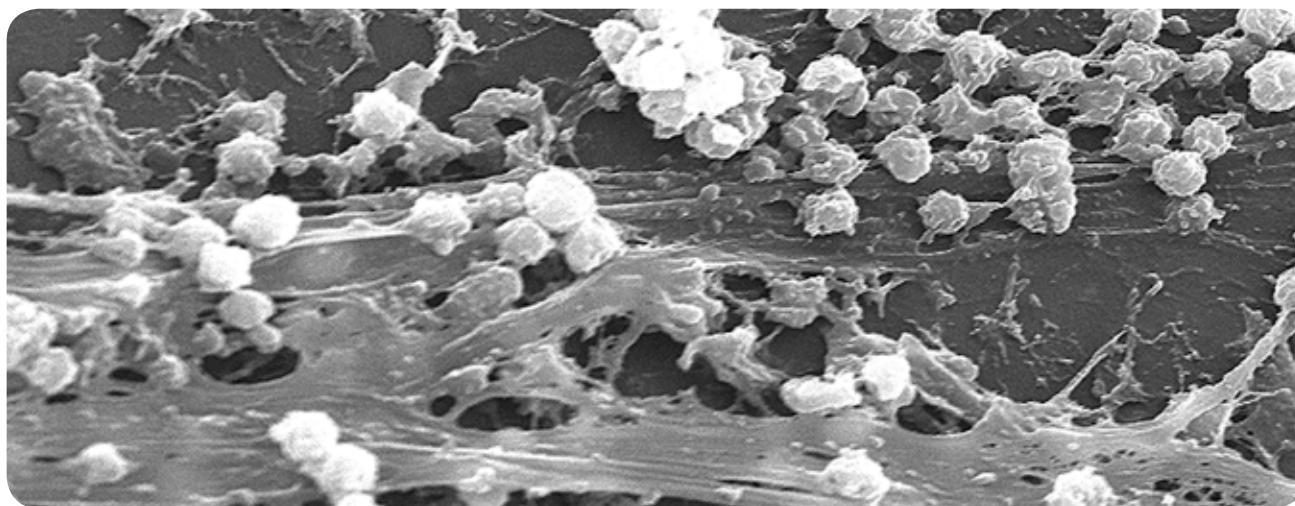


Biofilmes: um inimigo (in)visível

Jacyr Pasternak



Quando invadem um novo ecotipo – isto inclui, a espécie humana – as bactérias podem assumir duas formas: a planctônica, quando circulam isoladamente, e a forma em biofilme. Nesta, elas inicialmente aderem a um substrato – próteses, paredes de vasos, cateteres – e posteriormente produzem uma matriz, denominada glicocalice, onde formam microcolônias.

Bactérias têm sistemas de comunicação entre si, um dos quais chama-se quorum sensing, a capacidade de inferir se a população bacteriana é maior ou menor no local onde ela está, e provavelmente as primeiras bactérias que se fixam a uma superfície emitem sinais químicos que juntam a elas outras bactérias da mesma espécie, ou nas microcolônias já existentes ou em novas microcolônias (1).

Existem evidências de que espécies diferentes possam se juntar nos microfilmes e levar a maior resistência a antimicrobianos, com uma espécie capaz de degradar ou inativar o antibiótico eficiente contra a outra (2). Estas microcolônias têm ecologia diferente das formas planctônicas: elas proliferam mais devagar, prejudicando, portanto, sua resposta a muitos antibióticos que agem essencialmente quando as células se dividem; elas estão mais protegidas tanto dos antibióticos, que têm dificuldade de acesso aos nichos onde elas estão, quanto da resposta do hospedeiro,

pois as células de defesa do hospedeiro, como os neutrófilos, têm maior dificuldade de entrar nesta matriz para fagocitá-las (3).

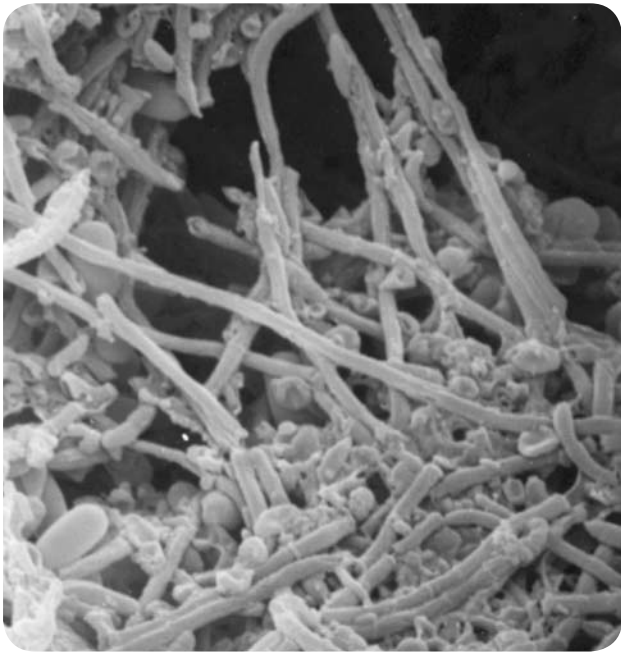
A presença de biofilme pode ser documentada por várias maneiras, que não são rotina nos laboratórios clínicos. Microscopia clássica usando o método de Gram, algo muito simples, pode demonstrá-lo em superfícies ou tecidos, neste caso usando a modificação do método de Gram para tecidos. Técnicas muito mais sofisticadas são claramente mais eficientes: microscopia eletrônica de varredura e, mais recentemente, microscopia confocal de varredura com iluminação a laser (4). Técnicas mais recentes se aproveitam de métodos moleculares para demonstração de ácido nucléico bacteriano em raspados de superfícies, seja de órgãos, seja de próteses ou cateteres; a cultura das bactérias que estão englobadas nos biofilmes é mais difícil e nem sempre é obtida

Qual a importância do fato da existência dos biofilmes?

É enorme: tanto que numa revisão recente do MedLine foram encontradas 8267 citações de trabalhos que analisam a existência e importância dos biofilmes, em especial sua implicação em resistência a tratamento e importância em clínica. Assim existem estudos mostrando correlação entre biofilmes e resistência a múltiplas drogas em *Acinetobacter baumannii* (5); patogênese de doença e formação de biofilme no cervix de mulheres com cervicite por gonorréia (6) onde biofilmes podem se manter em

Jacyr Pasternak

*Médico infectologista. Doutor em medicina. Microbiologista do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Israelita Albert Einstein



mulheres assintomáticas, mas perfeitamente capazes de contagiar seus parceiros; a importância de existirem biofilmes no efeito de antibióticos em doença Peri-odontal (7); a presença de biofilmes em artrites sépticas (8), isto só para citar alguns dos muitos feitos.

Biofilmes são uma das explicações das dificuldades de tratar endocardites, já que se formam biofilmes nas superfícies de válvulas naturais ou prostéticas; biofilmes se estabelecem em feridas (9); biofilmes por *Pseudomonas aeruginosa* e *Burkholderia cenocepacia* em pessoas portadoras de fibrose cística; biofilmes em cateteres urinários mantêm uma população bacteriana permanente que não é erradicável e, nas infecções sistêmicas associadas a cateteres endovenosas, o mesmo fenômeno se estabelece. Essencialmente, uma vez implantada uma população bacteriana em cateter é extremamente difícil eliminá-la.

Técnicas como fazer catheter lock, um selo com alta concentração de antibióticos, seja como tratamento seja como profilaxia da infecção intravascular ligada a cateteres, é uma das técnicas que usamos para ou tratar ou evitar esta infecção e o sucesso não é definitivamente uma coisa constante, se bem que exista eficiência tanto para evitar como para tratá-la.

Já que biofilmes existem, seria possível evitar sua formação, diminuí-la ou termos medicamentos adequados que combatam as bactérias dentro deles? Evitar parece claramente impossível. Experimentos com vários tipos de substratos plásticos mostram que alguns têm maior ou menor interação com proteínas, que são as que se depositam sobre os substratos antes da implantação das bactérias. Infelizmente, do ponto de vista químico, todas as proteínas têm uma região hidrófila e uma região hidrófoba; portanto substratos que têm uma ou outra natureza deste tipo terão inevitavelmente adesão de uma ou outra região, de acordo com sua natureza. Em outros termos, não existe nenhum substrato no qual nada grude...

Diminuir a formação de biofilmes parece possível mas, é difícil: em equipamentos de respiradores ficou claro que tanto clorhexidina como peróxido de hidrogênio ou hipoclorito tem menos efeito sobre a flora residente em biofilme que em bactérias planctônicas (10).

Conhecimentos melhores sobre os mecanismos moleculares que levam a produção de biofilmes são necessários e a regulação genética e expressão de fatores genômicos poderiam levar a métodos para impedir ou diminuir sua formação, mas este é um assunto que ainda está na fase de pesquisa básica; há alguns trabalhos instigantes, como de pesquisadores da Universidade Federal do Rio de Janeiro sobre *Staphylococcus aureus* e sua capacidade de formar biofilmes (11) e outros como sobre *Acinetobacter* (12).

Cateteres revestidos de antimicrobianos têm alguma ação, mas não previnem a formação de biofilmes e o uso de correntes elétricas de baixa intensidade tem ação, pelo menos em modelos experimentais, para diminuir a população bacteriana dentro dos biofilmes (13); num outro estudo bactérias em biofilme, cuja resistência a antibióticos pode ser de 500 a 5000 vezes maior que bactérias planctônicas, pode ter sua sensibilidade a antibióticos muito aumentada quando submetidas a correntes elétricas de baixa intensidade (14).

A existência de biofilmes complica muito o uso clínico de antimicrobianos. Essencialmente estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos em infecção são feitos utilizando parâmetros, como a concentração inibitória mínima (MIC), de bactérias cultivadas a partir de amostras clínicas; estas são bactérias que se comportam como bactérias planctônicas. Não conhecemos dois dados cruciais para podermos estabelecer o melhor regime de antibacterianos quando temos as bactérias em biofilme: o MIC destas sempre mais alto que as planctônicas, mas quanto mais alto? E a concentração obtida dentro do biofilme, que varia em cada região, isto para não falar da complicação maior que é a possível presença, em biofilmes, de mais de uma espécie bacteriana com uma protegendo a outra ou outras produzindo, por exemplo, beta lactamases ou outros interferentes na ação antibiótica.

Uma solução muito efetiva para o problema dos biofilmes em materiais prostéticos é ou não usá-los – ou pelo menos restringir ao mínimo seu uso. Um cateter intravascular usado com o devido cuidado e retirado assim que possível, tem menor risco de colonização e formação de biofilme que um cateter deixado por conveniência ou até porque “podemos vir a precisar dele no futuro” e que fica, mesmo sem ser utilizado. Os riscos da formação de biofilme vão aumentando...O mesmo vale para cateteres urinários que com frequência ficam em pacientes conscientes que poderiam perfeitamente urinar sem o auxílio deles, só porque é mais cômodo tê-los ou porque o doutor quer saber o débito urinário; em pacientes hemodinamicamente estáveis

para que? Se o doutor quer o balanço do paciente, mais preciso e efetivo, é a variação de peso do paciente, que o débito urinário. Isto sem falar nas muitas oportunidades de errar e transformar um sistema urinário fechado em aberto e, uma vez feita a transformação, bactérias vão se ancorar no muco do cateter e não vão mais sair de lá, nem por decreto...

Em pacientes com fibrose cística, fisioterapia agressiva, constante e repetida pode pelo menos postergar a data em que *Pseudomonas aeruginosa* ou *Staphylococcus aureus* grudem no muco espesso e nunca mais sejam deslocáveis de lá, ou pior ainda, que patógenos mais agressivos e que piorem o prognóstico destes pacientes se instalem, como a *Burkholderia cenocepacia*.

Estudos mostram também que biofilmes são determinantes em infecções dentárias e periodontais e infecções em superfícies biológicas, como em otites médias e em amígdalas e adenóides. Em locais, como as amígdalas, onde existem nichos, provavelmente a persistência bacteriana leva a repetição de infecções e possivelmente em outras situações, como bronquiectasias, deve ocorrer o mesmo.

Percebemos que sabemos pouco ainda das implicações da existência ampla e irrestrita dos biofilmes em patologia humana; precisamos de mais pesquisas e melhores estudos. No entanto, o que sabemos hoje permite pelo menos minimizar os efeitos deletérios dos biofilmes – e a melhor manobra é minimizar ou evitar a exposição de superfícies estranhas dentro do corpo humano. Estudos em materiais de prótese estão sendo feitos que mostrem como diminuir a adesão bacteriana, mas no momento, insisto, o que pode e deve ser feito é ter em mente que superfícies estranhas são colonizáveis: a colonização pode ser diminuída ou evitada com os cuidados de antisepsia, na colocação das mesmas e, se forem de utilização temporária, como cateteres intravasculares ou vesicais, que o sejam pelo menor tempo possível. ◆

Referência Bibliográfica

- 1) Hooshangi S, Bentley WE. From unicellular properties to multicellular behaviour: bacterium quorum sensing circuitry and applications. *Current Opin Biotechnol* 2008; Oct 29, e-published ahead of print
- 2) Simões M, Simões LC, Vieira MJ. Species association increases biofilm resistance to chemical and mechanic treatments. *Water Res* 2008 Oct 18, e-published ahead of print
- 3) Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001; 358: 135-138
- 4) Kania R, Lamers GEM, Vonk MJ, Dorpmans E, Struik J, Huy T, et al. Characterization of mucosal biofilms on human adenoid tissues. *The laryngoscope* 2008; 118(1): 128-134
- 5) Rao KS, Karthika RU, Singh SP, Shashikala P, Kanungo R, Jayachandran S, Prasi K. Correlation between biofilm production and multiple drug resistance in imipenem resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Indian J Med Microbiol* 2008. 26(4):333-7
- 6) Sheichen CT, Shao JQ, Ketterer MR, Apicella MA. Gonococcal cervicitis: a role for biofilm in pathogenesis. *J Infect Dis* 2008, Oct 3, published ahead of print
- 7) Tamura A, Ara T, Imamura Y, Fujii T, Wang PL. The effects of antibiotics on in vitro biofilm model of periodontal disease. *Eur J Med Res* 2008; 13(9):439-45
- 8) Gerard R, Tandé D, Hery G, Stindel E, Dubrana F. Septic arthritis after arthroscopic cruciate ligament reconstruction: in vitro comparison of the behaviour of two types of interference screws towards *Staphylococcus aureus* adherence. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 2008. 94(6): 541-5
- 9) Rhoads DD, Wolcott RD, Percival SL. Biofilms in wounds: management strategies. *J Wound Care* 2008. 17(11): 502-8
- 10) Peeters E, Nelis HJ, Coenye C. Evaluation of the efficacy of disinfection procedures against *Burkholderia cenocepacia* in biofilms. *J Hosp Infection* 2008, Oct 31, published ahead of print
- 11) Coelho LR, Souza RR, Ferreira FA, Guimarães MA, Ferreira-Carvalho BT, Figueiredo AM. Agr RNA III divergently regulates glucose induced biofilm formation in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology* 2008. 154(pt 11): 3480-90
- 12) Tomaras AP, Flager MJ, Dorsey CW, Gaddy J, Actis LA. Characterization of a two component regulatory system from *Acinetobacter baumannii* that controls biofilm formation and cellular morphology. *Microbiology* 2008. 154(Pt11): 3398-409
- 13) Del Pozzo JL, Rouse MS, Mandrekar JN, Steckelberg JM, Patel R. The electrical effect: reduction of *Staphylococcus* and *Pseudomonas* biofilms by prolonged exposure to low-intensity electrical current. *Antimicrob Agents Chemother* 2008, Oct 27 e-pub ahead of print
- 14) Del Pozzo JL, Rouse MS, Patel R. Bioelectric effect and bacterial biofilms: a systematic review. *Int J Artif Organs* 2008. 31(9): 786-95

Revisão

Prof. Dra. Suely Ciosak

Professora Associada do Departamento de

Enfermagem em Saúde Coletiva da Escola de

Enfermagem da Universidade de São Paulo - USP

Contato: sbcc@sbcc.com.br