



Joana Raquel Ferraz da Silva

Importância da formação de biofilmes nas infeções associadas a biomateriais

Universidade Fernando Pessoa – Faculdade Ciências da Saúde

Porto, de Julho de 2015.

Importância da formação de biofilmes nas infecções associadas a biomateri

Importância da formação de biofilmes nas infeções associadas a biomateri



Joana Raquel Ferraz da Silva

Importância da formação de biofilmes nas infeções associadas a biomateriais

Universidade Fernando Pessoa – Faculdade Ciências da Saúde

Porto, de Julho de 2015.

Importância da formação de biofilmes nas infecções associadas a biomateri

Importância dos biofilmes nas infecções associadas a biomateriais

Orientadora: Professora Doutora Maria Pia Ferraz

Autora: Joana Raquel Ferraz da Silva

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte integrante dos requisitos para obtenção do grau
de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Resumo

Ao longo dos anos foi perceptível que as bactérias na forma de biofilmes se estariam a tornar um problema de saúde pública, traduzindo-se num exacerbar de resistências a agentes antimicrobianos.

As bactérias em forma de biofilmes têm vantagens em relação às bactérias que vivem livremente. Os biofilmes permitem o crescimento de bactérias de forma protegida e permitem a sobrevivência mesmo quando as condições não se mostram favoráveis. A troca de nutrientes é assim facilitada e por isso o crescimento torna-se mais propício. Para além disso apresentam uma maior tolerância a agentes antimicrobianos.

Os microrganismos mais relevantes neste tipo de infecções são as bactérias de Gram positivo *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. No que diz respeito às bactérias de Gram negativo salientamos a *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. A bactéria *S. aureus* merece especial importância uma vez que tem desenvolvimento rápido e tem capacidade de evoluir de infeção aguda para crónica persistente.

As doenças onde são visíveis microrganismos na forma de biofilme podem ser várias, entre as quais, cáries dentárias, periodontite, pneumonia, septicémia e outras. Existem infeções também elas associadas com a existência de microrganismos na forma de biofilmes mas onde existe biomateriais ou dispositivos médicos, como é o caso da infeção associada ao cateter urinário ou então a infeção associada ao cateter venoso central.

A evolução tem-se verificado em locais específicos como as técnicas de colheita e de medição de biofilmes para que estas sejam mais confiáveis e desenvolvidas.

Enquanto não é possível a erradicação total destas infeções é necessário dar maior importância às medidas e estratégias de controlo e prevenção. As condições de assepsia são fundamentais e é necessário questionar o uso de antibióticos para que este não se torne abusivo. Para tal é necessário que o conhecimento dos agentes antimicrobianos seja profundo, levando à escolha adequada do agente, concentração e duração do tratamento, obtendo resultados mais favoráveis.

Com o aumento da esperança média de vida, a população de hoje é envelhecida, e por isso, mas necessitada de cuidados e de intervenções médicas e de dispositivos biomédicos. Apesar de em muitas circunstâncias existir probabilidade de adquirir infecção é imperativa a sua utilização.

Fala-se, portanto, de um problema de saúde pública. Para impedir que se torne um problema maior é necessário evoluir no que diz respeito à elaboração de dispositivos médicos, utilizando por exemplo dispositivos revestidos à superfície com compostos que inibam a formação de biofilme, tornando os dispositivos mais resistentes à colonização microbiana, ou então, utilizar vírus específicos contra as bactérias (bacteriófagos) que se encontram em biofilmes. Estas estratégias promissoras podem, por isso, vir a diminuir significativamente estas infecções, diminuindo a incidência e mortalidade das infecções.

Abstract

Throughout the years it has been perceptible that bacterial biofilms are becoming a public health issue, resulting in an aggravation of the resistances to antimicrobial agents.

Bacterial biofilms have advantages compared to bacterium which live freely. Biofilms allow bacterium to grow protectively and allow them to survive even when the conditions are not favourable. The exchange of nutrients is therefore facilitated and for that reason prone to grow. In addition, they also present a bigger tolerance to antimicrobial agents.

The microorganisms more relevant in this kind of infections are the gram positive *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* and the gram negative *Escherichia coli*. The *S. aureus* deserves a special focus, since it has a fast development and also has the ability to evolve from an acute into a chronic persistent infection.

The (related) diseases/infections may be several, namely tooth decay, periodontitis, pneumonia, septicemia, among others.

It has been observed some evolution in specific areas, such as measurement and collection technics, in order to assure they are developed and trust worthy.

Until it is possible to completely eradicate these infections, strategic measures of control and prevention need to have a greater importance. Conditions of asepsis are fundamental and it is also necessary to question the use of antibiotics, so that it doesn't become abusive. In order to do that, it is necessary to have deep knowledge of the antimicrobial agents, resulting on the appropriate choice of agent, concentration and duration of treatment, in order to obtain more favorable results.

A longer average life expectancy, means an ageing population, which makes the need for medical care and biomedical devices vital. For this reason, many people are susceptible to infection through bacterial biofilms – it is referred to as a public health issue.

Biofilms resistance to antibiotic therapy, make it urgent to develop new antimicrobial therapies, using for example medical device surface-coated with compounds, which prevent biofilm formation, thus making the medical devices more resistant to microbial colonization. Another option is to use specific virus against the bacterium (bacteriophage) which can be found in biofilms. For this reason, these promising strategies may decrease significantly these infections and consequently decrease the incidence and mortality of infections.

Agradecimentos

Em especial, agradeço à Professora Doutora Maria Pia Ferraz por toda a orientação, incentivo e disponibilidade cedida ao longo da realização deste trabalho de revisão bibliográfica.

A todos os amigos que me acompanharam durante estes anos, em especial à Carolina Martins, Carolina Tavares, Cláudia Duarte e Raquel Mesquita, pelo apoio e amizade incondicional.

À minha família pelo apoio total, preocupação e compreensão.

Ao meu namorado, Francisco Gouveia, por todo o incentivo e ajuda que me prestou.

Por fim, mas não menos importante, aos meus pais que me acompanharam sempre e nunca me deixaram desistir. Por todo o amor que me deram e por tornarem mais fáceis todas as etapas alcançadas.

Índice	
Resumo	i
Abstract.....	iii
Agradecimentos	v
Índice	vi
Índice de figuras	vii
Índice de tabelas	vii
Lista de abreviaturas	viii
Introdução	1
1.A) O que é um biofilme?.....	2
1.B) Composição dos biofilmes	5
1.C) Etapas de formação de um biofilme.....	7
1.D) Fatores que influenciam a formação de biofilmes	9
1.E) Quorum sensing.....	12
1.F) Microrganismos relevantes nos biofilmes	14
2. Importância dos biofilmes – aplicação no cotidiano	16
2.A) Vantagens e desvantagens do desenvolvimento de biofilmes	16
3. Resistência e tolerância.....	17
4. Dispositivos médicos ou biomateriais – Definição e outras informações importantes.....	19
5. Infecções causadas por biofilmes associadas a biomateriais	20
5.A) Infecção associada a cateter urinário:	20
5.B) Infecção associada a prótese de válvula cardíaca;	22
5.C) Infecção associada ao cateter venoso central	23
6. Doenças não associadas a dispositivos médicos causadas por biofilmes	24
7. Estratégias de prevenção e controlo de biofilmes.....	26
8. Tratamento	29
Conclusão	30
Bibliografia.....	32

Índice de figuras

Figura 1 - Diagrama representativo de um biofilme	6
Figura 2 - Etapas de formação de um biofilme	7
Figura 3 - Possíveis mecanismos de resistência	19
Figura 4 - Superfície interna de um dispositivo médico	23
Figura 5 - Dentes saudáveis vs Dentes com periodontite	25

Índice de tabelas

Tabela 1 - Fatores envolvidos na formação de biofilmes.....	9
Tabela 2 - Exemplos de dispositivos médicos por classe.....	20

Lista de abreviaturas

CMC – Concentração micelar crítica

CMI – Concentração mínima inibitória

DNA - Ácido desoxirribonucleico

EPS – Substâncias poliméricas extracelulares

FQ – Fibrose quística

MRSA – S. aureus resistentes à Meticilina

RNA – Ácido ribonucleico

Introdução

Ao longo deste trabalho vão ser apresentados todos os fundamentos teóricos para que a percepção desta temática seja possível. Será possível entender o que é um biofilme e qual a sua composição. Serão abordadas todas as etapas do desenvolvimento de bactérias na forma de biofilmes, será feita a caracterização das bactérias com maior relevância neste tipo de infecções e quais os biomateriais mais propícios à formação dos mesmos. Fatores que influenciam a formação de um biofilme tais como algumas estratégias de eliminação de biofilmes. Serão abordadas algumas estratégias estudadas com o intuito de eliminar mais eficaz e rapidamente estes biofilmes.

Biofilme

Em 1938, com a descoberta da penicilina por parte Alexander Fleming, os antibióticos tornaram-se a chave do sucesso do sucesso para controlar/erradicar muitas infecções. No entanto surgiram relatos da existência de microrganismos em biofilme, que ao se apresentarem em comunidade organizada e aderida a uma superfície. Os microrganismos que existem nesta forma adquirem comportamentos diferentes, que fazem deles mais resistentes a antimicrobianos.

1.A) O que é um biofilme?

Foi no século XVII, Antonie van Leuwenhoek, ao analisar a superfície dos seus dentes, verificou pequenos agregados, que posteriormente seriam denominados de biofilmes. Conhecidas como comunidades complexas e dinâmicas de microrganismos, os biofilmes, são o processo pelo qual os microrganismos se anexam e crescem irreversivelmente numa superfície e produzem polímeros extracelulares que facilitam a fixação e a formação da matriz (Costerton *et al.*, 1999). Constituem, por isso, um agregado de microrganismos que crescem anexados a uma superfície, e que são posteriormente revestidos por uma camada heterogênea de compostos extracelulares, a matriz (Pina *et al.*, 2010). Para além dos microrganismos existem outros componentes como a fibrina, plaquetas ou imunoglobulinas que podem ser integrados na matriz biofilme (Hoiby *et al.*, 2014).

Os biofilmes desenvolvem-se preferencialmente em superfícies inertes, ou seja, dispositivos médicos (superfícies artificiais ao hospedeiro), ou sobre o tecido morto, superfícies naturais ao hospedeiro (Costerton *et al.*, 1999).

Uma vez que é necessária a existência de microrganismos para a formação de biofilmes, será necessário fazer uma pequena abordagem ao tema. Os microrganismos são estruturas simples capazes de comportamentos muito complexos. Existem na forma planctónica, onde surgem em suspensão ou dispersos no meio aquoso ou na forma sésil onde estão aderidos a uma superfície sólida organizando-se em biofilmes. Tanto as bactérias como os fungos podem causar infecções através de biofilmes mas no entanto as infecções causadas por biofilmes são predominantemente por bactérias uma vez que apresentam elevadas taxas de reprodução e elevada capacidade de adaptação ao ambiente externo. (Stoodley *et al.*, 2002). Estes biofilmes podem conter apenas uma espécie de microrganismo ou várias (Costerton *et al.*, 1999; Hoiby *et al.*, 2014).

Estas bactérias aderem irreversivelmente a uma superfície, não sendo, por isso removidas por lavagem suave (Donlan, 2002). Esta adesão pode dar-se em superfícies naturais ou artificiais no hospedeiro (Hoiby *et al.*, 2014).

As bactérias em biofilme são metabólicas e morfologicamente muito diferentes das bactérias em suspensão (Costerton *et al.*, 1999; Fux *et al.*, 2005). Expressam, por isso, propriedades específicas quando comparadas com as mesmas no estado planctónico (Hoiby *et al.*, 2014). Apresentam maior resistência a antibióticos e a desinfetantes (Nascimento and Taveira, 2003). Também surgem com resistência acrescida a radiação UV, à desidratação e a predadores como protozoários. Esta resistência acrescida deve-se à diferença associada ao transporte de solutos entre outros fatores. Isto é, um biofilme é caracterizado por um ambiente densamente empacotado e por isso a circulação de líquido é limitada (Xavier *et al.*, 2003). Assim, a transferência de massa ocorre por difusão, processo muito mais lento. Para além disso, existem situações em que os agregados estão muito espessos, formando gradientes de solutos, o processo de transporte é a difusão. Trata-se de um processo muito lento, tornando-se limitante. Tal não acontece nas células na forma livre, onde o transporte de solutos do meio líquido para a célula é um processo muito rápido (Nascimento and Taveira, 2003).

Normalmente estes biofilmes causam infecção crónica, infecção essa que persiste mesmo após o tratamento com antibiótico adequado e após serem ativados os mecanismos de defesa do hospedeiro, progredindo. Geram inflamação em torno do local onde se forma o biofilme. Esta inflamação local persistente é a única característica comum a várias infecções por biofilme, uma vez que os restantes sinais e sintomas dependem do comprometimento da função do órgão ou corpo estranho infetado pelo biofilme microbiano (Hoiby *et al*, 2014).

1.B) Composição dos biofilmes

Os biofilmes são constituídos por agregados de diferentes espécies de microrganismos. Esses microrganismos representam cerca de 15 % do volume e a matriz ocupa cerca de 85% do mesmo (Kokare *et al.*, 2008; Tenke *et al.*, 2012).

O principal elemento dessa matriz é o EPS (substâncias poliméricas extracelulares) que é responsável pela morfologia, coesão e integridade funcional. A sua composição é determinante no que diz respeito às propriedades físico-químicas e biológicas dos biofilmes. A quantidade de EPS produzido por organismos diferentes pode variar, e aumenta a quantidade de EPS com a idade do biofilme (Kokare *et al.*, 2008). É esta matriz que forma a ‘rede’ polimérica que vai envolver as células microbianas. O EPS tem uma composição muito diferente de biofilme para biofilme mas, primeiramente, é constituído por polissacarídeos, que servirão de base para as células se ligarem. Esta matriz é também composta por proteínas, lípidos e ácidos nucleicos (DNA, RNA), fosfolípidos, glicoproteínas. A presença de proteínas mostra-se de elevada importância uma vez que existem indicativos de que a sua presença pode alterar a atividade antimicrobiana de alguns antibióticos (Fux *et al.*, 2005; Henriques *et al.*, 2013).

A matriz assume, novamente, um papel importante quando falamos na presença de ácidos nucleicos (material genético), uma vez que aliado ao facto das bactérias estarem muito próximas, aumenta a probabilidade de aquisição de novo material genético (Henriques *et al.*, 2013).

Esta matriz de EPS impede fisicamente o acesso de certos agentes antimicrobianos para ao biofilme, e restringe a difusão de compostos do ambiente para o biofilme (Costerton *et al.*, 1999; Kokare *et al.*, 2008).

Proporciona ainda uma proteção contra uma variedade de tensões ambientais como as variações de pH, radiação UV e choque osmótico (Kokare *et al.*, 2008; Behlau and Gilmore, 2008).

Os canais de água existentes permitem a troca de nutrientes e metabólitos com a fase aquosa, aumentando a disponibilidade de nutrientes, bem como a remoção de metabolitos potencialmente tóxicos (Kokare *et al.*, 2008).

Apesar das diferentes etiologias, as infecções por biofilmes partilham de algumas características comuns, como: desenvolvimento preferencial em superfícies inertes, tecidos mortos e instrumentos médicos. O crescimento lento é um fator muito importante que está relacionado com resistências adquiridas pelas células na forma de biofilme. Os antibióticos não têm capacidade de eliminar o biofilme, apenas eliminam os sintomas de infecção. (Nascimento and Taveira, 2003).

Na figura 1 é perceptível visualizar que apesar de todas as variações possíveis de existir em cada biofilme, sabe-se que todos eles apresentam 3 camadas:

- camada responsável pela ligação à superfície de um tecido ou biomaterial;
- camada composta pelos microrganismos compactos;
- camada que corresponde à superfície externa na qual os organismos planctónicos podem surgir e se anexar (Choong and Whitfield, 2000).



Figura 1 – Diagrama representativo de um biofilme (adaptado Costerton, J. W., Stewart, P. S., e Greenberg, E. P.,1999).

1.C) Etapas de formação de um biofilme

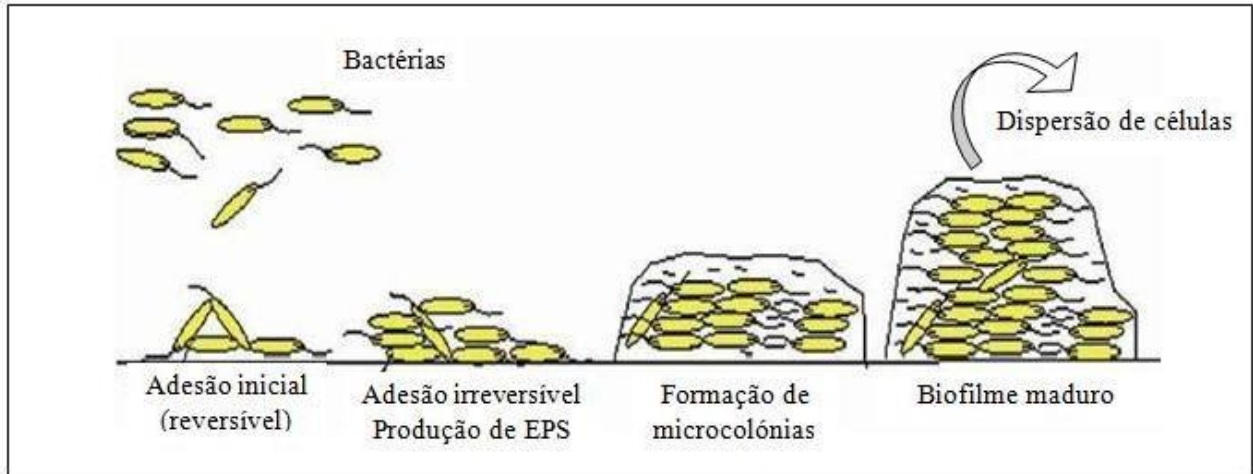


Figura 2 – Etapas de formação de um biofilme (adaptado de Kokare, C. R., Chakraborty, S., Khopade, A. N. e Mahadik, K. R., 2008)

A formação de biofilme ocorre passo a passo, como a formação das várias camadas, através da adesão bacteriana, o crescimento bacteriano e a expansão do biofilme (Fux *et al.*, 2005; Kokare *et al.*, 2008). As etapas que levam à formação do biofilme são possíveis de visualizar na Figura 2.

O processo de formação de um biofilme inicia-se com a adesão de células livres, neste caso, bactérias, a uma superfície sólida, e a posterior fixação. O crescimento e a atividade bacteriana é substancialmente melhorada ao incorporar superfícies às quais os microrganismos se podem anexar (Kokare *et al.*, 2008).

Esta etapa é determinante pois representará a base de todo o biofilme e ocorre em poucos minutos. A velocidade com que se dá esta adesão inicial vai depender de alguns fatores, entres os quais, a afinidade das moléculas para a superfície sólida e das condições hidrodinâmicas do meio líquido, fatores estes que serão abordados mais aprofundadamente neste trabalho (Stoodley *et al.*, 2002).

Numa segunda etapa dá-se o crescimento e divisão das células que sofreram a adesão inicial. Surge a produção do EPS e, por isso, a adesão passa a irreversível e firme.

A etapa seguinte caracteriza-se por um precoce desenvolvimento da arquitetura do biofilme, com formação de microcolónias (Donlan, 2001b; Simões *et al.*, 2007).

As bactérias ao se desenvolverem no interior da matriz (EPS), emitem sinais químicos que lhes permite comunicar com as restantes células bacterianas (Xavier *et al.*, 2003).

Na 4ª etapa é possível visualizar um biofilme maduro, que apresenta canais de água. É aqui que a maior parte das bactérias altera os seus processos fisiológicos para se adaptar às condições do seu novo 'habitat' (Stoodley *et al.*, 2002).

Ocasionalmente, por razões mecânicas, algumas bactérias são eliminadas e são, portanto, libertadas para o ambiente circundante (Prakash *et al.*, 2003). Trata-se da última etapa é caracterizada pela libertação de porções do biofilme para o meio aquoso envolvente (Costerton *et al.*, 1999). Os mecanismos que levam a esse desprendimento são: erosão e descamação. Na erosão superficial a perda é causada por alterações ambientais, é contínua e leva ao desprendimento de uma única célula ou de uma pequena porção do biofilme. Na descamação ou descolamento, a perda é rápida e maciça. Surge como resultado de alterações de algumas condições no interior do biofilme. (Stoodley *et al.*, 2002; Xavier *et al.*, 2003; Prakash *et al.*, 2003). Enzimas específicas produzidas por diferentes organismos em diferentes fases de crescimento do biofilme contribuem para descolamento (Prakash *et al.*, 2003).

Após a etapa inicial que se caracteriza pela adesão de células, surgem as etapas (2ª, 3ª e 4ª) que vão determinar tanto a estrutura como a atividade do biofilme.

Os biofilmes, na natureza, podem ter um elevado nível de organização, podem existir em comunidades únicas ou múltiplas espécies e formar uma única camada ou estrutura tridimensional (Kokare *et al.*, 2008). Embora normalmente adquira uma forma tridimensional e heterogénea (Henriques *et al.*, 2013).

Resumidamente, sabe-se que para que haja formação do biofilme têm de ocorrer os seguintes passos:

- deposição de um filme num dispositivo;
- fixação de microrganismos;
- adesão microbiana e ancoragem à superfície pela produção de matriz (EPS);
- crescimento, multiplicação e disseminação dos microrganismos (Choong and Whitfield, 2000).

1.D) Fatores que influenciam a formação de biofilmes

A formação de um biofilme implica uma adesão prévia a uma superfície o que torna o fenómeno muito complexo uma vez que ele depende de vários fatores e de diversas variáveis. De uma forma geral podemos separar em três grupos, os fatores ambientais, as propriedades do material e as características da célula bacteriana (Stoodley *et al.*, 2002).

Tabela 1 – Fatores envolvidos na formação de biofilmes (adaptado de (Simões *et al.*, 2007).

Fatores ambientais	Propriedades do material	Caraterísticas da célula bacteriana
pH	Configuração	Carga da superfície
Temperatura	Hidrofobicidade	Flagelos
Concentração bacteriana	Composição química	Fimbrias
Condições de fluxo	Configuração física	EPS
Presença de antibióticos	Carga da superfície	Hidrofobicidade
Tempo de exposição	Rugosidade	Moléculas sinalizadoras

Inicialmente é necessário compreender qual o tipo de microrganismo, uma vez que existem alguns que possuem aptidão superior para a produção de polímeros extracelulares e que por isso vão ver facilitados os processos de adesão a superfícies.

Na tabela 1 é possível visualizar os fatores que afetam a formação de biofilmes, separados por grupos, fatores ambientais, propriedades do material e características da célula.

É, por isso, necessário avaliar o tipo da superfície na qual está a ocorrer a adesão bacteriana. A extensão da colonização aumenta com o aumento da rugosidade, uma vez que a retenção do microrganismo será maior (Prakash *et al.*, 2003; Kokare *et al.*, 2008).

Esta rugosidade permite que o microrganismo esteja mais protegido face às forças do fluido e menos suscetível às forças de corte (Donlan, 2002). No entanto, este fator apenas se torna determinante quando estamos a falar da primeira camada do biofilme, assim à medida que o biofilme se desenvolve a interferência vai ser cada vez menor. Ainda falando das características do material, podemos falar da hidrofobicidade. Existe uma interação hidrofóbica que ocorre entre a célula e a superfície capaz de superar as forças repulsivas.

Os microrganismos aderem assim mais facilmente a superfícies hidrofóbicas como é o exemplo dos plásticos, do que a superfícies hidrofílicas (metais e vidros) (Kokare *et al.*, 2008).

Embora existam exceções, sabe-se que os materiais hidrofóbicos e mais ásperas irão desenvolver biofilmes mais rapidamente (Donlan, 2001b; Prakash *et al.*, 2003).

Falando agora das características ambientais. Características físico-químicas do meio aquoso, tais como pH, nível de nutrientes, força iónica e temperatura podem desempenhar um papel importante na taxa de adesão microbiana às superfícies (Prakash *et al.*, 2003; Kokare *et al.*, 2008).

Os biofilmes formam-se a um pH próximo da neutralidade e, a alteração para valores inferior ou superiores vai afetar a formação dos mesmos. Tal acontece porque o pH tem um efeito determinante no metabolismo microbiano. Além disso sabe-se que o pH interfere as propriedades eletrostáticas dos mesmos, podendo alterar a repulsão entre eles e dificultar assim o processo de adesão às superfícies (Prakash *et al.*, 2003).

Relativamente às características dos microrganismos, existem uma série de fatores a ter em consideração. A existência de apêndices extracelulares mostra-se determinante, isto é, quando o microrganismo possui flagelos e pílí ou fímbrias a adesão está claramente favorecida.

Os flagelos são os responsáveis pelo movimento e mostram-se preponderantes na fase inicial aquando da fixação da bactéria à superfície. A pílí ou fímbrias, são estruturas proteicas externas, filamentos. Ambas permitem uma maior adesão entre microrganismos, permitindo ultrapassar as forças de repulsão comuns a todos os materiais (Donlan, 2001b; Prakash *et al.*, 2003).

1.E) Quorum sensing

Trata-se de um mecanismo de sinalização celular. E sabe-se que este fenómeno desempenha um papel na fixação das células (Kokare *et al.*, 2008). Sendo, por isso, um mecanismo que permite a comunicação entre microrganismos através da produção e receção de moléculas de sinalização (Vega *et al.*,2014). Certos elementos do biofilme libertam compostos metabólicos que vão agir como sinais de comunicação para a restante comunidade do biofilme (Henriques *et al*, 2013).

Através deste mecanismo é possível para as bactérias que pertencem a um biofilme comunicar utilizando sinais químicos. Este mecanismo fornece às bactérias capacidade de se adaptarem ao ambiente externo, diminuindo ou aumentando a disponibilidade de nutrientes. Permite a defesa contra microrganismos que podem competir para os mesmos nutrientes. Este mecanismo possibilita, ainda, as bactérias a deteção da densidade ou quantidade de bactérias da mesma estirpe, utilizando eficientemente os recursos disponíveis. Assim, pode concluir-se que este mecanismo depende da densidade celular, ou seja, quanto maior for o número de células mais será o número de sinalizadores químicos libertados (Henriques *et al*, 2013).

Pensa-se que o surgimento de biofilmes está relacionado com o mecanismo de Quorum sensing, isto é, as bactérias adotaram aquela conformidade, que ocorre com a adesão das bactérias à superfície, porque o ambiente externo o exigia, ou seja, este fenómeno foi desenhado para situações difusão limitada (Kokare *et al.*, 2008).

Sabe-se que este tipo de comunicação celular/sinalização será significativamente diferente consoante o tipo de biofilme, se for multiespécies ou então com um único tipo de bactérias (Stoodley *et al.*, 2002; Kokare *et al.*, 2008).

O mecanismo permite às bactérias coordenar mecanismos aquando das células individuais, porém, permite também a fluência dos processos de estabelecimento de maturidade do biofilme (Vega *et al.*,2014).

Este fenómeno mostra-se especialmente importante para as bactérias patogénicas durante a infeção de um hospedeiro para coordenar a sua virulência, a fim de escapar da resposta imune do hospedeiro, permitindo assim a realização de infeção (Stoodley *et al.*, 2002).

Permite alterar distribuição de espécies bacterianas específicas no biofilme, alterar a expressão de proteínas em células vizinhas, introduzir uma nova característica genética em células vizinhas e incorporar bactérias em biofilmes (Kokare *et al.*, 2008).

É possível esta sinalização célula a célula (quorum sensing) interferir na formação do biofilme, podendo levar ao retardamento processo de formação do biofilme tornando-o por isso mais frágil e suscetível a vários tratamentos (Vega *et al.*, 2014).

1.F) Microrganismos relevantes nos biofilmes

Os organismos que desenvolvem biofilmes são dos mais variados. Estes organismos podem formar biofilmes de cultura pura ou polimicrobianos onde existem várias espécies de microrganismos (Donlan, 2001b).

Os microrganismos podem surgir da pele do paciente ou dos profissionais de saúde e de objetos. Existem alguns grupos de microrganismos que são constantemente associados a infecções causadas por biofilmes. Sabe-se que os microrganismos de Gram positivo, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, e as bactérias de Gram negativo *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* são os principais causadores de infecção.

A bactéria de Gram positivo *Staphylococcus aureus* é uma bactéria que habita no nariz de cerca de 20% da população. É dos agentes mais comuns no ambiente hospitalar e na comunidade em geral. Pode classificar-se morfológicamente como sendo um coccus, não produz esporos e não apresenta mobilidade.

Em indivíduos saudáveis, onde não existe comprometimento da superfície da pele, não causa infecção mas, quando falamos em unidades hospitalares podem causar diferentes tipos de infecções nosocomiais, como é o caso de pneumonia, endocardite ou osteomielite. É uma bactéria de desenvolvimento rápido e que apresenta inúmeras resistências a antibióticos. Apresenta inúmeros fatores de virulência e uma elevada e crescente resistência a antibióticos, como é o caso das MRSA, *S.aureus* resistentes à Meticilina. A sua patogenicidade está relacionada com as toxinas e enzimas produzidas.

Staphylococcus epidermidis é o nome de outra bactéria que está comumente associada a infecções por biomateriais. É uma bactéria de Gram positivo. Comensal da pele e mucosas mas capaz de causar graves infecções em indivíduos hospitalizados por longos períodos de tempo, imunocomprometidos, ou em portadores de dispositivos médicos (cateteres, sondas, próteses).

Apresenta elevada capacidade de aderir a superfícies e por isso a formação do biofilme ficar potenciada. As infecções causadas por esta bactéria são normalmente crônicas e persistentes (O’Gara *et al.*, 2001).

Por outro lado, existem bactérias de Gram negativo que se encontram relacionadas com algumas infecções em biomateriais ou dispositivos médicos. Este tipo de bactérias são mais resistentes uma vez que possuem uma membrana adicional exterior que acaba por impedir a passagem de substâncias. Ao contrário do que acontece nas bactérias Gram-positivo, estas bactérias possuem lipopolissacarídeos (LPS). Este LPS impede que as substâncias hidrofílicas como antibióticos e biocidas vejam o acesso ao interior da bactéria negado, impossibilitando-as de exercer o seu efeito.

Pseudomonas aeruginosa é outra das bactérias de Gram negativo, com forma de bacilo é encontrada em diversos locais e ambientes uma vez que não apresenta grandes exigências nutricionais e tem uma grande versatilidade metabólica. Tal como as restantes bactérias, em indivíduos normais não causa doença, porém quando falamos em indivíduos com queimaduras, feridas abertas ou dispositivos médicos internos pode causar variadíssimas infecções. Surge em alimentos e objetos de uso diário em ambiente hospitalar e consegue, por isso, facilmente atingir o hospedeiro.

A *Escherichia coli* é uma bactéria de Gram negativo, com forma de bacilo, anaeróbica facultativa e não produtora de esporos. Existe na flora comensal do intestino em grande quantidade. A *E. coli* encontrada normalmente nos intestinos de um indivíduo é bem conhecida e controlada pelo seu sistema imunitário, e raramente causa problemas. No entanto, quando existe debilidade do sistema imunitário do indivíduo esta bactéria pode causar outro tipo de problemas. No que diz respeito aos biofilmes em dispositivos médicos, esta bactéria surge muitas vezes associada a infecções do cateter urinário.

2. Importância dos biofilmes – aplicação no cotidiano

2.A) Vantagens e desvantagens do desenvolvimento de biofilmes

Tal como foi abordado anteriormente, na área da saúde estas comunidades de bactérias são prejudiciais uma vez que contribuem para o desenvolvimento de infecção e são extremamente difíceis de erradicar uma vez que apresentam resistências a antimicrobianos.

Para que seja possível perceber a variedade de locais que podem ser colonizados por microrganismos na forma de biofilmes, é importante abordar outras áreas.

Quando falamos de biofilmes no setor industrial, sabemos que são os causadores da diminuição do desempenho dos processos, diminuição da eficácia das operações desempenhadas e o aumento dos danos na superfície onde se depositam.

Todos estes inconvenientes levam a um aumento do consumo energético, diminuição da qualidade dos produtos e aumento dos custos associados às limpezas e trocas precoces de materiais.

Por outro lado, estes biofilmes a nível industrial podem tornar-se vantajosos uma vez que permitem a operação de reatores, apresentando capacidade de comportar variações do influente (Xavier *et al.*, 2003).

Estes biofilmes podem no entanto ser benéficos e isso é visível no papel que desempenham na natureza, uma vez que se demonstram importantes na remoção de contaminantes.

3. Resistência e tolerância

Até à data pensa-se que estes mecanismos de resistência e tolerância estão relacionados quer com a sua estrutura como com as alterações fisiológicas dos microrganismos (Henriques *et al*, 2013).

Existem relatos de formação de biofilmes em equipamentos médicos ou implantes e a existência dos mesmos torna-se extremamente prejudicial uma vez que são difíceis de erradicar e por isso o combate às infeções estará comprometido.

A natureza do biofilme e os atributos fisiológicos dos organismos envolvidos neste biofilme conferem resistência a antimicrobianos (antibióticos e desinfetantes). Pensa-se que a concentração mínima inibitória (CMI), para um microrganismo em forma de biofilme é cerca de 1000 vezes superior aos níveis da concentração mínima inibitória necessárias para bactérias na forma planctónica, levando a pensar que possuem uma atividade metabólica alterada (Choong and Whitfield, 2000).

Existem vários mecanismos associados a este fenómeno de resistência entre os quais:

- Penetração retardada do agente antimicrobiano - matriz bastante profunda, atuando como barreira física e química atrasando a difusão dos antibióticos, diminuindo a taxa de transporte da molécula para o interior do biofilme, alterando a reação do agente antimicrobiano com a matriz (Costerton *et al.*, 1999).

O facto de o biofilme conter uma grande diversidade de nichos ambientais, apresentando diferentes nutrientes e pH em zonas distintas também parece ser o motivo para tal resistência.

Em 1994, surgiram estudos que demonstravam o retardamento da penetração de ciprofloxacina, uma fluorquinolona, utilizado como terapêutica em várias infeções, em biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa*. Com este estudo foi possível perceber que para a bactéria na sua forma livre são necessários 40 segundos para a penetração, enquanto que no caso da mesma bactéria na forma de biofilme o tempo necessário passa para 21 minutos (Suci *et al.*, 1994).

- Taxas de crescimento dos organismos em biofilmes alterado – organismos organizados em biofilmes crescem mais lentamente, assumindo assim mais lentamente os agentes antimicrobianos (Costerton *et al.*, 1999). Em 1992, DuGuid, mostrou ser possível concluir que a taxa de crescimento é determinante para a suscetibilidade da célula uma vez que com o aumento da taxa de crescimento, mais rápida será a taxa de inativação por parte do agente antimicrobianos, neste caso a Ciprofloxacina (DuGuid *et al.*, 1992).

Existem ainda estudos que revelam que as substâncias derivadas da degradação de antibióticos, como polímeros e enzimas, podem levar à ligação e/ou desativação de moléculas de antibióticos que estão a tentar atingir células do biofilme.

Estudos revelam que a parede celular das bactérias em forma de biofilme tem uma composição de cerca de 40% de proteínas, impedindo os antibióticos de exercerem a sua ação (Prakash *et al.*, 2003).

Existe mais um mecanismo que explica que a heterogeneidade dos biofilmes é tal que constitui uma estratégia de sobrevivência importante porque, existem algumas das células que apresentam uma variedade de diferentes estados metabólicos, sendo por isso quase certo, sobreviver a qualquer ataque dirigido metabolicamente (Costerton *et al.*, 1999).

Para além disso, os agentes anti-microbianos são desativados por agentes reativos nas camadas mais superficiais do biofilme, impedindo, mais uma vez, de exercer a sua função (Prakash *et al.*, 2003).

Por fim surge ainda mais um mecanismo, bastante especulativo, que diz que pelo menos algumas das células do biofilme adotam um fenótipo distinto e protegida. Tal acontece através de uma resposta biológica programada para crescimento sobre uma superfície, não em resposta à limitação de nutrientes (Costerton *et al.*, 1999).

Na figura 3, são visíveis os fenómenos associados a estas resistências e tolerâncias que as células em comunidade (biofilme) adquirem.

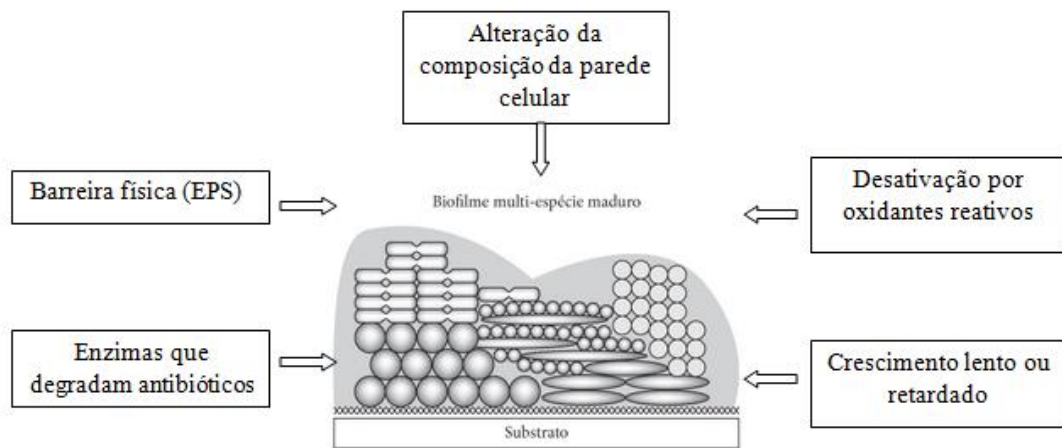


Figura 3 – Possíveis mecanismos de resistência (adaptado de Prakash, B., Veeregowda, B. M. e Krishnappa, G., 2003).

4. Dispositivos médicos ou biomateriais – Definição e outras informações importantes

Trata-se de instrumentos, aparelhos, equipamentos ou materiais cujo efeito pretendido no corpo humano não seja possível de atingir com meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos. Podem ser utilizados para diagnóstico, prevenção, controle, substituição ou alteração da anatomia ou de um processo fisiológico, entre outros.

São por isso úteis em inúmeras doenças como é o caso de deficiências motoras, incontínências, insuficiências cardíacas, diabetes, refluxo e muitas outras (www.chporto.pt).

Estes dispositivos médicos são agrupados em classes de acordo com alguns critérios. Fim a que se destina, risco inerente à conceção, anatomia afetada, invasibilidade e duração de utilização são os critérios utilizados para a separação destes biomateriais em diferentes grupos.

É importante referir que estes dispositivos devem ser concebidos e fabricados de tal maneira que quando utilizados não comprometam o estado clínico nem a segurança dos doentes (WHO, 2003).

Existem portanto vários tipos de dispositivos médicos como é o caso de cateteres urinários, catereres venosos centrais e próteses de válvula cardíaca que são os que vão ser abordados neste trabalho. No entanto, existem muitos outros dispositivos que não deixam de ser importantes e em muitas situações vitais para os utentes. Pacemakers, soluções de lavagem e linhas de perfusão são alguns dos exemplos.

Na tabela 2 é possível visualizar a divisão dos dispositivos médicos por classes, agrupando-os de acordo com a invasibilidade e o risco associado à sua utilização.

Tabela 2 – Exemplos de dispositivos médicos por classes (adaptado de www.recil.grupolusofona.pt/bitstream).

Classes	Exemplos
I	Pensos rápidos, ligaduras e meias de compressão
IIa	Seringas com agulha, equipamento para RM
IIb	Incubadoras, sacos de sangue
III	Válvulas cardíacas

5. Infecções causadas por biofilmes associadas a biomateriais

5.A) Infecção associada a cateter urinário:

Trata-se da infecção nosocomial mais frequente, cuja percentagem é de aproximadamente 24% e 80% desses casos estão relacionados com episódios de cateterização (Pina *et al.*, 2010).

A utilização de cateteres urinários pode estar relacionada com a prevenção da retenção urinária, controle da incontinência e medir a produção de urina. São dispositivos médicos introduzidos através da uretra para a bexiga e podem ser de latex ou de silicone (Djeribi *et al.*, 2012).

Os microrganismos entram nas vias urinárias pela migração dos mesmos ao longo da face externa do cateter urinário através do meato ao longo da uretra, ou através da superfície interna do cateter vesical (normalmente associado a equipamento contaminado), podem ainda viajar dentro do tubo e do saco de colheita de urina (Kayne and Hessen, 1994; Pina *et al.*, 2010).

Posteriormente o mecanismo inicia-se com a deposição de componentes da urina sobre o cateter, formando um filme de proteína. Este filme potencia a adesão de microrganismos, formando, por isso, o biofilme (Djeribi *et al.*, 2012).

Os microrganismos mais comumente encontrados neste dispositivo médico são o *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* entre outras (Donlan, 2001a; O’Gara *et al.*, 2001).

Estudos relatam que 25% dos pacientes submetidos a cateterização de curto prazo, em que o tempo de utilização é de 7 dias, têm um aumento diário da probabilidade de desenvolver infecção de 5%. Já na cateterização de longo prazo, de 30 dias, a probabilidade de desenvolver infecção é de 100% (Pina *et al.*, 2010; Djeribi *et al.*, 2012; Hoiby *et al.*, 2014).

É, por isso, possível tratar eficazmente com antimicrobianos este tipo de infecções quando elas estão associadas a biofilmes jovens (formação deu-se à menos de 24 horas).

No entanto, quando falamos de biofilmes maduros, por norma é necessária a remoção do cateter para que o tratamento da infecção seja eficaz (Choong and Whitfield, 2000).

Devido a estas percentagens elevadas, esta formação de biofilmes em cateteres urinários e a posterior formação de biofilmes tornou-se um problema de saúde público porque em muitos casos é obrigatório o uso destes dispositivos embora o tratamento dessas infecções não ser eficaz com antibióticos (Djeribi *et al.*, 2012; Tenke *et al.*, 2012).

São vários os fatores envolvidos com a maior ou menor colonização dos microrganismos na forma de biofilme nos dispositivos médicos aplicados entre os quais: as características dos componentes da prótese e da urina, a técnica cirúrgica e os cuidados e manuseio do dispositivo (Choong and Whitfield, 2000).

Existem algumas estratégias utilizadas para combater as infecções urinárias como por exemplo: utilização de técnica asséptica na colocação e manuseamento do cateter urinário, utilização de dispositivo urinário não invasivo ou de cateterização intermitente sempre que possível, respeito estrito das indicações clínicas para colocação e promoção da remoção precoce do cateter (Pina *et al.*, 2010).

Para além destas estratégias é possível modificar o dispositivo médico para que a colonização por biofilmes diminua. Dispositivos que libertem de forma controlada antimicrobianos ou antissépticos ou então que sejam revestidos à superfície com as mesmas substâncias, biomateriais revestidos à superfície com metais pesados tais como a prata, dispositivos que vejam a sua superfície alterada para modificar a carga ou hidrofobicidade, são algumas das manobras possíveis de adotar para alterar a elevada percentagem de infecções associadas ao cateter urinário (Choong and Whitfield, 2000).

5.B) Infecção associada a prótese de válvula cardíaca;

Este tipo de próteses de válvulas cardíacas causam muitas vezes danos nos tecidos devido à acumulação de plaquetas e fibrina no local da cirurgia e/ou sobre o dispositivo. Acresce ainda o facto de este local ter uma maior predisposição para a colonização (Kokare *et al.*, 2008). Sabe-se que os microrganismos podem fixar-se nestas válvulas cardíacas ou nos tecidos envolventes do coração e essa colonização leva muitas vezes a endocardite (Donlan, 2001a).

Os microrganismos mais comumente encontrados neste tipo de prótese são *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Streptococcus spp* e *Candida spp*.

5.C) Infecção associada ao cateter venoso central

Estudos demonstram que quase a totalidade dos cateteres venosos centrais de longa permanência são colonizados por microrganismos na forma de biofilmes (Donlan, 2001a). Estes cateteres são inseridos para a administração de fluidos, produtos derivados do sangue, medicamentos, solução nutricional e monitorização hemodinâmica (Kokare *et al.*, 2008).

Os organismos mais vulgarmente isolados a partir de biofilmes de cateter venoso são *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Cândida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, e *Enterococcus faecalis* (Donlan, 2001a).

Estes microrganismos podem ter origem microflora da pele do paciente ou do pessoal de saúde. Acedem ao cateter externamente por migração a partir da pele ao longo da superfície exterior do cateter (Donlan, 2001a). Descobriu-se que a formação de biofilmes em cateteres venosos centrais é universal, mas varia a extensão e localização da formação de biofilme, dependendo da duração da cateterização se é a curto prazo ou cateteres de longo prazo (30 dias). Os cateteres de utilização mais curta apresentam formação de biofilmes na superfície externa enquanto que os cateteres de longa duração têm formação de biofilme no lúmen interno do cateter, tal como é visível na Figura 4 (Kokare *et al.*, 2008).

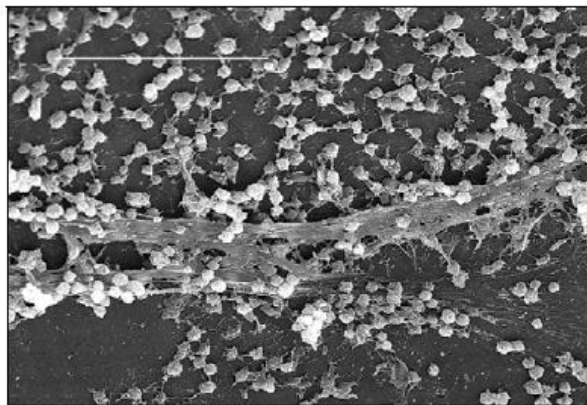


Figura 4 – Superfície interna de um dispositivo médico (adaptado de Donlan, 2002).

6. Doenças não associadas a dispositivos médicos causadas por biofilmes

Fibrose quística – Trata-se de uma doença do trato respiratório inferior, é uma doença genética e hereditária. Caracteriza-se pela disfunção das glândulas de secreção externa dos órgãos (Moreau-Marquis *et al*, 2008). As glândulas normalmente produzem secreções fluidas que fluem facilmente pelos canais das glândulas até ao exterior, tal não acontece na FQ onde as secreções são francamente mais espessas, mais viscosas.

Estas secreções vão provocar fenómenos de obstrução a vários níveis do organismo produzindo as diferentes manifestações da doença (Donlan, 2002; Moreau-Marquis *et al*, 2008).

Este espessamento do muco é responsável por aumentar a incidência de infecções pulmonares bacterianas em pacientes com FQ (Kokare *et al.*, 2008). O crescimento em biofilme protege os organismos de agentes antimicrobianos e as defesas do hospedeiro (Donlan, 2002).

No que diz respeito à erradicação destes biofilmes, estudos revelam que pequenas doses contínuas de agentes antibacterianos convencionais (antibióticos) são ineficazes e induzem resistência (Costerton, 2001).

Periodontite - infecções envolvendo os tecidos de suporte dos dentes (Donlan, 2002). Trata-se de uma doença inflamatória que ocorre nos tecidos periodontais em resposta à formação de um biofilme microbiano (Maddi and Scannapieco, 2013).

Foram os primeiros biofilmes a serem relatados, porque, tal como foi referido anteriormente, Anton van Leeuwenhoek raspou uma placa que se encontrava nos seus dentes e observou através de um microscópio primitivo (Costerton *et al.*, 1999; Prakash *et al.*, 2003)

Sabe-se que os microrganismos *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Eubacterium timidum*, *Eubacterium Brachy*, *Porphyromonas gingivalis.*, entre outros, surgem em indivíduos que apresentam periodontite e que por outro lado não existem

quando falamos em pacientes saudáveis (Donlan, 2002). E podem colonizar tanto mucosas como as superfícies dos dentes (Kokare *et al.*, 2008).

Os biofilmes apresentam uma capacidade de se desenvolver na superfície do esmalte logo após a limpeza da cavidade oral (Donlan, 2002). Para além disso possuem capacidade de se desenvolverem mais extensivamente em áreas protegidas, entre os dentes e as gengivas (Maddi and Scannapieco, 2013).

Uma vez nesses locais, vão consequentemente fazer diminuir as propriedades antimicrobianas da saliva, diminuindo também a proteção do esmalte dos dentes, conduzindo à cárie dentária e doença periodontal (Maddi and Scannapieco, 2013). O desenvolvimento desta comunidade do biofilme dá-se ao fim de 2-3 semanas (Kokare *et al.*, 2008).

Tal como entre outras doenças/infeções causadas por microrganismos em biofilme existe sempre a produção de um polímero de matriz extracelular, um aumento da resistência a agentes antimicrobianos e resistência à depuração do sistema imunitário (Donlan, 2002; Maddi and Scannapieco, 2013).

O controlo da doença periodontal faz-se através da remoção de biofilmes estabelecidos a partir de zonas subgengivais e com utilização combinada de agentes antimicrobianos (Kokare *et al.*, 2008; Berezow and Darveau, 2011).

Na figura 5, é possível visualizar as diferenças que surgem com a doença que afeta o tecido de suporte dos dentes, a periodontite. Existe diminuição das gengivas, formação de bolsas e diminuição do osso.

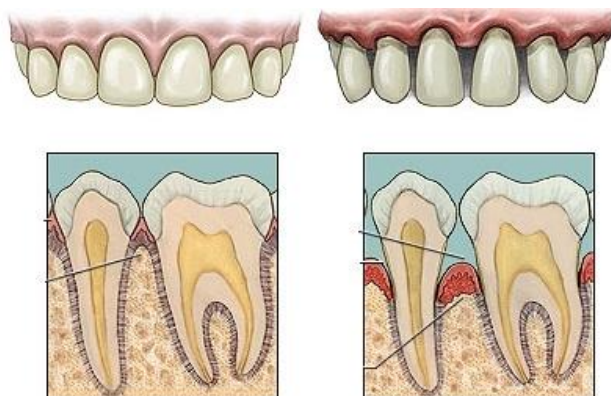


Figura 5 – Dentes saudáveis vs Dentes com periodontite (adaptado de <http://www.tuasaude.com>).

7. Estratégias de prevenção e controlo de biofilmes

Enquanto ainda não é possível encontrar uma solução para erradicar os biofilmes, é preponderante adotar estratégias de prevenção para evitar o surgimento dos mesmos.

Devido a esta necessidade de diminuir ao máximo este tipo de infecções, surge um conjunto de ações e recomendações à qual damos o nome de Precauções Básicas e Isolamento. Com a adoção destas medidas é possível prevenir e controlar a transmissão cruzada e melhorar a qualidade dos cuidados. As precauções básicas que servem de alicerce a este plano passam por: higiene das mãos, uso apropriado de equipamento de proteção individual (luvas, batas, máscaras), descontaminação de material e equipamento clínico, colocação de doentes, entre outros (Pina *et al.*, 2010).

Ao longo dos anos este conceito foi se tornando mais forte, foram-se incluindo mais medidas que fizeram com que este conceito se tornasse mais completo (Widmer, 2001).

Estas estratégias obrigam as unidades hospitalares e o seu corpo técnico a mudanças nos seus comportamentos, obrigando a um esforço extra em áreas que provavelmente não seriam de especial cuidado (Hetrick and Schoenfisch, 2006).

Instituir um eficaz plano de limpeza e a organização das unidades de internamento, bem como evitar o uso abusivo de antibióticos seriam atitudes que iriam contribuir para a diminuição de infecções por microrganismos na forma de biofilmes (Widmer, 2001).

A escolha apropriada do antimicrobiano inicialmente instituído é determinante para a eficácia, assim como a prescrição de doses adequadas, em intervalos corretos. Algumas medidas foram adotadas para diminuir ou restringir o uso de antimicrobianos. Avisos informáticos para uso adequado de antimicrobianos, em profilaxia ou em terapêutica empírica, limitar uso de fármacos de “linha avançada” para evitar futuras resistências (este fármacos de linha avançada só poderão ser utilizados com posterior autorização) e utilização de terapêutica antimicrobiana combinada para obter sinergismo ou potenciação da ação (Pina *et al.*, 2010).

Quando falamos mais especificamente em dispositivos médicos, existem estratégias que passam pela implementação de planos de monitorização e visualização diária dos biomaterias propícios a biofilmes. Uma outra estratégia passaria por fabricar equipamentos menos suscetíveis à proliferação bacteriana, por exemplo, evitando rugosidades. Existem também técnicas de limpeza que recorrem a métodos físicos que iriam possibilitar a remoção do biofilme, como é o caso da aplicação de ultra-sons ou de radiação.

Os antibióticos podem ser usados para determinados fins como é o caso da:

- Profilaxia – Com o objetivo de prevenir a infeção nos pacientes que ainda não estão infetadas ou colonizados. Tal só é aplicável se existir um risco associado de desenvolvimento de uma infeção nesses órgãos. Normalmente aplica-se este tratamento aquando de intervenções cirúrgicas.

- Prevenção – Quando existe colonização com um microrganismo específico e existe risco de desenvolvimento de infeção clínica grave pelo mesmo. Neste caso o antibiótico vai penetrar no local de infeção após a entrada dos microrganismos, ao contrário do que acontece na profilaxia, onde o antibiótico penetra antes mesmo de existir microrganismo (Hetrick and Schoenfisch, 2006).

Podemos assim dividir as estratégias de controlo de biofilmes em três grupos: as que recorrem a métodos físicos, químicos ou biológicos. Os métodos físicos envolvem a remoção dos biofilmes e passam pela limpeza manual ou então pela aplicação de ultra-sons ou radiação ultravioleta. Quando estas não se mostram suficientes passa-se então aos métodos químicos, onde são utilizados devido às suas propriedades antimicrobianas, dispersantes ou tensioativas (Maniasso, 2001).

Embora não esteja relacionado com a área que abrange esta dissertação, sabe-se que na indústria alimentar surgem os tensioativos como os mais utilizados no controlo da formação de biofilmes. Estes tensioativos são capazes de reduzir a tensão superficial dos fluídos aquosos, atuando como detergentes. Possuem uma parte hidrofílica (cabeça, que atrai a água) e uma parte hidrofóbica (cauda, que repele a água).

Quando atingem a Concentração Micelar Crítica (CMC) formam micelas, alterando o processo de adsorção. Assim, numa micela, a água encontra-se em contato com a cabeça da micela, enquanto que o interior da micela é composta pelas caudas (Maniasso, 2001).

Existem tensioativos aniônicos, catiónicos, não-iônicos e anfotéricos uma vez que a classificação é feita de acordo com a natureza iônica da parte polar (hidrofílica). No entanto os mais utilizados são os aniônicos e catiónicos uma vez que ambos apresentam capacidade de desinfetar uma vez que podem inativar células vivas e alterar as propriedades superficiais da superfície onde vai ocorrer a adesão (Rosen and Kunjappy, 2012).

8. Tratamento

Pensa-se que a ineficácia nos tratamentos de infeções associadas a biofilmes em dispositivos médicos prende-se com o facto de os testes de susceptibilidade a antibióticos serem feitos em microrganismos na forma planctónica, que possuem comportamentos muito distintos dos microrganismos na forma de biofilme (Hoiby *et al.*, 2014). Está por isso comprovado que as técnicas convencionais para prever suscetibilidades não são suficientes quando falamos em comunidades de microrganismos e podem até ser a causa do fracasso no que diz respeito ao tratamento (Fux *et al.*, 2005).

É importante por isso, direcionar todas as forças para o diagnóstico de biofilmes e a prática terapêutica com vista a minimizar estas infeções e impedir que sejam tão recorrentes (Widmer, 2001; Hoiby *et al.*, 2014).

As diretrizes indicam que devem ser separados os tipos de infeções causadas por biofilmes encontrados no tecido / muco, onde constam os indivíduos que apresentam fibrose quística, ou biofilmes que são encontrados aderidos a corpos estranhos (por exemplo dispositivos médicos) causando infeções através de cateteres urinários ou tubos endotraqueais (Simões *et al.*, 2007; Hoiby *et al.*, 2014).

As terapias recorrendo a antibióticos destinam-se a situações diferentes, entre elas:

- Empíricas – Sabe-se se existe infeção mas não existe informação acerca do ou dos microrganismos envolvidos e, por isso, seleciona-se um antibiótico que abranja os microrganismos possíveis de existir na situação clínica em causa.

- Definitivas – Para que seja possível atuar de modo concreto e eficaz, erradicando a infeção, é necessário que exista um diagnóstico clínico que indique especificamente qual o microrganismo envolvido e, resultados de testes de suscetibilidade a antibióticos.

Muitos outros estudos apontam para que a solução passe pela remoção do dispositivo para que a infeção seja erradicada (Widmer, 2001; Hetrick and Schoenfisch, 2006).

Conclusão

Os biofilmes são uma comunidade de bactérias, aderidas a uma superfície que podem ter na sua constituição apenas um tipo de bactérias ou várias espécies das mesmas.

Foi fácil perceber a envolvimento dos biofilmes numa vasta gama de atividades humanas e por isso o objetivo de os controlar é comum a diversas áreas, desenvolvendo-se assim vários estudos com esta temática como alvo principal.

No Homem, estes biofilmes surgem em vários locais, como sistema urinário (cateter urinário), sistema venoso (cateter venoso central), dentes (caries dentárias), entre outros.

Depois de alguns estudos, percebeu-se que existia uma tendência dos m.o. se desenvolverem na forma de biofilmes quando o local da colonização eram dispositivos médicos. Esta conformação funcionava assim como uma estratégia de sobrevivência, uma vez que estes microrganismos estariam assim menos expostos a situações adversas, menos acessíveis a agentes antimicrobianos e protegidos do sistema imunitário do hospedeiro. Foi por isso vital para a Saúde Pública perceber quais os mecanismos envolvidos na formação e desenvolvimento de biofilmes, das resistências antimicrobianas desenvolvidas e das novas possibilidades de terapêuticas a aplicar.

Embora os estudos estejam a aumentar em número e a evoluir é ainda difícil compreender os mecanismos associados a biofilmes quando as técnicas utilizadas são as rudimentares, uma vez que se mostra extremamente difícil replicar os processos que levam à formação do EPS quando o mesmo acontece fora do organismo e por consequência, fora do sangue. O objetivo, passa assim por descobrir qual a relação entre a estrutura do biofilme e a sua patogenicidade, gerando assim dados que permitam melhorar as estratégias terapêuticas já utilizadas e/ou, quem sabe, descobrir novas.

Na tentativa de diminuir estas infecções sabe-se que podemos evoluir, utilizando diferentes matérias na elaboração dos dispositivos médicos que vão diminuir a colonização microbiana.

Enquanto tal não é possível, é fundamental consciencializar os profissionais de saúde para determinados comportamentos como: o abuso de tratamentos com antibióticos e poucos cuidados de higiene e assepsia aquando de tratamentos ou outros procedimentos médicos.

Atualmente, e embora não exista uma terapia que permita a erradicação dos biofilmes, pensa-se que o mesmo só será possível com a combinação de vários tratamentos diferentes.

A todos estes factos acresce-se o problema de a população atual estar envelhecida, existindo um grande número de cidadãos que pertencem ao grupo da 3ª idade, que estão mais predispostos a infeções. Para além disso, a necessidade do uso de dispositivos médicos tende, também, a aumentar neste grupo etário, tornam-se assim grupos alvos para este tipo de bactérias que se organizam na forma de biofilme.

É por isso imperativo que a evolução nesta área de trabalho prossiga para que as consequências de alguns atos passados não se tornem nefastos para a nossa sociedade.

Bibliografia

A tua saúde. (2007). Periodontite: Perda dos dentes. [Em linha]. Disponível em <<http://www.tuasaude.com/periodontite/>>. [Consultado em 12/08/2015].

Behlau, I., & Gilmore, M. S. (2008). Microbial biofilms in ophthalmology and infectious disease. *Archives of ophthalmology*, 126(11), pp. 1572-1581.

Berezow, A. B., & Darveau, R. P. (2011). Microbial shift and periodontitis. *Periodontology 2000*, 55(1), pp. 36-47.

Choong, S., & Whitfield, H. (2000). Biofilms and their role in infections in urology. *BJU international*, 86(8), pp. 935-941.

Costerton, J. W. (2001). Cystic fibrosis pathogenesis and the role of biofilms in persistent infection. *Trends in microbiology*, 9(2), pp. 50-52.

Costerton, J. W., Stewart, P. S., e Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284, pp. 1318-1322.

Djeribi, R., Bouchloukh, W., Jouenne, T., & Mena, B. (2012). Characterization of bacterial biofilms formed on urinary catheters. *American journal of infection control*, 40, pp. 854-859.

Donlan, R. M. (2001a). Biofilms and device-associated infections. *Emerging Infectious Diseases*, 7(2), pp. 277.

Donlan, R. M. (2001b). Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clinical Infectious Diseases*, 33(8), pp. 1387-1392. (Donlan, 2001b)

Donlan, R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), pp. 881-890.

Donlan, R. M. e Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), pp. 167-193.

(Donlan *et al.*, 2002)

DuGuid, I. G., E. Evans, M. R. W. Brown, and P. Gilbert. 1992. Effect of biofilm culture on the susceptibility of *S.epidermidis* to tobramycin. *J. Antimicrob. Chemother*, 30, pp. 803 – 810.

Fux, C. A., Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Stoodley, P. (2005). Survival strategies of infectious biofilms. *Trends in microbiology*, 13(1), pp. 34-40.

Hall-Stoodley, L. e Stoodley, P. (2009). Evolving concepts in biofilm infections. *Cellular microbiology*, 11(7), pp. 1034-1043.

Henriques, A., Vasconcelos, C., & Cerca, N. (2013). A importância dos biofilmes nas infecções nosocomiais: O estado da arte. *Arquivos de Medicina*, 27(1), pp. 27-36.

Hetrick, E. M. e Schoenfisch, M. H. (2006). Reducing implant-related infections: active release strategies. *Chemical Society Reviews*, 35(9), pp. 780-789.

Høiby, N., Bjarnsholt, T., Moser, C., Bassi, G. L., Coenye, T., Donelli, G. (2015). ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clinical Microbiology and Infection*, 21, pp. 1-25.

Kaye, D., and M. T. Hessen. (1994). Infections associated with foreign bodies in the urinary tract. *In A.L. Bisno and F.A. Waldvogel*, pp. 291-307.

Khoury, A. E., Lam, K., Ellis, B. e Costerton, J. W. (1992). Prevention and control of bacterial infections associated with medical devices. *ASAIO Journal*, 38(3), pp. 174-178.

Kokare, C. R., Chakraborty, S., Khopade, A. N. e Mahadik, K. R. (2008). Biofilm: Importance and applications. *Indian Journal of Biotechnology*, 8(2), pp. 159-168.

Maddi, A., & Scannapieco, F. A. (2013). Oral biofilms, oral and periodontal infections, and systemic disease. *Am J Dent*, 26(5), pp. 249-254.

Maniasso, N. (2001). Ambientes micelares em química analítica. *Química Nova*, 24(1), pp. 87-93.

Moreau-Marquis, S., Stanton, B. A., & O'Toole, G. A. (2008). Pseudomonas aeruginosa biofilm formation in the cystic fibrosis airway. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, 21(4), pp. 595-599.

Nascimento, T. and Taveira, N. (2003) Os Biofilmes Microbianos como Agentes Causais de Doenças Humanas. *Revista o Biólogo, Ed. Universidade de Lisboa, Instituto Superior de Ciências da Saúde–Sul*.

Neves, M. J. (2010). Dispositivos Médicos. [Em linha]. Disponível em <http://www.chporto.pt/pdf/downloads/Dispositivos_Medicos-Infarmed_e_a_legislacao_Dra_Judite_Neves.pdf>. [Consultado em 20/04/2015].

O'Gara, J. P. e Humphreys, H. (2001). Staphylococcus epidermidis biofilms: importance and implications. *Journal of Medical Microbiology*, 50(7), pp. 582-587.

Otto, M. (2014). Biofilms in Disease. In *Antibiofilm Agents* Springer Berlin Heidelberg, pp. 3-13.

Pina, E., Ferreira, E., Marques, A., & Matos, B. (2010). Infeções associadas aos cuidados de saúde e segurança do doente. *Rev Port Saúde Pública*, 10(1), pp. 27-39.

Pontes, J. F. (2014). Produtos fronteira: dispositivos médicos e outros produtos. [Em linha]. Disponível em: <<http://recil.grupolusofona.pt/bitstream/handle/10437/5279/produtos%20fronteira>>. [Consultado em: 05/05/2015].

Prakash, B., Veeregowda, B. M. e Krishnappa, G. (2003). Biofilms: a survival strategy of bacteria. *Current Science*, 85(9), pp. 1299-1307.

Romling, U., Kjelleberg, S., Normark, S., Nyman, L., Uhlin, B. E., & Åkerlund, B. (2014). Microbial biofilm formation: a need to act. *Journal of internal medicine*, 276, pp. 98-110.

Rosen, M. J., & Kunjappu, J. T. (2012). *Surfactants and interfacial phenomena*. John Wiley & Sons.

Simões, M., Cleto, S., Pereira, M. O., & Vieira, M. J. (2007). Influence of biofilm composition on the resistance to detachment.

Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G. e Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), pp. 187-209.

Suci, P. A., M. W. Mittelman, F. P. Yu, and G. G. Geesey. (1994). Investigation of ciprofloxacin penetration into *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Agents Chemother*, 38, pp. 2125 – 2133.

Tenke, P., Köves, B., Nagy, K., Hultgren, S. J., Mendling, W., Wullt, B. (2012). Update on biofilm infections in the urinary tract. *World journal of urology*, 30, pp. 51-57.

Vega, L. M., Mathieu, J., Yang, Y., Pyle, B. H., McLean, R. J., & Alvarez, P. J. (2014). Nickel and cadmium ions inhibit quorum sensing and biofilm formation without affecting viability in *Burkholderia multivorans*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 91, pp. 82-87.

Widmer, A. F. (2001). New developments in diagnosis and treatment of infection in orthopedic implants. *Clinical Infectious Diseases*, 33 (2), pp. 94-108. (Widmer, 2001)

World Health Organization. (2003). Medical device regulations: Global overview and guiding principles.

Xavier, J. B., Picioreanu, C., Almeida, J. S. e Van Loosdrecht, M. C. M. (2003). Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes. *Boletim de Biotecnologia*, 76, pp. 2-13.