

*IMPORTANCIA DE LOS BIOFILMS BACTERIANOS QUE SE  
ORIGINAN SOBRE LOS CATÉTERES DE USO MÉDICO*

*THE IMPORTANCE OF BACTERIAL BIOFILMS  
ORIGINATING ON MEDICAL CATHETERS*



Trabajo de Fin de Grado

*Alba Umpiérrez Bonilla*

Tutorizado por:

Juan Ramón Hernández Fernaund y Fernando Perestelo Rodríguez

Grado en Biología. Julio 2022.

## ÍNDICE

Resumen.....	3
Abstract.....	4
1. Introducción.....	5
2. Objetivos.....	7
3. Problemática de la formación de biofilms en catéteres.....	7
3.1. Factores de riesgo relacionados con los catéteres.....	8
3.2. Resistencia bacteriana y biofilms.....	9
4. Aspectos moleculares de la formación de biofilms.....	13
5. Bacterias que forman biofilms en catéteres.....	16
5.1. Primera fase de formación: adhesión.....	16
5.2. Segunda fase de formación: maduración.....	19
5.3. Tercera fase de formación: dispersión.....	22
6. Propuesta de interferir en la formación de biofilms en catéteres.....	22
7. Conclusiones.....	25
8. Conclusions.....	26
9. Bibliografía.....	27

## RESUMEN

Los biofilms son comunidades complejas y estructuradas de microorganismos, impregnados en una matriz extracelular de producción propia. Desde un punto de vista sanitario, los biofilms suponen un verdadero desafío pues, su estructura tridimensional, confiere a las bacterias que la forman, una elevada tolerancia a condiciones adversas, entre ellas, generar resistencia a antibióticos o frente al propio sistema inmune. Por este motivo, los biofilms representan un problema de gran importancia clínica, donde han sido relacionados con infecciones nosocomiales en pacientes portadores de catéteres o prótesis de larga duración. Entre las bacterias que forman biofilms sobre catéteres destaca *Staphylococcus epidermidis*, un patógeno oportunista que forma parte de la microbiota normal comensal de nuestra piel. En este trabajo se presenta un estudio retrospectivo sobre algunos de los aspectos moleculares implicados en la formación y desarrollo de biofilms producidos por *Staphylococcus epidermidis* cuando coloniza catéteres durante largos periodos de tiempo. Asimismo, se propone una hipótesis de trabajo según la cual, la producción de anticuerpos específicos frente a proteínas superficiales de la bacteria productora de biofilm, podría impedir la formación de éstos en los diferentes tipos de catéteres.

**Palabras clave:** biofilm – catéter venoso central (CVC) – infecciones del torrente sanguíneo relacionadas con el catéter (CRBSI) – *Staphylococcus epidermidis*

## ABSTRACT

Biofilms are complex and structured communities of microorganisms embedded in a self-produced extracellular matrix. From a health point of view, biofilms pose a real challenge because their three-dimensional structure gives the bacteria that form them a high tolerance to adverse conditions, including generating resistance to antibiotics or to the immune system itself. For this reason, biofilms represent a problem of great clinical importance, where they have been related to nosocomial infections in patients with long-term catheters or prostheses. Bacteria that form biofilms on catheters include *Staphylococcus epidermidis*, an opportunistic pathogen that forms part of the normal commensal microbiota of our skin. This paper presents a retrospective study of some of the molecular aspects involved in the formation and development of biofilms produced by *Staphylococcus epidermidis* when it colonises catheters during long periods of time. In addition, a working hypothesis is proposed according to which, the production of specific antibodies against the surface proteins of the biofilm-producing bacteria could prevent the formation of biofilms on different types of catheters.

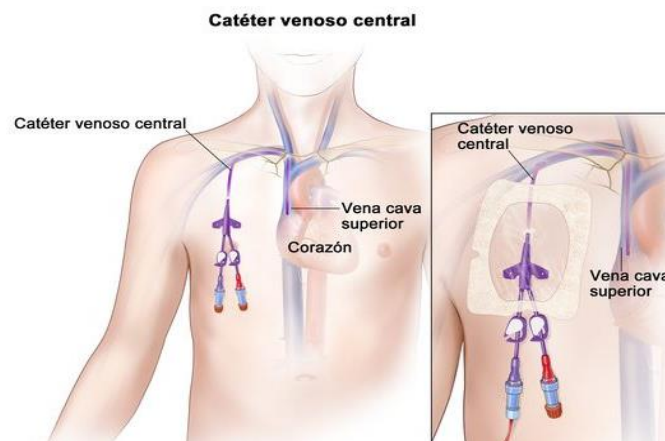
**Key words:** biofilm – central venous catheter (CVC) – catheter related bloodstream infections (CRBSI) – *Staphylococcus epidermidis*

## 1. INTRODUCCIÓN

Los biofilms bacterianos se definen como complejas comunidades de microorganismos que crecen impregnados en una matriz de exopolisacáridos y pueden adherirse a una gran variedad de superficies inertes y tejidos vivos. Es de destacar que los biofilms se pueden producir no solo de forma extracelular sino también de forma intracelular en células vivas, según lo observado en un estudio de Vestby et al., 2020. Los biofilms permiten a las bacterias vivir en condiciones ambientales hostiles: mostrando alta tolerancia a los antibióticos, a los productos químicos desinfectantes o incluso resistencia a la fagocitosis y a otros elementos del sistema inmunitario. Debido a su especial resistencia y a constituir un reservorio de bacterias, los biofilms son capaces de causar una gran variedad de problemas al humano. Por ejemplo en el contexto sanitario, la infección bacteriana, a partir de los biofilms, es considerada una de las principales causas de enfermedad nosocomial en pacientes inmunocomprometidos, pudiendo afectar a cualquier sistema, ya sea el auditivo, el cardiovascular, el digestivo, el tegumentario, el reproductivo, el respiratorio o el urinario (Roy et al., 2018; Vestby et al., 2020).

Entre las principales causas de enfermedades bacterianas nosocomiales encontramos la formación de biofilms sobre superficies de instrumental médico como los catéteres y las prótesis. En particular, los catéteres son de especial importancia al encontrarse continuamente expuestos a ser colonizados por biofilms bacterianos y es donde centraremos nuestra atención. El catéter venoso central (CVC) es un dispositivo que se usa en pacientes, como por ejemplo los oncológicos, para la administración de líquidos intravenosos como la medicación o para extraer sangre (Jamshidi, 2019). Este dispositivo se trata de un tubo flexible y delgado que se introduce en el interior de una vena, como se observa en la Figura 1 (Diccionario de cáncer del NCI, 2015) sirviendo de conexión física entre el sistema circulatorio del paciente y el exterior. El CVC, a pesar de su clara ventaja para la administración de tratamientos, la transfusión de sangre y la nutrición parenteral, presenta serias limitaciones como el riesgo de infecciones del torrente sanguíneo relacionadas con el catéter (CRBSI: Catheter related Bloodstream Infections) o infecciones del torrente sanguíneo asociadas a la vía central (CLABSI: Central Line-associated Bloodstream Infections). Estas infecciones ocurren con mayor frecuencia cuando los catéteres se insertan de manera urgente omitiendo las técnicas

asépticas (Böll et al., 2021; Høiby et al., 2010). Los catéteres se contaminan principalmente por cuatro rutas distintas: la contaminación del conector del catéter durante su manipulación, el desplazamiento de la flora normal de la piel hacia la superficie externa del catéter en el momento de colocarlo, la contaminación de la luz del catéter con fluidos infectados y por siembra hematógena del catéter (Farrag et al., 2019; Wolcott, 2021). Las complicaciones con los catéteres llevan asociadas, además del riesgo considerable e incluso la muerte del paciente, a una hospitalización prolongada, un tratamiento costoso económicamente, una mayor carga del sistema sanitario y un riesgo añadido debido a la capacidad de los microorganismos para generar resistencia a los antibióticos en el ambiente hospitalario (Corrêa Carvalho et al., 2022).



**Figura 1.-** Diagrama de un catéter venoso central (CVC) pasando por debajo de la clavícula derecha hasta insertarse en la vena cava superior (Diccionario de cáncer del NCI, 2015).

Entre los pacientes sensibles a infecciones con origen en los catéteres, podemos destacar a los oncológicos. Existen varios factores que los predisponen a esta patología como son: la inserción de catéteres de larga duración y de uso frecuente, estancias largas fuera del control sanitario y normalmente pacientes con sistemas inmunes deprimidos debido a las quimioterapias y radioterapias.

Debido a la importancia evidente para el paciente, así como para el sistema sanitario presente y futuro que posee la infección de CVC, esta investigación bibliográfica se centrará en el estudio de la formación de biofilms bacterianos sobre superficies plásticas, concretamente de los catéteres. Siendo el objetivo final establecer una hipótesis de trabajo para interferir con la formación de biofilms en catéteres,

reduciendo las tasas de infección y los problemas derivados sobre los pacientes oncológicos.

## 2. OBJETIVOS

Con esta investigación bibliográfica trataremos de proponer una solución al gran desafío clínico, tanto para el profesional sanitario como para los pacientes, que suponen los biofilms sobre los catéteres de uso prolongado. Para ello, primero proponemos conocer la problemática clínica de la infección bacteriana, en forma de biofilm, de los catéteres de larga duración implantados en pacientes oncológicos. A continuación, investigaremos en profundidad sobre los mecanismos moleculares necesarios para la formación de los biofilms. Y, por último, desarrollaremos una hipótesis de trabajo para interferir con la formación de biofilms bacterianos sobre las superficies plásticas de los catéteres de uso médico.

## 3. PROBLEMÁTICA DE LA FORMACIÓN DE BIOFILMS EN CATÉTERES

Los biofilms bacterianos en el ámbito sanitario constituyen una pieza relevante de los problemas vigentes a nivel mundial. Un ejemplo muy común lo encontramos en los pacientes con cáncer, los cuales sufren infecciones del torrente sanguíneo asociadas a la vía central (CLABSI). En 2015, de los 15 millones de pacientes que vivían con cáncer en Estados Unidos, al menos 4 millones tenían un catéter venoso central (CVC) permanente. De estos, la tasa de CLABSI fue de 1,5 por cada 1000 CVC al día y la tasa de mortalidad osciló entre el 12% y el 25% en EE.UU, según la Red Nacional de Seguridad Sanitaria (Malek & Raad, 2020). Asimismo, los catéteres que cuentan con una permanencia de más de 30 días, es decir de larga duración, poseen un número de CLABSI que podría llegar a alcanzar al menos 400.000 episodios al año en Estados Unidos, según una estimación reciente de Raad et al. (Raad & Chaftari, 2014). La mortalidad en estos casos es variable y depende de otros factores como el tipo de catéter, el microorganismo que causa la infección y las comorbilidades del paciente. Este tipo de infecciones son las responsables de más de 60.000 muertes evitables al año en Estados Unidos, de las que entre el 65% y el 70% podrían haberse prevenido según el estudio realizado por Malek et al. publicado en 2020. En el futuro se espera que estas infecciones asociadas a CVCs continúen siendo un problema sanitario mundial importante y que afecte

negativamente a la prevalencia de las infecciones asociadas a la asistencia sanitaria, las tasas de mortalidad, la duración de la estancia hospitalaria y el coste de la asistencia sanitaria. Es evidente concluir que necesitamos encontrar soluciones para la prevención de infecciones por biofilms asociadas a CVCs (Malek & Raad, 2020).

### *3.1. FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON LOS CATÉTERES*

Existen dos tipos de factores de riesgo que influyen en el inicio de una CLABSI, los intrínsecos y los extrínsecos. Los de riesgo intrínseco son aquellos que están relacionados con el huésped y no pueden ser modificados por intervención externa. Estos incluyen el sexo del paciente, siendo los hombres los que poseen un riesgo mayor de sufrir una infección relacionada con el catéter que las mujeres; la edad, donde los niños tienen mayor frecuencia de presentar algún tipo de estas infecciones en comparación con los adultos; las enfermedades subyacentes, como las enfermedades hematológicas y gastrointestinales que están relacionadas con un riesgo elevado de CLABSI. Por otro lado, están los factores extrínsecos, los cuales pueden llegar a ser modificados empleando buenas prácticas, pues están asociados a la inserción y el mantenimiento de los CVCs. Esto significa que factores como el lugar de inserción del catéter, el cumplimiento de las normas de higiene y de esterilización o un tiempo de implantación prolongado afectarán significativamente los riesgos extrínsecos al paciente, incrementando la probabilidad de padecer complicaciones a lo largo del uso del catéter (Malek & Raad, 2020).

Cabe destacar que las infecciones asociadas a los catéteres suelen ser más comunes en las salas de urgencias y en las unidades de cuidados intensivos (UCI), debido tanto a la urgencia con la que son implantados, no siempre respetando los procedimientos de asepsia recomendables, como a que los CVCs suelen ser necesarios durante un periodo de tiempo más prolongado que en otras unidades como las hospitalarias y ambulatorias. En contraste, en los casos clínicos que utilizan los CVCs por un período corto de tiempo, lo que es considerado como menos de tres días, el riesgo de infección es casi inexistente. Es lógico concluir que el riesgo de complicaciones incrementa proporcionalmente con el tiempo de uso del dispositivo (Corrêa Carvalho et al., 2022; Dadi et al., 2021).



### 3.2. RESISTENCIA BACTERIANA Y BIOFILMS

La resistencia a los antibióticos es un problema sanitario especialmente preocupante y aún lo es más en el contexto de los biofilms puesto que, como veremos a continuación, estos favorecen la resistencia debido a múltiples aspectos.

Los antibióticos son los medicamentos que se utilizan para la prevención y el tratamiento de forma eficaz de las infecciones bacterianas. Sin embargo, la resistencia bacteriana hoy en día es una amenaza a nivel mundial representando un serio riesgo para la integridad de la salud humana. Este problema es un fenómeno evolutivo natural de los microorganismos, causado mayoritariamente por el uso indebido que el humano hace de los fármacos. El resultado es que cada vez son más frecuentes las infecciones comunes que presentan resistencia (tuberculosis, gonorrea, neumonía, etc.) y que tienen que gestionarse con tratamientos de última generación o multitratamientos complejos (*Antibiotic Resistance*, 2020). El efecto de generación de resistencia se encuentra acentuado en los biofilms bacterianos, donde además los términos de tolerancia y persistencia cobran una gran importancia, pues son la base principal de la recurrencia bacteriana asociada al biofilm. Las células tolerantes y persistentes se corresponden con aquellas que sobreviven a una agresión, por ejemplo al tratamiento antibiótico, volviendo a crecer cuando esta agresión se retira, constituyendo por tanto una fuente potencial de resistencia (Ciofu et al., 2017; Yan & Bassler, 2019).

El biofilm facilita la resistencia bacteriana a partir de diferentes cualidades únicas. Desde un punto de vista físico, la matriz del biofilm se caracteriza por ser un refugio para las células que lo componen, dado que su principal objetivo es protegerlas y mantenerlas unidas a las superficies. Esta matriz juega un papel esencial en la tolerancia y persistencia, pues presenta una interacción relevante con el antibiótico. El tipo de interacción se determina por la composición de la matriz (polisacáridos, proteínas, ADN extracelular, etc.) y las propiedades físico-químicas del antibiótico (tamaño, carga eléctrica neta, etc.). Por ejemplo, los antibióticos que presentan cargas catiónicas reaccionan con los polisacáridos y el ADN extracelular de la matriz, ya que estos componentes presentan carga aniónica. La consecuencia de esta unión es la reducción de la velocidad de difusión de las moléculas de antibiótico hacia el interior del biofilm o incluso actúan como auténticas barreras

químicas. La generación de estos gradientes de antibiótico hace que las células bacterianas del biofilm logren activar las respuestas adaptativas al estrés, que se explicarán más adelante, sobreviviendo. Además de este mecanismo básico de barrera que impide la penetración de sustancias externas, la matriz evita la pérdida de moléculas hacia el exterior del biofilm, actuando como reservorio generando microambientes favorecedores. Por ejemplo, puede concentrar enzimas modificadoras de antibióticos (ej.  $\beta$ -lactamasas), cuya función es inactivar los antibióticos antes de que lleguen a las células bacterianas de las capas internas del biofilm (Ciofu et al., 2022; Yan & Bassler, 2019).

Unido a los factores físico-químicos descritos, existen otros factores moleculares implicados en la generación de resistencia a los antibióticos que se ven favorecidos en los biofilms, como es el caso de las mutaciones y la transferencia de genes entre microorganismos. Por ejemplo, la transmisión horizontal de genes es más eficaz en los biofilms y esto explicaría, por medio de mecanismos de resistencia habituales, la multiresistencia de las bacterias asociadas a los biofilms (Høiby et al., 2010). Por su parte, la mutagénesis puede surgir de forma espontánea o estimulada por la activación de las respuestas al estrés adaptativo, inducido por la escasez de nutrientes en la parte interna del biofilm. Esta mutagénesis adaptativa unida a la mutagénesis que surge en la población de crecimiento rápido, que se encuentra en las capas externas del biofilm, provoca altas tasas de mutación incrementando, en consecuencia, las probabilidades de supervivencia y resistencia de los microorganismos (Ciofu et al., 2022).

Como hemos empezado a introducir, la estratificación de las bacterias dentro del biofilm juega un papel relevante en su evolución y afecta a múltiples aspectos moleculares de los microorganismos. Sabemos que la capa externa se compone de poblaciones bacterianas metabólicamente activas y de rápido crecimiento, mientras que en las capas internas encontramos poblaciones de bacterias metabólicamente inactivas y de crecimiento lento. Estas diferencias son debidas al gradiente de consumo metabólico de oxígeno y nutrientes producido en la superficie exterior y que limita la disponibilidad de los recursos en la parte interna. Este gradiente es capaz de generar capas estratificadas de microorganismos con diferentes susceptibilidades a los antibióticos (Ciofu et al., 2022; Høiby et al., 2010). Asociado a

este gradiente de nutrientes y oxígeno en el biofilm, encontramos diferentes respuestas adaptativas al estrés, pudiendo ser de tres tipos: la respuesta estricta, la respuesta SOS y la respuesta general de estrés RpoS. Todas ellas perjudican a la eficacia de los antibióticos, incrementando la tolerancia del microorganismo (Ciofu et al., 2022).

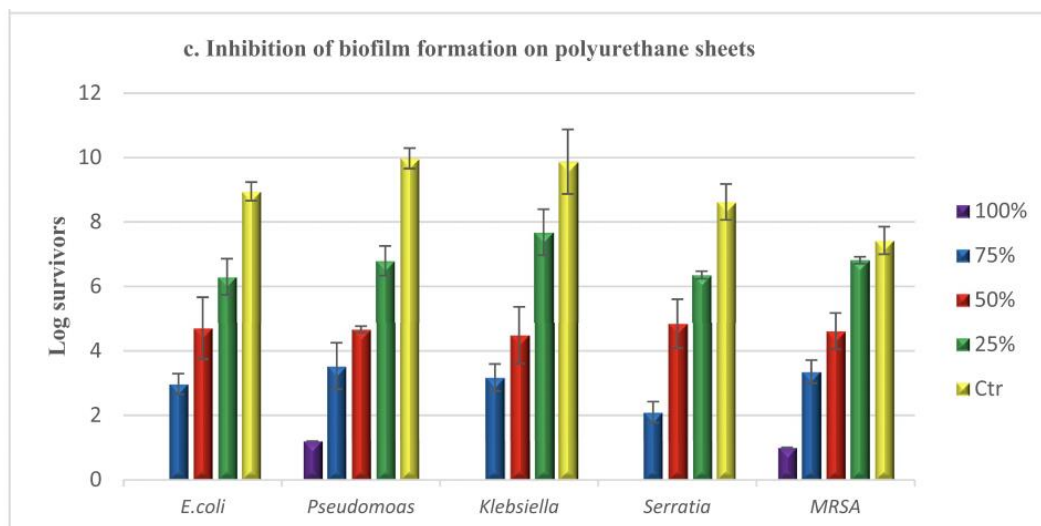
- a) La respuesta estricta se dispara por la falta de nutrientes y hierro, activando la producción de guanosina 3', 5'-bispirofosfato (ppGpp), lo que regula la fisiología celular de la población bacteriana con baja actividad metabólica (capas internas del biofilm).
- b) La respuesta SOS se activa bajo daño al ADN incrementando la tolerancia a las condiciones adversas. En los biofilms, la penetración de los antibióticos se ve reducida de forma que aquellos, como los  $\beta$ -lactámicos, que poseen mecanismos de acción que incrementan las ROS, lo hacen pero en menor medida. Las bajas concentraciones de ROS producen leves daños sobre el ADN y activan la respuesta SOS, protegiendo a la bacteria contenida en los biofilms contra agresiones futuras más severas.
- c) La respuesta general de estrés mediada por RpoS regula la transcripción de genes y se activa frente al daño del ADN, a la aparición de ROS y al estrés osmótico. En los diferentes casos RpoS expresa: el gen *xthA* que codifica una exonucleasa que se encarga de la reparación del ADN, eliminando los monofosfatos 5' del ADN dañado; las catalasas HPI y HPII que actúan sobre las ROS, convirtiéndolas en agua y oxígeno; y la trehalosa que interviene como osmoprotector. Todos estos mecanismos restablecen los daños causados por el antibiótico e incrementan la tolerancia bacteriana (Ciofu et al., 2022).

El incremento de la resistencia bacteriana a los mecanismos de defensa del sistema inmune también se encuentra asociada a los biofilms. Por ejemplo, los neutrófilos pueden fagocitar partículas inferiores a 10  $\mu\text{m}$ , sin embargo, los biofilms cuentan con un tamaño bastante mayor (100  $\mu\text{m}$  aproximadamente). Por tanto, los neutrófilos no pueden realizar su función de defensa o, en cualquier caso, deben de fragmentar el biofilm en trozos más pequeños para poder acceder a las bacterias de su interior. En este sentido, los neutrófilos solo pueden ejercer un estrés de 1 kPa mientras realizan la fagocitosis, por lo que los biofilms, gracias a sus propiedades

mecánicas superiores, son resistentes. Esto obliga al sistema inmune a acceder al biofilm empleando otros medios o simplemente lo hace inaccesible (Ciofu et al., 2022; Yan & Bassler, 2019).

La presencia, cada vez más frecuente, de resistencia bacteriana nos obliga a tomar medidas urgentes. Si este problema sigue evolucionando tan rápido como hasta ahora, las infecciones comunes y algunas lesiones de carácter leve volverán a ser una causa de mortalidad inevitable. Debido a que los biofilms son una fuente especialmente alta de formas resistentes, son una diana ideal de intervención para reducir todo tipo de complicaciones sanitarias. La prevención de la formación de biofilms es la forma más eficaz de evitar que el paciente llegue a evolucionar hacia infecciones avanzadas. Entre las medidas aconsejadas podemos mencionar una profilaxis adecuada (inserción del catéter en condiciones asépticas, extremo cuidado en la zona de inserción, etc.), una terapia antibiótica de carácter temprano y agresivo o el empleo de terapias de supresión crónicas (Høiby et al., 2010).

Ante los retos que se nos plantean en el futuro próximo, cabe considerar nuevas fuentes de antibióticos naturales, o incluso otras terapias alternativas como sería el caso del ajo. Curiosamente, los productos naturales del ajo podrían sustituir a los antibióticos abriendo nuevas posibilidades en la prevención de la formación de biofilms. Farrag et al., demostraron que el efecto combinado de la alicina (componente antibacteriano del ajo) y los aceites esenciales del ajo son capaces de penetrar las membranas celulares de las bacterias, interfiriendo con la síntesis de ARN y bloqueando enzimas esenciales (Figura 2) (Farrag et al., 2019).



**Figura 2.-** Representación estadística de la inhibición de los biofilms en láminas de poliuretano (material que forma el CVC) gracias al extracto de ajo fresco en diferentes concentraciones (Farrag et al., 2019).

#### 4. ASPECTOS MOLECULARES DE LA FORMACIÓN DE BIOFILMS

La formación de biofilms cuenta con 3 fases, independientemente de la superficie donde se genere: la inicial o adhesión, la de maduración y proliferación y por último la de dispersión (Figura 3). La fase inicial se trata de un proceso reversible caracterizado por la adherencia a la superficie (biótica o abiótica) de las células plantónicas. En el caso de los catéteres, la superficie se recubre, en 24 horas, por una película de macromoléculas orgánicas del huésped que incluyen piruvato, glucosa y fibrinógeno (Ciofu et al., 2022; Gominet et al., 2017). Esta película orgánica y la superficie bacteriana, tanto en bacterias Gram positivas como Gram negativas, interaccionan mediante distintos tipos de estructuras como los flagelos, las fimbrias (homopoliméricas y heteropoliméricas) y las grandes adhesinas bacterianas (Beloin et al., 2017). Cabe destacar algunas proteínas, asociadas a la superficie bacteriana, como OmpA, proteínas de unión a la fibronectina, proteína A, SasG, proteína asociada al biofilm (BAP) y otros factores, que están involucrados en esta etapa inicial de adhesión a la superficie (Roy et al., 2018). En esta primera fase, las bacterias todavía son vulnerables y, por tanto, susceptibles al tratamiento con antibióticos (Høiby et al., 2010).

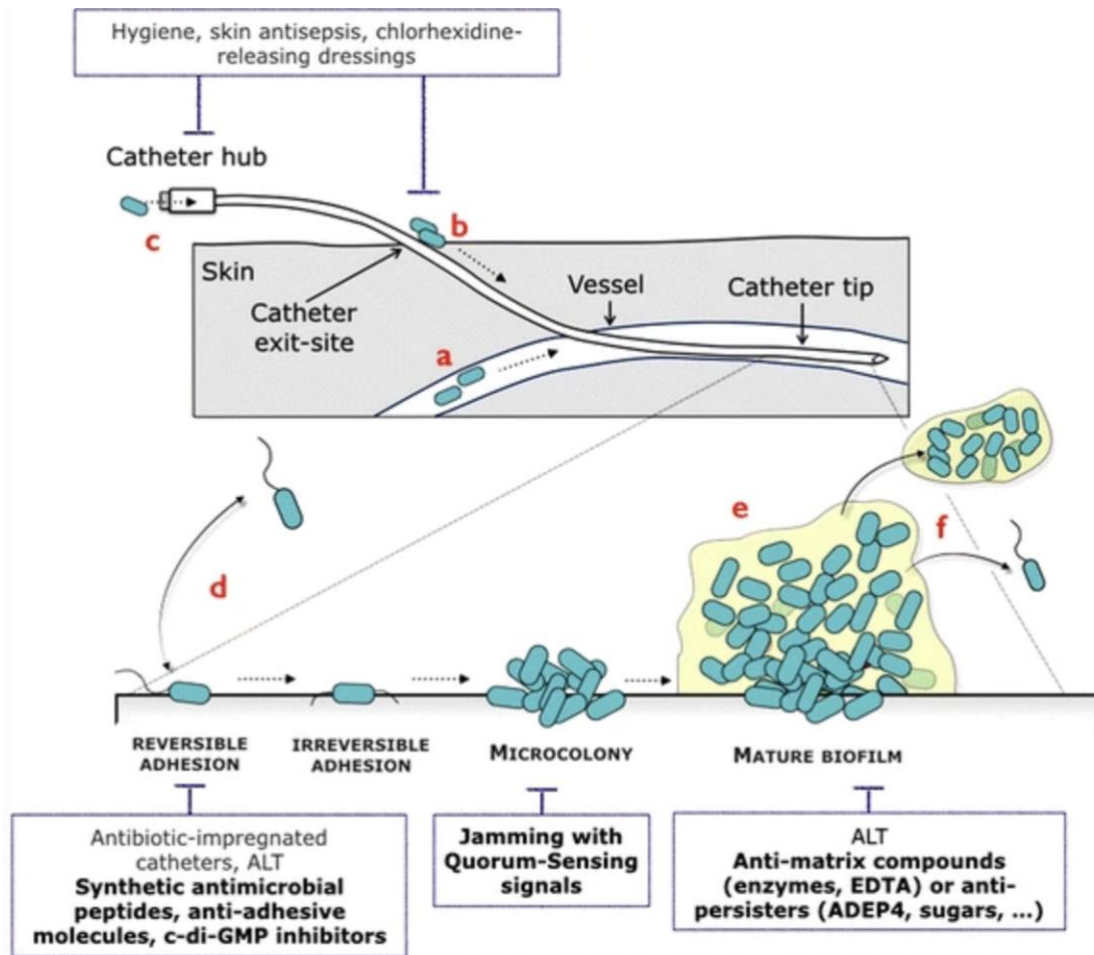
Durante la fase de maduración y proliferación se producen cambios fisiológicos y metabólicos en las bacterias que promueven la transición desde el crecimiento plantónico al crecimiento en el biofilm. Por ejemplo, en el caso de las bacterias Gram

negativas, estos cambios están inducidos por la diguanosina-5'-monofosfato (c-di-GMP), un mensajero secundario cíclico que se encarga de controlar la natación libre de las bacterias en su forma plantónica. De esta manera, cuando se encuentran niveles elevados de c-di-GMP se estimula la formación del biofilm. Por el contrario, niveles bajos de c-di-GMP produce la dispersión bacteriana. Las células adheridas a la superficie se multiplican y comienzan a producir matriz extracelular de composición compleja promoviendo la agregación de las células (Beloin et al., 2017; Ciofu et al., 2022; Høiby et al., 2010). El resultado final es la formación del biofilm maduro, con una estructura tridimensional en forma de columna. Estas columnas poseen pequeños canales, por los que circulan agua, nutrientes y residuos, y pequeñas cavidades que dan refugio a las bacterias plantónicas (Roy et al., 2018). Dependiendo de la composición y estructura de la matriz extracelular obtendremos diferentes gradientes de nutrientes, oxígeno y productos de desecho, promoviendo la estratificación fisiológica comentada anteriormente. Es decir, las células de crecimiento rápido dispuestas en la superficie del biofilm y las células de crecimiento lento en su interior, con las consiguientes adaptaciones asociadas. A partir del establecimiento de la matriz extracelular, la unión del biofilm a la superficie se vuelve irreversible, confiriéndole la máxima resistencia (Beloin et al., 2017; Ciofu et al., 2022; Høiby et al., 2010).

Unido a la complejidad descrita hasta ahora, dentro del biofilm existe comunicación entre las células bacterianas, llevándose a cabo a través de moléculas de la percepción del cuórum (QS: Quorum Sensing). El QS permite la comunicación entre bacterias de una misma o diferentes especies y consiste en un mecanismo de regulación de la expresión de los genes en función de la densidad celular. Cabe decir que esta señalización funciona tanto entre células de la misma o diferente especies, como sobre la misma célula de donde ha sido liberado cada gen (Beloin et al., 2017; Høiby et al., 2010). QS es de especial relevancia en las especies bacterianas que no se pueden adherir por sí mismas a una superficie, pero sí pueden anclarse a otra matriz o colonias preexistentes. Para ello, requieren de la ayuda de moléculas del QS habilitando las interacciones celulares (Roy et al., 2018).

En la última fase de los biofilms, la dispersión, este se fragmenta y desprenden las bacterias no unidas a la superficie. Normalmente esta fase se inicia por factores ambientales e induce la nueva formación de biofilms en otros puntos, por liberación de

células plantónicas adherentes. Estos sitios nuevos de adhesión pueden ser tanto tejidos cercanos a la infección principal como ubicaciones más alejadas (Beloin et al., 2022; Høiby et al., 2010; Roy et al., 2018).



**Figura 3.-** Representación de la formación de biofilms en la superficie de un CVC. Se observan las posibles vías de contaminación: infección del torrente sanguíneo (colonización endoluminal) (a), piel del paciente (colonización extraluminal) (b) o conducto del catéter (colonización endoluminal) (c). En la parte inferior se observan las fases de la formación del biofilm: adhesión reversible e irreversible de la bacteria plantónica a la superficie del catéter (d), multiplicación de los microorganismos formando una microcolonia y a continuación el biofilm maduro (e), generando así la formación de la matriz extracelular y las señales de detección de quórum (f). Por último, se produce la dispersión del biofilm, lo que produce la infección del torrente sanguíneo y/o de otras zonas del cuerpo. Lo que está representado en **negrita** hace referencia a enfoques prometedores que actualmente no son utilizados en la clínica (Beloin et al., 2017).

## 5. BACTERIAS QUE FORMAN BIOFILMS EN CATÉTERES

Existe una gran variedad de microorganismos con capacidad para formar biofilms, pudiendo ser bacterias Gram negativas, Gram positivas o levaduras. Algunos géneros como *Pseudomonas*, *Listeria*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus* y *Bacillus* forman biofilms de manera rápida. En este estudio nos centraremos en la especie *Staphylococcus epidermidis* (Gram positiva) perteneciente a la familia Staphylococcaceae, normalmente presente en forma de cocos agrupados, no móviles, anaerobios facultativos y productores de catalasa. *Staphylococcus epidermidis* es de naturaleza no patógena y comensal, que se encuentra en la flora cutánea y en las membranas mucosas de los seres humanos y mamíferos, junto con otras especies de estafilococos coagulasa negativos. Además de ser una bacteria abundante en nuestro organismo, destaca por su facilidad para formar biofilms, siendo por ello la especie más común responsable de la infección de catéteres y, a largo plazo, principal agente de las infecciones nosocomiales. Se comporta como patógeno oportunista en pacientes inmunodeprimidos y neonatos con catéteres de larga duración, haciendo fácil deducir el perjuicio sanitario que provoca (Büttner et al., 2015; Nuryastuti, 2018; Takahashi et al., 2021).

A continuación, profundizaremos en los mecanismos de formación de biofilms por *Staphylococcus epidermidis* en catéteres venosos centrales.

### 5.1. PRIMERA FASE DE FORMACIÓN: ADHESIÓN

En la fase de adhesión, *S. epidermidis* se une a la superficie plástica del catéter recubierta por proteínas séricas humanas. Esta adhesión está mediada por la familia de proteínas ancladas a la pared celular (CWA), caracterizadas por la presencia del dominio LPXTG, que es reconocido por la enzima sortasa, la cual se encarga del proceso de anclaje de la proteína al peptidoglicano de la bacteria. Las proteínas CWA se dividen en dos familias: la familia de componentes de la superficie microbiana que reconocen moléculas de matriz adhesiva (MSCRAMM; Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) y la familia de proteínas con repeticiones G<sub>5</sub>-E. Las proteínas MSCRAMM constituyen un factor importante en la interacción bacteria-superficie durante la fase de adhesión. La estructura de los MSCRAMM se compone por dos regiones, la A y la B, localizadas en el N-terminal.



Estas regiones están continuadas por repeticiones del dipéptido de serina-aspartato (SdrG, SdrF y SdrH; Figura 4) (Mirzaei et al., 2020; Ortega-Peña et al., 2020).

SdrG (Fbe) es una proteína que ejerce su función en la adhesión inicial de la formación del biofilm y se relaciona con las infecciones, no con la vida comensal de la bacteria, de modo que podría ser un marcador distintivo de las cepas patógenas. Contiene el motivo LPXTG unido covalentemente a la superficie bacteriana y es imprescindible para adherirse a las superficies cubiertas por fibrinógeno (Fg), de modo que SdrG también se denomina proteína de unión al fibrinógeno. SdrG está formada por cinco regiones, pero la región A es la que contiene la actividad de unión al Fg. Por otro lado, la región B favorece la adhesión y agregación de las plaquetas que puede inducir *S. epidermidis*. Además, las cepas portadoras de SdrG pueden adherirse a las células osteoblásticas mediante la proteína integrina osteoblástica  $\alpha V\beta 3$ , produciendo infecciones relacionadas con los huesos (Büttner et al., 2015; Mirzaei et al., 2020; Ortega-Peña et al., 2020).

SdrF consta de una estructura similar a SdrG y participa también en la adhesión inicial, encargándose de la unión al colágeno del huésped. A diferencia de SdrG, la región B de SdrF es la responsable de la unión al colágeno. La adhesión de SdrF a superficies abióticas aumenta en plásticos que se encuentran con carga positiva siendo el pH 7,4 el óptimo. Según un estudio de Büttner et al., en 2015 sobre un modelo *in vivo*, se comprobó que el tratamiento con anti-SdrF inhibió la unión de *S. epidermidis* a la superficie en un 50%, sugiriendo la existencia de otros factores involucrados en la unión al colágeno (Büttner et al., 2015; Ortega-Peña et al., 2020).

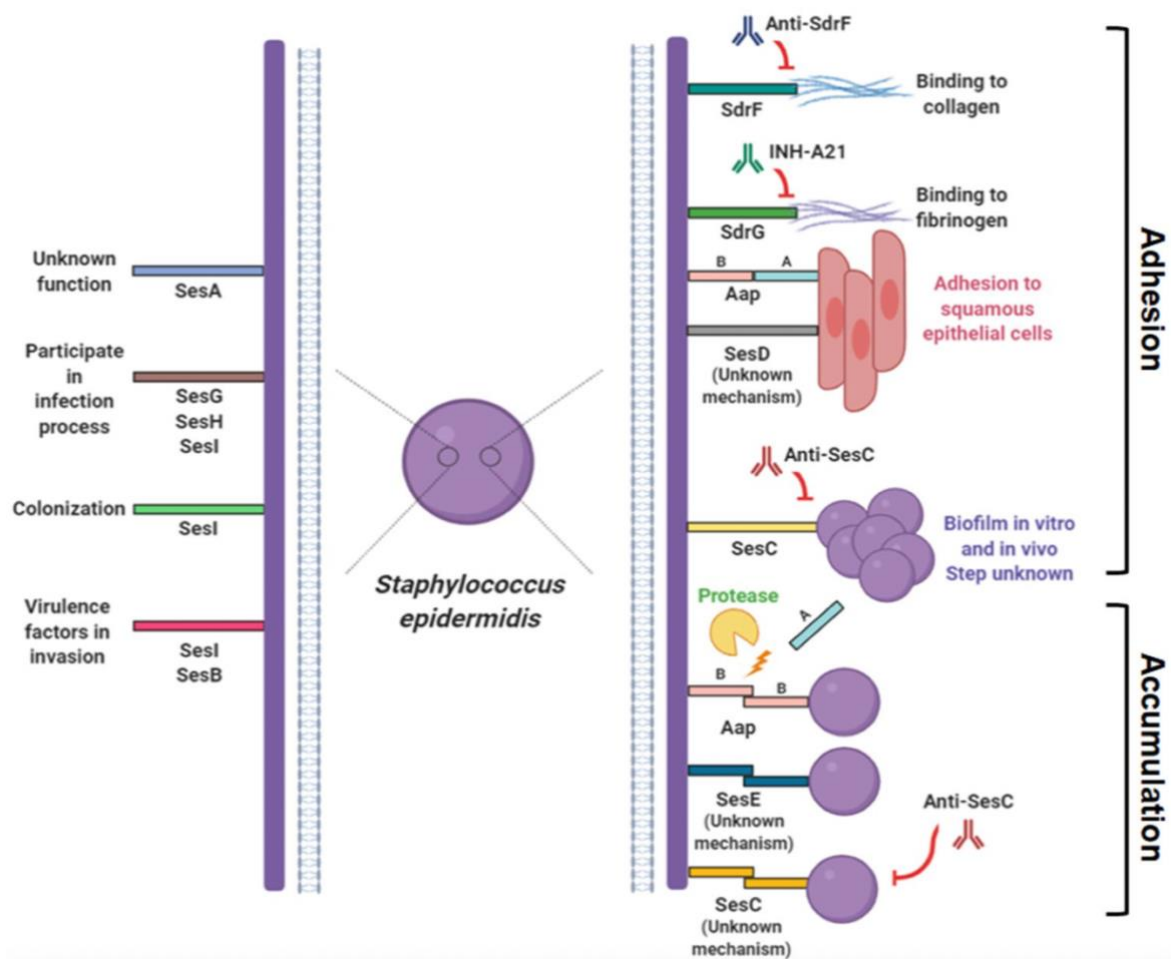
Por su parte la proteína SdrH sigue siendo desconocida. Sabemos que posee una secuencia primaria, diferente a SdrG y SdrF, que contiene una región C hidrofóbica, pero sin el motivo LPXTG (Ortega-Peña et al., 2020).

Dentro del grupo de proteínas CWA, la familia de repeticiones G<sub>5</sub>-E, se caracteriza, como el nombre indica, por poseer un dominio repetido G<sub>5</sub>-E. A esta familia pertenece la proteína asociada a la acumulación (Aap (SesF)). Aap es una proteína extracelular implicada en la unión primaria como en la agregación celular. La podemos encontrar en la superficie celular en forma de mechones o libre dentro de la matriz del biofilm. Estructuralmente presenta un dominio A, que tiene una

función relevante en la adhesión inicial y un dominio B que participa en la fase de agregación celular (Mirzaei et al., 2020; Ortega-Peña et al., 2020).

SesC es otra proteína que se clasifica en el grupo de proteínas sin repeticiones, con un papel importante en la formación de biofilms. En un experimento similar al descrito anteriormente, el anticuerpo anti-SesC inhibió la formación del biofilm, aunque aún se desconoce la etapa exacta en la que participa durante la formación (Khodaparast et al., 2016; Ortega-Peña et al., 2020).

Existen otras proteínas, menos estudiadas, pertenecientes al CWA como la Bhp (SesD), un homólogo de la proteína Bap en *S. aureus* y, aunque su función específica aún no se conoce, podemos prever que poseen funciones parecidas. Bap incrementa la adhesión de la bacteria a las células epiteliales y ayuda a su internalización celular, a través de la unión con el receptor GP96 del huésped.



**Figura 4.-** Ilustración de las proteínas de superficie (Ses) y sus funciones en la virulencia de *Staphylococcus epidermidis*. A la izquierda se observa la implicación en el proceso de infección, mientras que a la derecha podemos ver la participación en la fase de adhesión celular y acumulación durante la formación del biofilm. Además, aparecen los anticuerpos que bloquean estos procesos (Ortega-Peña et al., 2020).

*S. epidermidis* presenta otras proteínas de superficie que intervienen en la fase de adhesión, pero no contienen el motivo LPXTG de manera que no se unen al peptidoglicano, como son las lipoproteínas, AtIE, Embp, la lipasa GehD, etc. (Büttner et al., 2015; Foster, 2020; Ortega-Peña et al., 2020). AtIE es una adhesina/autolisina bifuncional que pertenece a un grupo de hidrolasas del peptidoglicano. Se cree, basado en evidencias genéticas, que esta autolisina fomenta la unión bacteriana al poliestireno no modificado, aunque todavía no se conocen con certeza los detalles. Otras funciones conocidas son la unión a la vitronectina y la liberación a través de lisis celular del ADN<sub>e</sub> que se encuentra en la matriz (Büttner et al., 2015; Ortega-Peña et al., 2020; Van kerckhoven et al., 2016). El ADN<sub>e</sub> funciona como una adhesina intercelular que ayuda a la estabilización del biofilm, siendo crítica durante la fase acumulativa temprana. Su función queda patente en los experimentos donde se agregó ADN<sub>asa</sub> I, dentro de las primeras 6 horas de acumulación del biofilm, presentando actividad desintegradora. Realmente el ADN<sub>e</sub> no tiene un impacto en la adhesión primaria del biofilm pero si posee un papel fundamental durante la transición hacia la acumulación (Büttner et al., 2015; Ortega-Peña et al., 2020).

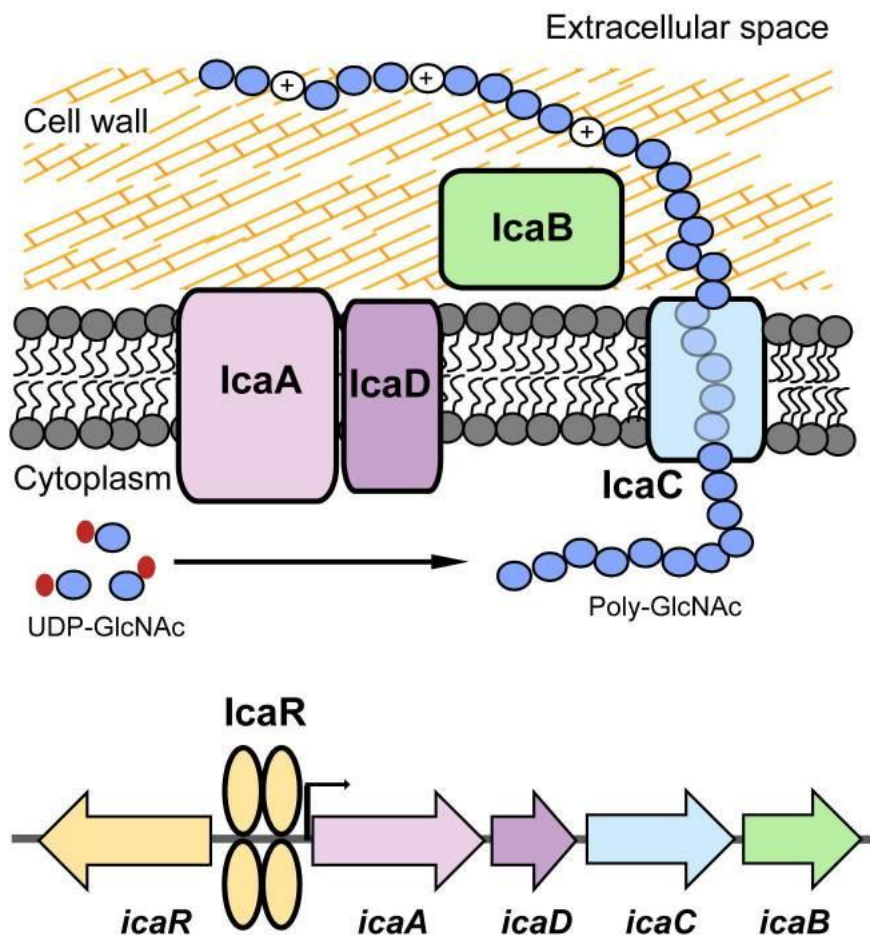
Embp se encarga de la unión a la fibronectina y los anticuerpos anti-Embp inhiben la formación de biofilms (Büttner et al., 2015). Por último, la lipasa GehD participa en la adhesión a los colágenos tipo I, II y IV (Mirzaei et al., 2020).

## 5.2. SEGUNDA FASE DE FORMACIÓN: MADURACIÓN

Esta etapa se caracteriza por la producción de matriz extracelular y la adhesión intercelular, lo que conduce a la agregación y a la estructuración del biofilm en multicapas. Además se forman canales, llenos de líquido, que separan los diferentes agregados bacterianos y que transfieren los nutrientes, el oxígeno y controlan el pH dentro del biofilm (Büttner et al., 2015; Muñoz, 2017).

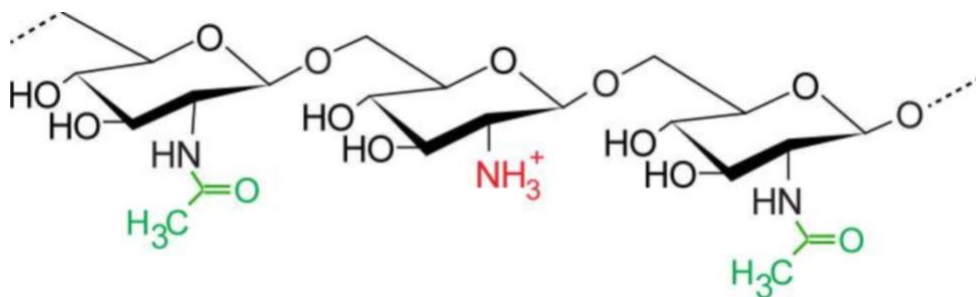
La producción de matriz extracelular está liderada por un conjunto de proteínas de membrana. IcaA pertenece a la familia de las glicosiltransferasas y necesita a IcaD para ser activa. IcaD se cree que es una chaperona que controla el plegamiento y la inserción en la membrana de IcaA y actúa como enlace entre IcaA e IcaC. Esta última, podría estar involucrada en la externalización y elongación del polisacárido en crecimiento y que formará parte de la matriz. Finalmente, IcaB forma

parte de la familia de las desacetilasas de polisacáridos y se encarga de la des-N-acetilación del polisacárido de adhesión intracelular (PIA), algo imprescindible para su función en la formación del biofilm y para la virulencia de *S. epidermidis* (Figura 5) (Büttner et al., 2015; Van kerckhoven et al., 2016).



**Figura 5.-** Representación gráfica de la codificación genética y la biosíntesis de PIA. Se observa como el operón *icaADBC* está controlado por el producto del gen *icaR*, codificado aguas arriba. A su vez, *icaR* está controlado por condiciones ambientales y por múltiples reguladores. Por otro lado, IcaA e IcaD son dos proteínas de membrana que se encargan de sintetizar una cadena poli-GlcNAc en crecimiento a partir de unas unidades precursoras de GlcNAc activadas. Probablemente esta cadena es exportada por otra proteína de membrana, IcaC. Por último, IcaB es una enzima que se une a la superficie de la bacteria y se encarga de introducir cargas positivas en PIA, de modo que si esto no ocurriera sería neutra y el carácter catiónico es vital para la funcionalidad y adherencia de PIA (Nguyen et al., 2020).

El componente más importante de la matriz extracelular de *S. epidermidis* es el PIA (Figura 6), que se sintetiza por los productos génicos del operón *ica* y funciona como el “pegamento” del biofilm. La producción de una molécula de PIA requiere de la expresión de los cuatro genes *icaADBC* y se puede ver aumentada por factores que incluyen el incremento de temperatura, la osmolaridad, la glucosa, la anaerobiosis y el etanol. PIA está formado por un polisacárido principal I (80%) y por un polisacárido secundario II (20%), donde el polisacárido I presenta carga positiva y el polisacárido II tiene carga negativa, favoreciendo así la interacción iónica entre moléculas (Büttner et al., 2015; Nguyen et al., 2020; Van kerckhoven et al., 2016).



**Figura 6.-** Estructura de PIA. Un homopolímero de residuos de N-acetilglucosamina (GlcNAc) con enlace  $\beta$ -1-6. Aproximadamente entre el 15% y el 20% de los residuos de GlcNAc están desacetilados. En verde, se puede observar los grupos acetilo y en rojo aparece el grupo amino libre que se forma tras la desacetilación catalizada por IcaB y cuenta con carga positiva a un pH neutro o básico (Nguyen et al., 2020).

Cabe destacar que conocemos cepas que utilizan otros mecanismos de formación de biofilms independientes de la síntesis de PIA. Sin embargo, estos biofilms son más débiles y menos estables que aquellos conteniendo PIA (Nguyen et al., 2020). Aunque PIA es el componente fundamental de la matriz, existen otras moléculas que intervienen en la fase de maduración como el ADN extracelular (ADNe) o las proteínas Aap. En esta fase, el dominio B de Aap es el principal actor, donde Aap es sometida a proteólisis, para eliminar el dominio A, dejando expuesto el dominio B, el cual forma un dímero con otro dominio B en presencia de  $Zn^{2+}$ , activándolo y favoreciendo la agregación celular (Ortega-Peña et al., 2020). Este fenómeno explica por qué a partir de la década del 2000 se han identificado

estafilococos PIA negativos que también forman biofilms (Büttner et al., 2015; Van kerckhoven et al., 2016).

### 5.3. TERCERA FASE DE FORMACIÓN: DISPERSIÓN

La tercera fase de formación del biofilm consiste en el desprendimiento de las células bacterianas que lo componen. Para ello, existen diversos factores enfocados a destruir las sustancias poliméricas extracelulares que forman la matriz extracelular. Estos factores pueden estar relacionados con fuerzas mecánicas del flujo sanguíneo, interrupción de la síntesis de los exopolisacáridos, factores enzimáticos o surfactantes. Como consecuencia, al destruir la matriz extracelular se favorece la dispersión de las bacterias que forman el biofilm, así como la dispersión del patógeno en el organismo, pudiendo colonizar otras superficies. La dispersión supone el estímulo de otros factores de virulencia en *S. epidermidis*, como la resistencia a los antibióticos (Muñoz, 2017).

## 6. PROPUESTA DE INTERFERIR EN LA FORMACIÓN DE BIOFILMS EN CATÉTERES

A lo largo del presente trabajo hemos discutido la importancia de los biofilms en el contexto sanitario y su importancia en desarrollar la resistencia bacteriana. También hemos presentado los mecanismos moleculares más relevantes en la formación de biofilms por *S. epidermidis*, la bacteria que causa mayores problemas en infecciones nosocomiales derivadas del uso de catéteres de larga duración. Actualmente, se utilizan medidas preventivas para prevenir la formación de los biofilms en este contexto pero, ninguna de ellas, elimina el biofilm una vez ha sido formado. Existen estudios que persiguen encontrar una estrategia eficaz en la erradicación de los biofilms, pero la tasa de éxito es bastante limitada, quizás debido al desconocimiento de cómo *S. epidermidis* se adapta en cada fase temporal de formación del biofilm.

De acuerdo con ello y, con el objetivo de contribuir al conocimiento de las características moleculares de *S. epidermidis* durante el proceso de formación de biofilms, se propone una hipótesis de trabajo que podría cumplir dicho propósito y, como consecuencia, podría ayudar al descubrimiento de nuevas dianas terapéuticas.

Antes de desarrollar esta hipótesis, es necesario conocer las medidas preventivas, actualmente en uso, frente a la formación de estos biofilms. En este

sentido, el proyecto Bacteriemia Zero actualizado en 2021 y liderado por las Sociedades Españolas de Medicina Intensiva Crítica y Unidades Coronarias (SEMICYUC) y de Enfermería Intensiva y Unidades Coronarias (SEEIUC), recomienda utilizar las medidas que se recogen en la Tabla 1. Estas medidas se clasifican en 3 grupos: obligatorias, es decir, aquellas que deben realizarse bajo cualquier situación; opcionales, actuaciones que solo deben considerarse en situaciones especiales (p.ej., pacientes inmunodeprimidos); y, por último, aquellas que no deben realizarse bajo ningún concepto (Bacteriemia Zero, 2021).

<p><b>MEDIDAS OBLIGATORIAS</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Higiene adecuada de manos</li> <li>• Uso de solución alcohólica de clorhexidina en la preparación de la piel</li> <li>• Uso de medidas de barrera total durante la inserción de los CVC</li> <li>• Preferencia de la vena subclavia como lugar de inserción</li> <li>• Retirada de todos los catéteres venosos centrales innecesarios</li> <li>• Manejo higiénico de los catéteres</li> </ul>
<p><b>MEDIDAS OPCIONALES</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Uso de catéteres impregnados con antimicrobianos</li> <li>• Uso de apósitos impregnados con clorhexidina</li> <li>• Uso de tampones con solución antiséptica en los conectores</li> <li>• Higiene corporal diaria con clorhexidina</li> <li>• Uso de la ecografía durante la inserción del catéter</li> </ul>
<p><b>MEDIDAS A NO REALIZAR</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No utilizar profilaxis antibiótica para la inserción de los CVC</li> <li>• No realizar cambios periódicos rutinarios de los CVC por punción</li> <li>• No realizar cambios periódicos rutinarios de los CVC mediante guía</li> <li>• No utilizar antibióticos y antisépticos tópicos en pomada para proteger el punto de inserción</li> <li>• No utilizar el mismo equipo de infusión con cada nueva bolsa de hemoderivados</li> <li>• No dejar sin tapón cualquier puerto que no se este usando</li> </ul>

**Tabla 1.-** Resumen de las medidas antibiofilms que se utilizan actualmente.

Una de las medidas opcionales recomendadas, se corresponde con la utilización de catéteres impregnados con antimicrobianos y, como evolución a esta práctica, hoy en día se sigue investigando en el uso de CVC impregnados con fármacos libres o nanopartículas inorgánicas inhibitoras de los biofilms. Diversos estudios, realizados en

pacientes oncológicos, muestran que el uso del CVC, cubierto con clorhexidina – sulfadiazina de plata (CVC-CSS), es una estrategia interesante para reducir la colonización bacteriana en el CVC y, por tanto, las CRBSI (Corrêa Carvalho et al., 2022; Wang et al., 2018). Por otra parte, Purayil Sajna et al., (2019) encontraron–que, la administración simultánea de suplementos multivitamínicos y antibióticos (en este caso ciprofloxacina), es contraproducente, posiblemente debido a que las actividades antioxidantes de los multivitamínicos reducen la eficacia del antibiótico (Purayil Sajna et al., 2019).

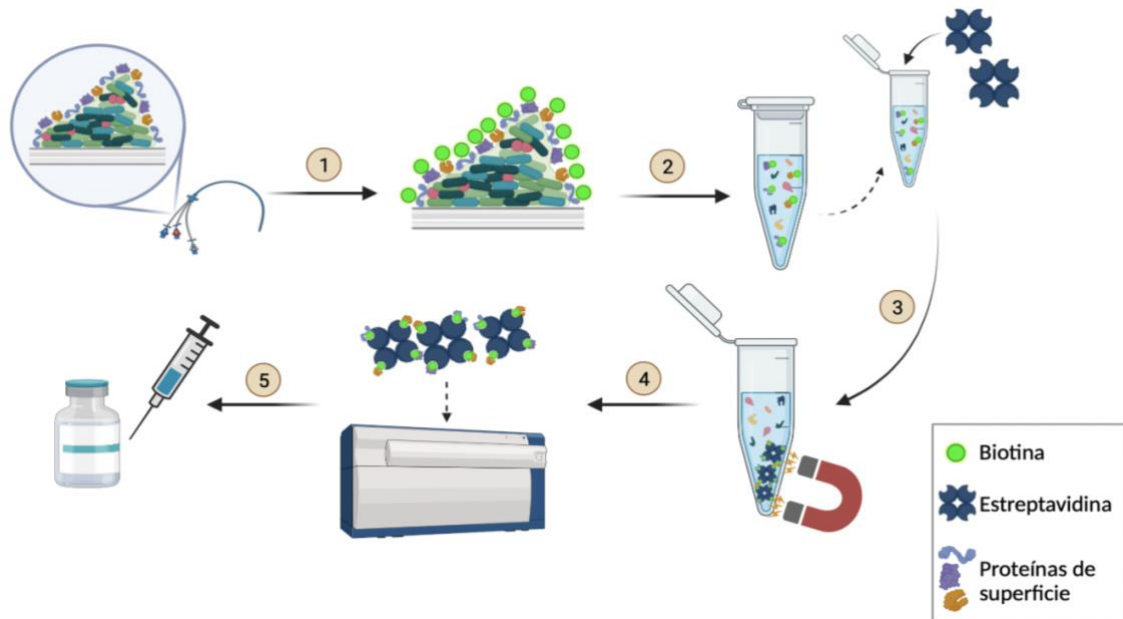
En el presente trabajo, se plantea una hipótesis de trabajo según la cual, el propio sistema inmune del huésped actuaría como mecanismo de defensa frente al establecimiento de un potencial biofilm sobre la superficie de un catéter. Para desarrollar dicha hipótesis se propone, como línea de investigación, el estudio de las proteínas superficiales de un microorganismo modelo (*Staphylococcus epidermidis*) y su importancia en la formación de un biofilm.

De acuerdo con esta idea, se plantean varios objetivos; en primer lugar, llevar a cabo la identificación de las proteínas de superficie de *Staphylococcus epidermidis* en la fase de adhesión del biofilm y, en segundo lugar, seleccionar aquellas candidatas que resulten más atractivas para estimular la respuesta inmune, es decir, se trata de que éstas actúen como “vacunas”, estimulando la producción de anticuerpos y, por tanto, impidiendo la formación del biofilm en la parte externa del catéter.

La identificación de las proteínas superficiales de *S. epidermidis* se llevará a cabo mediante un marcaje con biotina activada, una molécula que muestra gran afinidad por la estreptavidina (Figura 7). Para ello, se procederá a incubar la cepa de *S. epidermidis* en presencia de catéteres y, cuando se inicie la fase de adhesión, se añadirá biotina activada al medio de cultivo. En estas condiciones, la biotina se unirá a todas las proteínas expuestas, tanto a las superficiales como a las extracelulares. A continuación, una vez recuperados los catéteres del medio de cultivo, se lavan las células adheridas a su superficie y se someten a un tratamiento de desintegración o lisis celular para obtener el extracto de proteínas total. El extracto proteico, en el que se encuentran las proteínas marcadas con biotina, será sometido a un proceso de enriquecimiento mediante precipitación por afinidad empleando partículas magnéticas revestidas con estreptavidina. Las proteínas enriquecidas y marcadas con biotina se identificarán



mediante técnicas de proteómica empleando espectrometría de masas. De este conjunto de proteínas superficiales se seleccionarán potenciales candidatas para valorar su implicación en la etapa de adhesión, proponiéndose la(s) más adecuada(s) para la elaboración de una vacuna que, potencialmente, pudiera inmunizar a los pacientes contra la formación de biofilms.



**Figura 7.-** Esquema del método a seguir para identificar las proteínas de superficie del biofilm de *S. epidermidis* mediante el marcaje con biotina activada, con el objetivo de elaborar una vacuna eficaz que impida la formación del biofilm.

## 7. CONCLUSIONES

- 1) Las infecciones causadas por bacterias, en concreto las asociadas a la formación de biofilms, se han convertido, a nivel mundial, en un problema de salud importante difícil de controlar, debido a la elevada evolución de la resistencia a los antibióticos.
- 2) Los biofilms bacterianos favorecen la resistencia bacteriana a los tratamientos, tanto desde un punto de vista físico-químico como biológico por lo que, entre otros efectos, actúan favoreciendo las mutaciones y los diferentes mecanismos de transferencia génica.

- 3) La gran mayoría de las infecciones nosocomiales se encuentran asociadas a la formación de biofilms bacterianos sobre la superficie del instrumental sanitario (catéteres), prótesis (válvulas cardíacas) u otros instrumentos (marcapasos).
- 4) *S. epidermidis* es la bacteria que más frecuentemente provoca infecciones nosocomiales asociadas a catéteres debido a su abundancia sobre la piel humana y su capacidad para formar biofilms. Además, cuenta con una amplia variedad de proteínas y mecanismos moleculares que se desarrollan durante el proceso de formación.
- 5) A la luz del análisis retrospectivo aquí presentado, se presenta un estudio preliminar alternativo, no descrito en la bibliografía consultada. Concretamente, se propone el uso potencial de proteínas superficiales de *S. epidermidis* como activadoras de la respuesta inmune de modo que, los anticuerpos producidos actuarían bloqueando dichas proteínas y, por tanto, la evolución del biofilm.

## 8. CONCLUSIONS

- 1) Infections caused by bacteria, in particular those associated with the formation of biofilms, have become, worldwide, a major health problem that is difficult to control, due to the high evolution of antibiotic resistance.
- 2) Bacterial biofilms favour bacterial resistance to treatments, both from a physico-chemical and biological point of view, and therefore, among other effects, they act by favouring mutations and the different mechanisms of gene transfer.
- 3) Most nosocomial infections are associated with the formation of bacterial biofilms on the surface of medical instruments (catheters), prostheses (heart valves) or other instruments (pacemakers).
- 4) *S. epidermidis* is the most common bacterium causing catheter-associated nosocomial infections due to its abundance on human skin and its ability to form biofilms. In addition, it has a wide variety of proteins and molecular mechanisms that develop during the formation process.
- 5) In the retrospective analysis presented here, an alternative preliminary study, not described in the literature, is presented. Specifically, the potential use of *S. epidermidis* surface proteins as activators of the immune response is proposed,

so that the antibodies produced would act by blocking these proteins and, therefore, the evolution of the biofilm.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

*Antibiotic Resistance*. (2020, 31 July). World Health Organization. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos#:~:text=La%20resistencia%20a%20los%20antibi%C3%B3ticos%20se%20produce%20cuando%20las%20bacterias,vuelven%20resistentes%20a%20los%20antibi%C3%B3ticos>.

Beloin, C., Fernández-Hidalgo, N., & Lebeaux, D. (2017). Understanding biofilm formation in intravascular device-related infections. *Intensive care medicine*, 43(3), 443-446.

Böll, B., Schalk, E., Buchheidt, D., Hasenkamp, J., Kiehl, M., Kiderlen, T. R., ... & Hentrich, M. (2021). Central venous catheter-related infections in hematology and oncology: 2020 updated guidelines on diagnosis, management, and prevention by the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO). *Annals of Hematology*, 100(1), 239-259.

Büttner, H., Mack, D., & Rohde, H. (2015). Structural basis of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation: mechanisms and molecular interactions. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 5, 14. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00014>

Carvalho, G. C., Sábio, R. M., Spósito, L., Pinto, T. D. J. A., & Chorilli, M. (2022). An overview of the use of central venous catheters impregnated with drugs or with inorganic nanoparticles as a strategy in preventing infections. *International Journal of Pharmaceutics*, 121518.

Ciofu, O., Moser, C., Jensen, P. Ø., & Høiby, N. (2022). Tolerance and resistance of microbial biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 1-15.

Ciofu, O., Rojo-Molinero, E., Macià, M. D., & Oliver, A. (2017). Antibiotic treatment of biofilm infections. *Apmis*, 125(4), 304-319.

Dadi, N. C. T., Radochová, B., Vargová, J., & Bujdáková, H. (2021). Impact of Healthcare-Associated Infections Connected to Medical Devices—An Update. *Microorganisms*, 9(11), 2332.

*Diccionario de cáncer del NCI*. (2015). Instituto Nacional del Cáncer. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/cateter-central-de-acceso-venoso>

- Farrag, H. A., Hosny, A. E. D. M., Hawas, A. M., Hagra, S. A., & Helmy, O. M. (2019). Potential efficacy of garlic lock therapy in combating biofilm and catheter-associated infections; experimental studies on an animal model with focus on toxicological aspects. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(6), 830-840.
- Foster, T. J. (2020). Surface proteins of *Staphylococcus epidermidis*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1829.
- Gominet, M., Compain, F., Beloin, C., & Lebeaux, D. (2017). Central venous catheters and biofilms: where do we stand in 2017? *Apmis*, 125(4), 365-375.
- Hotterbeekx, A., Lanckacker, E., Moons, P., Lammens, C., Kerstens, M., Ieven, M., ... & Cos, P. (2016). Characterizing the in vitro biofilm phenotype of *Staphylococcus epidermidis* isolates from central venous catheters. *Journal of microbiological methods*, 127, 95-101.
- Højby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M., Molin, S., & Ciofu, O. (2010). Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International journal of antimicrobial agents*, 35(4), 322-332.
- Jamshidi, R. (2019, February). Central venous catheters: Indications, techniques, and complications. In *Seminars in pediatric surgery* (Vol. 28, No. 1, pp. 26-32). WB Saunders.
- Khodaparast, L., Khodaparast, L., Shahrooei, M., Stijlemans, B., Merckx, R., Baatsen, P., ... & Van Eldere, J. (2016). The possible role of *Staphylococcus epidermidis* LPxTG surface protein SesC in biofilm formation. *PLoS One*, 11(1), e0146704.
- Las Bacteriemias Relacionadas, c. O. N., & brc, c. V. C. (2021). Protocolo prevención de las bacteriemias relacionadas con catéteres venosos centrales (brc) en las UCIs españolas.
- Malek, A. E., & Raad, I. I. (2020). Preventing catheter-related infections in cancer patients: a review of current strategies. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 18(6), 531-538.
- Mirzaei, B., Babaei, R., & Valinejad, S. (2021). Staphylococcal Vaccine Antigens related to biofilm formation. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 17(1), 293-303.
- Muñoz, L. C., Pinilla, G., & Navarrete, J. (2019). Biopelícula en *Staphylococcus* spp.: estructura, genética y control. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 37(1), 18-29.
- Nguyen, H. T., Nguyen, T. H., & Otto, M. (2020). The staphylococcal exopolysaccharide PIA—Biosynthesis and role in biofilm formation, colonization, and infection. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 3324-3334.
- Nuryastuti, T. (2018). *Staphylococcus epidermidis*: how to turn from commensal to be a pathogen lifestyle. *Journal of the Medical Sciences*, 50(1), 113-27.

Ortega-Peña, S., Martínez-García, S., Rodríguez-Martínez, S., Cancino-Díaz, M. E., & Cancino-Díaz, J. C. (2020). Overview of *Staphylococcus epidermidis* cell wall-anchored proteins: potential targets to inhibit biofilm formation. *Molecular biology reports*, *47*(1), 771-784.

Raad, I., & Chaftari, A. M. (2014). Advances in prevention and management of central line-associated bloodstream infections in patients with cancer. *Clinical infectious diseases*, *59*(suppl\_5), S340-S343.

Roy, R., Tiwari, M., Donelli, G., & Tiwari, V. (2018). Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*, *9*(1), 522-554.

Sajna, K. P., Paulraj, P., Sajeesh, P., Jayakumar, N., & Nageswary, P. (2019). Role of multivitamins on the development of antibiotic resistance associated with biofilm formation on central venous catheters-An in vitro Study. *Materials Today: Proceedings*, *16*, 1581-1589.

Takahashi, C., Sato, M., & Sato, C. (2021). Biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* imaged using atmospheric scanning electron microscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *413*(30), 7549-7558.

Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L. (2020). Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. *Antibiotics*, *9*(2), 59.

Wang, H., Tong, H., Liu, H., Wang, Y., Wang, R., Gao, H., ... & Wang, C. (2018). Effectiveness of antimicrobial-coated central venous catheters for preventing catheter-related blood-stream infections with the implementation of bundles: a systematic review and network meta-analysis. *Annals of intensive care*, *8*(1), 1-12.

Wolcott, R. (2021). Biofilm and catheter-related bloodstream infections. *British Journal of Nursing*, *30*(8), S4-S9.

Yan, J., & Bassler, B. L. (2019). Surviving as a community: antibiotic tolerance and persistence in bacterial biofilms. *Cell host & microbe*, *26*(1), 15-21.