

DIFERENÇAS FISIOLÓGICAS DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS EM BIOFILMES E EM CÉLULAS PLANCTÔNICAS

Renata Alexandre de Oliveira¹ (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Thiago David de Freitas Rodrigues¹, Giulienne Karla Pereira da Silva¹, Carolina Trevisolli Palomo¹, João Vítor Perez de Souza¹, Letícia Sayuri Murase¹, Rosilene Fressatti Cardoso¹ (Orientador), e-mail: rfressatticardoso@gmail.com.

¹Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

Área e subárea: Ciências da Saúde, Microbiologia.

Palavras-chave: Micobactérias não tuberculosas, biofilme, adesão bacteriana.

Resumo:

Biofilmes são estruturas complexas formada por polímeros de exopolissacarídeos entre outros componentes que conferem às bactérias coordenação de suas ações. Micobactérias não tuberculosas (MNTs) são um importante grupo de microrganismos capazes de formar biofilmes. O objetivo desta revisão de literatura foi esclarecer as principais vantagens fisiológicas que biofilmes formados por MNTs de crescimento rápido fornecem na persistência e patogenia em relação às células bacterianas em estado planctônico. A característica de formação de biofilmes é uma vantagem sobre a forma planctônica, pois confere às MNTs maior proteção a agressões ambientais, evasão da resposta imune do hospedeiro e promove um ambiente favorável ao desenvolvimento de resistência a fármacos. Concluímos que há uma diferença estrutural, fisiológica e metabólica entre MNTs em estado planctônico e em biofilmes. Considerando a importância do biofilme para a patogenia de MNTs, é necessário o desenvolvimento de fármacos que sejam capazes de inibir a formação ou agir em biofilmes pré-formados para combater doenças causadas por MNTs.

Introdução

Biofilmes são estruturas formadas por microrganismos e uma matriz de exopolissacarídeos (EPS), juntamente com outros componentes. Esse complexo confere às bactérias coordenação de processos fisiológicos, como nutrição e proteção física. Estudos demonstram também que, bactérias em biofilmes são mais virulentas e apresentam maior resistência à ação de agentes antimicrobianos (RICHARDS; OJHA, 2015).

O gênero *Mycobacterium* é um grupo bacteriano conhecido pela capacidade de formar biofilme como maneira de sobrevivência. As micobactérias não tuberculosas (MNTs) são patógenos oportunistas, cujos biofilmes já foram encontrados em sistemas de distribuição de água,

cateteres, próteses e equipamentos cirúrgicos. Assim como o biofilme de outros microrganismos, biofilmes micobacterianos são altamente resistentes e difíceis de eliminar (FLORES et al., 2014).

Considerando o aumento de infecções por MNTs, a dificuldades de tratamento de doenças causadas por essas bactérias e de erradicar biofilmes micobacterianos, o objetivo desta revisão de literatura foi determinar as principais vantagens fisiológicas que biofilmes formados por MNTs de crescimento rápido fornecem para persistência e patogenicidade da doença comparado a células bacterianas em estado planctônico.

Revisão de literatura

A busca dos artigos foi realizada na base de dados PubMed (National Library of Medicine) com os seguintes descritores (MeSH Terms): “nontuberculous mycobacteria”, “infection, mycobacteria”, “*Mycobacterium*”, “biofilms”, “bacterial adhesion” e “antibiotic resistance, microbial”. Os descritores foram divididos em diferentes blocos e os artigos foram recuperados com a ajuda de especialistas, de acordo com a relevância das evidências.

Resultados e Discussão

Estrutura e metabolismo micobacteriano

A matriz exopolissacarídica (EPS) de biofilmes micobacterianos é composta por componentes presentes na membrana micobacteriana, como ácidos micólicos (AMs), proteínas e glicopeptídeos. Quando cultivadas *in vitro*, MNTs produzem estruturas macroscópicas espontaneamente, com a formação de “películas” entre o meio de cultura e o ar. Essa característica é resultado da alta quantidade de lipídios na estrutura, como os AMs.

Glicopeptideolipídeos (GPL) também são componentes estruturais da membrana de MNTs, e sua presença ou ausência determina características morfológicas e de virulência em espécies como *M. abscessus*. A presença de GPL facilita a motilidade e a formação de biofilme na interface de meios líquidos, enquanto a ausência de GPL promove a agregação bacteriana e virulência. Na matriz EPS desses biofilmes também se encontra DNA extracelular (eDNA). Esse material pode ser resultado da comunicação intercelular microbiana, liberado por vesículas extracelulares ou pela lise de células mortas. Após sua liberação, o eDNA é incorporado na matriz EPS e aumenta a resistência do biofilme a agentes antimicrobianos. Isso ocorre pela alteração do meio extracelular, principalmente em *M. fortuitum* e *M. abscessus*. Adicionalmente, a composição da matriz EPS dessas comunidades é constituída de polissacarídeos, sendo a celulose o elemento chave da estrutura. A composição estrutural e atividade metabólica em biofilmes é essencial para o desenvolvimento da resistência antimicobacteriana.

Resistência a desinfetantes e antimicrobianos

MNTs são bactérias de ampla disseminação no ambiente e sua capacidade de formar biofilmes as tornam resistentes à ação predatória de protozoários, à incidência de radiação UV solar e desinfetantes. Além da função estrutural, a presença de eDNA também foi relacionada a resistência a moxifloxacino e claritromicina e a aplicação de DNase em conjunto com estes fármacos reduziu o número de bactérias viáveis em até 48 e 43%, respectivamente (ROSE, BABRAK, and BERMUDEZ 2015).

Outro fator que influi na tolerância a antimicrobianos é a modificação da atividade metabólica das células bacterianas. Mudanças no ciclo celular, velocidade de crescimento e componentes da parede celular das bactérias presentes no biofilme já foram relacionados com a redução da atividade de fármacos. Adicionalmente, a redução de nutrientes e oxigênio disponíveis no interior do biofilme promovem o desenvolvimento de células micobacterianas não replicantes, tornando alguns fármacos sem atividade nessas formas bacterianas.

Além dos fatores mencionados anteriormente, estudos demonstram que biofilmes *in vitro* favorecem a transferência horizontal de genes entre células de *M. smegmatis* (NGUYEN et al., 2010). Essa capacidade favorece o estabelecimento de comunidades micobacterianas resistentes e não somente tolerantes aos antimicrobianos.

Evasão do sistema imune

Além dos biofilmes imporem certa resistência aos desinfetantes e altas concentrações de antimicrobianos, estudos mostram que são capazes de modular o sistema imune do hospedeiro. A evasão das ações da resposta imune acontece por variados mecanismos como, formação de barreira física evitando a detecção e fagocitose das bactérias no interior do biofilme, geneticamente, afetando a atividade das células imunitárias, ou ainda, são capazes de secretar toxinas, reguladas pelo *quorum sensing*, prejudicando o processo de recrutamento das células de defesa (GONZÁLES et al., 2018).

Estudos sugerem que biofilmes contornam a típica resposta pró-inflamatória do sistema imune inato do hospedeiro pela proteção imposta pela EPS. Com isso, leva a uma redução da exposição de padrões moleculares, associados ao patógeno, aos receptores de reconhecimento presentes em células hospedeiras (KEEF et al., 2021).

Implicações clínicas

MNTs são reconhecidas como agentes etiológicos de várias infecções pulmonares e extra-pulmonares, principalmente em indivíduos imunocomprometidos (COLLINS et al., 1988). Também, nos últimos anos, indivíduos acometidos por doenças pulmonares crônicas (ROUX et al., 2009), e fazem uso de medicamentos como corticóides e antibioticoterapia de amplo espectro vem apresentando doenças por MNTs (CATHERINOT et al., 2013).

Podemos destacar algumas MNTs causadoras de infecções mais recorrentes, como por exemplo, *M. abscessus* em pacientes com fibrose cística (JOHANSEN et al., 2020), e *M. chimerae* na formação de biofilme e contaminação de equipamentos de cirurgia cardíaca (KOHLENER et al., 2015).

MNTs parecem ter tropismo por diferentes órgãos, tornando necessário um diagnóstico preciso, que requer a identificação do agente etiológico a nível de espécie. Atualmente a dificuldade na identificação destes patógenos tem sido suprida pela biologia molecular, a qual tem se mostrado uma ferramenta útil para estudos de biofilmes bacterianos e células planctônicas em várias espécies.

Conclusões

Existe diferença estrutural, fisiológica e metabólica entre MNTs em estado planctônico e em comunidades microbianas (biofilmes). Esta diferença parece conferir as MNTs em biofilmes, resistência a antimicrobianos e capacidade de evasão à resposta imune do hospedeiro, causando implicações clínicas significativas e tornando o combate a esses patógenos um desafio para médicos, pesquisadores e pacientes.

A necessidade de estudos para entender melhor processos fisiológicos em MNTs, quando estão em biofilme, e a interação dessa comunidade com o hospedeiro é iminente para o desenvolvimento de novas alternativas de tratamentos de doenças causadas por essas bactérias que sabidamente induzem formação de biofilmes no processo da doença.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Maringá, Fundação Araucária (FA) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

GONZÁLEZ, J.F.; HAHN, M.M.; GUNN, J.S. Chronic biofilm-based infections: skewing of the immune response. **Pathog Dis**, v.76, p.1–7, 2018.

ROSE, S.J.; BABRAK, L.M.; BERMUDEZ, L.E. *Mycobacterium avium* possesses extracellular DNA that contributes to biofilm formation, structural integrity, and tolerance to antibiotics. **PloS one**, v. 10, n. 5, p. e0128772, 2015.

ROUX, A.L. et al. Multicenter study of prevalence of nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis in France. **Journal of clinical microbiology**, v. 47, n. 12, p. 4124-4128, 2009.

OJHA, A.K.; JACOBS, W.R.; HATFULL, G.F. Genetic dissection of mycobacterial biofilms. In: **Mycobacteria protocols**. Humana Press, New York, NY, 2015. p. 215-226.