas
	Regulación negativa de OprD	Imipeno, meropeno
<i>cmrA, mvaT, PA3 271</i>	Hiperproducción MexEF-OprN	Fluoroquinolonas
<i>mexZ, PA5471.1, amgS</i>	Hiperproducción MexXY	Fluoroquinolonas, aminoglucósidos, cefepima
<i>oprD</i>	Inactivación de porina OprD	Imipeno, meropeno
<i>ampC</i>	Modificación estructural AmpC	Ceftolozano-tazobactam, ceftazidima-avibactam
<i>ampD, ampDh2, ampDh3, ampR, dacB, mpl</i>	Hiperproducción de AmpC	Ceftazidima, cefepima, piperacilina-tazobactam
<i>ftsI</i>	Modificación del objetivo de β -lactámico (PBP3)	Ceftazidima, cefepima, piperacilina-tazobactam, ceftolozano-tazobactam, ceftazidima-avibactam, meropenem
<i>fusA1</i>	Modificación del objetivo de aminoglucósidos (factor de elongación G)	Aminoglucósidos
<i>glpT</i>	Inactivación de la proteína transportadora GlpT.	Fosfomicina
<i>rpoB</i>	Modificación del objetivo de rifampicina, cadena β de la ARN polimerasa	Rifampicina

Adquisición de genes de resistencia

Numerosos genes de resistencia a los antibióticos también pueden transportarse en plásmidos, transposones, integrones o profagos, y las bacterias los suelen adquirir mediante la transferencia horizontal de genes, desde cepas de la misma especie o de otras diferentes (41, 45, 261). Los integrones representan un conjunto de elementos móviles que integran y expresan específicamente genes de resistencia. Se adhieren a transposones o plásmidos, transfiriéndose entre cepas bacterianas hasta contribuir a la propagación de genes de resistencia (41). Un integrón contiene al gen de la integrasa (*intI1*), un sitio de recombinación específico (*attI1*) y un promotor P. El papel de los integrones en la transmisión de la resistencia a los antimicrobianos se reconoce especialmente en bacterias Gram negativas (53, 205).

Los principales mecanismos *in vivo* de transferencia horizontal de genes implican a la conjugación y transducción. Diversos reportes señalan la adquisición de genes de resistencia a aminoglucósidos y β -lactámicos en *P. aeruginosa*. Por ejemplo, seis tipos de metalo- β lactamasas (MBL), que pertenecen a la clase B de β -lactamasas hidrolizan a la mayoría de los antibióticos β -lactámicos, incluida la imipenemasa (IMP), la metalo β -lactamasa codificada por integrones de Verona (VIM), la metalo- β -lactamasa de Sao Paulo (SPM), la imipenemasa de Alemania (GIM), la metalo- β -lactamasa de Nueva Delhi (NDM) y la imipenemasa de Florencia (FIM). Los genes de estas MBL de *P. aeruginosa* son transportados por elementos genéticos,

incluidos integrones y plásmidos. Además, un solo integrón puede transportar múltiples genes de resistencia a antibióticos. Recientemente, se identificó a dos nuevos genes de resistencia a aminoglucósidos: *aacA29a* y *aacA29b*, los cuales se localizan respectivamente en los extremos 5' y 3' del casete del gen VIM-2 de la β -lactamasa, cuyos productos hidrolizan al carbapenem (25, 45, 261).

La resistencia a los aminoglucósidos es impulsada con mayor frecuencia por enzimas modificadoras codificadas en integrones de la clase 1. Las descritas más comúnmente en *P. aeruginosa* son las acetiltransferasas de los grupos AAC (3') (gentamicina) y AAC (6') (tobramicina, incluida o no la amikacina) y la adeniltransferasa ANT (2')-I (gentamicina y tobramicina). Recientemente se ha demostrado que la metilación del ARN ribosómico 16S es otro mecanismo de resistencia encontrado en organismos Gram negativos, correspondiente a una modificación del antibiótico objetivo (149). De hecho, las metilasas interfieren en la unión de estos antibióticos a su sitio de acción. Estas 16S rRNA metilasas confieren un alto nivel de resistencia a aminoglucósidos clínicamente útiles como amikacina, gentamicina y tobramicina, incluso a la novedosa plazomicina (149, 261, 314). Los genes correspondientes están asociados a estructuras de transposones, que a su vez están ubicadas en plásmidos transferibles, lo que promueve su propagación horizontal. Ocasionalmente, se ha detectado resistencia transferible hacia las fluoroquinolonas, impulsada principalmente por determinantes Qnr como QnrVC1. Un estudio reciente también reportó sobre la aparición de resistencia a las quinolonas mediada por plásmidos, impulsada aparentemente por la nueva fosfotransferasa CrpP (45, 149, 314).

4.3. Mecanismos de resistencia adaptativos

Resistencia mediada por biopelículas

La presencia de una densa matriz extracelular representa probablemente uno de los factores más característicos, implicados en la tolerancia a los antibióticos por parte de las biopelículas. Como es sabido, la matriz de *P. aeruginosa* consta de exopolisacáridos, proteínas, ADN y lípidos, aunque su composición exacta varía según la cepa bacteriana, las condiciones de crecimiento y la etapa de maduración de la biopelícula (41, 354). Las interacciones con los componentes de la matriz, como el DNA aniónico y el alginato, pueden inmovilizar a los antibióticos con carga positiva, como la colistina o tobramicina, reduciendo su actividad; por su parte, los antibióticos neutros como la ciprofloxacina, penetran más fácilmente a través de las biopelículas. En general, la transición a través de la matriz implica un importante retraso en el contacto entre el antibiótico y la bacteria; en tal sentido, la lenta exposición a concentraciones bajas proporciona tiempo a las bacterias para volverse tolerantes (102, 120).

Además, la susceptibilidad a los antibióticos puede restaurarse rápidamente cuando las bacterias pierden la protección de la biopelícula, lo cual subraya que la resistencia mediada por la biopelícula es independiente de las mutaciones genéticas y representa un mecanismo adaptativo (261). De hecho, en cuanto a los parámetros farmacocinéticos (PK) y farmacodinámicos (PD) de los antibióticos, se ha propuesto a las biopelículas como un tercer compartimento farmacológico,

además de la sangre y el tejido diana de una infección. En consecuencia, la existencia de gradientes de nutrientes y oxígeno da como resultado subcompartimentos diferenciales, que distinguen a dos subpoblaciones principales; uno metabólicamente activo, ubicado frecuentemente en las capas externas de la biopelícula, y otro menos activo (o incluso inactivo), en las capas más profundas. Estas características deben tomarse en cuenta al establecerse terapias combinadas, ya que varios antibióticos solo se dirigen a procesos de bacterias en crecimiento (como replicación, transcripción, traducción o síntesis de pared celular), mientras que otros son eficaces contra células metabólicamente inactivas (102, 354).

La pérdida de actividad antibiótica también podría explicarse, en parte, por la deficiente producción de ROS en condiciones anaeróbicas. Al parecer, la inducción de ROS por parte de algunos antibióticos bactericidas contribuye a su efecto letal, al aparecer radicales hidroxilos citotóxicos ($\text{OH}\cdot$) en las biopelículas de *P. aeruginosa* tratadas con ciprofloxacina. Los sistemas antioxidantes también están regulados positivamente debido a la especial respuesta de las biopelículas, la cual participa en la tolerancia a los antibióticos. Por el contrario, en respuesta a diferentes formas de estrés (estrés oxidativo, estrés por nitrógeno o por agentes que dañan la membrana) y la regulación positiva de las bombas de eflujo, como MexXY-OprM, MexEF-OprN y MexCD-OprJ, puede desencadenar en *P. aeruginosa* algún mecanismo no específico de tolerancia a antibióticos (58, 102).

Células persistentes

Otro obstáculo importante para el adecuado tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa* consiste en la formación de células bacterianas persistentes, variantes fenotípicas que no son genéticamente resistentes a los antibióticos, pero sí toleran las altas concentraciones de antibióticos (261). La persistencia en presencia de antibióticos corresponde a un fenotipo transitorio que aparece como consecuencia de respuestas heterogéneas al medio ambiente en alguna población bacteriana genéticamente idéntica (378, 380).

Las células persistentes comprenden aproximadamente el 1% de las células de una biopelícula y son de crecimiento lento, metabólicamente inactivas y altamente tolerantes a los antibióticos. Si bien la mayoría de las células de *P. aeruginosa* pueden destruirse con antibióticos, las variantes persistentes pueden permanecer viables y repoblar las biopelículas, debido a la existencia de un estado latente que detiene la síntesis de los objetivos de los antibióticos. Las células persistentes no proliferan en presencia de antibióticos, aunque suelen reanudar su crecimiento una vez que desaparece el antimicrobiano. Por lo tanto, es posible que las células persistentes de las biopelículas sean responsables de resistencia en las infecciones crónicas (136, 378).

Las cepas de *P. aeruginosa* aisladas a partir de pacientes con FQ suelen tener altos niveles de células persistentes, en comparación con las cepas de tipo salvaje. La privación de nutrientes también favorece la aparición de células persistentes, a

través del mecanismo regulador conocido como respuesta estricta mediada por la molécula de señalización bacteriana alarmona (p)ppGpp. Además, se ha reportado que la fenazina denominada piocianina y la molécula de señalización de alcance de *quorum*, acil-homoserina lactona (3-OC12-HSL), aumentan en gran medida el número de células persistentes en los cultivos del microorganismo (20, 261).

Swarming y surfing

La movilidad bacteriana representa una parte crítica en la patogenicidad de *P. aeruginosa* y desempeña un papel importante en la colonización del hospedero y el establecimiento de la infección. El patógeno emplea varias formas diferentes de movilidad que son dependientes del medio ambiente y frecuentemente requieren de la acción de *pili* tipo IV, flagelos o ramnolípidos tensoactivos. Los estudios de secuenciación de ARN y de las mutantes de transposones han demostrado que tanto los fenotipos de *swarming* como de *surfing* están asociados a cambios significativos en la expresión genética, conduciendo al aumento de la resistencia a los antibióticos (174, 193).

En todo caso, tanto el *swarming* como el *surfing* desempeñan algún papel en la resistencia adaptativa. Ambos dependen del medio ambiente y confieren cierto nivel de resistencia a los antibióticos, en comparación con fenotipos de movilidad alternativos. Se ha demostrado que las células bacterianas con movilidad tipo *swarming* resultan significativamente más resistentes a los aminoglucósidos, los β -lactámicos, el cloranfenicol, la ciprofloxacina, la tetraciclina, el trimetoprim-

sulfametoxazol, la eritromicina y la azitromicina. Sin embargo, las células con movilidad tipo *surfing* mostraron una resistencia mayor a las polimixinas, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, tetraciclina, cloranfenicol, trimetoprim y varios β -lactámicos, aunque no a los macrólidos. Al parecer, superficies semisólidas con bajas concentraciones de nitrógeno, originan que *P. aeruginosa* utilice la movilidad tipo *swarming*, imitando las condiciones del pulmón, en donde la mucina semisólida se superpone a las células epiteliales (73). Asimismo, los pulmones con FQ y bronquiectasia contienen altos niveles de mucina más fluida, lo que favorece la movilidad tipo *surfing*. Aunque la movilidad de *P. aeruginosa* a menudo se pierde en las enfermedades crónicas de mayor plazo, como la FQ, existe una gran heterogeneidad genética en las poblaciones bacterianas que residen en el pulmón de los pacientes. Además, la movilidad tipo *swarming* y *surfing* podría ocurrir durante la colonización temprana y la adaptación bacteriana al pulmón con FQ (19, 193).

V. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

5.1. Tratamientos con antibióticos

Antibióticos actualmente disponibles para el tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa* MDR/XDR.

Los tratamientos empíricos con antibióticos antipseudomonas deben ser iniciados en una etapa temprana, y la duración del tratamiento varía según la respuesta al tratamiento, el sitio de infección, el estado inmune del paciente y el adecuado control de la fuente. Las opciones de tratamiento para infecciones por *P. aeruginosa* (PA) son resumidas en la tabla 7 con las indicaciones recomendadas, las no autorizadas y las dosis respectivas (55, 156, 209).

5.2. Tratamientos experimentales alternativos a los antibióticos

Terapia con fagos

Los bacteriófagos (fagos) son virus que infectan específicamente a las bacterias y presentan una estrategia de tratamiento alternativa a los antimicrobianos. Los fagos se unen a receptores específicos en la superficie de la bacteria, inyectan su genoma, se autorreplican utilizando la maquinaria de la célula huésped y lisan la

Tabla 7. Antibióticos utilizados para el tratamiento de infecciones por PA con base en los resultados de susceptibilidad. (156, 301)

Clase	Antibiótico	Dosis recomendada ^a	Indicaciones para infecciones por PA	Uso no autorizado para infecciones por PA
Combinación penicilina + inhibidor de β -lactamasas	Piperacilina-Tazobactam	4.5 g cada 6h	NAC, NAH/NAVM, infección de pie diabético	Bacteriemia en pacientes con neutropenia, quemaduras o sepsis, IPTB, exacerbación pulmonar aguda severa, falla de terapia oral en FQ, fiebre neutropénica, osteomielitis, infección de prótesis articular
	Ticarcilina-clavulanato	3.1 g cada 4h	Sepsis ITU	
Cefalosporinas	Ceftazidima	2 g cada 8h	Bacteriemia, absceso intracraneal o epidural, meningitis, fiebre neutropénica, osteomielitis/discitis, NAC, NAH/NAVM, infección de prótesis articular, artritis séptica, IPTB, ITU, pielonefritis	Exacerbación pulmonar en FQ, infección de pie diabético, peritonitis
	Cefepima	2 g cada 8h	Infecciones intraabdominales Fiebre neutropénica NAC, NAH/NAVM	Bacteriemia, exacerbación pulmonar en FQ, infección de pie diabético, absceso intracraneal o espinal, meningitis, enterocolitis neutropénica, IPTB, ITU, osteomielitis/discitis, peritonitis, sepsis, artritis séptica, pielonefritis
	Cefoperazona	2g cada 12h	NAC, NAH/NAVM, Peritonitis, Sepsis, IPTB, ITU	
	Cefiderocol	2g cada 8h	UTI, pielonefritis	

Tabla 7. Continúa...

Clase	Antibiótico	Dosis recomendada^a	Indicaciones para infecciones por PA	Uso no autorizado para infecciones por PA
Monobactámico	Aztreonam	2g cada 8h	Sepsis, NAC, NAH/NAVM	Meningitis, osteomielitis vertebral nativa, exacerbación por FQ
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina	400 mg cada 8h Oral: 750 mg cada 12h Sol. Ótica: 0.2%. Suspensión ótica: 6%	Infecciones intraabdominales, osteomielitis NAC, NAH/NAVM, ITU, pielonefritis, prostatitis, otitis externa aguda	Exacerbaciones agudas de EPOC, infecciones de pie diabético, meningitis, profilaxis neutropénica, fiebre neutropénica, infección de prótesis articular, artritis séptica, Síndrome de la uña verde, foliculitis por jacuzzi
	Levofloxacina	750 mg cada 24h (oral o IV)	NAC, NAH/NAVM, prostatitis crónica, ITU	Otitis externa maligna, exacerbaciones agudas de EPOC, IPBT, infecciones de pie diabético, infecciones intraabdominales, profilaxis neutropénica, osteomielitis, infección de prótesis articulares
	Prulifloxacina	600 mg cada 24h	ITU Bronquitis crónica	
	Delafloxacina	300 mg cada 12 h	NAC, IPTB	
	Finafloxacina	Suspensión ótica 0.3%	Otitis externa aguda	
Derivado del ácido fosfónico	Fosfomicina	4-6 g cada 6 h Oral: 3 g	Usado en terapia combinada excepto para ITU en donde se puede usar como monoterapia	

Tabla 7. Continúa...

Clase	Antibiótico	Dosis recomendada^a	Indicaciones para infecciones por PA	Uso no autorizado para infecciones por PA
Carbapenems	Doripenem	500 mg cada 8h	Infecciones intraabdominales complicadas, ITU, pielonefritis	ITSAVC, osteomielitis vertebral nativa
	Imipenem/cilastatina	500 mg cada 6h-1g cada 8h	Infecciones intraabdominales complicadas, NAC, NAH/NAVM, ITU, pielonefritis	Fiebre neutropénica, IPTB necrosante, ISQ
	Meropenem	1g cada 8h	Infecciones intraabdominales, Meningitis, IPTB	Bacteriemia, exacerbaciones pulmonares de FQ, infección de pie diabético, abscesos, intracraneales/espinales, enterocolitis neutropénica, osteomielitis/discitis, NAC, NAH/NAVM, infección de prótesis articulares, sepsis, ITU, pielonefritis.
β-lactámicos novedosos con inhibidores de β-lactamasas	Ceftazidima/avibactam	2.5 g cada 8h	Infecciones abdominales complicadas, ITU, pielonefritis, NAH/NAVM	Bacteriemia, IPTB, tratamiento contra PA resistente a ceftazidima en cualquier sitio
	Ceftolozano/tazobactam	1.5 g cada 8h	Infecciones intraabdominales, ITU, pielonefritis, NAH/NAVM	
	Imipenem/cilastatina-relebactam	1.25 g cada 6h	Infecciones abdominales complicadas, ITU, pielonefritis, NAH/NAVM	
	Meropenem/varorbactam	4 g cada 8h	ITU, pielonefritis NAH/NAVM	

Tabla 7. Continúa...

Clase	Antibiótico	Dosis recomendada ^a	Indicaciones para infecciones por PA	Uso no autorizado para infecciones por PA
Aminoglucósidos	Tobramicina	5 mg/kg cada 8h Inhalación: 300 mg cada 12 h Oftálmico: 0.3%	Usado en terapia combinada excepto para ITU, en donde se puede usar como monoterapia	/
	Gentamicina	5-7mg/kg cada 24h Tópico: 0.1 % Oftálmico: 0.3%		
	Amikacina	5 mg/kg cada 8h Inhalación: 100-500mg cada 12h		
	Plazomicina	15 mg/kg cada 24h	ITU, pielonefritis	
Polimixinas	Colistina	9 millones de unidades como dosis de carga seguida de 4.5 millones de unidades cada 12 h	Meningitis	Infecciones graves en cualquier sitio
	Polimixina B	15000-25000 unidades/kg cada 24h	Infecciones oculares	NAH/NAVМ, IPTB, Bronquiectasias, infecciones intraabdominales

CLAVES: NAC= Neumonía adquirida en la comunidad; ITSAVC=Infección de torrente sanguíneo asociada a una vía central; EPOC=Enfermedad pulmonar obstructiva crónica; FQ= fibrosis quística; NAH=Neumonía adquirida en hospital; IV=intravenosa, ISQ=infección de sitio quirúrgico, IPTB= Infección de piel y tejidos blandos, ITU=Infecciones del tracto urinario, NAVM=Neumonía asociada a ventilación mecánica, ^a=La dosificación es para formulación IV a menos que se especifique lo contrario. Las dosis son para función renal normal y deben ajustarse según el aclaramiento de creatinina.

bacteria para liberar su progenie (62, 339). Después del establecimiento completo de la infección, induce al huésped a someterse a un proceso de apoptosis y posteriormente lo mata. La liberación de fagos de la célula lisada potencialmente iniciará el ciclo de infección en otra célula huésped. Por otro lado, los fagos templados también inician la infección uniéndose a la célula huésped e integrando gradualmente su material genético en el cromosoma del huésped. En algunos casos integran su material genético en un plásmido bacteriano y permite su transmisión mediante la división celular sin causar efectos adversos significativos sobre la célula huésped (263, 297).

La terapia antimicrobiana mediada por bacteriófagos resultó ser una posible alternativa a los agentes antimicrobianos actualmente disponibles de varias maneras: los bacteriófagos nunca inician el proceso de auto amplificación en ausencia de bacterias susceptibles; son capaces de penetrar en la matriz de la biopelícula e infectar a las bacterias; su potencial para matar incluso a las células persistentes resultó muy difícil usando antibióticos convencionales (263). Numerosos estudios han demostrado la eficacia de las terapias con fagos contra *P. aeruginosa* y la tolerabilidad eucariota en modelos *in vitro* e *in vivo* (1). Los fagos individuales solo infectan un subconjunto específico de cepas de *P. aeruginosa*, por lo que la eficacia de la terapia con fagos puede variar mucho dependiendo de la población pulmonar específica en enfermedades pulmonares como FQ. La eficacia de la terapia se puede mejorar combinando fagos con una diversidad de rangos de huéspedes en cócteles y una terapia de cóctel sinérgica de fagos y

antimicrobianos. Los éxitos experimentales iniciales han llevado al uso compasivo de la terapia con fagos para el tratamiento de infecciones resistentes a los antimicrobianos, incluida *P. aeruginosa* en personas con FQ, donde se ha identificado que los fagos son eficaces y seguros. Sin embargo, para una traducción más amplia, se requieren ensayos clínicos. Se han realizado dos ensayos clínicos de terapia con fagos: un ensayo que involucra el tratamiento del oído por *P. aeruginosa* y quemaduras. La terapia con fagos demostró ser eficaz y segura en un ensayo relativamente pequeño contra las infecciones del oído por *P. aeruginosa*. Mientras que, en el ensayo para el tratamiento de infecciones de heridas por quemaduras, sólo se demostró la seguridad, ya que hubo problemas para fabricar cócteles de fagos con calidad y títulos suficientes. Los resultados inconsistentes requieren ensayos clínicos adicionales, no sólo específicamente en este contexto, sino también para el tratamiento de otras infecciones, como infecciones pulmonares en FQ por *P. aeruginosa* (61, 62, 99, 339).

Terapia fotodinámica (TFD)

La OMS señala el imperativo de generar nuevas alternativas terapéuticas con actividad antimicrobiana para evitar el aumento de la resistencia. Una de estas estrategias consiste en la TFD, que utiliza moléculas de diferente complejidad química, llamadas fotosensibilizadores, que pueden destruir bacterias combinando luz y oxígeno molecular. Las bacterias son destruidas de manera inespecífica por el estrés foto-oxidativo producido por ROS generadas por un agente fotosensibilizador (AF), activadas por la luz que transfiere la energía obtenida al oxígeno molecular

(245). El AF activado por luz absorbe energía del estado fundamental a un estado excitado inestable. Un proceso de cruce entre sistemas permite que el AF activado regrese al estado fundamental, pero transfiere esta energía al oxígeno molecular. Uno de los dos efectos (de tipo I o II) puede transferir energía al oxígeno molecular para producir ROS; el efecto tipo I produce ROS por la transferencia de energía combinada con el electrón excitado para producir el radical superóxido (O_2^-) que genera peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radicales libres hidroxilo ($HO\cdot$). Por otro lado, el efecto tipo II transfiere sólo la energía al oxígeno molecular (3O_2), produciendo oxígeno simple (1O_2) (309, 372).

Se deben considerar ciertas cualidades para considerar que un AF específico resulta apropiado para las aplicaciones deseadas. Por ejemplo, la localización de la infección es uno de los aspectos más relevantes, ya que los AF tienen longitudes de onda que presentan máxima absorción y, por tanto, máxima activación. Por ello, es preciso seleccionar un AF cuya fuente de luz disponible logre suficientemente su longitud de onda de máxima absorción. El intervalo que debe absorber el AF para obtener una mayor eficiencia está entre el rojo y el infrarrojo cercano (entre 650 y 850 nm). Aunque la zona de luz azul (<600 nm) tiene baja penetración, es mucho más energética. Los AF con máximos de absorción <600 nm requerirían tiempos de exposición a la luz más cortos, lo que disminuiría la posibilidad de fototoxicidad. Entonces, la TFD puede tratar solamente infecciones microbianas locales y no sistémicas. El tratamiento de infecciones superficiales, como la infección de heridas quirúrgicas, podría verse beneficiado por la TFD con estos AF,

con uso tópico (70). Estos AF también podrían ser útiles en la descontaminación de superficies o materiales clínicos. La TFD también depende de la respuesta inmune estimulada por la acción de la luz, la cual contribuye a la erradicación de microorganismos localmente (372).

Estudios previos muestran que la TFD aplicada a *P. aeruginosa* inhibe eficazmente *in vitro* el crecimiento de bacterias planctónicas y biopelículas; sin embargo, aún es necesario conocer qué tan efectivos serían *in vivo* en el tratamiento de las infecciones causadas por el patógeno (93, 372).

Nanopartículas

Hoy en día, las nanopartículas han logrado una atención notable como nuevos productos antimicrobianos, ya que poseen una alta relación superficie-volumen y propiedades físicas y químicas únicas. Los diferentes metales, incluidos la plata, el cobre, el titanio, el zinc y el oro, se utilizan como materiales antimicrobianos. Hernández Sierra y cols compararon la actividad anti-*Streptococcus mutans* de óxido de plata, oro y zinc a nano escala y descubrieron que las nanopartículas de plata (AgNP) funcionaban mejor (46, 202).

Además, las nanopartículas de plata pueden interactuar con la cadena respiratoria, generando ROS, como radicales, peróxido de hidrógeno (H₂O₂), hidroxilo (OH·) y

superóxido (O_2^-) que inducen estrés y daño oxidativo a proteínas y ácidos nucleicos. Las nanopartículas también penetran en el citoplasma e interactúan con las proteínas y el ADN, provocando la muerte celular. La generación de ROS es responsable de la muerte bacteriana porque facilita la peroxidación lipídica e inhibe la producción de ATP y la replicación del ADN (217). De manera similar, las nanopartículas de plata también pueden liberar iones de plata, que aumentan el daño celular. Los iones de plata liberados por las AgNP interactúan con el fósforo en el ADN y con algunas proteínas, lo que resulta en la inhibición de las actividades enzimáticas. La acción antimicrobiana de los iones Ag^+ está estrechamente relacionada con su interacción con los grupos tiol (sulfhidrilo). Así, los iones Ag^+ pueden reaccionar con los grupos -SH de enzimas y proteínas adheridas a la pared celular, interfiriendo con la cadena respiratoria de las bacterias y rompiendo la pared celular bacteriana (190). Como resultado, el ADN pierde la capacidad de replicarse y las proteínas esenciales para la producción de ATP quedan desactivadas (54). En este contexto, las nanopartículas metálicas se consideran agentes prometedores, que producen un nivel significativo de ROS, con la capacidad de superar el sistema de defensa antioxidante microbiano y, en consecuencia, causar daño celular (54, 349).

Péptidos antimicrobianos (AMP)

Los AMP se han convertido en un enfoque prometedor para combatir la resistencia a los antimicrobianos. La mayoría de los AMP son péptidos catiónicos con una estructura anfipática como motivo de consenso para las actividades

antimicrobianas. A diferencia de los antibióticos convencionales, que actúan sobre objetivos intracelulares específicos, muchos AMP exhiben una permeación física y rápida, destruyendo la membrana bacteriana o alterando componentes esenciales dentro de las células y dificultando el desarrollo de resistencia bacteriana. Aunque se ha demostrado que los AMP son eficaces, no son específicos y se dirigen a una amplia gama de bacterias Gram negativas y Gram positivas. Para evitar esto, varios grupos han utilizado una estrategia de péptido antimicrobiano dirigido específicamente (STAMP). La estrategia STAMP se basa en la construcción de un péptido híbrido que combina dos componentes funcionalmente independientes, un péptido dirigido y un AMP de amplio espectro, mediante el uso de un conector corto y flexible. El péptido dirigido confiere selectividad al dominio AMP uniéndose al patógeno utilizando determinantes específicos en la superficie del patógeno, como la hidrofobicidad de la membrana, la carga, receptores de feromonas, componentes de la pared celular o atributos virulentos característicos. Aunque es difícil diseñar un péptido dirigido a una especie específica, los AMP dirigidos son una alternativa prometedora a los antibióticos convencionales (31, 178, 241, 246).

Estrategias para inhibir la formación de biopelículas e interferir en la detección de *quorum*

La detección de QS representa un importante regulador de la expresión de factores de virulencia y de la formación de biopelículas. Recientemente, se han realizado esfuerzos para desarrollar las denominadas terapias “antivirulencia”, con diversos trabajos dirigidos hacia la señalización asociada al QS (235, 283).

En este sentido, se ha reportado que el extracto Dyer Ex Eichler (DSE) de la planta *Dioon spinulosum* logra reducir la formación de biopelículas, la hidrofobicidad de la superficie celular y la acumulación de exopolisacáridos (EPS) en aislados de *P. aeruginosa*. También disminuye la expresión relativa de cuatro genes QS (*lasI*, *lasR*, *rhII*, *rhIR*) y la del gen *ndvB*, relacionado con biopelículas (201). Por su parte, la combinación de cinamaldehído con gentamicina reprime la producción de acil-homoserina lactonas y regula negativamente la expresión de genes críticos QS, reduciendo sustancialmente la producción de piocianina, alginato, ramnolípidos, hemolisina, proteasas diversas y elastasa, pareciendo que termina por eliminar las biopelículas preformadas e interrumpir la estructuración de las que se encuentran en formación al impedir la producción de EPS (3, 277, 298, 315).

También se han descrito otras moléculas con acción anti-biopelículas y/o anti-QS, como los derivados de piridina 3, de aminobenceno-sulfonamida 2, de furotiazol 4 y de tienotiazol 5, los cuales exhiben una importante actividad inhibitoria de las biopelículas de *P. aeruginosa* ATCC 27853. De hecho, el derivado de piridina 3 muestra una eficacia similar a la de los fármacos de referencia, ampicilina y ciprofloxacina. Los compuestos como el ácido aurínico tricarbóxico que pueden alterar la interacción entre la proteína EPS y el ADNe, también suelen ser eficaces para erradicar las biopelículas generadas por *P. aeruginosa*. Además, a las N-aril malonamidas (NAM) se les reconoció como compuestos que inhiben al regulador transcripcional QS MvfR, con lo cual controlan la virulencia de las cepas (87, 298).

Sin duda, *P. aeruginosa* puede escapar de la amenaza de los antimicrobianos al atrapar a los antibióticos en la matriz extracelular de la biopelícula. Para tratar de contrarrestar ese inconveniente, se estudia la aplicación de nanopartículas de polímero monocatenario (SCPN) acopladas a DNasa I y a tobramicina, para dispersar la matriz de las biopelículas. Lógicamente, de esta manera mejora la actividad de la tobramicina y de la DNasa I sobre las biopelículas de *P. aeruginosa*, ya que se neutralizan las interacciones iónicas que retienen al antibiótico en la periferia de la biopelícula (235, 315).

Afectación de la homeostasis del hierro en *P. aeruginosa*

El hierro es un metal esencial para todos los organismos vivos, ya que participa en varios procesos celulares vitales y en vías metabólicas como cofactor redox (376). En tal contexto, también se han diseñado estrategias que se encuentran en proceso, para desarrollar compuestos que alteran la homeostasis del metal. Las ideas más prometedoras incluyen terapias inmunológicas (por ejemplo, con lipocalina), así como el uso de imitadores y quelantes del hierro, como el galio y la lactoferrina, respectivamente (206). Es importante destacar que estas estrategias antibacterianas basadas en la afectación del papel del hierro inhiben el crecimiento, la supervivencia y/o la virulencia de *P. aeruginosa*, aunque no matan a la bacteria. Además, se están utilizando portadores de hierro y sistemas de absorción para rediseñar y administrar los antibióticos existentes, mediante la llamada estrategia

del "caballo de Troya", a través de sistemas de absorción de sideróforos y la mejora en la administración de antibióticos destinados a las células bacterianas (230, 296).

Inhibición de lectinas

Las lectinas presentes en *P. aeruginosa* son proteínas de la membrana externa bacteriana que reconocen a los glicoconjugados del hospedero, lo que permite al microorganismo adherirse a los tejidos y células eucariontes (229). La adherencia del patógeno a la superficie de las células epiteliales del pulmón está mediada por dos lectinas específicas: LecA y LecB, las cuales se unen a sus receptores, galactosa y fucosa, respectivamente. Además, se ha reportado que las lectinas de *P. aeruginosa* participan en la formación de biopelículas, al interactuar con los glicoconjugados de las células hospederas (214, 312).

De acuerdo con lo anterior, la inhibición de esa unión de lectina a los tejidos eucariontes puede ser útil para efectuar la prevención y el tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa*. La unión de la lectina a la superficie de la célula hospedera puede impedirse mediante inhibidores de lectina, como glicoclusters, glicopolímeros y glicodendrimeros, que tienen una alta afinidad de unión a las lectinas e inhiben su funcionamiento. El dendrímero péptido β -fenilgalactosil (GalAG2), un dendrímero glicopeptídico, ha mostrado una fuerte afinidad de unión a LecA e inhibe la formación de biopelículas *in vitro* (124, 361), mientras que el dendrímero FD2 se une a LecB facilitando la inhibición de la formación de

biopelículas y la dispersión de biopelículas preformadas sobre una superficie de acero. Además de sintetizarse químicamente, los inhibidores de las lectinas de *P. aeruginosa* también se producen en forma natural, los cuales se encuentran dentro de la jalea real, que es producida por abejas nodrizas jóvenes a partir de una mezcla de miel y polen de flores con secreciones de sus glándulas salivales cefálicas. Recientemente se ha demostrado que inhibe la formación de biopelículas de *P. aeruginosa* al interactuar con lectinas e interrumpir la unión inicial de *P. aeruginosa* a las células epiteliales del pulmón humano *in vitro*, sin embargo, se requiere una evaluación adicional en modelos *in vivo* y ensayos clínicos (261).

Inmunoterapia y vacunas

Inmunización activa. Un tratamiento de inmunoterapia activa utiliza el sistema inmunológico del paciente para superar o detener la infección bacteriana; puede hacerlo estimulando o cambiando el sistema inmunológico permitiendo una mejor respuesta inmune (272). Las estrategias de inmunización contra *P. aeruginosa* se han centrado principalmente en estos importantes antígenos: LPS, componentes de proteínas flagelares y proteínas F e I de la membrana externa (OprF/I). También se han desarrollado varias vacunas candidatas contra los antígenos de los componentes estructurales del SST3 (PcrV), los péptidos efectores secretados (Exo U), y combinaciones de estos factores (363). A pesar de que se han probado varios otros antígenos, solo unos pocos ingresaron a ensayos clínicos (276, 318).

La mayoría de las vacunas desarrolladas o en estudio actúan sobre un solo objetivo, por lo que carecen de un amplio rango de protección o no fueron efectivas en absoluto (318). Estudios recientes han demostrado que las vacunas con múltiples antígenos pueden aumentar significativamente la respuesta inmune, aumentando así su potencial preventivo (272). Organismos completos, como células enteras muertas y vivas atenuadas, también se están probando para el desarrollo de vacunas (100, 177). La inmunización con una vacuna viva atenuada multivalente indujo células T CD4 efectoras y anticuerpos opsónicos contra varios antígenos O, el núcleo de LPS y proteínas de superficie de *P. aeruginosa*, que proporciona protección contra la neumonía letal aguda en ratones (318). Estos resultados refuerzan la hipótesis de que una vacuna exitosa para la prevención de la colonización por *P. aeruginosa* debería inducir múltiples efectores inmunes (100, 211, 318).

A pesar de estos considerables esfuerzos, todavía no se ha encontrado ninguna vacuna que sea clínicamente eficaz contra este patógeno. Los principales obstáculos para lograr este objetivo incluyen una pobre inmunogenicidad de los epítomos protectores, una gran variante de subtipo de antígenos, que conduce a un alto grado de variabilidad serológica, un genoma grande que facilita la adaptación a nuevos entornos, plasticidad fenotípica entre la infección aguda y crónica, y variaciones en la respuesta de los animales que dificultan la determinación de las formulaciones de vacunas óptimas a partir de dichos estudios (290, 363).

Otra técnica que ha permitido avances en la terapia contra *P. aeruginosa* MDR/XDR es la vacunología inversa, que permite a los investigadores utilizar la secuencia completa del genoma bacteriano para encontrar proteínas inmunogénicas y expuestas a la superficie y estudiarlas desde diferentes aspectos como la antigenicidad, la alergenicidad y la similitud con el proteoma humano. Como resultado, se puede desarrollar una nueva generación de vacunas basadas en antígenos que antes no se detectaban o incluso se ignoraban (100, 239).

Inmunización pasiva. Se ha descrito para el tratamiento de infecciones por patógenos resistentes a los antimicrobianos y para pacientes con un sistema inmune deteriorado que no pueden desarrollar una inmunidad efectiva en respuesta a la inmunización activa. Por ejemplo, el uso de anticuerpos monoclonales (MAbs) se ha establecido en varias áreas terapéuticas y representan una alternativa o complemento a la terapia con antibióticos, lo que resulta en una resolución más rápida de las infecciones y estancias más cortas en las UCI, así como reducciones de la morbilidad, la mortalidad y costos de atención médica (251). Generalmente, los MAbs se derivan de ratones y se modifican genéticamente para mejorar la tolerabilidad en humanos (363). Sin embargo, todavía difieren en los patrones de glicosilación de los anticuerpos humanos, lo que afecta su vida media y su tolerabilidad a largo plazo. Para superar este problema, recientemente se desarrolló una técnica para utilizar células B humanas para la producción de MAbs terapéuticos (215, 318, 363).

5.3. Prevención de infecciones por *P. aeruginosa*

Uno de los aspectos más importantes del tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa* es prevenir nuevas infecciones siempre que sea posible, especialmente en el entorno de organismos MDR (33). Existe una variedad de prácticas y pautas disponibles para prevenir la propagación de patógenos MDR como *P. aeruginosa* y otros bacilos Gran negativos (BGN), incluida la atención estándar, como la higiene de manos y precauciones de contacto para pacientes con organismos MDR (69, 332). Otras medidas relevantes que pueden reducir la incidencia de MDR *P. aeruginosa* incluyen programas de administración de antimicrobianos, limpieza ambiental y procedimientos de descolonización. La prevención de la NAVM, que frecuentemente se debe a *P. aeruginosa*, se puede lograr evitando la intubación, cuando sea posible, evaluaciones diarias para la extubación, minimizando la sedación, elevando la cabecera de la cama y minimizando las secreciones. Además, la prevención de infecciones asociadas a la atención médica, como ITSAVC y ITUAC, así como las ISQ, se puede lograr con una técnica estéril estricta, reevaluaciones frecuentes para determinar la necesidad de una vía central o catéter urinario y la eliminación de vías y catéteres no esenciales (289). Una gran revisión sistemática y un metaanálisis encontraron anteriormente que las medidas más efectivas para prevenir el desarrollo de una infección por BGN MDR en la UCI eran una combinación de atención estándar (higiene de manos y precauciones de contacto), administración oportuna y adecuada de antimicrobianos, limpieza ambiental y control de fuentes (281).

CONCLUSIONES

- Las enfermedades ocasionadas por *P. aeruginosa* son, en su mayoría, de origen nosocomial, destacando por su alta prevalencia las infecciones de heridas por quemaduras, de los sitios quirúrgicos, del tracto urinario asociadas a catéteres, del torrente circulatorio y del tracto respiratorio inferior, sobre todo la fibrosis quística y la neumonía asociada a ventilación mecánica.
- *Pseudomonas aeruginosa* se ha convertido en un patógeno prioritario por la OMS, la cual promueve la creación de nuevas estrategias terapéuticas que reemplacen a los antibióticos inoperantes dentro de los hospitales.
- La gran adaptabilidad de *P. aeruginosa* para sobrevivir en ambientes adversos está sustentada por su sorprendente arsenal de factores de virulencia, buena parte de los cuales neutraliza la acción de la respuesta inmune del hospedero o la evade, lo que permite establecerse, proliferar y diseminarse en los tejidos humanos relacionados con pacientes debilitados o inmunocomprometidos.

- Entre los principales factores de virulencia de *P. aeruginosa* figuran sus *pili* o fimbrias tipo IV, flagelos, LPS, numerosas proteasas, sideróforos, hemolisinas, polisacáridos y exotoxinas.
- *Pseudomonas aeruginosa* presenta la mayoría de los sistemas de secreción proteica que se conocen, debido a que libera numerosas moléculas proteicas que actúan como factores de patogenicidad. Destaca el sistema de secreción de tipo III, ya que deposita exotoxinas en el interior de las células hospederas, a las que provoca la muerte. Adicionalmente, sus vesículas de membrana externa apoyan en la liberación de factores de virulencia, e inclusive, sus sistemas de eflujo refuerzan esa labor, independientemente de su relevante influencia en la multirresistencia a los antimicrobianos.
- En virtud de la alarmante multirresistencia de las cepas de *P. aeruginosa*, el empleo de la fago-terapia en el mediano plazo parece ser la mejor opción, dadas sus características en cuanto a especificidad y las que han manifestado mayores avances. Las estrategias dirigidas a la neutralización de sus factores de virulencia parecen representar otra alternativa complementaria, ya que resultaría un éxito impedir el *quorum sensing* y la formación de biopelículas.
- En el interior de los nosocomios, *P. aeruginosa* suele resultar multirresistente a los antimicrobianos tradicionales, lo que representa un grave problema

para salvar la vida de los pacientes involucrados. La solución a este gran desafío implica la oportuna obtención de numerosos éxitos en el hallazgo de nuevas estrategias para afectar de manera determinante al microorganismo cuando se le detecte como el agente causal del padecimiento nosocomial involucrado.

REFERENCIAS

1. Abdelghafar, A., El-Ganiny, A., Shaker, G., & Askoura, M. (2023). Isolation of a bacteriophage targeting *Pseudomonas aeruginosa* and exhibits a promising in vivo efficacy. *AMB Express*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-023-01582-3>
2. Agnello, M., Finkel, S. E., and Wong-Beringer, A. (2016). Fitness Cost of Fluoroquinolone Resistance in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* Differs by Type III Secretion Genotype. *Frontiers in Microbiology*. 7. doi: 10.3389/ fmicb.2016.01591
3. Ahmed, S. A. K. S., Rudden, M., Smyth, T. J., Dooley, J. S. G., Marchant, R., & Banat, I. M. (2019). Natural quorum sensing inhibitors effectively downregulate gene expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(8), 3521–3535. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09618-0>
4. Alav, I., Kobyłka, J., Kuth, M. S., Pos, K. M., Picard, M., Blair, J. M. A., & Bavro, V. N. (2021). Structure, Assembly, and Function of Tripartite Efflux and Type 1 Secretion Systems in Gram-Negative Bacteria. *Chemical reviews*, 121(9), 5479–5596. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00055>
5. Aldrovandi, M., Banthiya, S., Meckelmann, S., Zhou, Y., and Kuhn, H. (2018). Specific Oxygenation of Plasma Membrane Phospholipids by *Pseudomonas aeruginosa* Lipoyxygenase Induces Structural and Functional Alterations in Mammalian Cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1863 (2), 152–164. doi: 10.1016/ j.bbalip.2017.11.005
6. Alhede M, Kragh KN, Qvortrup K, Allesen-Holm M, van Gennip M, Christensen LD, Jensen PO, Nielsen AK, Parsek M, Wozniak D, Molin S,

- Tolker-Nielsen T, Hoiby N, Givskov M, Bjarnsholt T. (2011). Phenotypes of non-attached *Pseudomonas aeruginosa* aggregates resemble surface attached biofilm. *PLoS One* 6: e27943.
7. Ali, K. M., & Al-Jaff, B. M. A. (2021). Source and antibiotic susceptibility of gram-negative bacteria causing superficial incisional surgical site infections. *International Journal of Surgery Open*, 30(100318), 100318. <https://doi.org/10.1016/j.ijso.2021.01.007>
 8. Aliaga, L., Moreno-Higueras, M., Martínez, J., & Rodríguez-Granger, J. (2022). *Pseudomonas* Infections. En *Encyclopedia of Infection and Immunity* (pp. 644–655). Elsevier.
 9. Allen, W. J., & Collinson, I. (2023). A unifying mechanism for protein transport through the core bacterial Sec machinery. *Open biology*, 13(8), 230166. <https://doi.org/10.1098/rsob.230166>
 10. Almuhayawi, M. S., Gattan, H. S., Alruhaili, M. H., Alharbi, M. T., Nagshabandi, M. K., Tarabulsi, M. K., Almuhayawi, S. M., Al Jaouni, S. K., Selim, S., Alanazi, A., Alruwaili, Y., Faried, O. A., Amin, I., & Elnosary, M. E. (2023). Molecular profile and the effectiveness of antimicrobials drugs against staphylococcus aureus and *Pseudomonas aeruginosa* in the diagnostic approaches of otitis infection. *Infection and Drug Resistance*, 16, 4397–4408. <https://doi.org/10.2147/idr.s418685>
 11. Alonso, B., Fernández-Barat, L., Di Domenico, E. G., Marín, M., Cercenado, E., Merino, I., de Pablos, M., Muñoz, P., & Guembe, M. (2020). Characterization of the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* strains causing ventilator-associated pneumonia. *BMC Infectious Diseases*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05534-1>
 12. Alverdy, J. C., Hyman, N., & Gilbert, J. (2020). Re-examining causes of surgical site infections following elective surgery in the era of asepsis. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(3), e38–e43. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(19\)30756-x](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(19)30756-x)
 13. Amati, F., Simonetta, E., Gramegna, A., Tarsia, P., Contarini, M., Blasi, F., & Aliberti, S. (2019). The biology of pulmonary exacerbations in

- bronchiectasis. *European Respiratory Review: An Official Journal of the European Respiratory Society*, 28(154), 190055. <https://doi.org/10.1183/16000617.0055-2019>
14. Ambroziak, P., Rzepka, I., & Skorko-Glonek, J. (2021). SecA - a multidomain and multitask bacterial export protein. *Acta biochimica Polonica*, 68(3), 427–436. https://doi.org/10.18388/abp.2020_5761
 15. Anantharajah, A., Faure, E., Buyck, J. M., Sundin, C., Lindmark, T., Meccas, J., Yahr, T. L., Tulkens, P. M., Mingeot-Leclercq, M., Guery, B., & Van Bambeke, F. (2016). Inhibition of the Injectisome and Flagellar Type III Secretion Systems by INP1855 Impairs *Pseudomonas aeruginosa* Pathogenicity and Inflammasome Activation. *Journal of Infectious Diseases*, 214 (7), 1105–1116. doi: 10.1093/infdis/jiw295
 16. Araos, R., & D'Agata, E. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* and Other *Pseudomonas* Species. In Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases (pp. 2686-2699). Churchill Livingstone Elsevier Philadelphia.
 17. Azam, M. W., & Khan, A. U. (2019). Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Discovery Today*, 24(1), 350–359. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.07.003>
 18. Bachtá, K. E. R., Allen, J. P., Cheung, B. H., Chiu, C.-H., & Hauser, A. R. (2020). Systemic infection facilitates transmission of *Pseudomonas aeruginosa* in mice. *Nature Communications*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14363-4>
 19. Badal, D., Jayarani, A. V., Kollaran, M. A., Prakash, D., Monisha, & Singh, V. (2021). Foraging Signals Promote Swarming in Starving *Pseudomonas aeruginosa*. *MBio*, 12(5). <https://doi.org/10.1128/mbio.02033-21>
 20. Baek, M. S., Chung, E. S., Jung, D. S., & Ko, K. S. (2020). Effect of colistin-based antibiotic combinations on the eradication of persister cells in *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(4), 917–924. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz552>

21. Balasubramanian, D., Schneper, L., Kumari, H., and Mathee, K. (2012). A Dynamic and Intricate Regulatory Network Determines *Pseudomonas aeruginosa* Virulence. *Nucleic Acids Research*, 41(1), 1–20. doi: 10.1093/nar/gks1039
22. Balhuizen, M. D., Veldhuizen, E. J. A., & Haagsman, H. P. (2021). Outer Membrane Vesicle Induction and Isolation for Vaccine Development. *Frontiers in microbiology*, 12, 629090. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.629090>
23. Ballok, A. E., Filkins, L. M., Bomberger, J. M., Stanton, B. A., & O'Toole, G. A. (2014). Epoxide-mediated differential packaging of Cif and other virulence factors into outer membrane vesicles. *Journal of bacteriology*, 196(20), 3633–3642. <https://doi.org/10.1128/JB.01760-14>
24. Bansal, A., & Relhan, V. (2022). Acute and chronic paronychia revisited: A narrative review. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 15(1), 1. https://doi.org/10.4103/jcas.jcas_30_21
25. Barrio del-Tofiño, E., López-Causapé, C., & Oliver, A. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* epidemic high-risk clones and their association with horizontally acquired β -lactamases: 2020 update. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(6), 106196. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106196>
26. Bashir, A., & Brown, J. S. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*. En S. M. Janes (Ed.), *Encyclopedia of Respiratory Medicine* (pp. 14–22). Elsevier.
27. Basler, M. (2015). Type VI secretion system: secretion by a contractile nanomachine. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 370(1679), 20150021. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0021>
28. Basso, P, Ragno, M., Elsen, S., Reboud, E., Golovkine, G., Bouillot, S, Huber, P., Lory, S., Faudry, E., & Attrée, I. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* Pore-Forming Exolysin and Type IV Pili Cooperate To Induce Host Cell Lysis. *MBio* 8 (1), e02250–e02216. doi: 10.1128/ mBio.02250-16
29. Bauman, S. J., & Kuehn, M. J. (2006). Purification of outer membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa* and their activation of an IL-8

- response. *Microbes and infection*, 8(9-10), 2400–2408.
<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2006.05.001>
30. Behzadi, P., Baráth, Z., & Gajdács, M. (2021). It's not easy being green: A narrative review on the microbiology, virulence, and therapeutic prospects of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 10(1), 42. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010042>
31. Ben Hur, D., Kapach, G., Wani, N. A., Kiper, E., Ashkenazi, M., Smollan, G., Keller, N., Efrati, O., & Shai, Y. (2022). Antimicrobial peptides against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* biofilm from cystic fibrosis patients. *Journal of Medicinal Chemistry*, 65(13), 9050–9062. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00270>
32. Berni, B., Soscia, C., Djermoun, S., Ize, B., & Bleves, S. (2019). A Type VI Secretion System Trans-Kingdom Effector Is Required for the Delivery of a Novel Antibacterial Toxin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in microbiology*, 10, 1218. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01218>
33. Beville, A. S. M., Heipel, D., Vanhoozer, G., & Bailey, P. (2021). Reducing central line associated bloodstream infections (CLABSIs) by reducing central line days. *Current Infectious Disease Reports*, 23(12). <https://doi.org/10.1007/s11908-021-00767-w>
34. Bjarnsholt T, Alhede M, Alhede M, Eickhardt-Sorensen SR, Moser C, Kuhl M, Jensen PO, Hoiby N. (2013). The in vivo biofilm. *Trends Microbiology* 21: 466-474.
35. Blanco, M. C., Vergara, A. M., Voth, A. H., & Catalán, J. S. (2022). Neumonía nosocomial. *Medicine*, 13(66), 3885–3891. <https://doi.org/10.1016/j.med.2022.10.012>
36. Bleves, S. (2016). Game of Trans-Kingdom Effectors. *Trends Microbiol.* 24(10), 773–774. doi: 10.1016/j.tim.2016.08.002
- Bleves, S., Viarre, V., Salacha, R., Michel, G. P. F., Filloux, A., and Voulhoux, R. (2010). Protein Secretion Systems in *Pseudomonas aeruginosa*: A Wealth of Pathogenic Weapons. *International Journal of Medical Microbiology*, 300 (8), 534–543. doi: 10.1016/j.ijmm.2010.08.005

37. Bleves, S., Viarre, V., Salacha, R., Michel, G. P., Filloux, A., & Voulhoux, R. (2010). Protein secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*: A wealth of pathogenic weapons. *International journal of medical microbiology : IJMM*, 300(8), 534–543. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.08.005>
38. Bomberger, J. M., Maceachran, D. P., Coutermarsh, B. A., Ye, S., O'Toole, G. A., & Stanton, B. A. (2009). Long-distance delivery of bacterial virulence factors by *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane vesicles. *PLoS pathogens*, 5(4), e1000382. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000382>
39. Bomberger, J. M., Ye, S., Maceachran, D. P., Koeppen, K., Barnaby, R. L., O'Toole, G. A., & Stanton, B. A. (2011). A *Pseudomonas aeruginosa* toxin that hijacks the host ubiquitin proteolytic system. *PLoS pathogens*, 7(3), e1001325. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001325>
40. Bonnington, K. E., & Kuehn, M. J. (2014). Protein selection and export via outer membrane vesicles. *Biochimica et biophysica acta*, 1843(8), 1612–1619. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.12.011>
41. Botelho, J., Grosso, F., & Peixe, L. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* – Mechanisms, epidemiology, and evolution. *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, 44(100640), 100640. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2019.07.002>
42. Bouillot, S., Pont, S., Gallet, B., Moriscot, C., and Huber, P. (2020). Inflammasome Activation by *Pseudomonas aeruginosa* 'S ExlA Pore-Forming Toxin is Detrimental for the Host. *Cellular Microbiology*, 22 (11), e13251. doi: 10.1111/ cmi.13251
43. Bradshaw, J. L., Caballero, A. R., Bierdeman, M. A., Adams, K. V., Pipkins, H. R., Tang, A., O'Callaghan, R. J., & McDaniel, L. S. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* Protease IV Exacerbates Pneumococcal Pneumonia and Systemic Disease. *Msphere*, 3 (3), e00212– e00218. doi: 10.1128/mSphere.00212-18
44. Braunstein, M., Bensing, B. A., & Sullam, P. M. (2019). The Two Distinct Types of SecA2-Dependent Export Systems. *Microbiology spectrum*, 7(3),

10.1128/microbiolspec.PSIB-0025-2018.

<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.PSIB-0025-2018>

45. Brito, Illinois (2021). Examinando la transferencia horizontal de genes en comunidades microbianas. *Nature Reviews Microbiology*, 19(7), 442–453. doi:10.1038/s41579-021-00534-7
46. Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N. (2021). Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7202. <https://doi.org/10.3390/ijms22137202>
47. Bugli, F., Martini, C., Di Vito, M., Cacaci, M., Catalucci, D., Gori, A., Iafisco, M., Sanguinetti, M., & Vitali, A. (2022). Antimicrobial peptides for tackling cystic fibrosis related bacterial infections: A review. *Microbiological research*, 263, 127152. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127152>
48. Burrows, L. L. (2012b). *Pseudomonas aeruginosa* Twitching Motility: Type IV Pili in Action. *Annual Review Microbiology*, 66, 493–520. doi: 10.1146/annurev-micro092611-150055
49. Bush, K., & Bradford, P. A. (2019). Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors. *Nature Reviews. Microbiology*, 17(5), 295–306. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0159-8>
50. Cabrera, R., Fernández-Barat, L., Vázquez, N., Alcaraz-Serrano, V., Bueno-Freire, L., Amaro, R., López-Aladid, R., Oscanoa, P., Muñoz, L., Vila, J., & Torres, A. (2022). Resistance mechanisms and molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* strains from patients with bronchiectasis. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(6), 1600–1610. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac084>
51. Cabrera-Aguas, M., Khoo, P., & Watson, S. L. (2022). Infectious keratitis: A review. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 50(5), 543–562. <https://doi.org/10.1111/ceo.14113>
52. Cabrini, G., Rimessi, A., Borgatti, M., Lampronti, I., FiBon, A., Pinton, P., & Gambari, R. (2020). Role of Cystic Fibrosis Bronchial Epithelium in Neutrophil Chemotaxis. *Frontiers in immunology*, 11, 1438. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01438>

53. Callens, M., Scornavacca, C., & Bedhomme, S. (2021). Evolutionary responses to codon usage of horizontally transferred genes in *Pseudomonas aeruginosa*: gene retention, amelioration, and compensatory evolution. *Microbial Genomics*, 7(6). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000587>
54. Campo-Beleño, C., Villamizar-Gallardo, R. A., López-Jácome, L. E., González, E. E., Muñoz-Carranza, S., Franco, B., Morales-Espinosa, R., Coria-Jimenez, R., Franco-Cendejas, R., Hernández-Durán, M., Lara-Martínez, R., Jiménez-García, L. F., Fernández-Presas, A. M., & García-Contreras, R. (2022). Biologically synthesized silver nanoparticles as potent antibacterial effective against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Letters in applied microbiology*, 75(3), 680–688. <https://doi.org/10.1111/lam.13759>
55. Cardozo, C., Rico, V., Agüero, D., & Soriano, A. (2019). Antibiotic selection in the treatment of acute invasive infections by *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Espanola de Quimioterapia: Publicacion Oficial de La Sociedad Espanola de Quimioterapia*, 32 Suppl 2(Suppl 2), 32–34.
56. Casey, M., & Jones, A. L. (2023). Cystic fibrosis. *Medicine* (Abingdon, England: UK Ed.). <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2023.08.001>
57. Cassat, J. E., & Skaar, E. P. (2013). Iron in infection and immunity. *Cell host & microbe*, 13(5), 509–519. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.04.010>
58. Cendra, M. del M., & Torrents, E. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and their partners in crime. *Biotechnology Advances*, 49(107734), 107734. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107734>
59. Chakravarty, S., Melton, C. N., Bailin, A., Yahr, T. L., & Anderson, G. G. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* Magnesium Transporter MgtE Inhibits Type III Secretion System Gene Expression by Stimulating rsmYZ Transcription. *Journal of bacteriology*, 199(23), e00268-17. <https://doi.org/10.1128/JB.00268-17>
60. Chalmers, J. D., Chang, A. B., Chotirmall, S. H., Dhar, R., & McShane, P. J. (2018). Bronchiectasis. *Nature Reviews. Disease Primers*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0042-3>

61. Chang, R. Y. K., Nang, S. C., Chan, H.-K., & Li, J. (2022). Novel antimicrobial agents for combating antibiotic-resistant bacteria. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 187(114378), 114378. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2022.114378>
62. Chegini, Z., Khoshbayan, A., Taati Moghadam, M., Farahani, I., Jazireian, P., & Shariati, A. (2020). Bacteriophage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: a review. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 19(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s12941-020-00389-5>
63. Chen, E., Smith, B. J., Marschalk, N., & Shah, N. (2022). Chapter 1 - Epidemiology and pathophysiology of infective endocarditis. En A. Kilic (Ed.), *Infective Endocarditis* (pp. 1–23). Academic Press.
64. Chen, J., Huang, H., Liu, C., & Fu, Y.-Q. (2023). Risk factors for mortality in *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in children. *Pediatrics and Neonatology*. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2023.03.012>
65. Chen, J.-L., Huang, T.-Y., Kuo, L. T., Huang, K.-C., & Tsai, Y.-H. (2022). Monomicrobial Necrotizing Fasciitis and Sepsis Caused by *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescens*: a Series of Ten Cases. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 75(6), 554–559. <https://doi.org/10.7883/yoken.jjid.2022.087>
66. Chen, L., Zou, Y., Kronfl, A. A., & Wu, Y. (2020). Type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* is associated with biofilm formation but not environmental adaptation. *MicrobiologyOpen*, 9(3), e991. <https://doi.org/10.1002/mbo3.991>
67. Chen, L., Zou, Y., She, P., & Wu, Y. (2015). Composition, function, and regulation of T6SS in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiological research*, 172, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.01.004>
68. Cheng, Z. (2016). A *Pseudomonas aeruginosa*-Secreted Protease Modulates Host Intrinsic Immune Responses, But How? *BioEssays* 38 (11), 1084–1092. doi: 10.1002/bies.201600101
69. Chi, X., Guo, J., Niu, X., He, R., Wu, L., & Xu, H. (2020). Prevention of central line-associated bloodstream infections: a survey of ICU nurses' knowledge

- and practice in China. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 9(1).
<https://doi.org/10.1186/s13756-020-00833-3>
70. Chin, J. D., Zhao, L., Mayberry, T. G., Cowan, B. C., Wakefield, M. R., & Fang, Y. (2023). Photodynamic therapy, probiotics, acetic acid, and essential oil in the treatment of chronic wounds infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmaceutics*, 15(6), 1721.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061721>
71. Chongbing L., Huang X., Wang Q., Yao D. & Lu W (2022). Virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* and antivirulence strategies to combat its drug resistance, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12: 926758, doi: 10.3389/fcimb.2022.926758
72. Coburn, B., Sekirov, I., & Finlay, B. B. (2007). Type III secretion systems and disease. *Clinical microbiology reviews*, 20(4), 535–549.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00013-07>
73. Coleman, S. R., Blimkie, T., Falsafi, R., & Hancock, R. E. W. (2020). Multidrug Adaptive Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Swarming Cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(3).
<https://doi.org/10.1128/aac.01999-19>
74. Costa, T. R., Felisberto-Rodrigues, C., Meir, A., Prevost, M. S., Redzej, A., Trokter, M., & Waksman, G. (2015). Secretion systems in Gram-negative bacteria: structural and mechanistic insights. *Nature reviews. Microbiology*, 13(6), 343–359. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3456>
75. Coulthurst S. (2019). The Type VI secretion system: a versatile bacterial weapon. *Microbiology (Reading, England)*, 165(5), 503–515.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.000789>
76. Craig, L., Forest, K. T., and Maier, B. (2019). Type IV Pili: Dynamics, Biophysics and Functional Consequences. *Nature Reviews Microbiology*, 17 (7), 429–440. doi: 10.1038/s41579-019-0195-4
77. Crone S, Vives-Flórez M, Kvich L, Sunders AM, Malone M, Nicolaisen MH, Martínez-García E, Rojas-Acosta C, Catalina Gomez-Puerto M, Clalum H,

- Whiteley M, Kolter R, Bjarnsholt T. (2020). The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*. *APMIS* 128: 220-231.
78. Dadashi, M., Chen, L., Nasimian, A., Ghavami, S., & Duan, K. (2021). Putative RNA Ligase RtcB Affects the Switch between T6SS and T3SS in *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of molecular sciences*, 22(22), 12561. <https://doi.org/10.3390/ijms222212561>
79. Dar, H. H., Epperly, M. W., Tyurin, V. A., Amoscato, A. A., Anthonymuthu, T. S., Souryavong, A. B., Kapralov A.A., Shurin G.V., Samovich S.N., St Croix C.M., Watkins S.C., Wenzel S.E., Mallampalli R.K., Greenberger J.S., Bayir H, Kagan V.E., Tyurina Y.Y. (2022). *Pseudomonas aeruginosa* Augments Irradiation Injury via 15-Lipoxygenase Catalyzed Generation of 15-HpETE-PE and Induction of Theft-Ferroptosis. *JCI Insight* 7 (4), e156013. doi: 10.1172/ jci.insight.156013
80. Das, K., Abrol, S., Verma, R., Annapragada, H., Katiyar, N., & Senthilkumar. (2020). *Pseudomonas*. En N. Amaresan, M. Senthil Kumar, K. Annapurna, K. Kumar, & A. Sankaranarayanan (Eds.), *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (pp. 133–148). Elsevier.
81. Das, T., Manoharan, A., Whiteley, G., Glasbey, T., & Manos, J. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and infections: Roles of extracellular molecules. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biofilms*, 29–46. doi:10.1016/b978-0-444-64279-0.00003-7
82. Derakhshan, S., & Hosseinzadeh, A. (2020). Resistant *Pseudomonas aeruginosa* carrying virulence genes in hospitalized patients with urinary tract infection from Sanandaj, west of Iran. *Gene Reports*, 20(100675), 100675. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100675>
83. Diab Cáceres, L., & Zamarrón de Lucas, E. (2023). Cystic fibrosis: Epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, and treatment. *Medicina Clínica (English Edition)*. <https://doi.org/10.1016/j.medcle.2023.06.013>

84. Diaz, M. R., King, J. M., & Yahr, T. L. (2011). Intrinsic and Extrinsic Regulation of Type III Secretion Gene Expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in microbiology*, 2, 89. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00089>
85. Dickey, S. W., Cheung, G. Y. C., and Otto, M. (2017). Different Drugs for Bad Bugs: Antivirulence Strategies in the Age of Antibiotic Resistance. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16 (7), 457–471. doi: 10.1038/nrd.2017.23
86. Dickinson, K. M., & Collaco, J. M. (2021). Cystic fibrosis. *Pediatrics in Review*, 42(2), 55–67. <https://doi.org/10.1542/pir.2019-0212>
87. Didehdar, M., Chegini, Z., Tabaeian, S. P., Razavi, S., & Shariati, A. (2022). Cinnamomum: The new therapeutic agents for inhibition of bacterial and fungal biofilm-associated infection. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.930624>
88. Diggle, S. P., & Whiteley, M. (2020). Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology (Reading, England)*, 166(1), 30–33. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000860>
89. Dimopoulos, G., Akova, M., Rello, J., & Poulakou, G. (2020). Understanding resistance in *Pseudomonas*. *Intensive Care Medicine*, 46(2), 350–352. <https://doi.org/10.1007/s00134-019-05905-6>
90. Döring, G. (2010). Prevention of *Pseudomonas aeruginosa* Infection in Cystic Fibrosis Patients. *International Journal of Medical Microbiology*, 300 (8), 573–577. doi: 10.1016/j.ijmm.2010.08.010
91. Doring G, Flume P, Heijerman H, Elborn JS, Consensus Study Group. (2012). Treatment of lung infection in patients with cystic fibrosis: current and future strategies. *Journal of Cystic Fibrosis* 11: 461- 479.
92. Doustdar, F., Karimi, F., Abedinyfar, Z., Amoli, F. A., & Goudarzi, H. (2019). Genetic features of *Pseudomonas aeruginosa* isolates associated with eye infections referred to Farabi Hospital, Tehran, Iran. *International Ophthalmology*, 39(7), 1581–1587. <https://doi.org/10.1007/s10792-018-0980-5>
93. Durkee, H., Arboleda, A., Aguilar, M. C., Martinez, J. D., Alawa, K. A., Relhan, N., Maestre-Mesa, J., Amescua, G., Miller, D., & Parel, J.-M. (2020). Rose

- bengal photodynamic antimicrobial therapy to inhibit *Pseudomonas aeruginosa* keratitis isolates. *Lasers in Medical Science*, 35(4), 861–866. <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02871-9>
94. Edgeworth, J. D., Merante, D., Patel, S., Young, C., Jones, P., Vithlani, S., Wyncoll, D., Roberts, P., Jones, A., Den Nagata, T., Ariyasu, M., Livermore, D. M., & Beale, R. (2019). Compassionate use of cefiderocol as adjunctive treatment of native aortic valve endocarditis due to extremely drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 68(11), 1932–1934. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy963>
95. Edwardson, S., & Cairns, C. (2019). Nosocomial infections in the ICU. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 20(1), 14–18. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2018.11.004>
96. Elbargisy, R. M. (2021). Optimization of nutritional and environmental conditions for pyocyanin production by urine isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 993–1000. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.031>
97. Ellis, T. N., and Kuehn, M. J. (2010). Virulence and Immunomodulatory Roles of Bacterial Outer Membrane Vesicles. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74 (1), 81–94. doi: 10.1128/MMBR.00031-09
98. Elsen, S., Huber, P., Bouillot, S., Couté, Y., Fournier, P., Dubois, Y., Timsit, J. F., Maurin, M., & Attrée, I. (2014). A Type III Secretion Negative Clinical Strain of *Pseudomonas aeruginosa* Employs a Two-Partner Secreted Exolysin to Induce Hemorrhagic Pneumonia. *Cell Host Microbe* 15 (2), 164–176. doi: 10.1016/j.chom. 2014.01.003
99. Federici, S., Nobs, S. P., & Elinav, E. (2021). Phages and their potential to modulate the microbiome and immunity. *Cellular & Molecular Immunology*, 18(4), 889–904. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00532-4>
100. Fereshteh, S., Haririzadeh Jouriani, F., Noori Goodarzi, N., Torkamaneh, M., Khasheii, B., & Badmasti, F. (2023). Defeating a superbug: A breakthrough in vaccine design against multidrug-resistant *Pseudomonas*

- aeruginosa using reverse vaccinology. *PloS One*, 18(8), e0289609. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289609>
101. Fernández-Barat L, Ciofu O, Kragh KN, Pressler T, Johansen U, Motos A, Torres A, Hoiby N. (2017). Phenotypic shift in *Pseudomonas aeruginosa* populations from cystic fibrosis lungs after 2 weeks antipseudomonal treatment. *Journal of Cystic Fibrosis*, 16: 222-229.
 102. Fernández-Billón, M., Llambías-Cabot, A. E., Jordana-Lluch, E., Oliver, A., & Macià, M. D. (2023). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Biofilm*, 5(100129), 100129. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2023.100129>
 103. Filloux A. (2011). Protein Secretion Systems in *Pseudomonas aeruginosa*: An Essay on Diversity, Evolution, and Function. *Frontiers in microbiology*, 2, 155. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00155>
 104. Filloux, A., Michel, G., & Bally, M. (1998). GSP-dependent protein secretion in gram-negative bacteria: the Xcp system of *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS microbiology reviews*, 22(3), 177–198. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1998.tb00366.x>
 105. Filloux, A., & Ramos, J.-L. (Eds.). (2016). *Pseudomonas Methods and Protocols*. Humana Press.
 106. Filloux, A., & Ramos, J.-L. (Eds.). (2023). *Pseudomonas aeruginosa: Biology, Pathogenesis and Control Strategies* (1a ed.). Springer International Publishing.
 107. Finck-Barbançon, V., & Frank, D. W. (2001). Multiple domains are required for the toxic activity of *Pseudomonas aeruginosa* ExoU. *Journal of bacteriology*, 183(14), 4330–4344. <https://doi.org/10.1128/JB.183.14.4330-4344.2001>
 108. Fleming, D., Niese, B., Redman, W., Vanderpool, E., Gordon, V., & Rumbaugh, K. P. (2022). Contribution of *Pseudomonas aeruginosa* Exopolysaccharides Pel and Psl to Wound Infections. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.835754>

109. Flores-Mireles, A., Hreha, T. N., & Hunstad, D. A. (2019). Pathophysiology, treatment, and prevention of catheter-associated urinary tract infection. *Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation*, 25(3), 228–240. <https://doi.org/10.1310/sci2503-228>
110. Foreman, S., Ferrara, K., Hreha, T. N., Duran-Pinedo, A. E., Frias-Lopez, J., & Barquera, B. (2021). Genetic and Biochemical Characterization of the Na⁺/H⁺ Antiporters of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology*, 203(18), e0028421. <https://doi.org/10.1128/JB.00284-21>
111. Foulkes, D. M., McLean, K., Haneef, A. S., Fernig, D. G., Winstanley, C., Berry, N., & Kaye, S. B. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* Toxin ExoU as a Therapeutic Target in the Treatment of Bacterial Infections. *Microorganisms*, 7(12), 707. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120707>
112. Francis, M. S., Wolf-Watz, H., & Forsberg, A. (2002). Regulation of type III secretion systems. *Current opinion in microbiology*, 5(2), 166–172. [https://doi.org/10.1016/s1369-5274\(02\)00301-6](https://doi.org/10.1016/s1369-5274(02)00301-6)
113. Franklin, M., Nivens, D., Weadge, J., and Howell, P. (2011). Biosynthesis of the *Pseudomonas aeruginosa* Extracellular Polysaccharides, Alginate, Pel, and Psl. *Frontiers in Microbiology*. 2. doi: 10.3389/fmicb.2011.00167
114. Furuyama, N., & Sircili, M. P. (2021). Outer Membrane Vesicles (OMVs) Produced by Gram-Negative Bacteria: Structure, Functions, Biogenesis, and Vaccine Application. *BioMed research international*, 2021, 1490732. <https://doi.org/10.1155/2021/1490732>
115. Galle, M., Carpentier, I., & Beyaert, R. (2012). Structure and function of the Type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Current protein & peptide science*, 13(8), 831–842. <https://doi.org/10.2174/138920312804871210>
116. Garai, P., Berry, L., Moussouni, M., Bleves, S., & Blanc-Potard, A. B. (2019). Killing from the inside: Intracellular role of T3SS in the fate of *Pseudomonas aeruginosa* within macrophages revealed by mgtC and oprF

- mutants. PLoS pathogens, 15(6), e1007812.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007812>
117. Ghosh, S., Lahiri, D., Nag, M., Dey, A., Pandit, S., Sarkar, T., Pati, S., Abdul Kari, Z., Ishak, A. R., Edinur, H. A., & Ray, R. R. (2022). Phytocompound Mediated Blockage of Quorum Sensing Cascade in ESKAPE Pathogens. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 11(1), 61. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010061>
118. Glen, K. A., & Lamont, I. L. (2021). β -lactam Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Current Status, Future Prospects. *Pathogens*, 10(12), 1638. <https://doi.org/10.3390/pathogens10121638>
119. Glover, E. K., & Sheerin, N. S. (2023). Urinary tract infection. *Medicine* (Abingdon, England: UK Ed.), 51(4), 239–243. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2023.01.002>
120. Gomez, J. B., & Waters, C. M. (2023). Switching on cyclic di-GMP heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature Microbiology*, 8(8), 1380–1381. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01428-5>
121. Goodman, A. L., Kulasekara, B., Rietsch, A., Boyd, D., Smith, R. S., & Lory, S. (2004). A signaling network reciprocally regulates genes associated with acute infection and chronic persistence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Developmental cell*, 7(5), 745–754. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2004.08.020>
122. Goodman, A. L., Merighi, M., Hyodo, M., Ventre, I., Filloux, A., & Lory, S. (2009). Direct interaction between sensor kinase proteins mediates acute and chronic disease phenotypes in a bacterial pathogen. *Genes & development*, 23(2), 249–259. <https://doi.org/10.1101/gad.1739009>
123. Goosens, V. J., Monteferrante, C. G., & van Dijk, J. M. (2014). The Tat system of Gram-positive bacteria. *Biochimica et biophysica acta*, 1843(8), 1698–1706. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.10.008>
124. Goyard, D., Thomas, B., Gillon, E., Imbert, A., & Renaudet, O. (2019). Heteroglycoclusters With Dual Nanomolar Affinities for the Lectins LecA and

- LecB From *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in chemistry*, 7. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00666>
125. Graeber, S. Y., & Mall, M. A. (2023). The future of cystic fibrosis treatment: from disease mechanisms to novel therapeutic approaches. *Lancet*, 402(10408), 1185–1198. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(23\)01608-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(23)01608-2)
126. Green, E. R., & Meccas, J. (2016). Bacterial Secretion Systems: An Overview. *Microbiology spectrum*, 4(1), 10.1128/microbiolspec.VMBF-0012-2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0012-2015>
127. Gurney, H., White, J., Sweeney, J., Valyko, A., & Washer, L. (2023). Evaluation of hospital-onset bloodstream infections compared to central line...associated bloodstream infections at an acute, tertiary care hospital. *American Journal of Infection Control*, 51(10), 1120–1123. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.04.001>
128. Haines, R. R., Putsathit, P., Hammer, K. A., & Tai, A. S. (2022). Activity of newest generation β -lactam/ β -lactamase inhibitor combination therapies against multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific Reports*, 12(1), 1–5. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21101-x>
129. Hajiagha, M. N., & Kafil, H. S. (2023). Efflux pumps and microbial biofilm formation. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 112(105459), 105459. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2023.105459>
130. Hall, S., McDermott, C., Anoopkumar-Dukie, S., McFarland, A. J., Forbes, A., Perkins, A. V., Davey, A. K., Chess-Williams, R., Kiefel, M. J., Arora, D., & Grant, G. D. (2016). Cellular Effects of Pyocyanin, a Secreted Virulence Factor of *Pseudomonas aeruginosa*. *Toxins* 8 (8), 236. doi: 10.3390/toxins8080236
131. Han, Y., Wang, T., Chen, G., Pu, Q., Liu, Q., Zhang, Y., Xu, L., Wu, M., & Liang, H. (2019). A *Pseudomonas aeruginosa* type VI secretion system

- regulated by CueR facilitates copper acquisition. *PLoS pathogens*, 15(12), e1008198. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008198>
132. Hardie, K. R., Mathee, K., Schweizer, H. P., Dietrich, L. E., Welch, M., de Kievit, T., Nguyen, D., Kivisaar, M., Dandekar, A. A., McDougald, D., & Winstanley, C. (2020). Pseudomonas 2019 meeting report. *Journal of medical microbiology*, 69(7), 924–927. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001208>
133. Hardy, K. S., Tuckey, A. N., Renema, P., Patel, M., Al-Mehdi, A. B., Spadafora, D., Schlumpf, C. A., Barrington, R. A., Alexeyev, M. F., Stevens, T., Pittet, J. F., Wagener, B. M., Simmons, J. D., Alvarez, D. F., & Audia, J. P. (2022). ExoU Induces Lung Endothelial Cell Damage and Activates Pro-Inflammatory Caspase-1 during Pseudomonas aeruginosa Infection. *Toxins*, 14(2), 152. <https://doi.org/10.3390/toxins14020152>
134. Harrington, E. M., Trautman, K., Beth Davis, M., Varzavand, K., Meacham, H., Dains, A., Marra, A. R., McDanel, J., Kenne, L., Hanna, B., Murphy, J. P., Diekema, D. J., Wellington, M., Brust, K. B., Kobayashi, T., & Abosi, O. J. (2023). Descriptive epidemiology of central line-associated bloodstream infections at an academic medical center in Iowa, 2019–2022. *American Journal of Infection Control*. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.09.021>
135. Hassan, R., El-Naggar, W., Abd El-Aziz, A. M., Shaaban, M., Kenawy, H. I., and Ali, Y. M. (2018). Immunization With Outer Membrane Proteins (OprF and OprI) and Flagellin B Protects Mice From Pulmonary Infection With Mucoid and Nonmucoid Pseudomonas aeruginosa. *Journal of microbiology and Immunology infection*, 51 (3), 312–320. doi: 10.1016/j.jmii.2016.08.014
136. Hastings, C. J., Himmler, G. E., Patel, A., & Marques, C. N. H. (2023). Immune Response Modulation by Pseudomonas aeruginosa Persister Cells. *MBio*, 14(2). <https://doi.org/10.1128/mbio.00056-23>
137. Haubler S, Ziegler I, Lottel A, Gotz FV, Rohde M, Wehmhohner D, Saravanamuthu S, Tummler B, Steinmetz I. (2003). Highly adherent small-

- colony variants of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Journal of Medical Microbiology*, 52: 295-301
138. Hauser A. R. (2009). The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: infection by injection. *Nature reviews. Microbiology*, 7(9), 654–665. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2199>
 139. Haussler S, Tummler B, Weissbrodt H, Rohde M, Stein-metz I. (1999). Small-colony variants of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Clinical Infectious Diseases*, 29: 621-625.
 140. He, C., Zhou, Y., Liu, F., Liu, H., Tan, H., Jin, S., Wu, W., & Ge, B. (2017). Bacterial Nucleotidyl Cyclase Inhibits the Host Innate Immune Response by Suppressing TAK1 Activation. *Infection and immunity*, 85(9), e00239-17. <https://doi.org/10.1128/IAI.00239-17>
 141. Heshmatipour, Z., Arabameri, N., Eftekhari Ardebili, S., & Jafari Bidhendi, Z. (2021). The role of gene mutations (*gyrA*, *parC*) in resistance to ciprofloxacin in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Iranian Journal of Pathology*, 16(4), 426–432. <https://doi.org/10.30699/ijp.2021.520570.2542>
 142. Hilliam, Y., Kaye, S., & Winstanley, C. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* and microbial keratitis. *Journal of Medical Microbiology*, 69(1), 3–13. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001110>
 143. Hirayama, T., Kato, I., Matsuda, F., and Noda, M. (2013). Crystallization and Some Properties of Leukocidin From *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology and Immunology*, 27 (7), 575–588. doi: 10.1111/j.1348-0421.1983.tb00619.x
 144. Hoiby N., Bjarnsholt T., & Ciofu O.: *Pseudomonas* “In” Carroll K.C. and Pfaller M.A. (2023) *MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, American Society for Microbiology (ASM) Press, 13th edition, Washington, D.C., 2023.
 145. Hoiby N, Bjarnsholt T, Moser C, Bassi GL, Coenye T, Donelli G, Hall-Stoodley L, Holá V, Imbert C, Kirketerp-Moller K, Lebeaux D, Oliver A, Ullmann AJ, Williams C, ESCMID Study group of biofilms and consulting external expert Werner Zimmerli. (2015). ESCMID guide-line for the diagnosis

- and treatment of biofilm infections. 2014. *Clinical Microbiology and Infection*, 21 (Suppl 1): S1-S25.
146. Hoiby N, Bjarnsholt T, Moser C, Jensen PO, Kolpen N, Qvist T, Aanaes K, Pressler T, Skov N, Ciofu O. (2017). Diagnosis of biofilm infections in cystic fibrosis patients. *APMIS* 125: 339-343.
147. Holmes, C. L., Anderson, M. T., Mobley, H. L. T., & Bachman, M. A. (2021). Pathogenesis of Gram-negative bacteremia. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(2). <https://doi.org/10.1128/cmr.00234-20>
148. Hood, R. D., Singh, P., Hsu, F., Güvener, T., Carl, M. A., Trinidad, R. R., Silverman, J. M., Ohlson, B. B., Hicks, K. G., Plemel, R. L., Li, M., Schwarz, S., Wang, W. Y., Merz, A. J., Goodlett, D. R., & Mougous, J. D. (2010). A type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* targets a toxin to bacteria. *Cell host & microbe*, 7(1), 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2009.12.007>
149. Horcajada, J. P., Montero, M., Oliver, A., Sorlí, L., Luque, S., Gómez-Zorrilla, S., Benito, N., & Grau, S. (2019). Epidemiology and Treatment of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Clinical microbiology reviews*, 32(4), e00031-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00031-19>
150. Horna, G., Amaro, C., Palacios, A., Guerra, H., and Ruiz, J. (2019). High Frequency of the Exou+/Exos+ Genotype Associated With MultidrugResistant “High-Risk Clones” of *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates From Peruvian Hospitals. *Scientific Reports*, 9 (1), 10874. doi: 10.1038/s41598-019- 47303-4
151. Horna, G., & Ruiz, J. (2021a). Type 3 Secretion System as an Anti-Pseudomonal Target. *Microbial Pathogen* 155, 104907. doi: 10.1016/j.micpath.2021.104907
152. Horna, G., and Ruiz, J. (2021b). Type 3 Secretion System of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiological Research*, 246, 126719. doi: 10.1016/j.micres.2021.126719

153. Hott, K., Catalán, V., Gómez, O., & Águila, V. (2019). Mastitis bilateral como complicación de foliculitis por *Pseudomonas aeruginosa*, secundaria a uso de bañera de hidromasaje. *Actas dermo-sifiliograficas*, 110(6), 501–502. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2018.07.011>
154. Huang, H., Shao, X., Xie, Y., Wang, T., Zhang, Y., Wang, X., & Deng, X. (2019). An integrated genomic regulatory network of virulence-related transcriptional factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Nature communications*, 10(1), 2931. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10778-w>
155. Huszczyński, S. M., Lam, J. S., and Khursigara, C. M. (2020). The Role of *Pseudomonas aeruginosa* Lipopolysaccharide in Bacterial Pathogenesis and Physiology. *Pathogens* 9 (1), 6. doi: 10.3390/pathogens9010006
156. Ibrahim, D., Jabbour, J.-F., & Kanj, S. S. (2020). Current choices of antibiotic treatment for *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 33(6), 464–473. <https://doi.org/10.1097/qco.0000000000000677>
157. Imam, J. S., & Duarte, A. G. (2020). Non-CF bronchiectasis: Orphan disease no longer. *Respiratory Medicine*, 166(105940), 105940. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2020.105940>
158. Intile, P. J., Balzer, G. J., Wolfgang, M. C., & Yahr, T. L. (2015). The RNA Helicase DeaD Stimulates ExsA Translation To Promote Expression of the *Pseudomonas aeruginosa* Type III Secretion System. *Journal of bacteriology*, 197(16), 2664–2674. <https://doi.org/10.1128/JB.00231-15>
159. lung, B., & Duval, X. (2019). Infective endocarditis: innovations in the management of an old disease. *Nature Reviews. Cardiology*, 16(10), 623–635. <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0215-0>
160. Jan A. T. (2017). Outer Membrane Vesicles (OMVs) of Gram-negative Bacteria: A Perspective Update. *Frontiers in microbiology*, 8, 1053. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01053>
161. Jeon, J., Kim, Y. J., Shin, H., & Ha, U. H. (2017). T3SS effector ExoY reduces inflammasome-related responses by suppressing bacterial motility

- and delaying activation of NF- κ B and caspase-1. The FEBS journal, 284(20), 3392–3403. <https://doi.org/10.1111/febs.14199>
162. Jeukens, J., Freschi, L., Kukavica-Ibrulj, I., Emond-Rheault, J.-G., Tucker, N. P., & Levesque, R. C. (2019). Genomics of antibiotic-resistance prediction in *Pseudomonas aeruginosa*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1435(1), 5–17. <https://doi.org/10.1111/nyas.13358>
163. Jia, J., Wang, Y., Zhou, L., & Jin, S. (2006). Expression of *Pseudomonas aeruginosa* toxin ExoS effectively induces apoptosis in host cells. *Infection and immunity*, 74(12), 6557–6570. <https://doi.org/10.1128/IAI.00591-06>
164. Jimenez, P. N., Koch, G., Thompson, J. A., Xavier, K. B., Cool, R. H., & Quax, W. J. (2012). The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 76(1), 46–65. <https://doi.org/10.1128/MMBR.05007-11>
165. Jin, T., Mohammad, M., Hu, Z., Fei, Y., Moore, E. R. B., Pullerits, R., & Ali, A. (2019). A novel mouse model for septic arthritis induced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53434-5>
166. Jin, Y., Yang, H., Qiao, M., & Jin, S. (2011). MexT regulates the type III secretion system through MexS and PtrC in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology*, 193(2), 399–410. <https://doi.org/10.1128/JB.01079-10>
167. Jouault, A., Saliba, A. M., & Touqui, L. (2022). Modulation of the immune response by the *Pseudomonas aeruginosa* type-III secretion system. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 1064010. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1064010>
168. Jurado-Martín, I., Sainz-Mejías, M., & McClean, S. (2021). *Pseudomonas aeruginosa*: An audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 3128. <https://doi.org/10.3390/ijms22063128>

169. Kadurugamuwa, J. L., & Beveridge, T. J. (1995). Virulence factors are released from *Pseudomonas aeruginosa* in association with membrane vesicles during normal growth and exposure to gentamicin: a novel mechanism of enzyme secretion. *Journal of bacteriology*, 177(14), 3998–4008. <https://doi.org/10.1128/jb.177.14.3998-4008.1995>
170. Kalms, J., Banthiya, S., Yoga, E. G., Hamberg, M., Holzhutter, H. G., Kuhn, H., & Scheerer, P. (2017). The Crystal Structure of *Pseudomonas aeruginosa* Lipoyxygenase Ala420Gly Mutant Explains the Improved Oxygen Affinity and the Altered Reaction Specificity. *Biochimica et biophysica acta. Molecular and cell biology of lipids*, 1862 (5), 463–473. doi: 10.1016/j.bbalip.2017.01.003
171. Kaminski, A., Gupta, K. H., Goldufsky, J. W., Lee, H. W., Gupta, V., & Shafikhani, S. H. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* ExoS Induces Intrinsic Apoptosis in Target Host Cells in a Manner That is Dependent on its GAP Domain Activity. *Scientific reports*, 8(1), 14047. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32491-2>
172. Kato, S., Kowashi, Y., & Demuth, D. R. (2002). Outer membrane-like vesicles secreted by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* are enriched in leukotoxin. *Microbial pathogenesis*, 32(1), 1–13. <https://doi.org/10.1006/mpat.2001.0474>
173. Kesty, N. C., & Kuehn, M. J. (2004). Incorporation of heterologous outer membrane and periplasmic proteins into *Escherichia coli* outer membrane vesicles. *The Journal of biological chemistry*, 279(3), 2069–2076. <https://doi.org/10.1074/jbc.M307628200>
174. Khan, F., Pham, D. T. N., Oloketuyi, S. F., & Kim, Y.-M. (2020). Regulation and controlling the motility properties of *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(1), 33–49. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10201-w>
175. Khomtchouk, K. M., Joseph, L. I., Khomtchouk, B. B., Kouhi, A., Massa, S., Xia, A., Koliesnik, I., Pletzer, D., Bollyky, P. L., & Santa Maria, P. L. (2021). Treatment with a neutrophil elastase inhibitor and ofloxacin reduces P.

- aeruginosa burden in a mouse model of chronic suppurative otitis media. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41522-021-00200-z>
176. Kierbel, A., Gassama-Diagne, A., Mostov, K., & Engel, J. N. (2005). The phosphoinositol-3-kinase-protein kinase B/Akt pathway is critical for *Pseudomonas aeruginosa* strain PAK internalization. *Molecular biology of the cell*, 16(5), 2577–2585. <https://doi.org/10.1091/mbc.e04-08-0717>
177. Killough, M., Rodgers, A., & Ingram, R. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*: Recent Advances in Vaccine Development. *Vaccines*, 10(7), 1100. <https://doi.org/10.3390/vaccines10071100>
178. Kim, H., Jang, J. H., Kim, S. C., & Cho, J. H. (2020). Development of a novel hybrid antimicrobial peptide for targeted killing of *Pseudomonas aeruginosa*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 185(111814), 111814. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111814>
179. Kim, J. Y., Doody, A. M., Chen, D. J., Cremona, G. H., Shuler, M. L., Putnam, D., & DeLisa, M. P. (2008). Engineered bacterial outer membrane vesicles with enhanced functionality. *Journal of molecular biology*, 380(1), 51–66. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2008.03.076>
180. King EO, Ward MK, Raney DE. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 44: 301-307.
181. Koeppen, K., Hampton, T. H., Jarek, M., Scharfe, M., Gerber, S. A., Mielcarz, D. W., Demers, E. G., Dolben, E. L., Hammond, J. H., Hogan, D. A., & Stanton, B. A. (2016). A Novel Mechanism of Host-Pathogen Interaction through sRNA in Bacterial Outer Membrane Vesicles. *PLoS pathogens*, 12(6), e1005672. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005672>
182. Kollman, J. M., Merdes, A., Mourey, L., & Agard, D. A. (2011). Microtubule nucleation by γ -tubulin complexes. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 12(11), 709–721. <https://doi.org/10.1038/nrm3209>
183. Kolpen M, Kragh KN, Bjarnsholt T, Line L, Hansen CR, Dalboge CS, Hansen N, Kuhl M, Hoiby N, Jensen PO. (2015). Denitrification by cystic

- fibrosis pathogens-*Stenotrophomonas maltophilia* dormant in sputum. *International Journal of Medical Microbiology*, 305: 1-10.
184. Kour, A., Jaglan, S., Sharma, S., & Sharma, S. (2023). A new strategy to treat *Pseudomonas aeruginosa* infected burn wounds: Antimicrobial cocktails as potent topical therapy. *Medical Hypotheses*, 180(111167), 111167. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2023.111167>
185. Kroken, A. R., Gajenthra Kumar, N., Yahr, T. L., Smith, B. E., Nieto, V., Horneman, H., Evans, D. J., & Fleiszig, S. M. J. (2022). Exotoxin S secreted by internalized *Pseudomonas aeruginosa* delays lytic host cell death. *PLoS pathogens*, 18(2), e1010306. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010306>
186. Kulp, A., & Kuehn, M. J. (2010). Biological functions and biogenesis of secreted bacterial outer membrane vesicles. *Annual review of microbiology*, 64, 163–184. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073413>
187. Kumar, K., & Loebinger, M. R. (2023). Bronchiectasis. *Medicine* (Abingdon, England: UK Ed.). <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2023.08.007>
188. Kumawat, M., Nabi, B., Daswani, M., Viqar, I., Pal, N., Sharma, P., Tiwari, S., Sarma, D. K., Shubham, S., & Kumar, M. (2023). Role of bacterial efflux pump proteins in antibiotic resistance across microbial species. *Microbial Pathogenesis*, 181(106182), 106182. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106182>
189. Kummarapurugu, A. B., Zheng, S., Ma, J., Ghosh, S., Hawkridge, A., & Voynow, J. A. (2022). Neutrophil Elastase Triggers the Release of Macrophage Extracellular Traps: Relevance to Cystic Fibrosis. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 66(1), 76–85. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2020-04100C>
190. Lacerda de Coriolano, D., de Souza, J. B., Bueno, E. V., Medeiros, S. M. de F. R., Cavalcanti, I. D. L., & Cavalcanti, I. M. F. (2021). Antibacterial and antibiofilm potential of silver nanoparticles against antibiotic-sensitive and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(1), 267–278. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00406-x>

191. Lalucat, J., Gomila, M., Mulet, M., Zaruma, A., & García-Valdés, E. (2022). Past, present, and future of the boundaries of the *Pseudomonas* genus: Proposal of *Stutzerimonas* gen. *nov.* *Systematic and Applied Microbiology*, 45(1), 126289. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2021.126289>
192. Lamut, A., Peterlin Mašič, L., Kikelj, D., & Tomašič, T. (2019). Efflux pump inhibitors of clinically relevant multidrug resistant bacteria. *Medicinal Research Reviews*, 39(6), 2460–2504. <https://doi.org/10.1002/med.21591>
193. Langendonk, R. F., Neill, D. R., & Fothergill, J. L. (2021). The building blocks of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Implications for current resistance-breaking therapies. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.665759>
194. Lawrence, C. H. D., Cheaveau, J., Kavourides, M., Chadwick, D., & McCarron, B. (2021). Endocarditis and the impact of intravenous drug use: a cohort study. *Infectious Diseases (London, England)*, 53(10), 772–778. <https://doi.org/10.1080/23744235.2021.1928279>
195. Lee, P. A., Tullman-Ercek, D., & Georgiou, G. (2006). The bacterial twin-arginine translocation pathway. *Annual review of microbiology*, 60, 373–395. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.60.080805.142212>
196. Leiva, J., Reina, G., Fernández-Alonso, M., & del Pozo, J. L. (2018). Infecciones por otros bacilos Gram negativos: grupo HACEK. *Medicine*, 12(50), 2963–2971. <https://doi.org/10.1016/j.med.2018.02.013>
197. Lesic, B., Starkey, M., He, J., Hazan, R., & Rahme, L. G. (2009). Quorum sensing differentially regulates *Pseudomonas aeruginosa* type VI secretion locus I and homologous loci II and III, which are required for pathogenesis. *Microbiology (Reading, England)*, 155(Pt 9), 2845–2855. <https://doi.org/10.1099/mic.0.029082-0>
198. Leus, I. V., Weeks, J. W., Bonifay, V., Shen, Y., Yang, L., Cooper, C. J., Nath, D., Duerfeldt, A. S., Smith, J. C., Parks, J. M., Rybenkov, V. V., & Zgurskaya, H. I. (2022). Property space mapping of *Pseudomonas*

- aeruginosa permeability to small molecules. *Scientific Reports*, 12(1).
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-12376-1>
199. Li, C., Zhu, L., Wang, D., Wei, Z., Hao, X., Wang, Z., Li, T., Zhang, L., Lu, Z., Long, M., Wang, Y., Wei, G., & Shen, X. (2022). T6SS secretes an LPS-binding effector to recruit OMVs for exploitative competition and horizontal gene transfer. *The ISME journal*, 16(2), 500–510.
<https://doi.org/10.1038/s41396-021-01093-8>
200. Li, M., Long, Y., Liu, Y., Liu, Y., Chen, R., Shi, J., Zhang, L., Jin, Y., Yang, L., Bai, F., Jin, S., Cheng, Z., & Wu, W. (2016). HigB of *Pseudomonas aeruginosa* Enhances Killing of Phagocytes by Up-Regulating the Type III Secretion System in Ciprofloxacin Induced Persister Cells. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 6, 125.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00125>
201. Li, Q., Mao, S., Wang, H., & Ye, X. (2022). The Molecular Architecture of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum-Sensing Inhibitors. *Marine Drugs*, 20(8), 488. <https://doi.org/10.3390/md20080488>
202. Liao, S., Zhang, Y., Pan, X., Zhu, F., Jiang, C., Liu, Q., Cheng, Z., Dai, G., Wu, G., Wang, L., & Chen, L. (2019). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of nanomedicine*, 14, 1469–1487.
<https://doi.org/10.2147/IJN.S191340>
203. Lindsey, A. S., Sullivan, L. M., Housley, N. A., Koloteva, A., King, J. A., Audia, J. P., & Alvarez, D. F. (2019). Analysis of pulmonary vascular injury and repair during *Pseudomonas aeruginosa* infection-induced pneumonia and acute respiratory distress syndrome. *Pulmonary circulation*, 9(1), 2045894019826941. <https://doi.org/10.1177/2045894019826941>
204. Line L, Alhede M, Kolpen M, Kuhl M, Ciofu O, Bjarnsholt T, Moser C, Toyofuku M, Nomura N, Hoiby N, Jensen PO. (2014). Physiological levels of nitrate support anoxic growth by denitrification of *Pseudomonas aeruginosa* at growth rates reported in cystic fibrosis lungs and sputum. *Frontiers in Microbiology*, 5:554.

205. Liu, M., Liu, J., Ma, J., Li, W., Zhao, X., Jia, W., & Li, S. (2022). Antimicrobial Resistance and Molecular Characterization of Gene Cassettes from class 1 Integrons in Carbapenem-resistant *Escherichia coli* strains. *Microbial Pathogenesis*, 170(105669), 105669. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105669>
206. Llamas, M. A., & Sánchez-Jiménez, A. (2022). Iron homeostasis in *Pseudomonas aeruginosa*: Targeting iron acquisition and storage as an antimicrobial strategy. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (pp. 29–68). Springer International Publishing.
207. Loos, A., Weich, N., Woo, J., Lalonde, G., Yee, L., Dummer, W., & Truong, V. L. (2019). "674. Pre-Clinical and Phase I Safety Data for Anti-*Pseudomonas aeruginosa* Human Monoclonal Antibody AR-105", in *Open Forum Infectious Diseases*. 6(Suppl 2), S307–S308. doi: 10.1093/ofid/ofz360.742
208. López-Valdez, J. A., Aguilar-Alonso, L. A., Gándara-Quezada, V., Ruiz-Rico, G. E., Ávila-Soledad, J. M., Reyes, A. A., & Pedroza-Jiménez, F. D. (2021). Cystic fibrosis: current concepts. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 78(6). <https://doi.org/10.24875/bmhim.20000372>
209. Losito, A. R., Raffaelli, F., Del Giacomo, P., & Tumbarello, M. (2022). New drugs for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections with limited treatment options: A narrative review. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(5), 579. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050579>
210. Lu, J., Zhang, C., Hui, Y. L., Show, P. L., and Lu, Z. (2020). Overproduction of Lipxygenase From *Pseudomonas aeruginosa* in *Escherichia coli* by AutoInduction Expression and its Application in Triphenylmethane Dyes Degradation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 129 (3), 327–332. doi: 10.1016/j.jbiosc.2019.09.006
211. Ma, C., Ma, X., Jiang, B., Pan, H., Liao, X., Zhang, L., Li, W., Luo, Y., Shen, Z., Cheng, X., Lian, M., & Wang, Z. (2021). A novel inactivated whole-cell *Pseudomonas aeruginosa* vaccine that acts through the cGAS-STING

- pathway. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1).
<https://doi.org/10.1038/s41392-021-00752-8>
212. Ma, Q., Zhai, Y., Schneider, J. C., Ramseier, T. M., & Saier, M. H., Jr (2003). Protein secretion systems of *Pseudomonas aeruginosa* and *P fluorescens*. *Biochimica et biophysica acta*, 1611(1-2), 223–233.
[https://doi.org/10.1016/s0005-2736\(03\)00059-2](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(03)00059-2)
213. Macfarlane, L., Kumar, K., Scoones, T., Jones, A., Loebinger, M. R., & Lord, R. (2021). Diagnosis and management of non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Clinical Medicine (London, England)*, 21(6), e571–e577.
<https://doi.org/10.7861/clinmed.2021-0651>
214. Madaoui, M., Vidal, O., Meyer, A., Noël, M., Lacroix, J.-M., Vasseur, J.-J., Marra, A., & Morvan, F. (2020). Modified galacto- or fuco-clusters exploiting the siderophore pathway to inhibit the LecA- or LecB-associated virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Chembiochem: A European Journal of Chemical Biology*, 21(23), 3433–3448.
<https://doi.org/10.1002/cbic.202000490>
215. Mahin Samadi, P., Gerami, P., Elmi, A., Khanaki, K., & Faezi, S. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* keratitis: passive immunotherapy with antibodies raised against divalent flagellin. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(1), 58–64. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2018.31499.7643>
216. Maitz, J., Merlino, J., Rizzo, S., McKew, G., & Maitz, P. (2023). Burn wound infections microbiome and novel approaches using therapeutic microorganisms in burn wound infection control. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 196(114769), 114769. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.114769>
217. Makabenta, J. M. V., Nabawy, A., Li, C.-H., Schmidt-Malan, S., Patel, R., & Rotello, V. M. (2021). Nanomaterial-based therapeutics for antibiotic-resistant bacterial infections. *Nature Reviews. Microbiology*, 19(1), 23–36.
<https://doi.org/10.1038/s41579-020-0420-1>
218. Malhotra, S., Hayes, D., Jr, & Wozniak, D. J. (2019). Cystic Fibrosis and *Pseudomonas aeruginosa*: the Host-Microbe Interface. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(3). <https://doi.org/10.1128/CMR.00138-18>

219. Marsden, A. E., Intile, P. J., Schulmeyer, K. H., Simmons-Patterson, E. R., Urbanowski, M. L., Wolfgang, M. C., & Yahr, T. L. (2016). Vfr Directly Activates *exsA* Transcription To Regulate Expression of the *Pseudomonas aeruginosa* Type III Secretion System. *Journal of bacteriology*, 198(9), 1442–1450. <https://doi.org/10.1128/JB.00049-16>
220. Martins, P., Machado, D., Theizen, T. H., Guarnieri, J. P. O., Bernardes, B. G., Gomide, G. P., Corat, M. A. F., Abbehausen, C., Módena, J. L. P., Melo, C. F. O. R., Morishita, K. N., Catharino, R. R., Arns, C. W., & Lancellotti, M. (2018). Outer Membrane Vesicles from *Neisseria meningitidis* (Proteosome) Used for Nanostructured Zika Virus Vaccine Production. *Scientific reports*, 8(1), 8290. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26508-z>
221. Marzhoseyni, Z., Mousavi, M. J., Saffari, M., & Ghotloo, S. (2023). Immune escape strategies of *Pseudomonas aeruginosa* to establish chronic infection. *Cytokine*, 163(156135), 156135. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2023.156135>
222. Masetla, M. A., Ntuli, P. N., Abraham, V., Godman, B., Witika, B. A., Mudenda, S., & Skosana, P. P. (2023). Antimicrobial stewardship for outpatients with chronic bone and joint infections in the orthopaedic clinic of an academic tertiary hospital, South Africa. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(7), 1142. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12071142>
223. Maslova, E., Eisaiankhongji, L., Sjöberg, F., & McCarthy, R. R. (2021). Burns and biofilms: priority pathogens and in vivo models. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 7(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41522-021-00243-2>
224. Masters, E. A., Ricciardi, B. F., Bentley, K. L. de M., Moriarty, T. F., Schwarz, E. M., & Muthukrishnan, G. (2022). Skeletal infections: microbial pathogenesis, immunity, and clinical management. *Nature Reviews. Microbiology*, 20(7), 385–400. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00686-0>
225. Maura, D., Hazan, R., Kitao, T., Ballok, A. E., & Rahme, L. G. (2016). Evidence for Direct Control of Virulence and Defense Gene Circuits by the *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Regulator, MvfR. *Scientific reports*, 6, 34083. <https://doi.org/10.1038/srep34083>

226. McDaniel, L. S. (2022). Otitis Media and Ear Infections: Bacteria. *En Encyclopedia of Infection and Immunity* (pp. 259–262). Elsevier.
227. McShane, P. J., & Tino, G. (2019). Bronchiectasis. *Chest*, 155(4), 825–833. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.10.027>
228. Mekonnen, S. A., El Hussein, N., Turdiev, A., Carter, J. A., Belew, A. T., El-Sayed, N. M., & Lee, V. T. (2022). Catheter-associated urinary tract infection by *Pseudomonas aeruginosa* progresses through acute and chronic phases of infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(50). <https://doi.org/10.1073/pnas.2209383119>
229. Metelkina, O., Huck, B., O'Connor, J. S., Koch, M., Manz, A., Lehr, C.-M., & Titz, A. (2022). Targeting extracellular lectins of *Pseudomonas aeruginosa* with glycomimetic liposomes. *Journal of Materials Chemistry. B, Materials for Biology and Medicine*, 10(4), 537–548. <https://doi.org/10.1039/d1tb02086b>
230. Mettrick, K., Hassan, K., Lamont, I., & Reid, D. (2020). The Iron-chelator, N,N'-bis (2-hydroxybenzyl) Ethylenediamine-N,N'-diacetic acid is an Effective Colistin Adjunct against Clinical Strains of Biofilm-Dwelling *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(4), 144. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040144>
231. Metwally, W., & Aamir, R. (2020). Prevalence and antimicrobial resistance patterns of nosocomial pathogens causing Surgical Site Infections in an Egyptian University hospital. *Microbes and Infectious Diseases*, 0(0), 0–0. <https://doi.org/10.21608/mid.2020.45255.1069>
232. Meuskens, I., Saragliadis, A., Leo, J. C., & Linke, D. (2019). Type V Secretion Systems: An Overview of Passenger Domain Functions. *Frontiers in microbiology*, 10, 1163. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01163>
233. Michalska, M., and Wolf, P. (2015). *Pseudomonas* Exotoxin A: Optimized by Evolution for Effective Killing. *Frontiers in Microbiology*, 6, 963. doi: 10.3389/ fmicb.2015.00963
234. Mielko, K. A., Jabłoński, S. J., Milczewska, J., Sands, D., Łukaszewicz, M., & Młynarz, P. (2019). Metabolomic studies of *Pseudomonas*

- aeruginosa. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(11).
<https://doi.org/10.1007/s11274-019-2739-1>
235. Miranda, S. W., Asfahl, K. L., Dandekar, A. A., & Greenberg, E. P. (2022). *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing. *Advances in experimental medicine and biology*, 1386, 95–115.
https://doi.org/10.1007/978-3-031-08491-1_4
236. Mirshekar, M., Afkhami, H., Razavi, S., Masjedan Jazi, F., Darban Sarokhalil, D., Ohadi, E., Nezhad, M. M., & Karimi, R. (2023). Potential antibacterial activity and healing effect of topical administration of bone marrow and adipose mesenchymal stem cells encapsulated in collagen-fibrin hydrogel scaffold on full-thickness burn wound infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2023.01.005>
237. Mohamed, M. F., Wood, S. J., Roy, R., Reiser, J., Kuzel, T. M., & Shafikhani, S. H. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* ExoT induces G1 cell cycle arrest in melanoma cells. *Cellular microbiology*, 23(8), e13339.
<https://doi.org/10.1111/cmi.13339>
238. Monteagudo, B., Figueroa, O., Suárez-Magdalena, O., & Méndez-Lage, S. (2019). Green nail caused by onychomycosis coinfecting with *Pseudomonas aeruginosa*. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 110(9), 783–785.
<https://doi.org/10.1016/j.adengl.2018.04.023>
239. Monterrubio-López, G. P., & Delgadillo-Gutiérrez, K. (2021). Vacunología reversa: estrategia contra patógenos emergentes [Reverse vaccinology: strategy against emerging pathogens]. *Revista médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 59(3), 233–241.
240. Monturiol-Gross, L., Villalta-Romero, F., Flores-Díaz, M., and Alape-Giroñ, A. (2021). Bacterial Phospholipases C With Dual Activity: Phosphatidylcholinesterase and Sphingomyelinase. *FEBS Open Bio* 11 (12), 3262–3275. doi: 10.1002/2211- 5463.13320
241. Mookherjee, N., Anderson, M. A., Haagsman, H. P., & Davidson, D. J. (2020). Antimicrobial host defence peptides: functions and clinical

- potential. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 19(5), 311–332. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0058-8>
242. Morello, E., Pérez-Berezo, T., Boisseau, C., Baranek, T., and Si-Tahar, M. (2019b). *Pseudomonas aeruginosa* Lipoxygenase LoxA Contributes to Lung Infection by Altering the Host Immune Lipid Signaling. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1826. doi: 10.3389/fmicb.2019.01826
243. Motbainor, H., Bereded, F., & Mulu, W. (2020). Multi-drug resistance of blood stream, urinary tract, and surgical site nosocomial infections of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* among patients hospitalized at Felegehiwot referral hospital, Northwest Ethiopia: a cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4811-8>
244. Mühlen, S., and Dersch, P. (2016). Anti-Virulence Strategies to Target Bacterial Infections, in *How to Overcome the Antibiotic Crisis: Facts, Challenges, Technologies and Future Perspectives*. Eds. M. Stadler and P. Dersch (Cham: Springer International Publishing), 147–183. doi: 10.1007/82_2015_490
245. Mulani, M. S., Kamble, E. E., Kumkar, S. N., Tawre, M. S., & Pardesi, K. R. (2019). Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: A review. *Frontiers in microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>
246. Mwangi, J., Hao, X., Lai, R., & Zhang, Z.-Y. (2019). Antimicrobial peptides: new hope in the war against multidrug resistance. *Zoological Research*, 40(6), 488–505. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2019.062>
247. Naik, P., Singh, S., Rudraprasad, D., Dave, V. P., Kumar, A., & Joseph, J. (2021). Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* triggers differential inflammatory response in patients with endophthalmitis. *Translational Vision Science & Technology*, 10(9), 26. <https://doi.org/10.1167/tvst.10.9.26>

248. Naskar, S., Hohl, M., Tassinari, M., & Low, H. H. (2021). The structure and mechanism of the bacterial type II secretion system. *Molecular microbiology*, 115(3), 412–424. <https://doi.org/10.1111/mmi.14664>
249. Newman, J. N., Floyd, R. V., & Fothergill, J. L. (2022). Invasion and diversity in *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections. *Journal of Medical Microbiology*, 71(3). <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001458>
250. Nivaskumar, M., & Francetic, O. (2014). Type II secretion system: a magic beanstalk or a protein escalator. *Biochimica et biophysica acta*, 1843(8), 1568–1577. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.12.020>
251. Norouzi, F., Behrouz, B., Ranjbar, M., & Mousavi Gargari, S. L. (2020). Immunotherapy with IgY antibodies toward outer membrane protein F protects burned mice against *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Journal of Immunology Research*, 2020, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/7840631>
252. O’Callaghan, R., Caballero, A., Tang, A., & Bierdeman, M. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* keratitis: Protease IV and PASP as corneal virulence mediators. *Microorganisms*, 7(9), 281. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090281>
253. O’Donnell A. E. (2022). Bronchiectasis - A Clinical Review. *The New England journal of medicine*, 387(6), 533–545. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2202819>
254. O’Donnell, J. N., Bidell, M. R., and Lodise, T. P. (2020). Approach to the Treatment of Patients with Serious Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Pharmacother: Journal of Human Pharmacology Drug Therapy*, 40 (9), 952–969. doi: 10.1002/phar.2449
255. Oliver A, Cantón R, Campo P, Baquero F, Blánquez J. (2000). High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infections. *Science* 288: 1251-1254.
256. Ostrenga, J. S., Whitney Brown, A., Todd, J. V., Elbert, A., Fink, A. K., Faro, A., Marshall, B. C., & Cromwell, E. A. (2023). Impact of loss to follow-up on survival estimation for cystic fibrosis. *Annals of Epidemiology*. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2023.07.008>

257. Overhage, J., Bains, M., Brazas, M., and Hancock, R. (2008). Swarming of *Pseudomonas aeruginosa* Is a Complex Adaptation Leading to Increased Production of Virulence Factors and Antibiotic Resistance. *Journal of Bacteriology*, 190 (8), 2671–2679. doi: 10.1128/JB.01659-07
258. Ozer, E., Yaniv, K., Chetrit, E., Boyarski, A., Meijler, M. M., Berkovich, R., Kushmaro, A., & Alfonta, L. (2021). An Inside Look at a Biofilm: *Pseudomonas aeruginosa* Flagella Biotracking. *Science Advances*, 7 (24), eabg8581. doi: 10.1126/sciadv.abg8581
259. Pachori, P., Gothwal, R., & Gandhi, P. (2019). Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes & Diseases*, 6(2), 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.04.001>
260. Pan, S. Y., Shih, Y. L., Huang, H. H., Li, L. H., and Yang, T. C. (2021). The Involvement of PaclRA System of *Stenotrophomonas maltophilia* in the Uptake of *Pseudomonas aeruginosa* Pyochelin and Intraspecies Competition for Iron Acquisition. *Journal of microbiology immunology and infection*, 55 (2), 273–281. doi: 10.1016/j.jmii.2021.03.001
261. Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T.-J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*, 37(1), 177–192. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>
262. Papazian, L., Klompas, M., & Luyt, C.-E. (2020). Ventilator-associated pneumonia in adults: a narrative review. *Intensive Care Medicine*, 46(5), 888–906. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05980-0>
263. Parasuraman, P., Syed, A., & Siddhardha, B. (2020). Pathogenesis and Drug Resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. *En Model Organisms for Microbial Pathogenesis, Biofilm Formation and Antimicrobial Drug Discovery* (pp. 227–256). Springer Singapore.
264. Passarelli-Araujo H, Franco GR, Venancio TM. (2022). Network análisis of ten thousand genomes shed light on *Pseudomonas* diversity and classification. *Microbiological Research*, 254:126919.

265. Peix A, Ramírez-Bahena MH, Velázquez E. (2018). The current status on the taxonomy of *Pseudomonas* revisited: an update. *Infection, Genetics and Evolution*, 57: 106-116.
266. Pérez-Lorente, A. I., Molina-Santiago, C., de Vicente, A., & Romero, D. (2023). Sporulation Activated via σ W Protects *Bacillus* from a Tse1 Peptidoglycan Hydrolase Type VI Secretion System Effector. *Microbiology spectrum*, 11(2), e0504522. Advance online publication. <https://doi.org/10.1128/spectrum.05045-22>
267. Persat, A., Inclan, Y. F., Engel, J. N., Stone, H. A., and Gitai, Z. (2015). Type IV Pili Mechanochemically Regulate Virulence Factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (24), 7563–7568. doi: 10.1073/ pnas.1502025112
268. Pier, G. B. (2007). *Pseudomonas aeruginosa* Lipopolysaccharide: A Major Virulence Factor, Initiator of Inflammation and Target for Effective Immunity. *International Journal of Medical Microbiology*, 297 (5), 277–295. doi: 10.1016/ j.ijmm.2007.03.012
269. Piewngam, P., Chiou, J., Chatterjee, P., & Otto, M. (2020). Alternative approaches to treat bacterial infections: targeting quorum-sensing. *Expert review of anti-infective therapy*, 18(6), 499–510. <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1750951>
270. Planet, P. J. (2018). *Pseudomonas aeruginosa*. En *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases* (pp. 866-870.e1). Elsevier.
271. Plum, A. W., & Wong, M. (2023). An overview of acute otitis externa. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 56(5), 891–896. <https://doi.org/10.1016/j.otc.2023.06.006>
272. Proctor, L. L., Ward, W. L., Roggy, C. S., Koontz, A. G., Clark, K. M., Quinn, A. P., Schroeder, M., Brooks, A. E., Small, J. M., Towne, F. D., & Brooks, B. D. (2021). Potential therapeutic targets for combination antibody therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(12), 1530. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121530>

273. Pujji, O. J. S., Nakarmi, K. K., Shrestha, B., Rai, S. M., & Jeffery, S. L. A. (2019). The bacteriological profile of burn wound infections at a tertiary burns center in Nepal. *Journal of Burn Care & Research: Official Publication of the American Burn Association*, 40(6), 838–845. <https://doi.org/10.1093/jbcr/irz096>
274. Purushothaman, A. K., & Nelson, E. J. R. (2023). Role of innate immunity and systemic inflammation in cystic fibrosis disease progression. *Heliyon*, 9(7), e17553. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17553>
275. Puzari, M., & Chetia, P. (2017). RND efflux pump mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*: a major issue worldwide. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(2). <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2190-5>
276. Qin, S., Xiao, W., Zhou, C., Pu, Q., Deng, X., Lan, L., Liang, H., Song, X., & Wu, M. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 1–27. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>
277. Ramírez-Rueda Y, R., & Salvador, M. J. (2020). Phenotypic detection of quorum sensing inhibition in *Pseudomonas aeruginosa* pyoverdine and swarming by volatile organic products. *Future Microbiology*, 15(12), 1147–1156. <https://doi.org/10.2217/fmb-2020-0033>
278. Rampal, S., Maniam, S., Lim, P. Y., Ramachandran, R., Tan, E. K., Halim, M. A. H. A., Shamsudin, Z., Singh, S. S. S., Narayanan, P., & Neela, V. K. (2021). Necrotizing fasciitis, causative agents, and management: a five-year retrospective study in two tertiary care hospitals in Central Malaysia. *International Orthopaedics*, 45(6), 1399–1405. <https://doi.org/10.1007/s00264-020-04905-2>
279. Rasko, D. A., and Sperandio, V. (2010). Anti-Virulence Strategies to Combat Bacteria-Mediated Disease. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9 (2), 117–128. doi: 10.1038/nrd3013

280. Records, A. R., & Gross, D. C. (2010). Sensor kinases RetS and LadS regulate *Pseudomonas syringae* type VI secretion and virulence factors. *Journal of bacteriology*, 192(14), 3584–3596. <https://doi.org/10.1128/JB.00114-10>
281. Reynolds, D., & Kollef, M. (2021). The epidemiology and pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: An update. *Drugs*, 81(18), 2117–2131. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01635-6>
282. Rezzoagli, C., Archetti, M., Mignot, I., Baumgartner, M., and Kümmerli, R. (2020). Combining Antibiotics With Antivirulence Compounds can Have Synergistic Effects and Reverse Selection for Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *PloS Biol.* 18 (8), e3000805. doi: 10.1371/journal.pbio.3000805
283. Richter, K., & Kragh, K. N. (2022). Antibiofilm strategies: Current and future applications to prevent, control and eradicate biofilms. Springer Nature.
284. Rojas, A., Palacios-Baena, Z. R., López-Cortés, L. E., & Rodríguez-Baño, J. (2019). Rates, predictors, and mortality of community-onset bloodstream infections due to *Pseudomonas aeruginosa*: systematic review and meta-analysis. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 25(8), 964–970. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.04.005>
285. Rosales-Reyes, R., Vargas-Roldán, S. Y., Lezana-Fernández, J. L., & Santos-Preciado, J. I. (2021). *Pseudomonas aeruginosa*: Genetic Adaptation, A Strategy for its Persistence in Cystic Fibrosis. *Archives of medical research*, 52(4), 357–361. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.12.004>
286. Rossi, E., La Rosa, R., Bartell, J. A., Marvig, R. L., Haagenzen, J. A. J., Sommer, L. M., Molin, S., & Johansen, H. K. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis. *Nature Reviews. Microbiology*, 19(5), 331–342. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00477-5>

287. Rubi, H., Mudey, G., & Kunjalwar, R. (2022). Catheter-associated urinary tract infection (CAUTI). *Cureus*, 14(10). <https://doi.org/10.7759/cureus.30385>
288. Russell, A. B., Hood, R. D., Bui, N. K., LeRoux, M., Vollmer, W., & Mougous, J. D. (2011). Type VI secretion delivers bacteriolytic effectors to target cells. *Nature*, 475(7356), 343–347. <https://doi.org/10.1038/nature10244>
289. Russell, J. A., Leming-Lee, T. 'susie', & Watters, R. (2019). Implementation of a nurse driven CAUTI prevention algorithm. *The Nursing Clinics of North America*, 54(1), 81–96. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2018.11.001>
290. Sainz-Mejías, M., Jurado-Martín, I., & McClean, S. (2020). Understanding *Pseudomonas aeruginosa*–host interactions: The ongoing quest for an efficacious vaccine. *Cells (Basel, Switzerland)*, 9(12), 2617. <https://doi.org/10.3390/cells9122617>
291. Sana, T. G., Baumann, C., Merdes, A., Soscia, C., Rattei, T., Hachani, A., Jones, C., Bennett, K. L., Filloux, A., Superti-Furga, G., Voulhoux, R., & Bleves, S. (2015). Internalization of *Pseudomonas aeruginosa* Strain PAO1 into Epithelial Cells Is Promoted by Interaction of a T6SS Effector with the Microtubule Network. *mBio*, 6(3), e00712. <https://doi.org/10.1128/mBio.00712-15>
292. Sana, T. G., Berni, B., & Bleves, S. (2016). The T6SSs of *Pseudomonas aeruginosa* Strain PAO1 and Their Effectors: Beyond Bacterial-Cell Targeting. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 6, 61. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00061>
293. Sana, T. G., Hachani, A., Bucior, I., Soscia, C., Garvis, S., Termine, E., Engel, J., Filloux, A., & Bleves, S. (2012). The second type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* strain PAO1 is regulated by quorum sensing and Fur and modulates internalization in epithelial cells. *The Journal of biological chemistry*, 287(32), 27095–27105. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.376368>

294. Sánchez, D., Torres, I., Giménez, E., Albert, E., Costa, R. M., Padrón, C., Carretero, D., Colomina, J., & Navarro, D. (2023). A rapid MALDI-TOF mass spectrometry-based method for categorization of *Pseudomonas aeruginosa* from blood cultures as susceptible or resistant to meropenem. *Journal of Microbiological Methods*, 212(106803), 106803. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2023.106803>
295. Sánchez-Jiménez, A., Llamas, M. A., & Marcos-Torres, F. J. (2023). Transcriptional Regulators Controlling Virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of molecular sciences*, 24(15), 11895. <https://doi.org/10.3390/ijms241511895>
296. Sánchez-Jiménez, A., Marcos-Torres, F. J., & Llamas, M. A. (2023). Mechanisms of iron homeostasis in *Pseudomonas aeruginosa* and emerging therapeutics directed to disrupt this vital process. *Microbial Biotechnology*, 16(7), 1475–1491. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14241>
297. Santamaría-Corral, G., Senhaji-Kacha, A., Broncano-Lavado, A., Esteban, J., & García-Quintanilla, M. (2023). Bacteriophage–antibiotic combination therapy against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(7), 1089. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12071089>
298. Sanya, D. R. A., Onésime, D., Vizzarro, G., & Jacquier, N. (2023). Recent advances in therapeutic targets identification and development of treatment strategies towards *Pseudomonas aeruginosa* infections. *BMC Microbiology*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02832-x>
299. Sartorio, M. G., Pardue, E. J., Feldman, M. F., & Haurat, M. F. (2021). Bacterial Outer Membrane Vesicles: From Discovery to Applications. *Annual review of microbiology*, 75, 609–630. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-052821-031444>
300. Sass, G., Conrad, L., Nguyen, T., and Stevens, D. A. (2020). The *Pseudomonas aeruginosa* Product Pyochelin Interferes with *Trypanosoma cruzi* Infection and Multiplication In Vitro. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 114 (7), 492– 498. doi: 10.1093/trstmh/trz136

301. Sastre-Femenia, M. À., Fernández-Muñoz, A., Gomis-Font, M. A., Taltavull, B., López-Causapé, C., Arca-Suárez, J., Martínez-Martínez, L., Cantón, R., Larrosa, N., Oteo-Iglesias, J., Zamorano, L., Oliver, A., Galán-Sánchez, F., Gracia-Ahufinger, I., Martínez-Martínez, L., Liébana-Martos, C., Roldán, C., Sánchez-Calvo, J. M., Clavijo, E., ... Barrios-Andrés, J. L. (2023). *Pseudomonas aeruginosa* antibiotic susceptibility profiles, genomic epidemiology, and resistance mechanisms: a nation-wide five-year time lapse analysis. *The Lancet Regional Health. Europe*, 34(100736), 100736. <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2023.100736>
302. Sathe, N., Beech, P., Croft, L., Suphioglu, C., Kapat, A., & Athan, E. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*: Infections and novel approaches to treatment “Knowing the enemy” the threat of *Pseudomonas aeruginosa* and exploring novel approaches to treatment. *Infectious Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.imj.2023.05.003>
303. Seidelman, J., & Anderson, D. J. (2021). Surgical site infections. *Infectious Disease Clinics of North America*, 35(4), 901–929. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2021.07.006>
304. Sendi, P., Kaempfen, A., Uçkay, I., & Meier, R. (2020). Bone and joint infections of the hand. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(7), 848–856. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.12.007>
305. Shah, M., & Crane, J. S. (2023). *Ecthyma Gangrenosum*. In StatPearls. StatPearls Publishing.
306. Shah, S., & Wozniak, R. A. F. (2023). *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* infectious keratitis: key bacterial mechanisms that mediate pathogenesis and emerging therapeutics. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1250257>
307. Shebl, E., & Gulick, P. G. (2023). *Nosocomial Pneumonia*. StatPearls Publishing.
308. Shen, D. K., Filopon, D., Kuhn, L., Polack, B., & Toussaint, B. (2006). *PsrA* is a positive transcriptional regulator of the type III secretion system in

- Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and immunity*, 74(2), 1121–1129. <https://doi.org/10.1128/IAI.74.2.1121-1129.2006>
309. Shiratori, M., Ozawa, T., Ito, N., Awazu, K., & Tsuruta, D. (2021). Open study of photodynamic therapy for skin ulcers infected with MRSA and *Pseudomonas aeruginosa*. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 36(102484), 102484. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2021.102484>
310. Shrestha, G. S., Vijay, A. K., Stapleton, F., Henriquez, F. L., & Carnt, N. (2021). Understanding clinical and immunological features associated with *Pseudomonas* and *Staphylococcus keratitis*. *Contact Lens & Anterior Eye: The Journal of the British Contact Lens Association*, 44(1), 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.clae.2020.11.014>
311. Shteinberg, M., Haq, I. J., Polineni, D., & Davies, J. C. (2021). Cystic fibrosis. *Lancet*, 397(10290), 2195–2211. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)32542-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)32542-3)
312. Siebs, E., Shanina, E., Kuhadomlarp, S., da Silva Figueiredo Celestino Gomes, P., Fortin, C., Seeberger, P. H., Rognan, D., Rademacher, C., Imbert, A., & Titz, A. (2022). Targeting the Central Pocket of the *Pseudomonas aeruginosa* Lectin LecA. *Chembiochem: A European Journal of Chemical Biology*, 23(3). <https://doi.org/10.1002/cbic.202100563>
313. Sigmund, I. K., & McNally, M. A. (2019). Diagnosis of bone and joint infections. *Orthopaedics and Trauma*, 33(3), 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.mporth.2019.03.001>
314. Sindeldecker, D., & Stoodley, P. (2021). The many antibiotic resistance and tolerance strategies of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biofilm*, 3(100056), 100056. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2021.100056>
315. Skariyachan, S., Sridhar, V. S., Packirisamy, S., Kumargowda, S. T., & Challapilli, S. B. (2018). Recent perspectives on the molecular basis of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and approaches for treatment and biofilm dispersal. *Folia Microbiologica*, 63(4), 413–432. <https://doi.org/10.1007/s12223-018-0585-4>

316. Smith, T. J., Sondermann, H., & O'Toole, G. A. (2018). Type 1 Does the Two-Step: Type 1 Secretion Substrates with a Functional Periplasmic Intermediate. *Journal of bacteriology*, 200(18), e00168-18. <https://doi.org/10.1128/JB.00168-18>
317. Solarat, B., Perea, L., Faner, R., de La Rosa, D., Martínez-García, M. Á., & Sibila, O. (2023). Pathophysiology of chronic bronchial infection in bronchiectasis. *Archivos de Bronconeumologia*, 59(2), 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2022.09.004>
318. Sousa, S. A., Seixas, A. M. M., Marques, J. M. M., & Leitão, J. H. (2021). Immunization and Immunotherapy Approaches against *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* Complex Infections. *Vaccines*, 9(6), 670. <https://doi.org/10.3390/vaccines9060670>
319. Sousa de, T., Hébraud, M., Dapkevicius, M. L. N. E., Maltez, L., Pereira, J. E., Capita, R., Alonso-Calleja, C., Igrejas, G., & Poeta, P. (2021). Genomic and Metabolic Characteristics of the Pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12892. <https://doi.org/10.3390/ijms222312892>
320. Soussan, R., Schimpf, C., Pilmis, B., Degroote, T., Tran, M., Bruel, C., & Philippart, F. (2019). Ventilator-associated pneumonia: The central role of transcolonization. *Journal of Critical Care*, 50, 155–161. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2018.12.005>
321. Spernovasilis, N., Psychogiou, M., & Poulakou, G. (2021). Skin manifestations of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 34(2), 72–79. <https://doi.org/10.1097/qco.0000000000000717>
322. Stanton B. A. (2017). Effects of *Pseudomonas aeruginosa* on CFTR chloride secretion and the host immune response. *American journal of physiology. Cell physiology*, 312(4), C357–C366. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00373.2016>
323. Stubenrauch, C. J., & Lithgow, T. (2019). The TAM: A Translocation and Assembly Module of the β -Barrel Assembly Machinery in Bacterial Outer

- Membranes. *EcoSal Plus*, 8(2), 10.1128/ecosalplus.ESP-0036-2018.
<https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0036-2018>
324. Sutterwala, F. S., Mijares, L. A., Li, L., Ogura, Y., Kazmierczak, B. I., & Flavell, R. A. (2007). Immune recognition of *Pseudomonas aeruginosa* mediated by the IPAF/NLRC4 inflammasome. *The Journal of experimental medicine*, 204(13), 3235–3245. <https://doi.org/10.1084/jem.20071239>
325. Swietnicki, W., Czarny, A., Antkowiak, L., Zaczynska, E., Kolodziejczak, M., Sycz, J., Stachowicz, L., Alicka, M., & Marycz, K. (2019). Identification of a potent inhibitor of type II secretion system from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochemical and biophysical research communications*, 513(3), 688–693. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.04.055>
326. Talà, L., Fineberg, A., Kukura, P., and Persat, A. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* Orchestrates Twitching Motility by Sequential Control of Type IV Pili Movements. *Nature Microbiology*, 4 (5), 774–780. doi: 10.1038/s41564-019-0378-9
327. Thacharodi, A., & Lamont, I. L. (2022). Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: the contribution of the MexXY-OprM efflux pump varies between isolates. *Journal of Medical Microbiology*, 71(6). <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001551>
328. Thakur, M., Khushboo, Kumar, Y., Yadav, V., Pramanik, A., & Dubey, K. K. (2023). Understanding resistance acquisition by *Pseudomonas aeruginosa* and possible pharmacological approaches in palliating its pathogenesis. *Biochemical Pharmacology*, 215(115689), 115689. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115689>
329. Thi, M. T. T., Wibowo, D., & Rehm, B. H. A. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8671. <https://doi.org/10.3390/ijms21228671>
330. Thomas, S., Holland, I. B., & Schmitt, L. (2014). The Type 1 secretion pathway - the hemolysin system and beyond. *Biochimica et biophysica acta*, 1843(8), 1629–1641. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.09.017>

331. Tielen, P., Kuhn, H., Rosenau, F., Jaeger, K.-E., Flemming, H.-C., and Wingender, J. (2013). Interaction Between Extracellular Lipase LipA and the Polysaccharide Alginate of *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiology*, 13 (1), 1–12. doi: 10.1186/1471-2180-13-159
332. Tomczyk, S., Zanichelli, V., Grayson, M. L., Twyman, A., Abbas, M., Pires, D., Allegranzi, B., & Harbarth, S. (2019). Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa* in Healthcare Facilities: A Systematic Review and Reanalysis of Quasi-experimental Studies. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 68(5), 873–884. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy752>
333. Tomoaia, R., Oprea, A., Sandu, I., Danu, V., Pop, D., Zdrenghea, D., Dădârlat-Pop, A., Minciună, I. A., Chețan, I. M., Hada, N. C., & Beyer, R. Ștefana. (2022). A rare case of successfully treated double valve infective endocarditis caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11127. <https://doi.org/10.3390/ijms231911127>
334. Toor, H., Farr, S., Savla, P., Kashyap, S., Wang, S., & Miulli, D. E. (2022). Prevalence of central line-associated bloodstream infections (CLABSI) in intensive care and medical-surgical units. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.22809>
335. Torres, A., Cilloniz, C., Niederman, M. S., Menéndez, R., Chalmers, J. D., Wunderink, R. G., & van der Poll, T. (2021). Pneumonia. *Nature Reviews. Disease Primers*, 7(1), 1–28. <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00259-0>
336. Treviño González, J. L., Reyes Suárez, L. L., & Hernández de León, J. E. (2021). Malignant otitis externa: An updated review. *American Journal of Otolaryngology*, 42(2), 102894. <https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2020.102894>
337. Tumbarello, M., Raffaelli, F., Peghin, M., Losito, A. R., Chirico, L., Giuliano, G., Spanu, T., Sartor, A., Fiori, B., & Bassetti, M. (2020). Characterisation and risk factor profiling of *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections: pinpointing those likely to be caused by multidrug-resistant

- strains. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(4), 105900. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105900>
338. Ude, J., Tripathi, V., Buyck, J. M., Söderholm, S., Cunrath, O., Fanous, J., Claudi, B., Egli, A., Schleberger, C., Hiller, S., & Bumann, D. (2021). Outer membrane permeability: Antimicrobials and diverse nutrients bypass porins in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(31). <https://doi.org/10.1073/pnas.2107644118>
339. Vaitekenas, A., Tai, A. S., Ramsay, J. P., Stick, S. M., & Kicic, A. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* Resistance to Bacteriophages and Its Prevention by Strategic Therapeutic Cocktail Formulation. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(2), 145. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020145>
340. Van der Pol, L., Stork, M., & van der Ley, P. (2015). Outer membrane vesicles as platform vaccine technology. *Biotechnology journal*, 10(11), 1689–1706. <https://doi.org/10.1002/biot.201400395>
341. Veenendaal, A. K., van der Does, C., & Driessen, A. J. (2004). The protein-conducting channel SecYEG. *Biochimica et biophysica acta*, 1694(1-3), 81–95. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2004.02.009>
342. Veetilvalappil, V. V., Manuel, A., Aranjani, J. M., Tawale, R., & Koteshwara, A. (2022). Pathogenic arsenal of *Pseudomonas aeruginosa*: an update on virulence factors. *Future Microbiology*, 17(6), 465–481. <https://doi.org/10.2217/fmb-2021-0158>
343. Verma, N., Dollinger, P., Kovacic, F., Jaeger, K.-E., and Gohlke, H. (2020). The Membrane-Integrated Steric Chaperone Lpf Facilitates Active Site Opening of *Pseudomonas aeruginosa* Lipase A. *Journal of Computational Chemistry*, 41 (6), 500–512. doi: 10.1002/jcc.26085
344. Verroken A, Defourny L, le Polain de Waroux O, Belkhir L, Laterre PF, Delmée M, Glupczynski Y. (2016). Clinical impact of MALDI-TOF MS identification and rapid susceptibility testing on adequate antimicrobial treatment in sepsis with positive blood cultures. *PLoS One* 11: e0156299.

345. Vettiger, A., & Basler, M. (2016). Type VI Secretion System Substrates Are Transferred and Reused among Sister Cells. *Cell*, 167(1), 99–110.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.023>
346. Vidailiac, C., & Chotirmall, S. H. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* in bronchiectasis: infection, inflammation, and therapies. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 15(5), 649–662. <https://doi.org/10.1080/17476348.2021.1906225>
347. Viegas, A., Dollinger, P., Verma, N., Kubiak, J., Viennet, T., Seidel, C. A. M., Gohlke, H., Etzkorn, M., Kovacic, F., & Jaeger, K. E. (2020). Structural and Dynamic Insights Revealing How Lipase Binding Domain MD1 of *Pseudomonas aeruginosa* Foldase Affects Lipase Activation. *Scientific Reports*, 10 (1), 1–15. doi: 10.1038/s41598-020-60093-4
348. Viehman, J. A., Smith, B. J., Nanjappa, S., Li, S. K., Perez, C. O., & Fernandes, C. R. (2022). Chapter 3 - Microbiology of endocarditis. En A. Kilic (Ed.), *Infective Endocarditis* (pp. 43–59). Academic Press.
349. Vieira, D., Angel, S. N., Honjol, Y., Masse, M., Gruenheid, S., Harvey, E. J., & Merle, G. (2022). Engineering surgical stitches to prevent bacterial infection. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-04925-5>
350. Von Gotz F, Haussler S, Jordan D, Saravanamuthu SS, Wehmhoner D, Strussmann A, Lauber J, Attree I, Buer J, Tummler B, Steinmetz I. (2004). Expression analysis of a highly adherent and cytotoxic small colony variant of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a lung of a patient with cystic fibrosis. *Journal of Bacteriology*, 186: 3837-3847.
351. Wai, S. N., Lindmark, B., Söderblom, T., Takade, A., Westermark, M., Oscarsson, J., Jass, J., Richter-Dahlfors, A., Mizunoe, Y., & Uhlin, B. E. (2003). Vesicle-mediated export and assembly of pore-forming oligomers of the enterobacterial ClyA cytotoxin. *Cell*, 115(1), 25–35. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00754-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00754-2)

352. Wang, G., & Nauseef, W. M. (2022). Neutrophil dysfunction in the pathogenesis of cystic fibrosis. *Blood*, 139(17), 2622–2631. <https://doi.org/10.1182/blood.2021014699>
353. Wang, J., Brodmann, M., & Basler, M. (2019). Assembly and Subcellular Localization of Bacterial Type VI Secretion Systems. *Annual review of microbiology*, 73, 621–638. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020518-115420>
354. Wang, S., Zhao, Y., Breslawec, A. P., Liang, T., Deng, Z., Kuperman, L. L., & Yu, Q. (2023). Strategy to combat biofilms: a focus on biofilm dispersal enzymes. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41522-023-00427-y>
355. Wargo, M. J., Gross, M. J., Rajamani, S., Allard, J. L., Lundblad, L., Allen, G. B., Vasil, M. L., Leclair, L. W., & Hogan, D. A. (2011). Hemolytic Phospholipase C Inhibition Protects Lung Function During *Pseudomonas aeruginosa* Infection. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 184 (3), 345-354. doi: 10.1164/rccm.201103-0374OC
356. Weaver, D. R., & King, G. M. (2022). Atomic Force Microscopy Reveals Complexity Underlying General Secretory System Activity. *International journal of molecular sciences*, 24(1), 55. <https://doi.org/10.3390/ijms24010055>
357. Webster, S. S., Lee, C. K., Schmidt, W. C., Wong, G., and O'Toole, G. A. (2021). Interaction Between the Type 4 Pili Machinery and a Diguanylate Cyclase Fine-Tune C-Di-GMP Levels During Early Biofilm Formation. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 118 (26), e2105566118. doi: 10.1073/ pnas.2105566118
358. Werneburg, G. T. (2022). Catheter-associated urinary tract infections: Current challenges and future prospects. *Research and Reports in Urology*, 14, 109–133. <https://doi.org/10.2147/rru.s273663>
359. Wilson, M. G., & Pandey, S. (2023). *Pseudomonas aeruginosa: Methods and protocols* (G. Bertoni & S. Ferrara, Eds.; 1a ed.). Springer.

360. Winsor, G. L., Griffiths, E. J., Lo, R., Dhillon, B. K., Shay, J. A., & Brinkman, F. S. (2016). Enhanced annotations and features for comparing thousands of *Pseudomonas* genomes in the *Pseudomonas* genome database. *Nucleic acids research*, 44(D1), D646–D653. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1227>
361. Wojtczak, K., & Byrne, J. P. (2022). Structural considerations for building synthetic glycoconjugates as inhibitors for *Pseudomonas aeruginosa* lectins. *ChemMedChem*, 17(12). <https://doi.org/10.1002/cmdc.202200081>
362. Wood, S., Goldufsky, J., & Shafikhani, S. H. (2015). *Pseudomonas aeruginosa* ExoT Induces Atypical Anoikis Apoptosis in Target Host Cells by Transforming Crk Adaptor Protein into a Cytotoxin. *PLoS pathogens*, 11(5), e1004934. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004934>
363. Wood, S. J., Kuzel, T. M., & Shafikhani, S. H. (2023a). *Pseudomonas aeruginosa*: Infections, Animal Modeling, and Therapeutics. *Cells (Basel, Switzerland)*, 12(1), 199. <https://doi.org/10.3390/cells12010199>
364. Wu, D., Wu, C., Zhang, S., & Zhong, Y. (2019). Risk factors of ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. *Frontiers in pharmacology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00482>
365. Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. En Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton, & J. Schwartzman (Eds.), *Molecular Medical Microbiology* (pp. 753–767). Elsevier.
366. Xia, A., Thai, A., Cao, Z., Chen, X., Chen, J., Bacacao, B., Bekale, L. A., Schiel, V., Bollyky, P. L., & Maria, P. L. S. (2022). Chronic suppurative otitis media causes macrophage-associated sensorineural hearing loss. *Journal of Neuroinflammation*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02585-w>
367. Xia, Y., Xu, C., Wang, D., Weng, Y., Jin, Y., Bai, F., Cheng, Z., Kuipers, O. P., & Wu, W. (2021). YbeY controls the type III and type VI secretion systems and biofilm formation through RetS in *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and environmental microbiology*, 87(5), e02171-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.02171-20>

368. Yaeger, L. N., Coles, V. E., Chan, D. C., and Burrows, L. L. (2021). How to Kill *Pseudomonas*—emerging Therapies for a Challenging Pathogen. *Annals of the New York Academy of Science*, 1496 (1), 59–81. doi: 10.1111/nyas.14596
369. Yahr, T. L., Goranson, J., & Frank, D. W. (1996). Exoenzyme S of *Pseudomonas aeruginosa* is secreted by a type III pathway. *Molecular microbiology*, 22(5), 991–1003. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1996.01554.x>
370. Yang L, Haagensen JA, Jelsbak L, Johansen HK, Sternberg C, Hoiby N, Molin S. (2008). In situ growth rates and biofilm development of *Pseudomonas aeruginosa* populations in chronic lung infections. *Journal of Bacteriology*, 190: 2767- 2776.
371. Yang, X., Long, M., & Shen, X. (2018). Effector–Immunity Pairs Provide the T6SS Nanomachine its Offensive and Defensive Capabilities. *Molecules* (Basel, Switzerland), 23(5), 1009. <https://doi.org/10.3390/molecules23051009>
372. Yanten, N., Vilches, S., & Palavecino, C. E. (2023). Photodynamic therapy for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: A scoping review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 103803, 103803. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2023.103803>
373. Yonker, L. M., Marand, A., Muldur, S., Hopke, A., Leung, H. M., De La Flor, D., Park, G., Pinsky, H., Guthrie, L. B., Tearney, G. J., Irimia, D., & Hurley, B. P. (2021). Neutrophil dysfunction in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis: official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 20(6), 1062–1071. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2021.01.012>
374. Young, B. C., Dudareva, M., Vicentine, M. P., Hotchen, A. J., Ferguson, J., & McNally, M. (2023). Microbial persistence, replacement and local antimicrobial therapy in recurrent bone and joint infection. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 12(4), 708. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040708>
375. Zhang, M., Liu, L., Lin, X., Wang, Y., Li, Y., Guo, Q., Li, S., Sun, Y., Tao, X., Zhang, D., Lv, X., Zheng, L., & Ge, L. (2020). A Translocation Pathway for

- Vesicle-Mediated Unconventional Protein Secretion. *Cell*, 181(3), 637–652.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.031>
376. Zhang, Y., Pan, X., Wang, L., & Chen, L. (2021). Iron metabolism in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm and the involved iron-targeted anti-biofilm strategies. *Journal of Drug Targeting*, 29(3), 249–258. <https://doi.org/10.1080/1061186x.2020.1824235>
377. Zhang, Z., and Zhang, X. (2021). Evolution of Subfamily I.1 Lipases in *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Microbiology*, 78 (9), 3494–3504. doi: 10.1007/ s00284-021-02589-4 C
378. Zhou, Y., Liao, H., Pei, L., & Pu, Y. (2023). Combatting persister cells: The daunting task in post-antibiotics era. *Cell Insight*, 2(4), 100104. <https://doi.org/10.1016/j.cellin.2023.100104>
379. Zhu, M., Zhao, J., Kang, H., Kong, W., & Liang, H. (2016). Modulation of Type III Secretion System in *Pseudomonas aeruginosa*: Involvement of the PA4857 Gene Product. *Frontiers in microbiology*, 7, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00007>
380. Žiemytė, M., Carda-Diéguez, M., Rodríguez-Díaz, J. C., Ventero, M. P., Mira, A., & Ferrer, M. D. (2021). Real-time monitoring of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm growth dynamics and persister cells' eradication. *Emerging Microbes & Infections*, 10(1), 2062–2075. <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1994355>
381. Zierdt, C. H. (1971). Autolytic nature of iridescent lysis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 37(3), 319-337. <https://doi.org/10.1007/BF02218503>
382. Zoued, A., Brunet, Y. R., Durand, E., Aschtgen, M. S., Logger, L., Douzi, B., Journet, L., Cambillau, C., & Cascales, E. (2014). Architecture and assembly of the Type VI secretion system. *Biochimica et biophysica acta*, 1843(8), 1664–1673. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2014.03.018>