

Las bacterias un ejemplo de vida en comunidad

Bacteria an example of community life

Bautista A¹, Cruz C¹, Gutiérrez Suárez J¹

Recibido: 13 de noviembre de 2017

Aceptado: 12 de diciembre de 2017

Resumen

Una de las estrategias de éxito que existe en cualquier organización, es el trabajar por un bien común. Pues bien, un ejemplo claro de esta estrategia, está soportada por diferentes escritos en la literatura en relación a la formación de biopelículas bacterianas, en las cuales se ha demostrado una excelente comunicación intercelular y múltiples mecanismos de supervivencia de la misma (1-14).

Podría decirse que estos pequeños seres vivos tienen tan claro su objetivo, que conocen con certeza, que el trabajar en conjunto con otras bacterias de su misma especie o incluso especies diferentes, conlleva a un bien común: el colonizar, para garantizar la supervivencia continua de su especie (14). A pesar de que esta actitud podría considerarse de seres superiores, a los que se les dio la capacidad de pensar y analizar, las bacterias como seres vivos de tamaño microscópico y clasificado como seres inferiores, lo hacen por instinto natural, lo cual resulta ser una lección interesante para los llamados seres superiores: los humanos.

Palabras claves: Bacterias, Biopelículas, factores de adhesión, operon ica.

Abstract

One of the success strategies that exists in any organization is working for the common good. Well, a clear example of this strategy is supported by different writings in the literature regarding the formation of bacterial biofilms, in which an excellent intercellular communication and multiple survival mechanisms have been demonstrated (1-14).

It could be said that these small living beings are so clear about their objective, that they know with certainty, that working together with other bacteria of their same species or even different species, leads to a common good: colonization, to guarantee the continued survival of his species (14). Although this attitude could be considered as superior beings, who were

1. Estudiantes de bacteriología, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

given the ability to think and analyze, bacteria as living beings of microscopic size and classified as inferior beings, do so by natural instinct, which turns out to be an interesting lesson for the so-called superior beings: humans.

Keywords: Bacterias, Biofilms, adhesion factors, operon ica.

Introducción

En 1684 Van Leeuwenhoek describiría un fenómeno microbiológico acerca de la unión y crecimiento de microorganismos en superficies expuestas. Él identificó que los microorganismos suspendidos libremente (en estado planctónico), son más susceptibles que los microorganismos en consorcio con otros de la misma especie formando placa dental (biopelícula) (1). Claude Zobell en 1943 fue el primero en describir la preferencia de las bacterias marinas por el crecimiento sobre superficies. La importancia médica de la biopelícula bacteriana fue descrita en 1978 por Bill Costerton quien estableció la "teoría de la biopelícula", afirmando que las bacterias se pegan en las superficies disponibles en biopelículas glicocalix-cerrados y que la población de bacterias sésiles se hace más presente sobre todo en los ecosistemas médicos (2). La introducción de la teoría de la biopelícula abrió dos líneas de investigación el estudio de la bioquímica y genética de las biopelículas y, por otro lado, la mejora del diagnóstico médico y tratamiento de infecciones centradas en la formación de biopelícula (3).

Según los estudios de Jacques en 1987 es importante revisar la formación de biopelículas como un mecanismo fundamental en la adherencia y colonización de las superficies de biomateriales, así como también la conformación de un mecanismo de virulencia que le permite a las bacterias escapar de la respuesta inmune del huésped (4). Gilbert P en el artículo Biofilm susceptibility to antimicrobials en 1997 recalca la resistencia de las biopelículas

a los antibióticos (5). Las biopelículas son un tema de gran interés en la actualidad, debido a que hace que los antibióticos sean 1000 veces menos efectivos, en las bacterias que la forman. Esta resistencia frente a los antibióticos convencionales, su versatilidad y virulencia en comparación a las mismas bacterias en estado libre, hace que logren sobrevivir debido a los microambientes que antagonizan la acción de estos tratamientos (5).

La resistencia bacteriana en el ámbito hospitalario en Bogotá y en el mundo es considerado un problema de salud pública. Un aspecto fundamental en el abordaje de esta problemática es la determinación del impacto clínico de las infecciones causadas por microorganismos multirresistentes. Estos desenlaces se miden generalmente en términos de mortalidad, morbilidad y costos (6). El Instituto Nacional de Salud de E.U publicó recientemente que más del 60% de todas las infecciones microbianas son causadas por biopelículas, de igual manera se les atribuye el 60% de las infecciones nosocomiales, incrementando la estancia hospitalaria y los costos de atención (7).

La formación de la biopelícula involucra la fijación o unión primaria y proliferación de microorganismos. La unión inicial es mediada por proteínas de la superficie celular de la bacteria, que se unen a la matriz extracelular de proteínas del plasma del huésped, tales como: fibrinógeno, fibronectina, colágeno, vitronectina y laminina. Comúnmente estas proteínas son referenciadas como factores de adhesión o MSCRAMMs (7).

Dentro de los patógenos involucrados en infecciones se encuentran el género *Staphylococcus*, dentro de los cuales *S. aureus* y *S. epidermidis* son los más comunes y se comportan como patógenos oportunistas en personas inmunocomprometidas; asimismo, presentan un gran potencial de formar biopelículas, debido a que están presentes en piel y superficies mucosas. Estos microorganismos pueden ser introducidos a los tejidos durante la implantación de dispositivos médicos (8). Las bacterias Gram negativas también juegan un papel importante en la formación de biopelícula siendo las más comunes *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae* y *Escherichia Coli*.

Generalidades de la biopelícula.

Las biopelículas se definen como "una comunidad estructurada de células microbianas incrustadas en una matriz polimérica de exopolisacáridos que las protege del ataque de los antibióticos y que es producida por los propios microorganismos, que se adhiere a una superficie inerte o viva" (7). Las biopelículas

pueden consistir en una sola especie bacteriana o fúngica o, más comúnmente pueden ser poli microbiana, es decir, contienen muchas especies distintas (9, 10). Las bacterias que forman biopelículas son bacterias ubicuas que producen infecciones de tipo crónico como lo son las infecciones relacionadas con los implantes médicos como: la endocarditis, la osteomielitis, neumonía en pacientes con fibrosis quística, infecciones de próstata, infecciones urinarias, etc. (Ver tabla 1).

Las infecciones por biopelículas normalmente no consiguen ser eliminadas con un tratamiento antibiótico, producen episodios recurrentes y la mayoría de las veces debe resolverse con la sustitución del implante (11). Las biopelículas representan un mecanismo de resistencia y persistencia bacteriana. Generalmente estas biopelículas están constituidas por una matriz de polímero extracelular que el mismo microorganismo produce, el cual consta principalmente de agua, exopolisacáridos, proteínas y ADN extracelular. (12, 13).

Infección o enfermedad	Especie bacteriana formadora de biopelícula
Caries dental	Cocos Gram acidogénicos (<i>Streptococcus</i>)
Periodontitis	Bacterias anaeróbicas orales-Gram negativas
Infecciones del músculo-esqueleto	Cocos Gram positivos (<i>Staphylococcus</i>)
Osteomielitis	Especies bacterianas y fúngicas generalmente mezcladas
Neumonía por fibrosis quística	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Burkholderia cepacia</i>
Neumonía (cuidados intensivos)	Bacilos Gram negativos
Vías arteriovenosas	<i>S. epidermidis</i> y <i>S. aureus</i>
Lentes de contacto	<i>P. aeruginosa</i> y cocos Gram positivos
Cistitis por catéteres urinarios	<i>E. coli</i> y otros bacilos Gram negativos
Catéteres centrales venosos	<i>S. epidermidis</i>
Válvulas mecánicas del corazón	<i>S. epidermidis</i> y <i>S. aureus</i>
Dispositivos ortopédicos	<i>S. epidermidis</i> y <i>S. aureus</i>
Prostatitis bacteriana	<i>E. coli</i> y otras bacterias Gram negativas
Catéteres hickman	<i>S. epidermidis</i> y <i>Candida albicans</i>
Injertos vasculares	Cocos Gram positivos

Tabla 1. Lista parcial de infecciones humanas en las que están involucradas biopelículas humanas. Fuente. Modificada de Costerton et al, 1999.

La composición de estos exopolisacáridos es diferente en cada bacteria y varía desde alginato en *P.aeruginosa*, celulosa en *S. typhimurium*, un exopolisacárido rico en glucosa y galactosa en *V. cholerae*, poli N-acetilglucosamina (PIA) en *Staphylococcus*. Estudios recientes han demostrado que incluso una misma bacteria, dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentre puede producir diferentes tipos de exopolisacáridos que van a conformar la matriz extracelular de la biopelícula. Un elemento genético bien conocido entre los *Staphylococcus* con respecto a la formación de biopelículas es el operón *icaA-DBC* que codifica un polisacárido de adhesión intercelular el N-acetilglucosamina (PIA).

Etapas para la formación de una biopelícula

Se han descrito 5 etapas principales para el desarrollo de una biopelícula : (1) acondicionamiento de la superficie (2) Unión reversible, (3) unión irreversible, (4) maduración y (5) desprendimiento y de esta última se cree que las células retornan a su modo planctónico cerrando el desarrollo del ciclo de la biopelícula (14). En la primera etapa de acondicionamiento las bacterias detectan ciertos parámetros ambientales; disminución o aumento de la disponibilidad de nutrientes y de hierro, cambios en la osmolaridad, el PH, la tensión de oxígeno y la temperatura, que disparan la transición de la forma planctónica (libres) a un crecimiento sobre una superficie (15).

En la segunda etapa de unión reversible las bacterias se adhieren a superficies bióticas tales como el tejido humano o a sustratos sólidos como dispositivos médicos implantados por medio de interacciones no covalentes entre las proteínas de la matriz humana y los factores de adhesión MSCRAMMs que se encuentran en la superficie bacteriana. Estudios realizados en *Staphylococcus aureus* establecieron una serie de genes que codifican para

diferentes MSCRAMMs; los genes *ClfA*, *ClfB* y *fib* que codifican para proteínas de unión al fibrinógeno y las proteínas de unión a la fibronectina, codificadas por los genes *fnbA* y *FnbB* (16).

En *S. epidermidis* se ha demostrado que tiene una especial afinidad por las superficies de los implantes biomédicos; especialmente aquellos que tienen carácter hidrofóbico. Dentro de las MSCRAMMs que han sido identificadas en *S. epidermidis* se tienen el siguiente grupo de proteínas: *SdrF*, *SdrG* y *SdrH* (17). Algunos de estos factores de adhesión se unirán a las mismas proteínas de la matriz extracelular humana:

- *ClfA*, *fib* y *SdrG*: las primeras se unirán al extremo C-terminal de la cadena γ del fibrinógeno y la última se unirá a una secuencia de 14 aminoácidos en el N-terminal de la cadena β del fibrinógeno (18).
- *ClfB*: se une a la cadena α del fibrinógeno y a la Citoqueratina 10, una proteína estructural de las células epiteliales escamosas (18).
- *FnbA* y *FnbB*: Son proteínas codificadas por genes estrechamente vinculados, ya que poseen una alta homología en su secuencia. Tienen la capacidad de unirse a la elastina y al fibrinógeno gracias a su dominio N-terminal (14). También se unirán a la fibronectina permitiendo la invasión de células endoteliales.

Los factores de adhesión *ClfA*, *ClfB*, *fib*, *FnbA* Y *FnbB* solo habían sido reportados en *S. aureus* pero en un estudio realizado por Pinnilla y col. se determinó la presencia de estas adhesinas en aislamientos clínicos de *S. epidermidis* (*ClfB* en el 70%, *ClfA* en un 70%, *Fib* en un 60%, *FnbB* en un 23% y *FnbA* en el 17%) de los aislamientos clínicos. El anterior hallazgo es importante porque se demuestra la

capacidad de *S. epidermidis* de ser un importante reservorio genético y a la vez muestra como diferentes especies bacterianas realizan transferencia horizontal de genes favoreciendo la formación de biopelículas (19).

En esta segunda etapa las bacterias Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, etc.) para adherirse utilizan flagelos y fimbrias de tipo I, IV (11).

En la etapa de unión irreversible y maduración las células bacterianas se multiplican produciendo una matriz extracelular conocida también como ESP (sustancia polimérica protectora) que está compuesta de una variedad de macromoléculas incluyendo algunos exopolisacáridos específicos como los son: PIA, eDNA (ADN extracelular), ácidos teicoicos, y una serie de proteínas asociadas a la acumulación como la Aap (20). En estas etapas se incluye la división celular donde se forman

múltiples capas conformando una biopelícula gruesa. La unión celular protege a la biopelícula de las condiciones ambientales (20).

La biopelícula desarrolla una forma estructurada a través de canales como torres. En la última etapa del desarrollo de la biopelícula los grupos de bacterias o las bacterias libres pueden desprenderse de la biopelícula en un proceso llamado dispersión o desprendimiento. Este proceso es estimulado por fuerzas mecánicas, PSMs (modulinas solubles de fenol polimerizado), nucleasas y proteasas (21). En esta etapa también las biopelículas maduras excretan continuamente bacterias planctónicas, microcolonias y fragmentos de biopelícula, que puede dispersarse y adherirse a otras partes de la herida o a otras superficies formando nuevas colonias de biopelícula. (Ver figura 1)

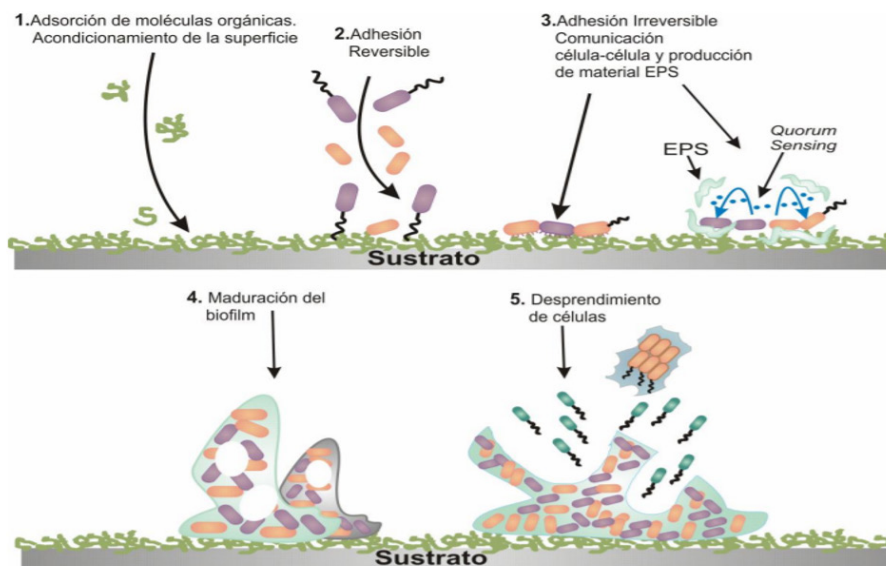


Figura 1. Se muestran las 5 etapas que permiten el desarrollo de biopelículas bacterianas.

Genes involucrados en la regulación de la formación de las biopelículas.

El principal sistema de comunicación intercelular Bacteriano es el quórum sensing (20). El sistema Agr es un sensor del quórum que actúa en la expresión o represión de genes.

Este sistema codifica un péptido autoinductor el AIP quien cumplirá con señalizaciones en la producción y regulación de lipasas, toxinas, proteasas y la expresión de los genes de los factores de adhesión (MSCRAMMs) (23, 24).

Otros genes que son importantes en la re-

gulación de la biopelícula son el σ^B que es un factor alternativo sigma encontrado en *Staphylococcus* y otras bacterias Gram positivas y es importante en la respuesta al estrés ambiental; es activado por altas temperaturas, alta osmolaridad, antibióticos y pH extremos. Es requerido para la transcripción del operón *ica* en respuesta a altas concentraciones de NaCl (25).

El SarA es una proteína de unos 124 aminoácidos. Esta proteína es un activador positivo del *ica* ADBC, la mutación de este gen resulta en el incremento de la expresión de proteinasas y nucleasas que tienen un efecto negativo en la formación de biopelícula (26). Cuando esta proteína está ausente hay una disminución en la producción de PIA/PNAG y en la formación de biopelícula; además, es un importante elemento regulador que controla otros factores de virulencia de *Staphylococcus epidermidis* que también están involucrados en la formación de biopelícula.

Se ha demostrado que otros genes reguladores en la formación de biopelículas son el CsrA en *E.coli* y el CytR en *V.cholerae*. El gen CytR funciona como un gen represor que inhibe la síntesis de exopolisacáridos y el gen CsrA afecta la formación de la biopelícula a través de la represión del metabolismo del glucógeno afectando la gluconeogénesis bacteriana (27, 28).

¿Qué mecanismos están utilizando las bacterias para el desarrollo de biopelículas?

Las bacterias indudablemente han desarrollado una resistencia adquirida al someterse a un stress continuo, como el causado por los antibióticos, que deriva en diferentes mecanismos de defensa como la modificación en su genoma (mutación) o la denominada resistencia transmisible. Este último tipo de resistencia se encuentra mediada por la adquisición

de material genético foráneo como plásmidos, transposones o integrones, elementos móviles que pueden ser diseminados a bacterias no patógenas por transferencia horizontal o lateral de genes (THG), en cepas de la misma especie o entre diferentes especies o géneros bacterianos, siendo este mecanismo el mayor determinante en la evolución de la patogenicidad bacteriana (29).

Algunos estudios como el de Hausner y Fox demostraron que la conjugación puede ser bastante prevalente en una biopelícula, pero otros estudios como el de Christensen et al, indicaron que la propagación de plásmidos conjugativos en biopelículas y superficies de agar está limitado (30, 31, 32).

Se sugiere que las cepas de relevancia clínica contienen plásmidos conjugativos que facilitan la formación de la biopelícula un ejemplo de ello es *Escherichia coli*, que codifica el plásmido F que actúa como un factor de adhesión en la superficie celular actuando en las interacciones de célula a célula en la conformación de biopelículas (33). Muchos organismos que no pueden transportar plásmidos producen solo microcolonias pero no biopelícula, pero cuando estos organismos reciben plásmidos de bacterias donantes estos empiezan a producir biopelículas (34).

Otro mecanismo de transferencia genética es a través de integrones ya que estos tienen la capacidad de transponerse desde el ADN bacteriano a un ADN plasmídico y viceversa, lo que permite que la siguiente generación de una bacteria presente estos elementos genéticos; además, pueden albergar múltiples casets genéticos que generan una mayor diseminación especialmente por la transferencia horizontal de genes (32)

Por otra parte, varios autores relacionan que las cepas que poseen el operón *ica*ADBC forman necesariamente biopelícula, mientras

que otros, sostienen que la presencia del operador no es suficiente sino que son necesarios otros factores como las autolisinas, MSCRAMMs y demás genes reguladores que participan en la formación de la biopelícula (35).

¿Por qué la biopelícula facilita la resistencia bacteriana?

Cuando las bacterias se encuentran formando biopelícula forman estructuras organizadas cubiertas por una sustancia polimérica protectora en donde en su interior hay múltiples microcolonias bacterianas, esto hace que sean estructuras muy grandes facilitando una barrera física que aumenta la resistencia a las defensas del huésped como lo son la opsonización, lisis por complemento y fagocitosis (36).

Dentro de las hipótesis que intentan explicar la resistencia de las biopelículas a los antibióticos se encuentran:

- **Penetración lenta o incompleta del antibiótico:** La matriz de exopolisacáridos constituye una barrera para el ingreso del antibiótico. Se postula que el antibiótico logra ser desactivado por acción de polímeros extracelulares o puede tener una difusión limitada dentro de la biopelícula (37).
- **Causas metabólicas:** las bacterias tienen una baja actividad metabólica por limitación de oxígeno y de nutrientes que causa un estado de lentificación o cese de su mitosis, especialmente las bacterias que están situadas en la parte más profunda de la biopelícula, con lo cual dejan de ser susceptibles a los antibióticos, también se ha descrito que una eventual acumulación de productos ácidos en la biopelícula conduce a diferencias significativas de pH entre el exterior y el interior de

la biopelícula lo que interfiere con la acción del antibiótico (36).

- **Cambios genéticos:** se producirían modificaciones en la fisiología de las bacterias formadoras de biopelícula y aparición de genes específicos por mutaciones o elementos genéticamente móviles que potenciarían mecanismos de resistencia a múltiples antibióticos (38, 39, 40,41). Las bacterias van a expresar genes que van a transferirse entre ellas en respuesta a cambios ambientales como cambios de temperatura, baja disponibilidad de oxígeno, daños de ADN, logrando un mecanismo de supervivencia específico; un ejemplo de ello son las bombas de difusión de multiresistencia expresadas por E.coli en respuesta al cloranfenicol (42,43).
- **Formación de esporas:** se plantea la posibilidad de la existencia de una subpoblación de bacterias formadoras de biopelícula con un estado fenotípico muy especial, con una diferenciación por esporas; lo anterior es apoyado por investigaciones que muestra resistencia en biopelículas recién formadas que aún no son lo suficientemente gruesas para constituir una barrera de penetración a los antibióticos (37).

Estrategias futuras para ganarle la batalla a las biopelículas.

La mayoría de los antibióticos que se utilizan de manera rutinaria en la clínica son seleccionados por su actividad frente a bacterias en estado planctónico pero aun no existen métodos estandarizados de uso rutinario para determinar la sensibilidad de las bacterias de una biopelícula. También es muy difícil conseguir

un cultivo in vitro, el estado metabólico de las bacterias dentro de una biopelícula puede imposibilitar por completo su cultivo (44,45, 46).

El conocer las etapas que ocurren en la formación de una biopelícula ha permitido pensar varias alternativas para frenar el desarrollo de las mismas como el uso de agentes quelantes, que limitan el hierro soluble el cual es necesario para la adhesión de los pili por ejemplo en *Pseudomonas spp* (47). Otras alternativas incluye el uso de enzimas que disuelvan los polímeros de la matriz, el empleo de análogos de proteínas y péptidos señalizadores que interfieran con la comunicación célula-célula (quórum sensing) indispensables para la formación de la biopelícula (37). También se está estudiando producir cambios en el medioambiente a través de la inhibición competitiva por otras bacterias por ejemplo el *Streptococcus gordonii* dificulta la formación de biopelícula de *Streptococcus mutans* otro ejemplo de ello es el gen que expresa el *Staphylococcus epidermidis* el ESP una serin proteasa que ha demostrado inhibir la biopelícula producida por el *Staphylococcus aureus* (48, 49).

Finalmente se propone el uso de una molécula la furanona producida por el alga *Delisea pulcra* que ha demostrado bloquear la señalización del sistema quórum sensing bacteriano. En la actualidad se están creando inhibidores derivados de la furanona el problema es que esta es extremadamente toxica (50). En conjunto todas estas estrategias si bien han alcanzado en alguna proporción éxito en la inhibición de la formación de biopelícula o en la destrucción de la misma, su efectividad se ve afectada por varios factores, lo que conlleva a seguir realizando investigaciones que permitan encontrar la solución a esta problemática.

Referencias

1. Granger J. La placa dental como biofilm ¿cómo eliminarla? RCOE 2005; 10: 431-439
2. Costerton J, Geesey G and Cheng J. How Bacteria Stick. Scientific American 1978; 238 86-95
3. Arciola C, Campoccia D, Ravaioli S, Montanaro L. Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm: structural and regulatory aspects. Frontiers in cellular and Infection Microbiology 2015; 5:7
4. Jacques M, Marrie T, Costerton J. Review: microbial colonization of prosthetic devices. Microbiology ecology 1987; 13: 173-191.
5. Gilbert P, Das J, Foley I. Biofilm susceptibility to antimicrobials. Advances in dental research 1997; 11: 160-167.
6. Henríquez D, Leal A. Resultados del proyecto: "Impacto clínico y económico de la resistencia bacteriana en hospitales del distrito". Boletín informativo grupo GREBO 2007: Disponible en http://grebo.org/grebo_site/jgrebo/documentos/Boletin%20Informativo%20No%20S1%202010.pdf.
7. Herrera M. El papel del biofilm en el proceso infeccioso y la resistencia. Nova 2004;2:71-80
8. Betancourt M, Botero J, Patricia S. Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo. Colombia médica 2004; 35(1):34-9.
9. Dowd S, Sun Y, Secor P, et al. Survey of bacterial diversity in chronic wounds using pyrosequencing, DGGE, and full ribosome shotgun sequencing. BMC Microbiol 2008;8 (1):43.
10. Trengove NJ, Stacey MC, MCGechie DF, Mata S. Qualitative bacteriology and leg ulcer healing. J Wound Care 1996; 5(6):277-80.
11. Uzcudun I. Biofilms bacterianos. Actualidad 2014; 37: 14-18.
12. Hoiby N. et al. The clinical impact of bacterial biofilms. Int J Oral Sci.2011; 3:55-65.
13. O'Toole,G. Biofilm formation as microbial development. Annual Review of Microbiology 2000; 54:49-79

14. Stoodley P, Sauser K, Davies D.G, and Costerton W. Biofilms as complex differentiated communities. *Annual review of microbiology* 2002; 56: 187-209.
15. Ophir T, Gutnick DL. A papele for exopolysaccharide in the protection of microorganisms from desiccation. *Environmental Microbiology* 1994; 60: 740-5.
16. Heilmann C, Schweitzer O, Gerke C, et al. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Mol Microbiol.* 1996; 20: 1083-1091
17. Bueno J. Anti-biofilm drug susceptibility testing methods: looking for new strategies against resistance mechanism. *Journal of Microbial & Biochemical Technology* 2014.
18. Ponnuraj, K., Bowden, M.G., Davis, S., Gurusiddappa, S., Moore, D., Choe, D., et al. A 'dock, lock, and latch' structural model for a staphylococcal adhesin binding to fibrinogen. *Cell.* 2003; 115: 217–228
19. Pinilla G, Bautista A, Cruz C, Chavarro B, Navarrete J, Muñoz L. Determinación de factores de adhesión asociados a la formación de biopelícula en aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. *Nova* 2017; 15:67-75
20. Donabedian H. Quorum sensing and its relevance to infectious diseases. *J Infect* 2003; 46 (4): 207-14.
21. Otto M. Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity 2013; 64: 175-188.
22. Wang R, Khan B.A, Cheung G.Y, Bach T.H, et al. *Staphylococcus epidermidis* surfactant peptides promote biofilm maturation and dissemination of biofilm-associated infection in mice. *J.Clin.Invest* 2011; 121: 238-248.
23. Chan W C, Coyle B J, Williams P. Virulence regulation and quorum sensing in staphylococcal infections: competitive AgrC antagonists as quorum sensing inhibitors. *J Med Chem* 2004; 47: 4633-41.
24. Le KY, Otto M. Quorum-sensing regulation in staphylococci—an overview. *Frontiers in Microbiology.* 2015; 6:1174.
25. Cerca N., Brooks J. L., Jefferson K. K. Regulation of the intercellular adhesin locus regulator (icaR) by SarA, sigmaB, and IcaR in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 2008; 190: 6530–6533.
26. Beenken K. E., Mrak L. N., Griffin L. M., Zielinska A. K., Shaw L. N., Rice K. C., Horswill A. R., Bayles K. W., Smeltzer M. S. Epistatic relationships between sarA and agr in *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *PLoS One.* 2010; 5:10790 -10.1371
27. Haugo A, Watnick P. *Vibrio cholerae* CytR is a repressor of biofilm development . *Mol Microbiology.* 2002; 45(2):471-483.
28. Debra J, Kazushi S, et al. Biofilm formation and dispersal under the influence of the global regulator CsrA of *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology.* 2002; 184(1):290-301.
29. Pinilla G, Muñoz L, Navarrete J, et al. El ataque de las bacterias: cómo prevenirlo sin morir en el intento. *Nova.* 2012; 10(18):225-234.
30. Hausner M., Wuertz S. High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by quantitative in situ analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999; 65:3710–3713.
31. Christensen B.B., Sternberg C., Molin S. Bacterial plasmid conjugation on semi-solid surfaces monitored with the green fluorescent protein GFP from *Aequorea victoria* as a marker. *Gene.* 1996; 173 (1):59–65
32. Pinilla, G., Muñoz, L., Navarrete, J., Castro, B., Chavarro, B., Avila, L. Transferencia de genes de resistencia en aislamientos clínicos de *Staphylococcus* spp: Integrones Clase I en ADN plasmídico y cromosomal. *Memorias. Congreso Latinoamericano de Microbiología (XXI ALAM)* 2012: 66-67.
33. Ghigo JM. Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. *Nature*, 2001; 412: 442-5.
34. Oliveira A, Cunha MLRS. Bacterial biofilms with emphasis on coagulase-negative staphylococci. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis* [Internet].

- 2008 [cited 2016 Feb 03]; 14(4): 572-596.
35. Rojas J, Urrutia J. Trabajo de grado: Formación de Biopelícula en *Staphylococcus* spp: caracterización fenotípica y genotípica. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. 2014.
 36. Post JC, Stoodley P, Hall-Stoodley L, Ehrlich GD. The role of biofilms in otolaryngologic infections. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 12: 185-90.
 37. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001; 358: 135-8.
 38. Thomas JG, Nakaishi LA. Managing the complexity of a dynamic biofilm. *J Am Dent Assoc* 2006; 137(suppl): 10S-15S.
 39. Sanclement JA, Webster PI, Thomas J, Ramadan HH. Bacterial biofilms in surgical specimens of patients with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2005; 115: 578-82.
 40. Scott C, Manning SC. Basics of biofilm in clinical otolaryngology. *Ear Nose Throat J* 2003; 82 (suppl): 18-20.
 41. Chole RA, Faddis BT Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissues: A possible mechanism to explain chronicity *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129: 634-6.
 42. Kohler, T., van Delden, C., Curty, L. K., Hamzehpour, M. M., y Pechere, J. C. (2001) Overexpression of the MexEF-OprN multidrug efflux system affects cell-to-cell signaling in *Pseudomonas aeruginosa*, *J Bacteriol* 183, 5213-5222.
 43. Moreira, M. A., Oliveira, J. A., Teixeira, L. M., y Moraes, C. A. (2005) Detection of a chloramphenicol efflux system in *Escherichia coli* isolated from poultry carcass, *Vet Microbiol* 109, 75-81.
 44. Amorena B, Gracia E, Monzón M et al. Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* in biofilms developed in vitro. *J Antimicrobial Chem* 1999; 44: 43-55
 45. 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. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1771-1776
 46. Lasa I, del Pozo JL, Penadés JR, Leiva J. Biofilms bacterianos. Disponible en: www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol28/n2/
 47. Singh, P. K., Parsek, M. R., Greenberg, E. P., y Welsh, M. J. (2002) A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development, *Nature* 417, 552-555.
 48. Kreth, J., Zhang, Y., y Herzberg, M. C. (2008) Streptococcal antagonism in oral biofilms: *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus gordonii* interference with *Streptococcus mutans*, *J Bacteriol* 190, 4632-4640.
 49. Pinilla G, Castro B, et al. Determinación del gen ESP involucrado en el efecto proteolítico de la serin-proteasa del *S. epidermidis* sobre la biopelícula producida por el *S. aureus*. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. 15º Congreso Internacional del CNB.
 50. Hentzer, M., Riedel, K., Rasmussen, T. B., Heydorn, A., Andersen, J. B., Parsek, M. R., Rice, S. A., Eberl, L., Molin, S., Hoiby, N., Kjelleberg, S., y Givskov, M. (2002) Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound, *Microbiology* 148, 87-102.