

Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG  
Aryana da Silva Silvado

Biofilme misto em cateter venoso central com ênfase  
em *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*

Belo Horizonte – MG  
2020

Aryana da Silva Silvado

Biofilme misto em cateter venoso central com ênfase em  
*Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*

Trabalho de Conclusão apresentado ao Programa de Pós Graduação em Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito à obtenção do título de Especialista em Diagnóstico e Controle Microbiológico.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Simone Gonçalves dos Santos

Belo Horizonte – MG  
2020

UFMG



**Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia**

Às 13:00 horas do dia 10 de dezembro de 2019 reuniu-se, no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG a Banca Debatedora constituída pela Dra. Cristina Dutra Vieira (Departamento de Microbiologia/ICB/UFMG), Msc. Natália Rocha Guimarães (Departamento de Microbiologia/ICB/UFMG), e a Profa. Simone Gonçalves dos Santos (Departamento de Microbiologia/ICB/UFMG) - Orientadora, para avaliar a Monografia intitulada "Biofilme misto em cateter venoso central com ênfase em *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*", da aluna **Aryana da Silva Silvano**. Após a apresentação oral pública seguida de uma arguição, a aluna foi APROVADA, considerando as sugestões feitas pela Banca Debatedora. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que será assinada pelos membros da Banca. Belo Horizonte, 10 de dezembro de 2019.

Msc. Natália Rocha Guimarães Natália Rocha Guimarães

Dra. Cristina Dutra Vieira Cristina Dutra Vieira

Profa. Simone Gonçalves dos Santos - Orientadora Simone Gonçalves dos Santos

Flaviano dos Santos Martins  
Prof. Flaviano dos Santos Martins

Subcoordenador do Curso de Especialização em Microbiologia  
ICB/UFMG

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus por seu infinito amor, por conceder-me sabedoria, saúde e força para superar as dificuldades.

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração por todo conhecimento ofertado e expansão dos horizontes.

A Prof.<sup>a</sup> Dra Simone, pela orientação, paciência, compreensão, apoio e confiança.

Agradeço a minha mãe Maria Aparecida, minha heroína que me deu total apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço. Por todo seu amor e dedicação.

A minha sábia irmã Alyne, minha maior incentivadora e conselheira.

Meus sinceros agradecimentos *também* aos amigos, companheiros de trabalho e a todos que contribuíram, de forma direta ou indireta, para o desenvolvimento deste trabalho e torceram pela minha conquista.

## RESUMO

Biofilmes são complexas comunidades de microrganismos e seus produtos extracelulares em adesão à superfícies bióticas ou abióticas. As populações microbianas encontram-se organizadas neste espaço, de modo a manter a comunicação interespecíes e apresentam propriedades diferentes de seu estado planctônico. O objetivo do trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica sobre biofilme misto em cateter venoso central com ênfase nas espécies *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Este estudo foi realizado sob a forma de revisão de literatura, utilizando artigos científicos das bases de dados *Scielo*, *Pubmed*, *Science Direct* e livros de Microbiologia. A formação de biofilme traz diversas vantagens aos microrganismos no contexto evolutivo e consiste no estado preferencial da maioria das espécies. Trata-se de um processo complexo de múltiplos passos envolvendo diferentes espécies e é tipicamente classificado em três etapas: fixação inicial (reversível e irreversível), maturação de micro-colônias e dispersão. Biofilmes secretam uma mistura de polissacarídeos, proteínas, ácidos graxos e água denominada matriz extracelular que apresenta extrema importância estrutural e de manutenção, sendo responsável pela captação de nutrientes e minerais do meio e sua distribuição. Biofilmes formados em dispositivos médicos e em ambientes naturais são frequentemente polimicrobianos. A presença de co-isolamento de bactérias e fungos complica a capacidade de administrar rotineiramente regimes antimicrobianos únicos e a sinergia entre os microrganismos influencia a gravidade da infecção. *S. aureus* é um dos principais agentes causadores de infecções por formação de biofilmes em cateteres venosos centrais devido à expressão de genes de adesão, favorecendo a sobrevivência ambiental da espécie. A capacidade de formar biofilmes é um dos principais fatores de virulência de *C. albicans*. É o fungo predominantemente encontrado colonizando biofilmes em cateteres, atuando como reservatório de células que se disseminam provocando doenças sistêmicas. O biofilme misto de *C. albicans* e *S. aureus* se desenvolve com facilidade aumentando a patogenicidade dos mesmos. Os cateteres venosos centrais são indispensáveis na rotina médica pois contribuem na manutenção e monitorização de pacientes graves que necessitam de administração de medicamentos, nutrição e líquidos, solução de contraste, reposição de sangue e hemocomponentes e para realização de diálise, sendo a demanda quase total entre os pacientes críticos. A contaminação destes

dispositivos pode provocar infecções crônicas e altas taxas de morbidade e mortalidade. Os biofilmes são intrinsecamente resistentes à terapêutica convencional, ao sistema imunológico do hospedeiro e a outros fatores ambientais, tornando as infecções associadas ao biofilme um desafio clínico significativo. As interações entre *C. albicans* e *S. aureus* aumentam a atividade metabólica, o desenvolvimento e a complexidade dos biofilmes mistos quando comparado aos resultados observados nos biofilmes individuais, resultando no aumento de sua virulência. Os principais desafios no tratamento clínico de biofilmes são seu difícil diagnóstico, a falta de biomarcadores adequados e a dificuldade em erradicá-los. Uma importante ferramenta para alcançar tais objetivos é o entendimento das interações complexas entre as espécies microbianas e a compreensão dos mecanismos moleculares na formação de biofilmes mistos.

Palavras-chave: Biofilmes polimicrobianos, cateter venoso central, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, infecções relacionadas à assistência à saúde, prevenção e controle.

## ABSTRACT

Biofilms are complex communities of microorganism and use their extracellular products to adhere to biotic or abiotic surfaces. Microbial communities are organized in this structure and maintain an interspecies communication. Inside biofilms microbial cells present different properties from their planktonic state. The aim of this study was to perform a bibliographic review about mixed biofilm in central venous catheter with emphasis on *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. This study was conducted as a literature review, using scientific articles from the Scielo, Pubmed, Science Direct and Microbiology books. The biofilm formation leads to several advantages to microorganisms in the evolutionary context and is the preferential state for most species. It is a complex multistep process involving different bacterial species and steps and is typically classified into three stages: initial attachment (reversible and irreversible), micro-colony maturation and dispersion. Biofilms secrete a matrix of polysaccharides, proteins and fatty acids and water called extracellular polymeric substance that has extreme structural and maintenance importance, being responsible for the capture of nutrients and minerals and their distribution. Biofilms formed over or inside medical devices and on natural environments are often polymicrobial. The presence of co-participation of bacteria and fungi complicates the ability to routinely treat with single antimicrobial regimens. The synergy between microorganisms influences the severity of the infection. *S. aureus* is one of the main causative agents of biofilm infections in central venous catheters due to the expression of adhesion genes, favoring the survival of the species on environmental surfaces. The ability to form biofilms is one of the main virulence factors of *C. albicans*. The yeast could be found predominantly colonizing biofilms in catheters, acting as a reservoir of cells that spread and cause systemic diseases. The mixed biofilm of *C. albicans* and *S. aureus* develops easily, increasing their pathogenicity. Central venous catheters are essential in the medical routine because they contribute to maintain and monitor critically ill patients needing: antimicrobial administration, parenteral nutrition, use of contrast solution, blood and blood components replacement and for dialysis. Contamination of catheters can lead to chronic infections and high mortality and morbidity rates. Biofilms are intrinsically resistant to conventional therapy, to the host immune system, and to other environmental factors, making biofilm-associated infections a clinical challenge. The

interactions between *C. albicans* and *S. aureus* increase the metabolic activity, development and complexity of mixed biofilms compared to the results observed in monomicrobial biofilms resulting in increased virulence. The main challenges in the clinical treatment of biofilms are their difficult diagnosis, the lack of adequate biomarkers and the difficulty in eradicating them. An important tool to achieve these goals is to understand the complex interactions between microbial species and the molecular mechanisms in the formation of mixed biofilms.

Keywords: Polymicrobial biofilms, central venous catheter, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, health care related infections, prevention and control.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 - Lúmens do cateter venoso central.....                            | 29 |
| Figura 2 - Fisiopatogenia da infecção da corrente sanguínea.....            | 31 |
| Figura 3 - Produção de fatores de virulência em <i>Staphylococcus</i> ..... | 48 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2ABI- 2- aminobenzimidazole

5MPCA - 5-metil-fenazínio-1-carboxilato

*agr* – *accessory gene regulator*

AHL- lactonas acil-homoserina

AIP - peptídeo autoindutor

AI-2 - *luxS-encoded autoinducer 2*

ANVISA - Agência Nacional De Vigilância Sanitária

CCIH - Comissão de Controle de Infecção Hospitalar

CDC - *Centers For Disease Control And Prevention*

CNA - proteína ligadora de colágeno

CVC – Cateter Venoso Central

eDNA - DNA extracelular

FnBPs - proteínas ligadoras de fibronectina

HlgACB - gama-hemolisina

ICS – infecção da corrente sanguínea

IRAS - Infecções relacionadas à assistência à saúde

LukAB/GH - leucotoxina AB/GH

LukED - leucotoxina ED

MARS - substância autorregulatória morfogênica

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

MSCRAMMs - *Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules*

MSSA- *S. aureus* sensível à meticilina

PAV - pneumonia associada a ventilação mecânica

PCIRAS – Programa de Controle de Infecções relacionadas à assistência à saúde

PIA - adesina intercelular polissacarídica

*PICCs* - *peripherally inserted central catheters*

PNAG - poli-Nacetilglucosamina

PSMs - *phenol-soluble modulins*

PVL - leucocidina de Panton-Valentine

QS - *quorum sensing*

SCIH - Serviço de Controle de Infecção Hospitalar

SpA – proteína A estafilocócica

TSST-1 - *toxic shock syndrome toxin-1*

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | 12 |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....   | 14 |
| 2.1 Objetivo geral.....  | 14 |
| 2.2 Objetivos específicos.....   | 14 |
| <b>3 METODOLOGIA</b> .....   | 15 |
| <b>4 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....   | 16 |
| 4.1 Biofilmes.....   | 16 |
| 4.1.1 Definição e etapas de formação.....  | 16 |
| 4.1.2 <i>Quorum sensing</i> .....  | 18 |
| 4.1.3 Biofilmes e Patogenicidade.....  | 21 |
| 4.1.4 Biofilmes mistos.....  | 23 |
| 4.2 Cateter venoso central.....  | 26 |
| 4.2.1 Tipos de cateteres e suas aplicações.....                                  | 26 |
| 4.2.2 Biofilmes microbianos em cateteres.....                                    | 30 |
| 4.3 Infecções relacionadas à assistência à saúde e biofilmes em cateteres.....   | 32 |
| 4.3.1 Incidências e agravos.....   | 32 |
| 4.3.2 Medidas de controle e prevenção de infecções associadas a biofilmes.....   | 35 |
| 4.4 <i>Staphylococcus aureus</i> .....   | 41 |
| 4.4.1 Características do microrganismo.....                                      | 41 |
| 4.4.2 Relação entre <i>Staphylococcus aureus</i> e a formação do biofilme.....   | 48 |
| 4.5 <i>Candida albicans</i> .....  | 50 |
| 4.5.1 Características do microrganismo.....                                      | 50 |
| 4.5.2 Relação entre <i>Candida albicans</i> e a formação do biofilme.....        | 53 |
| 4.6 Interação entre <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Candida albicans</i> ..... | 55 |
| 4.6.1 Dinâmica das interações em biofilmes mistos.....                           | 55 |
| 4.6.2 Estratégias para prevenção e combate dos biofilmes mistos.....             | 58 |
| <b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....  | 61 |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....   | 62 |

## 1. INTRODUÇÃO

Biofilmes são estruturas formadas por colônias de microrganismos, inseridos em uma matriz de substância polimérica extracelular produzida e excretada pelos mesmos. O biofilme contém células microbianas aderidas umas às outras e à uma superfície estática (viva ou não). Os biofilmes são importantes fatores de risco para o desenvolvimento de doenças infecciosas, especialmente nos ambientes de assistência à saúde (GULATI; NOBILE, 2016; JAMAL *et al.*, 2018; TRUJILLO *et al.*, 2012).

A formação do biofilme é composta por muitas etapas, caracterizando-se como um processo complexo que se inicia pela adesão a superfícies que leva à formação de micro-colônias, originando estruturas tridimensionais, seguida pela maturação e finalizando com o desprendimento de células isoladas ou em conjunto (JAMAL *et al.*, 2018).

Estudos genéticos apontam que a formação de biofilmes requer uma sinalização entre as células dos microrganismos conhecida como *quorum sensing*, bem como a expressão de diferentes genes em comparação com as formas planctônicas. A estabilidade mecânica de um biofilme se deve às características viscoelásticas da matriz extracelular (JAMAL *et al.*, 2018; KATHOON *et al.*, 2018).

A diversidade microbiana, ocupando sítios específicos no organismo humano, possibilita variadas oportunidades para ocorrência de interações físicas e químicas entre diferentes espécies nesses ambientes (GULATI; NOBILE, 2016). Em indivíduos saudáveis, as comunidades microbianas encontram-se em constante equilíbrio. Perturbações a esse equilíbrio como mudanças na dieta, antecedentes genéticos e alterações imunológicas do hospedeiro, variações ambientais no pH, viscosidade da mucosa e uso de antimicrobianos, podem culminar em processos infecciosos devido ao demasiado crescimento de alguns microrganismos específicos (GULATI; NOBILE, 2016; TRINDADE, 2017).

Progressos nas pesquisas de biofilme têm demonstrado que as comunidades de microrganismos raramente são compostas de uma única espécie, mas sim por estruturas diversificadas e heterogêneas (KEAN *et al.*, 2017). Evidências na literatura reforçam o impacto das infecções polimicrobianas onde as interações sinérgicas ou inibitórias influenciam na patogênese (HARRIOTT; NOVERR, 2009).

Biofilmes polimicrobianos representam um problema de saúde clinicamente expressivo, pela potencial capacidade de servirem como reservatórios de agentes infecciosos, como bactérias e fungos. Biofilmes podem se formar em dispositivos médicos e atuar como uma fonte de infecções sistêmicas, que dentre outras implicações, podem aumentar o tempo de hospitalização dos pacientes (HARRIOTT; NOVERR, 2009). Dos microrganismos que causam infecções graves associadas à presença de biofilmes, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* são exemplos de patógenos de grande relevância clínica que aumentam a complexidade do tratamento (LIN *et al.*, 2013), isso devido a resistência aumentada a antimicrobianos e a fagócitos, sendo uma preocupação clínica contínua (KATHOON *et al.*, 2018).

As infecções relacionadas a dispositivos médicos como cateteres venosos centrais são de difícil diagnóstico e tratamento (MACIÀ *et al.*, 2018). Os resultados do teste de susceptibilidade a antimicrobianos realizado com células microbianas no estado planctônico não pode ser extrapolado às células dos biofilmes devido às complexas características da comunidade séssil, o que resulta em falhas no tratamento. Além disso, na terapêutica, altas doses de antimicrobianos são administradas com o intuito de eliminar o processo infeccioso. No entanto, podem resultar na elevação das taxas de resistência e/ou da tolerância microbiana a estes fármacos, além de causarem graves efeitos adversos aos pacientes (GULATI; NOBILE, 2016; KATHOON *et al.*, 2018; MACIÀ *et al.*, 2018).

Há necessidade de pesquisas aprofundadas na otimização de medidas preventivas, incluindo a execução de boas práticas de limpeza, desinfecção e as condições adequadas de higiene, com o objetivo de evitar a formação de biofilme. O advento das novas tecnologias tem apresentado progressos nas técnicas de remoção de biofilmes, auxiliando no combate a infecções (JAMAL *et al.*, 2018).

Dada a relevância dos biofilmes microbianos no âmbito da saúde individual e coletiva, o presente estudo visa a compreensão dos mecanismos moleculares relacionados à formação e manutenção de biofilmes mistos que é o caminho para o desenvolvimento de novos tratamentos, estratégias que impeçam a formação e métodos de destruição destas comunidades. As implicações médicas dos biofilmes mistos formados por *S.aureus* e *C.albicans* apontam para a importância do entendimento das interações entre estes microrganismos que favorecem seu estabelecimento em cateteres venosos centrais e consequentes processos infecciosos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Realizar uma revisão bibliográfica sobre a formação e a manutenção do biofilme misto em cateter venoso central com ênfase nas espécies *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.

### 2.2. Objetivos específicos

- Definir e caracterizar as etapas de formação e o processo de sinalização nos biofilmes.
- Apresentar os tipos de cateter utilizados na prática clínica e as vias de colonização microbiana.
- Correlacionar as Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde com a presença de biofilmes e cateteres e expor as respectivas medidas de prevenção.
- Analisar o impacto do desenvolvimento de biofilmes pelas espécies *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* em cateteres venosos centrais, comentando suas características, isoladamente e em conjunto, e a relação com a incidência de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde.
- Investigar interações sinérgicas entre *S. aureus* e *C. Albicans* na potencialização da patogenicidade do biofilme.
- Descrever as medidas de diagnóstico e tratamento de biofilmes polimicrobianos e os desafios no controle destes.

### 3 METODOLOGIA

Este estudo foi realizado sob a forma de revisão de literatura, utilizando artigos científicos das bases de dados Scielo, Pubmed, *Science Direct*, legislações e livros de Microbiologia com as seguintes palavras-chave: biofilmes polimicrobianos, cateteres venosos centrais, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, infecções relacionadas à assistência à saúde, prevenção e controle, pesquisando-se nas línguas inglesa e portuguesa com delimitações dos últimos vinte e dois anos (1997 a 2019).



## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Biofilmes

#### 4.1.1 Definição e Etapas de formação

Biofilme pode ser definido como uma complexa comunidade de microrganismos e seus produtos extracelulares em adesão à superfícies bióticas ou abióticas, sendo considerado a forma natural e mais frequente de crescimento para a maioria destes organismos (GULATI; NOBILE, 2016; TRUJILLO *et al.*, 2012). As populações microbianas encontram-se organizadas neste espaço, de modo a manter a comunicação interespecies e apresentam propriedades diferentes de seu estado planctônico (flutuante). A estrutura e arquitetura, o processo de desenvolvimento e as características de um biofilme estão relacionados às espécies que participam de sua composição (GULATI; NOBILE, 2016).

A formação de biofilme oferece diversas vantagens aos microrganismos no contexto evolutivo, visto que as superfícies apresentam-se como *habitat* disponível. O biofilme é um ambiente de equilíbrio mediante as variações nutricionais e condições ambientais extremas como a presença de radiação/luz ultravioleta, variações nos valores de pH e de temperatura, salinidade e desidratação. Confere, ainda, proteção contra metais tóxicos, biocidas, antimicrobianos e mecanismos de defesa dos hospedeiros (TRINDADE, 2017).

O início da colonização microbiana de uma superfície altera a expressão gênica resultando na produção de substâncias poliméricas da matriz extracelular, que concede força para as interações, facilita a sinalização por moléculas e configura importante barreira de proteção para a estrutura do biofilme. A matriz é composta por polissacarídeos, proteínas, ácidos graxos e água, sendo o componente responsável por captar do meio ambiente nutrientes e minerais e distribuí-los (JAMAL *et al.*, 2018; KATHOON *et al.*, 2018).

A formação de biofilme compreende etapas complexas, que estão envolvidas com o sistema de comunicação intercelular, *quorum sensing*, que exercem papel essencial no desenvolvimento e na maturação dos agregados capazes de alterar a

expressão gênica em dependência da densidade celular (JAMAL *et al.*, 2018; KATHOON *et al.*, 2018; TRINDADE, 2017).

O estágio inicial do biofilme compreende a fixação por meio de contato de células microbianas à superfície, em presença de um filme condicionador. O primeiro contato do microrganismo com a superfície é aleatório e dirigido por forças como do movimento Browniano (em bactérias), força gravitacional, forças hidrodinâmicas e forças de atração (TRINDADE, 2017). Posteriormente, ocorre a adesão reversível, uma ligação inicialmente fraca mediada por forças físicas e interações físico-químicas não específicas como interações eletrostáticas de *Van der Waals* e hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e por adesinas, ou por estruturas bacterianas como *pili* e fímbrias. Nesta etapa, o microrganismo pode se desligar da superfície caso ocorra alguma perturbação por forças hidrodinâmicas e pela ação de forças repulsivas (JAMAL *et al.*, 2018; KATHOON *et al.*, 2018; TRINDADE, 2017). Superfícies hidrofóbicas são capazes de reduzir a força de repulsão entre os microrganismos e a superfície. Assim, microrganismos tendem a se ligar mais a superfícies não polares como Teflon e outros plásticos, em comparação às superfícies polares como metais e vidro (JAMAL *et al.*, 2018). Já a formação da monocamada é caracterizada por uma adesão forte e irreversível, que se estabelece após a adesão reversível. A aderência permanente à superfície é mediada pela síntese de adesinas e pela matriz extracelular e é dependente das forças físicas, das interações químicas e da ação de diversas proteínas (JAMAL *et al.*, 2018; KATHOON *et al.*, 2018).

Posteriormente à estabilização do contato, inicia-se a etapa de formação de micro-colônias, resultantes da multiplicação e da agregação microbiana coordenada por sinalizações químicas na matriz extracelular (JAMAL *et al.*, 2018). Observa-se a formação de canais de comunicação emaranhados através do biofilme, que são responsáveis por carrear nutrientes para as camadas mais profundas. As características estruturais dos biofilmes estão diretamente relacionadas às condições ambientais (TRINDADE, 2017).

Na fase da maturação, há um importante aumento na interação intercelular, onde as células crescidas e amadurecidas formam camadas de aglomerados celulares e produzem moléculas auto-indutoras responsáveis pela expressão de genes específicos para progressão do biofilme. Há produção de substâncias poliméricas extracelulares e aumento em tamanho e espessura das micro-colônias,

formando então macro-colônias (JAMAL *et al.*, 2018; KATHOON *et al.*, 2018; TRINDADE, 2017). A contínua secreção de altas quantidades de polissacarídeos favorece a adesão e o recrutamento de outros microrganismos para o biofilme, resultando em uma comunidade diversificada de células circundadas pela matriz exibindo uma arquitetura organizada e complexa (LIN *et al.*, 2013).

Com o tempo, há o acúmulo de metabólitos tóxicos e limitação de recursos no biofilme, ocorre o aumento de ácidos e gases em seu interior devido à anaerobiose deste ambiente altamente concentrado de células, então como mecanismo de sobrevivência, células únicas ou em aglomerados se dispersam em busca de expansão. O ambiente inóspito é um gatilho da expressão de mecanismos de ruptura dos aglomerados e ativação de vias de regulação gênica relacionadas à dissolução da matriz extracelular (JAMAL *et al.*, 2018; KATHOON *et al.*, 2018).

Há a produção de pequenas moléculas como o ácido cis-11-metil-2-dodecenóico que promovem a autofosforilação e levam à ativação da enzima c-di-GMP fosfodiesterase que por sua vez, degrada um sistema de sinalização (c-di-GMP) que regula muitos comportamentos bacterianos com importância fundamental para impulsionar as mudanças entre células flutuantes e aquelas formadoras de biofilme. Tal degradação ocasiona o rompimento de aglomerados por forças de cisalhamento ou pela liberação de células flutuantes, capazes de elevar a expressão de proteínas flagelares para melhorar a motilidade. Outro mecanismo é a produção de enzimas sacarolíticas pelas bactérias no interior do biofilme que atuam quebrando o polissacarídeo estabilizador do biofilme, liberando assim as células da superfície (KATHOON *et al.*, 2018). O biofilme adquire a habilidade de fragmentar pequenas porções de si mesmo e dispersá-las para o fluido configurado em um mecanismo eficiente de propagação para novos e longínquos sítios (LIN *et al.*, 2013). A fase de dispersão é uma etapa essencial no avanço do biofilme, pois através dela os microrganismos se desprendem e alcançam outras regiões, propagando sua existência. No ponto em que o biofilme atinge o equilíbrio dinâmico, há a liberação de células planctônicas na camada mais externa de sua estrutura. Trata-se de um processo regulado e programado que resulta na disseminação dos microrganismos e, conseqüentemente no desenvolvimento de doenças infecciosas (TRINDADE, 2017).

#### 4.1.2 *Quorum sensing*

Biofilmes são habitualmente caracterizados por alta densidade celular e grande diversidade de espécies microbianas. Nessas populações ocorrem inevitavelmente interações intra e interespecies, de cooperação ou competição, que podem exercer significantes papéis na manutenção do equilíbrio (LI; TIAN, 2012).

As bactérias são microrganismos unicelulares que podem multiplicar-se e adaptar-se aos sinais dos ambientes de maneira autônoma. Mesmo com tal independência, sabe-se que estes microrganismos também se organizam com os demais organismos circunvizinhos a fim de realizar variadas atividades. A produção de bioluminescência, que compreende a emissão de luz por bactérias marinhas, é um exemplo de mecanismo dependente da densidade celular das espécies em associações simbióticas em comunicação, bem como a secreção de exoenzimas e outras atividades de cooperação no desenvolvimento do biofilme (LI; TIAN, 2012; SOLANO; ECHEVERZ; LASA, 2014). Desta forma, a maioria dos microrganismos vive em comunidades e necessitam de atributos nos níveis populacionais para sua sobrevivência e para a execução de atividades fisiológicas, bem como para expressão de fatores de virulência essenciais no desempenho de sua patogenicidade. Foi proposta por alguns pesquisadores, a existência de um alto grau de coordenação comportamental multicelular entre os microrganismos que assemelha os biofilmes a “cidades” (LI; TIAN, 2012).

O mecanismo de *quorum sensing* (QS) é o meio pelo qual bactérias e fungos produzem, detectam e respondem à presença de pequenas moléculas sinalizadoras denominadas autoindutores. A presença de células é perceptível através desta comunicação, acarretando benefícios antes inatingíveis individualmente pela possibilidade de divisão do trabalho, ações coletivas e outras atividades cooperativas com células adjacentes. A sincronização da expressão gênica e processos fisiológicos como simbiose, formação de esporos ou corpos de frutificação (como a bactéria *Myxococcus xanthus*) bem como a produção de bacteriocina ou a morte celular programada, podem ser controladas pelo QS (KATHOON *et al.*, 2018; LI; TIAN, 2012; SOLANO; ECHEVERZ; LASA, 2014).

A coordenação se dá pelo mecanismo de comunicação célula a célula, que confere a habilidade de reconhecer a densidade da população microbiana pela detecção de moléculas de sinalização de baixo peso molecular e específicas, secretadas pelos membros da comunidade. Para ativação da resposta é necessária

uma alta densidade populacional e a acumulação do sinal extracelular (SOLANO; ECHEVERZ; LASA, 2014). Acredita-se que no processo de regulação do biofilme, tal ponto é alcançado na etapa de formação de micro-colônias em que os sinais do QS podem atingir níveis suficientes para ativar a maturação e desmontagem do biofilme (SOLANO; ECHEVERZ; LASA, 2014).

O QS depende da interação do sensor ou ativador transcricional específico com a molécula de sinal difusível que levará à expressão gênica. Os sistemas de bactérias são *LuxI/LuxR-type* em bactérias Gram-negativas, que utilizam lactonas acil-homoserina (AHL) como moléculas sinalizadoras, o sistema *oligopeptide-two-component-type* em bactérias Gram-positivas, que usam pequenos peptídeos, e *luxS-encoded autoinducer 2 (AI-2)* em ambas. Com a identificação do sistema AI-2, observou-se que as bactérias possuem uma forma de detectar a densidade celular de outras espécies em uma comunidade, possibilitando a comunicação e interações interespecies (LI; TIAN, 2012; SOLANO; ECHEVERZ; LASA, 2014).

Nos processos infecciosos, os mecanismos de QS difundidos em microrganismos procarióticos e eucarióticos unicelulares têm importantes implicações (LI; TIAN, 2012). Há o sistema de QS *Agr* em *S. aureus* e outras espécies do gênero, que controla diversos fatores de virulência como toxinas e enzimas degradativas segregadas, além de coordenar *phenol-soluble modulins* (PSMs) – moléculas que contribuem para a dispersão do biofilme (RAAFAT *et al.*, 2019). O QS foi descrito como um fenômeno que contribui para o controle morfogênico em *C. albicans*, que tem como base a dependência da densidade celular (“efeito inóculo”). Foram apontadas também moléculas que afetam a capacidade do fungo de alterar sua morfologia (dimorfismo). Álcool feniletílico e triptofol foram as primeiras moléculas identificadas, porém a atuação de ambas não está bem elucidada. Posteriormente pesquisadores identificaram uma substância autorregulatória morfogênica - MARS. No entanto, as moléculas QS chamadas verdadeiras identificadas a partir de *C. albicans* são o farnesol, que em altas concentrações favorece o desprendimento e dispersão das leveduras, o ácido farnesóico e o tirosol, caracterizado como promotor do desenvolvimento da hifa (KRUPPA, 2009).

O QS é considerado um componente integral na adaptação microbiana em biofilmes. A evidenciação do vasto uso de sistemas QS é essencial para orientar e direcionar pesquisas voltadas para comportamentos multicelulares. Muitos desafios

no entendimento desta comunicação precisam ser transpostos, como a determinação de fatores influenciadores do início do QS e subsequente expressão gênica, bem como o que estimula os impactos funcionais do QS em biofilmes polimicrobianos (LI; TIAN, 2012). Trata-se de uma importante fonte de pesquisa, visto que a interrupção no sistema QS pode inibir o crescimento de bactérias dentro da matriz extracelular e aumentar a suscetibilidade do biofilme a antimicrobianos, servindo assim como um caminho para o desenvolvimento de tratamentos potenciais (KATHOON *et al.*, 2018).

#### 4.1.3 Biofilmes e Patogenicidade

Existem muitos exemplos de infecções envolvendo biofilmes capazes de ameaçar a saúde humana, incluindo infecções ósseas, das vias aéreas, do tecido pulmonar, dos tecidos cardíacos, do ouvido, do trato gastrointestinal, dos olhos e do trato urogenital; dispositivos protéticos, cateteres, implantes e as doenças dentárias (LI; TIAN, 2012). Os biofilmes estão associados ao desenvolvimento de doenças crônicas, que persistem por longos períodos, causando sofrimento ao paciente e danos teciduais. A acentuada resistência bacteriana a antimicrobianos quando inseridas em biofilmes, pode impactar negativamente no sucesso do tratamento terapêutico, especialmente em pacientes imunocomprometidos, podendo culminar em óbito. Sendo assim, o estabelecimento de biofilmes tem sido considerado uma característica patogênica muito relevante em processos infecciosos. As células microbianas dessas comunidades apresentam alteração em seu fenótipo, que em geral, tem seu reflexo na virulência (LI; TIAN, 2012).

Como mencionado anteriormente, uma característica geral dos biofilmes é o aumento da resistência a desafios físicos e químicos, dificultando seu combate na prática clínica. A resistência e tolerância aos antimicrobianos exercem importante função na patogênese e persistência de diversas infecções subagudas e crônicas (HATHROUBI *et al.*, 2017). Os biofilmes fornecem proteção física às defesas imunológicas do organismo hospedeiro, bem como torna estas células mais resistentes aos antimicrobianos o que pode estar relacionado às alterações dos estados metabólicos e aos mecanismos de regulação das bombas de efluxo de antimicrobianos (GULATI; NOBILE, 2016; KATHOON *et al.*, 2018). Outros fatores como a alta densidade populacional, a barreira formada pela matriz extracelular, a

expressão diferencial de genes e os diferentes estados fisiológicos das colônias contribuem para a diminuição da eficácia de antimicrobianos no combate ao biofilme (TRINDADE, 2017).

A resistência é definida como a capacidade de um microrganismo em sobreviver ao efeito de um agente antimicrobiano e relaciona-se a um mecanismo geneticamente codificado. Em contrapartida, a tolerância não é causada por mutação ou conservação de um gene de resistência, trata-se de um fenótipo transitório e determinado pelo estado fisiológico das populações presentes no biofilme, ocasionada também pela limitação de difusão e atividade do fármaco (HATHROUBI *et al.*,2017).

Vários fatores estão relacionados à capacidade adaptativa dos biofilmes e sua tolerância e resistência às terapias (SURESH; BISWAS; BISWAS, 2019). A eficiência dos antimicrobianos pode ser reduzida pelo metabolismo anaeróbico de bactérias na falta de oxigênio no interior do biofilme. A produção de enzimas resultantes de mutação é um dos mecanismos de inativação de antimicrobianos que conferem proteção às bactérias no biofilme. Verificou-se também a capacidade de bloquear a ação de fagócitos e, por meio de bomba de efluxo, expulsar antimicrobianos para fora da matriz extracelular. A interação entre espécies fúngicas e bacterianas resultou em aumento da resistência aos antimicrobianos (KATHOON *et al.*,2018).

A matriz extracelular do biofilme consiste em uma barreira física densa que contém várias moléculas aniônicas e catiônicas que podem se ligar a agentes antimicrobianos. Pode também limitar a difusão de alguns fármacos e o seu transporte pelas células (HATHROUBI *et al.*,2017). A penetração de  $\beta$  lactâmicos e vancomicina foi consideravelmente reduzida em biofilmes polimicrobianos compostos por *S. aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (SINGH *et al.*,2010).

As células que constituem o biofilme não são integralmente erradicadas mesmo quando há penetração de antimicrobianos, cujo mecanismo de ação se baseia nas funções celulares ativamente replicantes. No entanto, os microrganismos presentes nos biofilmes apresentam diferentes taxas de crescimento devido às concentrações flutuantes de nutrientes e oxigênio. Tal heterogeneidade resulta em células metabolicamente inativas não atingidas pelos antimicrobianos, produzindo células persistentes, que são sub-populações altamente tolerantes (CONLON; ROWE; LEWIS, 2014).

Biofilmes são apontados como reservatórios de variabilidade genética que permitem a adaptação, a evolução e a sobrevivência à ambientes desfavoráveis, o que por sua vez pode favorecer o desenvolvimento de resistência a antimicrobianos. A proximidade entre espécies pode facilitar a transferência horizontal de genes, culminando na disseminação de resistência. Assim como, a matriz propicia condições para transformação, devido a sua natureza hidratada. Outro fator promotor de resistência e tolerância é a exposição de patógenos a concentrações sub-inibitórias mínimas (sub-MICs) e ineficazes de antimicrobianos que ocorre em geral durante o tratamento com regimes de dosagem inadequados e após a penetração tardia do composto no biofilme. Os efeitos da exposição se dão sobre a expressão gênica, virulência, QS e formação de biofilme (HATHROUBI *et al.*, 2017).

#### 4.1.4 Biofilmes mistos

Grande parte das pesquisas em biofilmes se atém às culturas de uma única espécie, no entanto, na natureza as comunidades microbianas são heterogêneas. As interações observadas podem ser de cooperação ou competição metabólica por nutrientes e condições de crescimento configurando antagonismo; ou sinérgicas, resultando em benefícios mútuos (VARPOSHTI *et al.*, 2014).

Os microrganismos nos biofilmes não se agregam aleatoriamente, mas formam uma comunidade bem organizada e relacionada. O conceito de que as bactérias podem se organizar em grupos, formar populações e se comunicar de forma coordenada mudou a visão que antes se restringia a organismos multicelulares. A maior densidade celular verificada favorece sinais químicos de comunicação propiciando interações sociais em biofilmes e certamente elevando o grau de complexidade. Somado a isto, ocorre a expressão de diferentes adesinas e componentes exopoliméricos por células individuais que inseridas na comunidade podem contribuir para o desenvolvimento geral do biofilme (LI; TIAN, 2012).

O corpo humano é hospedeiro de uma diversificada população de espécies microbianas, representantes dos reinos da vida. A vasta diversidade residindo em nichos específicos no corpo humano viabiliza inúmeras oportunidades para interações entre espécies microbianas nesses ambientes polimicrobianos que se desenvolveram ao longo de anos de coevolução com humanos (GULATI; NOBILE, 2016). A microbiota se mantém em equilíbrio no estado de saúde, no entanto



perturbações causadas por fontes internas e externas podem alterar esse ecossistema e desequilibrar o crescimento de espécies oportunistas resultando em doenças. Interações físicas e químicas entre as diversas espécies podem ocorrer nos ambientes, inclusive na formação de biofilmes, que raramente são compostos por uma única espécie, sendo mistos ou polimicrobianos, heterogenicamente compostos por complexas comunidades de células. As infecções associadas à presença de biofilme polimicrobiano constituem um agravo à saúde. As interações por trocas diretas e indiretas podem resultar em intensificação da capacidade defensiva do biofilme, o que se reflete na gravidade de uma infecção (GULATI; NOBILE, 2016; KEAN *et al.*, 2017). A literatura aponta para a relevância de infecções polimicrobianas onde a interação de forma sinérgica ou inibitória, impacta a patogênese pela promoção de fenótipos intensificados e conseqüentemente, a saúde do paciente (HARRIOTT; NOVERR,2009; KEAN *et al.*, 2017).

Infecções como periodontite, otite média, feridas diversas, pulmonares, fibrose cística, infecções do trato urinário e por cateter, são comumente polimicrobianas resultantes da presença de biofilmes mistos nos quais diferentes espécies microbianas formam uma comunidade complexa e persistente de células (GULATI; NOBILE, 2016). Processos infecciosos por biofilme inter-reinos representam um dilema. O co-isolamento de bactérias e fungos complica a capacidade de administrar regimes antimicrobianos únicos. Exemplo-chave de polimicrobialidade é a coexistência da levedura *C. albicans* e a bactéria *S. aureus* em complexos biofilmes em hospedeiros humanos (KEAN *et al.*,2017).

Estudos avaliaram o desenvolvimento dos biofilmes mistos formados por *C. albicans* e outros microrganismos. Detectou-se uma relação negativa entre o fungo e a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* e observou-se uma diminuição no crescimento que pode ser explicado pela presença de toxinas produzidas pela bactéria com ação fungicida encontradas exclusivamente em culturas mistas como 5-metil-fenazínio-1-carboxilato (5MPCA), além das interações que alteram a morfologia da célula fúngica e a motilidade bacteriana (LINDSAY; HOGAN, 2014; TRUJILLO *et al.*, 2012). Outro exemplo é a ação da espécie *S. epidermidis* que produz uma serina protease que destrói o biofilme formado por *S. aureus*, tornando as células suscetíveis às variações ambientais, reduzindo as chances de viabilidade no ambiente. Na cavidade oral *Enterococcus faecium* produz um peptídeo capaz de inibir o

crescimento das espécies *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguinis* e *Streptococcus mutans* (ELIAS *et al.*, 2012).

Outro exemplo de interação antagônica se dá pelo sistema QS de *Serratia plymuthica* que induz a transcrição e expressão de um fator antimicrobiano capaz de comprometer o crescimento de *Escherichia coli* e, conseqüentemente, reduzir sua participação na estrutura deste biofilme (ELIAS *et al.*, 2012; MOONSET *et al.*, 2006).

Em situação contrária verificou-se interações positivas entre *C. albicans* e as espécies *S. epidermidis* onde observou-se elevação da resistência à vancomicina devido a um componente da matriz fúngica atuando como uma barreira ao antimicrobiano (HARRIOTT; NOVERR, 2009; KATHOON *et al.*, 2018; TRUJILLO *et al.*, 2012). Na cavidade oral, *C. albicans* é encontrada associada a bactérias comensais em comunidades polimicrobianas formadas nas mucosas, em próteses e dispositivos como dentaduras, podendo provocar infecções superficiais. O fungo preferencialmente se une aos colonizadores dominantes do gênero estreptococos que secretam lactato, uma fonte de crescimento para *C. albicans* no biofilme, que por sua vez favorece a formação do biofilme bacteriano, através de um mecanismo desconhecido (LINDSAY; HOGAN, 2014).

A placa dental é um biofilme misto modelo para estudo de interações, visto que pode abrigar até 1.000 diferentes espécies que habitam cooperativamente em comunidades. Muitas bactérias da microbiota oral são capazes de sintetizar moléculas auto-indutoras decisivas para a síntese de biofilme dental (SAINI; SAINI; SHARMA, 2011; TRINDADE, 2017). Interações físicas favoráveis à adesão e agregação das células são observadas entre as bactérias *Porphyromonas gingivales* colonizadora do substrato e *Treponema denticola* que se une às fímbrias da primeira através de flagelos e filamentos citoplasmáticos gerando um agregado (RIKHARD *et al.*, 2008; TRINDADE, 2017).

Um sistema de cooperação metabólica ocorre entre *Pseudomonas putida* e *Acinetobacter* spp. em um biofilme misto em meio contendo benzil álcool. O referido composto é fonte de carbono para ambas e ao ser degradado por *Acinetobacter* spp. produz benzoato que por sua vez é metabolizado pela *P. putida*. Esta dinâmica influencia a arquitetura do biofilme de maneira que as células de *Acinetobacter* permanecem dispostas nas camadas superiores próximas ao composto (CHRISTENSEN *et al.*, 2002; ELIAS *et al.*, 2012; HANSEN *et al.*, 2007).

Sabidamente a resistência a antimicrobianos é aumentada em biofilmes polimicrobianos e acredita-se que a composição da matriz extracelular alterada pela associação das espécies está diretamente relacionada ao fato. É o que ocorre quando *S. aureus* encontra-se inserido no biofilme de *C. albicans*, levando a maior tolerância ao antibacteriano vancomicina que é retido pela matriz do fungo (HARRIOTT; NOVERR, 2009; SINGH *et al.*, 2000). Similarmente, o  $\beta$ -1,3 - glucana da matriz de *C. albicans* pode se ligar à ofloxacina, proporcionando aumento da tolerância ao antimicrobiano, o que é benéfico à espécie *E. coli* quando ambas compõem um biofilme misto (DE BRUCKER *et al.*, 2015).

Em biofilmes mistos formados por *Streptococcus pneumoniae* e *Moraxella catarrhalis* ambas as bactérias se tornaram mais resistentes aos  $\beta$ -lactâmicos e às linhas de defesa do sistema imune. *S. pneumoniae* recebeu proteção passiva contra a amoxicilina através de enzimas  $\beta$ -lactamases produzidas por *M. Catarrhalis*. Já *M. Catarrhalis* foi protegida da ação da azitromicina por um mecanismo ainda desconhecido (PEREZ *et al.*, 2014). Em comunidades formadas por *P. aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* Pf-5, e *Klebsiella pneumoniae* há maior tolerância à tobramicina comparado à biofilmes de uma única espécie (LEE *et al.*, 2014).

Instrumentos cirúrgicos fornecem uma superfície para adesão microbiana e conseqüentemente para a ocorrência de infecções, uma vez que essa contaminação microbiológica nesses instrumentos favorece a transmissão durante procedimentos invasivos. As bactérias são mais resistentes à ação dos métodos físicos e químicos de limpeza no estado sésil do que células planctônicas, devido a alterações fisiológicas nas células e a produção da substância polimérica extracelular. Um estudo nacional apontou que a interação das bactérias no biofilme polimicrobiano parece diminuir a eficácia do procedimento de limpeza de instrumento cirúrgico (item crítico) pelo método automatizado em lavadora ultrassônica na remoção das células de *S. aureus* de superfícies quando associado a *Acinetobacter baumannii*. (TRINDADE, 2017).

## 4.2 Cateter venoso central

### 4.2.1 Tipos de cateteres e suas aplicações

Cateteres são instrumentos vastamente utilizados em hospitais e considerados indispensáveis em muitos tratamentos (SIMIONI *et al.*, 2019). São dispositivos médicos classificados como Nível II de controle, ou seja, para certificar sua segurança, o fabricante deve emitir declaração sobre a mesma. São considerados dispositivos médicos, ferramentas aplicadas na profilaxia, diagnóstico, tratamento, alívio, reabilitação e geração de dados de uma condição médica (COSTA, 2017; FORTUNATTI, 2017). Os cateteres são essenciais na rotina médica pois contribuem na manutenção e monitorização de pacientes graves, especialmente de unidade de terapia intensiva - UTI. O uso do cateter venoso central (CVC) no processo terapêutico do paciente hospitalizado possibilita a administração de medicamentos, nutrição parenteral, solução de contraste, reposição de sangue e hemocomponentes, participação no processo de hemodiálise e quimioterapia. A demanda é quase total dentre os pacientes críticos (CRUZ; MOREIRA; QUIQUIO, 2015; KATHOON *et al.*, 2018; SOHAIL; LATIF, 2018). A inserção do CVC na UTI em pacientes adultos é atribuição médica, e o profissional responsável deve avaliar os possíveis riscos e complicações envolvidos para determinar sua indicação (COSTA, 2017). O CVC também é utilizado para obter acesso vascular pediátrico em cuidados intensivos, em especial quando o paciente carece de condições de punção periférica (ROSADO; ROMANELLI; CAMARGOS, 2011).

Os cateteres são confeccionados por distintos materiais, dentre os mais frequentes o teflon, cloreto de polivinil, silicone, poliuretano e poliéter-uretano. A natureza química do material atrelada às imperfeições de superfície é apontada como fator propiciador de colonização por microrganismos em cateteres (SIMIONI *et al.*, 2019). Estudos apontam que cateteres de cloreto de polivinil ou polietileno estão relacionados à complicações infecciosas mais significativas, comparados aos de poliuretano (ANVISA, 2017).

É recomendado que os cateteres sejam hemo e biocompatíveis, radiopacos, resistentes a dobras, tenham estrutura rígida compatível à inserção no vaso sanguíneo, baixa capacidade de formar trombos, impeçam a aderência microbiana, apresentem integridade estrutural satisfatória e boa estabilidade (COSTA, 2017).

Os diferentes tipos de cateteres variam de acordo com a necessidade do paciente, podendo ser de longa permanência ou temporal, sendo que no primeiro comumente pode haver crescimento microbiano no lúmen e no último, também

conhecido como de curta permanência, o crescimento ocorre na região exterior (SIMIONI *et al.*, 2019). A escolha deve levar em consideração o tempo de terapia, o tipo de solução a ser infundida e o quadro clínico do paciente (COSTA, 2017).

A opção pela quantidade de lúmens deve levar em conta a demanda do paciente por terapias adicionais. Apesar de possibilitar a infusão de soluções não compatíveis, o maior número de lúmens é apontado como fator de risco de contaminações, visto que as diversas conexões propiciam maior manipulação (COSTA, 2017; CRUZ; MOREIRA; QUIQUIO, 2015).

Os tipos de acesso venoso podem ser descritos de acordo com a frequência, o tempo de uso e a localização de sua extremidade (ZERATI *et al.*, 2016). Inseridos por punção de veias periféricas em procedimentos de baixo risco, os cateteres periféricos de curta duração são confeccionados em *teflon* ou silicone, apresentam em torno de 35 a 52 mm de comprimento. Estes possuem custo reduzido, bem como curta durabilidade, sendo amplamente usados em pacientes internados. São considerados a melhor opção para infusão de soluções por curto período, em indivíduos com acesso venoso preservado. Ideais para infusão de soluções não vesicantes - que não provocam irritação intensa ao extravasar (ZERATI *et al.*, 2016).

Já os cateteres venosos centrais de curta duração não tunelizados são dispositivos fabricados em poliuretano com comprimento de 20 a 30 cm e até 8 *french*<sup>1</sup> de calibre que são inseridos por punção de uma veia central - jugular interna, subclávia, axilar ou femoral - e com a ponta disposta próximo à junção átrio-cava.

Podem apresentar lúmen único ou múltiplo. Seu uso é indicado para pacientes internados por um período inferior a três semanas, uma vez que seu uso domiciliar é desaconselhável pelo alto risco de infecção e de deslocamento do dispositivo (ZERATI *et al.*, 2016). O local de inserção deve ser pouco úmido ou oleoso, devido à menor colonização, e distante de lesões cutâneas. Quando comparado com acesso em veia jugular interna, o emprego da via subclávia representa menor risco de colonização e infecção (CRUZ; MOREIRA; QUIQUIO, 2015). O CVC é indicado em casos que a solução de infusão tem pH alcalino ou ácido, bem como elevada osmolaridade e natureza vesicante. É muito útil quando há inviabilidade de acesso periférico, no monitoramento da pressão venosa e em

---

<sup>1</sup> O tamanho do cateter é determinado por seu diâmetro externo. A escala *French* inicia em zero, e cada aumento de uma unidade representa um aumento de 1/3 (0,33) de milímetro no diâmetro externo (SANTOLIM, 2017).

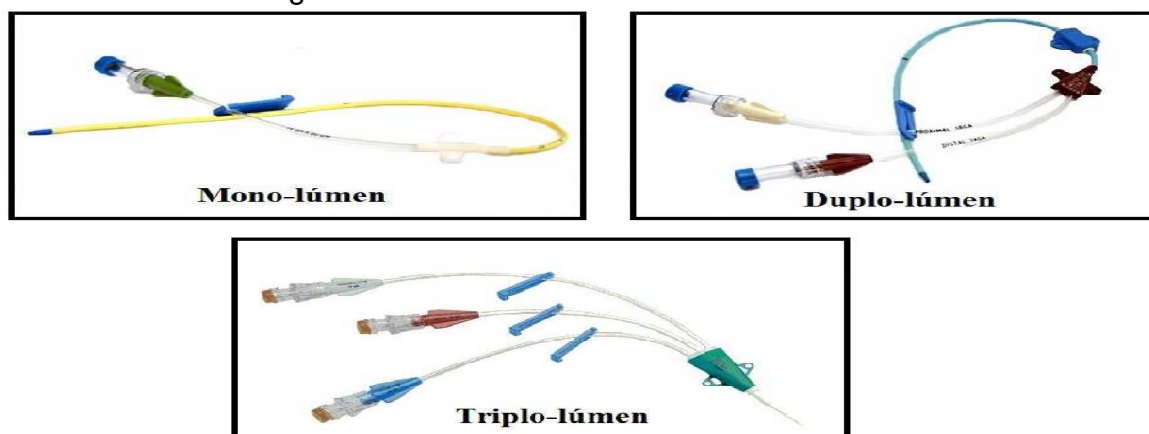
pacientes oncológicos (ZERATI *et al.*, 2016). O CVC não tunelizado é responsável pelo maior número das infecções de corrente sanguínea associadas a cateteres em UTIs (CDC, 2011).

Os cateteres centrais de inserção periférica (PICCs) podem ter uso contínuo ou intermitente em pacientes em tratamento domiciliar ou em internação. São inseridos através de punção de veia superficial - antecubital, basílica, cefálica, bem como por punção da veia braquial. O procedimento em geral é de baixo risco e pode ser feito à beira do leito, porém com a dificuldade de não controlar a imagem durante a progressão do cateter. Uma alternativa é realizar com auxílio de ultrassonografia. Podem ser removidos com facilidade, no entanto não são vantajosos quanto ao conforto e estética. São longos (50 a 65 cm) e de menor calibre (até 5 *french*), o que impede a infusão de volumes maiores em menor tempo (ZERATI *et al.*, 2016).

Outro tipo de cateter muito utilizado é o semi-implantável, que é introduzido por um orifício na pele comumente da parede anterior do tórax e passado via subcutânea até a área de introdução em uma veia central. Existem dois modelos: um mais maleável e outro de maior rigidez. Ambos possuem um anel localizado no interior do tecido subcutâneo que ocasiona uma reação inflamatória que leva à aderência e melhor fixação do cateter (ZERATI *et al.*, 2016).

Há também o cateter totalmente implantável, de longa permanência. Possui diâmetro inferior a 10 *french* e pode ser inserido por veia periférica ou central e conectado a um reservatório de titânio ou plástico implantado no músculo. Apresenta maior durabilidade que o semi-implantável por seu conjunto ser completamente interiorizado, bem como possuir menor risco de contaminação (ZERATI *et al.*, 2016).

Figura 1 - Lúmens do cateter venoso central



Fonte: SILVA, 2017

#### 4.2.2 Biofilmes microbianos em cateteres

A ocorrência de biofilmes microbianos em cateteres vasculares é muito comum. Com a inserção do dispositivo há a cobertura do mesmo por proteínas do hospedeiro, favorecendo a fixação de microrganismos. A extensão do biofilme é dependente da localização e é proporcional à duração do cateterismo – a formação concentra-se na superfície externa quando inferior a dez dias; e alcança o lúmen do cateter quando superior a trinta dias. Dentre os microrganismos mais isolados estão estafilococos coagulase-negativos, *S. aureus*, *Candida* spp., outras leveduras e fungos filamentosos, *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Micrococcus* spp., *Achromobacter* spp. (JAMAL *et al.*, 2018; MACIÀ *et al.*, 2018).

A adequada escolha do tipo de cateter é uma importante medida de prevenção e controle de infecção, visto que o material pode predispor a colonização por microrganismos e um maior tempo de permanência aumentar a manipulação e conseqüentemente, o risco de ocorrência dessa infecção (COSTA, 2017).

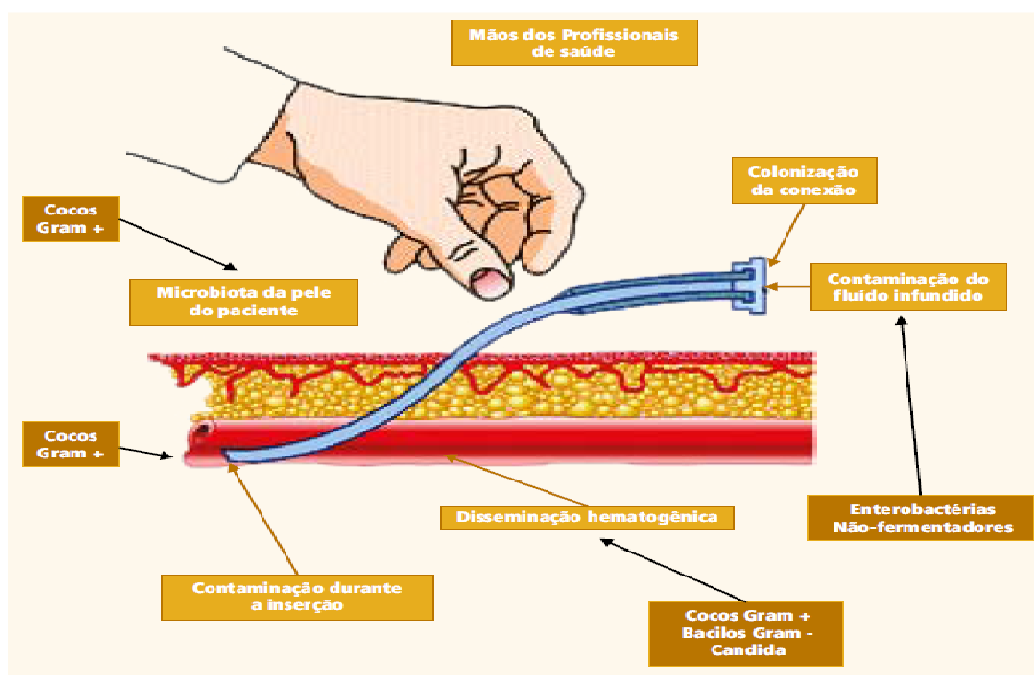
A composição do cateter, a facilidade de aderência de microrganismos, o local de inserção, o tamanho do cateter, o número de lumens, o tipo e duração da inserção e a realização do procedimento em situação de emergência são fatores que favorecem a ocorrência de colonização. Microrganismos como estafilococos e *Candida*, por exemplo, têm maior capacidade de aderência ao material de polivinil do que ao teflon (COSTA, 2017). Cateteres inseridos nas veias femorais e jugulares apresentam maior risco de colonização e estão associados a altas taxas de infecções quando comparados aos inseridos nas veias subclávias (CDC, 2011).

A inserção e a permanência do CVC propiciam a migração de microrganismos para a corrente sanguínea por colonização extraluminal. Os contaminantes da pele com auxílio da capilaridade penetram durante a inserção do cateter ou dias após, ou por colonização intraluminal em que ocorre o deslocamento dos microrganismos pela corrente sanguínea, por infecções oriundas de outros locais, ou mesmo por soluções contaminadas. Os microrganismos podem ter acesso ao CVC por diversos componentes como o canhão, a guia de inserção, o lúmen, os conectores com as linhas de infusão ou ainda pela manipulação do profissional de saúde. A capacidade de adesão e fixação à superfície de determinados microrganismos culminam na

colonização e desenvolvimento de biofilmes (ROSADO; ROMANELLI; CAMARGOS, 2011).

A contaminação do dispositivo pode ocorrer devido à migração de microrganismos da pele no local de inserção do cateter. Esta é a rota mais importante nas infecções por cateter, principalmente em cateterismos inferiores a oito dias. Os microrganismos avançam pela área extraluminal, formando o biofilme até a região intravascular. A via considerada como segunda maior causa de contaminação, em especial em cateterismo superior a duas semanas, é a manipulação do *hub* do cateter por técnicas assépticas inadequadas. Pode-se citar também a contaminação hematogênica que procede de outro foco de infecção que o paciente apresente, bem como a contaminação da solução de infusão (em especial nutrição parenteral lipídica com falhas de esterilidade); ambas consideradas raras e incomuns (ANVISA, 2017; COSTA, 2017).

Figura 2 - Fisiopatogenia da infecção da corrente sanguínea



Fonte: BRASIL, 2017

No âmbito hospitalar, medidas de prevenção tornam-se necessárias a fim de evitar complicações infecciosas. O diagnóstico microbiológico é baseado na similaridade em isolamentos obtidos da cultura, a partir do ponto de inserção ou da ponta do cateter, de microrganismos isolados de hemoculturas (MACIÀ *et al.*, 2018). Os indivíduos diretamente envolvidos no manuseio dos cateteres devem prestar



assistência qualificada a partir de uma boa manutenção, infusão e heparinização dos cateteres – mantendo sua permeabilidade - e confecção de curativos. Os pacientes devem ser devidamente orientados e estar cooperativos em prol do seu próprio bem-estar e saúde (CRUZ; MOREIRA; QUIQUIO, 2015).

#### 4.3 Infecções relacionadas à assistência à saúde e biofilmes em cateteres

##### 4.3.1 Incidência e agravos

Define-se Infecção Relacionada à Assistência à Saúde (IRAS) como uma condição local ou sistêmica que resultou de uma reação adversa à presença de um agente infeccioso ou sua toxina, e sem indícios de que a infecção já se encontrava presente, ou incubada no instante da admissão do paciente no ambiente hospitalar ou ambulatorial. Geralmente são detectadas a partir de 48 horas após a internação. As principais IRAS são representadas pelas infecções dos tratos respiratório e urinário, corrente sanguínea e sítios cirúrgicos (ANVISA, 2017; SILVA; OLIVEIRA, 2018) e são complicações frequentes em pacientes hospitalizados, impactando no tempo de internação e nos custos (COSTA, 2017).

Nas UTIs, as IRAS são consideradas mais graves, devido à demanda de pacientes dependentes de suporte intensivo de vida, que em geral são constantemente submetidos a procedimentos invasivos e fazem uso de medicamentos imunossupressores, favorecendo a colonização por microrganismos multirresistentes (PEREIRA *et al*, 2016, SOUZA *et al.*, 2015).

O uso de dispositivos médicos invasivos como cateteres, válvulas cardíacas, marcapasso e próteses está diretamente relacionado à incidência de infecções, uma vez que constituem um local ideal para depósito e crescimento de muitos microrganismos. A presença desta colonização pode provocar inflamação local extensa, dano tecidual e desprendimento de frações do biofilme que podem se disseminar por via hematogênica, causando infecções sistêmicas (LIN *et al.*, 2013). Os sinais e os sintomas locais das infecções por cateteres são dor, eritema, drenagem de secreção purulenta pela inserção que, se evoluir para bacteremia, pode apresentar sinais característicos de sepse, como febre alta, leucocitose, taquicardia e taquidispneia (COSTA, 2017).

O uso de CVC é considerado o principal fator de risco para a infecção da corrente sanguínea – ICS (SILVA; OLIVEIRA, 2018), que constitui uma complicação gerando aumento nos custos, no tempo de permanência no hospital e nas taxas de morbimortalidade, especialmente em pacientes da UTI (FORTUNATTI, 2017). Ainda que necessário, o cateterismo venoso central não está livre de complicações mecânicas ou infecciosas (FORTUNATTI, 2017; HATHROUBI *et al.*, 2017). O procedimento expõe os pacientes a diversos riscos como as IRAS (HATHROUBI *et al.*, 2017).

Dentre os fatores de riscos que favorecem a instalação de infecções por uso de dispositivos pode-se citar como condições inerentes ao paciente a presença de granulocitopenia, quimioterapia imunossupressora, a perda da integridade cutânea (por meio de queimaduras, por exemplo), a alteração da microbiota cutânea, a presença de patologias de bases graves e de doenças agudas em sítios diversos (COSTA, 2017; SOUZA *et al.*, 2015). Como mencionado anteriormente, o local em que o paciente se encontra internado também é uma condição determinante, visto que as UTIs, unidades de hematologia e nefrologia apresentam a maior incidência de infecções por cateter. Da mesma forma, a classificação hospitalar, o nível de atenção à saúde e o número de leitos nas instituições são fatores de impacto, sendo que a ocorrência de infecções em hospitais terciários e universitários é maior que os demais, devido aos complexos atendimentos realizados, bem como à presença de mais leitos (COSTA, 2017).

Grande parte das infecções de corrente sanguínea relacionada a cateter é provocada por microrganismos da microbiota indígena, especialmente pela contaminação da área de inserção do cateter devido à carga microbiana local, pelo excesso de manipulação do dispositivo pela equipe de saúde e pela inexperiência dos profissionais (COSTA, 2017). As infecções comumente constituem um desequilíbrio entre a microbiota e os mecanismos de defesa, habitualmente verificado em pacientes severamente enfermos, representando uma das principais causas de mortalidade hospitalar (PEREIRA *et al.*, 2016).

Infecções relacionadas ao biofilme representam um desafio clínico, correspondendo de 65% a 80% das IRAS, o que resulta em sérios prejuízos para a saúde e economia. Dentre as infecções relacionadas a cateteres, 60% são provocadas por bactérias formadoras de biofilmes. Os patógenos mais encontrados em biofilmes são bactérias como *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *P.*

*aeruginosa*, *K. pneumoniae* e *E. coli* e fungos como *C. albicans*, *A. fumigatus*, *P. carinii* e *F. solani* (KRISHMAN, 2015). Há uma relação entre as infecções da corrente sanguínea e os cateteres vasculares colonizados por biofilmes, representando um grave problema de saúde pública (GULATI; NOBILE, 2016; MACIÀ *et al.*, 2018; SOHAIL; LATIF, 2018). Um estudo epidemiológico de análise de IRAS realizado em UTI de um Hospital Universitário de Fortaleza evidenciou que as bactérias mais isoladas em ordem decrescente foram *P. aeruginosa*, *K.pneumoniae*, *A. baumannii*, *S. aureus*, *Staphylococcus sp.* e *E.coli*. Os fungos representaram 14% da amostragem, sendo o gênero *Candida* o mais isolado, principalmente a espécie *C. albicans*. Além destes, foram isolados também *Trichosporon sp.*, *Criptococcus spp.* e *Geotrichum capitatum* (PEREIRA *et al.*, 2016).

O potencial de disseminação dos microrganismos do biofilme pode levar à bacteremia e/ou à fungemia, bem como a infecções sistêmicas. Como já mencionado, o teste tradicional de suscetibilidade a antimicrobianos quando realizado em colônias bacterianas em seu estado planctônico pode não representar as complexas características da comunidade microbiana no biofilme, o que acarreta falhas no tratamento. Altas doses de antimicrobianos são administradas a fim de sanar o processo infeccioso, resultando em aumento nas taxas de resistência e/ou da tolerância microbiana a estes fármacos, bem como apresentando efeitos adversos e graves danos a saúde dos pacientes (GULATI; NOBILE, 2016; KATHOON *et al.*, 2018; MACIÀ *et al.*, 2018).

As IRASs estão entre as principais causas de morbimortalidade e consistem em um problema relevante de saúde pública, na medida em que provocam complicações à saúde, prolongamento do período de hospitalização e elevação nos custos da assistência (SOUZA *et al.*, 2015). Trata-se de uma temática que desperta a atenção no cenário mundial por representar um evento não somente biológico, mas histórico e social, que ocasiona consequências diretas na segurança da assistência à saúde, constituindo um dos principais desafios globais no alcance da qualidade dos cuidados em saúde (OLIVEIRA; SILVA; LACERDA, 2016).

Com a necessidade de atingir as metas mundialmente propagadas de prevenção de IRAS, por meio de ações governamentais, foram criadas no Brasil a Lei 9431/97 que estabelece a obrigatoriedade da instituição do Programa de Controle de Infecções relacionadas à assistência à saúde (PCIRAS) em todos os hospitais (BRASIL, 1997) e a Portaria 2616/98 que determina o modo de

organização e implementação do PCIRAS (BRASIL, 1998). A última traz a definição de Controle de Infecção Hospitalar como um grupo de ações desenvolvidas de forma deliberada e sistemática, visando reduzir amplamente a incidência e a gravidade das IRAS, determina as diretrizes e a inserção no programa da existência de uma Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) e um Serviço de Controle de Infecção Hospitalar (SCIH) para coordenação, programação e execução das ações (BRASIL, 1997; BRASIL, 1998). O cerne destes documentos baseia-se predominantemente em vigilância epidemiológica ativa e elaboração de incidências de IRAS para estabelecimento de ações a partir dos dados obtidos. Mesmo que apresentem extrema relevância, o levantamento de informações retrospectivas não favorece fortemente ações proativas e de prevenção (OLIVEIRA; SILVA; LACERDA, 2016). As inspeções relativas ao Programa de Controle de Infecção Hospitalar nos diversos hospitais ocorrem de acordo como roteiro proposto e publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2000). O mesmo órgão estabelece também as metas e ações estratégicas para o Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde, cuja última edição foi proposta para o período de 2016 a 2020 (ANVISA, 2016).

A introdução de novos conhecimentos e a evolução de procedimentos de assistência à saúde são capazes de trazer a cura de doenças e proporcionar maior sobrevida aos indivíduos. Em contrapartida, representam fatores de exposição às IRASs ainda mais graves, como efeito de procedimentos invasivos e pela seleção de microrganismos altamente resistentes. As IRASs como um fenômeno multicausal, apresentam obstáculos para sua total erradicação. Desta forma, os esforços dos gestores e pesquisadores para redução das ocorrências estão direcionados a ações de controle e prevenção, onde há muito ainda a ser realizado. Torna-se necessário não somente criar políticas e estabelecer diretrizes e indicadores, como também prover suporte estrutural, capacitação profissional através de gestão de qualidade e disponibilização de recursos, o que requer investimentos constantes (OLIVEIRA; SILVA; LACERDA, 2016).

#### 4.3.2 Medidas de controle e prevenção de infecções associadas a biofilmes

Apesar da incidência e impacto que as ICS relacionadas ao uso de CVC acarretam aos pacientes e aos serviços de saúde, elas apresentam alto potencial

preventivo (COSTA, 2017). Na maioria dos casos, as ICS relacionadas ao CVC são consideradas uma complicação evitável à segurança do paciente, devendo ser prevenidas através de intervenções adequadas, no decorrer da inserção e da manipulação dos cateteres (COSTA, 2017; SILVA; OLIVEIRA, 2018).

Com a finalidade de prevenir e reduzir as ICS, as instituições hospitalares devem adotar estratégias específicas recomendadas por órgãos oficiais e *guidelines* e aplicá-las na prática clínica por meio de pacotes ou conjunto de intervenções (*bundle*) adotados a partir de treinamento das equipes, padronização de procedimentos, utilização de listas de verificações, protocolos de cuidados e avaliação por indicadores estabelecidos pelas instituições de saúde baseadas em evidências científicas (ANVISA, 2017; COSTA, 2017).

Os *bundles* são descritos como uma aplicação sistemática de um conjunto de medidas baseadas em evidências que ao serem aplicadas corretamente e absorvidas pela equipe em sua totalidade, aperfeiçoam os resultados dos pacientes. São reconhecidos como uma das estratégias mais usadas e mais eficazes para redução das ICS (FORTUNATTI, 2017), têm sido vastamente divulgados e vêm sendo adotados nas instituições hospitalares. Sua implementação é considerada eficaz na prevenção e diminuição das ICS relacionadas ao CVC e no aprimoramento da qualidade dos serviços prestados. Mesmo com os reconhecidos benefícios, a adesão dos profissionais a essas medidas ainda é baixa. A escassez de estudos abordando o resultado da adesão dos profissionais de saúde às recomendações configura um obstáculo ao avanço no combate e prevenção das infecções, demonstrando a necessidade de incentivo nesta área (SILVA; OLIVEIRA, 2018).

As diversas medidas podem ser realizadas separada ou sincronicamente. É importante levar em consideração a necessidade de cada instituição, o perfil dos pacientes atendidos, os recursos humanos, a disponibilidade de materiais, a rotina de educação continuada e treinamento da equipe responsável pela realização dos acessos venosos, a manutenção e cuidados com os dispositivos, bem como a vigilância, acompanhamento e avaliação das referidas medidas (SILVA; OLIVEIRA, 2018).

De acordo com o *Centers For Disease Control And Prevention* (CDC) (2011), os protocolos em geral são divididos em dois momentos: inserção e manutenção. Entre as medidas básicas de inserção para a prevenção de infecções estão: a boa higiene das mãos, a preparação da pele do paciente com antissépticos adequados,

seleção do local de inserção priorizando a veia subclávia e utilização de barreiras esterilizadas. As medidas de manutenção compreendem a higienização das mãos antes de manipular o dispositivo, fricção dos conectores e conexão do cateter com solução desinfetante preconizada pela instituição, desinfecção do *hub*, substituição periódica e adequada do curativo, bem como avaliação diária da necessidade de permanência do CVC e remoção imediata quando não mais indicado (COSTA, 2017; FORTUNATTI, 2017; SILVA; OLIVEIRA, 2018;). O *bundle* é flexível, visto que nem todas as medidas terapêuticas possíveis precisam estar inclusas, no entanto é necessária uma associação mínima e simplificada de práticas que devem ser escolhidas levando-se em consideração os custos e a facilidade de implementação e adesão dos profissionais (COSTA, 2017).

Por intermédio da estruturação e padronização de processos com base em evidências científicas, a execução de um *bundle* de prevenção é vantajosa no que diz respeito à qualidade da assistência e segurança dos pacientes por agregar cuidados específicos e produzir melhores resultados (ANVISA, 2017; COSTA, 2017).

Práticas de prevenção associadas à execução de medidas corretivas são essenciais para garantir a qualidade e elevar o desempenho dos processos de saúde. O objetivo comum é reduzir a influência e impacto de condições externas ao paciente capazes de interferir e potencializar o risco de infecções como a realização incorreta de técnicas, descumprimento de normas e rotinas, não utilização de barreiras de proteção previstas, bem como a desatualização e não realização da educação continuada dos profissionais envolvidos (COSTA, 2017).

Uma medida básica, porém indispensável, é a verificação diária da necessidade de permanência do CVC. A utilização de cateter sem indicação ou justificativa clínica é um fator de risco para ocorrência de ICS. Desta forma, quando seu uso for considerado dispensável, o cateter deve ser removido imediatamente (SILVA; OLIVEIRA, 2018). No tocante à instalação e à estabilização do cateter, é importante realizá-las de modo que o deslocamento no interior do vaso seja minimizado a fim de evitar interferências no acesso, na infusão da terapia ou no monitoramento do sítio de inserção (COSTA, 2017).

Outra importante ação é a assepsia do local de inserção do cateter e a cada troca de curativo, que por reduzir a carga microbiana auxilia na diminuição da ocorrência de infecções. É recomendado retirar sujidades da pele e posteriormente preparar a pele com antissépticos padronizados pela instituição de saúde (COSTA,

2017; SILVA; OLIVEIRA, 2018). Tal prática simples, de fácil implementação e custo reduzido impacta positivamente a rotina de prevenção nos estabelecimentos de saúde. A escolha de bons antissépticos é essencial, levando-se em consideração a atividade antimicrobiana, o efeito residual e o tempo de ação (SILVA; OLIVEIRA, 2018). O preparo da pele, segundo a ANVISA (2017) pode ser realizada com solução alcoólica de gliconato de clorexidina > 0,5% por 30 segundos por meio de movimentos em sentidos opostos.

O risco-benefício das recomendações do sítio de inserção relacionado com maior risco de infecção e as chances de complicações mecânicas devem ser avaliados. Uma orientação baseada em evidência científica é evitar a veia femoral como acesso central em adultos, devido ao maior risco de colonização. As veias jugular interna e subclávia apresentam menor risco de infecções, porém há possibilidade de complicações mecânicas, como o risco de estenose para veia subclávia. Desta forma, a capacidade do profissional em executar a técnica adequadamente deve ser levada em consideração na definição do sítio (CDC, 2011; COSTA, 2017).

Os programas de educação permanente e de treinamento dos profissionais de saúde são considerados medidas eficazes na prevenção e redução das infecções relacionadas aos cateteres, ademais elevam a qualidade dos serviços prestados. As técnicas adequadas à inserção e manutenção do CVC que devem ser designadas exclusivamente aos profissionais treinados e competentes na função, a avaliação periódica do conhecimento dos mesmos, verificação da adesão das medidas adotadas, vigilância e notificação das infecções, bem como o levantamento e exposição dos resultados obtidos relacionados à redução das infecções e auditoria dos processos devem estar incluídos nestes programas (SILVA; OLIVEIRA, 2018). Treinamentos com simulações das técnicas corretas da inserção de dispositivos médicos com intuito de atenuar complicações decorrentes da inexperiência, demonstrações por vídeos, bibliografia comentada e estabelecimento de metas diárias são considerados boas ferramentas (COSTA, 2017). É importante estabelecer treinamentos com abordagem global e multidisciplinar, contemplando intervenções comportamentais e educacionais para toda a equipe (SILVA; OLIVEIRA, 2018).

A educação continuada na terapia intensiva, quando baseada em resultados observacionais, processos padronizados e estratégias que reforçam o

comportamento adequado é determinante no alcance dos resultados esperados de maneira eficaz, assegurando a qualidade da assistência. A partir de um programa bem planejado e implementado, os profissionais são direcionados na tomada de decisões apropriadas, aprimorando os cuidados e o tratamento estabelecido aos pacientes críticos (CDC, 2011; COSTA, 2017).

A mudança de comportamento é um dos principais objetivos e desafios dos programas educativos. O conhecimento, comprometimento e adesão dos profissionais às ações de prevenção de infecção de CVC é um reforço primordial na cultura de segurança (COSTA, 2017).

A barreira máxima de precaução compreende a paramentação do profissional com luva esterilizada, gorro, máscara, avental esterelizado de manga longa; e utilização de campo esterelizado ampliado, de forma a cobrir o corpo todo do paciente (ANVISA, 2017). Tal medida visa contribuir para redução da contaminação do paciente pela microbiota do profissional e do ambiente no ato da inserção do CVC (COSTA, 2017). A técnica asséptica deve ser garantida durante todo o procedimento, em situação de inserção emergencial sem uso da barreira máxima, o cateter deverá ser trocado para outro sítio no período de 48 horas ou quando exequível (COSTA, 2017).

Nas instituições de assistência à saúde, as mãos dos profissionais são um dos veículos principais de transmissão das infecções por albergar microrganismos, carreando-os de uma superfície para outra por contato direto ou indireto. Pesquisadores relatam que os principais microrganismos causadores de infecção por contaminação de cateter são provenientes das mãos dos profissionais que manuseiam esses dispositivos (COSTA, 2017).

A higienização das mãos constitui uma das recomendações individuais mais importantes e de menor custo aplicadas na prevenção das infecções relacionadas à assistência à saúde (ANVISA, 2018; BRASIL, 1998). A higienização simples consiste na remoção de microrganismos, suor, oleosidade e células mortas da pele com uso de água e sabão, já na higienização antisséptica são utilizados água e sabonete antisséptico com intuito de diminuir a carga microbiana das mãos (ANVISA, 2018). Há a antisepsia cirúrgica das mãos onde escovas de cerdas macias e descartáveis, impregnadas ou não com antisséptico são usadas para eliminar a microbiota transitória da pele e reduzir a microbiota residente, promovendo efeito residual. O procedimento de higienização deve ser efetuado nos seguintes momentos: antes de



entrar em contato com o paciente, antes da realização de técnicas assépticas, após contato com fluidos corporais, após contato com paciente e após contato com áreas próximas ao paciente (ANVISA, 2018; COSTA, 2017).

Para manutenção do cateter, é importante realizar desinfecção cuidadosa das conexões do cateter como o *hub* com solução antisséptica à base de álcool, com movimentos aplicados de forma a gerar fricção mecânica por 5 a 15 segundos, antes e após a manipulação na administração de medicamentos, coletas de exames e trocas de dispositivos a fim de minimizar o risco de contaminação por microrganismos. Tal ação tem grande relevância e forte nível de evidência da eficácia no controle e prevenção de infecções (ANVISA, 2017).

O monitoramento diário do local de inserção é imprescindível (COSTA, 2017; SILVA; OLIVEIRA, 2018). Deve-se buscar a detecção prévia de complicações pela presença de sensibilidade local, febre ou outra manifestação sugestiva de infecção e posteriormente avaliar se o CVC caracterizou-se como a fonte (SILVA; OLIVEIRA, 2018). A umidade da pele e a presença de sujidade e secreções sob o curativo do cateter promovem um ambiente favorável ao crescimento microbiano. Por isso, os curativos devem ser substituídos conforme preconizado. O curativo feito com gaze esterilizada deve ser trocado em até 48 horas, por conta do risco de umedecer e por impedir a visualização da pele. Por outro lado, o curativo transparente semipermeável de poliuretano requer trocas mais espaçadas por permitir a visualização do local de inserção, podendo ser mantido por até sete dias ou quando estiver sujo, solto ou úmido (SILVA; OLIVEIRA, 2018).

Estudos demonstram que a implementação das medidas contempladas pelos *bundles* reduzem os índices de infecção e geram benefícios econômicos. Tendo em vista as vantagens conferidas, justifica-se a importância de difundir tais práticas na realização do procedimento de inserção do CVC (COSTA, 2017; SILVA; OLIVEIRA, 2018).

É de fundamental importância o conhecimento dos profissionais a respeito das ações de prevenção de infecção de CVC através de treinamentos e capacitações com intuito de alcançar a segurança necessária e imprescindível na técnica de inserção e manipulação dos cateteres, reduzindo assim os eventos adversos relacionados a esses dispositivos. Através da educação continuada bem planejada e executada, os resultados esperados podem ser atingidos de maneira

eficaz, garantindo a qualidade da assistência e aperfeiçoamento dos cuidados aos pacientes (COSTA, 2017).

Acompanhar os casos das infecções de corrente sanguínea por cateter é fator essencial aos serviços de saúde. A utilização de indicadores para expressar os riscos e ocorrências envolvendo CVC além de proporcionar um acompanhamento sistemático, também propicia uma avaliação da qualidade da assistência prestada. Com a análise dos indicadores pode-se criar e estabelecer estratégias pertinentes para prevenção de infecções, considerando as características inerentes à Instituição. Para tanto, a vigilância epidemiológica deve ser contínua ou periodicamente definida e cumprida (COSTA, 2017).

#### 4.4 *Staphylococcus aureus*

##### 4.4.1 Características do microrganismo

*S. aureus* é uma das espécies bacterianas mais estudadas pela ciência, o que não é de se surpreender, por ser de impacto expressivo na saúde pública. Desde o primeiro isolamento por Ogston e a descrição da espécie por Rosenbach, no final do século XIX, a identificação de *S.aureus* como agente etiológico de infecções em seres humanos e outros animais tem sido constante. *S. aureus* mostrou-se um inimigo formidável prevalecendo em nichos e contextos surpreendentes. O sequenciamento do genoma de diferentes clones do microrganismo tem mostrado que a plasticidade genômica da espécie é notável. A capacidade dessa espécie de albergar genes oriundos de outras espécies de forma estável confere-lhe a resiliência que fomenta o seu sucesso (EUZÉBY, 2019; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). As colônias de *S. aureus* podem apresentar uma coloração amarelo-ouro, como resultado da expressão de pigmentos carotenóides que se formam durante o seu crescimento, daí o nome da espécie (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017).

A espécie é representante do gênero *Staphylococcus*, que devido à similaridade filogenética, pertence ao filo *Firmicutes*, ao grupo *Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus*. O gênero composto por 54 espécies e 28 subespécies (EUZÉBY, 2019) foi incluído na família *Staphylococcaceae*, que pertence à ordem *Bacillales*, classe *Bacilli* (MADIGAN *et al.*, 2016, TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

Os estafilococos são cocos Gram-positivos que quando cultivados em meio sólido crescem em um padrão característico que se assemelha a um cacho de uvas que podem ser evidenciados por microscopia óptica através da coloração de Gram, no entanto, os microrganismos nos espécimes clínicos podem, também, se apresentar como células isoladas, aos pares ou em cadeias curtas (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). São células grandes, de 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, capazes de crescer e potencialmente causar doença em uma variedade de condições (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017).

São anaeróbios facultativos, não fastidiosos, imóveis, que exibem metabolismo respiratório, mas também podem crescer de forma fermentativa. As espécies desse grupo são catalase positivas. Estafilococos são relativamente resistentes a potenciais de água reduzidos, tendo tolerância ao dessecação e altas concentrações de cloreto de sódio de até 25% (MADIGAN *et al.*, 2016; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). Apresentam resistência a diversas condições ambientais, podendo sobreviver em ambientes secos, com pH entre 4,2 e 9,3 e temperaturas entre 6°C e 48°C (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

Os estafilococos são microrganismos ubíquos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017). No corpo humano, *S. aureus* pode ser isolado de vários sítios, mas o isolamento a partir de amostras obtidas da cavidade nasal anterior é mais constante do que o isolamento a partir de outros sítios, que incluem a faringe, a vagina, axilas e alguns sítios de pele queratinizada, especialmente o períneo, o tronco e os membros superiores, com maior prevalência na mão (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). Aproximadamente 15% dos adultos saudáveis normais são portadores persistentes de *S. aureus* na nasofaringe, com uma incidência maior em pacientes hospitalizados, em profissionais de saúde, indivíduos com doenças eczematosas da pele e aqueles que usam agulhas regularmente (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017).

Os estafilococos são patógenos importantes para os seres humanos, sendo responsáveis por infecções oportunistas e por um amplo espectro de doenças sistêmicas de gravidade considerável, incluindo infecções de tecidos moles, ossos e trato urinário (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017). *S. aureus* é frequentemente encontrado em comunidades microbianas associadas a um

hospedeiro humano. Quando se encontra como integrante da microbiota do paciente em sítios normais, uma relação comensal é estabelecida, mas a mesma pode rapidamente tornar-se parasítica, o que torna *S. aureus* um patógeno oportunista, agindo como agente etiológico de diferentes doenças como infecções superficiais, síndromes toxigênicas e infecções profundas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). Devido à sua presença na pele e na nasofaringe, a disseminação destas bactérias é comum e responsável por muitas das infecções adquiridas no hospital. Os estafilococos são suscetíveis a temperaturas elevadas, desinfetantes e soluções antissépticas, mas em contrapartida, podem sobreviver em superfícies secas por longos períodos. Os microrganismos podem ser transferidos para um indivíduo suscetível através do contato direto ou através do contato com fômites (vestimentas e roupas de cama contaminadas). O carreamento de *S. aureus* por hospedeiros assintomáticos influencia a epidemiologia das infecções causadas pela espécie, já que linhagens virulentas e/ou resistentes podem ser transportadas sem causar danos ao hospedeiro até que a bactéria encontre-se em situação propícia para que a infecção se instale. Isso impossibilita o controle da disseminação, já que é inviável impedir a colonização da população em geral de forma eficiente (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). Portanto, a equipe clínica deve utilizar técnicas apropriadas para lavagem das mãos a fim de prevenir a transferência de linhagens de estafilococos para os pacientes e entre os pacientes (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017).

Esta bactéria é o agente causador de infecções relacionadas a dispositivos e tubos cirúrgicos, que aumentam grandemente a morbimortalidade, os custos do tratamento, e internação hospitalar. Antimicrobianos convencionais utilizados na rotina de tratamento de infecções não são eficazes contra o biofilme, agravando a situação. Mecanismos de patogenicidade, resistência adquirida e o rápido desenvolvimento de mutações são as principais causas relacionadas ao aparecimento de amostras de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) como agentes infecciosos epidêmicos (SOHAIL; LATIF, 2018).

Os agravos de saúde provocados por *S. aureus* ocorrem devido à presença e à expressão de genes que codificam fatores de virulência. Devido à plasticidade genômica, nem toda linhagem da espécie possui a mesma constituição genética e, portanto, a prevalência dos genes que levam a patogênese varia bastante em subpopulações. Os genes são expressos apenas em determinadas condições e a

instalação de um processo infeccioso depende também da resposta do hospedeiro à infecção (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). A habilidade dos estafilococos de causar doença depende de sua competência em evadir à resposta imune, de produzir proteínas de superfície que medeiam a aderência das bactérias aos tecidos do hospedeiro durante a colonização e de causar a doença através da elaboração de toxinas específicas e enzimas hidrolíticas que conduzem à destruição de tecidos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017).

Linhagens de *S. aureus* em sua maioria produzem uma cápsula de natureza polissacarídica na camada mais externa que engloba e recobre a célula. A cápsula possui a função de proteção ao inibir a fagocitose da célula pelo sistema imune do hospedeiro. É sintetizada por um cluster de genes que codifica a expressão de onze tipos diferentes de cápsula polissacarídica, todas compostas de polímeros de ácidos hexosaminurônicos com uma sequência característica para cada tipo. A maior parte dos isolados de *S. aureus* encontrados em humanos apresentam cápsula do sorotipo 5 ou 8 (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

Proteínas transmembranas ligadas à parede celular de *S. aureus*, ficam voltadas ao meio externo e possibilitam a interação com diferentes substratos e com a matriz extracelular de um hospedeiro, atuando como adesinas denominadas MSCRAMMs, do inglês *Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules*. Esses componentes de superfície microbiana que reconhecem moléculas da matriz extracelular do tecido dos hospedeiros proporcionam adesão do microrganismo a um sítio específico do hospedeiro, configurando importantes fatores de virulência, visto que torna-se difícil a sua remoção com o fluxo de fluídos biológicos ou outros meios físicos. Diferentes MSCRAMMs podem estar presentes ou ausentes em determinadas linhagens, e há correlação entre a expressão de determinado MSCRAMM com o tipo de infecção causada (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). As mais conhecidas são a proteína A estafilocócica, as proteínas A e B ligadoras de fibronectina e o fator de aglutinação A e B (*clumping factor*).

O fibrinogênio é encontrado em abundância no plasma e recobre corpos estranhos inseridos em tecidos biológicos, como próteses e cateteres. *S. aureus* pode utilizar o fibrinogênio para se aderir a superfícies inanimadas através da proteína ligadora de fibrinogênio, também chamada *Clumping Factor*, convertendo-o

em fibrina insolúvel, possibilitando o agrupamento destes cocos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

*S. aureus* produz a enzima coagulase, codificada pelo gene *coa*. Essa enzima promove a coagulação do plasma e de fluidos ricos em fibrinogênio, sem a ativação da cascata de coagulação fisiológica, ao reagir com a protrombina presente no sangue e formar o complexo estafilotrombina. Este último é capaz de transformar fibrinogênio em fibrina, formando então um coágulo no entorno das células estafilocócicas. Esse mecanismo de patogenicidade é essencial para a formação de abscessos e contribui para evasão às células do sistema imune do hospedeiro, pois atua como proteção (MADIGAN *et al.*, 2016; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). A produção da enzima coagulase é um teste diagnóstico útil, ao suspender uma colônia de *S. aureus* em plasma há a formação de um coágulo visível (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017).

A presença de proteína ligadora de colágeno (CNA) está relacionada a infecções de tecidos duros como osteomielite e artrite séptica. As proteínas ligadoras de fibronectina (FnBPs) tem como alvo a fibronectina que é uma molécula presente abundantemente em tecidos e fluidos. Tal ligação permite a adesão da célula a uma grande extensão de sítios no hospedeiro (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

A proteína A estafilocócica (SpA) é uma adesina de *S. aureus* que não é uma MSCRAMM. A SpA participa da evasão da resposta imune ao ligar-se aos receptores Fc de imunoglobulinas de classe IgG, o que dificulta o reconhecimento desta região das imunoglobulinas por células do sistema imune do hospedeiro, comprometendo os processos de opsonização e fagocitose contra *S. aureus* (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

Uma estratégia de crescimento das células bacterianas é a produção de enzimas que são secretadas no meio externo e que agem em substratos gerando produtos que conferem vantagem nutricional. Enzimas denominadas invasinas medeiam o processo de penetração da célula bacteriana em camadas mais profundas do hospedeiro. Tratam-se de enzimas líticas, que catalisam a quebra de moléculas complexas do hospedeiro de forma a degradar seus tecidos, proporcionando uma solução de continuidade das barreiras físicas do hospedeiro. A degradação das moléculas culmina ainda na geração de material nutriente como peptídeos, aminoácidos, ácidos graxos e nucleotídeos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

As nucleases termoestáveis de *S. aureus* têm ação como endonucleases - clivam ácidos nucléicos, e exonuclease - digerem ácidos nucléicos a partir de suas extremidades. Já as lipases degradam triacilgliceróis e fosfolípídeos componentes das células do hospedeiro. Como mecanismo de evasão, a enzima catalase quebra o peróxido de hidrogênio, uma espécie reativa de oxigênio, produzida pelas células do sistema imune do hospedeiro, formando água e oxigênio (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). As hialuronidasas degradam ácido hialurônico, integrante da matriz extracelular dos tecidos conjuntivo e epitelial, propiciando a disseminação dos microrganismos (MADIGAN *et al.*, 2016; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

As toxinas citolíticas são proteínas que causam a formação de poros na membrana citoplasmática de células do hospedeiro, com o consequente extravasamento do conteúdo intracelular dessas células e morte. São fatores de virulência direcionados à hemácias e leucócitos, as eritrolisinas e as leucotoxinas, respectivamente. A prevalência das leucotoxinas de *S. aureus* é variável entre as linhagens. As conhecidas são gama-hemolisina (HlgACB) – capaz também de lisar hemácias, a leucotoxina AB/GH (LukAB/GH), a leucotoxina ED (LukED) e a leucocidina de Panton-Valentine (PVL). Destacam-se também duas toxinas esfoliativas (A e B), numerosas enterotoxinas (A a E, G a X, com diversas variantes) e a toxina-1 da síndrome do choque tóxico - TSST-1 do inglês, *toxic shock syndrome toxin-1* (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017)

As bactérias apresentam mecanismos que favorecem a adaptação rápida e eficientemente às mudanças do ambiente, coordenados e regulados pela expressão gênica. Os promotores e operadores são sequências de DNA que antecedem um gene ou um operon, que são reconhecidos por fatores sigmas, proteínas ativadoras e repressoras e, têm como função controlar expressão dos mesmos. Assim, todos os genes que codificam as enzimas de uma via particular podem ser coordenadamente regulados (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017). O êxito de *S. aureus* em triunfar em variadas condições ambientais e em diferentes contextos clínicos é explicado em parte por sua habilidade de expressar diferentes genes em diferentes condições e diferentes fases de crescimento. Seus fatores de virulência podem ser considerados genes acessórios, visto que não são estritamente necessários para a reprodução e metabolismo, mas conferem vantagem seletiva à espécie (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

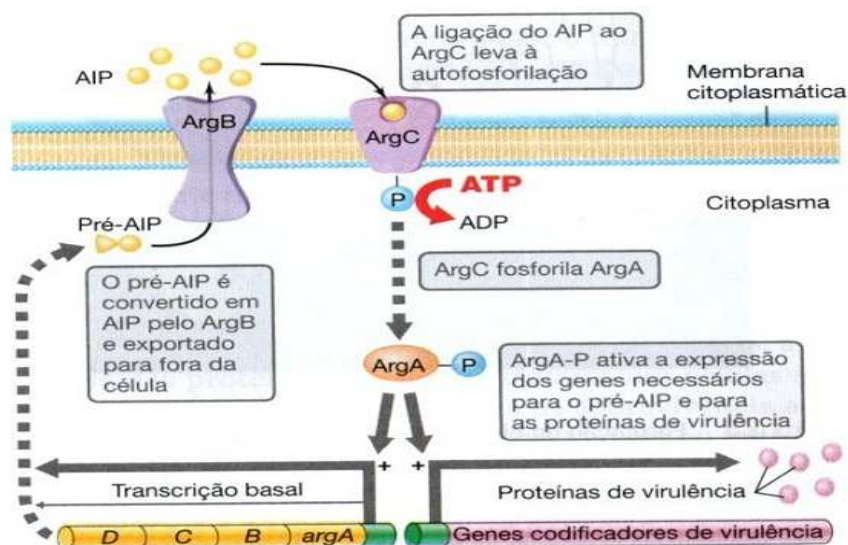
A coordenação temporal da expressão dos fatores de virulência necessários para a instalação de uma infecção é feita através de sistemas reguladores que atuam sobre os genes que codificam esses fatores de virulência (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

Dentre os vários sistemas de regulação da expressão gênica em *S. aureus*, o mais bem compreendido e que exerce uma ação maior sobre a expressão de virulência é o sistema *agr* – *accessory gene regulator*. O funcionamento do sistema *agr* resulta na capacidade da célula em expressar determinados genes de virulência de acordo com a fase de crescimento da população. Quando a densidade populacional é baixa, o sistema permite a expressão de proteínas de adesão e favorece a colonização dos tecidos, já em condições de alta densidade, coordena a produção de enzimas hidrolíticas e toxinas (CASTRO, 2017; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

O sistema *agr* possui dois operons divergentes localizados um em cada fita de DNA. O operon regulado pelo promotor P2 codifica a transcrição policistrônica de quatro genes *AgrA*, *AgrB*, *AgrC* e *AgrD*, que se inter-relacionam. O mecanismo pelo qual isso ocorre, dá-se pelo processamento do peptídeo *AgrD* pela endopeptidase *AgrA*, resultando na produção de um peptídeo autoindutor – AIP, que ao ser secretado para o meio extracelular é reconhecido pela proteína transmembrânica *AgrC*, que por sua vez, recebe o efeito agonista do mesmo, culminando na ativação de sua porção quinase tornando-a capaz de fosforilar *AgrA*. Uma vez fosforilado, *AgrA* torna-se o indutor dos promotores P2 e P3, aumentando a transcrição de RNAlII, que está sob o controle do promotor P3. O RNAlII atua como indutor e repressor da transcrição de numerosos genes de virulência promovendo a tradução dos genes da cápsula, enzimas e toxinas. Quando o mesmo se encontra em alta concentração, a tradução das MSCRAMMs e da coagulase são inibidas, tendo em vista o favorecimento da invasão dos tecidos do hospedeiro e o desencadeamento de síndromes toxigênicas (CASTRO, 2017; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; SOLANO; ECHEVERZ; LASA, 2014; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).



Figura 3 - Produção de fatores de virulência em *Staphylococcus*



Fonte: MADIGAN *et al.*, 2016

#### 4.4.2 Relação entre *Staphylococcus aureus* e a formação do biofilme

A espécie *S. aureus* é um dos principais agentes causadores de infecções por formação de biofilmes em cateteres vasculares devido à presença de genes de adesão. A formação de biofilmes favorece a sobrevivência ambiental da espécie. Apresentam ampla resistência a antimicrobianos e à fagocitose por células do sistema imunológico do hospedeiro, resultando em altos índices de morbidade e mortalidade (SURESH; BISWAS; BISWAS, 2019). É relatado que as bactérias sésseis são 500 a 5.000 vezes mais tolerantes aos antimicrobianos em comparação com os seus estados flutuantes (KATHOON *et al.*, 2018).

A formação de biofilmes por estafilococos compreende um processo de três principais etapas: fixação bacteriana a uma superfície, formação e maturação e dispersão do biofilme. A fixação inicial de bactérias em superfícies plásticas abióticas de dispositivos médicos ocorre por atração hidrofóbica, e a adesão se dá por interações eletrostáticas e de *Van der Waals* (SURESH; BISWAS; BISWAS, 2019). Após a inserção de um dispositivo, proteínas humanas recobrem sua superfície, possibilitando a interação de MSCRAMMs estafilocócicas aos componentes da matriz extracelular humana (RAAFAT *et al.*, 2019; TONG *et al.*, 2015). A ligação de *S. aureus* à fibronectina humana por meio de FnBPs A e B é considerada um passo inicial crítico na patogênese das infecções em biomateriais, além da indução à

invasão bacteriana em células epiteliais, endoteliais e queratinócitos (TONG *et al.*, 2015). Outros MSCRAMMs contribuintes na formação e desenvolvimento do biofilme são os fatores de aglutinação, a proteína de ligação ao colágeno, a proteína de ligação ao fibrinogênio, a proteína de ligação à laminina e às proteínas Sdr (sdrC, sdrD e sdrE) pois promovem adesão a biomateriais e tecidos (SOHAIL; LATIF, 2018; SURESH; BISWAS; BISWAS, 2019). Em contrapartida, albumina e o soro total humano inibem a adesão bacteriana a superfícies poliméricas, metálicas e cerâmicas (KATHOON *et al.*, 2018).

Proteínas de superfície como autolisina AtlA, desempenham um importante papel na estabilização da estrutura do biofilme pela indução da liberação de DNA extracelular (eDNA), que por sua vez, é relatado como sendo responsável pela comunicação celular em biofilmes por estafilococos, principalmente nos estágios iniciais do desenvolvimento (KATHOON *et al.*, 2018; SURESH; BISWAS; BISWAS, 2019). As nucleases extracelulares de *S. aureus* atuam na proteção do biofilme por impedirem a ação de células de defesa humana como os neutrófilos (KATHOON *et al.*, 2018).

Com a colonização, ocorre a expressão dos genes necessários para sintetizar a matriz extracelular, que possibilita a agregação intercelular e o desenvolvimento de uma estrutura multi-camadas. A matriz em *S. aureus* é composta por polissacarídeos, ácidos teicóicos, eDNA e proteínas de superfície. A composição é quantitativamente variável nos diferentes isolados de *S. aureus* (SURESH; BISWAS; BISWAS, 2019; TONG *et al.*, 2015).

As células se dividem formando micro-colônias e cobrindo de maneira não uniforme a superfície de um dispositivo. A adesina intercelular polissacarídica (PIA), presente em algumas linhagens de *S. aureus*, conhecida como poli-Nacetilglucosamina (PNAG) auxilia na adesão célula a célula, cuja natureza catiônica facilita a ligação bacteriana às superfícies das células hospedeiras, levando à formação de biofilmes mais robustos. A síntese do exopolissacarídeo PNAG nesta bactéria é mediada pelo operon icaADBC. Alguns isolados possuem a capacidade de formar biofilmes sem utilizar essa ferramenta, no entanto, são considerados fenótipos menos virulentos (RAAFAT *et al.*, 2019; SOLANO; ECHEVERZ; LASA, 2014; TONG *et al.*, 2015).

A maturação do biofilme ocorre em um primeiro estágio pela comunicação intercelular e pela produção de moléculas sinalizadoras de QS como AHL.

Posteriormente há um aumento do tamanho e da espessura das micro-colônias, formando uma macro-colônia. O controle da expressão de genes se dá pela comunidade, ao invés de ser realizado por células individuais (KATHOON *et al.*, 2018). A fase de formação e maturação, além da multiplicação bacteriana, é caracterizada pela secreção de componentes da matriz e o estabelecimento da arquitetura tridimensional do biofilme (RAAFAT *et al.*, 2019).

Por fim, na última etapa, algumas células retornarão ao estado planctônico por dispersão devido ao estresse hemodinâmico e à indisponibilidade de nutrientes, levando à bacteremia (TONG *et al.*, 2015). O despreendimento de células ou aglomerados de um biofilme pode ser desencadeado apenas por forças de cisalhamento mecânico, como encontradas na corrente sanguínea. A dispersão é crucial para a disseminação sistêmica de uma infecção associada a biofilme e a mesma pode ser facilitada por atividade de fatores estruturantes do biofilme (RAAFAT *et al.*, 2019). Em *S. aureus*, o sistema *Agr* exerce papel nessa dispersão através do controle da transcrição dos peptídeos segregados PSMs com propriedades do tipo surfactante capazes de interromper as interações de moléculas da matriz de biofilme, como por exemplo, a PNAG. Além da atuação na dispersão do biofilme, PSMs também influenciam o volume, espessura, rugosidade e formação de canais nos biofilmes em algumas linhagens estudadas. Os PSMs podem desempenhar uma função dupla de acordo com o estado de agregação. Como monômeros, eles têm propriedades surfactantes que promovem a desmontagem do biofilme, mas quando polimerizam em fibras do tipo amilóide favorecem seu desenvolvimento (RAAFAT *et al.*, 2019; SOLANO; ECHEVERZ; LASA, 2014).

## 4.5 *Candida albicans*

### 4.5.1 Características do microrganismo

Representante dos Ascomycetes e do gênero *Candida*, a espécie *C. albicans* apresenta-se sob a forma de células leveduriformes ovais (3 a 5 µm), que produzem brotamentos ou blastoconídeos. São produtoras de hifas verdadeiras e pseudo-hifas. Formam tubos germinativos e clamidoconídios terminais de paredes espessas (MADIGAN *et al.*, 2016; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017).

O agente etiológico *C. albicans* é o mais comum da candidíase humana, é um microrganismo ubíquo, que tem como primeiro ponto de colonização o trato gastrointestinal – da cavidade oral até o reto, atuando como membro da microbiota humana saudável. Pode ser comensal também na vagina, na uretra, na pele e sob as unhas das mãos e dos pés. Além disso, é encontrada no ar, na água e no solo (GULATI; NOBILE, 2016; LINDSAY; HOGAN, 2014; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017). Na maioria dos indivíduos com um sistema imunológico competente, *C. albicans* é um comensal inofensivo que coexiste em harmonia com outros membros da microbiota. No entanto, perturbações a este equilíbrio, provocadas por variações no ambiente, como mudanças de pH e modificações nutricionais; uso de antimicrobianos e alterações no sistema imunológico do hospedeiro podem favorecer a rápida e exacerbada proliferação do fungo, causando infecção (GULATI; NOBILE, 2016). Os níveis da colonização podem elevar até serem detectáveis como infecções ou levar a condições em que os mecanismos de defesa do hospedeiro sejam comprometidos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017). As taxas de colonização aumentam expressivamente em pacientes hospitalizados, portadores de infecção pelo HIV, usuários de próteses dentárias, diabéticos, crianças, pacientes sob quimioterapia antineoplásica e sob uso de antimicrobianos. Indivíduos imunocompetentes e imunocomprometidos podem ser acometidos pela infecção por *C. albicans*, contudo, estas infecções são especialmente graves neste último grupo (GULATI; NOBILE, 2016; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017). Em indivíduos saudáveis, a população de *C. albicans* é controlada por uma combinação do sistema imunológico do hospedeiro, microbiota residente e integridade de barreiras epiteliais (LINDSAY; HOGAN, 2014).

A maioria das candidíases constitui uma infecção endógena, na qual a microbiota do hospedeiro se aproveita de uma oportunidade, como um enfraquecimento de barreiras do sistema imune contra a espécie, para causar a infecção. A contaminação exógena de *Candida* também pode ser responsável por muitos incidentes de candidíase, como por exemplo, o uso de soluções contaminadas, nutrição parenteral e transdutores de pressão vascular. As mãos dos profissionais de saúde são potenciais reservatórios para a transmissão nosocomial (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). Estudos têm evidenciado que o gênero *Candida* pode ser isolado em variados pontos no ambiente hospitalar, como superfícies de paredes de UTI, de salas de

cirurgia, de brinquedos em brinquedotecas, em sistemas de climatização e das mãos de profissionais médicos, enfermeiros e atendentes (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

*C. albicans* pode provocar uma ampla gama de infecções, desde superficiais da mucosa e da pele, à candidíase hematologicamente disseminada (GULATI; NOBILE, 2016). As implicações da fungemia por *Candida* em pacientes hospitalizados são graves. Colonizam a mucosa gastrointestinal e podem atingir a corrente sanguínea por translocação gastrointestinal ou através de cateteres vasculares contaminados, interagem com as defesas do hospedeiro e deixam o compartimento intravascular atingindo tecidos profundos de órgãos-alvo como fígado, baço, rins, coração e cérebro (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). O fungo está envolvido na colonização de cateteres e consequentemente associado com o risco de disseminação de doença (LINDSAY; HOGAN, 2014).

O microrganismo possui várias características de virulência, incluindo a produção de enzimas de degradação e adesinas, a hidrofobicidade de sua superfície celular, a capacidade de sofrer comutação fenotípica e poder mudar reversivelmente entre diversos tipos morfológicos, desde as típicas colônias brancas e lisas, compostas predominantemente de células leveduriformes e em brotamento, até colônias algodonosas compostas por hifas ou pseudo-hifas (KRUPPA, 2009; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017).

Algumas espécies de *Candida* secretam aspartil proteinases que hidrolisam as proteínas de defesa do hospedeiro, permitindo que as leveduras rompam barreiras de tecido conjuntivo. Outras enzimas importantes na invasão tecidual são as fosfolipases, capazes de lesar as células do hospedeiro (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017).

A espécie *C. albicans* regula sua mudança morfogênica através da densidade celular, condição relacionada ao QS, bem como em resposta a sinais ambientais (KRUPPA, 2009; LINDSAY; HOGAN, 2014). A capacidade de sofrer morfogênese é um importante mecanismo que o microrganismo usa para sobreviver ao ambiente hospedeiro, uma vez que células com bloqueio do polimorfismo apresentam virulência atenuada (KRUPPA, 2009; LINDSAY; HOGAN, 2014).

As mudanças fenotípicas contribuem para a virulência por possibilitar que o organismo se adapte a variações em seu microambiente, facilitando sua capacidade

de sobreviver, invadir tecidos e evadir das defesas do hospedeiro. Os diferentes fenótipos representam diferenças na formação de brotamentos e hifas, na expressão de glicoproteínas de parede celular, na secreção de enzimas proteolíticas (proteínases e fosfolipases), na suscetibilidade à lesão oxidativa por neutrófilos e na resistência a antifúngicos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2017). Toxinas produzidas pelo fungo ainda estão em estudo como, por exemplo, a cândida-toxina (TRABULSI; ALTERTHUM, 2017).

#### 4.5.2 Relação de *Candida albicans* e a formação do biofilme

A habilidade de formar biofilmes é um dos principais fatores de virulência da espécie *C.albicans*. É o fungo predominantemente encontrado colonizando biofilmes estabelecidos em cateteres, atuando como reservatório de células capazes de se disseminar e provocar doenças sistêmicas (GULATI; NOBILE, 2016; TRUJILLO *et al.*, 2012). Em biofilmes, a levedura apresenta acentuada resistência aos antifúngicos usuais, exibindo um aumento de resistência de até 1.000 vezes quando comparado ao estado planctônico e grande capacidade de evasão do sistema imunológico do hospedeiro, dificultando significativamente seu tratamento e combate (GULATI; NOBILE, 2016; KEAN *et al.*, 2017). Tal fato ressalta a necessidade de desenvolvimento de novas terapias antifúngicas com eficácia contra essas comunidades. A resistência às drogas antifúngicas clássicas é multifatorial, mas é em grande parte devido a três fatores principais: regulação positiva das bombas de efluxo, a presença da matriz extracelular e a existência de células persistentes- com um fenótipo mais resistente devido ao seu baixo metabolismo (GULATI; NOBILE, 2016; HENRIQUES; VASCONCELOS; CERCA, 2013).

O estado sésil das células microbianas confere proteção contra as defesas do hospedeiro, o que pode ser demonstrado pela diminuição da resposta dos neutrófilos devido à presença de glucanos na matriz extracelular. Durante crescimento invasivo, as hifas são capazes de penetrar nas camadas de células epiteliais e de células fagocíticas causando-lhes danos. Pra1, Gpd2 são aspartil proteínases largamente secretadas durante a formação de biofilme, e atuam bloqueando a ativação do sistema complemento. De modo semelhante, Msb2 é uma proteína expressa em biofilmes envolvida no bloqueio de peptídeos antimicrobianos secretados pelo hospedeiro (GULATI; NOBILE, 2016).

A competência do fungo em aderir a diversos tecidos e superfícies inanimadas é adquirida por uma combinação de mecanismos específicos como interação ligante-receptor, e inespecíficos, como forças eletrostáticas e de *Van der Waals*. A adesão de células de *C. albicans* a diferentes superfícies bióticas e abióticas é um fator significativo para a robustez característica dos biofilmes da espécie (GULATI; NOBILE, 2016; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017). Uma particularidade do biofilme de *C. albicans* é a heterogeneidade morfológica das células, resultando em uma arquitetura complexa tridimensional (HARRIOTT; NOVERR,2009).

A formação do biofilme ocorre inicialmente pela ligação das leveduras à superfície, posteriormente ocorre a proliferação celular e a filamentação das células inicialmente aderidas. Tem-se em seguida a maturação do biofilme, resultando em uma rede complexa altamente estruturada composta de células polimórficas - leveduras redondas em brotamento, pseudo-hifas ovais, hifas alongadas, envoltas na matriz extracelular, conferindo uma aparência espessa. A etapa final é a dispersão, onde algumas células leveduriformes crescem e são liberadas, se destacando do biofilme para colonizar novos sítios (GULATI; NOBILE, 2016; HARRIOTT; NOVERR,2009; KRUPPA, 2009). As células dispersas assemelham-se morfológicamente às leveduras redondas planctônicas, no entanto, apresentam características distintas como elevação na aderência, maior propensão a formar biofilmes e níveis elevados de virulência (GULATI; NOBILE, 2016).

A rede transcricional envolvida na formação e desenvolvimento do biofilme de *C.albicans* é composta por seis principais genes reguladores - *Efg1*, *Tec1*, *Bcr1*, *Ndt80*, *Brg1* e *Rob1*. Trata-se de um circuito transcricional complexo, onde esses reguladores controlam uns aos outros e regulam a expressão de genes-alvos envolvidos na formação de biofilme, nos processos de adesão, formação de hifas, resistência e produção de matriz extracelular. O principal regulador, *Bcr1*, está relacionado à etapa de adesão inicial à superfície, e à adesão célula-célula ao longo do desenvolvimento. Os *Efg1*, *Tec1*, *Ndt80* e *Rob1* estão associados à proliferação das hifas, essenciais para a estabilidade da arquitetura geral do biofilme, por atuarem como um suporte das demais células, bem como suporte de outras espécies em biofilmes polimicrobianos. Os reguladores envolvidos na produção da matriz extracelular são *Rlm1* e *Zap1*. Já na etapa dispersão foram identificados

*Nrg1*, *Pes1* e *Ume6*, bem como a atuação da chaperona molecular Hsp90 e da proteína da parede celular Ywp1 (GULATI; NOBILE, 2016).

#### 4.6 Interação entre *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*

##### 4.6.1 Dinâmica das interações em biofilmes mistos

As espécies *C. albicans* e *S. aureus* isoladamente são responsáveis por um notável número de infecções; contudo há indicativos crescentes de que estão comumente associadas como agentes co-infecciosos. As interações entre as espécies podem estar resultando no aumento da frequência e gravidade de doenças infecciosas, visto que as taxas de mortalidade por infecções provocadas por biofilmes polimicrobianos são consideravelmente maiores se comparadas às infecções por uma única espécie, sendo 70% e 23%, respectivamente (ZAGO *et al.*, 2015).

Pertencentes a reinos filogenéticos diferentes, são capazes de coabitar em biofilmes mistos complexos no ser humano, se desenvolvendo facilmente e contribuindo para patogenicidade. Biofilmes formados em dispositivos médicos e em ambientes naturais são frequentemente polimicrobianos (KEAN *et al.*, 2017; TRUJILLO *et al.*, 2012). Dados estadunidenses apontam *S. aureus* e *C. albicans* como, respectivamente, segundo e quarto microrganismos mais isolados em ICS. Nos biofilmes polimicrobianos de *C. albicans*, *S. aureus* aparece como a terceira espécie coexistente mais frequente (KEAN *et al.*, 2017; NAIR *et al.*, 2016; TAN *et al.*, 2019). A presença de duas espécies é comumente observada em infecções por queimaduras, fibrose cística, feridas diabéticas, peritonite, infecções orais, pneumonia associada a ventilação mecânica (PAV), ceratite e na contaminação de dispositivos médicos como próteses, implantes e especialmente em cateteres, causando infecções associadas a biofilme (KEAN *et al.*, 2017; NAIR *et al.*, 2016). A interação entre fungos e bactérias é capaz de exercer efeitos sobre o comportamento microbiano, interferir na resposta a antimicrobianos, na manutenção e propagação do biofilme, bem como na evolução de um paciente acometido por uma co-infecção (LINDSAY; HOGAN, 2014).

A incidência de infecções causadas por estes microrganismos se elevou significativamente nos últimos anos e como mencionado anteriormente, os biofilmes



monomicrobianos de *S. aureus* e *C. albicans* já apresentam considerável resistência a agentes antimicrobianos. Quando encontrados em biofilmes mistos observa-se um aumento desta resistência e da colonização das superfícies. A crescente incidência de co-infecções e a predominante resistência aos tratamentos convencionais vem atraindo a atenção para estes dois microrganismos, no que diz respeito às interações das espécies na formação do biofilme e na necessidade de encontrar agentes antimicrobianos eficientes em seu combate e no desenvolvimento de estratégias de prevenção (NAIR *et al.*, 2016; TAN *et al.*, 2019). A detecção de biofilmes polimicrobianos que contenham essas duas espécies patogênicas é um motivo de grande preocupação pela comunidade médica (LIN *et al.*, 2013). As interações sinérgicas, mutualistas ou antagônicas que ocorrem entre microrganismos podem ser fatores responsáveis na contribuição do desenvolvimento de comunidades de biofilmes mistos (ZAGO *et al.*, 2015).

Existem estudos que evidenciaram a relação de *C. albicans* com outras espécies bacterianas na formação de biofilmes mistos. Alguns autores demonstraram interações negativas com uma diminuição no crescimento, como ocorreu com a *P. aeruginosa*. Entretanto também foram relatadas relações positivas entre *C. albicans* e *S. epidermidis*, *S. gordonii*, e bactérias do gênero *Fusobacterium* e *Actinomyces* (TRUJILLO *et al.*, 2012).

Estudos *in vivo* em ratos demonstraram que a inoculação simultânea de *C. albicans* e *S. aureus* gerou maior mortalidade quando comparado às infecções de uma única espécie, indicando a existência de uma interação sinérgica. A toxina  $\delta$  secretada por *S. aureus* foi considerada como um dos agentes de virulência da co-infecção, visto que a toxina somente foi detectada na presença das duas espécies, o que pode ser justificado pelo aumento da viabilidade da bactéria obtida pelas vantagens fornecidas pelo fungo e outras interações capazes de influenciar a regulação da produção da toxina (LINDSAY; HOGAN, 2014).

A interação entre as espécies se dá pela ligação das células de *S. aureus* aos filamentos da *C. albicans* pela ação de proteínas como ALS3, expressas pelas células filamentosas fúngicas, que promovem a aderência. A arquitetura do biofilme em geral é composta por uma camada basal e camadas superiores de células fúngicas, onde as bactérias são intercaladas em uma rede filamentosa, ambas crescendo continuamente. Na superfície se encontra a matriz extracelular que envolve as camadas (LINDSAY; HOGAN, 2014; ZAGO *et al.*, 2015).

Trujillo *et al.* (2012) demonstraram que as interações entre *C. albicans* e *S. aureus* aumentam a atividade metabólica, o desenvolvimento e a complexidade dos biofilmes mistos se comparado aos resultados observados nos biofilmes individuais, resultando no aumento de sua virulência, observado em um estudo realizado com amostras clínicas e linhagens de referência. A distribuição espacial das espécies demonstrou favorecer a atividade metabólica no biofilme. Sugere-se a existência da habilidade bacteriana em alterar a fisiologia do biofilme e afetar a morfogênese das leveduras. Os autores ressaltam a necessidade de avaliar a capacidade de influência da variabilidade genética e a origem do isolamento no sinergismo.

A interação entre as espécies é devido a múltiplos fatores. Há o efeito de moléculas de QS coordenando a evolução do biofilme. A matriz extracelular de *C. albicans* além de apoiar o seu desenvolvimento, é utilizada por *S. aureus* como suporte, observando-se a habilidade da bactéria em colonizar um biofilme fúngico pré-existente (KEAN *et al.*, 2017). Foi detectado na matriz fúngica o componente  $\beta$ -1,3-glucana que confere resistência ao antimicrobiano vancomicina, fator muito vantajoso para *S. aureus* (KEAN *et al.*, 2017; ZAGO *et al.*, 2015). Um estudo realizado com uma linhagem de *S. aureus* deficiente de genes de adesão demonstrou que as hifas de *C. albicans* atuam como apoio para as bactérias, possibilitando que a linhagem alterada se desenvolva com êxito no biofilme. As hifas também atuam como transporte para as bactérias, conduzindo-as a outros sítios. O esterol presente no secretoma dos biofilmes de *Candida*, também é fonte de crescimento para *S. aureus* (KEAN *et al.*, 2017).

Um estudo realizado por Zago *et al.* (2015) testou o número de células viáveis e avaliou a atividade metabólica de biofilmes mistos de *C. albicans* associados a *S. aureus* resistentes (MRSA) e sensíveis (MSSA) à metilicina comparando-os aos biofilmes individuais. Os resultados demonstraram a adesão de todas as espécies, não ocorrendo relações antagônicas. Houve um aumento significativo no crescimento da bactéria no biofilme misto, o que pode ser explicado pelo fornecimento de glicose pela matriz extracelular fúngica. Verificou-se também o aumento da atividade metabólica nos biofilmes mistos.

Aspartil protease e fosfolipase C são importantes enzimas hidrolíticas que apresentam influência na patogenicidade e na formação de biofilmes. *C. albicans* e *S. aureus* são microrganismos que isoladamente produzem essas enzimas. Quando associados em biofilmes, observou-se que a produção dessa enzima foi mantida

constante. A aspartil protease fúngica está envolvida com a redução da fagocitose pelas bactérias de defesa do hospedeiro, já a aspartil protease bacteriana favorece a adesão do fungo à superfície da mucosa. As hifas concentram em suas pontas as fosfolipases C, que são responsáveis por lisar a célula hospedeira e permitir a penetração dos microrganismos. Tais informações demonstram o comportamento evolutivo destes biofilmes mistos (ZAGO *et al.*, 2015).

#### 4.6.2. Estratégias para prevenção e combate dos biofilmes mistos

Para contribuir com a prevenção da formação de biofilmes nas superfícies em ambientes de saúde é necessário que as medidas estejam bem estabelecidas e aderidas por todos os envolvidos e que, haja a execução de boas práticas das condutas padronizadas em condições higiênicas. Pesquisas que visam o desenvolvimento de medidas de prevenção buscam impedir o início da formação do biofilme, aplicando revestimento antibacteriano aos dispositivos invasivos inibir o QS com uso de moléculas que causam o rompimento da formação do biofilme, permitindo então a ação dos antimicrobianos e modificar a superfície dos dispositivos com intuito de impedir a fixação inicial. Um grande desafio é o diagnóstico precoce com a busca de biomarcadores e o uso de métodos de imagem. As abordagens para tratamento consistem no estudo do efeito bioacústico que favorece o transporte de antimicrobianos através do biofilme, no uso de métodos elétricos e eletromagnéticos, em terapias fotodinâmicas antimicrobianas e utilização de nanopartículas com efeitos antimicrobianos e antibiofilme. Tais tecnologias estão sendo avaliadas *in vitro* e *in vivo* e almeja-se que estejam disponíveis em um futuro próximo como ferramentas eficazes no combate aos biofilmes (CRUZ; MOREIRA; QUIQUIO, 2015; JAMAL *et al.*, 2018; KATHOON *et al.*, 2018).

Como discutido anteriormente, a adesão microbiana e a formação de biofilme nas superfícies de dispositivos médicos aumentam muito o risco de infecções, podendo resultar em complicações fatais. Os biofilmes formados na superfície de biomateriais são difíceis de controlar com antimicrobianos usuais, podem comprometer o funcionamento e até mesmo culminar na substituição do dispositivo infectado, trazendo desgastes ao paciente e elevação dos custos nos tratamentos. Com a limitação das opções terapêuticas utilizando antibacterianos e antifúngicos, à toxicidade do aumento de doses e ainda o surgimento de linhagens resistentes, há

uma necessidade urgente de pesquisas que visem o desenvolvimento de novos agentes antibiofilmes e novas estratégias de prevenção abiofilmes mistos (TAN *et al.*, 2019). Uma importante ferramenta para alcançar tais objetivos é o entendimento das interações complexas entre as espécies microbianas, a compreensão dos mecanismos moleculares na formação de biofilmes mistos. Faz-se necessário promover investigações que direcionem as pesquisas na detecção de potenciais alvos para a inibição da adesão entre as espécies e expressão de enzimas, a interrupção do desenvolvimento da estrutura do biofilme, provocando, assim, modificações na colonização e infecção, para conseguir reduzir o impacto das co-infecções na saúde humana (GULATI; NOBILE, 2016; ZAGO *et al.*, 2015). Outra estratégia é buscar conhecer profundamente a interação dos microrganismos com o sistema de defesa do hospedeiro e como ocorrem os mecanismos de resistência e tolerância a fim de revertê-los ou barrá-los (GULATI; NOBILE, 2016).

O eDNA encontrado na matriz extracelular de biofilmes é um alvo terapêutico atraente nas pesquisas atuais, pois sabe-se que o mesmo favorece o desenvolvimento dos biofilmes mistos. Foi observado que sua degradação afeta negativamente a adesão dos microrganismos, bem como desestabiliza os biofilmes. Sendo assim, estudos *in vivo* devem ser realizados para comprovar sua opção como alvo (KEAN *et al.*, 2017).

Pesquisas recentes apontam que compostos derivados de plantas medicinais, denominados fitoquímicos, podem atuar como agentes antibacterianos e antifúngicos, sendo interessantes alternativas terapêuticas. Um estudo demonstrou a atividade antimicrobiana da plumbagina, uma naftoquinona extraída da planta *Plumbago rosea*, contra *S. aureus* e *C. albicans*. Verificou-se sua eficácia na prevenção do crescimento das duas espécies em uma cultura mista, capacidade de dispersar biofilmes já existentes e prevenir a formação de novos (NAIR *et al.*, 2016).

Tan *et al.* (2019) demonstraram a atividade antimicrobiana de curcumina combinada ao 2-aminobenzimidazole (2ABI) em biofilmes mistos de *C. albicans* e *S. aureus*. Os dois ativos já possuíam seu efeito antibiofilme conhecido. O estudo buscou aprofundar o impacto da combinação e demonstrou um aprimoramento dos efeitos de inibição na formação e no combate de biofilmes mistos estabelecidos, indicando a possível aplicabilidade desta combinação no tratamento de co-infecções.

Com base no exposto, almeja-se que as pesquisas explorem cada vez mais as interações entre as espécies para o desenvolvimento e estabelecimento de terapias seguras, eficazes e específicas para os biofilmes, acarretando benefícios incalculáveis para a saúde (GULATI; NOBILE, 2016).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A formação do biofilme é um engenhoso instrumento de defesa na busca de condições favoráveis para a multiplicação e sobrevivência microbiana. Os biofilmes instalados em dispositivos médicos invasivos como cateteres são responsáveis pelo desenvolvimento de IRAS com altos índices de morbidade e mortalidade, devido às dificuldades enfrentadas em sua detecção, prevenção e combate. As espécies *S. aureus* e *C. albicans* são clássicos e prevalentes representantes desse desafio clínico.

O biofilme misto de *C. albicans* e *S. aureus* se desenvolve com facilidade e ambos são reconhecidos patógenos que tem a formação de biofilme como importante fator de virulência, atuando como reservatório de células que se disseminam provocando processos infecciosos. Os biofilmes são intrinsecamente resistentes à terapêutica convencional, às células do sistema imunológico do hospedeiro e a outros fatores ambientais. As interações sinérgicas entre *C. albicans* e *S. aureus* nos âmbitos estruturais e de comunicação via QS aumentam a atividade metabólica, o desenvolvimento e a complexidade dos biofilmes em relação ao observado individualmente, sendo apontado um comportamento co-evolutivo nessas complexas comunidades.

Por causa das graves implicações clínicas, é essencial buscar a compreensão dos mecanismos físicos e moleculares pelos quais essas comunidades se estabelecem, tanto individualmente, quanto em associações interespecies. Elucidar o comportamento e as interações entre espécies bacterianas e fúngicas na formação e desenvolvimento de biofilmes em dispositivos médicos, através de pesquisas aprofundadas é um caminho para otimizar as estratégias antibiofilme.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Segurança do paciente em serviços de saúde – Higienização das Mãos**. Brasília, 2009.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (2016-2020)**. Brasília: ANVISA (Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde - GGTES), 2016. 38 p.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Medidas de Prevenção de infecção relacionada à saúde**. Série: Segurança do paciente e qualidade em serviços de saúde. Brasília, 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **NOTA TÉCNICA Nº01/2018 GVIMS/GGTES/ANVISA: Orientações Gerais para Higiene das Mãos em Serviços de Saúde**. Brasília, 2018. 16 p.

BRASIL. Lei n. 9.431, de 06 de janeiro de 1997. Dispõe sobre a obrigatoriedade da manutenção de Programas de Controle de Infecções Hospitalares nos hospitais do país. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 1997. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/19431.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19431.htm)

BRASIL. Portaria n. 2.616, de 12 de maio de 1998. Dispõe sobre diretrizes e normas para a prevenção e o controle das infecções hospitalares. **Ministério da Saúde**, Brasília; DF, 1998. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt2616\\_12\\_05\\_1998.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt2616_12_05_1998.html)

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nr. 48 de 02 de junho de 2000. Aprova o Roteiro de Inspeção do Programa de Controle de Infecção Hospitalar. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 2000. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2000/rdc0048\\_02\\_06\\_2000.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2000/rdc0048_02_06_2000.html)

BROOKS, G. F. *et al.* **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 26 ed. Porto Alegre: AMGH, 2014. 864 p.

CASTRO, R. D. **Regulação da expressão dos fatores de virulência em *Staphylococcus spp.*** Revisão de Literatura. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Guideline for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections, 2011**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/hai/pdfs/bsi-guidelines-2011.pdf>. Acesso 20 mai. 2019

CHRISTENSEN, B. *et al.* Metabolic commensalism and competition in a two-species microbial consortium. **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 5, p. 2495-2502, 2002.

CONLON, B. P.; ROWE, S. E.; LEWIS, K. Persister cells in biofilm associated infections. *In* DONELLI, G. Biofilm-based Healthcare associated Infections. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 831, p.1–9, 2014.

COSTA, Camila Adriano Barbosa. **Bundle de cateter venoso central: conhecimento e comportamento dos profissionais de saúde da unidade de terapia intensiva adulto de um hospital de grande porte**. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

CRUZ, E. D. A.; MOREIRA, I.; QUIQUIO, Z. F. Prevenção de infecções associadas a cateter venoso central em pacientes neutropênicos. **Cogitare Enfermagem**, v. 5, p. 46-55, Jan./Jun. 2015. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/cogitare/article/view/44868/27292>. Acesso em 11 mai. 2019

DE BRUCKER, K. *et al.* Fungal  $\beta - 1, 3 -$  glucan increases ofloxacin tolerance of *Escherichia coli* in a polymicrobial *E. coli* / *Candida albicans* biofilm. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 6, p. 3052-3058, Jun. 2015. Disponível em: <https://aac.asm.org/content/aac/59/6/3052.full.pdf>. Acesso em 20 mai. 2019.

ELIAS, S.; BANIN, E. Multi-species biofilms: living with friendly neighbors. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 5, p. 990-1004, 2012.

EUZÉBY, J. P. **LSPN** List of prokaryotic names with standing in nomenclature. 2019. Disponível em: <http://www.bacterio.net/index.html>. Acesso em 01 nov. 2019

FORTUNATTI, C. F. P. Impacto de dois bundles na infecção relacionada a cateter central em pacientes críticos. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 25, Dez. 2017. Disponível em: [http://www.scielo.br/pdf/rlae/v25/pt\\_0104-1169-rlae-25-e2951.pdf](http://www.scielo.br/pdf/rlae/v25/pt_0104-1169-rlae-25-e2951.pdf). Acesso em 26 ago. 2019



GULATI, M; NOBILE, C. J. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. **Microbes and Infection**, v.18, n. 5, p. 310-321, Mai. 2016. Disponível em:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1286457916000095?token=3FE8DB359F1617C3CB8289E2A654FE87BCA0258BA940B02F98C91412CD1D2DEAE6170AE516F563A4E4089699DF477276>. Acesso em 11 mai. 2019.

HANSEN, S. K. *et al.* Evolution of species interactions in a biofilm community. **Nature**, v. 445, n. 7127, p. 533-536, 2007.

HARAGA, I. *et al.* Increased biofilm formation ability and accelerated transport of *Staphylococcus aureus* along a catheter during reciprocal movements. **Journal of Microbiological Methods**, v.132, p. 63-68, Jan. 2017. Disponível em:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0167701216303128?token=9E52AC046413F95772A67C8CAAE47A4309FC69ED23A04FE6D8172683D5FE624396F76A8690999205223C94E74DD96FFE>. Acesso em 11 mai. 2019.

HARRIOTT, M. M.; NOVERR, M. C. *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* Form Polymicrobial Biofilms: Effects on Antimicrobial Resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 9, p. 3914-3922, Set. 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2737866/pdf/0657-09.pdf>. Acesso em 11 mai. 2019

HATHROUBI, S. *et al.* Biofilms: Microbial Shelters Against Antibiotics. **Microbial Drug Resistance**, v.23, n.2, Mar. 2017. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/mdr.2016.0087>. Acesso em 20 mai. 2019.

HENRIQUES, A.; VASCONCELOS, C.; CERCA, N. A importância dos biofilmes nas infecções nosocomiais – O estado da arte. **Arquivos de Medicina**, v.27, n. 1, p. 27-36, Fev. 2013. Disponível em: [http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S087134132013000100004](http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S087134132013000100004). Acesso em 01 abr. 2020.

JAMAL, M. *et al.* Bacterial biofilm and associated infections. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 81, n. 1, p. 7-11, Jan. 2018. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1726490117302587?token=08930F99772A5BD778A59FA93D42AED0CA5CA4EEAF4A9FDF398071178C7EF5E2B5F5CB1F783ECB0379D0F94079709E9A>. Acesso em 11 mai. 2019.

KATHOON, Z. *et al.* Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. **Heliyon**, v.4, n. 5, p. 1-36 , Dez. 2018. Disponível em:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2405844018369019?token=439DF5650CEF1CB58FD8A38F1B1E539B7A566C8606ABE798AE56E56CF4F0FBDA8D18DC71B59FE008D0A0A557A6879438>. Acesso em 11 mai. 2019.

KEAN, R. *et al.* *Candida albicans* Mycofilms Support *Staphylococcus aureus* Colonization and Enhances Miconazole Resistance in Dual-Species Interactions. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 258, p. 1-11, Fev. 2017. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5322193/pdf/fmicb-08-00258.pdf>. Acesso em 11 mai. 2019.

KRISHNAN, S. Chapter 12: Biofilm Formation on Medical Devices and Infection: Preventive Approaches. **Biofilm and Materials Science**, p. 93-108, Abr. 2015. Disponível

em: [https://www.researchgate.net/publication/275649884\\_Biofilm\\_Formation\\_on\\_Medical\\_Devices\\_and\\_Infection\\_Preventive\\_Approaches](https://www.researchgate.net/publication/275649884_Biofilm_Formation_on_Medical_Devices_and_Infection_Preventive_Approaches)

KRUPPA, M. Quorum sensing and *Candida albicans*. **Mycoses**, v. 52, n.1, p. 1-10, Jan. 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1439-0507.2008.01626.x>. Acesso em 20 out. 2019.

LEE, K. W. K. *et al.* Biofilm development and enhanced stress resistance of a model, mixed-species community biofilm. **The International Society for Microbial Ecology Journal**, v. 8, p. 894-907, 2014. Disponível em:

<https://www.nature.com/articles/ismej2013194.pdf>. Acesso em 20 mai. 2019.

LI, Y; TIAN, X. Quorum Sensing and Bacterial Social Interactions in Biofilms. **Sensors**, v.12, n. 3, p. 2519-2538, Jan. 2012. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1424-8220/12/3/2519>. Acesso em 20 out. 2019.

LIN, Y. J. *et al.* Interactions between *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* within mixed species biofilms. **BioOne Complete**, v. 84, n. 1, p. 30-39, Mar. 2013. Disponível em:

<https://bioone.org/journals/BIOS/volume-84/issue-1/0005-3155-84.1.30/Interactions-between-i--span-classgenus-speciesCandida-albicans-span-i/10.1893/0005-3155-84.1.30.full>

LINDSAY, A. K.; HOGAN, D. A. *Candida albicans*: Molecular interactions with *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **Fungal Biology Reviews**, v. 28, n. 4, p. 85-96, Dez. 2014. Disponível em:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1749461314000293?token=74B6CC00B2C>

64907E61B0A9CEBCC6C4F449B0B607D511DDAF3467FE10FEFFC30308677DE4A4823C9CA75AEEC14C73D81

MACIÀ, M. D. *et al.* Microbiological diagnosis of biofilm-related infections. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 36, n. 6, p. 375-381, Jun./Jul. 2018. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2529993X18301187?token=01F94F984500E2B49557ACE7E56D80EEC3175A9376A5422090D051CD46F19522783BD27475F81480A0E85216111DC5A8>. Acesso em 11 mai. 2019.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 1006 p.

MOONS, P. *et al.* Role of quorum sensing and antimicrobial component production by *Serratia plymuthica* in formation of biofilms, including mixed biofilms with *Escherichia coli*. **Applied and environmental microbiology**, v. 72, n. 11, p. 7294-7300, 2006.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017. 836 p.

NAIR, S. V. *et al.* Antimicrobial activity of plumbagin, a naturally occurring naphthoquinone from *Plumbago rosea*, against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 306, n. 4, p. 237-248, Jun. 2016. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1438422116300583?token=E3A993AA80AA175D1E56331657105F49868029666F138C15DAE560AC8A977FE47F708BBF0DFEBAE6EA4008941A199BB2>

OLIVEIRA, H. M.; SILVA, C. P. R.; LACERDA, R. A. Políticas de controle e prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde no Brasil: análise conceitual. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 50, n. 3, p. 505-511, Jun. 2016. [http://www.scielo.br/pdf/reeusp/v50n3/pt\\_0080-6234-reeusp-50-03-0505.pdf](http://www.scielo.br/pdf/reeusp/v50n3/pt_0080-6234-reeusp-50-03-0505.pdf)

OVCHINNIKOVA, E. S. *et al.* Exchange of adsorbed serum proteins during adhesion of *Staphylococcus aureus* to an abiotic surface and *Candida albicans* hyphae - An AFM study. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 110, n. 1, p. 45-50, Out. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776513002622?via%3Dihub>. Acesso em 25 mai. 2019.

PEREIRA, F. G. C. *et al.* Caracterização das infecções relacionadas à assistência à saúde em uma Unidade de Terapia Intensiva. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 4, n. 1, p. 70-77, Fev. 2016. Disponível em:  
<https://visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/614>.

PEREZ, A. C. *et al.* Residence of *Streptococcus pneumoniae* and *Moraxella catarrhalis* within polymicrobial biofilm promotes antibiotic resistance and bacterial persistence in vivo. **Pathogens and disease**, v. 70, n. 3, p. 280-288, Abr. 2014. Disponível em:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3984603/pdf/nihms554747.pdf>.  
 Acesso em 20 mai. 2019.

RAAFAT, D. *et al.* Fighting Staphylococcus aureus Biofilms with Monoclonal Antibodies. **Trends in Microbiology**, v. 27, n. 4, p. 303-322, Abr. 2019. Disponível em:  
<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0966842X18302853?token=66AF72409C79BEAAF051BB9B225B5F178415914EC0AEAD69F6B9CB1E9E13C97289959DFA4129E711B9FF36BDA6811104>

RICKARD, A. H.; CAMPAGNA, S. R.; KOLENBRANDER, P. E. Autoinducer $\alpha$ 2 is produced in saliva $\alpha$ fed flow conditions relevant to natural oral biofilms. **Journal of applied microbiology**, v. 105, n. 6, p. 2096-2103, 2008.

ROSADO, V.; ROMANELLI, R. M. C.; CAMARGOS, P. A. M. Fatores de risco e medidas preventivas das infecções associadas a cateteres venosos centrais. **Jornal de Pediatria**, v.87, n.6, p. 469-477, Nov, Dez. 2011. Disponível em:  
<http://www.scielo.br/pdf/jped/v87n6/v87n06a03.pdf>. Acesso em 05 mai. 2019.

SAINI, R.; SAINI, S.; SHARMA, S. Biofilm: a dental microbial infection. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**, v. 2, n. 1, p. 71-75, Jan./ Jun. 2011. Disponível em:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3312703/?report=reader>. Acesso em 20 mai. 2019.

SANTOLIM, T. Q. **Benefícios e riscos do cateter central de inserção periférica (CCIP). Experiência em 1023 procedimentos.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Programa de Ortopedia e Traumatologia) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

SILVA, A. D.; OLIVEIRA, A. C. Impacto da implementação dos bundles na redução das infecções da corrente sanguínea: uma revisão integrativa. **Texto e contexto – Enfermagem**, v. 27, n. 1, Mar. 2018. Disponível em:

<http://www.scielo.br/pdf/tce/v27n1/0104-0707-tce-27-01-e3540016.pdf>. Acesso em 26 ago. 2019.

SILVA, A. G. **Competências da equipe multiprofissional para as medidas de prevenção da infecção da corrente sanguínea relacionada ao cateter venoso central**. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

SIMIONI, P. U. *et al.* Prevalência de microrganismos em infecções e casos de sepse associadas ao cateter: uma revisão da literatura. **Ciência e Inovação**, v.4, n. 1, Jul. 2019. Disponível em: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/128-Texto%20do%20artigo-1206-1-10-20190727%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/128-Texto%20do%20artigo-1206-1-10-20190727%20(1).pdf). Acesso em 26 ago. 2019

SINGH, P. K. *et al.* Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lungs are infected with bacterial biofilms. **Nature**, v. 407, n. 6805, p. 762-764, 2000.

SINGH, R. *et al.* Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 9, p. 1955-1958, Set. 2010. Disponível em: <https://academic.oup.com/jac/article/65/9/1955/722668>. Acesso em 20 mai. 2019

SOHAIL, M; LATIF, Z. Molecular analysis, biofilm formation, and susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains causing community- and health care associated infections in central venous catheters. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 5, p. 603-609, Set./Out. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v51n5/1678-9849-rsbmt-51-05-603.pdf>. Acesso em 11 mai. 2019.

SOLANO, C; ECHEVERZ, M; LASA, I. Biofilm dispersion and quorum sensing **Current Opinion in Microbiology**, v.18, p. 96–104, Abr 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527414000290?via%3Dihub>. Acesso em 20 out. 2019.

SOUZA, E. S. *et al.* Mortalidade e riscos associados a infecção relacionada à assistência à saúde. **Texto e Contexto Enfermagem**, v. 24, n. 1, p. 220–228, Mar. 2015. Disponível em: [http://www.scielo.br/pdf/tce/v24n1/pt\\_0104-0707-tce-24-01-00220.pdf](http://www.scielo.br/pdf/tce/v24n1/pt_0104-0707-tce-24-01-00220.pdf)

SURESH, M. K.; BISWAS, R; BISWAS, L. An update on recent developments in the prevention and treatment of *Staphylococcus aureus* biofilms. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 309, n. 1, p. 1-12, Jan. 2019. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1438422118301681?token=1E9E842BCB8>

7E410E53FCDC8E541EC76E57172F9A0A7BBF3CD2552F8641E56B9D69FD4E8406F461F64DAD00EB344BBF9. Acesso em 11 mai. 2019.

TAN, Y. *et al.* Antibiofilm efficacy of curcumin in combination with 2-aminobenzimidazole against single- and mixed-species biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 174, p. 28-34, Fev. 2019. Disponível em:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0927776518307744?token=0C078795D05E26AED277684BBD4345A2BC6F419BB99947E0DEEB7330696EC686C3CE05DADADE01573570C80B9B9A36A8>

TONG, S. Y. C. *et al.* Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 3, p. 603-661. Jul. 2015. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4451395/pdf/zcm603.pdf>. Acesso em 10 nov. 2019

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6 ed. São Paulo: Atheneu, 2017. 888 p.

TRINDADE, Mariana de Jesus Vaz. **Análise da dinâmica de implantação e formação de biofilme por *Staphylococcus aureus* e *Acinetobacter baumannii* em pinças cirúrgicas e avaliação da carga microbiana após limpeza do instrumental por método de limpeza automatizado**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Microbiologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

TRUJILLO, C. I. *et al.* Ensayo de formación y cuantificación de biopelículas mixtas de *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 29, n. 4, p. 214-222, Mar. 2012. Disponível em: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-iberoamericana-micologia-290-pdf-S1130140612000356>. Acesso em 11 mai. 2019.

VARPOSHTI, Maryam; ENTEZARI, Fatemeh; FEIZABADI, Mohammad Mehdi. Synergistic interactions in mixed-species biofilms of pathogenic bacteria from the respiratory tract. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 5, p. 649-652, 2014.

ZAGO, C. *et al.* Dynamics of Biofilm Formation and the Interaction between *Candida albicans* and Methicillin-Susceptible (MSSA) and –Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **PlosOne**, v. 10, n. 4, p. 1-15. Abr. 2015. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0123206&type=printable>. Acesso em 11 mai. 2019

ZERATI, A. E. *et al.* Cateteres venosos totalmente implantáveis: histórico, técnica de implante e complicações. **Jornal Vascular Brasileiro**, v.16, n. 2, p. 128-139, Jun. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jvb/v16n2/1677-5449-jvb-1677-5449008216.pdf>. Acesso em 26 ago. 2019.