

Artículo de revisión

Importancia de las biopelículas en la práctica médica

Laura Estela Castrillón Rivera,* Alejandro Palma Ramos,* María del Carmen Padilla Desgareñes**

RESUMEN

La resistencia a los antibióticos por los microorganismos, el incremento de infecciones recurrentes e intrahospitalarias por contaminación de dispositivos médicos, así como la dificultad para la cicatrización de heridas son algunos de los problemas cotidianos en la práctica médica. En la actualidad se sabe que el origen de estos hechos se debe a la capacidad de formación de biopelículas que estos microorganismos desarrollan como mecanismo de supervivencia. Por esta razón resulta importante conocer las condiciones en que se originan y permiten su desarrollo y los posibles mecanismos para la prevención y control de su formación.

Palabras clave: biopelículas, *quorum sensing*, resistencia a antibióticos, cicatrización de heridas.

ABSTRACT

Antibiotic resistance by microorganisms, increased recurrent and intrahospital infections by medical devices contamination, and difficulty to healing wounds are some of regular problems in medical practice. Nowadays it is known that the origin of these facts is consequence of biofilm formation that these microorganisms develop as survival mechanism. Therefore it is important to know the conditions that allow its development and the possible mechanisms to prevent and control its origin.

Key words: biofilms, quorum sensing, antibiotic resistance, wound healing.

Las biopelículas son comunidades microbianas que constituyen la forma más exitosa de colonización entre los microorganismos, son ubicuas en la naturaleza y responsables de muchas enfermedades. Son consideradas comunidades de microorganismos que crecen embebidas en una matriz de exopolisacárido autoproducido y están adheridas a una superficie inerte o a un tejido vivo.

Se tienen registros fósiles de la formación de biopelículas desde hace aproximadamente 3.2 mil millones de años, por lo que se considera que esta organización celular representa el modo de crecimiento que permite a las células sobrevivir en ambientes hostiles, dispersarse para

formar nuevos nichos¹ y les otorga ventajas significativas de protección frente a fluctuaciones del ambiente como la humedad, temperatura y pH, así como la concentración de nutrientes y la eliminación de desechos.²

FASES DE DESARROLLO DE BIOPELÍCULAS

La formación de las biopelículas ocurre como un proceso continuo de acuerdo con varias fases de desarrollo que son: a) acondicionamiento, b) adhesión, c) síntesis de matriz extracelular, d) maduración y e) dispersión, lo que lleva a la formación de una estructura uniforme en forma de depósitos homogéneos y acumulaciones viscosas celulares rodeados de una matriz de polímeros con canales abiertos para el movimiento de agua (figura 1).

Durante la fase de acondicionamiento, los componentes orgánicos del medio ambiente o de los tejidos forman una cubierta que neutraliza la carga excesiva de la superficie (que previene la aproximación entre células bacterianas o de hongos) y así se inicia la adhesión, estos compuestos orgánicos pueden servir como nutrientes a estos microorganismos.

Los microorganismos libres (o planctónicos) forman una capa que se adsorbe a la superficie por periodos cortos mediante fuerzas de atracción electrostáticas y se libera de ésta por adsorción reversible.³ Los microorganismos en sus

* Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

** Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua, Servicios de Salud Pública del DF.

Correspondencia: Dra. Laura Estela Castrillón. Laboratorio de Inmunología, UIDIS. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, colonia Villa Quietud, CP 04960, México, DF. Correo electrónico:

lcrivera@correo.xoc.uam.mx

Recibido: agosto, 2009. Aceptado: octubre, 2009.

Este artículo debe citarse como: Castrillón-Rivera LE, Palma-Ramos A, Padilla-Desgareñes MC. Importancia de las biopelículas en la práctica médica. Dermatol Rev Mex 2010;54(1):14-24.

La versión completa de este artículo también está disponible en: www.nietoeditores.com.mx

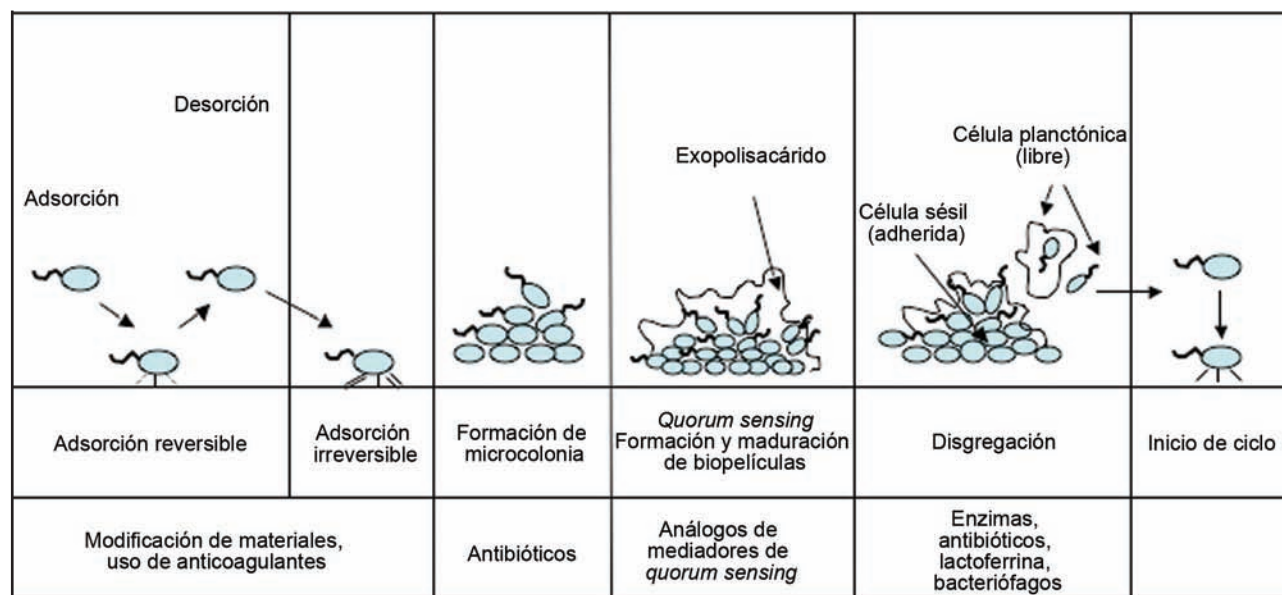


Figura 1. Fases de formación de biopelículas y estrategias de dispersión.

La formación de biopelículas ocurre como una serie de eventos secuenciales que dependen de la interacción de microorganismos sobre superficies inertes o vivas, venciendo las fuerzas de repulsión hasta lograr la adsorción irreversible seguida de la formación de una microcolonia. Al alcanzar una densidad de población determinada, se induce la síntesis de metabolitos secundarios (*quorum sensing*) que produce la formación de un exopolisacárido hasta lograr la maduración de la biopelícula. La disgregación permite la formación de una nueva colonia o su eliminación. Se muestran las opciones de tratamiento según la fase de desarrollo de la biopelícula.

pensión se agregan y ocurre la adhesión de células iguales o diferentes (co-agregación) a la superficie condicionada, este proceso es favorecido por varios componentes bacterianos como los pili y flagelos, y polímeros superficiales como el lipopolisacárido en bacterias gramnegativas y el ácido micólico en las grampositivas, que participan en este proceso venciendo las fuerzas de repulsión. La expresión de estas estructuras microbianas puede cambiar dependiendo del ambiente en que se encuentren y, por tanto, modificar la fase de formación de la biopelícula.

Las propiedades físico-químicas de la superficie pueden ejercer gran influencia en el grado y extensión de la adhesión, los gérmenes se adhieren más rápidamente a superficies hidrófobas, no polarizadas como el teflón y plásticos, en comparación con metales hidrofílicos como el vidrio o el metal.

Una vez que se logra la adhesión irreversible, las células se dividen y colonizan la superficie y cuando la concentración local de señales químicas producidas por el metabolismo microbiano alcanza un nivel umbral, sugiere que la población microbiana ha alcanzado una densidad mínima, esto condiciona el inicio de cambios fenotípicos en la comunidad.

Al proceso en el que una célula microbiana percibe la proximidad de otras células y genera señales químicas que corresponden con metabolitos secundarios, se le conoce como *quorum sensing*; este hecho trae como consecuencia la autoinducción en la síntesis de la matriz extracelular o exopolisacárido y se logra así la maduración de la biopelícula con la consecuente formación tridimensional, lo que genera canales de agua que le sirven como microcirculación a la colonia. Cuando el mensaje crece lo suficiente, el microorganismo responde en masa y se comporta como grupo.⁴

En bacterias gramnegativas el principal autoinductor corresponde a los derivados de la acilhomoserina lactona (acil HSL),⁵ mientras que en grampositivas son péptidos. Cuando en el medio extracelular se acumula una cantidad suficiente de estas moléculas, se activan receptores específicos que alteran la expresión de genes y afectan distintos fenotipos.

La composición de este exopolisacárido o glucocálix es diferente en cada bacteria y hongo, y varía desde: alginato en *P. aeruginosa*, celulosa en *S. typhimurium*, rico en galactosa en *V. cholerae* y poli-N-acetilglucosamina en *S. aureus*.^{6,7}

En muchas especies, este glucocálix es predominantemente aniónico y crea un sistema eficiente para atrapar y concentrar nutrientes esenciales y minerales del ambiente, lo que le aporta cierto grado de protección contra amenazas del ambiente como: biocidas, antibióticos, anticuerpos, surfactantes, bacteriófagos y predadores externos como los glóbulos blancos. Esencialmente este biopolímero crea un ambiente tridimensional que rodea, ancla y protege las bacterias y hongos unidos a la superficie que colonizan.⁸

Finalmente, después de la maduración de la biopelícula, ocurre la dispersión por células aisladas o en conglomerados que colonizan nuevas superficies y se inicia un nuevo ciclo de formación de biopelículas. Existen diferencias en las características de las células que se desprenden, ya que las células sésiles (adheridas) pueden conservar la funcionalidad de la biopelícula como lo es la resistencia a antibióticos, en cambio, las células aisladas pueden tener el fenotipo planctónico (libre) y ser susceptible a los mecanismos de defensa del hospedero⁹ (figura 1).

HETEROGENEIDAD DE LAS BIOPELÍCULAS

El estudio de estas biopelículas ha demostrado que se componen de 97% de agua, el resto son células microbianas y productos derivados de éstas. Se ha reportado que son estructuras heterogéneas con tres patrones químicos, que corresponden a diferencias en gradientes de concentraciones desde el exterior al interior de la biopelícula. El patrón de sustrato metabólico determina mayor concentración en el exterior y menor en el interior, el patrón de producto metabólico es inverso al anterior y el patrón de intermediarios metabólicos muestra mayor concentración entre la parte limítrofe de la biopelícula en la fase acuosa. Estos patrones traen como consecuencia que dentro de estas estructuras se establezcan diferencias de gradientes de pH y oxigenación, lo que permite que se instalen poblaciones microbianas aerobias, anaerobias o facultativas dentro de los diferentes estratos de la biopelícula, así como poblaciones microbianas que pueden considerarse para entender las diferencias de susceptibilidad al tratamiento con antibióticos, ya que es diferente la respuesta a las formas libres (planctónicas) que a las adheridas (sésiles).^{10,11}

En consecuencia, las principales características de las biopelículas son: adherencia, heterogeneidad, diferentes microambientes (pH, oxígeno, concentración de iones, car-

bono, nitrógeno, etcétera), sistema circulatorio primitivo (canales de agua), resistencia a la defensa del hospedero, agentes antimicrobianos y biocidas y autoinducción (*quorum sensing*).

MÉTODOS DE ESTUDIO

La evolución de los métodos analíticos de los estudios de imagen ha permitido diseñar diferentes estrategias para el estudio de las biopelículas, entre las cuales se encuentran varios modelos específicos como: los catéteres en disco, tira de acrílico, microplaca de titulación y biopelículas profundadas, entre otros. Con estos modelos se analiza la cuantificación y crecimiento del microorganismo mediante la evaluación de: peso seco, incorporación de isótopos radioactivos, reducción de sal de tetrazolio XTT, bioluminiscencia ATP, ensayos de lectinas ligadas a enzimas y el sistema LIVE/DEAD BacLight entre otros. Estos ensayos se acompañan de estudios de ultraestructura microscópica, como la electrónica de barrido, láser confocal de Raman que permiten ver en tercera dimensión la formación de biopelículas, lo que ha permitido la descripción de diferentes modelos de organización entre ellos.¹²⁻¹⁷ Recientemente se desarrollaron estudios *in vivo* para la detección temprana de infección en tejidos e implantes biomédicos.^{18,19}

IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA

La importancia reciente de las biopelículas como fuente de infecciones se refleja en las estadísticas: para el año 2008 se reportaron en Estados Unidos 99,000 muertes al año y 1.7 millones de procesos infecciosos asociados; y en la Comunidad 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%).²⁰ En México aún no existen reportes que permitan esta asociación. Se ha demostrado que una fuente de infección importante son las nosocomiales, derivadas de catéteres infectados por biopelículas.²¹

ENFERMEDADES

Actualmente las enfermedades infecciosas por bacterias ubicuas ha cobrado interés debido a su capacidad de producir enfermedades crónicas que responden escasamente

a los tratamientos con antibióticos y no pueden prevenirse mediante inmunización. Entre las enfermedades en que se ha logrado una asociación directa con las infecciones provenientes de biopelículas están: otitis media, neumonía en pacientes con fibrosis quística, endocarditis, periodontitis, caries dental, osteomielitis e infecciones asociadas con dispositivos médicos, entre otras. Los principales microorganismos relacionados con estos procesos se muestran en el cuadro 1, entre los que se encuentran: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus aureus*, cocos grampositivos, bacterias anaerobias gramnegativas y algunas especies de hongos que se asocian con las bacterias que pertenecen al género *Candida* y *Aspergillus*.

DISPOSITIVOS MÉDICOS

Los microorganismos asociados como biopelículas se adhieren irreversiblemente a superficies sumergidas y producen polímeros extracelulares que pueden desarrollarse en dispositivos médicos: lentes de contacto, catéteres venosos, conectores, tubos endotraqueales, dispositivos intrauterinos, válvulas cardíacas, marcapasos, catéteres de diálisis, prótesis de cadera, prótesis de voz, etcétera. Este hecho puede causar infecciones y enfermedades nosocomiales con costo elevado para la salud pública.

Entre las bacterias grampositivas más frecuentes en estos materiales están *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus viridans*; y entre las gramnegativas: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Estos microorganismos provienen de la piel de los pacientes, de los responsables de su cuidado, del agua o del ambiente,⁴⁰ el grado de patogenicidad depende de la adherencia microbiana relacionada con el material del dispositivo y con las defensas del hospedero.⁴²

Se han utilizado varias estrategias para controlar la aparición de biopelículas en catéteres, como el uso de técnicas asépticas durante la implantación, aplicación de antibióticos tópicos, minimizar la duración de la cateterización, uso de un filtro en la línea de filtración para los fluidos intravenosos a fin de prevenir el influjo de microorganismos del sitio del implante, cubrir el lumen interno del catéter con agentes antimicrobianos o anticoagulantes y remoción de los implementos contaminados, entre otros.⁴³

Entre las principales complicaciones asociadas con las infecciones en dispositivos médicos se encuentran la aparición de infecciones sistémicas, ineficiencia en la diálisis debido a trombosis en el catéter, corrosión de metales y formación de cristales por microorganismos que producen ureasa, entre otros.⁴⁴

Cuadro 1. Infecciones humanas relacionadas con la formación de biopelículas

Enfermedad-infección	Microorganismo responsable	Referencias
Fibrosis quística (neumonía)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>A. fumigatus</i>	Hoiby 2002, ²² Lyczak 2002, ²³ Moreau-Marquis 2008 ²⁴
Otitis media	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>M. catarrhalis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Bakaletz 2007, ²⁵ Post 2007, ²⁶ Feigin 1992 ²⁷
Periodontitis, caries dental, gingivitis	<i>Streptococcus</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Peptostreptococcus</i>	Bryers 2006, ²⁸ Offenbacher 2007, ²⁹ Selwitz 2007 ³⁰
Prostatitis	Bacterias anaerobias gramnegativas <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Serratia</i> , <i>E. faecalis</i>	Domingue 1998, ³¹ Nickel, 1993 ³²
Endocarditis valvular	Bacterias gramnegativas <i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Candida</i> , <i>Streptococcus</i>	Wells 1995, ³³ Tunkel 1992, ³⁴ Donlan 2002 ³⁵
Fascitis necrotizante	Estreptococos del grupo A	Presterl 2005 ³⁶
Osteomielitis	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Wagner 2005, ³⁷ Brady 2008, ³⁸ Kandemir 2005 ³⁹
Infecciones nosocomiales	<i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>A. israelii</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>K. pneumoniae</i>	Donlan 2001, ⁴⁰ Parsek 2004 ⁴¹

RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

La importancia de las biopelículas en la medicina radica en que estas infecciones normalmente no son eliminadas y producen episodios recurrentes, una de las principales razones de este hecho se debe a que las bacterias en una biopelícula son mil veces más resistentes a los antibióticos.⁴⁵ Entre los mecanismos que permiten dar una explicación a esta resistencia están:

- a) Falla en la penetración a la biopelícula. Los antibióticos pueden difundir a través de la matriz de la biopelícula, para inactivar las células atrapadas; sin embargo, este exopolisacárido se comporta como una barrera física para estas moléculas modificando su transporte al interior, que ocasiona la resistencia hacia estos antimicrobianos, así como a moléculas de elevado peso molecular con propiedades citotóxicas como lisozima y complemento. Por otra parte, los exopolisacáridos son generalmente aniónicos y pueden reaccionar o adsorber los antibióticos cargados positivamente como los aminoglucósidos restringiendo su permeabilidad, este hecho se ha descrito en biopelículas de *P. aeruginosa*, que demuestra que las fluoroquinolonas penetran rápidamente y los aminoglucósidos lentamente.⁴⁶⁻⁴⁸ Se ha demostrado que todos los antibióticos estudiados son capaces de penetrar la biopelícula hasta su interior y en horas alcanzar concentraciones bactericidas para las formas planctónicas.
- b) Neutralización de antibióticos por productos microbianos. La difusión retardada disminuye la entrada del antibiótico a la biopelícula, lo que permite la destrucción del antibiótico por enzimas como la β -lactamasa descrito en *Pseudomonas aeruginosa*.⁴⁹
- c) Tasa metabólica de crecimiento diferenciado y cambio de fenotipo. Las células dentro de las biopelículas se encuentran bajo un gradiente de nutrientes que resulta en células metabólicamente activas con acceso a estos nutrientes en la capa superficial o en la periferia de la biopelícula, en contraste, se encuentran células metabólicamente inactivas dentro de su interior. Estas zonas diferenciadas de actividad metabólica corresponden a diferentes zonas de sensibilidad antimicrobiana. Muchos antibióticos son activos sobre células en crecimiento, así que las células en el interior podrían estar protegidas de

la acción citotóxica de estas sustancias.⁵⁰ La penicilina y ampicilina no atacan células que no estén en crecimiento y su acción es proporcional a su actividad; otros antibióticos como los β -lactámicos, cefalosporinas, aminoglucósidos y fluoroquinolonas atacan células en fase estacionaria, pero son más activos en células en división.

Se ha determinado resistencia a ceftriaxona de *E. coli*, ciprofloxacina de *S. epidermidis*, tobramicina y piperacilina de *P. aeruginosa*, este efecto se asocia con la disminución en su velocidad de crecimiento.³⁵

La activación de respuestas de estrés provoca cambios en la fisiología de las bacterias y la aparición de fenotipos específicos en las biopelículas que combaten los efectos de los antibióticos, entre ellos la expresión de enzimas como la β -galactosidasa que se activa con imipenem y piperacilina en biopelículas de *P. aeruginosa*⁴⁹ o, bien, las bombas de difusión de multiresistencia a los antibióticos como en el caso de *E. coli* ante cloranfenicol.⁵¹

- d) Generación de células persistentes. A un 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.

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* (*high-level-persistence*): A, B y AB que controlan la frecuencia de este fenotipo. Todos los microorganismos mutantes *hip* producen mil veces más células persistentes que la variante silvestre.⁵²

La importancia de la aparición de este tipo de células reside en el éxito del tratamiento con el uso de antimicrobianos cuando con concentración mínima bactericida causaría una eliminación de 99.9% de las células en las biopelículas, y las remanentes serían eliminadas por el sistema inmunitario; sin embargo, cuando existe una disfunción en la respuesta inmunitaria del paciente, o no hay accesibilidad de las células inmunocompetentes al sitio infectado, pueden aparecer problemas graves, como en el caso de la meningitis resistente por *S. pneumoniae*.

Es muy importante puntualizar que los sistemas de sensibilidad a antibióticos tradicionalmente se realizan sobre células en suspensión, que son las equivalentes a la población de células planctónicas, por tanto, es necesario

contar con nuevos diseños de laboratorio que permitan conocer la sensibilidad de estas sustancias directamente sobre las biopelículas.

CICATRIZACIÓN DE HERIDAS

Cuando la piel se daña por heridas o traumatismo del tejido se inicia el proceso de curación que incluye las fases inflamatoria, proliferativa y de remodelación; sin embargo, con la exposición del tejido subcutáneo que normalmente es estéril, éste puede ser colonizado e infectado por la flora normal cutánea o ambiental, lo que complica el proceso integral de curación de las heridas. Algunos microorganismos se multiplican, invaden y dañan los tejidos, retrasan la cicatrización y en ocasiones causan una enfermedad generalizada. El alcance y la intensidad de la infección de una herida influyen en el tratamiento, por lo que es importante identificar y diferenciar los signos y síntomas de infección local, diseminada y generalizada.

No todas las heridas ofrecen las mismas condiciones ambientales y, por tanto, las diferentes heridas permiten el crecimiento de distintas comunidades de microorganismos. En las heridas, la infección extracelular es más frecuente que la intracelular y muchos patógenos dependen de la producción de enzimas extracelulares para invadir los tejidos profundos del huésped. Los principales patógenos asociados con la infección de las heridas son *Staphylococcus aureus*, coliformes, especies de *Streptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, y anaerobios como: *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas* y *Clostridium*.

Recientemente se demostró que las biopelículas son la principal barrera para retrasar la cicatrización de heridas,⁵³⁻⁵⁷ en consecuencia, el estudio de esta asociación en un campo de investigación clínica y experimental dará grandes avances en la medicina.

En el caso de las heridas crónicas se ha demostrado que las citocinas proinflamatorias (que son moléculas responsables de los mecanismos de resistencia por parte del hospedero) se encuentran muy elevadas, lo que ocasiona un aumento importante de neutrófilos y macrófagos *in situ*, y permite la eliminación de microorganismos principalmente por fagocitosis y citotoxicidad. Aunque si por alguna razón este proceso se retrasa, los patógenos tienen tiempo suficiente para unirse a la superficie de los tejidos e iniciar el proceso de formación de biopelículas, y una vez

que han madurado ni los mecanismos de reconocimiento de estos agentes microbianos, ni los anticuerpos específicos pueden ser activos hacia los microorganismos ubicados dentro de las microcolonias.

Como la colonización bacteriana es compleja en las heridas crónicas, su tratamiento con antibióticos convencionales se dificulta, el desbridamiento y la aplicación de antibióticos tópicos se han utilizado para la remoción de estas biopelículas;⁵⁸ sin embargo, en muchos casos son ineficientes; por esta razón ha surgido una nueva estrategia para el tratamiento de heridas crónicas con el uso del óxido nítrico (ON) gaseoso para erradicar las biopelículas e inducir la sanación,⁵⁹ y aunque su mecanismo exacto se desconoce, se propone que además de la actividad antimicrobiana directa del óxido nítrico como tal,⁶⁰ la inhibición de una de las enzimas responsables de la síntesis del óxido nítrico (la sintasa del óxido nítrico inducible o iNOS) disminuye el depósito de colágeno y retrasa la reparación de heridas.

Por todas estas evidencias, queda demostrado que cada vez cobra más importancia establecer estrategias para evitar y controlar la formación de este tipo de asociaciones microbianas.

TRATAMIENTOS

Se ha avanzado en la búsqueda de estrategias de tratamiento para la eliminación de biopelículas, que consisten básicamente en: evitar la adherencia (manejo de materiales, uso de antibióticos o anticoagulantes), evitar la diferenciación y congregación bacteriana (antagonistas del *quorum sensing* o uso de lactoferrina), eliminación de la matriz (uso de enzimas) y recientemente la administración de bacteriófagos específicos.

La incorporación de antibióticos en los catéteres, como la combinación de rifampicina y minociclina, disminuye la posibilidad de colonización, también ha demostrado ser exitoso cuando el catéter se usa por tiempos cortos y como medida profiláctica.^{46,61}

El descubrimiento de los sistemas de comunicación bacteriana (*quorum sensing*) como mecanismo temporal durante el proceso infeccioso ha determinado una oportunidad para disminuir la infección bacteriana por otros medios que no sean la inhibición del crecimiento. Debido a que muchas bacterias utilizan este sistema de comunicación como control de virulencia, los mediadores del

quorum sensing son los nuevos blancos para el diseño de medicamentos.⁶² En el caso de las bacterias gramnegativas el mecanismo de comunicación depende de la síntesis de N-acil-homoserinlactonas (AHL), por lo que se han desarrollado análogos de esta sustancia que tienen como finalidad la inhibición de la formación de biopelículas por varios mecanismos: a) inhibición de la generación de señales de AHL, b) inhibición de la diseminación de la señal intracelular y c) inhibición de la recepción de la señal de AHL.

Las bacterias grampositivas utilizan péptidos como moléculas señalizadoras del *quorum sensing*. Un péptido sintético llamado RIP interfiere con la recepción de estas señales en infecciones por *Staphylococcus aureus*, es activo en su capacidad inhibitoria de formación de biopelículas en modelos animales.⁶³

Recientemente se demostró que la lactoferrina, una sustancia ubicua y abundante en secreciones, estimula la disgregación de biopelículas y, por tanto, la protección contra las infecciones, el mecanismo propuesto depende de su capacidad quelante de hierro, elemento esencial para el crecimiento bacteriano, y de la modificación de la motilidad bacteriana, lo que favorece la liberación de células planctónicas más que su agregación como biopelícula.^{64,65}

Las producción endógena de enzimas permite la degradación de exopolisacáridos de la biopelícula para lograr la dispersión de microorganismos para la generación de una nueva colonia una vez que la biopelícula está madura e iniciar un nuevo ciclo de desarrollo, este hecho permite proponer el uso de diferentes enzimas para la remoción de las biopelículas; sin embargo, debido a la heterogeneidad del polisacárido extracelular, es necesario utilizar una mezcla de enzimas para su degradación. Entre las más utilizadas se encuentran proteasas, glucosidasas, pectinasa, arabanasa, celulasa, hemicelulasa, β -glucanasa, xilanasa, glucosa oxidasa y lactoperoxidasa.^{66,67}

Una propuesta diferente para el tratamiento de biopelículas es el uso de bacteriófagos, que son virus específicos para las bacterias que al replicarse en su interior las matan. Se ha demostrado su efectividad con el uso del bacteriófago T4, que puede infectar y replicarse en *Escherichia coli* disgregando la morfología de la biopelícula y matando las bacterias, o en el caso del fago 456 sobre *S. epidermidis*.⁶⁸

En 2007 se reportó el diseño de un bacteriófago que expresa enzimas que degradan la matriz de las biopelículas

y simultáneamente ataca las células bacterianas, lo que demuestra su efectividad comparada con el bacteriófago no enzimático sobre biopelículas de *Escherichia coli*. Este diseño elimina la necesidad de expresar, purificar y entregar grandes dosis de enzimas a sitios específicos de infección que dificultan su acceso por la presencia de la matriz extracelular.⁶⁹

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El conocimiento cada vez más amplio de la formación y dispersión de las biopelículas en la naturaleza y como fuente de infecciones ha permitido el diseño de estrategias que evitan la colonización. En el caso de infecciones de dispositivos médicos, se han logrado avances en la búsqueda de materiales con menor grado de hidrofobicidad o la incorporación de biocidas de liberación sostenida; en un futuro se espera contar con tratamientos que ayuden a controlar las diferentes fases de desarrollo de estas biopelículas.

Por otra parte, las señales químicas producidas por una comunidad de microorganismos permite la asociación con otros (bacterias u hongos) para beneficio de ambos. Este hecho puede resultar en procesos de corrosión de materiales o en enriquecimiento del suelo para el caso de biopelículas en el ambiente o en la generación de infecciones mixtas, que dificultan su eliminación como en el caso de la periodontitis. Por estas razones el conocimiento de estos mediadores permitirá el manejo de estas señales y, en consecuencia, dirigir estos procesos para evitar problemas de contaminación microbiana en nuestro beneficio.

REFERENCIAS

1. Hall-Stoodley L, Costerton WJ, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2004;2:95-108.
2. Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, et al. Bacterial biofilms in nature and disease. *Ann Rev Microbiol* 1987;41:435-464.
3. Bos R, van der Mei CH, Busscher JH. Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions. Its mechanisms and methods for study. *FEMS Microbiol Rev* 1999;23:179-230.
4. Keller L, Surette GM. Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. *Nat Rev Microbiol* 2006;4:249-258.
5. Whitehead AN, Barnard MLA, Slater H, et al. Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 2001;25:365-404.
6. Sutherland WI. Microbial exopolysaccharides-structural subtleties and their consequences. *Pure & Appl Chem* 1997;69:1911-1917.

7. Sutherland WL. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology* 2001;147:3-9.
8. Dunne MW. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin Microbiol Rev* 2002;15(2):155-166.
9. Nazar CJ. Biofilms bacterianos. *Rev Otorrinolaringol Cir Cabeza Cuello* 2007;67:61-72.
10. Stewart SP, Franklin JM. Physiological heterogeneity in biofilms. *Nat Rev Microbiol* 2008;6:199-210.
11. Wimpenny J, Manz W, Szewzyk U. Heterogeneity in biofilms. *FEMS Microbiol Rev* 2000;24:661-671.
12. Ladd TL, Costerton JW. Methods for studying biofilm bacteria. *Methods Microbiol* 1990;22:285-307.
13. Lawrence JR, Korber DR, Hoyle BD, et al. Optical sectioning of microbial biofilms. *J Bacteriol* 1991;173:6558-6567.
14. Bloemberg GV, O'Toole GA, Lugtenberg BJJ, Kolter R. Green fluorescent protein as a marker for *Pseudomonas* spp. *Appl Environ Microbiol* 1997;63:4543-4551.
15. Leriche V, Sibille P, Carpentier B. Use of enzyme-linked lectinsorbent assay to monitor the shift in polysaccharide composition in bacterial biofilms. *Appl Environ Microbiol* 66;1851-1856.
16. Djordjevic D, Wiedmann M, McLandsborough LA. Microtiter plate assay for assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:2950-2958.
17. Burton E, Yakandawala N, LoVetri K, Mandhyastha MS. A microplate spectrofluorometric assay for bacterial biofilms. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2007;34:1-4.
18. Xiong YQ, Willard J, Kadurugamuwa JL, et al. Real-time *in vivo* bioluminescent imaging for evaluating the efficacy of antibiotics in a rat *Staphylococcus aureus* endocarditis model. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:380-387.
19. Mansson LE, Medican K, Molitoris BA, et al. Progression of bacterial infections studied in real time; novel perspectives provided by multiphoton microscopy. *Cell Microbiol* 2007;9(10):2334-2343.
20. Bryers DJ. Medical biofilms. *Biotech Biotechnol* 2008;100;1-18.
21. Perencevich EN, Sands KE, Cosgrove SE, et al. Health and economic impact of surgical site infections diagnosed after hospital discharge. *Emerg Infect Dis* 2003;9:196-203.
22. Hoiby N. Understanding bacterial biofilms in patients with cystic fibrosis: Current and innovative approaches to potential therapies. *J Cyst Fibros* 2002;1:249-259.
23. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. Lung infections associated with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:194-222.
24. Moreau-Marquis S, Stanton BA, O'Toole GA. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation in the cystic fibrosis airway. *Pulmonary Pharmacol Ther* 2008;21:595-599.
25. Bakaletz LO. Bacterial biofilms in otitis media: Evidence and relevance. *Pediatr Infect Dis J* 2007;10(Suppl.):S17-S19.
26. Post JC, Hiller NL, Nistico L, et al. The role of biofilms in otolaryngologic infections: Update. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2007;15:347-351.
27. Feigin RD, Kline MW, Hyatt SR, Ford KL. Otitis media. In: Feigin RD & Cherry JD, editors. *Textbook of pediatric infectious diseases*. 3rd ed. Vol. 1. Philadelphia: WB Saunders, 1989;pp:174-189.
28. Bryers JD, Ratner BD. Biomaterials approaches to combating oral biofilms and dental disease. *BMC Oral Health* 2006;6(Suppl. 1):S15.
29. Offenbacher S, Barros SP, Singer RE, et al. Periodontal disease at the biofilm-gingival interface. *J Periodontol* 2007;78:1911-1925.
30. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts MB. Dental caries. *Lancet* 2007;369:51-59.
31. Domingue GJ, Hellstrom WJG. Prostatitis. *Clin Microbiol Rev* 1998;11:604-613.
32. Nickel JC, Costerton JW. Bacterial localization in antibiotic-refractory chronic bacterial prostatitis. *Prostate* 1993;23:107-114.
33. Wells CJ, Leech GJ, Lever AM, Wansbrough-Jones MH. Treatment of native valve *Candida* endocarditis with fluconazole. *J Infect Dis* 1995;31:233-235.
34. Tunkel AM, Nabdekk GL. Infecting microorganisms In: D. Kaye, editor. *Infective endocarditis*. 2nd ed. New York: Raven Press, 1992;pp:85-97.
35. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:167-193.
36. Prestler E, Eder M, Reichmann S, et al. Biofilm formation and morphology of group A streptococci isolates of patients with sepsis or necrotising fasciitis. *Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2005. 15th Congress. Denmark, april 2-5. Abstract 1134_03_427.
37. Wagner C, Obst U, Hänsch GM. Implant-associated posttraumatic osteomyelitis: collateral damage by local host defense? *Int J Artif Organs* 2005;28:1172-1180.
38. Brady RA, Leid JG, Calhoun JH, et al. Osteomyelitis and the role of biofilms in chronic infection. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2008;52:13-22.
39. Kandemir O, Oztuna V, Milcan A, et al. Clarithromycin destroys biofilms and enhances bactericidal agents in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 2005;430:171-175.
40. Donlan RM. Biofilms and device-associated infections. *Emerg Infect Dis* 2001;7(2):277-281.
41. Parsek RM, Fuqua C. Biofilms 2003: Emerging themes and challenges in studies of surface-associated microbial life. *J Bacteriol* 2004;186:3327-4440.
42. Carvalho CCR. Biofilms: recent developments on an old battle. *Recent Patents in Biotechnology* 2007;1:49-57.
43. Shanks RM, Sargent JL, Martinez RM, et al. Catheter lock solutions influence staphylococcal biofilm formation on abiotic surfaces. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2247-2255.
44. Tunney MM, Jones DS, Gorman SP. Biofilm and biofilm-related encrustation of urinary tract devices. In: *Methods in enzymology*. San Diego Doyle RJ, editor. Academic Press, 1999;pp:558-566.
45. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999;284:1318-1322.
46. Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:999-1007.
47. Gordon CA, Hodges NA, Marriott C. Antibiotic interaction and diffusion through alginate and exopolysaccharide of cystic fibrosis-derived *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1988;22:667-674.
48. Mah TFC, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol* 2001;9:4-39.
49. Giwercman B, Jensen ETT, Hoiby N, et al. Induction of β -

- lactamase production in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. Antimicrob Agents Chemother 1991;35:1008-1010.
50. Brown MR Allison DG, Gilbert P. Resistance of bacterial biofilms to antibiotics: a growth-rate related effect? J Antimicrob Chemother 1988;22:777-780.
 51. Lee A, Mao W, Warren MS, et al. Interplay between efflux pumps may provide either additive or multiplicative effects on drug resistance. J Bacteriol 2000;182:3142-3150.
 52. Moyed HS, Broderick SH. Molecular cloning and expression of *hip A*, gene of *Escherichia coli* K-12 that affects frequency of persistence after inhibition of murein synthesis. J Bacteriol 1986;166:399-403.
 53. Percival SL, Bowler P. Biofilms and their potential role in wound healing. Wounds 2004;7:234-240.
 54. James GA, Swogger E, Wolcott R, et al. Biofilms in chronic wounds. Wound Repair Regen 2008;16:37-44.
 55. Ngo Q, Vickery K, Deva AK. Pr21 role of bacterial biofilms in chronic wounds. ANZ J Surg 2007;77 (Suppl. 1):A66.
 56. O'Toole G, Kaplan BH, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Annu Rev Microbiol 2000;54:49-79.
 57. Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. Curr Opin Infect Dis 2004;17:91-96.
 58. Phillips P, Sampson E, Yang Q, et al. Bacterial biofilms in wounds. Wound Healing Southern Africa. 2008;1:10-12.
 59. Witte BM, Marbul A. Role of nitric oxide in wound repair. Am J Surg 2002;183:406-412.
 60. Fang CF. Mechanisms of nitric oxide-related antimicrobial activity. J Clin Invest 1997;99:2818-2825.
 61. Raad I, Hanna H. Intravascular catheters impregnated with antimicrobial agents: a milestone in the prevention of bloodstream infections. Support Care Cancer 1999;7:386-390.
 62. Hentzer M, Givskov M. Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. J Clin Invest 2003;112:1300-1307.
 63. Balaban N, Cirioni O, Giacometti A, et al. Treatment of *Staphylococcus aureus* biofilm infection by the Quorum-sensing inhibitor RIP. Antimicrob Agents Chemother 2007;51:2226-2229.
 64. Singh KP, Párec RM, Greenberg EP, Welsh JM. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. Nature 2002;417:552-555.
 65. Rodríguez-Franco DA, Vázquez-Moreno L, Ramos-Clamont Monfort G. Actividad antimicrobiana de la lactoferrina: Mecanismos y aplicaciones clínicas potenciales. Rev Latinoam Microbiol 2005;47:102-111.
 66. Johansen Ch, Falholt P, Gram L. Enzymatic removal and disinfection of bacterial biofilms. Appl Environ Microbiol 1997;63:3724-3728.
 67. White R. Flaminal®: a novel approach to wound bioburden control. Wounds 2006;2:64-77.
 68. Curtin JJ, Donlan RM. Using bacteriophages to reduce formation of catheter-associated biofilms by *Staphylococcus epidermidis*. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:1268-1275.
 69. Lu KT, Collins JJ. Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104:11197-11202.

EVALUACIÓN

1. La principal ventaja de la asociación de los microorganismos en biopelículas es:
 - a) La mayor producción de células persistentes
 - b) Mayor tasa de reproducción
 - c) Disminución en la capacidad de producción de exopolisacárido
 - d) Supervivencia en ambientes hostiles
 - e) Predilección por ambientes secos
2. Las principales fases de desarrollo de biopelículas son las siguientes, excepto:
 - a) Adhesión
 - b) Filamentación
 - c) Dispersión
 - d) Maduración
 - e) Formación de microcolonias
3. El proceso de *quorum sensing* o autoinducción consiste en:
 - a) Síntesis de mediadores químicos que se producen cuando la población microbiana alcanza un umbral y conduce cambios fenotípicos celulares
 - b) Sistema de señalización que ayuda a la desorción en una biopelícula
 - c) Síntesis de mediadores químicos que inducen la disgregación de biopelículas
 - d) Respuesta de una población microbiana a elevadas concentraciones salinas
 - e) Proceso que favorece la apoptosis celular
4. En las bacterias gramnegativas las moléculas de autoinducción son:
 - a) Vitaminas
 - b) Derivados de homoserinlactona (AHL)
 - c) Péptidos cíclicos
 - d) Trinucleótidos
 - e) Monosacáridos
5. La composición del exopolisacárido en *Pseudomonas aeruginosa* es:

- a) Galactosa
 - b) N-acetilglucosamina
 - c) Arabinosa
 - d) Alginato
 - e) Glucosa-galactosa
6. A las células adheridas en la biopelícula también se les conoce como:
- a) Planctónicas
 - b) Sésiles
 - c) Mutantes
 - d) Persistentes
 - e) Latentes
7. Las características de una biopelícula son las siguientes, excepto:
- a) Microambientes diferenciales
 - b) Sistema circulatorio primitivo
 - c) *Quorum sensing*
 - d) Resistencia a biocidas
 - e) Homogeneidad
8. Las biopelículas de *P. aeruginosa* se asocian estrechamente con la siguiente enfermedad:
- a) Fascitis necrotizante
 - b) Periodontitis
 - c) Fibrosis quística
 - d) Endocarditis valvular
 - e) Gingivitis
9. Entre las principales estrategias para evitar la aparición de biopelículas en catéteres se encuentran las siguientes, excepto:
- a) Uso de filtros para fluidos intravenosos
 - b) Administración de anticoagulantes o antibióticos en el lumen del catéter
 - c) Uso de enzimas
 - d) Cambio frecuente de catéteres
 - e) Técnicas asépticas de implantación de catéteres
10. Las bacterias presentes en las biopelículas son resistentes a los tratamientos antibióticos por:
- a) 10,000 veces
 - b) 100 veces
 - c) 1,000 veces
 - d) 5,000 veces
 - e) 10 veces
11. La falla de penetración de antibióticos en una biopelícula se debe a:
- a) Falta de hidratación del polímero de exopolisacárido
 - b) Exceso de lípidos en el microambiente
 - c) Elevada concentración salina
 - d) Carga aniónica que adsorbe antibióticos con carga opuesta
 - e) Alto grado de entrecruzamiento en la matriz
12. La diferencia en la tasa metabólica y crecimiento en biopelículas favorece:
- a) Mayor captación de nutrientes en las células sésiles
 - b) Resistencia a los antibióticos que requieren células en crecimiento para su actividad
 - c) Favorece mayor adherencia irreversible en superficies
 - d) Menor captación de nutrientes en células planctónicas
 - e) Eliminación de células persistentes
13. Los genes que participan en la generación de células persistentes son:
- a) *bip*
 - b) *hip*
 - c) *arg*
 - d) *per*
 - e) *gal*
14. Entre los patógenos que se asocian con la infección en heridas se encuentran los siguientes excepto:
- a) *Mycobacterium*
 - b) *S. aureus*
 - c) *Peptostreptococcus*
 - d) *Clostridium*
 - e) *Porphyromonas*
15. Recientemente se ha propuesto el uso de este gas para inducir la reparación de heridas por su capacidad de erradicar biopelículas y por su citotoxicidad directa:
- a) CO₂
 - b) O₂
 - c) ON
 - d) N₂
 - e) H₂

16. El uso de estos antibióticos en los catéteres ha demostrado ser útil en la prevención ya que evitan la colonización de bacterias
- Tetraciclinas + macrólidos
 - Sulfas + tobramicina
 - Derivados azólicos
 - Cloranfenicol + amoxicilina
 - Rifampicina + minociclina
17. Los inhibidores de la señalización del *quorum sensing* son blancos terapéuticos para la dispersión de biopelículas, en el caso de infección por *S. aureus* se ha reportado actividad con el uso de:
- Análogos AHL
 - Lactonas cíclicas
 - RIP
 - AMPc
 - Inositol
18. La lactoferrina es una proteína activa contra la dispersión de biopelículas por su capacidad de:
- Inhibición en la síntesis de la matriz
 - Quelación de hierro
 - Interferencia en la señalización del *quorum sensing*
 - Evitar la adhesión irreversible
 - Inhibición de la aparición de células persistentes
19. La fase en que las enzimas interfieren en el desarrollo de biopelículas es:
- Formación de microcolonias
 - Adsorción reversible
 - Maduración de biopelículas
 - Deserción
 - Disgregación
20. Los bacteriófagos son útiles en la dispersión de biopelículas debido a:
- Su capacidad de degradación de exopolisacáridos
 - Evitan la agregación de microorganismos por interferencia del *quorum sensing*
 - Inducen cambios fenotípicos para la expresión de pili
 - Tienen acción citotóxica sobre bacterias específicas
 - Aceleran la maduración de biopelículas

El Consejo Mexicano de Dermatología, A.C. otorgará dos puntos con validez para la recertificación a quienes envíen las seis evaluaciones correctamente contestadas que aparecen en cada número de *Dermatología Revista Mexicana*.

El lector deberá enviar las seis evaluaciones, una por una o todas juntas, a la siguiente dirección:

Dermatología Revista Mexicana

Erasmó Castellanos Quinto 147, colonia Educación, CP 04400, México, DF.

Fecha límite de recepción de evaluaciones: 31 de enero de 2011.