FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

ESTRATEGIAS PARA COMBATIR LA FORMACIÓN DE BIOFILM BACTERIANO

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO

DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA

AUTORAS: KATHERINA RAMÍREZ VALLEJOS

CAMILA URZÚA ÁLVAREZ

PROFESOR GUÍA: DR. TM ESTEBAN DURÁN LARA

TALCA-CHILE

2021

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.

Talca, 2022

ÍNDICE

1. RESUMEN 6
2. INTRODUCCIÓN 7
3. OBJETIVOS 9
Objetivo General 9
Objetivos Específicos 9
4. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA 10
5. MARCO TEÓRICO 11
5.1 IAAS 11
5.1.1 Infecciones más comunes 11
5.1.2 Prevención 13
5.1.3 Resistencia bacteriana 13
5.2 Biofilm 14
5.2.1 Formación del Biofilm 16
5.2.1.1 Factores que intervienen en la formación del biofilm 19
5.2.1.1.1 Condición de la superficie 19
5.2.1.1.2 Especies bacterianas 19
5.2.1.1.3 Factores medioambientales 20
5.2.1.2 Quorum sensing 21
5.2.1.3 Otros reguladores globales 22
5.2.2 Factores de riesgo (población de riesgo) 22
5.2.3 Microorganismos formadores de biofilm que se presentan en las infecciones asociadas a la atención en salud. 25
5.2.3.1 Categorías de las infecciones asociadas a la atención en salud 25
5.2.3.1.1 Infecciones del tracto urinario 25
5.2.3.1.2 Neumonía 26
5.2.3.1.3 Infecciones del sitio quirúrgico 27
5.2.3.1.4 Infecciones del torrente sanguíneo 27
5.2.3.1.5 Otras infecciones nosocomiales 28
5.2.4 Consecuencias de la formación de Biofilms 30
5.2.5 Estrategias para combatir la formación de biofilm 31

5.2.5.1 Estrategias de origen natural 32
5.2.5.2 Estrategias que actúan sobre la comunicación bacteriana o Quorum sensing 44
5.2.5.2.1 Estrategias dirigidas a moléculas señal 47
5.2.5.2.2 Estrategia dirigida hacia el receptor de señales 47
5.2.5.3 Estrategias para reducir o erradicar los biofilm asociados a instrumentos médicos 49
5.2.5.3.1 Biofilm en catéter intravascular 50
5.2.5.3.2 Biofilm sobre prótesis articulares. 52
5.2.5.3.3 Biofilm en heridas 52
5.2.5.3.4 Biofilm en fibrosis quística 56
5.2.5.4 Últimas actualizaciones 57
6. CONCLUSIÓN 70
7. BIBLIOGRAFÍA 71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Prevalencia de infecciones asociadas a atención en salud 12
Tabla 2: Factores de riesgo de principales infecciones asociadas a la atención en salud 24
Tabla 3: Aplicaciones de los métodos de Machine learning 62
Tabla 4: Estrategias para combatir Biofilms 64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Formación de un biofilm, adhesión y pasos siguientes necesarios para la conformación de un biofilm en una superficie, Tomada y Adaptada de Andión, E. (2004) (15) 18
Figura 2: Esquema de las principales infecciones asociadas a atención en salud, sus principales causas y microorganismos implicados, Elaboración propia Ramírez, K; Urzúa, C (2021) 29
Figura 3: Sistema de quorum sensing LuxI/LuxR en *Vibrio fischeri*, similar para la mayoría de las bacterias gram negativas, Tomada de Brango, J. (2011) (75) 45
Figura 4: **Esquema de tratamiento de heridas crónicas**, Tomada y Adaptada de Carrión Jiménez, A. (2017) (98). 54
Figura 5: Esquema del mecanismo de acción de las nanopartículas de plata, Tomada y Adaptada de Markowska, K. (2013) (87)..... 60

1. RESUMEN

Las infecciones asociadas a la atención en salud son un problema a nivel mundial, puesto que dentro de sus consecuencias está el aumentar la resistencia a los antimicrobianos, y en los hospitales existe una alta presencia de variados microorganismos que intrínsecamente poseen cierto grado de resistencia. Además a esto se le suma la capacidad de las bacterias de formar biofilms, los cuales son estructuras tridimensionales que se forman sobre distintas superficies, cuentan con una matriz de exopolímeros que protege a las bacterias de ser removidas por antimicrobianos, provocando infecciones resistentes a los antibióticos y desinfectantes disponibles, razón por la cual es de suma importancia la actualización de estrategias con capacidad de Antibiofilm y el estudio de nuevos compuestos, combinaciones de drogas capaces de eliminar o aminorar la formación de estos biofilm, donde se pueden distinguir las metodologías dirigidas a impedir la formación de esta biopelícula alterando el Quorum sensing o bien desestabilizando las bacterias que lo componen, lo cual en su conjunto conforman alternativas potenciales, seguras y efectivas para generar una disminución en la incidencia de las infecciones asociadas a la atención en salud, específicamente a las ocasionadas por bacterias formadoras de biofilm.

Palabras clave: Biofilm, Antibiofilm, Resistencia a antibióticos, Bacterias; Quorum sensing

2. INTRODUCCIÓN

Durante la estadía de una persona en un recinto hospitalario existe el riesgo de desarrollar algún tipo de infección a consecuencia de los tratamientos que se le aplican o bien por la utilización de dispositivos médicos como los catéteres o ventilación mecánica, los cuales al pasar los días instalados va aumentando el peligro de desarrollar infecciones ocasionadas por microorganismos resistentes a múltiples antimicrobianos que se pueden encontrar presentes en el ambiente, en la superficie del paciente o del personal médico, los cuales tienen la capacidad de generar biofilms en las superficies de los instrumentos médicos lo que dificulta la resolución de este cuadro ocasionando infecciones recurrentes resistentes a la gran gama de antibióticos disponibles, empeorando la salud del paciente y aumentando su estadía en el recinto hospitalario.

Los biofilm son comunidades altamente complejas compuestas por microorganismos que tienen la capacidad de adherirse a alguna superficie, ya sea viva como inerte, catéteres, prótesis, etc, y en ese sitio se reproducen hasta alcanzar el estado de biofilm, en donde la bacterias son capaces de adaptarse a las condiciones ambientales y proliferan ocasionando gran parte de las infecciones nosocomiales que afectan a pacientes inmunocomprometidos.

Estos son capaces de otorgar distintas características a las colonias bacterianas contenidas en este para favorecer su supervivencia, por ejemplo le otorga mayor resistencia a los antibióticos al dificultar su acceso y acción sobre las bacterias o bien dentro de este biofilm pueden adquirir genes de resistencia a distintos antibióticos.

Un biofilm puede estar formado por distintos tipos de bacterias, por lo que al tratar este tipo de infecciones el enfoque debe estar en prevenir la formación de los biofilm por medio de variadas estrategias, ya sea generando protocolos de retiro o cambio de dispositivos médicos de forma más frecuente en caso de ser posible o utilizar compuestos que presenten capacidad de impedir la formación de biofilm en conjunto con los dispositivos, por ejemplo estrategias capaces de impedir la adhesión de bacterias a las superficies o impedir la comunicación bacteriana y en caso de concretarse el desarrollo de biofilm, se pueden utilizar estrategias combinadas para aumentar la efectividad de cada una de estas.

Dentro de las estrategias potenciales a utilizar está la combinación de extractos naturales o bien de moléculas modificadas y concentradas pertenecientes a plantas que se conocen por presentar propiedades antibacterianas, junto con antibióticos para potenciar la eficacia de estos últimos, también se ha logrado generar modificaciones a los instrumentos médicos como por ejemplo recubriendo catéteres con sustancias que impidan la adhesión de las bacterias y así reducir el riesgo de la formación del biofilm.

3. OBJETIVOS

Objetivo General

Indagar estrategias existentes para combatir las infecciones asociadas a biofilms bacterianos.

Objetivos Específicos

1.- Compilar información de estrategias para impedir la formación de biofilms bacterianos.

2.- Caracterizar métodos capaces de desestabilizar y/o erradicar biofilms establecidos.

4. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA

Las herramientas de búsqueda para la recopilación de información en esta revisión bibliográfica fueron PubMed, Scielo, Scopus y Web of science, la información se filtró usando palabras claves como, biofilm y antibiofilm y luego seleccionando documentos que hayan sido publicados posterior al año 2000, descartando estudios que no correspondieran a biofilms de origen bacteriano y a los archivos que no fueran de libre acceso.

Una vez se tuvo un número específico de la información de interés se utilizaron los mismos recursos de búsqueda con las palabras clave antibiofilm y quorum sensing, posteriormente se buscó metodología específica para algunas infecciones utilizando las palabras clave antibiofilm e infecciones en catéteres o en dispositivos médicos.

Finalmente, se indagó en información más específica, buscando compuestos bioactivos que tuviesen actividad antibiofilm, por ejemplo, se realizó la búsqueda más a fondo de la forma de actuar de algunas moléculas extraídas de aceites esenciales de plantas como por ejemplo el eugenol, citral, etc.

En cuanto a la organización de la información se agruparon las estrategias específicas para infecciones asociadas a catéteres, heridas, prótesis, también se organizaron según si su método de acción estaba dirigido al quorum sensing y a que molécula estaba dirigida o si es que su método era en general inhibir la formación de biofilm.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 IAAS

Las IAAS son las infecciones asociadas a la atención sanitaria, también pueden denominarse como infecciones nosocomiales u hospitalarias, estas se pueden adquirir durante algún tipo de tratamiento médico recibido en un centro de salud, pudiendo aparecer luego del alta del paciente o durante su estadía (1).

Las IAAS son un problema a nivel mundial, de dificultosa solución puesto que cada año disminuye la sensibilidad de los microorganismos a ciertos antimicrobianos, por lo que se complica su tratamiento y se debilita la salud del paciente y al tratarse de ambientes hospitalarios, quienes se encuentran como pacientes en estos recintos presentan gran susceptibilidad a contraer infecciones que pueden culminar en una prolongación de su estancia hospitalaria o en su muerte (2).

5.1.1 Infecciones más comunes

Algunas de las IAAS que pueden afectar a los pacientes durante su estadía o recuperación en un centro hospitalario son: infecciones del torrente sanguíneo asociada catéteres, infecciones de heridas operatorias, infecciones urinarias, neumonías por ventilación mecánica, endometritis post parto, infecciones del sistema nervioso central, infecciones asociadas a enfermedad de base como diabetes, entre otras (3, 4).

En Chile dentro de las infecciones con mayor notificación durante el 2014 fueron las infecciones respiratorias bajas distintas a neumonías e infecciones gastrointestinales ambas sobre 90%, mientras que las con menor detección (con menos de 70% de notificación), fueron las infecciones de herida operatoria, de escara, las de la piel y neumonía sin ventilación mecánica (Tabla 1) (5).

Tabla 1: Prevalencia de infecciones asociadas a atención en salud

Fuente: Tomada y Adaptada de Subsecretaria de redes asistenciales (2020) (6)

Prevalencia de Infecciones asociadas a atención en salud				
Infecciones del tracto urinario	Tipo de servicio	Hospitales incluidos	N° de ITU	N° de días CUP
	Medicina	138	907	272.234
	Cirugía	70	257	121.119
	UCI	54	795	273.353
Neumonía	Tipo de servicio	Hospitales incluidos	N° de NVM	N° días VM
	Adulto	52	978	136.133
	Pediátrico	27	100	40.359
	Neonatología	29	153	22.866
Infecciones del sitio quirúrgico	Tipo de operación	Hospitales incluidos	N° de IHOp	N° ops
	Hernias inguinales	60	45	8.382
	Cesáreas	67	434	54.592
	Colecistectomía por laparotomía	21	20	2.112
	Colecistectomía por laparoscopía	71	103	37.897
	Prótesis de cadera	31	96	5.492
Infecciones del torrente sanguíneo	Procedimiento	Hospitales incluidos	N° de ITS	N° días procedimiento
	Catéteres venosos centrales en adultos	62	588	336.218
	Nutrición parenteral total en adultos	40	81	60.949
	Catéteres umbilicales en neonatos	21	24	17.201
	Catéteres centrales hemodiálisis	36	140	278.359

5.1.2 Prevención

En Chile se cuenta con un programa nacional de prevención y control de IAAS (PNCI) que está dirigido por el ministerio de salud, que tiene como objetivos la vigilancia, prevención, control de infecciones, difusión de directrices técnicas para el manejo de IAAS, capacitación del personal y evaluar los programas locales que están en vigencia (4).

En un recinto hospitalario existe una alta exposición a variados microorganismos, por lo que es necesario seguir protocolos que disminuyan el riesgo de los pacientes de ser colonizados por algunos de estos patógenos, las infecciones pueden ser transmitidas por algún objeto inanimado, haciendo esencial llevar a cabo un alto nivel de higiene siguiendo normas de uso de antisépticos y desinfectantes en la labor del día a día en un recinto de atención de salud (2).

Además de realizar una minuciosa desinfección de los objetos inanimados, se debe llevar a cabo una correcta higiene de manos, educar al personal en esta materia, seguir al pie de la letra los protocolos de atención y prevención existentes, mejorar los sistemas de vigilancia y notificación de IAAS y aumentar la investigación de los protocolos de vigilancia y prevención de estas infecciones (1).

5.1.3 Resistencia bacteriana

En los años 50’s se contaba con una gran gama de antimicrobianos, pero estos comenzaron a perder su eficacia con la aparición de bacterias resistentes a antibióticos, como *Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae y Pseudomonas aeruginosa*, debido al uso inadecuado de los fármacos y a mecanismos de resistencia bacteriana (7).

La resistencia bacteriana es un fenómeno biológico natural, que ocurre a lo largo del tiempo, a medida que la bacteria es expuesta a diferentes antimicrobianos, que generan en ella una respuesta adaptativa, adquiriendo mecanismos capaces de disminuir o suprimir la acción de estos fármacos, en donde se define como cepa resistente a aquella que es capaz de multiplicarse en presencia de concentraciones mayores a las dosis terapéuticas (8).

Algunos de los mecanismos utilizados por las bacterias son, enzimas hidrolíticas, modificaciones en los blancos de los antibióticos, disminución de la permeabilidad de la pared celular por cambios en el diámetro o número de porinas, bombas de eflujo, las cuales se encargan de expulsar a los antibióticos y la formación de biofilms que contribuyen a la resistencia (7, 9)

5.2 Biofilm

Las bacterias pueden estar en dos estados en la naturaleza como bacterias planctónicas, es decir de libre flotación o como biofilm, en colonias de microorganismos, de todas las bacterias la gran mayoría se encuentra como biofilm y una pequeña porción en estado planctónico, de hecho, los biofilm se encuentran en toda la naturaleza por ejemplo en los jarrones en donde se encuentran flores, sobre las piedras en los ríos o por dentro de las tuberías donde transitan líquidos (10).

El biofilm es una estructura tridimensional dinámica que se forma sobre superficies sólidas, esto comienza con una película de exopolímeros que constituyen una matriz mucilaginosa que favorece la agregación de distintas especies colonizadoras lo que le da mayor complejidad a la estructura y disminuye las opciones terapéuticas para remover o

desorganizar esta estructura (11, 12), la acumulación de múltiples colonias de bacterias dificulta que los agentes antimicrobianos realicen su función generando infecciones resistentes a los antimicrobianos, antibióticos y desinfectantes (12), lo que también dependerá del tamaño de las moléculas, del coeficiente de permeabilidad y la actividad bactericida del antibiótico, por lo que es necesaria la búsqueda de compuestos o combinaciones de drogas o sustancias que impidan la formación del biofilm o bien lo destruyan una vez constituido (13).

Entonces el biofilm es básicamente una compleja comunidad microbiana que puede estar adherida a diferentes superficies y esto dependerá de las condiciones ambientales, nutricionales y a las características físicas de la superficie (14). Estos se consideran un método de supervivencia, debido a las ventajas que otorga este estado como lo es resistir los cambios ambientales de temperatura, pH, disponibilidad de nutrientes, entre otras (10).

La adopción de esta forma de vida les confiere a las bacterias pertenecientes a este tapiz bacteriano una mayor resistencia a una gran variedad de factores ambientales como la desecación, radiación ultravioleta, moléculas con actividad antimicrobiana y protección frente al sistema inmune (15).

Estas ventajas suponen numerosos problemas a la hora de la erradicación de biofilms bacterianos no deseados en superficies como en el instrumental hospitalario ya sea sondas, catéteres, campanas de oxígeno, etc. donde estas al estar expuestas a un ambiente generalmente estéril y de alta desinfección, van generando una resistencia a una gran multiplicidad de compuestos, lo que genera a largo plazo complicaciones en la erradicación de estas especies. Si bien los antibióticos pueden penetrar el interior del biofilm estos no siempre resultan ser de gran utilidad para la eliminación o erradicación del biofilm puesto

que, al tratarse de microorganismos de gran resistencia, en muchas partes dentro de este la concentración resultará ser insuficiente e ineficaz para su destrucción total (15).

5.2.1 Formación del Biofilm

Los biofilm se conforman cuando bacterias libres perciben una superficie y se adhieren, en esta empiezan a enviar señales para formar la estructura del biofilm, como se observa en la figura 1, la composición de esta estructura tendrá una cubierta protectora formada por polisacáridos (10).

Para que se complete la formación del biofilm es necesario la ocurrencia de 3 etapas, en primer lugar las bacterias deben adherirse sobre una superficie (16), en donde será más fácil la adhesión en superficies rugosas, ya que aumenta el área y la resistencia es menor (10), también influyen las propiedades de esta superficie como el material del que está compuesto si es hidrófoba no polar como el plástico las bacterias se adhieren más rápido que en superficies de materiales hidrófilos como el vidrio, la disponibilidad de nutrientes, pH y temperatura (17). En esta etapa participan las fimbrias tipo I, IV, ayudando a superar la repulsión inicial, en el caso bacterias Gram negativo como *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* y en el caso de las Gram positivo se describe la actividad de proteínas de superficie, luego de adherirse las bacterias comienzan a reproducirse formando una colonia de pequeño tamaño (16).

En la segunda etapa las bacterias secretan exopolisacárido constituyendo la matriz del biofilm, esta producción de EPS aumenta con el tiempo o edad del biofilm y su secreción se ve afectada con la cantidad de nutriente disponible y el exceso de carbono la aumenta (17), también se forman canales al interior de este, por donde se realizará el transporte de

nutrientes y oxígeno hacia las bacterias del interior de las colonias e incluso se pueden transportar los agentes antimicrobianos (10, 16, 17). La matriz estará constituida por una gran cantidad de agua, los exopolisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos, sales minerales y componentes sanguíneos dependiendo del lugar en donde esté conformado el biofilm (10). El exopolisacárido tendrá una composición distinta dependiendo de cada bacteria por ejemplo en el biofilm de *Escherichia coli* O157: H7 se secreta celulosa, ácido colánico y la adhesina poli-β-1,6-N-acetilglucosamina, para mantener la biopelícula y protegerla de desinfectantes (18), en *Pseudomonas aeruginosa* será de alginato, *Salmonella typhimurium* de celulosa, abundante en glucosa y galactosa en *Vibrio cholerae*, etc. además dependiendo de las condiciones del ambiente esta constitución puede ser diferente para una misma especie (10, 16).

Finalmente, en la tercera etapa algunas bacterias se desprenden para migrar a otros lugares y comenzar la colonización en otra parte (16). Este desprendimiento puede ser por una actividad externa al biofilm como alguna sustancia con capacidad de desprender las bacterias o por procesos propios del biofilm, como por la falta de nutrientes (10) especialmente en biofilm compuestos por una gran población bacteriana que en un principio se haya desarrollado en un ambiente rico en nutrientes, los biofilm que estén en superficies expuestas a algún tipo de flujo de líquidos están sujetos a posibles abrasiones (17).

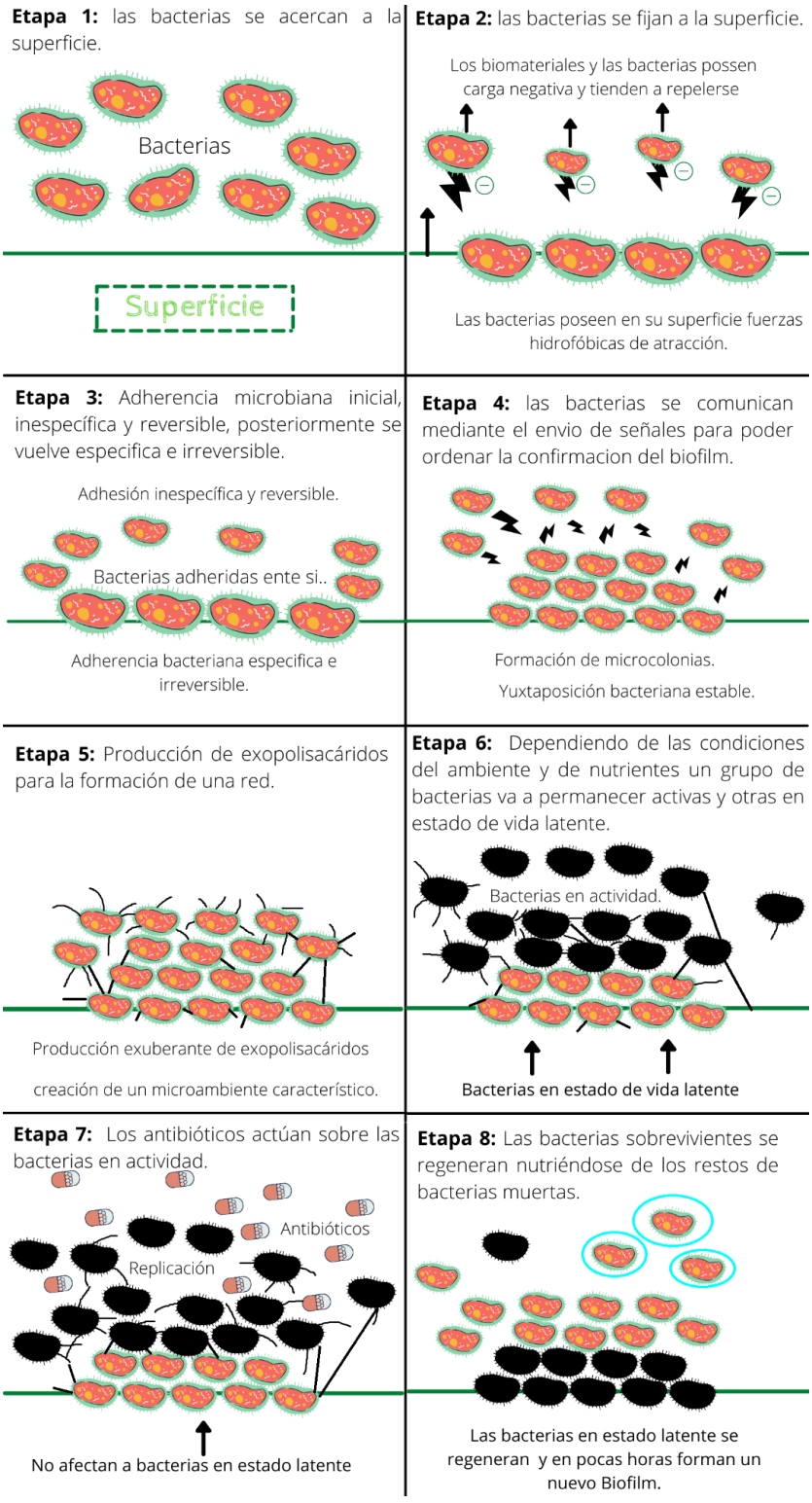

Figura 1: Formación de un biofilm, adhesión y pasos siguientes necesarios para la conformación de un biofilm en una superficie, Tomada y Adaptada de Andión, E. (2004) (15)

5.2.1.1 Factores que intervienen en la formación del biofilm

5.2.1.1.1 Condición de la superficie

La superficie sólida puede tener distintas características que son importantes para el proceso de adhesión. Se ha demostrado que la colonización microbiana se incrementa cuando la rugosidad de la superficie aumenta y el área de superficie es mayor (19, 20)

Las propiedades fisicoquímicas de la superficie son influyentes en la etapa de adhesión del microorganismo; distintas investigaciones han demostrado que la adhesión microbiana suele ser más rápida en superficies hidrófobas y en algunos plásticos, que por sobre otros materiales hidrofílicos como el vidrio o metales (20).

5.2.1.1.2 Especies bacterianas

Las bacterias pueden colonizar una amplia variedad de superficies en ambientes bióticos o abióticos habitados por formas superiores de vida y espacios adversos; su habilidad para persistir en la biosfera se debe en parte a su versatilidad metabólica y su plasticidad fenotípica, también resultan ser influyentes para su viabilidad la presencia de fimbrias y flagelos, así como la producción de exopolisacáridos (EPS); factores que influyen en su capacidad de adhesión y posterior supervivencia en distintos ambientes (20).

La hidrofobicidad de la superficie celular es importante para la adhesión ya que las interacciones hidrofóbicas tienden a incrementarse cuando aumenta la despolaridad natural

entre uno o ambas superficies involucradas (superficie celular y el substrato de la superficie). Las fimbrias y flagelos aparte de estar involucrados en la transferencia de virus o ácidos nucleicos bacterianos también contribuyen dando hidrofobicidad a la superficie celular ya que muchas de ellas contienen aminoácidos hidrófobos. Además, estos tienen un papel importante en las primeras etapas de la adhesión bacteriana al vencer las fuerzas de repulsión asociadas con el substrato (20).

Por otra parte, se sabe que la movilidad de una especie bacteriana es fundamental para la formación de los biofilm ya que las células inmóviles no recolonizan las áreas de un sustrato como lo hacen las células móviles, resultando más lenta la formación de un biofilm para las células inmóviles. (20)

5.2.1.1.3 Factores medioambientales

Otras características que son influyentes en el proceso de formación de biofilms, son: el pH, cantidad de nutrientes, cargas iónicas, temperatura y fluidez ya que dependiendo de las características de estos ocurre la adhesión bacteriana al substrato. Por ejemplo, se ha observado que el incremento de varios cationes como sodio, calcio y hierro afectan la adhesión de la *Pseudomonas fluorescens* a las superficies de vidrio, presuntivamente porque estos reducen las fuerzas repulsivas entre la carga negativa de las células bacterianas y la superficie del vidrio (20, 21).

5.2.1.2 Quorum sensing

Las bacterias interactúan entre sí y con el entorno que las rodea, en el caso de un biofilm mediante señales químicas se aseguran de la unión a una superficie, esta comunicación beneficia a las bacterias al permitirles actuar frente a cambios medioambientales (10), además pueden coordinar la expresión génica de genes de factores de virulencia y defensa de acuerdo a la densidad de la población, para esto se utilizan señales, en las bacterias Gram negativo se utilizan a lactonas acilhomoserinas (AHL) y en el caso de las Gram positivo se utilizan oligopéptidos modificados (10, 22).

En el caso de *Pseudomonas aeruginosa,* bacteria que utiliza las moléculas AHL como señales ve beneficiada la prosperidad de los biofilm en superficies hidrófobas (ejemplo, catéteres) porque estás facilitan el cierre del anillo de lactona de AHL, además la velocidad en la que alcanza la concentración suficiente de señales para la diferenciación del biofilm depende del pH y la temperatura del medio, ya que estos tienen cierta influencia en la conservación del anillo de lactona de AHL (23).

Cada vez que una bacteria se une, envía una señal, por lo que las moléculas señales se van acumulando lo que posteriormente permite la diferenciación del biofilm y la coordinación de acciones, para esto existen receptores de las moléculas señales o autoinductores, en las bacterias Gram negativo se han encontrados los sistemas QS luxl y luxR, necesarios para la maduración del biofilm (10).

5.2.1.3 Otros reguladores globales

Dentro de esta categoría se tienen reguladores globales como CsrA en *Escherichia coli*, CytR de *Vibrio cholerae*, los cuales son determinantes para el desarrollo de biofilm de estas bacterias (16).

En *Staphylococcus aureus*, se encontró un regulador global de virulencia denominado SarA es esencial para el desarrollo del biofilm de esta bacteria (24).

Además existe evidencia de regulaciones a nivel transcripcional, postranscripcional y postraduccional del proceso de formación del biofilm, donde se han descrito distintas proteínas implicadas en la síntesis del segundo mensajero, el ácido di-(3′-5′) guanosín-monofosfato (di-GMPc), que podrían afectar la formación de la biopelícula de *Gluconacetobacter xylinus, Vibrio cholerae, Yersinia pestis* y *Pseudomonas fluorescens* lo que lo sitúa como un transmisor secundario de señal común al proceso de regulación de la producción de EPS en bacterias (25, 26)

5.2.2 Factores de riesgo (población de riesgo)

Dentro de los factores de riesgo se destacan los pacientes menores de un año, la hospitalización prolongada, salas compartidas, hospitalización en unidad de paciente crítico (UPC), pacientes con enfermedades crónicas y procedimientos invasores, como uso de catéter venoso central, catéteres de vía urinaria y tubos endotraqueales, características propias del paciente o patologías de base como se observa en la tabla número 2 (27).

Estudios recientes realizados en Medellín demostraron que los pacientes con enfermedades crónicas presentan 2,2 veces más riesgo a adquirir una infección resistente en comparación con individuos sanos (27, 28).

Una hospitalización de más de 5 días aumenta en 5,3 veces el riesgo para contraer infecciones por bacterias multirresistentes y los pacientes hospitalizados en UCI tienen 2,37 veces más riesgo; además, si la estancia en la unidad intensiva fue superior a 6 días, este aumenta a 5,7 (28).

Este estudio también demostró que los pacientes a quienes se les insertaron dispositivos médicos tuvieron 4 veces más riesgo de presentar infecciones que los pacientes que no tuvieron estos dispositivos durante la estancia hospitalaria (28).

En cuanto al uso de ventilador mecánico, se evidenció que, al usar este dispositivo médico, y al mantener su uso por más de 5 días el riesgo a contraer IAAS se incrementó en 10,6 veces (28).

Tabla 2: Factores de riesgo de principales infecciones asociadas a la atención en salud

Fuente: Tomada y Adaptada de Unahalekhaka, A. (2011) (29)

Sitio de infección	Factores de riesgo
Infección de tracto urinario	Sexo femenino Severidad de la enfermedad Cateterización de tracto urinario Roturas en el sistema cerrado Edad avanzada
Neumonía	Enfermedad subyacente (estado mental alterado, diabetes, alcoholismo) Malnutrición Severidad de la enfermedad Antihistamínicos H2, antiácidos Intubación, ventilación mecánica, equipamiento para terapia respiratoria, traqueotomía
Primaria de flujo sanguíneo	Edades extremas Severidad de la enfermedad Enfermedad subyacente, inmunosupresión, quemaduras Dispositivos intravasculares
Sitio quirúrgico	Edad avanzada Malnutrición Severidad de la enfermedad Afeitado preoperatorio Clasificación de la herida Tipo de procedimiento Prótesis

5.2.3 Microorganismos formadores de biofilm que se presentan en las infecciones asociadas a la atención en salud.

La mayor parte de las IAAS se asocian a una bacteria o virus; a hongos ocasionalmente y a parásitos, en muy raras ocasiones. Se distinguen dos tipos principales de bacterias que causan IAAS, estos son cocos Gram-positivo y bacilos Gram-negativo (30).

La inmensa mayoría de las IAAS son producidas por agentes microbianos endógenos presentes en la flora normal de las personas, no patógenos en sus medios habituales. Algunos requieren incluso que el hospedero tenga condiciones inmunitarias deficientes para generar una infección (30).

5.2.3.1 Categorías de las infecciones asociadas a la atención en salud

5.2.3.1.1 Infecciones del tracto urinario

Esta infección ocurre en el 1 % de los individuos que son cateterizados en una sola ocasión de entrada y salida. De los pacientes que llevan de 10 a 14 días de cateterismo cerca de la mitad de estos presentan bacteriuria, por lo tanto, la infección se desarrolla en algún punto en casi todos los pacientes que tienen catéteres permanentes o de larga duración, sumando a esto el hecho de que las diarreas predisponen a la contaminación del catéter, por lo cual constituye otro factor predisponente (31).

En este tipo de infecciones los patógenos frecuentemente relacionados son *Escherichia coli, Candida spp, Enterococcus spp, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter spp, Staphylococcus* coagulasa negativo, *Staphylococcus aureus, Acinetobacter baumannii* y *Klebsiella oytoca* (31).

5.2.3.1.2 Neumonía

Para este caso las vías de infección son a través de la aspiración de los microorganismos en las secreciones de las vías aéreas superiores donde las micro gotas suspendidas en el aire expelidas por la tos de un paciente portador de la enfermedad. otra alternativa de contacto con patógenos es por medio del contenido gástrico regurgitado o a través de una diseminación hematógena de una infección a distancia por gérmenes como el *Staphylococcus aureus* de un catéter venoso central o una fístula arteriovenosa para hemodiálisis (31).

La aspiración a partir del agua potable es otro mecanismo posible, como ocurre en la infección por *Legionella spp*.

La mayoría de los pacientes que adquieren neumonía nosocomial son los que han sido mantenidos en ventilación mecánica en una unidad de cuidados intensivos (32).

Los agentes causales más frecuentes son *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter spp, Acinetobacter baumannii, Klebsiella pneumoniae,* y *Escherichia coli* (31).

5.2.3.1.3 Infecciones del sitio quirúrgico

Las bacterias comúnmente involucradas en este tipo de infección son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulasa negativo; *Enterococcus spp*, también algunos bacilos Gram negativo tales como *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp, Klebsiella spp,* y *Acinetobacter baumannii* (31).

Actualmente este tipo de infecciones depende más de la habilidad quirúrgica del cirujano y de la existencia de condiciones preexistentes en el paciente (31).

5.2.3.1.4 Infecciones del torrente sanguíneo

Estas pueden ocurrir después de la infección primaria del sistema cardiovascular, generalmente después de la inserción de un catéter intravascular, o pueden ser secundarias a una infección local en otro órgano (31).

Aproximadamente el 80% de las IAAS del torrente sanguíneo son primarias y debidas a catéteres. Dentro de los patógenos causales se destaca a *Staphylococcus* coagulasa negativo*, Enterococcus spp, Staphylococcus aureus* y los bacilos Gram negativo tales como la *Klebsiella pneumoniae y Enterobacter spp* (31).

5.2.3.1.5 Otras infecciones nosocomiales

Aproximadamente el 6% de las infecciones nosocomiales no ocurren en ninguna de estas cuatro localizaciones previamente abordadas. Actualmente el 25 % son de tipo misceláneo (Figura 2). Estas incluyen las infecciones gastrointestinales por el *Clostridiodes difficile y Salmonella spp* (31).

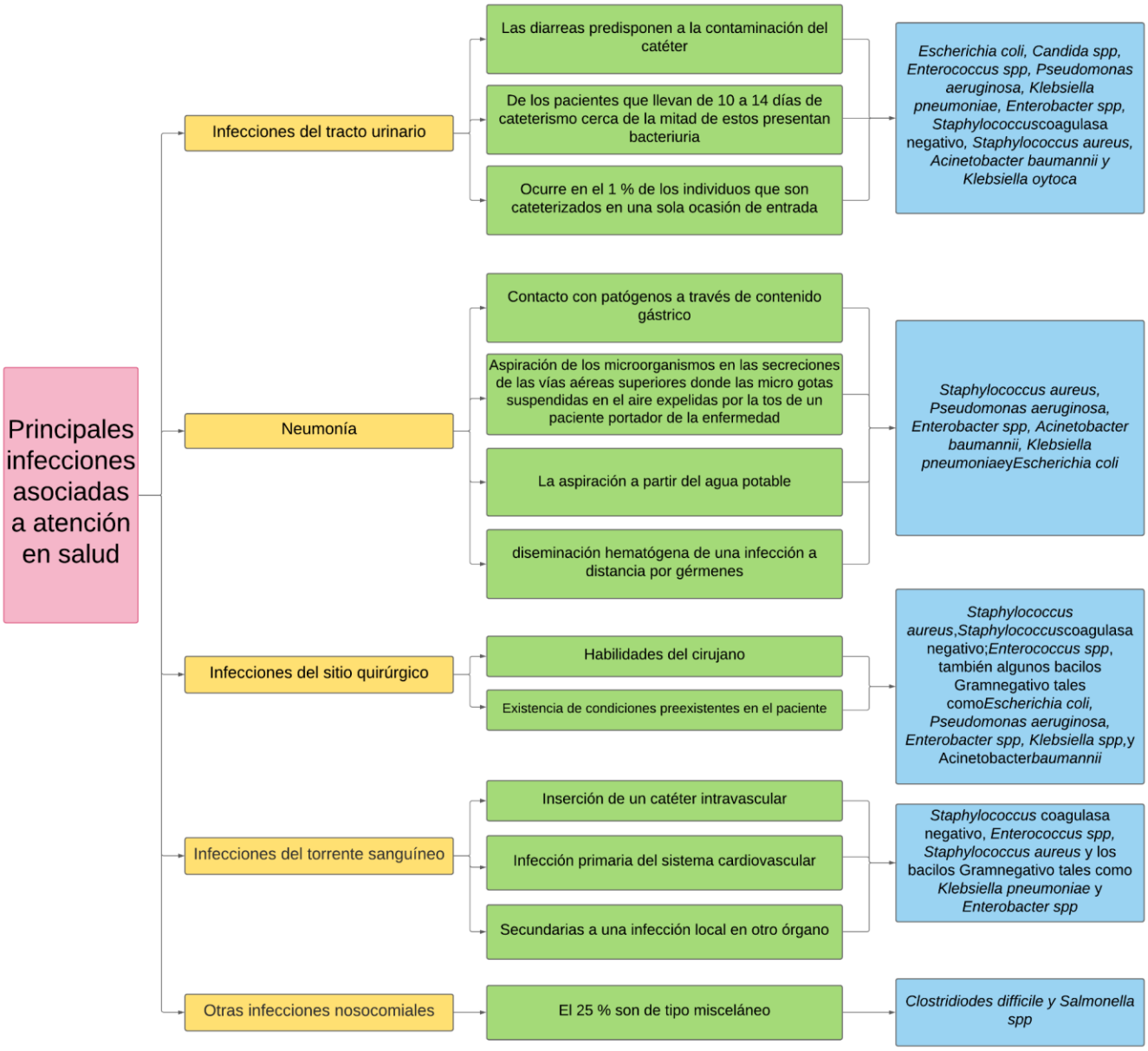

Figura 2: Esquema de las principales infecciones asociadas a atención en salud, sus principales causas y microorganismos implicados, Elaboración propia Ramírez, K; Urzúa, C (2021)

5.2.4 Consecuencias de la formación de Biofilms

Los biofilm pueden formarse sobre implantes médicos como prótesis, marcapasos, tubos endotraqueales y catéteres por bacterias provenientes de la piel del paciente o del mismo personal médico y una vez formado el biofilm este será una fuente de infección (16), además estas bacterias presentes en el biofilm serán resistentes al sistema inmune del paciente debido a su tamaño y a la falta de accesibilidad porque este mismo actuará como una barrera física contra las defensas del paciente (10).

Según diversos estudios las infecciones que involucran biofilm corresponden a la gran mayoría, por lo que se reconocen como factores importantes en el desarrollo de infecciones persistentes como endocarditis bacteriana, neumonía, osteomielitis, sepsis por catéteres endovenosos, infecciones por catéteres urinarios, uso de lentes de contacto, etc. (10)

Una de las características que causan mayores estragos en la medicina es la capacidad de los biofilm de presentar resistencia antibiótica sobreviviendo incluso a concentraciones muy elevadas de antibióticos, lo que produce infecciones recurrentes de difícil tratamiento, esto debido a la dificultad que tienen los antibióticos de penetrar la matriz del biofilm (16). Posiblemente debido a que la matriz actúa como barrera, las bacterias por falta alimentos se encuentran en un estado de cese de mitosis, diferencias de pH al interior de las colonias, cambios genéticos de las bacterias, formación de esporas, además que no siempre los antibióticos tienen el mismo efecto en bacterias en estado planctónico que en el de biofilm (10). Según el CDC más de 23.000 muertes fueron causadas por microorganismos resistentes en los Estados Unidos en 2013 y se estima que para el 2050 estas resistencias ocasionarán más de 10 millones de muertes al año (33).

Los biofilm suelen asociarse a infecciones, pero también existen algunos beneficiosos como los biofilm de lactobacilos en la vagina que disminuyen el pH previniendo la colonización de microorganismos patógenos como *Gardnerella vaginalis*, el biofilm que recubre los dientes que evita la colonización de otros microorganismos (16).

Las infecciones por biofilms normalmente no consiguen ser completamente eliminadas, producen episodios recurrentes que generalmente tienden a resolverse sustituyendo el dispositivo médico en el cual estaba formada esta biopelícula (16), es por esta razón que se ha trabajado en la adopción de diversas técnicas de laboratorio como el método "The Calgary Biofilm Device (CBD)" el cual es un modelo de ensayo rápido y reproducible que mide la susceptibilidad de los biofilms a los antibióticos, por lo que esta nueva tecnología permite la selección racional de antibióticos eficaces contra las biopelículas microbianas, así como también tiene la particularidad de ofrecer la determinación de nuevos compuestos antibióticos eficaces (34).

5.2.5 Estrategias para combatir la formación de biofilm

Algunos de los posibles métodos para evitar la formación de biofilm es inhibir la adhesión, usando quelantes limitando el hierro, estrategias para romper los biofilm ya formados y así darles una oportunidad a los antibióticos, disolver la matriz, péptidos que interrumpan la comunicación entre las bacterias, cambiar algunas características del medio que no lo hagan favorable (10).

Las infecciones relacionadas con aparatos médicos y por una formación de biofilm en dichos instrumentos son un gran problema en la clínica, ya que gran parte de los pacientes hospitalizados en recintos médicos requieren la inserción de aparatos médicos externos,

como lo son catéteres, las vías, ventilación mecánica, entre otros (35) y una vez que el biofilm se ha formado las acciones u opciones terapéuticas se ven reducidas, por lo que estrategias que prevengan la formación de biofilm son una alternativa prometedora.

Algunas estrategias para intervenir la formación de biofilm sobre implantes son evitar la contaminación de estos durante su implantación por medio quimioprofilaxis, diagnóstico y tratamiento precoz de infecciones, tratamientos antibióticos sistémicos para evitar la diseminación del biofilm y retirar los catéter de forma temprana de ser posible en caso de una infección (16).

Una de las técnicas que tiene un papel importante a la hora de tratar biofilm es el desbridamiento mecánico, pero debe ser acompañada de antimicrobianos o sustancias que impidan la formación de biofilm, ya que este tiene la capacidad de reconstituirse luego de verse afectado, ya sea en el mismo lugar o en otro (36).

Existen sustancias con actividad antibiofilm que pueden tener un efecto preventivo al no permitir o disminuir la formación del biofilm, otras tienen efecto terapéutico al destruir bacterias directamente o disminuir la matriz (37).

5.2.5.1 Estrategias de origen natural

Al igual que el aumento del interés de las personas de llevar un estilo de vida más saludable y de buscar alternativas naturales de alimentación que beneficien la salud, la ciencia también se ha interesado en investigar las propiedades de los compuestos naturales enfocándose en cualidades distintas a las nutricionales como lo son sus características

antioxidantes, antimicrobianas, antibacterianas y sobre la limitación de la formación de biofilm (12). Además, los productos naturales son una fuente importante de nuevas alternativas terapéuticas al tener una composición de gran diversidad química (38). Por ejemplo, los aceites esenciales obtenidos desde las plantas contienen compuestos que las protegen contra la infección de microorganismos (33), los cuales también pueden utilizarse para estudios en humanos.

Un estudio realizado en Brasil indicó que la bacteria *Cobetia marina* interfiere significativamente en la formación de biofilm por *Staphylococcus epidermidis*, en este estudio se probó un cultivo de esta bacteria contra *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y 13 cultivos de *Staphylococcus epidermidis* aislados desde catéteres venosos centrales desde el Hospital de Clínicas de Porto Alegre durante el 2008, y se comprobó que esta bacteria es capaz de inhibir la formación de biofilm de *Staphylococcus epidermidis* y en menor cantidad en *Pseudomonas aeruginosa*, pero no es capaz de destruir el biofilm ya formado, además el efecto sobre *Staphylococcus epidermidis* es dependiente de la dosis de *Cobetia spp*, probablemente debido a la presencia de un péptido resistente al calor capaz de actuar como modulador del sistema quorum sensing de *Staphylococcus epidermidis* previniendo la formación de sustancias poliméricas extracelulares y así bloqueando la adhesión a una superficie y así la formación del biofilm (35).

Cymbopogon citratus conocido como lemon grass formado principalmente por citral, aldehído compuesto por el monoterpeno geranial, tiene características antimicrobianas y antiinflamatorias pudiendo potenciar el efecto antimicrobiano de algunos antibióticos (11). El aceite esencial de esta ha demostrado evidencias de inhibir la formación de biofilm sin efectos tóxicos, pero no es capaz de remover el biofilm ya maduro, además en un estudio fue capaz de inhibir la formación de biofilm compuesto por multiespecies de *Streptococcus mutans y Candida albicans* (11). Puede inhibir el crecimiento de bacterias

planctónicas de *Escherichia* coli al atravesar la membrana bacteriana, en el caso de *Escherichia coli* O157: H7 tienen gran importancia los glucanos producidos por glucosiltransferasa para mantener los biofilm, en donde el citral y geraniol son capaces de reducir la producción de estos, posiblemente debido a su capacidad de alterar la regulación de genes que participan en la producción de glucanos impidiendo la acción de la enzima glucosiltransferasa (18).

Otra forma de utilizar el extracto de *Cymbopogon citratus* es en la optimización del proceso de obtención de nanopartículas de óxido de cobre (CuONP), las cuales tienen características antimicrobianas, pero los métodos que se utilizan liberan productos tóxicos que impiden su aplicación biológica, por lo que la utilización de métodos que emplean extractos de plantas como *Cymbopogon citratus* son una alternativa como agentes reductores y estabilizadores en la obtención de CuONP, en donde los tres ésteres bioactivos de CLE (diacrilato de dipropilenglicol-1 ($C_{12}H_{18}O_5$), α-monooleína ($C_{21}H_{40}O_4$) y el ftalato de isooctilo ($C_{24}H_{38}O_4$) reducen activamente el Cu, para crear nanopartículas capaces de impedir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina y a *Escherichia coli* productora de β- lactamasas, al formar poros y cavidades, al igual que inhiben la formación de biofilm por parte de estas bacterias al entrar las NP en las membranas y producir daños y muerte de las baterías por estrés oxidativo (39).

El aceite esencial de *Cymbopogon flexuosus* compuesto principalmente por geranial o citral que ya ha demostrado tener características antioxidantes y antimicrobianas mostró tener capacidad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus, Salmonella Typhimurium* y *Listeria monocytogenes* al igual que se evidenció la facultad de reducir la formación de biofilm y de disminuir la masa del ya formado por *Salmonella Typhimurium* y por *Staphylococcus aureus* supuestamente debido al rompimiento de la estructura, pero esto no evita que las células migren y se vuelvan a formar (12).

El aceite esencial obtenido desde hojas secas de *Eucalyptus staigeriana* está compuesto principalmente por geranial, neral y limoneno, tiene la capacidad de inhibir la formación de biofilm, de las cepas de *Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Listeria monocytogenes, Streptococcus gallolyticus* y *Staphylococcus epidermidis* al aplicarse antes de su formación in vitro lo que sugiere que no permite la adhesión de las bacterias o interfiere en los sistemas de detección del quórum, pero no es capaz de eliminar biofilm ya constituidos (33).

La miel es una sustancia dulce, no fermentada, producida por las abejas, que presenta diversas propiedades nutritivas y protectoras beneficiosas para el ser humano, estudios recientes prueban las propiedades antimicrobianas que presenta la miel en bacterias multirresistentes, en estudios realizados por Estrada en el año 2005, se demostró que la miel tiene un efecto antimicrobiano en contra de *Staphylococcus aureus* incluso en cepas resistentes (40).

La propiedad antibacteriana de la miel se atribuye algunas de sus características físicas: su alta osmolaridad, la acidez y el contenido de peróxido de hidrógeno, como su pH es ácido produce inhibición del crecimiento bacteriano, la miel tiene una concentración mínima inhibitoria (CIM) de 10%-50%, esto quiere decir que se necesita muy poca concentración de ésta para inhibir el crecimiento (41).

Existen distintos tipos de miel como la de manuka, este tipo de miel es generada a partir del néctar proveniente del *Leptospermum scoparium*, el cual es un árbol de tipo matorral originario de Nueva Zelanda y en estudios realizados en ratas en el año 2001 demostró que este tipo de miel de abejas presentan propiedades antibacterianas contra

Staphylococcus y *Pseudomonas aeruginosa* (42). En cuanto su mecanismo de acción este compuesto presenta diferentes formas de inhibición frente a las dos cepas nombradas anteriormente puesto que en el caso de *Staphylococcus aureus* actúa sobre la enzima mureína hidrolasa la cual es codificada en el gen atl y se encuentra presente en la pared celular, por lo que este compuesto al actuar sobre esta enzima genera una separación defectuosa de la células lo que genera una interrupción de la división celular (43). En cambio, frente a *Pseudomonas aeruginosa,* la miel de manuka genera una alteración de la envoltura celular de las bacterias (44).

Otro tipo de miel con potencial antimicrobiano es la miel de Tualang producida por las abejas “Apis Dorsata", las cuales tienen su hábitat en la selva ecuatorial del sur de Asia donde en estudios del año muestra una eficacia igual o mejor en comparación con la miel manuka en relación con sus propiedades antibactericidas (45).

La lectina es una glicoproteína no inmunogénica, que se deriva de leguminosas y puede inhibir el crecimiento de biofilms de *Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae y Pseudomonas aeruginos*a, también se puede utilizar para modificar las bacterias y las superficies abióticas (46). Las lectinas están ligadas a defensa del huésped, aglutinación y opsonización, estas pueden unirse a distintos residuos de azúcar de patógenos, en el caso de la lectina aislada de *Penaeus semisulcatus* (camarón tigre verde), también cuenta con propiedades como oxidación del fenol, encapsulación y actividad antibiofilm contra *Vibrio parahaemolyticus y Aeromonas hydrophila,* siendo capaz de disminuir la población bacteriana de los biofilms ya formados (47).

Las especies del género *Allium* cuentan con propiedades beneficiosas debido a sus componentes como organosulfurados (aliina y γ-glutamilcisteína), compuestos de azufre volátiles (sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo, etc.), entre otras, por ejemplo el extracto

etanólico de *Allium orientale* es capaz de disminuir la formación de biofilm de *Escherichia coli* (48), el extracto fresco de ajo (*Allium sativum*) puede inhibir el crecimiento de biofilms de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga, ya que altera su formación y reduce el contenido de carbohidratos del biofilm, esto es de importancia debido a que la celulosa ocupa un rol en la adhesión y en el desarrollo de estos (49).

Los clavos son los botones florales aromáticos de un árbol de la familia Myrtaceae, este consta con características antimicrobianas, uno de sus compuestos es el eugenol que tiene características antisépticas, analgésicas, antiinflamatorias y tiene gran capacidad antimicrobiana contra *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos probablemente debido a que daña las membrana de estas, reduce el ATP intracelular y el pH, por un cambio de permeabilidad de las membranas, además puede inhibir la formación de biofilm por parte de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos, reduciendo algunos genes que están relacionados con la formación de los biofilms como pgaA, luxS, wbbM y wzm (50).

El cinamaldehído se encuentra en el aceite esencial de canela este presenta una actividad antibacteriana para diferentes bacterias por ejemplo es capaz de reducir el crecimiento de las bacterias planctónicas de *Staphylococcus epidermidis*, inhibe la formación de su biofilm y destruye parte de la población bacteriana de uno ya formado, debido a que puede aumentar la permeabilidad de las membranas, pudiendo aumentar el ingreso de los fármacos al utilizarse en conjunto, por ejemplo cinamaldehído y estreptomicina destruyen biofilm de *Listeria monocytogenes y Salmonella Typhimurium* (51).

El aceite de corteza de canela está compuesto por eugenol y cinamaldehído, estos tienen características antimicrobianas y este último posee un efecto antibiofilm sobre *Staphylococcus aureus y Staphylococcus epidermidis* resistentes a la meticilina, también

afecta la susceptibilidad de los biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*, mientras que ambos pueden reducir la producción de fimbrias y así la de biofilms de *Escherichia coli* enterohemorrágica, afectando tanto la motilidad del enjambre como el QS (52).

En la producción de jugo de manzana queda un gran excedente sólido y uno de los compuestos de la manzana es el ácido ursólico que posee características antibacterianas, antiinflamatorias y disminuye la viabilidad de bacterias *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos al igual que el eugenol produce una disminución del ATP intracelular, ya que altera la permeabilidad de las membranas, además inhibe la formación de biofilm por parte de estas bacterias e incluso puede eliminar bacterias que ya están conformando un biofilm debido a esta capacidad de alterar la permeabilidad de las membranas bacterianas (53), este ácido también puede inhibir la formación de biofilm de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina al dispersar las bacterias lo que permite aumentar la susceptibilidad de los biofilms a los antibióticos, pudiendo así tratar las infecciones provocadas por este microorganismo (54) y el ácido ursólico en conjunto con xilitol presentan una actividad sinérgica contra la formación de biofilms de *Streptococcus mutans* (55).

La cáscara de granada se utiliza de forma casera para tratar úlceras y diarreas, está compuesta por punicalagina un fitoquímico con características antimicrobianas y antioxidante, capaz de inhibir los factores de virulencia de *Salmonella* y de dañar la membrana bacteriana de *Staphylococcus aureus*, también provoca la salida masiva de iones de potasio y puede inhibir la formación de biofilms (56).

El aceite esencial de orégano tiene características antimicrobianas, las cuales están ligadas a dos de sus componentes: timol y carvacrol, quienes actúan independientemente, produciendo la liberación de protones, fosfato y potasios, de la misma forma que los fitoquímicos anteriores, modificando la permeabilidad de las membranas bacterianas (57).

El carvacrol se encuentra presente principalmente en el orégano, pero también se puede encontrar en el tomillo o la bergamota, este fitoquímico es un fenol monoterpénico, con un metabolismo de gran rapidez, ya que se elimina el mismo día de su administración y este al tener un grupo hidroxilo interactúa con la bicapa lipídica de la membrana de las bacterias, aumentando su permeabilidad y luego produciendo su destrucción, además interfiere con los factores de virulencia e inhibe la formación de biofilm de *Staphylococcus aureus y Salmonella typhimurium* y por último es capaz de inhibir la producción de AHL (58).

Desde la corteza del tallo de magnolia sp se puede aislar magnolol (5, 59-dialil-2,29-dihidroxibifenilo), el cual posee una gran actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina y *Enterococcus* resistentes a la vancomicina, el magnolol puede inhibir la expresión de cidA que es un gen que promueve la lisis celular, al igual que a otros genes encargados de la autolisis y algunos a cargo de la síntesis de la pared celular, pudiendo así inhibir la formación de biofilms al actuar sobre genes encargados de la formación de estos (59).

Las esponjas marinas son grandes fuentes de sustancias que pueden servir en el desarrollo de fármacos al contar con características antimicrobianas, en donde los extractos de la esponja *Petromica ciocalyptoides* puede inhibir cepas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis y Staphylococcus haemolyticus* resistentes a meticilina (60). De esta esponja se puede aislar el sulfato de halistanol A y la mezcla de dicetopiperazinas rodriguesinas A y B se puede aislar de una ascidia del género *Didemnum*, estas últimas son dipéptidos capaces de modular el QS de bacterias en donde actúa LuxR, estos compuestos por separado pueden inhibir la formación de biofilm de *S. mutans*, disminuyendo la expresión de los genes gtfB / gtfC y gbpB (61).

Todos los vertebrados cuentan con sistemas de protección que secuestran el hierro, uno de los encargados de esto es la lactoferrina (Lf) que se encuentra en las secreciones externas (62), esta es una glicoproteína de una sola cadena que está plegada en dos lóbulos globulares que contienen un sitio de unión al hierro y al igual que la transferritina puede unirse con 2 átomos de hierro, pero esta puede retener el hierro en ambientes ácidos (63). Por lo que juega un importante rol en los mecanismos de defensa contra distintos patógenos.

Gracias a la capacidad de Lf de retener hierro esta presenta una actividad antibacteriana y cuando interactúa directamente con el ácido lipoteicoico tiene una capacidad bactericida al inducir la lisis bacteriana, también presenta propiedades anti-adhesivas y anti-invasivas, siendo capaz de inhibir la adhesión de *Helicobacter pylori* a las células epiteliales gástricas y de *Streptococcus mutans* en las piezas dentales. Además, por esta capacidad de unir hierro puede modular la agregación bacteriana y la posterior formación de biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* al estimular espasmos que generan que las bacterias deambulen por las superficies disminuyendo la posibilidad de que se adhieran a una superficie (64).

En presencia de lactoferrina las bacterias de *Pseudomonas aeruginosa* son incapaces de formar un biofilm complejo, se pueden reproducir, pero no forman microcolonias o biofilm, sino que permanecen como microcolonias muy finas, esto debido a que lactoferrina ocasiona que las bacterias estén en movimiento, por lo que no serán capaces de formar el biofilm, lo que las hace sensibles a la acción de antibióticos, aunque todo esto es reversible si la concentración de hierro es elevada, además si se expone un biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* ya formado estas son resistentes a la presencia de lactoferrina (62). Otra característica importante es que esta glicoproteína es capaz de penetrar en el interior de los biofilm, por lo que puede permeabilizar las bacterias Gram negativo (65).

Dentro de este mismo campo de acción se encuentra el ion Galio, el cual presenta una estructura similar al hierro, con la diferencia de que el galio no puede óxido reducirse por lo que permanece en estado III compitiendo y desplazando al hierro en múltiples procesos y reacciones esenciales para la viabilidad bacteriana (66), se ha comprobado que es un elemento muy eficaz en la batalla contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* tanto sensibles como resistentes a antibióticos (67).

Se ha comprobado la capacidad del xilitol de impedir la formación de biofilm dentales lo cual podría deberse a la inhibición metabólica, además este altera la composición de los biofilm establecidos y la combinación de este con lactoferrina es una técnica alternativa para evitar el desarrollo de resistencia por parte de las bacterias, pudiendo disminuir la viabilidad de los biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureu*s y de alterar su conformación e ingresar al interior de estas complejas colonias (37, 65).

Uno de los patógenos oportunistas más importantes es *Staphylococcus epidermidis* muy común en las infecciones de dispositivos médicos, para que estas bacterias puedan adherirse entre sí, necesitan de la presencia de la adhesina intercelular de polisacárido (PIA), el farnesol es un compuesto de origen natural que está en gran cantidad de aceites esenciales y tiene la capacidad de disminuir el desarrollo de la matriz, además a concentraciones de 300 µM produce la reducción del espesor del biofilm por muerte de las bacterias al alterar la membrana de estas (68). El farnesol también afecta el biofilm de *Enterococcus faecalis* reduciendo su biomasa y la producción de la matriz, además de destruir bacterias al acumularse en las membranas lo que compromete la integridad de estas y produce que liberen su contenido interno (36). Cabe destacar que incluso la aplicación tópica de farnesol puede reducir la matriz de los biofilm (37).

Trans-trans farnesol, alcohol que está presente en el propóleo y en aceites esenciales de frutas cítricas (37), puede cambiar la permeabilidad de la membrana celular de bacterias como *Staphylococcus aureus* que se encuentren en estado planctónico, también puede aumentar la permeabilidad de *Streptococcus mutans* y liberar protones afectando la gradiente de pH y el metabolismo intracelular en las células planctónicas y de menor manera en los biofilm, provocando acidificación citoplasmática y también afecta la síntesis de EPS por *Streptococcus mutans* (38).

Las estrategias que combinan diferentes métodos para impedir la formación de biofilm pueden ser la forma más eficaz de lograr este resultado, ejemplos de esto son el desbridamiento mecánico con el uso de antimicrobianos y antibiofilm (36). En el caso de la combinación de Farnesol y xilitol estos son efectivos a la hora de reducir la matriz y biomasa del biofilm e inhibir la formación de este, ambos compuestos actúan de forma sinérgica reduciendo la población bacteriana (36), e incluso la combinación de farnesol, xilitol y lactoferrina tiene efectos aún más prometedores contra las bacterias formadoras de biofilm como *Enterococcus faecalis y Staphylococcus epidermidis* (37).

El antibiótico mupirocina inhibe la formación de proteínas bacterianas y los monoterpenos provocan alteraciones en la permeabilidad de la membrana *Staphylococcus aureus* al interactuar con los lípidos de esta, por lo que al actuar en conjunto aumenta el efecto producido por la mupirocina, pudiendo así ingresar a los biofilm y eliminar gran parte de las bacterias, un ejemplo de esto es la acción conjunta de 1,8-cineol con mupirocina los cuales potencian su actividad anti biofilm a diferencia de la combinación de este antibiótico con mentol que produce una reducción de sus capacidades de eliminar bacterias contenidas en un biofilm ya formado, pero sí tienen gran efecto al inhibir la formación de uno (69).

Paeoniflorin es monoterpeno, capaz de inhibir el crecimiento de células planctónicas de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos la cual genera infecciones graves de difícil tratamiento, esto lo hace al disminuir el ATP intracelular, al alterar la integridad de las membranas de las bacterias, permitiendo la fuga de compuestos de las bacterias, por la acumulación de grupos fenólicos hidrófobos en la bicapa lipídica, así mismo al estar en una concentración de 2MIC el paeoniflorin puede inhibir la formación de biofilm (70).

Otra opción de tratamiento frente a bacterias multirresistentes son los péptidos antimicrobianos, estos se pueden clasificar según su estructura, ya sea helicoidal, laminar o espirales aleatorios (71). Son muy versátiles lo que les da la ventaja de poder generar variados modelos sintéticos de compuestos bioactivos, además son fáciles de producir y tienen amplio alcance, pero presentan una baja estabilidad al ser susceptibles a la proteólisis (72).

La magainina tiene una estructura helicoidal que le permite interactuar con las membranas bacterianas y puede inhibir la formación de biofilms de *Acinetobacter baumannii* incluso por parte de las cepas multirresistentes a fármacos, además este péptido puede eliminar parte de los biofilms ya formados de forma más eficiente que los antibióticos existentes, al formar poros en las membranas (71).

Los peptidomiméticos son una opción alternativa que no presentan los inconvenientes de los péptidos naturales, pero conservan sus capacidades. Estos se pueden preparar modificando la estructura de un péptido natural, mediante la unión de aminoácidos no naturales generados mediante modificaciones o al reemplazar el átomo de carbono por nitrógeno, entonces estos distintos peptidomimeticos pueden destruir biofilms maduros sin los inconvenientes o limitaciones de los péptidos naturales (72).

Sumado a lo anterior, se agrega como elemento antibiofilm la betaína que presenta propiedades tensioactivas, la cual al combinarse con PHMB (polihexametileno biguanida), genera un compuesto que favorece el rompimiento del biofilm puesto que reducen la tensión superficial del medio en el que se encuentran disueltos lo que permite que se puedan desprender los restos y suspenderse en la solución (73).

5.2.5.2 Estrategias que actúan sobre la comunicación bacteriana o Quorum sensing

A la hora de inhibir la formación de biofilm juega un rol fundamental interrumpir o alterar la comunicación bacteriana o la detección del quórum, regulación genética que realizan las bacterias al enviar señales para monitorear la densidad de su población, en donde muchas bacterias Gram negativo emplean como compuesto de señalización al acil-homoserina lactonas (AHL) (74).

Para que una molécula sea considerada inhibidora de QS (IQS) debe ser eficaz y aplicable, de baja masa molecular, capaz de reducir la expresión de genes que se controlan en el quorum sensing, debe tener especificidad por el regulador de QS, LuxR sin afectar al huésped, para esto se tienen tres puntos de inhibición (Figura 3): el generador de la señal, homólogo de Luxl; las moléculas usadas como señal y el receptor de señales homólogo de LuxR, (22).

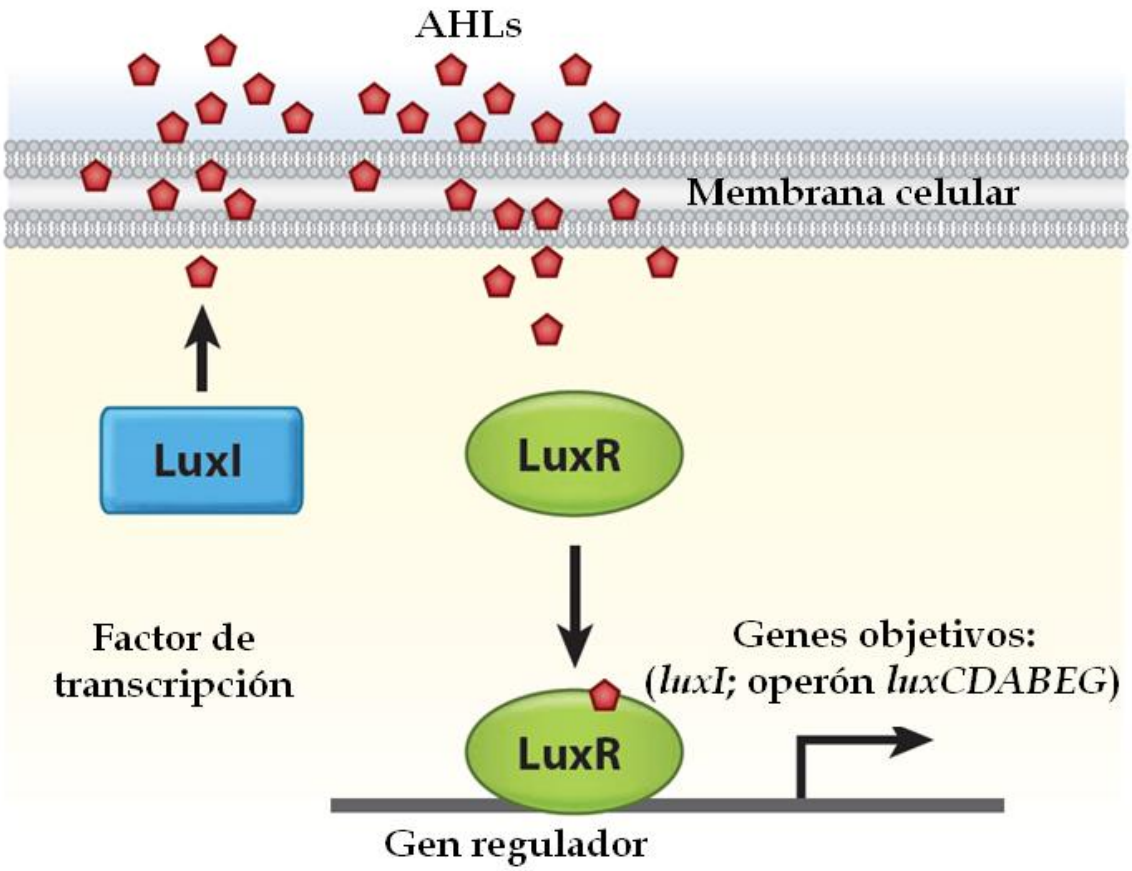

Figura 3: Sistema de quorum sensing LuxI/LuxR en *Vibrio fischeri*, similar para la mayoría de las bacterias gram negativas, Tomada de Brango, J. (2011) (75)

Los inhibidores de QS son prometedores a la hora de dificultar la formación de biofilm y podrían ser de mayor utilidad al poder combinarlos con antibióticos y así aumentar la susceptibilidad de los biofilm a los fármacos, en donde se ha comprobado que la combinación de IQS como hidrato de baicalina (BH) o cinamaldehído(CA) al usarse en combinación con antibióticos como tobramicina, pueden aumentar el efecto de estos sobre bacterias como *Burkholderia multivorans, Burkholderia cenocepacia, Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus* (76).

Los derivados de furanonas halogenadas son inhibidores naturales de QS que pueden inhibir la expresión de algunos factores de virulencia (14, 77), pero estos tienen alta reactividad química y presentan derivados con citotoxicidad, por lo que como alternativas se encuentran las γ-lactonas y sus γ-lactamas derivadas, capaces de inhibir la formación de biofilm de *Streptococcus mutans* y son menos citotóxicas que las furanonas (14).

Otras alternativas naturales de inhibidores QS es el uso curcumina de Curcuma longa, es una planta herbácea de hoja perenne perteneciente a la familia Zingeberaceae que se cultiva ampliamente en la India, China y algunos países de América del Sur (78), a esta planta se le tribuyen una serie de beneficios medicinales, donde uno de los más significativos es la inhibición la formación de biopelículas de uropatógenos, tales como *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa PAO1, Proteus mirabilis y Serratia marcescens* (79).

Investigaciones recientes han demostrado que el uso de la curcumina junto con la reserpina, la cual es un indol-alcaloide que se encuentra principalmente en la planta con flores Rauwolfia serpentina ha sido aún más efectivo en la inhibición de QS de *Pseudomonas aeruginosa* (80).

Otras de los uso de la curcumina es la formación del estrato de cloroformo de cúrcuma, el cual contiene una variedad de fitoquímicos no polares, particularmente sesquiterpenos, turmerona y ácidos grasos que ayudan a en la inhibición del biofilm ya que esta sustancia ayuda a reducir la adherencia de las bacterias puesto que actúa a nivel de EPS (81).

5.2.5.2.1 Estrategias dirigidas a moléculas señal

El bloqueo de la producción de señales puede llevarse a cabo mediante análogos de este, por ejemplo, en el caso de AHL están; holo-ACP, L / DS-adenosilhomocisteína, sinefungina y butiril-S-adenosilmetionina (butiril-SAM) o se pueden degradar estas señales por medio de destrucción enzimática o degradación química (22).

En estudios donde se medía la cantidad de AHL se descubrió que este puede inactivarse en presencia de un medio alcalino al hidrolizarse el anillo de lactona, pero esto es reversible una vez que el medio se acidifica, lo que requiere un prolongado tiempo eso sí, además la ruptura del anillo se dificulta cuando la cadena lateral de AHL es más larga, estabilizando el anillo por más tiempo (23).

5.2.5.2.2 Estrategia dirigida hacia el receptor de señales

Se puede interferir el receptor de señales al evitar que estas sean captadas, por bloqueo o por la destrucción de los receptores para esto se pueden utilizar IQS sintéticos al ser estos análogos a AHL (22).

Al insertar sustituyentes arilo en la parte final de la cadena lateral de AHL se puede obtener inhibidores de QS, pero este no debe superar en gran tamaño a la molécula original, ya que puede perder su efecto y no podría interactuar con LuxR para evitar su activación (82).

El ajo posee actividad antibiótica, que ha sido atribuida a uno de sus componentes el ácido 2-propensulfénico, que en el ajo da alicina, un tiosulfinato, en donde mediante estudios de los componentes individuales del ajo, algunos son capaces de inhibir el quorum sensing de *Pseudomonas aeruginosa*, aun así esta inhibición no es tan potente como los análogos de AHL con sustituyentes alquilo cíclico o acíclico en el final de la cadena lateral, que son capaces de dificultar la actividad de receptores como LuxR o LasR y en caso de reemplazar el C3 con azufre en la cadena lateral, el resultado es aún más satisfactorio (83).

3,5,7-trihidroxiflavona (TF) aislado del extracto de hoja de *A. schollaris* puede inhibir la formación de biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* al perturbar su quorum sensing, pudiendo disminuir la motilidad de las bacterias, la producción de exopolisacáridos, algunos factores de virulencia como la piocianina, ya que se une al receptor de moléculas señal formando un complejo que impide la unión de las señales a los receptores (84).

La macroalga marina *Delisea pulchra* produce furanonas halogenadas que poseen actividad antimicrobiana, Las furanonas producidas por *Delisea pulchra*, reducen la motilidad de enjambre de las bacterias al reducir el surfactante, dificultando el establecimiento de biofilms de *Serratia liquefaciens* (85). Estas furanonas también pueden modificarse y generar un compuesto llamado furanona 56, que no cuenta con una cadena lateral en la posición 3 del anillo teniendo solo una sustitución de bromo en el grupo metileno, que es un inhibidor de QS al ser un antagonista de AHL impidiendo de forma competitiva su unión a los receptores de señales LuxR, esta furanona puede interferir en la transcripción de genes que depende de AHL, además puede penetrar la matriz de biofilms generados por *Pseudomonas aeruginosa* y así interferir con la maduración de este (74).

Las bacterias que conforman un biofilm tienen mayor resistencia a los tratamientos antibióticos, ya que se les dificulta ingresar por la matriz, por lo que inhibir el quórum sensing puede mejorar la eficiencia de estos. El compuesto 5- hidroxi-2 (3H) – benzofuranona en conjunto con ciprofloxacino, impiden la maduración del biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* permitiendo que el antibiótico actúe sobre las bacterias libres que no pudieron formar parte de la estructura del biofilm (77).

5.2.5.3 Estrategias para reducir o erradicar los biofilm asociados a instrumentos médicos

Durante las últimas décadas ha habido un aumento en la utilización de implantes artificiales de cadera y rodilla al igual que el uso de stents, injertos vasculares o catéteres se emplean en gran medida para mejorar la salud y la calidad de vida de las personas, pero el uso de estos conlleva el incremento del riesgo a la colonización bacteriana por la formación de biofilm (86), los cuales generalmente están compuestos por bacterias multirresistentes complicando aún más el estado de salud de la persona, por lo que es de vital importancia encontrar nuevas estrategias para combatir la formación de estos.

Los biofilms formados sobre dispositivos médicos pueden estar compuestos por bacterias Gram positivo o Gram negativo. Estos microorganismos proceden de la piel del propio paciente, del personal sanitario o del ambiente. Este tapiz bacteriano puede estar formado por una única especie o por múltiples especies, dependiendo del implante y de la duración de su uso en el paciente (16).

En varios estudios se ha demostrado la capacidad antimicrobiana de los iones de plata, por lo que se han visto enfoques nanotecnológicos para cubrir dispositivos médicos

como catéteres con nanopartículas de plata o de impregnarlas con estas, debido a la posibilidad de que estas nanopartículas al aplicarse en sitios específicos tengan menos efectos tóxicos que los iones de plata (87), la acción ejercida por la plata está dada porque interfiere con las funciones de las proteínas como la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la glutatión reductasa y en las bacterias induce un estrés oxidativo en las paredes celulares lo que lleva a distintas alteraciones en las bacterias como la inhibición del crecimiento (88).

Otra opción es modificar las superficies de adhesión, por ejemplo del acero inoxidable con dopamina la cual puede reaccionar químicamente con distintas superficies por reacción de oxidación y autopolimerización, al unir dos tipos de péptidos sintéticos a superficies de acero inoxidable tratadas con dopamina que luego generan polidopamina por oxidación, al adherirse estos al acero inoxidable las superficies se vuelven hidrófilas, lo que dificulta la unión de las bacterias a las superficie y la capacidad de formar biofilms de S. aureus (89).

5.2.5.3.1 Biofilm en catéter intravascular

Dentro de las estrategias para combatir esta biopelícula, la más efectiva es retirar el catéter, sin embargo, en el caso de los catéteres intravasculares tunelizados centrales la retirada puede resultar problemática y el riesgo quirúrgico que supone la retirada puede ser mayor que el riesgo asociado a un tratamiento antibiótico ineficaz, es por esta razón que en estos casos se recomienda un tratamiento denominado de sellado antibiótico, que consiste en instalar en el interior del catéter una solución de anticoagulante (heparina o EDTA) y antibiótico a una concentración entre 100 y 1.000 veces mayor que la concentración mínima inhibitoria del microorganismo responsable de la infección asociada a catéter, durante al menos 8 horas diarias a lo largo de 10-14 días. Los antibióticos que han presentado mejores

resultados en este tipo de tratamiento son gentamicina, levofloxacino, cotrimoxazol, minociclina, teicoplanina y vancomicina (16).

Otra alternativa es el uso de catéteres impregnados con antimicrobianos o antiinfecciosos pero su eficiencia aún está en discusión. dentro de los antibióticos/antiinfecciosos más utilizados para impregnar los catéteres son cefazolina, Chlorhex-sulfadiazina de plata, minociclina-rifampicina, impregnación de plata-iontoforesis (16).

Los catéteres de Foley a base de látex se podrían recubrir externa e internamente con nanopartículas de fluoruro de magnesio de un tamaño promedio de 25 nm en un medio de reacción sónico-química, lo que puede evitar la adhesión bacteriana y la formación de biofilms por parte de *Staphylococcus aureus y Escherichia coli* estando en contacto con fluidos como el plasma o la orina, además al estudiar su efecto en las células del huésped no se observan cambios en la morfología ni apoptosis o ningún efecto adverso en las pruebas de laboratorio, por lo que esto abre una puerta para su utilización en diversos dispositivos médicos (86).

A partir de la piridina se pueden generar derivados agregando un dióxido de nitrógeno en la posición meta del anillo fenólico o la adición de un hidroxilo en el anillo fenólico, lo que genera dos compuestos capaces de inhibir la formación de biofilms y de destruir las biopelículas ya formados por *Acinetobacter baumannii*, por lo que estos podrían combinarse con otros fármacos para aumento su eficacia, especialmente a la hora de hablar de biofilms formados en catéteres (90).

5.2.5.3.2 Biofilm sobre prótesis articulares.

Al generarse un ecosistema microbiano organizado sobre un implante articular, se debe realizar distintos tratamientos para combatir esta formación, dentro de ello se incluye una serie de terapias antimicrobianas agresivas junto con procedimientos quirúrgicos que incluye desbridamiento completo para retirar todos los materiales infectados incluyendo el segmento y los tejidos desvitalizados y el hueso (91).

En la mayor parte de los casos los intentos para salvar la prótesis son infructuosos y es necesaria la retirada del implante junto con una pauta antimicrobiana apropiada de larga duración y posterior reimplantación de la prótesis articular (91).

Recientemente un grupo de científicos de distintas áreas relacionadas con la biotecnología médica, pretenden desarrollar un implante inteligente que sería capaz de detectar la presencia en la superficie de patógenos bacterianos, bloquear sus sistemas de transducción de señal y tratar la infección incipiente con altas dosis de antibióticos localizados, lo cual sería posteriormente comunicado al personal médico mediante telemetría (92).

5.2.5.3.3 Biofilm en heridas

La evidencia indica que entre el 60% y el 100% de las heridas crónicas muestran presencia de biofilms lo cual es un factor predisponente a la cronificación de la lesión, ya que ralentiza la evolución y cicatrización de las heridas (93).

Para tratarlos, en primer lugar, se debe localizar los biofilms en el lecho de la herida, lo cual suele ser difícil, por lo que los médicos suelen limitarse a desbridar las zonas que tienen signos secundarios de biofilms, lo que es el material necrótico de la herida y otros signos superficiales de inflamación local, en la figura 4 se observa el esquema de tratamiento de las heridas crónicas (94).

En estos casos se utiliza un método llamado desbridamiento el cual es útil para la eliminación física del biofilm, ya que suprime transitoriamente la formación de colonias y los torna más vulnerables a la acción de los agentes antibacterianos, los biocidas y los mecanismos inmunológicos de defensa del huésped (95).

Según investigaciones recientes se ha visto que la combinación del desbridamiento con otras estrategias terapéuticas inhibe sustancialmente la capacidad de recuperación del biofilm, optimizando así la capacidad de curación de las heridas (95).

La carga bacteriana como los biofilm enlentece la cicatrización de las heridas, en el caso de ser crónicas estas tendrán una inflamación prolongada, además que es común la formación de biofilm por multiespecies sobre todo de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (96), por lo que la existencia de apósitos con capacidad antibiofilm es un instrumento potencial para acelerar la cicatrización de las heridas, en el caso de los apósitos de plata y un hidrogel antibiofilm con la adición de lactoferrina y xilitol compuestos ya probados por su actividad antibiofilms, aumenta aún más la eficacia de todos estas opciones terapéuticas por separado al tratar infecciones de heridas crónicas afectadas por biofilms compuestos por múltiples especies bacterianas (97).

El óxido de grafeno es un derivado hidrófilo del grafeno, el cual tiene actividad antibacteriana, pudiendo disminuir el crecimiento de bacterias planctónicas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, además en conjunto con antibióticos este podría permitir el ingreso de estos al biofilm y dificulta la adhesión de estos a las superficies y con las mismas bacterias entre sí, por lo que una opción de tratamiento sería agregar el óxido de grafeno en vendajes para prevenir la formación de biofilm o bien para destruirlos en conjunto con antibióticos (96).

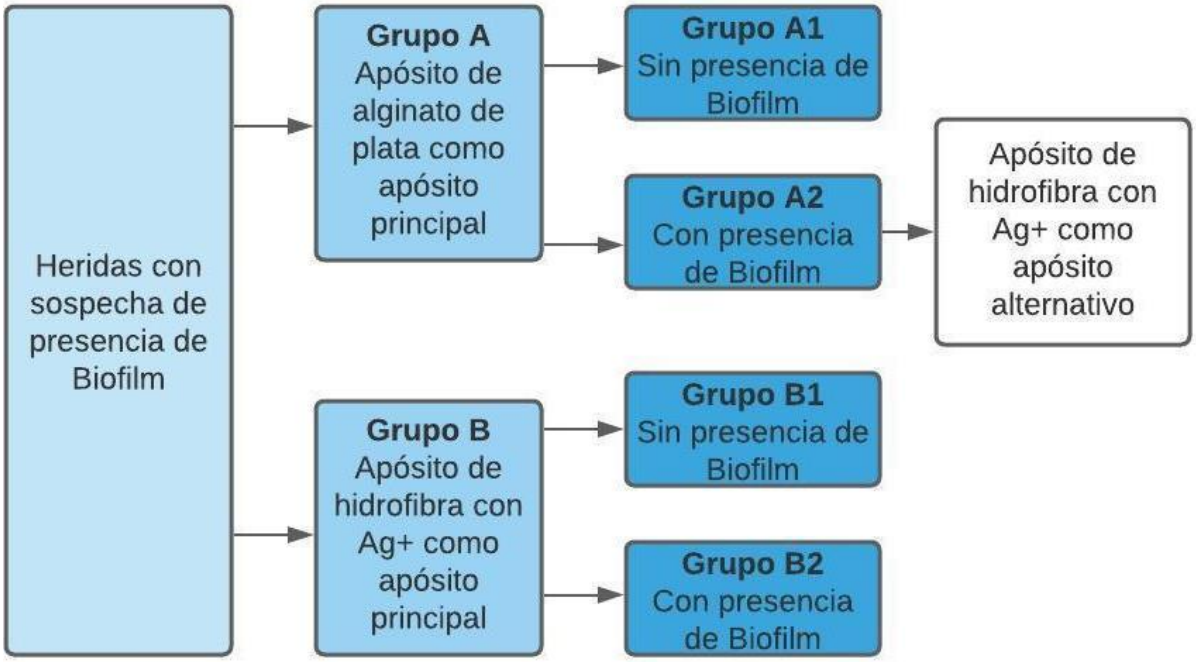

Figura 4: **Esquema de tratamiento de heridas crónicas**, Tomada y Adaptada de Carrión Jiménez, A. (2017) (98).

Estudios recientes han probado nuevas formas de contender con este tapiz bacteriano formado en heridas, tal es el caso de la terapia con oxígeno hiperbárico, aquí el oxígeno se administra a una presión más alta que la atmosférica ya que esto resulta letal para las bacterias anaerobias que generalmente colonizan las zonas más profundas del lecho

de una herida con biofilm. Además, si estos microorganismos presentan la sustancia polimérica externa (EPS), se les reduce la capacidad del oxígeno para difundirse en el interior del biofilm (99).

También, la hiperoxigenación incrementa la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (NOS). Este conjunto de sustancias, han demostrado participar en la señalización celular (100).

El aumento de ROS induce la activación de factores de transcripción inducibles por hipoxia (HIF), que a su vez aumenta la producción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el cual estimula la proliferación de células endoteliales y la formación de nuevos vasos sanguíneos o angiogénesis (101).

La activación producida por el NOS y ROS en la médula ósea, genera la estimulación de la enzima óxido nítrico sintasa, la cual induce la movilización de células troncales hacia el área dañada y la formación de vasculogénesis (102, 103).

La terapia con oxígeno hiperbárico es capaz de aumentar la presión arterial de oxígeno, lo que beneficia la re-oxigenación de la herida, la formación de nuevos vasos sanguíneos, proliferación de fibroblastos, salida de células troncales al sitio de la herida, así como síntesis de colágeno y una respuesta inmune local (100).

Otra alternativa de terapia a utilizar en heridas es la presión negativa, la cual consiste en la aplicación de presión subatmosférica al lecho de una herida, como forma de tratamiento tópico y no invasivo de la misma, facilitando el proceso de cicatrización (104).

Con este proceso se facilita la eliminación del exudado que generalmente está presente en las heridas, manteniendo un nivel de humedad adecuado en esta; disminuyendo así la cantidad de microorganismos bacterianos, reduciendo la inflamación y estimulando el flujo sanguíneo (99).

Una alternativa adicional a las mencionadas anteriormente es la aplicación de un compuesto fotosensible que es captado por la microbiota presente en la herida que genera la muerte de las bacterias en presencia de oxígeno, debido a que los agentes fotodinámicos utilizados en esta vía provocan la destrucción de las membranas lipídicas y ácidos nucleicos produciendo una disminución de los niveles de ATP y enzimas en el interior de las células bacterianas, lo que conlleva a su muerte (105).

5.2.5.3.4 Biofilm en fibrosis quística

Ciertas especies bacterianas producen una persistencia de infección en pacientes con fibrosis quística a pesar de un tratamiento "adecuado" (106), generando exacerbaciones e infecciones crónicas, que van minando la función pulmonar (107).

Es por esa razón que a pacientes con formas severas de fibrosis quística se les recomienda hacer cultivos mensuales y cada 3 meses en las formas leves, donde los patógenos mayormente registrados son *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bulkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aspergillus fumigatus y* Mycobacterias no TBC (108).

Para enfrentar esta la situación descrita se han probado diversos estudios con biopelículas de diferentes especies de *Burkholderia cenocepacia* han demostrado un sinergismo entre la Tobramicina + Azoles ayuda de buena forma en el tratamiento de fibrosis quística al presentarse una infección bacteriana multirresistente (76).

Además, varios estudios sugieren métodos para controlar la descolonización de los patógenos en los pacientes con fibrosis quística, para ello se utiliza *Pseudomonas aeruginosa* como un marcador microbiano.

La gentamicina y la tobramicina se consideran los antibióticos estándar para el tratamiento de los pacientes con fibrosis quística infectados con *Pseudomonas aeruginosa*. No obstante, los autores señalan el aumento de riesgo coleotóxico asociado con la gentamicina. La tobramicina puede ser más o menos eficiente según la administración y dosis que se prescriban. Al utilizar este medicamento en una fórmula liposomal administrada como un aerosol, se demostró que aumentó su biodisponibilidad y efectividad en el tejido pulmonar (109).

5.2.5.4 Últimas actualizaciones

Una alternativa que está siendo estudiada actualmente es el uso de nanopartículas (NP), ya que estas pueden alterar la permeabilidad de las membranas plasmáticas (110), por ejemplo las nanopartículas de oro gracias a su reducido tamaño son capaces de ingresar por la matriz del biofilm, reduciendo la formación de este en *Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa* (111), las NP pueden ser bactericidas o pueden utilizarse para facilitar el ingreso de un antibiótico a las bacterias, al igual que son de utilidad para proteger a los fármacos del pH o de la degradación enzimática (112).

Las nanopartículas de oro se han estudiado por sus diversas características biológicas, en donde este año se realizó su síntesis utilizando extractos de algas pardas, específicamente con el glucano laminarina que se obtiene de estas, evidenciándose que las nanopartículas de oro sintetizadas con laminarina son capaces de disminuir la hidrofobicidad, la producción de EPS y la formación de biofilm de *Aeromonas hydrophila*, cabe destacar que se observó que estas NP no son citotóxicas y son un método ecológico para tratar infecciones en industrias de acuicultura (110).

Las nanopartículas de oro presentan una actividad antibacteriana contra las cepas de *Klebsiella pneumoniae* multirresistente (MDR), debido a que son capaces de ingresar a las bacterias, además estas pueden producir especies reactivas de oxígeno y producir daños en la membrana celular, las NP de oro al ser sintetizadas con extracto de *Anthemis atropatena* son capaces de inhibir parcialmente las bombas de eflujo posiblemente debido a su unión con estos mecanismos en el sitio activo directamente, también disminuyen la producción de exopolisacáridos los que podría volver a estas cepas sensibles a los antibióticos a los que son resistentes, disminuyen la formación de biofilm y por último disminuyen la expresión de los genes mrkA, wzm y acrB importantes a la hora de formar biopelículas (111).

El óxido de zinc (ZnO) es un compuesto inorgánico que durante los últimos años ha tomado gran relevancia en la industria de la cosmética y cuidado personal (113), asimismo se ha ampliado su uso para la industria médica y farmacológica, potenciando su acción en tratamientos de cepas bacterianas resistentes, pero la utilización en abundancia de este compuesto puede generar efectos tóxicos, como una alternativa de estabilidad, biocompatibilidad y limitación de estos efectos se han creado nanopartículas de ZnO envueltas en el biopolímero kappa carrageenan, la creación de estas partículas genera una importante inhibición en el crecimiento y la formación de biofilms de cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente en una concentración mínima (114). Otro

biopolímero utilizado con las nanopartículas de ZnO es la goma arábiga donde estudios del año anterior demuestran que esta estructura presenta una gran propiedad antibacteriana para cepas de *Staphylococcus aureus* y en menor medida para cepas de *Escherichia coli*, donde a una concentración de 62,6 mg/ml, las nanopartículas de goma arábiga-ZnO proporcionaron una destrucción rápida y eficaz del 85% de las bacterias de *Staphylococcus aureus* y un 71% de *Escherichia coli* en 4 horas (115).

La actividad de las nanopartículas de plata ha sido probada para inhibir la formación de biofilm de *P. aeruginosa, Mycobacterium spp* y *S. epidermidis*, al igual que es capaz de destruir bacterias pertenecientes a biofilm ya establecido y cuando estas nanopartículas se estabilizan por péptidos de caseína hidrolizados son capaces de impedir la formación de biofilm de *E. coli, P. aeruginosa* y *Serratia proteamaculans* (87).

Las nanopartículas de plata con extracto de diente de ajo presentan actividad antibacteriana contra Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa en mayor medida al igual que presentan una actividad antibiofilm contra Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus epidermidis, esto debido a que las nanopartículas son capaces de ingresar al interior de los biofilm (Figura 5) sumado a las características antibacterianas del ajo y sus componentes (116). La síntesis de nanopartículas utilizando extractos naturales no solo representa una alternativa ecológica, sino que también permite explotar las características antibacteriana y anti biofilm de los componentes naturales al contar con una capa activa de fitoquímicos en la superficie de las nanopartículas (111).

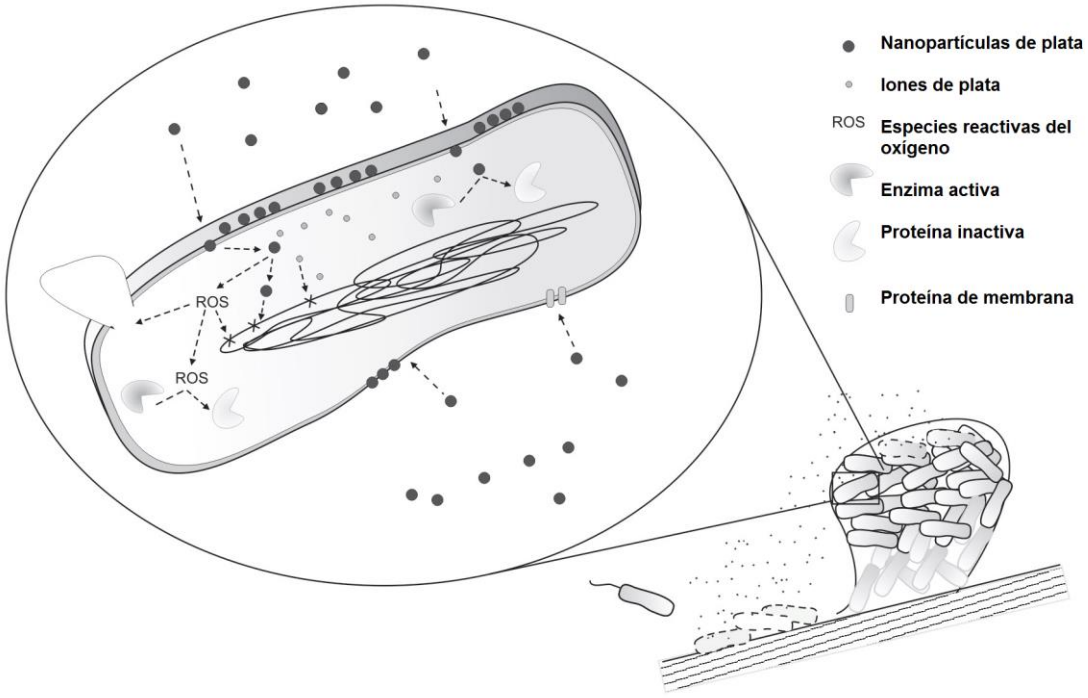

Figura 5: Esquema del mecanismo de acción de las nanopartículas de plata, Tomada y Adaptada de Markowska, K. (2013) (87)

Estas nanopartículas de plata son una alternativa llamativa debido a su amplio espectro, pero estas podrían tener efectos secundarios como cambios en la función pulmonar, aumento de la inflamación y al estudiarse los efectos en peces cebra se observan defectos en el desarrollo de embriones (86).

Otra alternativa para combatir biofilms son las combinaciones de distintos compuestos con antibióticos ya existentes en un intento de superar la resistencia antimicrobiana, por ejemplo se conoce que los D-aminoácidos son capaces de inhibir y dispersar los biofilm ya formados y el ácido aspártico y el ácido glutámico son capaces de aumentar la solubilidad del ciprofloxacino, en donde los D-aminoácidos inhiben la capacidad de las bacterias de unirse y agregarse y pueden dispersar los biofilm de Staphylococcus aureus ya formados, favoreciendo la actividad del antibiótico sobre las

bacterias, por lo tanto el uso de fármacos en conjunto con compuestos capaces de romper la matriz son una potencial estrategia para combatir biofilms (117).

La fosfomicina inhibe la síntesis de peptidoglicanos y tiene acción sobre bacterias Gram-positivo y Gram-negativo, la combinación de este fármaco con otros antibióticos reduce el riesgo de desarrollar resistencia a la fosfomicina, incluso se ha demostrado este que presenta sinergia con la penicilina y puede disminuir la resistencia a está en los neumococos y estafilococos al alterar la expresión de las proteínas de unión a la penicilina, igualmente puede presentar sinergismo con linezolid para disminuir la dosis de este para tratar infecciones ocasionadas por biofilms reduciendo los efectos adversos que provocan las altas dosis de antibióticos (118).

Otro ejemplo de combinación de antibióticos para la erradicación de biopelículas patógenas de complejos mecanismos de defensas, es el uso de antibióticos β-lactámicos (oxacilina y piperacilina) junto con polietilenimina ramificada (BPEI), donde el uso de este sinergismo se probó contra biofilm de *Staphylococcus epidermidis* resistente a la *meticilina* (MRSE) comprobándose que al combinarse estos fármacos los resultados de inhibición de la biopelícula son mejores que el que logran por sí solos (119)

La microbiología sigue buscando nuevos métodos que ayuden a solucionar el problema de la resistencia bacteriana presente en estos microorganismos formadores de biofilm, es por esto que se están ocupando técnicas de última generación, tal es el caso de la tecnología derivada de la inteligencia artificial, “The Machine learning” o aprendizaje automático.

El campo del aprendizaje automático (Machine learning), tiene como objetivo desarrollar algoritmos informáticos que mejoren con la experiencia, permitiendo que las computadoras ayuden a los humanos en el análisis de conjuntos de datos grandes y complejos (120).

Dentro de las principales funciones que realiza The Machine learning aplicadas a la genética y genómica son las vistas en la Tabla 3

Tabla 3: Aplicaciones de los métodos de Machine learning

Fuente: Tomada de Libbrecht MW, Noble WS. (2015) (120)

Datos de entrada	Tarea
Secuencia de ADN	Identificar sitios de inicio de transcripción, sitios de empalme, exones, etc.
Secuencia de ADN	Identificar los sitios de unión de TF
Secuencia de ADN	Identificar genes
La expresion genica	Predecir relaciones regulatorias
Datos de expresión genética	Identificar biomarcadores de una enfermedad.
Datos de histonas y TF ChIP-seq	Particione y etiquete el genoma con la anotación del estado de la cromatina
Secuencia de ADN + expresión génica +…	Predecir la función de los genes
Secuencia de ADN + modificaciones de histonas +…	Predecir la expresión génica
Secuencia de ADN + modificaciones de histonas +…	Predecir la nocividad variante
Variantes de secuencia + expresión génica +…	Predecir el fenotipo o el pronóstico de la enfermedad

Los métodos de aprendizaje automático se pueden dividir en métodos supervisados, semi supervisados y no supervisados. Los métodos supervisados se entrenan en ejemplos

con etiquetas, tales como, 'gen' o 'no gen' y luego se utilizan para predecir estos rótulos en otros organismos en estudios, mientras que los métodos no supervisados encuentran patrones en conjuntos de datos sin el uso de etiquetas. Los métodos semi-supervisados combinan estos dos enfoques, aprovechando patrones en datos sin etiquetar para mejorar el poder en la predicción de etiquetas (120).

La incorporación de esta tecnología en el campo de la investigación microbiológica ha permitido la predicción de posibles moléculas con características antibiofilm facilitando este proceso, puesto que antes se requería de mucho tiempo para búsqueda estas moléculas, ya que todo debía probarse de forma experimental (121), además también ha permitido avances en el diagnóstico de predicción del genotipo-fenotipo bacteriano susceptibles a antimicrobianos, asi como tambien ha permitido una asistencia en la prediccion de posibles tratamientos a infecciones resistentes a múltiples fármacos (122).

Los péptidos antimicrobianos (AMP), son proteínas de bajo peso molecular que presentan actividad antibacteriana y antibiofilm, generalmente tiene carga positiva, capaces de penetrar la bicapa lipídica por presentar sitios hidrófilos e hidrófobos, estos se pueden unir con los lipopolisacáridos lo que provoca una alteración y la formación de poros en la membrana celular (123). Aparte de las funciones antimicrobianas y antibiofilm, también pueden mediar la respuesta inflamatoria, para liberar citocinas y generar la cicatrización de heridas, aunque aún no se conocen por completo sus mecanismos con los que ejercen sus funciones se sabe que estos están dirigidos a las membranas, afectando el potencial de membrana y así produciendo la muerte de los microbianos, por la generación de poros o bien por provocar la desagregación del lipopolisacárido (124).

Existen diversas posibles alternativas en el futuro para el tratamiento de infecciones formadas por biofilm tanto para prevenir y erradicar los ya formados como se puede observar en la tabla 3 algunas de las estrategias que presentan un potencial para el tratamiento.

Tabla 4: Estrategias para combatir Biofilms

Fuente: Elaboración propia Ramírez, K; Urzúa, C (2021)

Método antibiofilm	Molécula/s	Bacteria objetivo	Referencias
Inhibe o disminuye la formación de biofilm	Cultivo de bacteria *Cobetia marina*	*S. epidermidis*	35
	Citral y Geranial (AE de *Cymbopogon citratus*)	*S. mutans y C. albicans*	11
	AE de *Cymbopogon flexuosus* (AE)	*S. Typhimurium y Staphylococcus aureus*	12
	AE de *Eucalyptus staigeriana*	*E. faecalis, S. aureus, S. agalactiae, L. monocytogenes, Streptococcus gallolyticus y Staphylococcus epidermidis*	33
	Piridina	*A. baumannii*	90

	Extracto etanólico de *Allium orientale*	*E. coli*	48
	Eugenol	*K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos	50
	Mupirocina y mentol	*S. aureus*	69
	Paeoniflorin	*Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos	70
	Magainina	*A. baumannii*	71
	Nanopartículas de plata y péptidos de caseína	*E. coli, P. aeruginosa y Serratia proteamaculans*	86, 87, 88
	Lectina	*Enterococcus faecalis, K. pneumoniae y P. aeruginosa*	46
Disminuye la producción de glucanos	Citral y Geranial (AE de *Cymbopogon citratus*)	*E. coli O157: H7*	18
Dañan las membranas bacterianas y muerte	Nanopartículas de óxido de cobre por Método	*S. aureus* resistente a meticilina, *S. aureus*	39

de estas por estrés oxidativo	con extracto de *Cymbopogon citratus*	sensible a meticilina *y a E. coli* productora de β- lactamasas	
Altera la división celular	Miel	*Staphylococcus aureus*	41,42, 43
Altera la envoltura celular		*Pseudomona aeruginosa*	44
Reduce la población bacteriana de un biofilm	Lectina	*V. parahaemolyticus y A. hydrophila*	47
Reduce los carbohidratos de los biofilm	Extracto fresco de *Allium sativum*	*E. coli* productora de *toxina Shiga*	49
Aumenta la permeabilidad de las membranas	Cinamaldehído	*Staphylococcus aureus y Staphylococcus epidermidis* resistentes a la meticilina	51, 52
	Ácido ursólico	*K. pneumoniae* resistente a carbapenémicos	53, 54
	Trans-trans farnesol	*S. mutans*	37, 38

	Farnesol, lactoferrina y xilitol	*E. faecalis y S. epidermidis*	36, 38, 65
Afectan la motilidad	Eugenol y cinamaldehído	*E. coli* enterohemorrágica	52
Dispersa las bacterias	Ácido ursólico	*S. aureus* resistente a meticilina	54
Inhibe los factores de virulencia	Punicalagina	*Salmonella spp*	56
Afecta la producción de AHL	Carvacrol	*S. aureus y S. typhimurium*	57, 58
Altera la expresión de algunos genes	5, 59-dialil-2,29-dihidroxibifenilo	*S. aureus* resistente a la meticilina y *enterococos* resistentes a la vancomicina	59
disminuyen la expresión de los genes gtfB / gtfC y gbpB	sulfato de halistanol A y dicetopiperazinas rodriguesinas A y B	*S. mutans*	61
Inhibe la adhesión a superficies	Lactoferrina	*Helicobacter pylori y S. mutans*	63, 64
	Superficies de acero inoxidable cubiertas por dopamina	*S. aureus*	89

	Catéteres de Foley cubiertos con nanopartículas de fluoruro de magnesio	*S. aureus y E. coli*	86
Desplaza al hierro en múltiples procesos	Ion Galio	*Pseudomonas aeruginosa y Acinetobacter baumannii*	66, 67
Disminuye la viabilidad de los biofilm	Xilitol y lactoferrina	*P. aeruginosa y Staphylococcus aureus*	37, 65
Inhibe el QS	γ-lactonas y sus γ-lactamas derivadas	*S. mutans*	14, 77
	Curcumina y reserpina	*Pseudomona aeruginosa*	78, 79, 80
	Ajo	*Pseudomona aeruginosa*	82, 83
Compite con el receptor de AHL	Furanona 56	*P. aeruginosa*	74
	3,5,7-trihidroxiflavona (TF)		84

Impide la maduración del biofilm	5- hidroxi-2 (3H) – benzofuranona y ciprofloxacino		77

AE: aceite esencial

6. CONCLUSIÓN

Hasta la fecha se conoce diversa información acerca de la formación y el desarrollo de los biofilm, por lo que esto sirve para encontrar nuevas moléculas que tengan acción inhibitoria sobre algunos de los precursores encargados de su formación, lo que podría diversificar las alternativas para el tratamiento de infecciones, especialmente las causadas por bacterias resistentes a múltiples antimicrobianos.

Esta resistencia a los antibióticos presenta un desafío a la hora de resolver infecciones, por lo demás estas resistencias se pueden observar en la industria de animales de granja, producción de lácteos y en las verduras y frutas, lo que promueve aún más la aparición de nuevas cepas resistentes, también es preciso mencionar que dentro del contexto pandémico que se vive a nivel mundial, da pie a la desinformación generando una "suerte de ensayo y error" que lleva a las personas al uso indiscriminado de fármacos. Además, con frecuencia los casos severos de Covid-19 generalmente requieren de hospitalización, pudiendo recurrir al uso de ventilación mecánica lo que aumenta el riesgo de contraer alguna IAAS, del mismo modo una prolongada estancia en estos centros asistenciales aumenta la probabilidad de contraer una de estas infecciones.

Hoy en día es de suma importancia el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas contra infecciones bacterianas causadas por biofilm, los cuales en la actualidad presentan resistencia a gran parte de los antibióticos disponibles, por lo que nuevos tratamientos como combinaciones de antibióticos, compuestos naturales o modificados, puedan ser una potencial estrategia en reemplazo de antibióticos que no presentan gran efectividad, por ejemplo antibióticos convencionales, podrían actuar sinérgicamente con otros agentes y potenciar la actividad antibiofilm. Estrategias naturales como provenientes de plantas como el eugenol, cinamaldehído y 1,8-cineol que pueden alterar la permeabilidad de las membranas bacterianas produciendo un desbalance en estas, ha tomado gran interés.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Organización mundial de la salud. Marco de evaluación de prevención y control de infecciones al nivel de establecimientos de atención de salud. 2018

2. Diomedi A, Chacón E, Delpiano L, Hervé B, Jemenao MI, Medel M, et al. Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. Revista chilena de infectología. 2017;34(2):156-74.

3. MINSAL. Definiciones y criterios de notificación de infecciones asociadas a la atención de salud para la vigilancia epidemiológica. 2016.

4. Otaíza Df, Orsini DM, Pohlenz EM. Informe de vigilancia de infecciones Asociadas a la Atención en Salud 2018. 2020.

5. Otaíza F, Bustamente R, Sánchez P. Informe de Vigilancia de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud 2012. Ministerio salud Chile. 2012.

6. Subsecretaria de redes asistenciales. Indicadores de referencia de infecciones asociadas a la atención en salud vigentes desde mayo de 2020. In: paciente Ddcysd, editor. 2020.

7. Becerra G, Plascencia A, Luévanos A, Domínguez M, Hernández I. Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias. Enfermedades Infecciosas y Microbiología. 2009;29(2):70-6.

8. García C P. Resistencia bacteriana en Chile. Revista chilena de infectología. 2003;20:11-23.

9. Moreno M C, González E R, Beltrán C. Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello. 2009;69:185-92.

10. Nazar C J. Biofilms bacterianos. Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello. 2007;67(1).

11. Silva NBD, Rangel MDL, Castro RDD, Lima JMD, Castellano LRC, Valença AMG, et al. Anti-Biofilm and Hemolytic Effects of Cymbopogon citratus (Dc) Stapf Essential Oil. Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada. 2019;19(1):1-10.

12. Costa KAD, Moura R, Millezi AF. Antimicrobial and antibiofilm activity of Cymbopogon flexuosus essential oil microemulsions. Revista Ceres. 2019;66(5):372-9.

13. Reiter KC, Sambrano GE, Villa B, Paim TGDS, Oliveira CFD, D'Azevedo PA. Rifampicin fails to eradicate mature biofilm formed by methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2012;45(4):471-4.

14. Sordi MB, Moreira TA, Montero JFD, Barbosa LC, Benfatti CAM, Magini RDS, et al. Effect of γ-lactones and γ-lactams compounds on Streptococcus mutans biofilms. Journal of Applied Oral Science. 2018;26(0).

15. Andión E. Biofilms, un nuevo desafio en el control de las infecciones hospitalarias. Med infant. 2004:58-63.

16. Lasa I, Pozo JLd, Penadés JR, Leiva J. Biofilms bacterianos e infección. Anales del Sistema Sanitario de Navarra. 2005;28:163-75.

17. Donlan RM. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. Emerging Infectious Diseases. 2002;8(9):881-90.

18. Ortega-Ramirez LA, Gutiérrez-Pacheco MM, Vargas-Arispuro I, González-Aguilar GA, Martínez-Téllez MA, Ayala-Zavala JF. Inhibition of Glucosyltransferase Activity and Glucan Production as an Antibiofilm Mechanism of Lemongrass Essential Oil against Escherichia coli O157:H7. Antibiotics. 2020;9(3):102.

19. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. Annu Rev Microbiol. 1995;49:711-45.

20. Zambrano MA, Londoño LS. Biofilms bacterianos: sus implicaciones en salud y enfermedad. Universitas Odontológica. 2006;25(57):19-25.

21. Fletcher M, Lessmann JM, Loeb GI. Bacterial surface adhesives and biofilm matrix polymers of marine and freshwater bacteria. Biofouling. 1991;4(1-3):129-40.

22. Rasmussen TB, Givskov M. Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. Microbiology. 2006;152(4):895-904.

23. Yates EA, Philipp B, Buckley C, Atkinson S, Chhabra SR, Sockett RE, et al. N-Acylhomoserine Lactones Undergo Lactonolysis in a pH-, Temperature-, and Acyl Chain Length-Dependent Manner during Growth of Yersinia pseudotuberculosis and Pseudomonas aeruginosa. Infection and Immunity. 2002;70(10):5635-46.

24. Valle J, Toledo-Arana A, Berasain C, Ghigo JM, Amorena B, Penadés JR, et al. SarA and not sigmaB is essential for biofilm development by Staphylococcus aureus. Mol Microbiol. 2003;48(4):1075-87.

25. Karatan E, Watnick P. Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. Microbiol Mol Biol Rev. 2009;73(2):310-47.

26. Ramírez-Mata A, Fernández-Domínguez IJ, Nuñez-Reza KJ, Xiqui-Vázquez ML, Baca BE. Redes de señalización en la producción de biopelículas en bacterias: quorum sensing, di-GMPc y óxido nítrico. Revista Argentina de Microbiología. 2014;46(3):242-55.

27. Flores JC, Riquelme P, Cerda J, Carrillo D, Matus MS, Araya G, et al. Mayor riesgo de infecciones asociadas a atención en salud en niños con necesidades especiales hospitalizados. Revista chilena de infectología. 2014;31(3):287-92.

28. Londoño Restrepo J, Macias Ospina IC, Ochoa Jaramillo FL. Factores de riesgo asociados a infecciones por bacterias multirresistentes derivadas de la atención en salud en una institución hospitalaria de la ciudad de Medellín 2011-2014. Infectio. 2016;20:77-83.

29. Unahalekhaka A. Epidemiología de las infecciones asociadas a la atención en salud. Conceptos básicos de control de infecciones de IFIC. 2011;29.

30. Baeza Cáceres A, Hermoso Tovar DA. Inducción en infecciones asociadas a la atención de salud. Hospital San Juan de Dios Curicó.2020.

31. Fernández LM, Torres HMD. Infección asociada a la atención de salud. Acta Médica de Cuba. 2015;16(1).

32. Mietto C, Pinciroli R, Patel N, Berra L. Ventilator Associated Pneumonia: Evolving Definitions and Preventive Strategies. Respiratory Care. 2013;58(6):990-1007.

33. Correa MS, Schwambach J, Mann MB, Frazzon J, Frazzon APG. Antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil from dried leaves of Eucalyptus staigeriana. Arquivos do Instituto Biológico. 2019;86.

34. Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. Journal of clinical microbiology. 1999;37(6):1771-6.

35. Trentin DS, Gorziza DF, Abraham WR, Antunes ALS, Lerner C, Mothes B, et al. Antibiofilm activity of Cobetia marina filtrate upon Staphylococcus epidermidis catheter-related isolates. Brazilian Journal of Microbiology. 2011;42(4):1329-33.

36. Alves FRF, Neves MAS, Silva MG, Rocas IN, Siqueira Jr JF. Antibiofilm and Antibacterial Activities of Farnesol and Xylitol as Potential Endodontic Irrigants. Brazilian Dental Journal. 2013;24(3):224-9.

37. Alves FRF, Silva MG, Rôças IN, Siqueira Jr JF. Biofilm biomass disruption by natural substances with potential for endodontic use. Brazilian Oral Research. 2013;27(1):20-5.

38. Jeon JG, Pandit S, Xiao J, Gregoire S, Falsetta ML, Klein MI, et al. Influences of trans-trans farnesol, a membrane-targeting sesquiterpenoid, on Streptococcus mutans

physiology and survival within mixed-species oral biofilms. International Journal of Oral Science. 2011;3(2):98-106.

39. Cherian, Ali, Saquib, Faisal, Wahab, Musarrat. Cymbopogon Citratus Functionalized Green Synthesis of CuO-Nanoparticles: Novel Prospects as Antibacterial and Antibiofilm Agents. Biomolecules. 2020;10(2):169.

40. Estrada H, Gamboa MdM, Chaves C, Arias ML. Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Listeria monocytogenes y Aspergillus niger. Evaluación de su carga microbiológica. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 2005;55:167-71.

41. Justo Rubio E. Eficacia de la miel y apósitos de miel en UPP. 2015.

42. Molan PC. Potential of honey in the treatment of wounds and burns. Am J Clin Dermatol. 2001;2(1):13-9.

43. Jenkins R, Burton N, Cooper R. Manuka honey inhibits cell division in methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2011;66(11):2536-42.

44. Roberts AEL, Powell LC, Pritchard MF, Thomas DW, Jenkins RE. Anti-pseudomonad Activity of Manuka Honey and Antibiotics in a Specialized ex vivo Model Simulating Cystic Fibrosis Lung Infection. Frontiers in Microbiology. 2019;10:869.

45. Tan HT, Rahman RA, Gan SH, Halim AS, Hassan SA, Sulaiman SA, et al. The antibacterial properties of Malaysian tualang honey against wound and enteric microorganisms in comparison to manuka honey. BMC Complement Altern Med. 2009;9:34.

46. Alyousef AA, Alqasim A, Aloahd MS. Isolation and characterization of lectin with antibacterial, antibiofilm and antiproliferative activities from Acinetobacter baumannii of environmental origin. Journal of Applied Microbiology. 2018;124(5):1139-46.

47. Preetham E, Lakshmi S, Wongpanya R, Vaseeharan B, Arockiaraj J, Olsen RE. Antibiofilm and immunological properties of lectin purified from shrimp Penaeus semisulcatus. Fish Shellfish Immunol. 2020;106:776-82.

48. Ceylan O, Alıc H. Antibiofilm, Antioxidant, Antimutagenic Activities and Phenolic Compounds of Allium orientale BOISS. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2015;58(6):935-43.

49. Bhatwalkar SB, Gound SS, Mondal R, Srivastava RK, Anupam R. Anti-biofilm and Antibacterial Activity of Allium sativum Against Drug Resistant Shiga-Toxin Producing Escherichia coli (STEC) Isolates from Patient Samples and Food Sources. Indian Journal of Microbiology. 2019;59(2):171-9.

50. Qian W, Sun Z, Wang T, Yang M, Liu M, Zhang J, et al. Antimicrobial activity of eugenol against carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae and its effect on biofilms. Microb Pathog. 2020;139:103924.

51. Albano M, Crulhas BP, Alves FCB, Pereira AFM, Andrade BFMT, Barbosa LN, et al. Antibacterial and anti-biofilm activities of cinnamaldehyde against S. epidermidis. Microbial Pathogenesis. 2019;126:231-8.

52. Kim YG, Lee JH, Kim SI, Baek KH, Lee J. Cinnamon bark oil and its components inhibit biofilm formation and toxin production. Int J Food Microbiol. 2015;195:30-9.

53. Qian W, Wang W, Zhang J, Wang T, Liu M, Yang M, et al. Antimicrobial and antibiofilm activities of ursolic acid against carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae. J Antibiot (Tokyo). 2020;73(6):382-91.

54. Jyothi JS, Putty K, Reddy YN, Dhanalakshmi K, Umair MAH. Antagonistic effect of ursolic acid on Staphylococcal biofilms. Veterinary World. 2018;11(10):1440-4.

55. Zou Y, Lee Y, Huh J, Park J-W. Synergistic effect of xylitol and ursolic acid combination on oral biofilms. Restorative Dentistry & Endodontics. 2014;39(4):288.

56. Xu Y, Shi C, Wu Q, Zheng Z, Liu P, Li G, et al. Antimicrobial Activity of Punicalagin Against Staphylococcus aureus and Its Effect on Biofilm Formation. Foodborne Pathog Dis. 2017;14(5):282-7.

57. Lambert RJW, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJE. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology. 2001;91(3):453-62.

58. Marchese A, Arciola CR, Coppo E, Barbieri R, Barreca D, Chebaibi S, et al. The natural plant compound carvacrol as an antimicrobial and anti-biofilm agent: mechanisms, synergies and bio-inspired anti-infective materials. Biofouling. 2018;34(6):630-56.

59. Wang D, Jin Q, Xiang H, Wang W, Guo N, Zhang K, et al. Transcriptional and Functional Analysis of the Effects of Magnolol: Inhibition of Autolysis and Biofilms in Staphylococcus aureus. PLoS ONE. 2011;6(10):e26833.

60. Marinho PR, Simas NK, Kuster RM, Duarte RS, Fracalanzza SEL, Ferreira DF, et al. Antibacterial activity and cytotoxicity analysis of halistanol trisulphate from marine sponge Petromica citrina. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2012;67(10):2396-400.

61. Lima BDA, De Lira SP, Kossuga MH, Gonçalves RB, Berlinck RGS, Kamiya RU. Halistanol sulfate A and rodriguesines A and B are antimicrobial and antibiofilm agents against the cariogenic bacterium Streptococcus mutans. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2014;24(6):651-9.

62. Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, Welsh MJ. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. Nature. 2002;417(6888):552-5.

63. Weinberg ED. Human lactoferrin: a novel therapeutic with broad spectrum potential. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2010;53(10):1303-10.

64. Valenti P, Berlutti F, Conte MP, Longhi C, Seganti L. Lactoferrin functions: current status and perspectives. J Clin Gastroenterol. 2004;38(6 Suppl):S127-9.

65. Ammons MCB, Ward LS, Fisher ST, Wolcott RD, James GA. In vitro susceptibility of established biofilms composed of a clinical wound isolate of Pseudomonas aeruginosa treated with lactoferrin and xylitol. International Journal of Antimicrobial Agents. 2009;33(3):230-6.

66. Chitambar CR. Medical applications and toxicities of gallium compounds. International journal of environmental research and public health. 2010;7(5):2337-61.

67. García Contreras R, González Tinoco Y, Angarita Zapata V, Porras Hernández YK, Florez Duarte MP, Perez Eretza F. El galio como un nuevo antimicrobiano para combatir infecciones causadas por bacterias resistentes a antibióticos. [Internet].2018. Available from: http://bq.facmed.unam.mx/tab/wp-content/uploads/2020/02/10-Garcia-Contreras.pdf

68. Gomes F, Teixeira P, Cerca N, Azeredo J, Oliveira R. Effect of Farnesol on Structure and Composition of Staphylococcus epidermidis Biofilm Matrix. Current Microbiology. 2011;63(4):354-9.

69. Kifer D, Mužinić V, Klarić MŠ. Antimicrobial potency of single and combined mupirocin and monoterpenes, thymol, menthol and 1,8-cineole against Staphylococcus aureus planktonic and biofilm growth. The Journal of Antibiotics. 2016;69(9):689-96.

70. Qian W, Zhang J, Wang W, Wang T, Liu M, Yang M, et al. Antimicrobial and antibiofilm activities of paeoniflorin against carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae. J Appl Microbiol. 2020;128(2):401-13.

71. Kim MK, Kang N, Ko SJ, Park J, Park E, Shin DW, et al. Antibacterial and Antibiofilm Activity and Mode of Action of Magainin 2 against Drug-Resistant Acinetobacter baumannii. International journal of molecular sciences [Internet]. 2018 2018/10//; 19(10). Available from: http://europepmc.org/abstract/MED/30301180Available from: https://doi.org/10.3390/ijms19103041Available from:

https://europepmc.org/articles/PMC6213043Available from: https://europepmc.org/articles/PMC6213043?pdf=render.

72. Gomes Von Borowski R, Gnoatto SCB, Macedo AJ, Gillet R. Promising Antibiofilm Activity of Peptidomimetics. Frontiers in Microbiology. 2018;9.

73. Costerton JW, Post JC, Ehrlich GD, Hu FZ, Kreft R, Nistico L, et al. New methods for the detection of orthopedic and other biofilm infections. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2011;61(2):133-40.

74. Hentzer M, Riedel K, Rasmussen TB, Heydorn A, Andersen JB, Parsek MR, et al. Inhibition of quorum sensing in Pseudomonas aeruginosa biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. Microbiology. 2002;148(1):87-102.

75. Brango Vanegas JF. Búsqueda de compuestos inhibidores de Quorum Sensing (IQS) a partir de extractos de origen natural. Primera Fase. Departamento de Química. 2011.

76. Brackman G, Cos P, Maes L, Nelis HJ, Coenye T. Quorum Sensing Inhibitors Increase the Susceptibility of Bacterial Biofilms to Antibiotics In Vitro and In Vivo. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2011;55(6):2655-61.

77. Kim SG, Yoon YH, Choi JW, Rha KS, Park YH. Effect of furanone on experimentally induced Pseudomonas aeruginosa biofilm formation: in vitro study. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2012;76(11):1575-8.

78. Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. J Ethnopharmacol. 2000;71(1-2):23-43.

79. Packiavathy IASV, Priya S, Pandian SK, Ravi AV. Inhibition of biofilm development of uropathogens by curcumin – An anti-quorum sensing agent from Curcuma longa. Food Chemistry. 2014;148:453-60.

80. Bahari S, Zeighami H, Mirshahabi H, Roudashti S, Haghi F. Inhibition of Pseudomonas aeruginosa quorum sensing by subinhibitory concentrations of curcumin with gentamicin and azithromycin. J Glob Antimicrob Resist. 2017;10:21-8.

81. Hayat S, Sabri AN, McHugh TD. Chloroform extract of turmeric inhibits biofilm formation, EPS production and motility in antibiotic resistant bacteria. The Journal of general and applied microbiology. 2017.

82. Reverchon S, Chantegrel B, Deshayes C, Doutheau A, Cotte-Pattat N. New synthetic analogues of N-acyl homoserine lactones as agonists or antagonists of transcriptional regulators involved in bacterial quorum sensing. Bioorg Med Chem Lett. 2002;12(8):1153-7.

83. Persson T, Hansen TH, Rasmussen TB, Skindersø ME, Givskov M, Nielsen J. Rational design and synthesis of new quorum-sensing inhibitors derived from acylated homoserine lactones and natural products from garlic. Org Biomol Chem. 2005;3(2):253-62.

84. Abinaya M, Gayathri M. Inhibition of biofilm formation, quorum sensing activity and molecular docking study of isolated 3, 5, 7-Trihydroxyflavone from Alstonia scholaris leaf against P.aeruginosa. Bioorg Chem. 2019;87:291-301.

85. Rasmussen TB, Manefield M, Andersen JB, Eberl L, Anthoni U, Christophersen C, et al. How Delisea pulchra furanones affect quorum sensing and swarming motility in Serratia liquefaciens MG1. Microbiology. 2000;146(12):3237-44.

86. Banin E, Alexandra F, Roxanne L, Aharon G. Antibiofilm surface functionalization of catheters by magnesium fluoride nanoparticles. International Journal of Nanomedicine. 2012:1175.

87. Markowska K, Grudniak AM, Wolska KI. Silver nanoparticles as an alternative strategy against bacterial biofilms. Acta Biochim Pol. 2013;60(4):523-30.

88. Acedo Valdez MR, Grijalva Chon JM, Larios Rodriguez E, Maldonado Arce AD, Mendoza Cano F, Sanchez Paz JA, et al. Antibacterial effect of biosynthesized silver nanoparticles in Pacific white shrimp Litopenaeus vannamei (Boone) infected with necrotizing hepatopancreatitis bacterium (NHP B). Latin American Journal of Aquatic Research. 2017;45(2):421-30.

89. Cao P, Li W-W, Morris AR, Horrocks PD, Yuan C-Q, Yang Y. Investigation of the antibiofilm capacity of peptide-modified stainless steel. Royal Society Open Science. 2018;5(3):172165.

90. Halicki PCB, Radin V, von Groll A, Nora MV, Pinheiro AC, da Silva PEA, et al. Antibiofilm Potential of Arenecarbaldehyde 2-Pyridinylhydrazone Derivatives Against Acinetobacter baumannii. Microb Drug Resist. 2020;26(12):1429-36.

91. Steckelberg JM, Rouse MS, Tallan BM, Osmon DR, Henry NK, Wilson WR. Relative efficacies of broad-spectrum cephalosporins for treatment of methicillin-susceptible Staphylococcus aureus experimental infective endocarditis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1993;37(3):554-8.

92. Ehrlich GD, Hu FZ, Lin Q, Costerton JW, Post JC. Intelligent implants to battle biofilms. Asm News. 2004;70(3):127-33.

93. Sociedades UMd, Heridas dCd, Healing WUoW, Societies W. Tratamiento del biofilm. Wounds International. In: Congreso de Florencia DdP, editor. 2016.

94. HERIDAS UMDSDCD. TRATAMIENTO DEL BIOFILM. Papel del biofilm en el retraso en la cicatrización de las heridas 2016.

95. Sociedad Iberoamericana de información científica. Buenos Aires. Heridas Crónicas Biofilm y la Importancia del Desbridamiento. 2018

96. Di Giulio M, Zappacosta R, Di Lodovico S, Di Campli E, Siani G, Fontana A, et al. Antimicrobial and Antibiofilm Efficacy of Graphene Oxide against Chronic Wound Microorganisms. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2018;62(7):e00547-18.

97. Ammons MCB, Ward LS, James GA. Anti-biofilm efficacy of a lactoferrin/xylitol wound hydrogel used in combination with silver wound dressings. International Wound Journal. 2011;8(3):268-73.

98. Carrión Jiménez A, Núñez Ortiz C, Gallego Galisteo M, Rodríguez Cardoso R, Sánchez Meléndez A. Coste-eficiencia de la elección de apósitos en heridas crónicas con biofilm basado en un modelo teórico. Gerokomos. 2017;28:98-102.

99. Sanjuán Sánchez MJ. Revisión sistemática. Estrategias terapéuticas para la gestión del biofilm bacteriano en heridas crónicas. 2018.

100. Berner JE, Vidal P, Will P, Castillo P. Uso de oxígeno hiperbárico para el manejo de heridas: bases físicas, biológicas y evidencia disponible. Revista médica de Chile. 2014;142:1575-83.

101. Sheikh AY, Gibson JJ, Rollins MD, Hopf HW, Hussain Z, Hunt TK. Effect of hyperoxia on vascular endothelial growth factor levels in a wound model. Arch Surg. 2000;135(11):1293-7.

102. Aicher A, Heeschen C, Mildner-Rihm C, Urbich C, Ihling C, Technau-Ihling K, et al. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells. Nat Med. 2003;9(11):1370-6.

103. Tepper OM, Capla JM, Galiano RD, Ceradini DJ, Callaghan MJ, Kleinman ME, et al. Adult vasculogenesis occurs through in situ recruitment, proliferation, and tubulization of circulating bone marrow-derived cells. Blood. 2005;105(3):1068-77.

104. García Ruano ÁA, Luanco Gracia M, Jiménez Martín A, Sicre González M, Najarro Cid F. Terapia por presión negativa en el manejo de heridas complejas en traumatología. Innovación e indicación. Rev Soc Andal Traumatol Ortop(Ed impr). 2014:17-23.

105. Percival SL, Suleman L, Francolini I, Donelli G. The effectiveness of photodynamic therapy on planktonic cells and biofilms and its role in wound healing. Future Microbiol. 2014;9(9):1083-94.

106. Hervé E B. Biofilm en fibrosis quística. Revista chilena de infectología. 2002;19(4).

107. Fielbaum Ó. MANEJO ACTUAL DE LA FIBROSIS QUÍSTICA. Revista Médica Clínica Las Condes. 2017;28(1):60-71.

108. Piédrola Angulo G. [Microbiology and cystic fibrosis]. An R Acad Nac Med (Madr). 2002;119(2):343-62; discussion 62-6.

109. Coutinho HDM, Falcão-Silva VS, Gonçalves GF. Agentes bacterianos pulmonares y terapia antibiótica en pacientes con fibrosis quística: guía para el personal sanitario. Archivos de Medicina. 2009;5(2).

110. Vijayakumar S, Chen J, Kalaiselvi V, Divya M, González-Sánchez ZI, Durán-Lara EF, et al. Antibacterial and antibiofilm activities of marine polysaccharide laminarin formulated gold nanoparticles: An ecotoxicity and cytotoxicity assessment. Journal of Environmental Chemical Engineering. 2021;9(4):105514.

111. Khosravi M, Mirzaie A, Kashtali AB, Noorbazargan H. Antibacterial, anti-efflux, anti-biofilm, anti-slime (exopolysaccharide) production and urease inhibitory efficacies of novel synthesized gold nanoparticles coated Anthemis atropatana extract against multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae strains. Archives of Microbiology. 2020;202(8):2105-15.

112. Benoit DSW, Sims KR, Jr., Fraser D. Nanoparticles for Oral Biofilm Treatments. ACS nano. 2019;13(5):4869-75.

113. Betancur Henao CP, Hernández Montes V, Buitrago Sierra R. Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 2016;35:387-402.

114. Vijayakumar S, Saravanakumar K, Malaikozhundan B, Divya M, Vaseeharan B, Durán-Lara EF, et al. Biopolymer K-carrageenan wrapped ZnO nanoparticles as drug delivery vehicles for anti MRSA therapy. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;144:9-18.

115. Pauzi N, Zain NM, Kutty RV, Ramli H. Antibacterial and antibiofilm properties of ZnO nanoparticles synthesis using gum arabic as a potential new generation antibacterial agent. Materials Today: Proceedings. 2021;41:1-8.

116. Vijayakumar S, Malaikozhundan B, Saravanakumar K, Durán-Lara EF, Wang M-H, Vaseeharan B. Garlic clove extract assisted silver nanoparticle – Antibacterial, antibiofilm, antihelminthic, anti-inflammatory, anticancer and ecotoxicity assessment. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2019;198:111558.

117. Warraich AA, Mohammed AR, Perrie Y, Hussain M, Gibson H, Rahman A. Evaluation of anti-biofilm activity of acidic amino acids and synergy with ciprofloxacin on Staphylococcus aureus biofilms. Scientific Reports. 2020;10(1).

118. Múñez Rubio E, Ramos Martínez A, Fernández Cruz A. Fosfomycin in antimicrobial stewardship programs. Revista espanola de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia. 2019;32 Suppl 1(Suppl 1):62-6.

119. Lam AK, Wouters CL, Moen EL, Pusavat J, Rice CV. Antibiofilm Synergy of β-Lactams and Branched Polyethylenimine against Methicillin-Resistant Staphylococcus epidermidis. Biomacromolecules. 2019;20(10):3778-85.

120. Libbrecht MW, Noble WS. Machine learning applications in genetics and genomics. Nature reviews Genetics. 2015;16(6):321-32.

121. Srivastava GN, Malwe AS, Sharma AK, Shastri V, Hibare K, Sharma VK. Molib: A machine learning based classification tool for the prediction of biofilm inhibitory molecules. Genomics. 2020;112(4):2823-32.

122. Macesic N, Polubriaginof F, Tatonetti NP. Machine learning: novel bioinformatics approaches for combating antimicrobial resistance. Curr Opin Infect Dis. 2017;30(6):511-7.

123. Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. Virulence. 2018;9(1):522-54.

124. Chung PY, Khanum R. Antimicrobial peptides as potential anti-biofilm agents against multidrug-resistant bacteria. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2017;50(4):405-10.