

APUNTES DE LABORATORIO | N° VI

Biopelículas

Un desafío para entender
la patogénesis y la terapia antiinfectiva



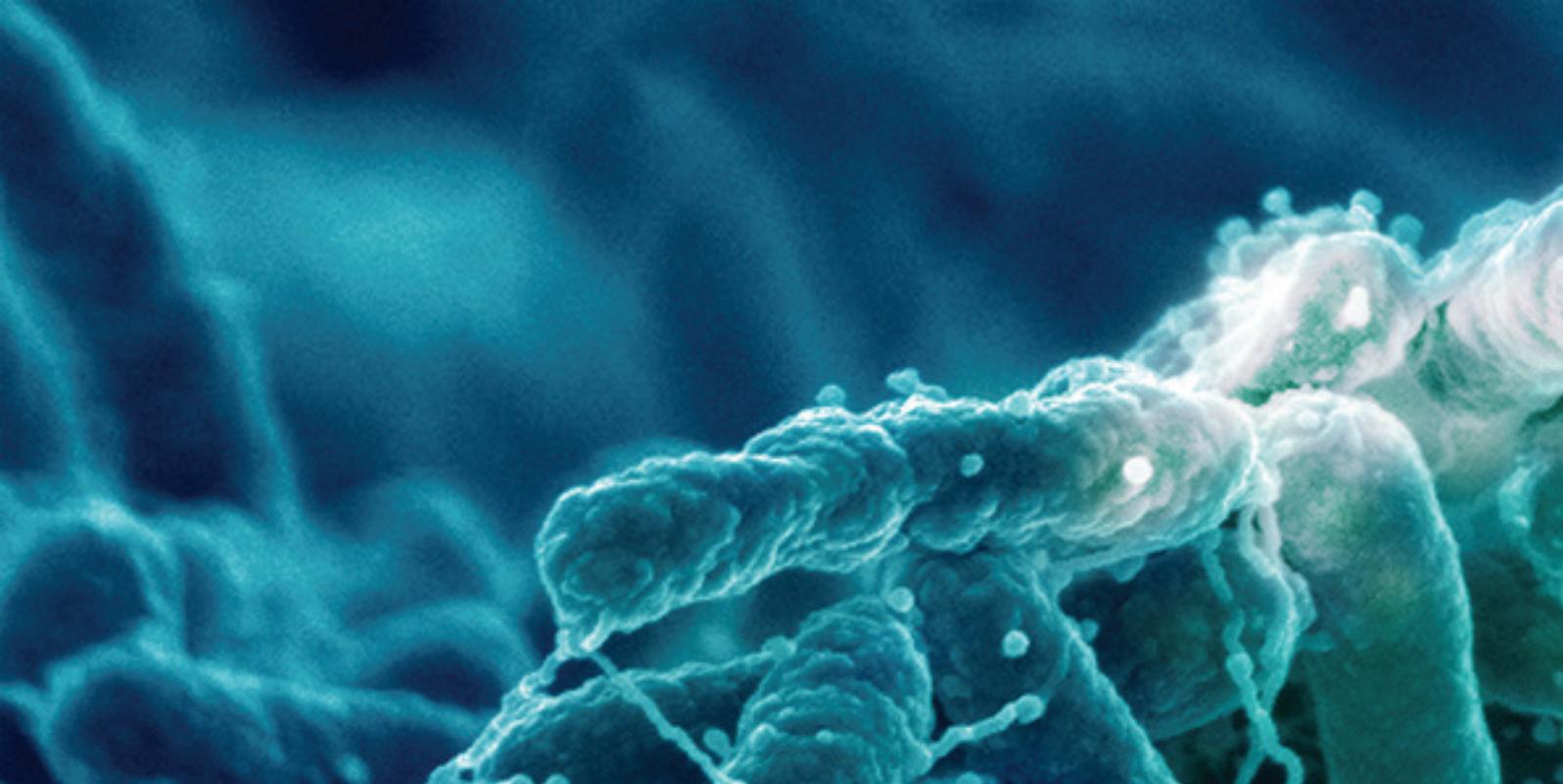
Dra. Alicia Esther Farinati

Médica, especialista en Microbiología Clínica

Las áreas de dedicación especial dentro de la especialidad comprenden los relacionados con la Microbiología Clínica, Infecciones en Ginecología y Obstetricia, Infecciones de Transmisión Sexual, Clamidia, Micoplasma, Infecciones urinarias y respiratorias, Detección de brotes y Antimicrobianos.

Se desempeñó como docente de diversas facultades: Ex -Profesora Titular de la Carrera de Infectología y Profesora Titular de la Maestría en Microbiología Clínica de la Facultad de Posgrado en Ciencias de la Salud de la Universidad Católica Argentina, y Coordinadora de la Maestría en Microbiología Clínica en la Universidad Nacional de Asunción, Paraguay. Participó del plan educativo B de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires como Instructora. Actualmente ejerce como Profesora Titular de la Cátedra de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la Universidad del Salvador en la carrera de Medicina y en la carrera de Enfermería; Profesora Titular de Microbiología en la Licenciatura de Ciencias Ambientales, de la Facultad de Historia, Geografía y Turismo de esa misma Universidad.

Pertenece a varias Sociedades Científicas de la especialidad del país y del extranjero; y fue Delegada de la Argentina ante Sociedades Latinoamericanas y Mundiales. Presentó y publicó numerosos trabajos científicos. Recibió condecoraciones premios y distinciones en el país y en el extranjero; tanto por su actividad científica como por la actividad docente.



Biopelículas

Un desafío para entender la patogénesis y la terapia antiinfectiva

Una biopelícula (BP), conocida habitualmente como “biofilm” es una comunidad sésil muy dinámica de microorganismos, caracterizada por células irreversiblemente unidas a un sustrato o interfaz o entre sí, embebidas en una matriz extracelular de sustancias polimerizadas producidas por ellas y que exhiben un fenotipo alterado con respecto al índice de crecimiento y transcripción de genes ^{1, 2, 3, 4, 5}. Se pueden dividir en dos grandes grupos aunque comparten características físicoquímicas:

- **Las de importancia ambiental**
- **Las de importancia médica**

En general las BPs son formas de vida adaptadas para sobrevivir en medios hostiles. Entre otros sitios, son capaces de formarse en sistemas de flujo rápido y turbulento, de gran fricción, parecidos a los que se pueden encontrar en arterias o venas. También en ecosistemas acuáticos relativamente quietos como una prótesis articular, espacios aéreos. Ocurren tanto en superficies lisas como rugosas, son muy visco-elásticos, resistentes a la tensión y difíciles de desprender.

Se pueden visualizar con el microscopio electrónico de barrido in situ e intactos, con la microscopia confocal láser de barrido ⁶.

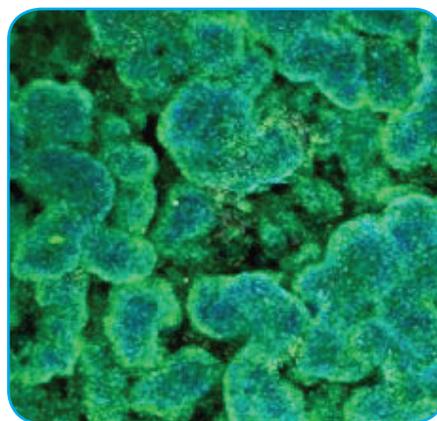


Foto 1: Imagen confocal de una biopelícula

Tienen la forma de un bosque de torres o de hongos con el sombrero deformado donde la fricción es grande, atravesados por canales que permiten el paso de nutrientes y la salida de desechos (**Figura 1**).

Esta capacidad de adhesión y formación de BPs, provee una considerable ventaja ecológica ya que otorga protección contra agentes antimicrobianos o biológicos por la formación de agregados de bacterias dentro de la misma facilita el intercambio eficiente de nutrientes, metabolitos o material genético por la proximidad entre los microorganismos. Es por todo esto que son

causantes de graves problemas de salud ya que están implicados en infecciones crónicas, lentas, resistentes a los tratamientos, se forman en superficies de tejidos naturales e implantes artificiales y explican características de las infecciones de válvulas cardíacas nativas o protésicas, prótesis articulares, catéteres diversos, cánulas de Scribner, derivaciones ventrículo-peritoneales, dispositivos intrauterinos (DIUs), tubos endotraqueales, etc.. Los principales microorganismos que están involucrados en estos problemas de salud son *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida* y otros oportunistas.

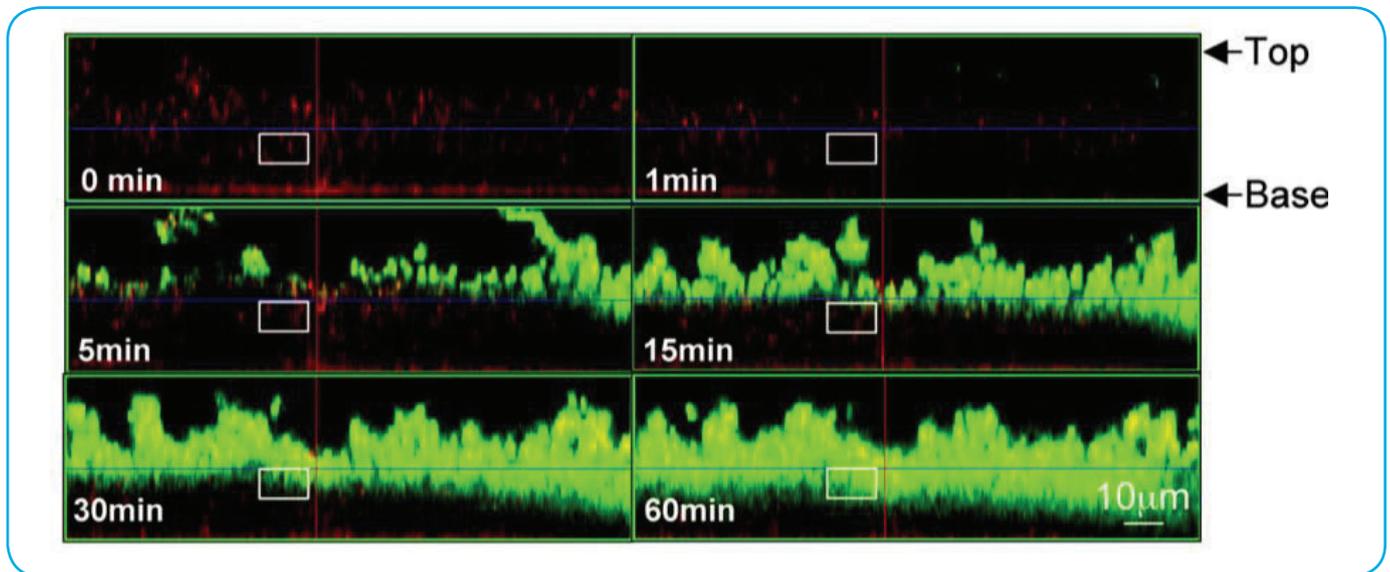


Foto 2: Image de microscopía confocal para analizar la penetración de vancomicina en una biopelícula de *Staphylococcus aureus* 6 Antimicrob. Agents Chemother 2005 ; 49:2467-2473

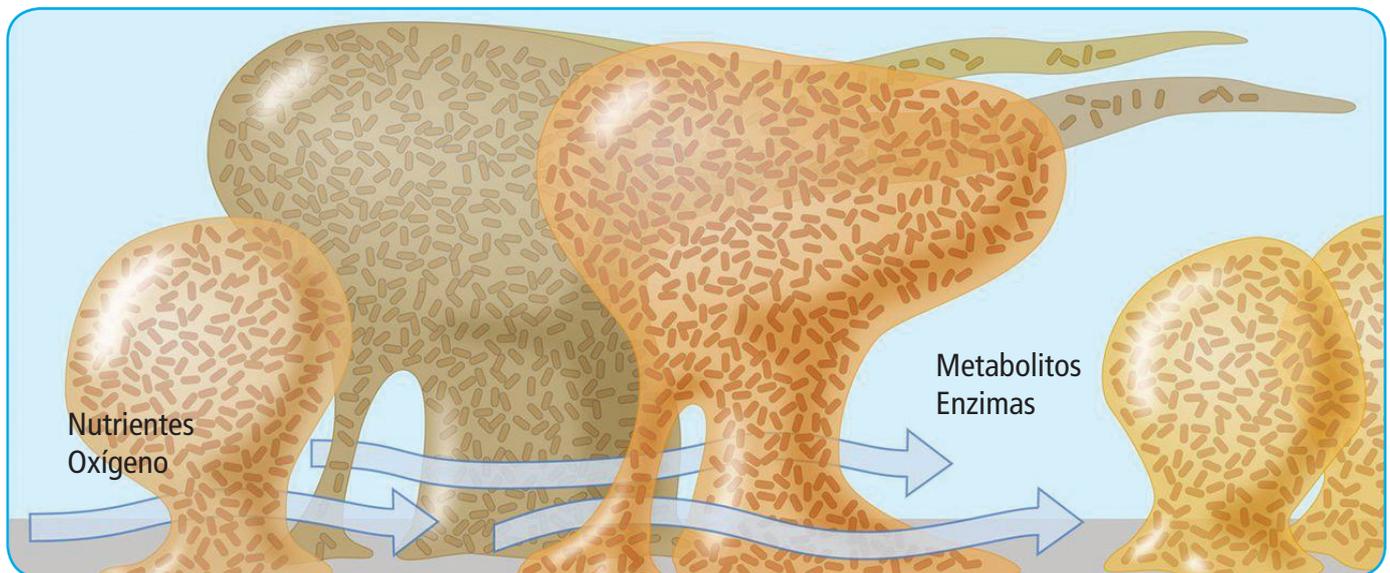


Figura 1: Estructura de una biopelícula madura.

Etapas en el proceso de formación de la biopelícula

Para poder establecer métodos que inhiban el desarrollo de biopelículas es necesario entender el complejo proceso de formación de las mismas, que progresa por etapas. **(fotos 3,4,5 y 6), (Fig. 2)**

- **Adherencia o adhesión**
- **Colonización**
- **Maduración**
- **Dispersión**

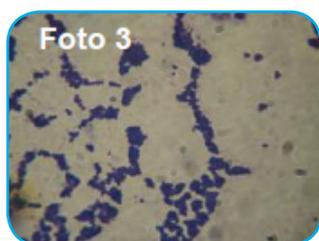
La etapa inicial del proceso de formación es la adherencia y colonización^{1,2} sobre una superficie. En bacterias gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*) se ha visto que los flagelos, las fimbrias de tipo I, IV y los "curli" son importantes para la etapa de adherencia primaria. La movilidad parece que ayuda a la bacteria a alcanzar la superficie y contrarrestar las repulsiones hidrofóbicas. Sin embargo, aunque esta ayuda al proceso no parece ser un requisito esencial, pues muchas bacterias gram positivas inmóviles como estafilococos, estreptococos y micobacterias son capaces de formar biopelículas.

En el caso de las bacterias gram positivas se ha descrito la participación de proteínas de superficie (AtlE, Bap, Esp) en esta primera etapa de adherencia primaria^{7,8}.

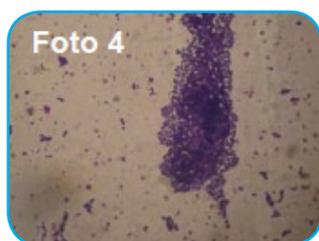
Numerosas evidencias experimentales sugieren que el

proceso de formación del biofilm esta regulado por una compleja cascada de reguladores denominada "proceso de **quorum sensing** o autoinducción"⁹. El sistema de **quorum sensing** es un mecanismo de regulación dependiente de la acumulación en el medio ambiente de una molécula señal, autoinductor, que permite a la bacteria sentir la densidad de población existente. En bacterias gram negativas el principal autoinductor es **acilhomoserina lactona**, mientras que en bacterias gram positivas los autoinductores son **péptidos**.

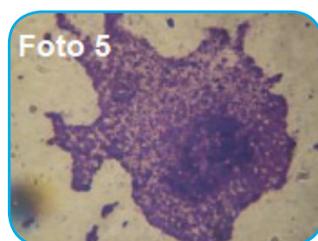
Estas moléculas son tan importantes que de ellas y otros reguladores globales (por ejemplo *CsrA* en *E. coli*, *CytR* de *V. cholerae*) depende la formación de las BPs y constituyen un posible blanco para futuros desarrollos de moléculas que los bloqueen. El ejemplo interesante es la denominada "Furanona" producida por el alga *Delisea pulchra*, con una estructura similar a las acyl-homoserina lactona. Estas moléculas se unen a los mismos receptores, pero en lugar de activarlos, los bloquean, inhibiendo la consiguiente formación de BPs^{10,11}. En la actualidad se está intentando desarrollar inhibidores de la formación del biofilm basados en derivados de la furanona, ya que esta molécula es extremadamente tóxica. De forma similar en *S. aureus* se ha descrito un péptido denominado RIP, que inhibe un sistema de quorum-sensing y el proceso de formación del biofilm¹².



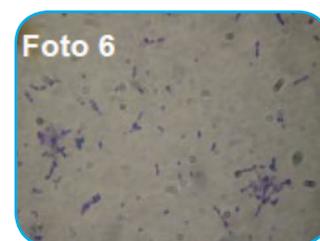
Adherencia



Colonización

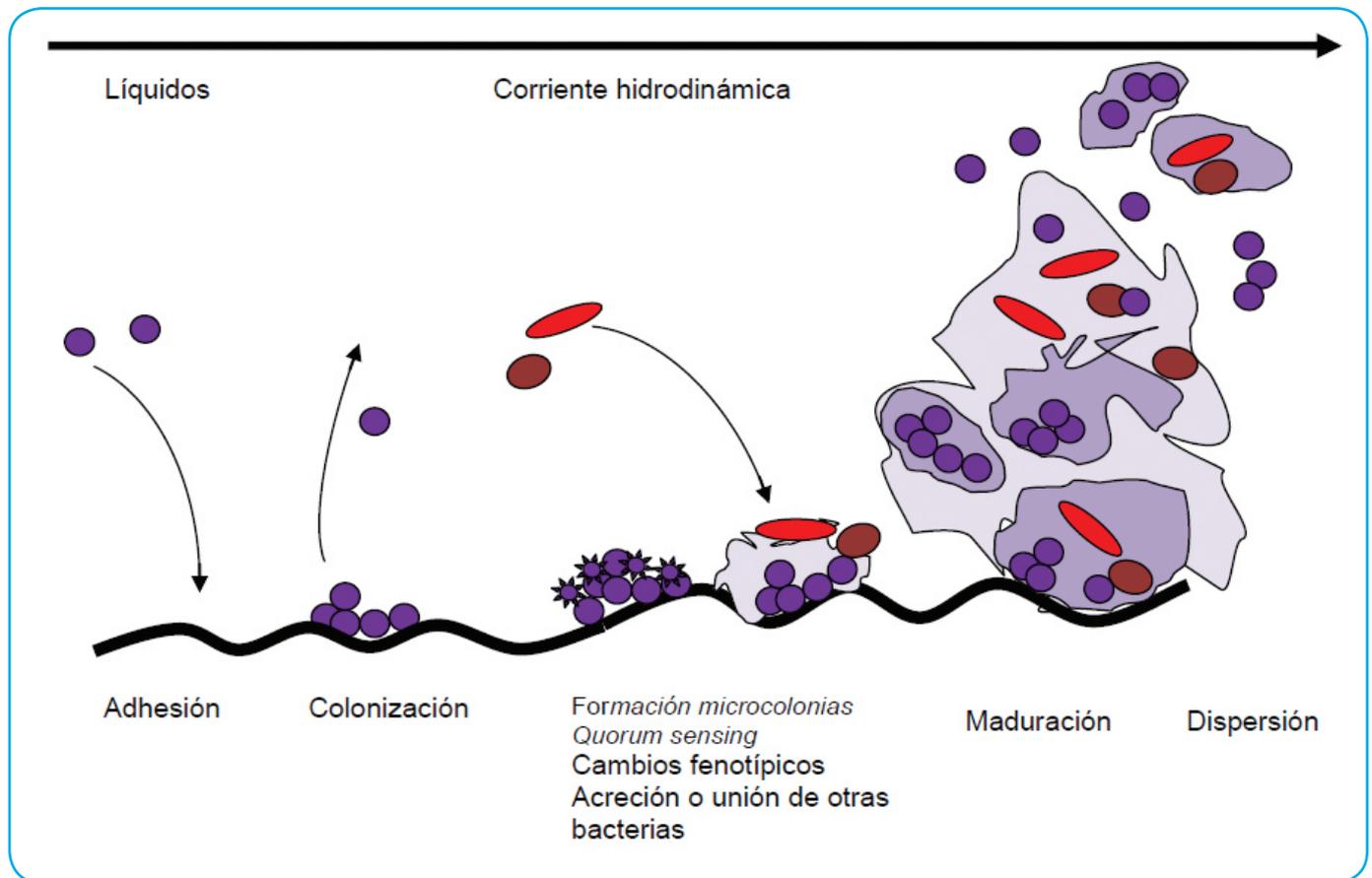


Maduración



Dispersión

Figura 2: Etapas de formación de una biopelícula



Hay bacterias que adhieren más ávidamente que otras y esto puede ser también tiempo dependiente. Pueden expresar diversos factores que facilitan la adherencia de bacterias adicionales. Por ejemplo *Escherichia coli* expresa Ag43 que es una proteína que favorece la autoagregación de bacterias no fimbriadas. Hay interacción intergenérica y esto es bien conocido en la microbiota oral. Esta se puede comparar con lo que ocurre en la vagina (**Fig. 3**)

Una vez que la bacteria se ha adherido a la superficie, comienza a dividirse y las células hijas se extienden alrededor del sitio de unión, formando una microcolonia similar a lo que ocurre durante el proceso de formación de colonias en placas de agar (acumulación 3).

En una etapa posterior la bacteria comienza a secretar un exopolisacárido que constituye la matriz de la biopelícula y forma unas estructuras similares a setas entre las cuales se observa la presencia de canales (maduración 4). La composición del exopolisacárido es diferente en cada bacteria y varía desde alginato en *P. aeruginosa*, celulosa en *S. typhimurium*, un exopolisacárido rico en glucosa y galactosa en *V. cholerae*, *poly-N-acetilglucosamina* en *S. aureus*, etc. Además, estudios recientes han puesto de manifiesto que incluso una misma bacteria, dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentre, puede producir distintos exopolisacáridos como componentes de la matriz de la biopelícula. Así, algunas cepas de *P. aeruginosa* son capaces de producir, además de alginato, un polisacárido rico en glucosa que forma una película en la interfase medio-aire.

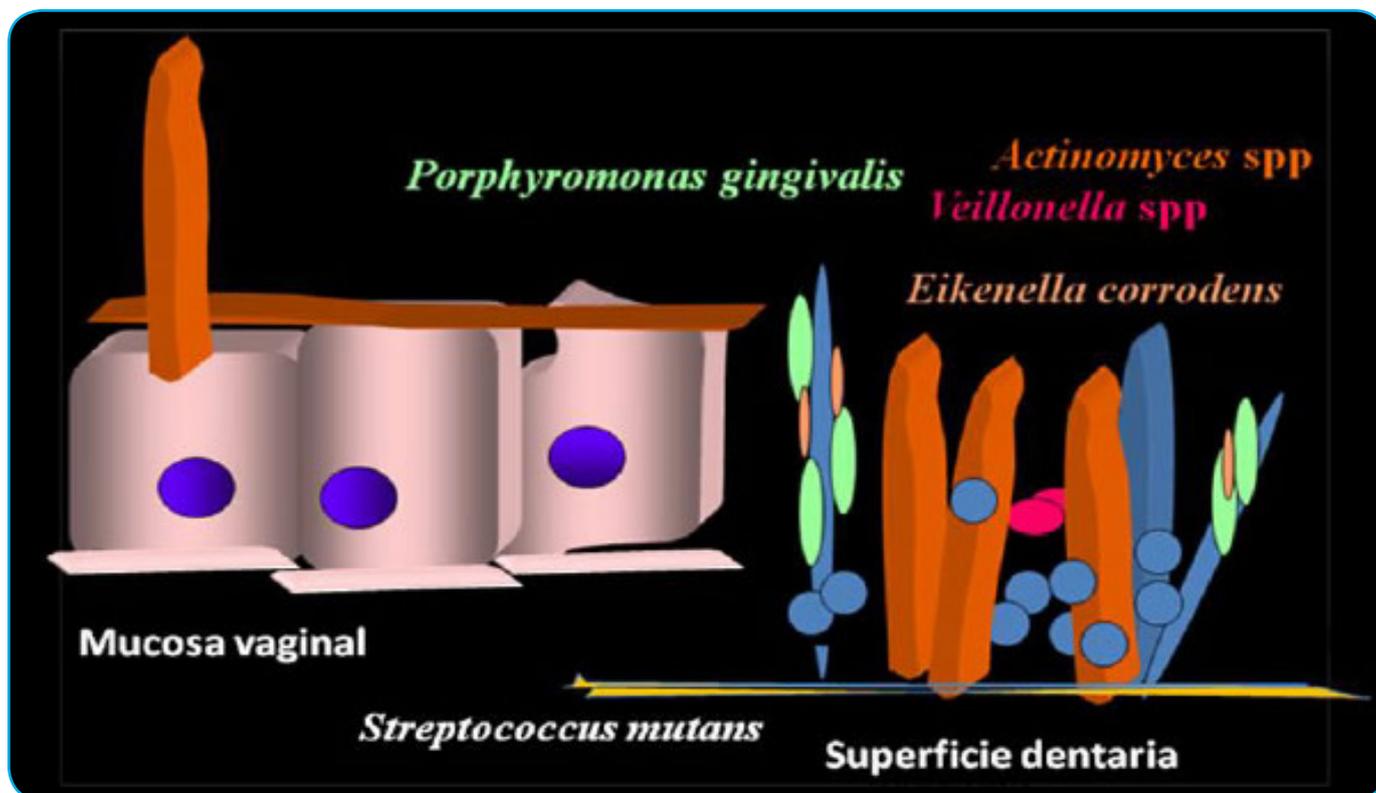


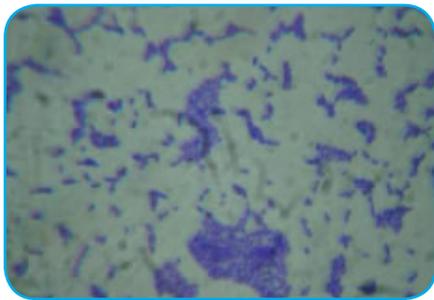
Figura 3. Formación de biopelícula en cavidad oral y vaginal

Finalmente, algunas bacterias de la matriz se liberan de la biopelícula para poder colonizar nuevas superficies cerrando el proceso de desarrollo (dispersión 5).

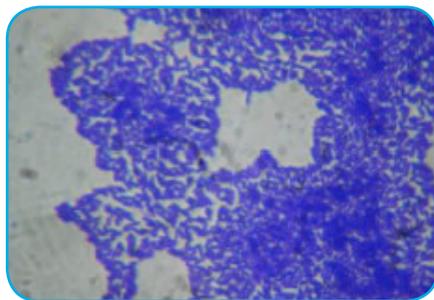
La liberación de las bacterias desde la biopelícula es el proceso que menos se conoce. En el caso de *Staphylococcus aureus* se ha descrito un proceso de variación de fase producido por la inserción reversible de un elemento de inserción (IS256) en el interior del operón (icaA-DBC) responsable de la síntesis del exopolisacárido de la biopelícula. El proceso de inserción del elemento parece ocurrir aleatoriamente en la población con una frecuencia de 10^{-6} y produce bacterias deficientes en la síntesis del exopolisacárido y por tanto deficientes en la formación de la biopelícula. Esto permite a la bacteria mantener un pequeño porcentaje de la población incapaz de sintetizar el exopolisacárido y poder escapar de la biopelícula.

Otra alternativa descrita en *S. aureus* consiste en la obtención de variantes deficientes en la formación de biopelículas debido a la eliminación de una isla de patogenicidad que contiene elementos esenciales para el proceso de formación. En *Actinobacillus actinomycescomitans* se ha descrito una actividad enzimática, denominada **dispersina** que degradan de forma específica el exopolisacárido de la matriz de la biopelícula.

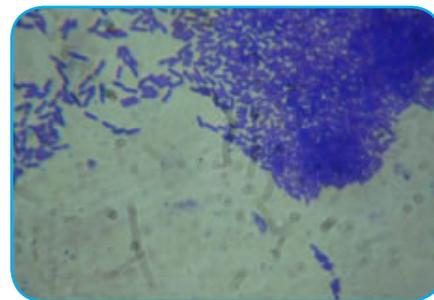
La presencia en distintos genomas de hipotéticas proteínas (**endoglucanasas**), que podrían ser responsables de una función similar, sugiere que la degradación controlada del exopolisacárido puede representar un mecanismo controlado de liberación de bacterias de la biopelícula¹³.



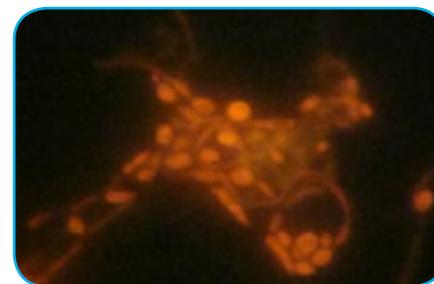
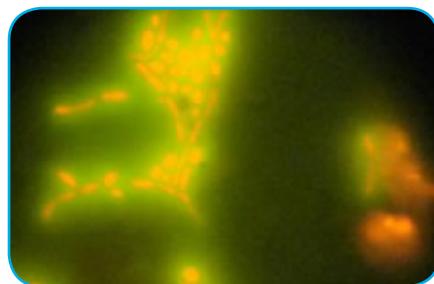
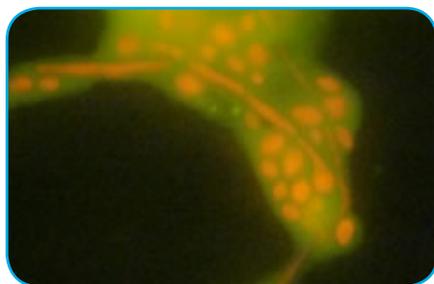
Fotografía 7 (1383): BP de Escherichia coli en su fase inicial o de adherencia (isletas)(cristal violeta)



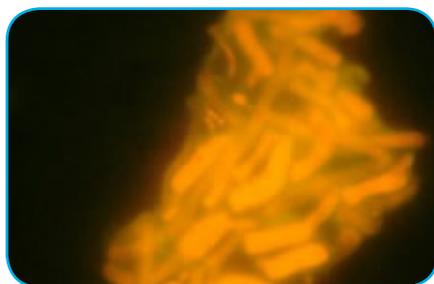
Fotografía 8 (1381): BP de Escherichia coli formada (cristal violeta)



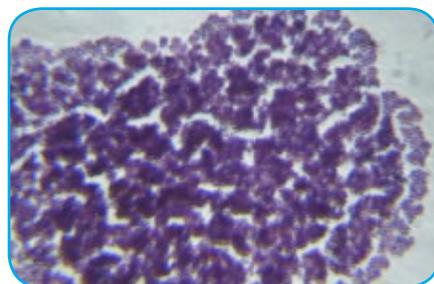
Fotografía 9 (1392): BP de Escherichia coli en su fase de dispersión (cristal violeta)



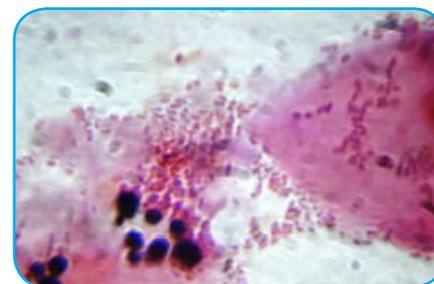
Fotografías 10, 11 y 12: BP de Candida albicans con exopolisacárido (microscopía de fluorescencia con naranja de acridina)



Fotografía 13: BP de Candida glabrata con exopolisacárido (microscopía de fluorescencia con naranja de acridina)



Fotografía 14: BP mixta de Candiada albicans y Escherichia coli (cristal violeta)



Fotografía 15: BP mixta de Candiada albicans y Escherichia coli sobre células epiteliales (Gram)

Como es lógico de pensar, es evidente que la formación de biopelículas obedece a las condiciones del ambiente y se produce como una respuesta a las mismas. Por lo tanto es esperable la presencia de sistemas de fosfotransferasas y por tanto que existan sistemas de fosfotransferencia de dos componentes (*two-component systems*) que transmitan la señal ambiental al interior de la bacteria para adecuar la expresión de genes a la nueva situación ambiental. Hay trabajos que demuestran en *Staphylococcus aureus*, que tiene 16 sistemas de dos componentes, solamente el sistema arIRS y el sistema agr parecen regular negativamente el proceso

de formación del biofilm *in vitro* ¹⁴.

Desarrollaremos sucintamente los temas importantes desde el punto de vista médico en relación con las biopelículas:

- **Como microbiota normal**
- **En materiales implantables y biomateriales**
- **En infecciones**
- **Resistencia a los antimicrobianos**

Luego desarrollaremos estos aspectos en el **tracto genital**.

Biopelículas como microbiota normal

Las bacterias y otros microorganismos pueden vivir de manera planctónica y formando biopelículas.

La forma en que habitualmente estudiamos a los microorganismos en las muestras clínicas destinadas a la investigación etiológica es la planctónica. Sin embargo en el organismo la mayor parte lo hace viviendo como biopelículas. El microbioma humano es una verdadera comunidad ecológica de microorganismos comensales y simbióticos. Los patógenos se agregan desencadenando infecciones y compitiendo con los de la microbiota normal. Actualmente el estudio del microbioma humano es un gran proyecto que depara y deparará a futuro importantes avances en el conocimiento de la fisiopatología de infecciones e inclusive de otros procesos considerados por ahora no infecciosos¹⁵. El estudio del microbioma intestinal es el que hasta ahora ha aportado los mayores conocimientos.

El microbioma parece ser tanto una fuente de salud (en la medida en que mantiene y regula la homeostasia intestinal) como el origen de diferentes enfermedades. En cualquiera de los dos casos es posible inferir que la posibilidad de manipular el microbioma abriría las puertas de todo un nuevo mundo de aproximaciones terapéuticas. Un ejemplo de ello son los probióticos, microorganismos normalmente incluidos en alimentos y llamados a ejercer efectos beneficiosos sobre nuestra fisiología.

Microbioma oral

En contraste con los estudios numerosos sobre la microbiota oral, la estructura de dicha comunidad, incluyendo levaduras y archaeas, ha sido sólo recientemente examinado. Hay muchos procesos locales y sistémicos vinculados a la microbiota oral: formación de la placa dentaria y desarrollo de caries^{16,17}, asociación con el cáncer oral¹⁸, enfermedades cardiovasculares^{19,20}, neumonías²¹, nacimiento de pretérmino²² y diabetes²³.

Microbioma intestinal

La comunidad microbiana intestinal representa una de

las fuentes más importante de diversidad metabólica y genética²⁴. Podemos encontrar tres modelos de simbiosis microbiana – huésped:

- **Competición**
- **Combinación**
- **Cooperación**

Aparte de la simbiosis microorganismo - huésped debemos mencionar la simbiosis microorganismo-microorganismo para lograr el metabolismo de ciertos compuestos. Las bacterias del tracto digestivo requieren carbohidratos como nitrógeno para crecer en forma óptima. Para permitir la obtención máxima las bacterias podrían funcionar sincrónicamente. Esto ha sido bien estudiado en relación con las bacterias celulolíticas en rumiantes²⁵.

Recordemos que la microbiota intestinal es la más afectada posiblemente con el uso de antimicrobianos que se eliminan por vía digestiva sin metabolizarse. La presión de selección es notable y los microorganismos resistentes seleccionados se diseminan luego al ambiente.

También es interesante destacar que el mucus y posiblemente el exopolisacárido de las BP permita el atrapamiento de los bacteriófagos. Esta hipótesis denominada BAM (bacteriophage adhering to mucus) sugiere un único componente del sistema inmune animal gobernado por una interacción mutualista entre diferentes reinos, tal como propone Barr y cols.²⁷. **(Figura 4)**

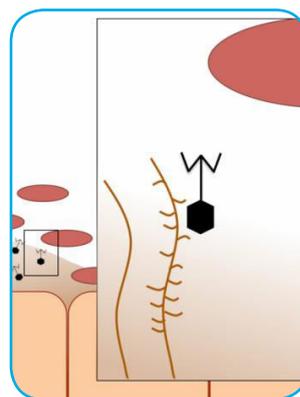


Figura 4: bacteriófago atrapado en material mucoso (adoptado de Meyer)²⁶

Microbioma vaginal

Aunque normalmente se asocian las biopelículas con procesos infecciosos, es necesario señalar que pueden tener también papel protector, tal como vimos que ocurre en el intestino. También en la vagina se puede observar que las biopelículas de lactobacilos presentes en la vagina producen ácido láctico que disminuyen el pH vaginal y previenen de esa manera la colonización por microorganismos patógenos ²⁸.

Microbioma de la piel

Diversas comunidades bacterianas vive en la piel humana. Estas son complejas y varían de acuerdo a la localización corporal, de acuerdo al clima, entre individuos y entre regiones geográficas.

Los estudios que se efectúan son generalmente basados en cultivos mediante tomas de contacto.

Por eso es que se conoce poco acerca de las comunidades en biopelículas y el comportamiento de los patógenos, ya que se dispersan en el momento de efectuar el muestreo clínico. La humedad, temperatura, pH y exposición a la luz ultravioleta son factores conocidos que afectan a la comunidad bacteriana de la piel. En estudios en los que se emplearon técnicas moleculares encontraron diferencias notables entre deportistas de acuerdo a su lugar de origen y hábitos sociales, hecho que no se hubiese detectado posiblemente recurriendo a las técnicas habituales²⁹.

Biopelículas en materiales implantables y biomateriales

La formación de biopelícula, en los diferentes dispositivos, como catéteres vasculares o sondas vesicales es muy elevada. La incidencia de infección en los mismos es de 5-15 por 1000 días de uso, dependiendo del área de hospitalización que se analice (unidad de quemados, cuidados intensivos médicos o quirúrgicos, o salas de

ingreso convencional). A este elevado número de infecciones hay que sumar las infecciones relacionadas con otros biomateriales empleados cada vez con mayor frecuencia, como las prótesis articulares, válvulas cardíacas, prótesis mamarias, o derivaciones ventrículo-peritoneales. Los costos derivados de estas infecciones suelen ser muy importantes^{30,31}.

La cirugía e implantación de biomateriales desorganizan la respuesta del huésped y los mecanismos inmunes. Las superficies de los biomateriales y las partículas debridadas aumentan la susceptibilidad a la infección, activan las defensas del huésped y estimulan la liberación de mediadores inflamatorios, citoquinas, radicales de oxígeno, y enzimas lisosomales, resultando en daño tisular e inflamación crónica ³².

El daño tisular puede ser posteriormente agravado por actividades bacterianas y toxinas. El exopolisacárido bacteriano también causa perturbación de la respuesta del huésped. El exopolisacárido de *S. epidermidis* parece inhibir la blastogénesis de las células B y T, la quimiotaxis de leucocitos, opsonización, quimioluminiscencia y aumentar la virulencia en ratones. Además, en presencia de implantes poliméricos colocados en cavidades peritoneales, los neutrófilos exhiben un potencial bactericida y fagocítico disminuido y una producción de superóxido reducida.

Los microorganismos pueden colonizar la prótesis en el momento de su colocación, por inoculación directa durante la manipulación del tejido o el implante o por contaminación aérea de la herida; y después del implante, por diseminación hematogena, durante una bacteriemia o por extensión directa, a partir de un foco adyacente de infección.

Estrategias para bloquear o dispersar las biopelículas en catéteres e implantes

El tratamiento antibiótico sistémico en general no consigue la erradicación del biofilm pero en general se debe implantar para destruir las bacterias que pasan al torrente circulatorio.

En los casos de los catéteres la retirada del catéter es el tratamiento más efectivo; en los casos de los catéteres intravenosos tunelizados se recomienda un tratamiento denominado de sellado antibiótico, que consiste en instilar en el interior del catéter una solución de anticoagulante (heparina o EDTA) y antibiótico a una concentración entre 100 y 1.000 veces mayor que la concentración mínima inhibitoria del microorganismo responsable de la infección asociada a catéter, durante al menos 8 horas diarias a lo largo de 10-14 días³³. El uso de catéteres impregnados con antimicrobianos o antiinfecciosos ha sido otra estrategia aunque su eficiencia está en discusión³⁴.

Se han ensayado diversos métodos para erradicar las biopelículas de los mismos. Uno de los preconizados actualmente es una combinación de trinitrato de glicerina (TNG) con citrato y etanol que demostró una erradicación rápida de *Staphylococcus aureus* y *epidermidis meticilino resistentes*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* en un modelo in vitro para el estudio de la colonización en catéteres³⁵.

Dado que un número muy elevado de infecciones asociadas a implantes están causadas por bacterias gram positivas del género estafilococo, vancomicina y teicoplanina son los antibióticos de primera elección para el tratamiento de estas infecciones. Sin embargo, muy pocas infecciones asociadas a implante resuelven satisfactoriamente, y la recurrencia es muy común.

Nosotros estudiamos la actividad de las concentraciones CIM y sub-CIM de vancomicina sobre *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* y de ciprofloxacina sobre *Pseudomonas aeruginosa* en un diseño experimental de biopelículas y comprobamos que las concentraciones subinhibitorias no detienen la formación de las mismas y sólo la retardan considerablemente. Esto es de suma importancia al considerar el tratamiento antimicrobiano de pacientes con infecciones relacionadas a la formación de estas películas biológicas en dispositivos médicos diversos^{36,37}.

Biopelículas en infecciones

Son numerosas las infecciones que se asocian al desarrollo de biopelículas³⁸. Hay varias etapas en estos procesos:

- **Colonización de sustratos por bacterias adhesivas formadoras de biopelículas.**
- **Resistencia mediada por el biofilm bacteriano a los mecanismos de defensa del huésped y a la terapia antibiótica.**
- **Infecciones causadas con mucha frecuencia por *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa*.**
- **Infecciones persistentes por resistencia al tratamiento antimicrobiano.**
- **Presencia de inflamación, tejido celular dañado**

Se describen en rinosinusitis³⁹, en la fibrosis quística⁴⁰ y en otras patologías del tracto respiratorio, como también, según ya mencionáramos en las infecciones orales como la placa dental y gingivitis⁴¹.

Hay también infecciones derivadas de los catéteres y los implantes de diferente naturaleza.

Una infección para destacar es la que se puede producir con el uso muy frecuente de lentes de contacto^{42,43}.

En el tracto urogenital se observan en prostatitis⁴⁴, infecciones urinarias⁴⁵ y en el tracto genital femenino al cual nos referiremos luego.

Biopelículas y resistencia a los antimicrobianos

La característica que mejor distingue las infecciones crónicas relacionadas con biofilms de las infecciones agudas es su respuesta a tratamientos antibióticos. Hoy podríamos considerar a estas BP como un mecanismo agregado a los clásicamente descritos en la resistencia a los antimicrobianos: producción de enzimas inactivantes, alteración del sitio diana o blanco, impermeabilidad y eflujo. Se debe a que las bacterias del biofilm pueden ser hasta 1.000 veces más resistentes a los antibióticos que esas mismas bacterias crecidas en medio líquido^{46,47}.

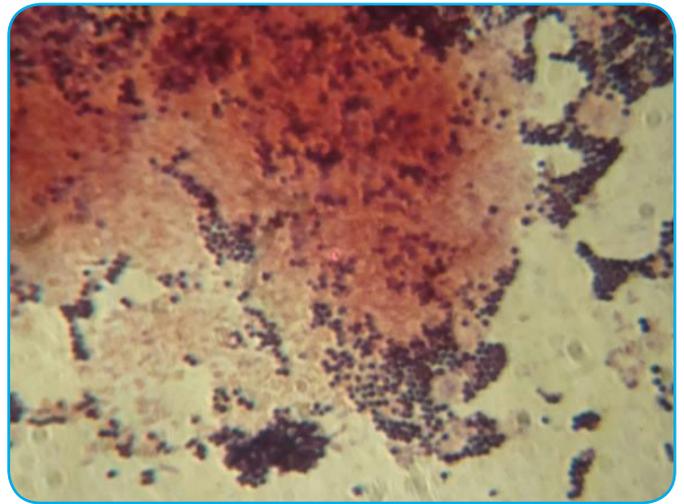
Las razones barajadas incluyen:

- **La barrera de difusión física y química a la penetración de los antimicrobianos que constituye la matriz de exopolisacáridos.**
- **El crecimiento ralentizado de las bacterias debido a la limitación de nutrientes.**
- **La existencia de microambientes que antagonizan con la acción del antibiótico.**
- **La activación de respuestas de estrés que provocan cambios en la fisiología de la bacteria y la aparición de un fenotipo específico de la biopelícula que activamente combata los efectos negativos de las sustancias antimicrobianas.**

También se produce un mayor intercambio genético debido a la proximidad de los microorganismos^{48,49}. Las señales o quórum sensing extensamente descritas en las bacterias gram negativas, también se observa este sistema en la formación y resistencia de las bacterias grampositivas⁵⁰.

Biopelículas en el tracto genital femenino

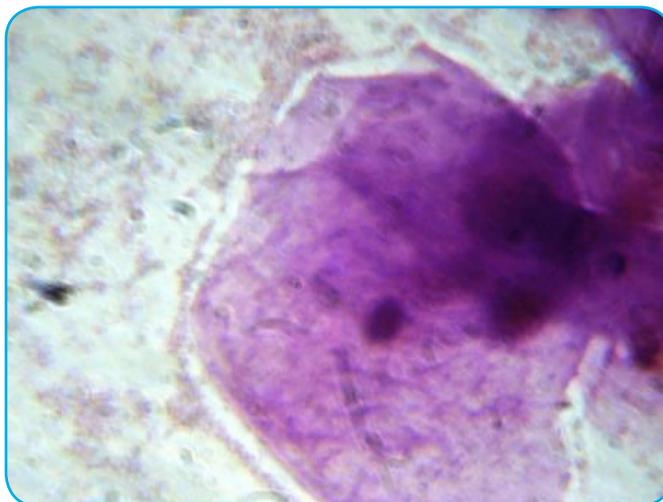
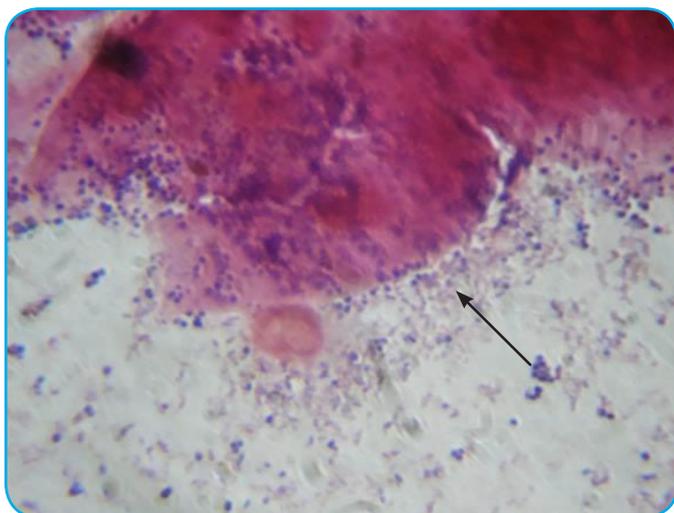
Las biopelículas en el tracto genital inferior (TGI) juegan un rol importante en la durante la edad reproductiva de la mujer. Estudiamos mujeres sin patología y con infecciones endógenas del tracto genital inferior. Pudimos comprobar que los cocos gram positivos inician la formación de la BP en las mujeres sin infecciones, con candidiasis vulvovaginal (CVV) y en las vaginosis bacteriana (VB). Llama la atención esta característica pues *Lactobacillus spp* son los microorganismos preponderantes en la microbiota vaginal. Esta dinámica puede contribuir al desplazamiento de los lactobacilos en condiciones de estrés ocasionado por cualquier perturbación ambiental, endócrina o inmunológica, facilitando su reemplazo por otros microorganismos como ocurre en la VB^{51,52}.



Fotografía 16: cocos gran positivos iniciando la formación de una biopelícula vaginal

También estudiamos la actividad del estradiol sobre estas biopelículas y nuestras observaciones sugieren que los estrógenos pueden actuar en forma dual, es decir como promotores o inhibidores de las biopelículas vaginales. Podrían modificar la adherencia bacteriana o de levaduras por alteración de las adhesinas o los receptores en las células epiteliales. La disrupción de y desprendimiento que se observa en los casos de VB es un factor importante a ser considerado para propósitos terapéuticos pero también puede facilitar la diseminación de la microbiota alterada aunque se conoce poco sobre este mecanismo⁵³. La biopelícula de *Lactobacillus spp* crece lentamente en presencia del estradiol y es no coincidente con lo que ocurre con los lactobacilos en estado planctónico y el estrógeno se incrementa en situaciones biológicas.

En cuanto a la presencia de biopelículas de *Escherichia coli* observamos in vitro inhibición y disrupción que justificaría el uso de estrógenos locales en mujeres posmenopáusicas con infecciones del tracto urinario⁵⁴.



Fotografías 17 y 18: desprendimiento en bloque de la biopelícula en un caso de vaginosis bacteriana

Cuando se estudia simultáneamente las biopelículas vaginales y endocervicales en mujeres sin y con infecciones endógenas, llama la atención la diferencia entre ambas condiciones. Se forman biopelículas de *Enterococcus* y otras especies de *Streptococcus* y *Satphylococcus* en el endocervix del 84.6% de mujeres con infecciones vaginales y en el 66.6% de las mujeres sin infecciones vaginales y en cuyas microbiotas no se observan ni se recuperan significativamente.

Esto constituye un riesgo ya que los microorganismos de dicha biopelícula endocervical pueden iniciar una infección del tracto genital superior (ITGS). En las mujeres con VB, este riesgo se suma al de la VB y cabe preguntarse si las complicaciones derivadas de la misma en la gestación no son el producto de dicho comportamiento. En las mujeres sin infecciones, las biopelículas de cocos gran positivos también pueden ser un riesgo atendible, en el momento de efectuar maniobras instrumentales, para el desarrollo de una ITGS ^{55, 56}.

El dispositivo intrauterino es también un blanco perfecto para el desarrollo de las biopelículas. Es posible que la presencia de cobre en los que poseen este metal en su estructura inhiba el desarrollo de las comunidades microbianas. Sin embargo pudimos demostrar que en los dispositivos colocados por más de un año la presen-

cia de una película integrada por macrófagos y bacterias ⁵⁷.

Auler y cols relacionaron la candidiasis vulvovaginal recurrente con la presencia de **dispositivos intrauterinos**. *Candida albicans* fue recuperada de los mismos y se encontró que los aislamientos eran sensibles a los agentes antimicóticos (fluconazol y anfotericina) cuando se ensayaba en condiciones de crecimiento planctónico ⁵⁸.

Todos los esfuerzos dirigidos a la identificación de genes que sean necesarios para la formación del biofilm, la búsqueda de enzimas capaces de degradar específicamente la matriz polisacáridica del biofilm, métodos físicos como ultrasonidos que perturben la estabilidad de la matriz o los estudios dirigidos a descifrar los patrones de expresión génica entre las bacterias plactónicas y las bacterias del biofilm deben de ser considerados como fuente de posibles estrategias que nos ayudarán a comprender y combatir mejor las infecciones producidas por las biopelículas bacterianas, micóticas o mixtas ⁵⁹.

BIBLIOGRAFIA

1. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 711-745.
2. Sutherland I. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology* 2001; 147: 3-9.
3. Branda SS, Vik S, Friedman L, Kolter R. Biofilms: the matrix revisited. *Trends Microbiol* 2005; 13: 20-26.
4. Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64: 847-867.
5. Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 2002; 56: 187-209.
6. Jefferson K, Goldman D and Pier G Use of Confocal Microscopy To Analyze the Rate of Vancomycin Penetration through *Staphylococcus aureus* Biofilms *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005 ; 49:6 2467-2473
7. Cucarella C, Solano C, Valle J, Amorena B, Lasa I, Penades JR. Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. *J Bacteriol* 2001; 183: 2888-2896.
8. Toledo-Arana A, Valle J, Solano C, Arrizubieta MJ, Cucarella J, Lamata M et al. The enterococcal surface protein, Esp, is involved in *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67: 4538-4545.
- 9-Yarwood, J. M., D. J. Bartels, E. M. Volper, and E. P. Greenberg.. Quorum sensing in *Staphylococcus aureus* biofilms. *J. Bacteriol.* 2004; 186:1838-1850.
10. Wu H, Song Z, Hentzer M et al. Synthetic furanones inhibit quorum-sensing and enhance bacterial clearance in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in mice. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 1054-1061.
11. Hume EB, Baveja J, Muir B, Schubert TL, Kumar N, Kjelleberg S et al. The control of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and in vivo infection rates by covalently bound furanones. *Biomaterials* 2004; 25: 5023-5030.
- 12-Balaban N, Cirioni O, Giacometti A, Ghiselli R , Silvestri C, Braunstein J, Mocchegiani F, Saba V, Scalise G. Treatment of *Staphylococcus aureus* Biofilm Infection by the Quorum-Sensing Inhibitor RIP *Antimicrob. Agents Chemother* 2007; 51: 2226-2229
- 13-Kaplan JB, Raganath C, Ramasubbu N, Fine DH. Detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* biofilm cells by an endogenous beta-hexosaminidase activity. *J Bacteriol* 2003; 185: 4693-4698.
- 14-Xudong Liang, Li Zheng, Christina Landwehr, Dwayne Lunsford, David Holmes, and Yinduo Ji Global Regulation of Gene Expression by ArlRS, a Two-Component Signal Transduction Regulatory System of *Staphylococcus aureus* *J. Bacteriol.* 2005; 187: 5486-5492
- 15-Wilson M. Bacterial biofilms and human disease. *Sci Prog* 2001; 84: 235-254.
- 16-JN Kim, MJ Stanhope, RA Burne Core-Gene-Encoded Peptide Regulating Virulence-Associated Traits in *Streptococcus mutans* *J. Bacteriol.* 2013 195: 2912-2920
- 17- Kidd EAM, Fejerskov O. What Constitutes Dental Caries? Histopathology of Carious Enamel and Dentin Related to the Action of Cariogenic Biofilms *J Dent Res* 2004 83: C35-C38
- 18- K.N. Nagy I. Sonkodi, I. Szöke, E. Nagy, H.N. Newman The microflora associated with human oral carcinomas, *Oral Oncology*.1998; 34:304-330
- 19-M. Morado Pinho, R. Faria-Almeida, E. Azevedo, M. Conceição Manso and L. Martins. Periodontitis and atherosclerosis: an observational study. *Journal of Periodontal Research* 2013; 48: 452-457
- 20-T Ohki, Y Itabashi, T Kohno, A Yoshizawa, S Nishikubo, S Watanabe, G Yamane and K Ishihara. Detection of periodontal bacteria in thrombi of patients with acute myocardial infarction by polymerase chain reaction. *American Heart Journal* 2012; 163:164-167
- 21- El-Solh A, Pietrantonio C, Bhat A, Okada M, Zambon J, Aquilina A, Barbary E: Colonization of dental plaques: A reservoir of respiratory pathogens for hospital-acquired pneumonia in institutionalized elders. *Chest* 2004, 126:1575-1582.
- 22- Michalowicz, B Hodges J , DiAngelis AJ , Lupo V, Novak J, Ferguson J, Buchanan W, Boffill J, Papananou P, Dennis A, Mitchell DA, Stephen Matseoane S, M.D., Tschida PA for the OPT Study Treatment of Periodontal Disease and the Risk of Preterm Birth *N Engl J Med* 2006; 355:1885-1894
- 23- Panagiotis A. Koromantzos PA, Makrilakis K , Dereka, Vrotsos I and Madianos PN . Effect of Non-Surgical Periodontal Therapy on C-Reactive Protein, Oxidative Stress, and Matrix Metalloproteinase (MMP)-9 and MMP-2 Levels in Patients With Type 2 Diabetes: A Randomized Controlled Study. *Journal of Periodontology* 2012; 83:1, 3-10
- 24- Backhed F, Ley R, Sonnenburg J, Peterson D, Gordon J Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine *Science* 2005 , 307: 1915-1920
- 25-García B, Latasa C, Solano C, Portillo FG, Gamazo C, Lasa I. Role of the GGDEF protein family in *Salmonella* cellulose biosynthesis and biofilm formation. *Mol Microbiol* 2004; 54: 264-277.
- 26- Meyer JR. Sticky bacteriophage protect animal cells *Proc Natl Acad Sci* 2013, 110: 10475–10476
- 27-Barr JJ, et al. Bacteriophage adhering to mucus provide a non-host-derived immunity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013. 110:10771–10776
- 28-Aagaard K, Riehle K, Ma J, Segata N, Mistretta T-A, et al. A Metagenomic Approach to Characterization of the Vaginal Microbiome Signature in Pregnancy. *PLoS ONE* 2012; 7(6): e36466. doi:10.1371/journal.pone.0036466
- 29- Elizabeth A. Grice & Julia A. Segre. The skin microbiome *Nature Reviews Microbiology*; 2011, 9: 244-253
- 30-. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284: 1318-1322.
- 31-Costerton JW, Stewart PS. Biofilms and device-related infections. En: Nataro JP, Blaser MJ, Cunningham-Rundles S, eds. *Persistent Bacterial Infections*. Washington: American Society of Microbiology 2000: 423-439
- 32-Gristina AG. Biofilms and chronic bacterial infections. *Clin Microbiol Newsletter* 1994; 16: 171-178.
- 33-Messing B. Catheter-sepsis during home parenteral nutrition: use of the antibiotic-lock technique. *Nutrition* 1998; 14: 466-468.
34. Ehrlich GD, Ze Hu F, Lin A, Costerton JW, Post JC. Intelligent implants to battle biofilms. *ASM News* 2004; 70: 127-133.
- 35- Joel Rosenblatt, Ruth Reitzel, Tanya Dvorak, Ying Jiang, Ray Y. Hachem, Issam I. Raa Glyceryl Trinitrate Complements Citrate and Ethanol in a Novel Antimicrobial Catheter Lock Solution To Eradicate Biofilm Organisms *Antimicrob. Agents Chemother.*2013,57:3555-3560
- 36-Farinati A., Lopez, S.; Morgillo, P.; Rodríguez Estoup, V.; Vazquez, G Dispositivos médicos, biopelículas y concentración antimicrobiana *Soc Arg Infect.* 2009
- 37-Farinati A., Lopez, S.; Morgillo, P.; Rodríguez Estoup, V.; Vazquez, G. Actividad subinhibitoria de antimicrobianos en el desarrollo experimental de biopelículas *Asoc.Panam. Infect.* 2009
- 38- Wilson M. Bacterial biofilms and human disease. *Sci Prog* 2001; 84: 235-254
- 39-Sanclement J, Webster P, Thomas J, Ramadan H "Bacterial biofilms in surgical specimens of patients with chronic rhinosinusitis". *Laryngoscope* 2005. 115 : 578–82.
- 40-Niels Høiby, Oana Ciofu, Thomas Bjarnsholt *Pseudomonas Aeruginosa* Biofilms in Cystic Fibrosis. *Future Microbiol.* 2010;5: 1663-1674.
- 41-Augustin Mihai, Carmen Balotescu-Chifiriuc, Veronica Lazar, Ruxandra Stanescu, Mihai Burlibas, Dana Catrinel Ispas. Microbial biofilms in dental medicine in reference to implant-prosthetic rehabilitation". *Revista de chirurgie oro-maxilo-faciali implantologie* 2010; 1:9–13.
- 42-Wu, Yvonne T; Zhu, Hua; Harmis, Najat Y; Iskandar, Shamil Y; Willcox, Mark; Stapleton, Fiona Profile and Frequency of Microbial Contamination of Contact Lens Cases *Optometry & Vision Science* 2010; 87: E152-E158
- 43-Arcos M; Farinati A.; Santanlucia M.; Di Luca T. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Adhesion and Dispersion on lenses under Ketorolac Influence: in vitro study *Eurobiofilm* , 2013, Bélgica
- 44-Sojun Kanamaru, Hisao Kurazono, Akito Terai, Koichi Monden, Hiromi Kumon, Yoshimitsu Mizunoe, Osamu Ogawa, Shingo Yamamoto Increased biofilm formation in *Escherichia coli* isolated from acute prostatitis *Internat J Antimicrob Ag* ,2006, 28, Supp1: 21–25
- 45-S.M. Soto, A. Smithson, J.A. Martinez, J.P. Horcajada, J. Mensa, J. Vila *Biofilm Formation in Uropathogenic Escherichia coli* Strains: Relationship With Prostatitis, Urovirulence Factors and Antimicrobial Resistance *J Urol.* 2007; 177, 365-368
- 46-Mah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol* 2001; 9: 34-39.
- 47-Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001; 358: 135-138.
- 48-Cvitkovitch D. G., Gutierrez J. A., Behari J., Youngman P. J., Wetz J. E., Crowley P. J., Hillman J. D., Brady L. J., Bleiweis A. S. Tn917-lac mutagenesis of *Streptococcus mutans* to identify environmentally regulated genes *FEMS Microbiol.* 2000 Lett. 182:149–154.
- 49-B. Y. Wang, B. Chi, H. K. Kuramitsu Genetic exchange between *Treponema denticola* and *Streptococcus gordonii* in biofilms *Oral Microbiol Immunol* 2002; 17:108-112
- 50-Suntharalingam P, Cvitkovitch D Quorum sensing in streptococcal biofilm formation *Trends in microbiology*, 2005; 13:3-6
- 51-Farinati A., Marques M., Orsini A. Vaginal biofilm (VBF) dynamic from normal to the endogenous infections: in vitro study in sexually active women (SAW) *Eurobiofilm* 2013, Bélgica
- 52-Farinati A, Miquelarena A, Tajan G, Vazquez G. Biofilms developed in vitro of Vaginal Microbiota from Sexually Active Women 2010-A-1689-ASM-ICAAC.
- 53-Farinati A, Marqués M , Sibert L, Troncoso A , Orsini A. Estradiol Hemisuccinate (EH) activity in vitro on Vaginal Microbiota *Biofilm* 2011-A-1159-ASM-ICAAC
- 54- Farinati A, Marqués M , Sibert L, Troncoso A , Orsini A *Biopelículas vaginales normales y patológicas bajo la influencia del hemisuccinato de estradiol SOGIBA 7*, 2011
- 55- Endocervical Biofilms in Pregnant and Non Pregnant Women with and without Endogenous Genital Tract Infections (EGI): in vitro study 2013-A-1539-ASM-ICAAC
- 56-Farinati A, Semeshchenko D, Orsini A *Biopelículas vaginales (BPV) y endocervicales (BPC) en mujeres con y sin infecciones vaginales: estudio in vitro SOGIBA 0119*, 2011
- 57-Farinati A y cols .Detección de biopelículas en dispositivos intrauterinos (Com. Personal)
- 58- Auler ME, Morreira D, Rodrigues FF, et al. Biofilm formation on intrauterine devices in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis". *Medical Mycology*; 2009; 1–6.
- 59- Lasa I, del Pozo J. L., Penadés J. R., Leiva J. Biofilms bacterianos e infección. *Anales Sis San Navarra* 2005, 28; 2

La información aquí presentada es responsabilidad de la autora y sólo pretende ser una guía para el desarrollo de la actividad diaria.

Britania[▲]

Los Patos 2175 | Ciudad Autónoma de Buenos Aires |
ABI1283 | República Argentina

Teléfonos
54-11-4306-0041 (rotativa)
0800-333-HEMO (4366)
Fax: 54-11-4306-0046

Mail
info@britannialab.com

Web
[www. britnialab.com](http://www.britnialab.com)