

BACTERIAS-BIOFILMS Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

BACTERIAL BIOFILMS AND ANTIBIOTIC RESISTANCE

Liliana Caldas Arias*

RESUMEN

Los biofilms otorgan a las bacterias que las producen, ventajas micro-medio ambientales significativas que les confiere además protección frente a los antimicrobianos. Las bacterias-biofilms hacen resistencia a los antibióticos por mecanismos convencionales e inusuales, conducen al retardo en la cicatrización de heridas, al incremento de infecciones recurrentes, crónicas e intrahospitalarias por contaminación de dispositivos médicos. **Objetivo:** esta revisión narrativa tiene como propósito dar a conocer las características de las bacterias-biofilms, sus mecanismos de resistencia antimicrobiana y las potenciales alternativas de prevención y control. **Métodos:** revisión narrativa. La estrategia de búsqueda se realizó en PubMed/ Medline, Lilacs y Redalyc con los proveedores EBSCO. Se empleó los tesauros MeSH y DeCS. **Conclusiones:** es importante la necesidad de profundizar en el conocimiento e investigación del funcionamiento de las bacterias-biofilm, en la búsqueda de tecnología para su detección y medición de la sensibilidad frente a los antibióticos, teniendo en cuenta que la identificación de estas asociaciones microbianas se aleja del diagnóstico microbiológico tradicional.

PALABRAS CLAVES: Biofilms, bacterias, resistencia, antibacterianos.

Historia del artículo:

Fecha de recepción: 15/01/2015.

Fecha de aceptación: 17/03/2015.

ABSTRACT

Biofilms give to bacteria micro-environmental benefits; confers protection against antimicrobials. Bacteria have antibiotic resistance by conventional and unusual mechanisms leading to delayed wound healing, to increase recurrent chronic infections and nosocomial contamination of medical devices. **Objective:** This narrative review aims to introduce the characteristics of Bacteria-biofilms, antimicrobial resistance mechanisms and potential alternatives for prevention and control of its formation. **Methods:** Search strategy was performed on records: PubMed / Medline, Lilacs, Redalyc; with suppliers such as EBSCO and thesaurus MeSH and DeCS. **Conclusions:** Knowledge and research performance of biofilm bacteria are relevant in the search of technology for detection and measuring sensitivity to antibiotics. The identification of Bacterial-biofilms needs no-traditional microbiological diagnosis.

KEY WORDS: Biofilms, bacteria resistance, antibacterial.

* Universidad del Cauca. Facultad Ciencias de la Salud. Bacterióloga, Maestría en Microbiología, Profesora Departamento Medicina Interna

Correspondencia: Liliana Caldas Arias. Laboratorio de Microbiología. Tercer piso Facultad Ciencias de la Salud. Universidad del Cauca, Popayán, Cauca, Colombia

Correo electrónico: lcaldas@unicauca.edu.co. Teléfono 8209800 extensión 2729

INTRODUCCIÓN

Los biofilms bacterianos fueron descubiertos sobre superficies dentales en el siglo XVII por Antony Van Leeuwenhoek; tres siglos después, en los años 70, Characklis y Marshall, re-describieron los biofilms y posteriormente en 1995, Costerton y colaboradores observaron que las comunidades de bacterias se encontraban encerradas en una matriz de polisacáridos que mediaba la adhesión a superficies vivas o inertes; al mismo tiempo, Costerton y Lappin-Scott, afirmaron que la producción de los componentes necesarios para la adhesión y la formación de biofilm, estaba regulada por genes específicos (1, 5).

Donlan en 2002, definió el biofilm como “una comunidad microbiana sésil, caracterizada por células que están adheridas irreversiblemente a un sustrato o interfase, o unas con otras, encerradas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que ellas producen, y exhiben un fenotipo alterado en relación con la tasa de crecimiento y transcripción génica” (1, 6).

Los avances en la investigación sobre bacterias-biofilms han permitido identificar los genes que ellas expresan bajo esta forma de asociación, situación que les confiere mayor resistencia a los antimicrobianos y a la respuesta inmune del hospedero siendo notables las diferencias en cuanto a susceptibilidad a los agentes antimicrobianos con respecto a las bacterias planctónicas (1, 5, 7).

Los datos estadísticos para el año 2008 en Estados Unidos, reflejan la importancia de los biofilms como fuente de infecciones reportándose 99.000 muertes al año y 1.7 millones de procesos infecciosos asociados a biofilms; en la Unión Europea se informaron 50.000 muertes al año y 3 millones de pacientes con infecciones en las vías urinarias (32%), diversos sitios infectados (22%), neumonías (15%) y septicemias (14%). En las infecciones intrahospitalarias, aquellas derivadas de catéteres, son infectados por biofilms (8).

El Instituto Nacional de Salud de Colombia en el 2014, realizó un análisis estadístico discriminado por tipo de infección y tipo de unidad de cuidado intensivo, encontrándose amplia variabilidad en el comportamiento de los eventos, razón por la cual se consideró la necesidad de implementar y estandarizar la vigilancia a nivel nacional para la prevención y control de las Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS). Sin embargo, la información resultante aunque menciona la presencia de los biofilms, no los incluye específicamente como causa de las infecciones asociadas a los dispositivos médicos (9).

De esta manera, dada la relevancia que ha tomado el tema en la infectología, el objetivo de esta revisión narrativa es dar a conocer las características de las bacterias-biofilms, los mecanismos que utilizan para resistir la terapia antimicrobiana y potenciales alternativas de prevención y control.

BACTERIAS-BIOFILMS

1. Estructura Del Biofilm

En la naturaleza se postula que el 99% de las bacterias se encuentran en estado biofilms y tan solo el 1% vive en estado individual o plactónico (1).

El biofilm se define como una comunidad estructurada de bacterias que crecen envueltas en una matriz de exopolisacáridos, la cual les permite unirse prácticamente a cualquier superficie como metal, plástico, suelo, implantes médicos y más significativamente al tejido humano. El biofilm pueden formarse en agua, sangre o cualquier ambiente pero, su adhesión a una superficie húmeda finalmente es de carácter irreversible. Además, las bacterias en condición biofilm de múltiples microorganismos, se pueden beneficiar de los polímeros producidos por otras especies, mejorando así su supervivencia en condiciones tóxicas, como por ejemplo en ambientes con tratamientos con antimicrobianos o desinfectantes (1, 2, 6, 10, 12).

El biofilm bacteriano básicamente está conformado por tres componentes (8,11):

1. Masa de células bacterianas: constituye la parte sólida del biofilm, en un 15-20%; puede estar formada por una o varias especies bacterianas o por múltiples microorganismos como hongos, algas y protozoos (12).

2. Espacios intercelulares o canales: las microcolonias bacterianas dentro del biofilm están separadas por una red de canales de agua que actúan como medio de transporte, remoción de desechos y tránsito de nutrientes y oxígeno hacia las zonas más profundas. Dentro del biofilm se encuentran ambientes en los que la concentración de nutrientes, pH u oxígeno son diferentes a su parte más externa; circunstancia que aumenta la heterogeneidad fisiológica de las bacterias-biofilm. De igual manera, estos espacios intercelulares permiten que los biofilms presenten estructuras tridimensionales y tetradimensionales (X, Y, Z y tiempo) (12, 16).

3. Matriz polimérica extracelular o exopolisacárido: rodea al biofilm y constituye el 75-80% del mismo; su mayor componente es el agua. Está formada por exopolisacáridos como proteínas, ácidos nucleicos y otras sustancias secretadas por las propias bacterias que forman el biofilm. La matriz juega varios papeles en la estructura y función del biofilm, pueden tener un papel diferente en comunidades microbiológicas similares bajo condiciones ambientales cambiantes. La producción de la matriz depende de la calidad nutricional del medioambiente; un incremento de nutrientes está correlacionado con un aumento en el número de células bacterianas adheridas (5, 12, 14, 17-18).

Los anteriores componentes hacen que las bacterias-biofilms tengan ventajas como protección frente a las fluctuaciones medioambientales y al tratamiento antimicrobiano; además, les permite concentrar nutrientes, tener mayor acceso al oxígeno, eliminar de desechos y protegerse frente a los anticuerpos, a las células fagocíticas y realizar procesos de autoinducción como el Quorum-Sensing para producir diversos factores de virulencia (8,16).

2. Ciclo Vital Del Biofilm

El ciclo vital del biofilm es un proceso dinámico que comprende adhesión, crecimiento y separación o desprendimiento; sobre un sustrato adecuado las bacterias establecen una adhesión reversible y dependiendo del suministro de nutrientes, temperatura y propiedades físico-químicas de la superficie, la adhesión tiene el potencial de ser irreversible. Se ha descrito que la adherencia es más rápida a superficies hidrofóbicas, no polarizadas como el teflón y otros plásticos, en comparación con materiales hidrofílicos, como vidrio o metales. La adhesión puede hacerse mediante fimbrias o proteínas dependiendo de la especie; por ejemplo para *Staphylococcus epidermidis*, la adhesión in vitro a los catéteres plásticos está mediada por adhesina polisacárido A (PS / A); en *Streptococcus mutans*, la adhesina polisacárido P (SpaP) es fundamental para para su adhesión a superficies de los dientes (1, 3, 12, 18-19).

Una vez adheridas, las bacterias crecen iniciando su división alrededor del sitio de unión formando una microcolonia, al mismo tiempo elaboran la matriz extracelular y despliegan una formación tri o tetra-dimensional. La composición del exopolisacárido es diferente para cada bacteria: alginato, en *Pseudomonas aeruginosa*; celulosa, en *Salmonella typhimurium*; exopolisacárido rico en glucosa y galactosa en *Vibrio cholerae*; poli-N-acetil-glucosamina, en *Staphylococcus aureus*; mutanos y fructanos en *S. mutans*. Sin embargo, estudios recientes señalan que, incluso una misma bacteria, dependiendo de las condiciones ambientales, puede producir diferentes exopolisacáridos (1-3, 5, 12).

Después de alcanzar la madurez, algunas bacterias, se desprenden de la matriz mediante ondulación o utilizando una estrategia conocida como “enjambre/ siembra”, en la cual una colonia del biofilm se diferencia permitiendo que las células planctónicas salgan para poder colonizar nuevas superficies. La forma en que se produce la dispersión podría afectar, las características de los microorganismos (3-4, 9, 32). Los conglomerados desprendidos desde el biofilm podrían conservar, la resistencia antimicrobiana; en cambio, las células bacterianas liberadas aisladamente podrían rápidamente volver a su fenotipo planctónico, tornándose nuevamente susceptibles a los antimicrobianos (8).

3. Quórum-Sensing

Las bacterias-biofilms al tener un comportamiento multicelular tienen la capacidad de generar una señal de comunicación, que va a ser percibida por el resto de la población la cual va a responder mediante una acción concertada cuando alcanza una concentración determinada denominada Quórum. Así, el término Quórum-Sensing podría definirse como “El mecanismo bacteriano de comunicación intercelular que controla la expresión génica en función de la densidad celular que les permite adaptarse y sobrevivir ante las condiciones de estrés como lo es, la exposición a los antimicrobianos (3, 8), 20.

Las bacterias que utilizan Quorum-Sensing elaboran y secretan moléculas señalizadoras llamados auto-inductores. Las principales moléculas empleadas para comunicarse con las demás bacterias son:

1. Sistemas Acil-homoserina-lactonas, que predominan en bacterias Gram negativas (3, 8, 19, 21).
2. Sistemas Oligopéptidos que prevalecen en gérmenes Gram positivos (9, 20).
3. Sistemas AI-2/LuxS: (AI2=diéster de furanosil borato; Lux S=sintetasa de AI-2) tanto para Gram positivos como Gram negativos (19, 21)

Las bacterias también poseen un receptor que puede detectar específicamente el auto-inductor respectivo. Cuando éste se une al receptor activa la transcripción de determinados genes, como aquellos utilizados para la resistencia antimicrobiana y para la síntesis del inductor (3, 8, 20).

INFECCIONES-BIOFILMS

Se ha reportado que más del 65% de todas las infecciones microbianas son causadas por bacterias que, patógenas o no, están especializadas en producir biofilms (18, 22-23).

Las infecciones-biofilms se caracterizan por su curso crónico, responder pobremente a los antibióticos, no prevenirse mediante inmunización, no poderse eliminar completamente y generar recurrencias debido a biofilms persistentes; mientras que las infecciones agudas pueden ser eliminadas tras un breve tratamiento antibiótico (6, 8, 24).

Son varios los ejemplos de infecciones-biofilms como los que suceden en los implantes médicos como prótesis valvulares y catéteres; sepsis por catéteres endovenosos y arteriales; catéteres urinarios y sigmoidoscopios; otitis media; infecciones de articulación protésica y osteomielitis; además, placa dental, caries, infección periodontal y endocarditis bacteriana (2, 4-6, 8, 17, 28, 25-26).

De manera análoga las bacterias-biofilm como *S. aureus* y *Haemophilus influenzae* son causa frecuente de neumonía en pacientes con fibrosis quística; *Pseudomonas aeruginosa* y *Burkholderia cepacia* también pueden producirla pero con consecuencias letales para los pacientes. *Escherichia coli* es causa frecuente de prostatitis bacteriana crónica seguida de otras Enterobacterias, *P. aeruginosa*, *Estafilococos coagulasa negativa* y *Enterococcus faecalis* entre otras; inicialmente los catéteres urinarios se colonizan por *E. coli*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* o *Proteus mirabilis* pero a medida que el catéter permanece en su lugar el número y diversidad de microorganismos se incrementa y se desarrollan comunidades mezcladas con otras Enterobacterias, *P. aeruginosa* y *Acinetobacter calcoaceticus*. Por otra parte, se ha demostrado que las recurrencias de infecciones urinarias en mujeres jóvenes, en su mayoría son producidas por la misma cepa de *E. coli*, que invaden células superficiales de la vejiga, crean biofilms que son los reservorios de las infecciones recurrentes (2, 4-6, 8, 17-18, 25-26, 28).

Las bacterias-biofilm también constituyen un inconveniente en válvulas cardíacas artificiales, marcapasos y prótesis ortopédicas ya que una vez infectan estos dispositivos son difíciles de erradicar mediante tratamiento antibiótico. Se ha encontrado que un 56% de la formación de biofilms en válvulas cardíacas nativas están conformados por *Streptococos*, *Enterococos*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus bovis*. Para el caso de válvulas cardíacas protésicas se han encontrado como más frecuencia *Streptococcus viridans* seguido de *Estafilococos coagulasa negativa* (1, 3, 6, 12, 14, 22, 26, 29, 30, 31).

En el área de otorrinolaringología, se ha evidenciado el papel del biofilm en procesos crónicos como derrame en oído medio, amigdalitis, sinusitis, adenoiditis, rinosinusitis, colesteatoma, e infecciones asociadas a dispositivos, tales como tubos de timpanostomía, prótesis vocales, tubos endotraqueales e implante coclear humano. Bacterias como *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis* se han encontrado como causa de estos procesos infecciosos por ser gran productoras de biofilms (3, 6, 8, 23, 26, 32-33).

También ha encontrado que *Helicobacter pylori* y el 90% de las especies de *Leptospiras* forman biofilms, *H. pylori* parece erradicarse con el tratamiento, pero cuando la terapia es retirada, las células persistentes restablecen el biofilm y por lo tanto la infección (14, 34-35).

Por su parte las infecciones-biofilm relacionadas al uso de lentes de contacto producen un alto porcentaje de afectación de la córnea, estado que además les confiere resistencia a las soluciones para lentes (10).

Un problema importante relacionado con las bacterias-biofilm radica en el retardo de la cicatrización de heridas crónicas y heridas diabéticas, se les atribuye la causa del retraso en la curación, en el cierre de heridas quirúrgicas y de separación de

sus bordes; con el agravante de que las estrategias usadas para su tratamiento antimicrobiano usualmente no son exitosas. El Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos indica que del 65 al 80% de las infecciones de heridas crónicas, son atribuibles a los biofilms, mientras que esto sólo ocurre en el 10% de las heridas agudas (3, 8, 11, 14, 19, 25, 36-37).

BIOFILM Y RESISTENCIA BACTERIANA

La importancia de las infecciones-biofilms radica en que no son eliminadas fácilmente debido a que son más resistentes a los antibióticos que las bacterias no-biofilm. Pruebas de susceptibilidad con modelos de biofilms in vitro han mostrado la sobrevivencia de bacterias-biofilms después de tratamiento con antimicrobianos cientos y miles de veces por encima de la concentración inhibitoria mínima utilizada para las bacterias suspendidas en un cultivo (1, 3, 4, 8, 15, 17-19).

Además, las bacterias-biofilms tienen una tasa de mutación mucho mayor -hasta 100 veces mayor que las células planctónicas-, que conduce a un desarrollo más rápido de mutantes resistente a los antibióticos. Por otra parte, la proximidad de los organismos microbianos dentro del biofilm y la abundancia de eDNA (DNA exógeno) facilitan la transferencia horizontal de genes y la adquisición y propagación de determinantes de resistencia. De hecho, se ha demostrado que las bacterias-biofilms pueden constituir focos específicos de la adaptación y la evolución genética, que conduce a la selección de subpoblaciones con una mayor capacidad para adquirir resistencia a los antibióticos y de eDNA (15-16).

Evidencias preliminares indican que los mecanismos convencionales de resistencia a los antimicrobianos tales como bombas de eflujo, modificación enzimática, y mutaciones en los blancos, no son suficientes para explicar la mayoría de los casos de resistencia que presentan las infecciones producidas por bacterias-biofilms. Sin embargo, esta evidencia no excluye la posibilidad de mecanismos de resistencia como bombas de eflujo; pero se debe mirar más allá de los mecanismos de resistencias convencionales para entender la resistencia-biofilm (2, 17, 19).

Los mecanismos responsables de esta resistencia-biofilm pueden explicarse según una o varias de las siguientes hipótesis:

- Lenta o incompleta penetración del antibiótico al biofilm: Mediciones in vitro muestran que los antibióticos alcanzan concentraciones bactericidas en horas para las formas planctónicas, sin embargo, si el antibiótico es desactivado por el biofilm, la penetración va a ser profundamente retardada, lo que ocasiona la resistencia hacia ese antimicrobiano. Por otra parte, los exopolisacáridos son generalmente aniónicos y pueden reaccionar a los antibióticos cargados positivamente como los aminoglu-

cósidos restringiendo su permeabilidad, hecho descrito en biofilms de *P. aeruginosa*, que demuestra que las fluoroquinolonas penetran rápidamente y lentamente los aminoglucósidos (1, 2, 4, 5, 38).

- Baja actividad metabólica: Se ha descrito la formación de nichos anaeróbicos en zonas profundas del biofilm debido al consumo completo del oxígeno en las capas superficiales, esta limitación de oxígeno y nutrientes induce en las bacterias-biofilm un estado de lentificación, con lo cual dejan de ser susceptibles a los antimicrobianos (1, 4, 17, 28, 38).

Debido a las zonas diferenciadas de actividad metabólica dentro del biofilm, también se ha encontrado que la penicilina y ampicilina no son activos sobre células del interior debido a la disminución en su velocidad de crecimiento causa ésta que también proporciona resistencia de *E. coli* a ceftriaxona, de *S. epidermidis* a ciprofloxacina y de *P. aeruginosa* a tobramicina y piperacilina (17, 38).

La actividad metabólica del biofilm también puede cambiar frente a una eventual acumulación de productos ácidos con diferencias significativas de pH entre el exterior y el interior de éste, interfiriendo con la acción del antibiótico; adicionalmente el ambiente osmótico dentro del biofilm podría estar alterado conduciendo a la inducción de una respuesta al estrés osmótico, respuesta que podría contribuir a la resistencia a los antibióticos mediante cambios en la proporción relativa de porinas como una forma de reducir la permeabilidad a los antibióticos (2, 17, 38).

- Los cambios genéticos producen modificaciones en la fisiología de bacterias-biofilm y la aparición de otros genes específicos que potenciarían mecanismos de resistencia a múltiples antibióticos (1, 5, 17, 30, 38).
- Formación similar a esporas: Esta hipótesis plantea la posibilidad de génesis de una subpoblación de bacterias-biofilm con un estado fenotípico muy especial y altamente protegido, con una diferenciación similar a esporas. Se presentan investigaciones que muestran resistencia en biofilms recientemente formados, aun cuando estos son demasiado delgados para constituir una barrera a la penetración de agentes antimicrobianos (1, 2, 17, 26).
- Las bacterias-biofilms desarrollan un fenotipo alterado con respecto a su tasa de crecimiento, versatilidad metabólica, habilidades de comunicarse entre sí y transcripción de genes; sin embargo, algunas de estas poblaciones bacterianas no pueden considerarse realmente como fenotipo-biofilm. Las poblaciones "no-biofilm" incluyen bacterias que crecen en la superficie de un agar y ninguna de las características in-

herentes a su resistencia corresponden cuando están dentro de un verdadero biofilm. Se consideran bacterias-biofilms aquellas provenientes de fragmentos que se han roto de un biofilm en un dispositivo médico y que después circulan en los fluidos del cuerpo y por ello poseen una resistencia significativa frente a los antimicrobianos (2).

- Otra hipótesis importante es la generación de células persistentes la cual plantea que algunos antibióticos a pesar de que pueden penetrar los biofilms, son las células persistentes el factor causante de que no todas las bacterias mueran cuando se da el tratamiento estándar de dosis altas; ya que son capaces de sobrevivir a la primera carga de los antibióticos y de forma gradual generar un nuevo biofilm. Al pequeño porcentaje de la población celular que permanece viable después de la exposición prolongada o de dosis excesivas a los antibióticos se le conoce como persistente, y confiere o no resistencia a su progenie una vez que se elimina la presión selectiva; y aunque a la fecha se desconocen los aspectos básicos de la fisiología de estas células persistentes, se han estudiado varios genes que participan para su generación, entre ellos se han identificado tres locus hip (del inglés high-level-persistence): A, B y AB (5, 38).

Cabe aclarar que las células bacterianas "persistentes" son temporalmente hiper-resistentes a los antibióticos y aunque el mecanismo detrás del fenómeno de la persistencia es aún incierto, se considera que las células persistentes no crecen en presencia de un antibiótico pero tampoco se mueren. Incluso en una población de células genéticamente uniforme, una pequeña fracción acomete un cambio espontáneo hacia la forma persistente. Una vez terminada la terapia antibiótica, las células persistentes originan una nueva población bacteriana, cuyo resultado clínico es una recaída de la infección. (3, 8, 39-40).

TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL DEL BIOFILM

Algunos estudios muestran que la terapia combinada parece ser relevante para su erradicación. Por ejemplo, Saini (2015), evaluó el potencial de azitromicina y ciprofloxacina solo y en combinación tanto in vitro como en un modelo de ratón con infección del tracto urinario inducida con células biofilms de *P. aeruginosa*, llegando a la conclusión de que la terapia azitromicina más ciprofloxacina es prometedora contra las infecciones urinarias-biofilm (41). Otro ejemplo es el estudio de Emel quien encontró que la actividad in vitro de los péptidos catiónicos antimicrobianos parecen ser buenos candidatos para nuevas investigaciones en el tratamiento de SAMR-biofilms, solos o en combinación con antibióticos (42).

Por otra parte y de manera muy interesante, las siguientes son algunas de las estrategias propuestas para la eliminación de biofilms:

1. Evitar la adherencia de las bacterias-biofilms, mediante manejo de materiales, uso de antibióticos (por ejemplo en catéteres) o anticoagulantes (17, 43, 44).
2. Impedir la coagregación bacteriana usando antagonistas del Quorum-Sensing o de la lactoferrina; actualmente los mediadores del sistema Quorum-Sensing son los nuevos blancos para el diseño de medicamentos que permiten controlar este factor de virulencia, es el caso de las bacterias gramnegativas cuyo mecanismo de comunicación depende de la síntesis de N-acil-homoserinlactonas, por lo que se han desarrollado análogos de esta sustancia que tienen como finalidad la inhibición de la formación de biofilms (1).
3. Eliminar la matriz del biofilm con el uso de diferentes enzimas entre las cuales están las proteasas, glucosidasas, pectinasas, arabinasas, celulasas, hemicelulasas, b-glucanasas, xilanasas, glucosa oxidasas y lactoperoxidasas
4. Recientemente se ha encontrado que se puede remover la matriz del biofilm con bacteriófagos (virus que se replican en el interior de las bacterias) específicos; se ha demostrado su efectividad sobre *E. coli* con el uso del bacteriófago T4 y el fago 456 sobre *S. epidermidis*; no obstante, en el 2007 se reportó el diseño de un bacteriófago que expresa enzimas que degradan la matriz de los biofilms y simultáneamente ataca las células bacterianas, lo que demuestra su efectividad comparada con los bacteriófagos no enzimáticos (8, 17, 44-45).
5. Recientemente también se ha demostrado que la lactoferrina, estimula la disgregación de los biofilms, su capacidad quelante de hierro y de modificación de la motilidad bacteriana, favorece la liberación de células planctónicas más que su agregación como biofilm (11).
6. Pequeñas moléculas tales como imidazol, fenoles, indol, triazol, sulfuro, furanona, bromopirrol, péptidos cationicos, triterpenos, ácido corosólico, ácido asiático, ginseng, 3-indolylacetoneitril, oroidina, bromoageleferin, lipopeptidos y óxido nítrico actualmente en estudio, también tienen el potencial para dispersar biofilms bacterianos in vivo y podrían afectar positivamente la medicina humana en el futuro (7, 15, 19, 46).

El conocimiento de las bases moleculares y genéticas de los biofilms, ha sido posible gracias al desarrollo de la genómica y proteómica; por su parte, el perfeccionamiento de equipos como el microscopio de barrido con escáner láser confocal, microscopía epifluorescente y el microscopio

electrónico han permitido caracterizar la ultra-estructura del biofilm a partir de dispositivos médicos y se ha podido cuantificar todas las células para determinar cuáles son viables e identificar microorganismos específicos dentro de biofilm mixto. Por su parte la cromatografía de capa fina, cromatografía de líquidos de alto rendimiento y la espectrometría de masas han permitido detectar las moléculas Quorum-Sensing dentro de los biofilms; todos estos avances han posibilitado el aprendizaje en detalle de esta área de la microbiología, mientras que los recursos diagnósticos para la detección del biofilm basados en cultivos y agares artificiales, tiene escasa relación con los ambientes microbianos verdaderos y limita el adecuado tratamiento en infecciones humanas (2- 3, 8, 17, 19, 40, 46-50).

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta las transformaciones que alcanzan las bacterias a través de la condición biofilm, y el negativo impacto que éste representa para aquellos pacientes hospitalizados, inmunocomprometidos o con implantes; es prioritario profundizar en el conocimiento e investigación del funcionamiento del biofilm para comprender su particular dinámica y así poderlo combatir exitosamente.

Cabe señalar que los sistemas de detección de la sensibilidad a los antibióticos, tradicionalmente se realizan sobre bacterias planctónicas, que usualmente no reflejan la verdadera actividad frente a los antimicrobianos que poseen las bacterias-biofilms; por lo tanto el tratamiento antimicrobiano de las bacterias-biofilm requiere prácticas de diagnóstico que deben incluir y entender la relación genoma-ambiente y fenotipo con herramientas diagnósticas de avanzada tecnología.

Es preciso continuar con los estudios que proporcionen instrumentos que permitan combatir los biofilms, ya sea en la etapa de formación, maduración o desprendimiento; seguir trabajando para lograr descifrar los patrones de expresión génica de las bacterias del biofilm, son sin duda convenientes para prevenir muchos procesos infecciosos.

Desde la práctica clínica es conveniente tener en cuenta que las bacterias-biofilm pueden colonizar prótesis, tejidos, implantes o catéteres, diseminarse por vía hematogena, o por extensión directa hasta producir una o varias infecciones focales y que su diagnóstico etiológico y tratamiento requieren el uso de equipos de nueva tecnología que han de irse implementando en los laboratorios de microbiología como una necesidad de primera línea.

REFERENCIAS

1. Nazar C Julio. Biofilms bacterianos. Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello 2007 Abril; 67(1): 161-172.

2. Dunne Jr. W. Michael. Bacterial Adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately? *Clin. Microbiol Rev.* 2002 April; 15(2): 155-166.
3. Proal Amy. Understanding biofilms. (18 March 2013). [Online]. Disponible en: <http://bacteriality.com/2008/05/26/biofilm/>. Fecha de consulta: 22 de marzo de 2015.
4. Chadha, Tejpreet . Bacterial Biofilms: Survival Mechanisms and Antibiotic Resistance. *J Bacteriol Parasitol* 2014; Disponible en: omicsonline.org.
5. Otto Michael. Staphylococcal Biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2008; 322: 207-228
6. Lasa I., Pozo J. L. del, Penadés J. R., Leiva J. Biofilms bacterianos e infección. *Anales Sis San Navarra.* 2005 Agosto; 28(2): 163-175.
7. Rabin N, Zheng Y, Opoku-T C, Du Y, Bonsu E and O S H. Agents that inhibit bacterial biofilm formation. *Future Med. Chem.* (2015) 7(5), 647-671.
8. Castrillón R. L.E. Importancia de las biopelículas en la práctica médica. *Dermatología Rev Mex* 2010 enero-febrero; 54(1):14-24.
9. Instituto Nacional de Salud. Vigilancia y análisis del riesgo en salud pública protocolo de vigilancia en salud pública infecciones asociadas a dispositivos. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Infecciones%20asociadas%20a%20dispositivos.pdf>. Fecha de consulta: 31 de octubre de 2015.
10. Prescott L. M., Harley J.P., Klein D. A. *Microbiología. España: 5ª edición* Mc Graw Hill Interamericana; 2004.
11. Castrillón R. L. E. y col. Interferencia de las biopelículas en el proceso de curación de heridas. *Dermatología Rev Mex* 2011;55(3):127-139.
12. Zambrano M, A., Suárez L, L. Biofilms bacterianos: sus implicaciones en salud y enfermedad. *Univ Odontol* 2006 Jun-Dic; 25(57):19-25.
13. Sánchez, V., P. et al. Identification of ypqP as a New *Bacillus subtilis* Biofilm Determinant That Mediates the Protection of *Staphylococcus aureus* against Antimicrobial Agents in Mixed-Species Communities. *Appl Environ Microbiol.* 2015 jan; 81(1): 109-18.
14. Herrera, M. M.T. El papel del biofilm en el proceso infeccioso y la resistencia NOVA. *Publicación científica.* 2004. Enero a Diciembre 2: 71-80.
15. Penesyan A, Gillings M y Paulsen IT. Antibiotic Discovery: Combatting Bacterial Resistance in Cells and in Biofilm Communities. *Molecules* 2015; 20: 5286-5298
16. Loera M., Biopelículas multiespecie: asociarse para sobrevivir. *Investigación y Ciencia,* 2012; 54: 49-56.
17. Stewart P.S. and Costerton J.W. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001 Jul; 14; 358(9276):135-8.
18. Yeroslavsky G. et al. Antibacterial and Antibiofilm surfaces through Polydopamine-Assisted Immobilization of Lysostaphinas an Antibacterial Enzyme. *Langmuir,* 2015 Jan; 31(3):1064-73.
19. Chen L, Wen Y. The role of bacterial biofilm in persistent infections and control strategies. *Int J Oral Sci* (2011) 3: 66-73.
20. Wolska K, Grudniak A, Rudnicka Z and Markowska K. Genetic control of bacterial biofilms. *Microbial Genetics Review.* 2015; 21: 1-14.
21. Marquina D Domingo y Santos de la Sen A. Sistemas de quorum sensing en bacterias. *Reduca (Biología). Serie Microbiología.* 2010; 3 (5): 39-55.
22. Parsek, MR and Singh, PK. Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annual review of microbiology.* 2003; 57: 677-701.
23. Mena V.N. Biofilms en otorrinolaringología *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2012 www.elsevier.es/otorrino. Fecha de consulta: 26 de noviembre de 2014.
24. Bjarnsholt T. The role of bacterial biofilms in chronic infections. *APMIS Suppl.* 2013 May; (136): 1-51.
25. Burmolle M., et al. Biofilms in chronic infections-a matter of opportunity - mono-species biofilms in multispecies infections. *FEMS Im Med Microbiol.* 2010 Aug; 59(3): 324-36.
26. Ulrich M., et al. Relative contribution of *Prevotella intermedia* and *Pseudomonas aeruginosa* to lung pathology in airways of patients with cystic fibrosis. *Thorax.* 2010 Nov; 65(11):978-84.
27. Negroni M. *Microbiología oral. Fundamentos y guía práctica.* Segunda edición. Editorial Médica Panamericana; Buenos Aires. 2009. pp 321.
28. Andreu, A. Patogenia de las infecciones del tracto urinario. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005; 23(4):15-21.
29. Lopez C.C, Rojo M.E., Macia M.D and Oliver A. The problems of antibiotic resistance in cystic fibrosis and solutions. *Expert Rev Respir Med.* 2015 feb; 9(1): 73-88.
30. Moreau-Marquis, S., Stanton, BA and O'Toole, GA. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation in the cystic fibrosis airway. *Pulm Pharmacol Ther.* 2008; Aug; 21(4): 595-599.
31. Calf C et al. Biofilm production in *Staphylococcus epidermidis* strains, isolated from the skin of hospitalized patients: genetic and phenotypic characteristics. *New Microbiol* 2015; 38(4): 3-19.
32. Hall-Stoodley, L., Hu, FZ, Gieseke, A., Nistico, L., Nguyen, D., Hayes, J., et al. (2006). Direct Detection of Bacterial Biofilms on the Middle-Ear Mucosa of Children With Chronic Otitis Media. *JAMA,* 296(2), 202-211.
33. Ramirez C. Microscopia electrónica de barrido ambiental para la detección de biopelículas en las amígdalas. *Acta Otorrinolaringológica Española,* 59(1):16-20.
34. Ristow, P. et al. Biofilm formation by saprophytic and pathogenic leptospires. *Microbiology* 2008; 154(5): 1309-1317.
35. Yonezawa H, Osaki T, Kamiya S. Biofilm Formation by *Helicobacter pylori* and Its Involvement for Antibiotic

- Resistance. *Biomed Res Int.* 2015;2015:914791. doi: 10.1155/2015/914791. Epub 2015 May 19. Review.
36. ConvaTec VII simposio nacional de úlceras por presión y heridas crónicas. ¿Tenemos las herramientas necesarias para luchar contra el biofilm? *Rev rol Enf* 2009; 32(1):14.
 37. James G.A. et al. Biofilms in Chronic Wounds. *Wound Repair and Regeneration.* 2008; 16(1): 37-44.
 38. Percival S. and Cutting K. *Microbiology of wounds.* First edition. CRC Press, Group Taylor and Francis. New York. 2010: 44.
 39. Harrison J, Raymond J, Turner, Lyriam L. R. Marques y Howard C. Biopelículas. *Investigación y Ciencia,* 2006: 76-83.
 40. Clutterbuck A.L. et al. Evaluating antibiotics for use in medicine using a poloxamer biofilm model. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials,* 2007; 6:2.
 41. Saini H., Chhibber S y Harjai K. Azithromycin and ciprofloxacin: A possible synergistic combination against *Pseudomonas aeruginosa* biofilm-associated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents* 2015; abril 45(4): 359-67.
 42. Mataraci E, Dosler S. In Vitro Activities of Antibiotics and Antimicrobial Cationic Peptides Alone and in Combination against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilms. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Dec; 56(12):6366-6371.
 43. Hamilton S. et al. The transcriptional programme of *Salmonella* entérica serovar Typhimurium reveals a key role for tryptophan metabolism in biofilms. *BMC Genomics,* 2009; 10: 599.
 44. Yeroslavsky G. et al. Antibacterial and Antibiofilm surfaces through Polydopamine-Assisted Immobilization of Lysostaphinas an Antibacterial Enzyme. *Langmuir,* 2015 Jan; 31(3):1064-73.
 45. Alves RD, et al. A novel bacteriophage cocktail reduces and disperses *Pseudomonas aeruginosa* biofilms under static and flow conditions. *Microbial biotechnology.* Sep 2015. DOI: 10.1111/1751-7915.12316.
 46. Vanegas, M y col. Resistencia a antibióticos de bacterias aisladas de biopelículas en una planta de alimentos *Annu Rev Microbiol* 2000; 54:49-79.
 47. Mishra B, Lushnikova T, Wang G. Small lipopeptides possess anti-biofilm capability comparable to daptomycin and vancomycin. *RSC Adv.* 2015; 5(73) : 59758-59769.
 48. Donlan R.M. and Costerton J.W. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms *Clinical Microbiology Reviews.* 2002 April; 15(2): 167-193.
 49. Parsek MR y Singh PK. Bacterial biofilm: an emerging link to disease pathogenesis. *Annu Rev Microbiol.* 2003; 57: 677-70.
 50. Chadha, Tejpreet . Bacterial Biofilms: Survival Mechanisms aand Antibiotic Resistance. *J Bacteriol Parasitol* 2014; Disponible en: omicsonline.org.