

# Implicación sanitaria de la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en los abastecimientos de aguas de consumo

## PRESENCE OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA IN SUPPLY OF WATER FOR HUMAN COMSUMPTION: HEALTH RISK IMPLICATIONS

Alba TUR SANTANA<sup>1</sup>, Rossana ABREU<sup>1</sup>, Pablo MORENO<sup>1,2</sup>, Ángeles ARIAS\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Área de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de La Laguna. Campus de Ofra S/N., Santa Cruz de Tenerife 38071. España.

<sup>2</sup> Área de Salud de Tenerife. Servicio Canario de la Salud.

\*Correspondencia: Ángeles Arias Rodríguez. Área de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de La Laguna. Campus de Ofra S/N, 38071. Santa Cruz de Tenerife. España. Tel.: +34-922-319-369. Correo-e: angarias@ull.edu.es

### RESUMEN

*Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista capaz de producir infecciones en el hombre, especialmente en pacientes inmunodeprimidos. Los servicios de abastecimiento de aguas de consumo contribuyen a transmitir las infecciones por este microorganismo, especialmente los asociados a entornos hospitalarios, ya que allí se encuentran la mayoría de los pacientes de riesgo. El objetivo del estudio ha sido conocer la ecología de esta bacteria en los sistemas de abastecimiento de aguas y conocer las medidas eficaces para su vigilancia y control. Se realizó una revisión bibliográfica. La base de datos consultada fue Medline a través del Pubmed. La prevalencia de *P. aeruginosa* en las instalaciones de los servicios de abastecimiento de aguas de consumo es elevada, especialmente en el ámbito hospitalario. Esto se debe a sus pobres requerimientos nutricionales, a su resistencia a desinfectantes, a su interacción con amebas de vida libre y a su capacidad para formar biopelículas en las instalaciones. Sería necesario, junto a un correcto mantenimiento de los depósitos y redes de abastecimiento, la hipercloración y la elevación de la temperatura de las aguas. Es necesario realizar más investigaciones para profundizar en la epidemiología de la bacteria y poder implementar medidas preventivas eficaces.

**Palabras clave:** *Pseudomonas aeruginosa*, agua, servicio de abastecimientos, prevalencia, vigilancia, control.

### ABSTRACT

*Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen capable of producing infections in humans, especially in immunosuppressed patients. The water supply contribute by transmitting the infections through the microorganism, especially those associated with hospital environments because this is where the majority of patients at risk are. In addition and its ability to form biofilms. The objective of the study was to understand the ecology of this bacterium in the water supply systems, which from the environmental reservoirs are the factors and to find out the effective measures for its surveillance and control. A bibliographic review was made. The database consulted was Medline through PubMed. *P. aeruginosa* prevalence in the facilities of the water supply services is high, especially in the hospital premises. This is due to its poor nutritional requirements, its resistance to disinfectants, its interaction with free-living amoebas and its ability to form biofilms in the facilities. Furthermore, the usual disinfection measures are not useful for the elimination of these microorganisms in the water but hyperchlorination together with the correct maintenance of the tanks and the supply networks and the elevation of the water temperature would be. To sum up, more in depth research of bacterial epidemiology is needed to be able to implement effective and preventive measures.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, water, water supply, prevalence, surveillance, control.

## INTRODUCCIÓN

*Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria ampliamente distribuida en la naturaleza en aguas, suelos y plantas, y en los servicios de abastecimiento de aguas de consumo, especialmente en los situados en el ámbito hospitalario, pudiendo aislarse en aire acondicionado, humidificadores, agua para hemodiálisis y duchas, que actúan como reservorios de este patógeno<sup>1</sup>. En el ambiente sanitario, se comporta como un oportunista frecuentemente relacionado con enfermedades en humanos, causando infección casi en cualquier órgano y tejido, y que afecta principalmente a personas vulnerables, con alguna enfermedad de base, con edad avanzada o inmunocomprometidos<sup>2</sup>. En España, *P. aeruginosa* es el segundo microorganismo causante de infecciones nosocomiales, representando el 8,04% del total, frente al 10% del total a nivel europeo, por lo que representa un importante problema de salud pública<sup>3,4</sup>. Se han evidenciado brotes importantes de bacteriemia por *P. aeruginosa* en las unidades de cuidados intensivos (UCI) y otras unidades hospitalarias, relacionadas con el sistema de aguas, lo que demuestra la capacidad de este microorganismo de establecerse como reservorio en los entornos sanitarios<sup>5-7</sup>.

Uno de los aspectos importantes actualmente, es la aparición de cepas de *P. aeruginosa* multirresistentes, especialmente productoras de carbapenemasas. Así, la OMS considera a estas cepas como del nivel 1 (Prioritario) para la investigación y el desarrollo de nuevos antibióticos<sup>8</sup>.

La vía de transmisión abarca múltiples maneras a través de las manos de los trabajadores, de paciente a paciente y por contaminación ambiental, incluyendo los ambientes acuosos<sup>9-11</sup>.

Actualmente no existe normativa aplicable a nivel comunitario que pueda ser útil para la vigilancia y el control de estos microorganismos en las instalaciones de los abastecimientos y en las aguas de consumo público. La Normativa de aguas de consumo, RD 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano, indica como agua apta para el consumo: “cuando no contenga ningún tipo de microorganismo, parásito o sustancia, en una cantidad o concentración que pueda suponer un peligro para la salud humana” y como indicadores microbianos a *Escherichia coli*, Enterococos y *Clostridium perfringens*, incluidas las esporas<sup>12</sup>, sin embargo, la ausencia de éstos no garantiza la ausencia de *P. aeruginosa*, debido a su elevada persistencia en el medio acuático. Esto se debe principalmente a que este ambiente propicia su proliferación porque la temperatura del agua es la adecuada y también debido a la compleja estructura del servicio de abastecimiento de aguas del hospital que favorece el estancamiento del agua y la formación de biopelículas<sup>13</sup>.

Por todo ello, el objetivo del trabajo ha sido estudiar la presencia de *P. aeruginosa* en los servicios de abastecimiento de aguas de consumo como problema de salud pública y las medidas de prevención aplicables.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una revisión bibliográfica de los estudios sobre *Pseudomonas aeruginosa*, su ecología dentro de los servicios de abastecimiento de aguas de consumo. La base de datos consultada fue Medline a través del Pubmed. Los criterios de inclusión fueron: Artículos en la base de datos indicada, publicados entre 2008 y la fecha actual, en español y en inglés, y que pudiésemos disponer del artículo completo. Incluimos artículos de revisión y originales. Los criterios de exclusión fueron: No poder disponer del artículo completo, artículos que no consideramos de interés, artículos repetidos.

Se utilizaron 3 filtros de búsqueda diferentes, usando los términos del Medical Subject Headings (MeSH).

Palabras clave utilizadas: *Pseudomonas aeruginosa* and water supply or tap: 106 artículos.

Palabras clave utilizadas: *Pseudomonas aeruginosa*, water supply or tap, hospital, infection: 35 artículos.

Palabras utilizadas: *Pseudomonas aeruginosa*, surveillance and control, water supply: 18 artículos.

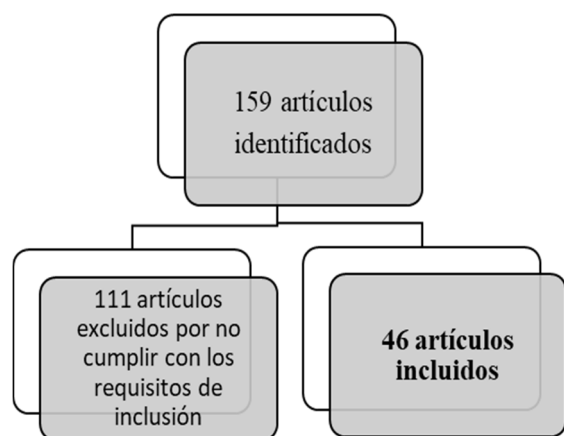
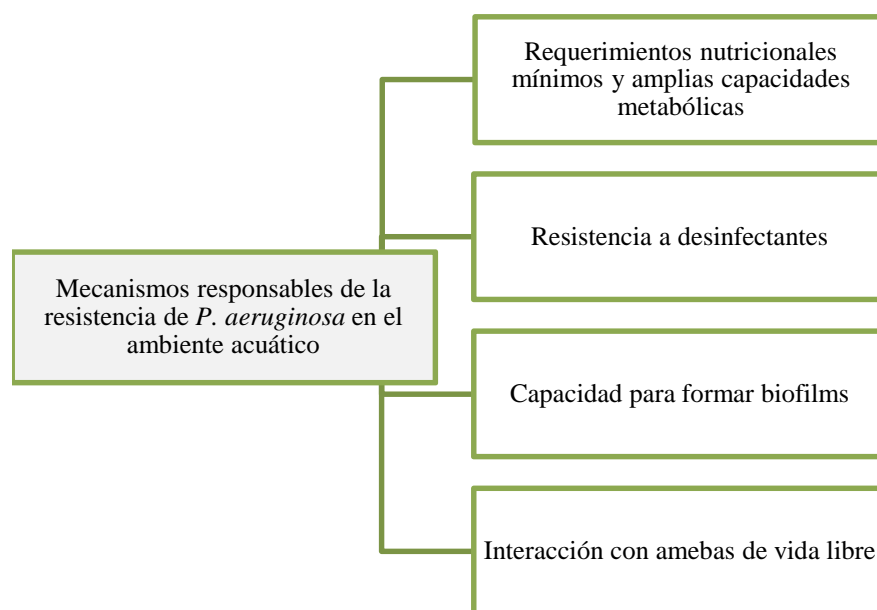


Figura 1. Resultados de la búsqueda de artículos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la búsqueda bibliográfica se observan en la gráfica 1. De un total de 159 artículos, finalmente incluimos 48.



**Figura 2.** Mecanismos responsables de la resistencia de *P. aeruginosa* en los reservorios ambientales.

### Ecología de *P. aeruginosa* en aguas de consumo humano

*P. aeruginosa* es una bacteria ampliamente distribuida en el ambiente debido a que presenta una serie de mecanismos que le ayudan a sobrevivir (Figura 2).

Este microorganismo utiliza compuestos orgánicos y ácidos grasos como fuentes de carbono en bajas concentraciones (<100ug/L), y además utiliza al nitrato como último aceptor de electrones, haciendo que pueda crecer en aguas con poca materia orgánica y en ambientes anaerobios o microaerófilos<sup>4</sup>. Asimismo, es especialmente conocida por sus amplias capacidades metabólicas, ya que puede obtener nitrógeno de diferentes fuentes, pero las más utilizadas son aminoácidos y ácidos orgánicos<sup>15</sup>.

Además, tiene elevada capacidad para formar biopelículas en las instalaciones de los servicios de abastecimiento de agua o unirse a las ya existentes<sup>16-17</sup>. Esto es una estrategia de supervivencia que dificulta su erradicación ya que le permite aumentar su resistencia a los desinfectantes<sup>18</sup>. Este fenómeno se produce especialmente en la red de tuberías de los hospitales<sup>5</sup>, ya que según Ghadakpour et al.<sup>19</sup> se dan las condiciones óptimas para ello: estancamiento del agua, temperaturas cálidas, y el uso de materiales que facilitan el crecimiento. La biopelícula se forma cuando los microorganismos que se encuentran en el servicio de abastecimiento se adhieren a las superficies, formando una monocapa sobre la superficie<sup>0</sup>. Posteriormente se lleva a cabo la acumulación y la maduración de la biopelícula, caracterizado por la secreción de una sustancia llamada sustancia polimérica extracelular (EPS), compuesta por

azúcares, proteínas y ácidos nucleicos, que forma la matriz y protege a la bacteria frente a posibles daños. De esta manera se va formando una estructura tridimensional cuya forma dependerá de la fuente de nutrientes utilizada, si es citrato se formará una biopelícula plana y si es glucosa se formará una forma de champiñón<sup>21</sup>. Esta biopelícula permite el intercambio de nutrientes y productos de desecho, así como el paso de nuevas bacterias, siendo capaces de separarse de la estructura formada y de propagarse por las instalaciones acuosas. Todo esto se produce cuando se cumplen las condiciones favorables, de manera que, si se produce lo contrario, se procederá a la muerte celular<sup>22</sup>. La unión de *P. aeruginosa* con amebas de vida libre es un factor importante para tener en cuenta ya que aumenta la persistencia de ésta en los servicios de abastecimiento<sup>18, 23-24</sup>. En la mayoría de los casos la bacteria es capaz de seguir reproduciéndose tras sufrir fagocitosis por la ameba<sup>25</sup>. Según Cervero-Arago et al.<sup>26</sup> esta interacción es beneficiosa ya que la ameba le sirve como protección frente a productos desinfectantes y a altas temperaturas, incluso a más de 55°C si ésta se encuentra en forma de quiste. Además, esta interacción puede favorecer a la estructura de la biopelícula, haciendo que sea más resistente y segura<sup>27</sup>.

*P. aeruginosa* es más resistente a la cloración y a otros métodos utilizados durante la desinfección del agua que otros microorganismos<sup>28</sup>. Bédard et al.<sup>25</sup> afirman que, aunque el monoclora es más efectivo que el cloro, las concentraciones y los tiempos de contacto necesarios de ambos para disminuir las concentraciones de la bacteria son imposibles de implantar en los sistemas de abastecimiento. En cuanto a la

<i>Autores (año)</i>	<i>Servicio hospitalario</i>	<i>Cepa aislada</i>
<sup>36</sup> Inglis (2010)	Área de alta dependencia (ADA)	<i>P. aeruginosa</i> (MDR)
<sup>37</sup> Kouda (2011)	Planta de hospitalización	<i>P. aeruginosa</i> (MDR)
<sup>38</sup> Yapicioglu (2012)	Unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN)	<i>P. aeruginosa</i>
<sup>7</sup> Breathnach (2012)	Unidad de cuidados intensivos (UCI) y unidad de hematología	<i>P. aeruginosa</i> (MDR)
<sup>5</sup> Walker (2014)	Unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN)	<i>P. aeruginosa</i>
<sup>39</sup> Quick (2014)	Unidad de quemados	<i>P. aeruginosa</i>
<sup>40</sup> Venier (2014)	Unidad de cuidados intensivos (UCI)	<i>P. aeruginosa</i>
<sup>41</sup> Davis (2015)	Unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN)	<i>P. aeruginosa</i>

MDR= Multi-drug resistance

**Tabla 1.** Estudios de aislamiento de *P. aeruginosa* en aguas de hospitales.

<i>Autores (año)</i>	<i>Dispositivo</i>	<i>Nº de muestras</i>	<i>Prevalencia (%)</i>
<sup>9</sup> Cholley et al. (2008)	Grifo manual	224	4,5
<sup>42</sup> Lavenir et al. (2008)		91	68
<sup>38</sup> Yapicioglu et al. (2012)	Grifo electrónico	9	100
<sup>43</sup> Durojaiye et al. (2011)		10	100
<sup>6</sup> Hota et al. (2009)	Desagüe	213	12,2
<sup>44</sup> Charron et al. (2015)		210	51

**Tabla 2.** Estudios comparativos de la prevalencia de *P. aeruginosa* en entornos sanitarios, dependiendo del tipo de grifo y en desagües.

ozonización, Zhang et al.<sup>29</sup> postulan que habría que tener en cuenta que esta bacteria produce especies reactivas de oxígeno debido a la producción de piocianina, lo que podría tener un impacto importante en la resistencia a este método. Por todo lo anterior debemos comprender la dificultad de controlar a *P. aeruginosa* en los reservorios ambientales.

#### **Aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* en servicios de abastecimiento**

Durante los últimos años ha habido diversos informes que señalan la presencia de este microorganismo en los servicios de abastecimiento de aguas, aislándose normalmente junto a bacterias de los géneros *Mycobacterium* y *Legionella*, ya que las condiciones que favorecen el crecimiento y la supervivencia

son similares para todos ellos, y de hecho se suelen referir a bacterias “OPPPs” (Opportunistic Premise Plumbing Pathogens)<sup>28, 30, 31</sup>.

von Baum et al.<sup>32</sup> describen la presencia de esta bacteria en el 10,8% de las muestras de aguas de grifos de viviendas de pacientes con enfermedades hematológicas y postulan la importancia del hallazgo, como fuente de infección en pacientes neutropénicos. Otro estudio indica el riesgo en pacientes con fibrosis quística, aislando *P. aeruginosa* en el 8% del agua del grifo, e incluso en un 3% de las aguas embotelladas ensayadas<sup>33</sup>. Sacchetti et al.<sup>34</sup> comparan el aislamiento de varios microorganismos, entre ellos *P. aeruginosa* en agua del grifo y de dispensadores con filtro, encontrando en éstas últimas, una mayor presencia de la bacteria, lo que indica la importancia de un buen

mantenimiento de estos dispositivos. Botsaris et al.<sup>35</sup>, encuentran en agua de consumo público en un área urbana de Chipre, que aproximadamente el 85% de las muestras estaban contaminadas por este microorganismo.

El mayor riesgo de la presencia de *P. aeruginosa* en el agua y en los servicios de abastecimiento, es en las instalaciones hospitalarias, donde se encuentran un gran número de pacientes susceptibles. En la Tabla 1 se reflejan los resultados de algunos estudios de aislamiento de *P. aeruginosa*, en muchos casos multirresistentes, en aguas de hospitales.

Asimismo, Bédard et al.<sup>25</sup> indican que los dispositivos claves a investigar son el grifo y el desagüe.

Se han realizado diversos estudios para conocer la prevalencia de esta bacteria en los grifos, tanto manuales como electrónicos, y los desagües en diferentes instalaciones hospitalarias (Tabla 2).

En relación con los grifos manuales vemos como la prevalencia varía enormemente entre un caso y el otro<sup>9,42</sup>.

En cuanto a los grifos electrónicos cabe destacar que se instalaron en algunos hospitales reducir el consumo de agua y el riesgo de contaminación durante el lavado de las manos<sup>38,43</sup>. Sin embargo, los estudios señalan que estos dispositivos pueden ser una fuente muy importante de infección por *P. aeruginosa*, y destacan el hecho de una mayor prevalencia en las unidades en las que existen grifos electrónicos. Esto se debe a que estos dispositivos favorecen el crecimiento de bacterias heterotróficas, lo que está relacionado con las características del propio diseño de los grifos electrónicos: bajo flujo y presión, estancamiento del agua, temperatura de 35°C y materiales como el caucho y el PVC que favorecen la adhesión celular, y, por lo tanto, la formación de biopelículas<sup>25</sup>.

Los materiales más utilizados en la construcción de los servicios de abastecimiento son el cobre, el plástico y materiales elastómeros como el propileno, polietileno, PVC y silicona, entre otros. Los más utilizados actualmente ayudan a formar una biopelícula mucho más densa que la creada por materiales como el cristal, el cobre o el acero inoxidable<sup>45</sup>. Por todo esto los laboratorios han querido estudiar la influencia que tienen los materiales usados durante la construcción en el crecimiento de *P. aeruginosa* o la implantación de esta en una biopelícula ya formada anteriormente<sup>25,44,46,47</sup>, concluyendo que el más efectivo para impedir la implantación sería el cobre, sin embargo, se ha visto que éste ya no se está utilizando, quedando relegado a antiguas instalaciones<sup>48</sup>.

Por último, en relación con los desagües hay que destacar que también suponen una fuente de infección por la bacteria estudiada<sup>6,44</sup>. Relacionado con esto, Schneider et al.<sup>49</sup> describieron un brote hospitalario originado debido a que el flujo de agua estaba cayendo en un desagüe contaminado por el microorganismo.

### Vigilancia y control de *P. aeruginosa*

Hay estudios que indican que *Pseudomonas aeruginosa* no tiene que estar regulada en aguas de consumo ya que no hay evidencias de que pueda suponer un riesgo de infección para la población en general<sup>60</sup> y si debería ser investigada en las instalaciones de los hospitales ya que suponen una fuente importante de infección<sup>1,2</sup>.

Algunos autores indican que sería necesario considerar a los pacientes que pertenecen a los grupos de riesgo (principalmente pacientes con fibrosis quística e inmunosupresión), y que no están hospitalizados, donde estas instalaciones pueden suponer una fuente de infección<sup>28,32</sup>.

Entre las medidas de control de esta bacteria a nivel de los sistemas artificiales de agua, cabe destacar, el mantenimiento de una adecuada limpieza de depósitos, tuberías, grifos, lo que podría contribuir a disminuir la presencia de estas bacterias en las instalaciones de aguas de consumo público<sup>1-2</sup>. Para las personas en situación de riesgo, se pueden tomar medidas para reducir la exposición como evitar la inhalación de aerosoles de duchas, bañeras de hidromasaje y humidificadores<sup>1,32</sup>.

A nivel hospitalario sería útil, junto con estas medidas de buen mantenimiento de las instalaciones, la utilización de filtros bacterianos de 0,2 micrómetros en las duchas de los pacientes con elevado riesgo de padecer infecciones, ya que estos filtros han demostrado ser de utilidad para evitar el paso de los microorganismos<sup>58,60-63</sup>. También se deben evitar los grifos electrónicos que son más propensos a ser colonizados. Algunos autores han recomendado el seguimiento de las muestras de agua periódicamente de los grifos electrónicos, así como la eliminación de los grifos electrónicos de las áreas de pacientes de alto riesgo dada la dificultad de descontaminación incluso con hipercloraciones<sup>38,43</sup>.

### CONCLUSIONES

La presencia en los abastecimientos de aguas de *Pseudomonas aeruginosa* puede suponer un problema de salud pública, asociándose los casos más graves a instalaciones hospitalarias, donde se encuentran la mayoría de los pacientes con situación de riesgo. Consideramos que, debido al aumento de la población de riesgo, se hace necesario realizar más investigaciones sobre el papel de esta bacteria en los medios acuosos artificiales que permitan implementar medidas de vigilancia y control más efectivas.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Kanamori H, Weber DJ, Rutala WA. Healthcare outbreaks associated with a water reservoir and infection prevention strategies. Clin Infect Dis. 2016; 62(11): 1423–35.
2. Loveday HP, Wilson JA, Kerr K, Pitchers R, Walker JT, Browne J. Association between

- healthcare water systems and *Pseudomonas aeruginosa* infections: A rapid systematic review. *J Hosp Infect.* 2014; 86(1): 7–15.
3. Vaqué J RJ. Informe global de España. Epine. 2008; 2015: 1990–2017.
  4. de Bentzmann S, Plésiat P. The *Pseudomonas aeruginosa* opportunistic pathogen and human infections. *Environ Microbiol.* 2011; 13(7): 1655–65.
  5. Walker JT, Jhutti A, Parks S, Willis C, Copley V, Turton JF, et al. Investigation of healthcare-acquired infections associated with *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in taps in neonatal units in Northern Ireland. *J Hosp Infect.* 2014; 86(1): 16–23.
  6. Hota S, Hirji Z, Stockton K, et al. Outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* colonization and infection secondary to imperfect intensive care unit room design. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; 30: 25–33.
  7. Breathnach AS, Cubbon MD, Karunaharan RN, Pope CF, Planche TD. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreaks in two hospitals: association with contaminated hospital wastewater systems. *J Hosp Infect* 2012; 82: 19–24.
  8. World Health Organization Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. World Health Organization. 2017.
  9. Cholley P, Thouverez M, Floret N, Bertrand X, Talon D. The role of water fittings in intensive care rooms as reservoirs for the colonization of patients with *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med.* 2008; 34(8): 1428–33.
  10. Jefferies JMC, Cooper T, Yam T, Clarke SC. outbreaks in the neonatal intensive care unit - a systematic review of risk factors and environmental sources. *J Med Microbiol.* 2012; 61(8): 1052–61.
  11. Jones S. Hand hygiene and transmission of *Pseudomonas aeruginosa* on hands in a hospital environment. *Journal of Infection Prevention.* 2011; 12: 146–148.
  12. RD 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. BOE» núm. 45, de 21 de febrero de 2003.
  13. Decker BK, Palmore TN. The role of water in healthcare-associated infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2013; 26: 345–51.
  14. Liu G, Verberk JQJC, Van Dijk JC. Bacteriology of drinking water distribution systems: An integral and multidimensional review. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2013; 97(21): 9265–76.
  15. Klockgether J, Cramer N, Wiehlmann L, Davenport CF, Tümmler B. *Pseudomonas aeruginosa* Genomic Structure and Diversity. *Front Microbiol.* 2011; 2: 150.
  16. Masák J, Čejková A, Schreiberová O, Řezanka T. *Pseudomonas* biofilms: possibilities of their control. *FEMS Microbiol Ecol.* 2014; 89(1): 1–14.
  17. Revetta RP, Gomez-Alvarez V, Gerke TL, Curioso C, Santo Domingo JW, Ashbolt NJ. Establishment and early succession of bacterial communities in monochloramine-treated drinking water biofilms. *FEMS Microbiol Ecol.* 2013; 86(3): 404–14.
  18. Wingender J, Flemming H-C. Biofilms in drinking water and their role as reservoir for pathogens. *Int J Hyg Environ Health.* 2011; 214(6): 417–23.
  19. Ghadakpour M, Bester E, Liss SN, Gardam M, Droppo I, Hota S, et al. Integration and proliferation of *Pseudomonas aeruginosa* PA01 in multispecies biofilms. *Microb Ecol.* 2014; 68(1): 121–31.
  20. Walker J, Hoffman P. A pragmatic approach to *Pseudomonas*. *Health Estate.* 2012; 66(6): 23–7.
  21. Laverty G, Gorman SP, Gilmore BF. Biomolecular Mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* Biofilm Formation. *Pathog (Basel, Switzerland).* 2014; 3(3): 596–632.
  22. Wesseling W. Beneficial biofilms in marine aquaculture? Linking points of biofilm formation mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudoalteromonas* species. *AIMS Bioengineering.* 2015; 2(3): 104–125.
  23. Hauser AR, Ozer EA. *Pseudomonas aeruginosa*. *Nat Rev Microbiol.* 2011; 9: 2011.
  24. Hamilton KA, Ahmed W, Palmer A, Sidhu JPS, Hodggers L, Toze S, et al. Public health implications of *Acanthamoeba* and multiple potential opportunistic pathogens in roof-harvested rainwater tanks. *Environ Res.* 2016; 150: 320–7.
  25. Bédard E, Prévost M, Déziel E. *Pseudomonas aeruginosa* in premise plumbing of large buildings. *Microbiologyopen.* 2016; 5(6): 937–56.
  26. Cervero-Aragó S, Rodríguez-Martínez S, Canals O, Salvadó H, Araujo RM. Effect of thermal treatment on free-living amoeba inactivation. *J Appl Microbiol.* 2014 Mar; 116(3): 728–36.
  27. Thomas V, McDonnell G, Denyer SP, Maillard J-Y. Free-living amoebae and their intracellular pathogenic microorganisms: risks for water quality. *FEMS Microbiol Rev.* 2010; 34(3): 231–59.
  28. Falkinham JO, Hilborn ED, Arduino MJ, Pruden A, Edwards MA. Epidemiology and ecology of opportunistic premise plumbing pathogens: *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium avium*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Health Perspect.* 2015; 123(8): 749–58.

29. Zhang Y, Wu Q, Zhang J, Yang X. Effects of ozone on the cytomembrane and ultrastructure of *Pseudomonas aeruginosa*. *Food Science and Biotechnology.* 2015; 24: 987–993.
30. Naumova EN, Liss A, Jagai JS, Behlau I, Griffiths JK. Hospitalizations due to selected infections caused by opportunistic premise plumbing pathogens (OPPP) and reported drug resistance in the United States older adult population in 1991-2006. *J Public Health Policy.* 2016; 37(4): 500-513.
31. Wang H, Bédard E, Prévost M, Camper AK, Hill VR, Pruden A. Methodological approaches for monitoring opportunistic pathogens in premise plumbing: A review. *Water Res.* 2017; 117: 68-86.
32. von Baum H, Bommer M, Forke A, Holz J, Frenz P, Wellinghausen N. Is domestic tap water a risk for infections in neutropenic patients? *Infection.* 2010; 38(3): 181-6
33. Caskey S, Stirling J, Moore JE, Rendall JC. Occurrence of *Pseudomonas aeruginosa* in waters: implications for patients with cystic fibrosis (CF). *Lett Appl Microbiol.* 2018: 14.
34. Sacchetti R, De Luca G, Dormi A, Guberti E, Zanetti F. Microbial quality of drinking water from microfiltered water dispensers. *Int J Hyg Environ Health.* 2014; 217(2-3): 255-9.
35. Botsaris G, Kanetis L, Slaný M, Parpouna C, Makris KC. Microbial quality and molecular identification of cultivable microorganisms isolated from an urban drinking water distribution system (Limassol, Cyprus). *Environ Monit Assess.* 2015; 187(12): 739.
36. Inglis TJ, Benson KA, O'Reilly L, et al. Emergence of multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Western Australian hospital. *J Hosp Infect* 2010; 76: 60–5.
37. Kouda S, Fujiue Y, Watanabe Y, et al. Sporadic isolations of a multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone during a 14-month epidemic in a general hospital in Hiroshima. *Infection* 2011; 39: 247–53.
38. Yapicioglu H, Gokmen TG, Yildizdas D, Koksall F, Ozlu F, Kale-Cekinmez E, et al. *Pseudomonas aeruginosa* infections due to electronic faucets in a neonatal intensive care unit. *J Paediatr Child Health.* 2012; 48(5): 430–4.
39. Quick J, Cumley N, Wearn CM, Niebel M, Constantinidou C, Thomas CM, Pallen MJ, Moiemmen NS, Bamford A, Oppenheim B, Loman NJ. Seeking the source of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a recently opened hospital: an observational study using whole-genome sequencing. *BMJ Open.* 2014; 4(11): e006278.
40. Venier AG, Leroyer C, Slekovec C, et al. Risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* acquisition in intensive care units: a prospective multicentre study. *J Hosp Infect* 2014; 88: 103–8.
41. Davis RJ, Jensen SO, Van Hal S, et al. Whole genome sequencing in real-time investigation and management of a *Pseudomonas aeruginosa* outbreak on a neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2015; 36: 1058–64.
42. Lavenir R, Sanroma M, Gibert S, Crouzet O, Laurent F, Kravtsoff J, et al. Spatio-temporal analysis of infra-specific genetic variations among a *Pseudomonas aeruginosa* water network hospital population: invasion and selection of clonal complexes. *J Appl Microbiol.* 2008; 105(5): 1491–501.
43. Durojaiye OC, Carbarns N, Murray S, Majumdar S. Outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. *J Hosp Infect.* 2011; 78(2): 154–5.
44. Charron D, Bédard E, Lalancette C, Laferrière C, Prévost M. Impact of electronic faucets and water quality on the occurrence of *Pseudomonas aeruginosa* in water: a multi-hospital study. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2015; 36(3): 311–9.
45. Tsvetanova ZG, Hoekstra EJ. The effect of the surface- to- volume contact ratio on the biomass production potential of the pipe products in contact with drinking water. *Water Science and Technology: Water Supply.* 2010: 105–112.
46. Moritz MM, Flemming H-C, Wingender J. Integration of *Pseudomonas aeruginosa* and *Legionella pneumophila* in drinking water biofilms grown on domestic plumbing materials. *Int J Hyg Environ Health.* 2010; 213(3): 190–7.
47. Walker J, Moore G. *Pseudomonas aeruginosa* in hospital water systems: biofilms, guidelines, and practicalities. *J Hosp Infect.* 2015; 89(4): 324–7.
48. Rahman MS, Encarnacion G, Camper AK. Nitrification and potential control mechanisms in simulated premises plumbing. *Water Res.* 2011; 45(17): 5511–22.
49. Schneider H, Geginat G, Hogardt M, Kramer A, Dürken M, Schrotten H, et al. *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a pediatric oncology care unit caused by an errant water jet into contaminated siphons. *Pediatr Infect Dis J.* 2012; 31(6): 648–50.
50. Zarb P, Coignard B, Griskeviciene J, Muller A, Vankerckhoven V, Weist K, et al. The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) pilot point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use. *Euro Surveill.* 2012; 17(46).

51. Pier GB. The challenges and promises of new therapies for cystic fibrosis: Figure 1. *J Exp Med.* 2012; 209(7): 1235–9.
52. Castranova V, Asgharian B, Sayre P, Virginia W, Carolina N. HHS Public Access. 2016; 11(5): 1922–2013.
53. Cullen L, McClean S. Bacterial Adaptation during Chronic Respiratory Infections. *Pathogens.* 2015; 4(1): 66–89.
54. Hlavsa MC, Roberts VA, Kahler AM, Hilborn ED, Wade TJ, Backer LC, et al. Recreational water-associated disease outbreaks--United States, 2009-2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2014; 63(1): 6–10.
55. Vaz-Moreira I, Nunes OC, Manaia CM. Diversity and antibiotic resistance in *Pseudomonas* spp. from drinking water. *Sci Total Environ.* 2012; 426: 366–74.
56. Kizny Gordon AE, Mathers AJ, Cheong EYL, Gottlieb T, Kotay S, Walker AS, et al. The Hospital Water Environment as a Reservoir for Carbapenem-Resistant Organisms Causing Hospital-Acquired Infections - A Systematic Review of the Literature. *Clin Infect Dis.* 2017; 64(10): 1436–44.
57. Sun Z, Jiao X, Peng Q, Jiang F, Huang Y, Zhang J, et al. Antibiotic resistance in *pseudomonas aeruginosa* is associated with decreased fitness. *Cell Physiol Biochem.* 2013; 31(2–3): 347–54.
58. Bicking Kinsey C, Koirala S, Solomon B, Rosenberg J, Robinson BF, Neri A, et al. *Pseudomonas aeruginosa* Outbreak in a Neonatal Intensive Care Unit Attributed to Hospital Tap Water. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2017 Jul;38(7):801-808. doi: 10.1017/ice.2017.011.
59. WHO (2011a). Lead in Drinking Water. Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking Water Quality. Geneva, World Health Organization. WHO/SDE/WSH/03.04/09/Rev/1.
60. Cuttelod M, Senn L, Terletskiy V, Nahimana I, Petignat C, Eggimann P, et al. Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units over a 10-year period (1998-2007). *Clin Microbiol Infect.* 2011; 17(1): 57–62..