

Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrolloMarisol Betancourth, B.Sc.¹, Javier Enrique Botero, O.D.², Sandra Patricia Rivera, B.Sc.³**RESUMEN**

Las biopelículas son organizaciones microbianas compuestas por microorganismos que se adhieren a las superficies gracias a la secreción de un exopolímero. Estas conformaciones microbianas presentan características como heterogeneidad, diversidad de microambientes, resistencia a antimicrobianos y capacidad de comunicación intercelular que las convierten en complejos difíciles de erradicar de los ambientes donde se establecen. En el hombre las biopelículas se asocian con un gran número de procesos infecciosos que por lo general son de transcurso lento, ocasionando que su control sea dispendioso. En el área industrial y del medio ambiente el papel de las biopelículas se centra en el biofouling y la bioremediación. El biofouling es la contaminación de un sistema producido por la actividad microbiana de la biopelícula, mientras que la bioremediación utiliza las biopelículas para mejorar las condiciones de un sistema contaminado. El estudio de las biopelículas es un área excitante en continua evolución; tienen repercusiones importantes para la humanidad las implicaciones que presentan estas asociaciones en los diversos ámbitos de la medicina y la industria.

Palabras clave: Biopelícula. *Quorum sensing*. Enfermedad periodontal. *Biofouling*. Bioremediación.

“La unión hace la fuerza” una frase que muy probablemente todos han oído nombrar y que es fácilmente aplicable al contexto de este artículo. Los microorganismos por si solos, salvo en algunas ocasiones, no son capaces de generar daños importantes en un organismo viviente porque son susceptibles a los factores adversos del medio en que se encuentran. Sin embargo, estos seres microscópicos han evolucionado de tal forma que logran organizarse y convivir con especies diferentes, aprovechando los productos que se ofrecen dentro de su comunidad ecológica denominada biopelícula.

En muchas formas la biopelícula representa una estrategia de supervivencia, pues proporciona una protección contra las defensas y mecanismos de erradicación microbiana y cuenta con un sistema de canales que le permite establecer un vínculo con el medio externo para hacer intercambio de

nutrientes y eliminar metabolitos de desecho. La importancia de las biopelículas se comenzó a estudiar desde mediados de la década de 1970¹, cuando se hablaba de los efectos en los diversos ambientes naturales de estas organizaciones no muy bien comprendidas. Dos décadas después con el desarrollo de técnicas microscópicas más avanzadas que permitieron entender la ultraestructura y dinámica de estas asociaciones, se pudo constatar este hecho y se comenzaron a involucrar en múltiples y distintos eventos que tienen impacto sobre el bienestar del hombre y su entorno. Hoy en día el estudio de la biopelículas se hace cada vez más extenso y complejo en cada una de las áreas donde se trabaja, es por esto que en este artículo se hace una revisión del papel que cumplen las biopelículas en diferentes áreas de interés como la medicina, la industria, el medio ambiente y de la perspectiva que tienen en

cada uno de estos campos.

LAS BIOPELÍCULAS Y SUS CARACTERÍSTICAS

El término biopelícula (*biofilm*) hace referencia a una serie de microorganismos que se encuentran agregados en un exopolímero compuesto de glicocalix (75%) y que se organizan en forma de colonias adheridas a diferentes superficies, ya sean blandas, animadas e inanimadas². El exopolímero que es producido por los mismos microorganismos, forma una matriz adherente en donde estos quedan atrapados y comienzan a organizarse en colonias con diferentes requerimientos metabólicos. El Cuadro 1 resume las características de las biopelículas. Una de estas características es la heterogeneidad, lo que las hace organizaciones únicas que pueden estar conformadas por bacterias, hongos y protozoos. Se ha visto entonces, que los microorganismos al ser variados dentro de esta organización presentan diferentes microambientes de pH, tensión de oxígeno, concentración de iones, carbono y nitrógeno^{3,4}.

1. Profesora Auxiliar, Escuela de Bacteriología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali. e-mail: maripiri@telesat.com.co

2. Profesor Auxiliar, Escuela de Odontología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali. e-mail: drjavo@yahoo.com

3. Bacterióloga, Universidad del Valle. e-mail: srivera87@hotmail.com

Recibido para publicación noviembre 13, 2003 Aprobado para publicación julio 1, 2004

Cuadro 1
Características de las biopelículas

Adherencia
Heterogeneidad
Diferentes microambientes (pH, tensión O ₂ , concentración de iones, carbono, nitrógeno)
Sistema circulatorio primitivo
Resistente a las defensas del hospedero, agentes antimicrobianos y detergentes
Quorum sensing

La hidrodinámica juega un papel importante en el desarrollo de la biopelícula^{5,6} pues estas organizaciones se desarrollan en una interfase líquido-sólido donde la velocidad del flujo que lo atraviesa influye en el desprendimiento físico de los microorganismos. Además, poseen un sistema de canales que les permiten el transporte de nutrientes y desechos; esto resulta de vital importancia cuando se piensa en modificar el ambiente que prive a los microorganismos de las moléculas necesarias para su desarrollo. Otra característica de las biopelículas es su resistencia a las defensas del hospedero y agentes antimicrobianos. Mientras que los microorganismos aislados son susceptibles a estos factores de control, las colonias organizadas e incluidas en el exopolímero forman una capa impermeable en donde sólo los microorganismos más superficiales se ven afectados.

Los anticuerpos, las células del sistema inmune y los antimicrobianos no tienen acceso a los microorganismos más profundos; adicionalmente, se encuentran en un estado metabólico reducido lo que los hace menos susceptible a la acción de estos últimos⁷. También cuando se liberan células de la biopelícula, éstas pueden viajar y depositarse en nuevos nichos de colonización manteniendo las mismas características de una biopelícula adherida a una superficie⁸. Finalmente, los microorganismos se comunican unos con otros. Esto es lo que se ha denominado *quorum sensing*

e involucra la regulación y expresión de genes específicos a través de moléculas de señalización que median la comunicación intercelular. Esta característica es dependiente de la densidad celular que exista, así p.e., en biopelículas con una alta densidad celular, se induce la expresión de genes de resistencia que proveen protección y supervivencia. Similarmente, los microorganismos pueden producir sustancias para estimular la propagación de colonias e inhibir el crecimiento de otras⁹ dejando a los microorganismos más patógenos en una posición favorable dentro de la biopelícula.

El conocimiento de la interacción que existe entre los diferentes microorganismos que componen y habitan una biopelícula, es un área muy estudiada por el momento pues *in vitro* se ha visto que al bloquear las moléculas involucradas en la adherencia y comunicación celular se puede inhibir el desarrollo de ellas.

EL DESAFÍO MICROBIANO Y LA ENFERMEDAD

Un gran número de infecciones en el humano son causadas por biopelículas incluyendo la caries dental, la enfermedad periodontal, otitis media, infecciones músculo-esqueléticas, infección del tracto biliar, endocarditis bacteriana y neumonía en pacientes con fibrosis quística¹⁰. Estas enfermedades a diferencia de infecciones en donde se conoce el agente causal específico, son de transcurso crónico y persistente, lo que hace difícil su erradicación. P.e., *Pseudomonas aeruginosa* se ha encontrado en pulmones de personas con fibrosis quística produciendo infecciones frecuentes, lo que genera dificultades en la recuperación de estos pacientes.

Con el desarrollo de la tecnología médica, aparecieron materiales que

permitían ser implantados en el organismo sin causar reacciones adversas como los implantes de válvulas cardíacas, de cadera, marcapasos e incluso implantes dentales de oseointegración¹¹. También están incluidos aparatos de implantación temporal o parcial como catéteres. A pesar del gran avance de la medicina, la introducción de un material nuevo al organismo, simplemente genera un nicho óptimo para la formación de una biopelícula.

Staphylococcus epidermidis con frecuencia se encuentra relacionado con infecciones crónicas o tardías en aparatos implantados gracias a su bajo potencial patogénico mientras que *S. aureus*, *P. aeruginosa* y otros microorganismos Gram negativos por lo general se encuentran asociados con la colonización y generación de infecciones agudas. Las válvulas cardíacas son con frecuencia colonizadas por microorganismos orales que se desprenden de la placa bacteriana, entre ellos el *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, una bacteria Gram negativa implicada en la etiopatogénesis de la enfermedad periodontal. En más de 50% de los implantes de cadera removidos por infección¹² se ha aislado *Propionibacterium acnes* mientras que especies de *Candida* se han encontrado en la prótesis de voz¹³.

Pero no sólo los microorganismos tienen la capacidad de colonizar superficies de implantes, también lo hacen sobre superficies animadas como epitelios. La enfermedad periodontal de gran incidencia en el ser humano se caracteriza por un proceso inflamatorio que resulta en la pérdida del soporte del diente. Todo comienza con la formación de una película de origen glandular (saliva, moco) que recubre las mucosas, las superficies dentales y epiteliales de la encía; luego llegan los primeros colonizadores que ofrecen medios para la retención de otros microorganismos dando origen a una

Cuadro 2
Productos bacterianos dentro
de la biopelícula

1. Enzimas como colagenasas, fibrinolisinias que degradan epitelios
2. Liberación del lipopolisacárido por gérmenes Gram negativos
3. Producción de leucotoxinas que lisan los leucocitos PMN
4. Proteasas que desdoblán IgG e IgA
5. Secreción de desechos metabólicos citotóxicos como ácido butírico y propiónico

comunidad celular diversa¹⁴. Con el crecimiento de la biopelícula aumenta la liberación de productos microbianos (Cuadro 2), como el lipopolisacárido, factor de virulencia responsable de desencadenar una respuesta inflamatoria e inmune de tipo local que puede llegar a ser sistémica, ocasionando procesos inflamatorios en lugares diferentes al desafío microbiano. Al igual que los dientes y la encía, los tejidos pulmonares, arteriales y gástricos son lugares de preferencia para los microorganismos habitantes de las biopelículas¹⁵. Uno de los factores que promueve la patogenicidad y cronicidad de estas agrupaciones microbianas es su resistencia al sistema inmune y a los antibióticos. En muchas ocasiones, los aparatos implantados en el cuerpo fracasan por la imposibilidad de controlar la infección generada por los microorganismos de la biopelícula, requiriendo una remoción mecánica del dispositivo. A diferencia de microorganismos libres, los microorganismos que componen una biopelícula en las capas más profundas, se encuentran en un estado metabólico mínimo, impidiendo la acción de antibióticos que actúan a nivel de la síntesis de la pared bacteriana o producción de proteínas.

Como si eso no fuera suficiente, es importante tener en cuenta la heterogeneidad de las comunidades celulares que componen la biopelícula indicando que un antibiótico no necesariamente

afectará a todas las colonias. Además, la falta de permeabilidad y el flujo constante de sustancias de desecho hacia el exterior impide el ingreso de células y productos del sistema inmune^{16,17}. De esta forma, las biopelículas que representan una forma única de organización bacteriana tienen la capacidad de autopropagarse y generar infección en el organismo; gracias a todas sus características, se hace difícil el tratamiento terapéutico con los medios convencionales.

LAS BIOPELÍCULAS EN EL CAMPO INDUSTRIAL

Las biopelículas en el campo industrial están implicadas en diversos ambientes constituyéndose en un enemigo cuando están involucradas en el *biofouling* o en un aliado cuando se utilizan en bioremediación. En cuanto a los problemas asociados con la formación de biopelículas se encuentra el *biofouling* que es la contaminación producida por actividad microbiana sobre diferentes superficies, que genera corrosión de equipos, cascos de barcos, tuberías y de campos petroleros. A la nación americana estos problemas asociados con las biopelículas le cuestan anualmente billones de dólares^{18,19}. La corrosión de los metales por biopelículas es ocasionada por la actividad metabólica de consorcios bacterianos formados en muchos casos por bacterias sulfato reductoras (BSR) y por las características propias de la superficie del material que permite el crecimiento de ellas²⁰. Asimismo, en la extracción y almacenamiento del petróleo las biopelículas compuestas por BSR producen grandes cantidades de ácido sulfhídrico y hace que el crudo sea un producto de menor rendimiento. En los oleoductos y en general, en todas las tuberías, la formación de biopelículas como comunidades viscosas ocasiona

el taponamiento de filtros y orificios de estas estructuras produciendo traumatismos al fluido normal²¹.

Los problemas del *biofouling* afectan económicamente a la industria productora de papel²² por el desarrollo de estos complejos microbianos sobre la maquinaria y a las fábricas que poseen torres de enfriamiento de aguas²³ donde todo el sistema se puede ver obstruido.

De otro lado las biopelículas toman un papel muy importante en la bioremediación, en donde transforman agentes contaminantes a formas menos dañinas. La bioremediación se puede dar en diferentes escenarios los más comunes son:

Bioremediación de aguas residuales. Las aguas residuales domésticas e industriales son ricas en materiales orgánicos y deben ser tratadas en alguna forma antes de devolverlos al ambiente. Los procesos para el tratamiento de las aguas residuales son prácticamente sistemas de cultivo microbiano a gran escala que utilizan biopelículas en los cuales las sustancias orgánicas de los desechos se degradan a dióxido de carbono, gas metano y otros nutrientes inorgánicos²⁴. El agua residual se trata dentro del fondo de un tanque donde se pone en contacto con lodos o agregados de biopelículas unidos a partículas muy pequeñas. La degradación anaeróbica de los sustratos orgánicos ocurre en el lecho del lodo y allí mismo se genera gas metano como uno de los productos finales; este gas tiene una utilidad valiosa porque puede ser recolectado por un sistema de tuberías para generar energía²⁵. Además, en muchos países como Colombia el residuo sólido del lodo que consiste en material no digerible y células bacterianas, se elimina periódicamente y se seca para ser utilizado como abono para la tierra²⁶.

Bioremediación de suelos y aguas subterráneas. Cuando los suelos o las

aguas se contaminan con hidrocarburos como el petróleo, las biopelículas cumplen un papel fundamental en su bioremediación. Las bacterias oxidantes de los hidrocarburos son capaces de adherirse a las gotas insolubles de petróleo y de lograr la dispersión de la capa²⁷. Estas biopelículas están conformadas básicamente por especies de *Pseudomonas*, corinebacterias, micobacterias y algunas levaduras. Sin embargo, para el buen desempeño de la biopelícula se requieren condiciones especiales de oxígeno, temperatura, pH, nutrientes, sin las cuáles la bioremediación no se produce.

De igual manera se busca resolver con la utilización de biopelículas^{28,29} la contaminación de las aguas subterráneas con sustancias como alcanos y alquenos clorados usados como disolventes de limpieza. Para esto se han desarrollado las biobarreras que consisten en acúmulos de biopelículas que forman una barrera impermeable para el flujo del agua contaminada a otros sistemas. El desempeño de la biopelícula dependerá de las mismas condiciones que se mencionaron antes.

Otros sistemas que se han utilizado con éxito en el proceso de bioremediación, son los biofiltros que evitan la contaminación del aire dada por compuestos orgánicos volátiles provenientes de las grandes empresas químicas y de las estaciones depuradoras de aguas residuales. En el biofiltro las comunidades microbianas crecen sobre la superficie de un soporte por lo general de plástico, a través del cual pasa el aire contaminado. Los compuestos solubles en el gas entran en la biopelícula y quedan disponibles para su biodegradación, generándose productos no tóxicos. La principal ventaja de un sistema de biofiltro sobre otras alternativas de control de la contaminación del aire, son los bajos costos de inversión y explotación, las bajas necesidades de energía y

la ausencia de subproductos y residuos que requieran un tratamiento posterior.

En la piscicultura la utilidad de los biofiltros está en la descomposición del amoníaco generado por los peces como producto de su alimentación³⁰.

Las biopelículas presentan otro campo de interés para los investigadores, los biolixiviados. Estos son líquidos generados a partir de la descomposición de material orgánico por biopelículas que se utilizan para combatir agentes externos dañinos. En Colombia la biolixiviación del raquis del plátano, un residuo de la agroindustria platanera, se utiliza para controlar el mildew polvoso una enfermedad en las rosas³¹. Esta investigación la llevaron a cabo miembros del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) encontrando buenos resultados porque además de ser una alternativa ecológica en el control de la enfermedad, es económica.

PERSPECTIVA

El impacto que tienen las biopelículas en los diversos ámbitos del hombre, hace que éste se preocupe por trabajar continuamente en ellas. Muchas de las investigaciones a nivel mundial^{32,33} buscan descifrar por completo la naturaleza de este tipo de conformación, de manera que se diseñen metodologías que permitan aprovechar o combatir su presencia.

En el área de las ciencias médicas, las metodologías van encaminadas a erradicar la formación de biopelículas en el esmalte dental, prótesis, dispositivos médicos, lentes de contacto, etc., principalmente con el desarrollo de nuevos y mejores antibióticos. Zhang *et al.*³⁴ publicaron la estructura molecular de una proteína fundamental encargada de la comunicación entre bacterias llamada el autoinductor; más adelante Smith *et al.*³⁵ sintetizaron varias

moléculas con actividad antagónica sobre el autoinductor usado por *Pseudomonas aeruginosa* para la comunicación celular. Este nuevo descubrimiento permitirá el diseño de nuevos y mejores medicamentos capaces de inhibir la formación de biopelículas.

En el área industrial el *biofouling* ha llevado a los investigadores a elaborar diversas propuestas que permitan acabar con el problema de la biocorrosión. Dentro de estas se menciona el disponer de mejores superficies que impidan la colonización de las biopelículas³⁶; de nuevos recubrimientos o pinturas en los cascos de las embarcaciones para minimizar la adherencia de los microorganismos siendo estos a la vez seguros para el ecosistema marino³⁷. Otra investigación adelantada por microbiólogos de la Universidad Antofagasta de Chile³⁸ busca productos de origen microbiano que minimicen la colonización y desarrollo del *biofouling* sobre las estructuras sumergidas, porque se ha visto que hay gérmenes capaces de impedir el asentamiento de microorganismos formadores de biopelículas.

Para la industria alimenticia la formación de biopelículas en la maquinaria puede traer la contaminación del producto con patógenos³⁹; es por eso que se necesitan mejores tratamientos en su elaboración de modo que sean más seguros al consumo humano. En la producción de salchichas después de que el producto ha sido procesado si este sufre alguna contaminación externa, la refrigeración posterior puede permitir el crecimiento de biopelículas con *Listeria monocytogenes* un importante patógeno humano. Investigadores han encontrado que al tratar la salchicha con sulfato de calcio acidificado las bacterias no se pueden adherir⁴⁰.

Compañías productoras de artículos de limpieza para el hogar también se han interesado en el fenómeno de las biopelículas porque estos microorga-

nismos son mucho más resistentes a los desinfectantes. Se sabe que un microorganismo en una biopelícula es 100 a 1,000 veces más resistente a los desinfectantes que las formas libres o planctónicas. Los investigadores de estas compañías además de desarrollar mejores métodos analíticos para la evaluación de los desinfectantes, evalúan el impacto de las biopelículas y su control en diversos ámbitos domésticos y externos como baños, fregaderos, saunas, piscinas, etc⁴¹. Sin embargo, como se dijo en un principio, también se pueden desarrollar metodologías que aprovechen la función de bioremediar de las biopelículas.

En los cultivos artificiales de peces, la presencia de biopelículas en los sitios de asentamiento de las larvas permite una mayor sobrevivencia del invertebrado, aumentando la productividad de estos⁴².

El Centro Especializado de la NASA para la Investigación y la Capacitación en el Sostén Avanzado de la Vida (NSCORT) buscará durante los próximos años crear un modelo de ambiente autosustentable desarrollando hábitats "bioregenerativos" en los cuales los productos derivados de un sistema sean utilizados y procesados por otro⁴³. Para lograr esto trabajan con biopelículas que tratan y limpian el aire y el "agua gris", es decir, el agua utilizada para bañarse y limpiar el hogar. Las biopelículas crecen en las superficies plásticas a través de las cuales pasa el agua y el aire, de modo que la creación de este ambiente bioregenerativo no está muy lejos de lograrse.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Por las características tan especiales que presentan los microorganismos al conformar una biopelícula, se ha aumentado el interés por investigar sobre ellas. En los diversos escenarios

donde se han descrito, el conocer los detalles de su organización ha permitido al hombre elaborar estrategias adecuadas a sus necesidades. Las infecciones y el *biofouling* son dos de las más grandes consecuencias desfavorables que tiene el desarrollo de biopelículas sobre superficies animadas e inanimadas y es en este campo que el hombre busca soluciones definitivas.

En el campo de la medicina representaría una estrategia novedosa el poder controlar la comunicación microbiana de manera que se altere la función de la biopelícula por medio de análogos de moléculas reguladoras del crecimiento y proliferación bacteriana. Convencionalmente se tratan las infecciones por medio de antibióticos que destruyen selectivamente las células. Como ejemplo, la enfermedad periodontal que es causada por una biopelícula que se acumula sobre la superficie dura de los dientes en cercanía a la encía. En este caso la terapia consiste en eliminar mecánicamente la placa bacteriana y en casos especiales, uso de antibióticos. Pero cabe recordar que las biopelículas son comunidades heterogéneas y solo una pequeña parte de los microorganismos causan la enfermedad. Es entonces interesante ver, cómo por medio de la modulación con análogos sintéticos que inhiban la comunicación entre bacterias nocivas o que estimulen el crecimiento de otras que puedan inhibir por competencia a las patógenas, se podría controlar la iniciación y progresión de la enfermedad^{1,16}. Esto significará una alternativa a los antimicrobianos futuros pues muchos de los actuales mecanismos de acción son resistidos por parte de los microorganismos^{6,7}.

Sin embargo, la presencia de biopelículas no siempre acarrea problemas. El hecho de que estas organizaciones degraden compuestos orgánicos ha impulsado a los microbiólogos y

ambientalistas a utilizarlas en todos los campos donde se requiere bioremediar. Las biopelículas tienen cualidades magníficas para eliminar elementos contaminantes del ambiente, como el no requerir de energía extra para trabajar, no generar en sus procesos de biodegradación desechos tóxicos, ser relativamente económicas y fáciles de manejar, de manera que muchos procesos se pueden dar de manera natural o serán impulsados por el hombre. Es por esto y muchas otras razones que las biopelículas serán involucradas en la creación de ambientes bioregenerativos donde el agua, el aire y los suelos se podrán reutilizar con el fin de no perder estos elementos tan valiosos del ecosistema.

SUMMARY

Biofilms are microbial communities composed by different microbiota embedded in a special adaptive environment. These communities show different characteristics such as heterogeneity, diversity in microenvironments, capacity to resist antimicrobial therapy and ability to allow bacterial communication. These characteristics convert them in complex organizations that are difficult to eradicate in their own environment. In the man, biofilms are associated to a great number of slow-development infectious processes which greatly difficulties their eradication. In the industry and environment, biofilms are centered in processes known as biofouling and bioremediation. The former is the contamination of a system due to the microbial activity of a biofilm. The latter uses biofilms to improve the conditions of a contaminated system. The study of biofilms is a new and exciting field which is constantly evolving and whose implications in medicine and industry would have important repercussions for the

humankind.

Key words: Biofilms. Quorum sensing. Periodontal disease. Biofouling. Bioremediation.

REFERENCIAS

- McCarthy M. Breaking up the bacterial happy home. *Lancet* 2001; 23: 357: 2032-2033.
- Costerton JW. Introduction to biofilms. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 11: 217-221.
- Costerton JW, Lewandowski Z, DeBeer D, Caldwell D, Korber D, James G. Biofilms the customized microniche. *J Bacteriol* 1994; 176: 2173-2242.
- Vroom JM, De Grauw KJ, Gerritsen HC, et al. Depth penetration and detection of pH gradients in biofilms by two photon excitation microscopy. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65: 3502-3511.
- Stoodley P, Dodds I, Boyle JD, Lappin-Scout HM. Influence of hydrodynamics and nutrients on biofilm structure. *J Appl Microbiol* 1999; 85: 518-519.
- Donlan RM. Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 9: 881-890.
- Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001; 14: 358: 135-138.
- Watnik P, Kolter R. Biofilm, city of microbes. *J Bacteriol* 2000; 182: 2675-2676.
- Costerton JW, Cheng KJ, Geesy GC, et al. Bacterial biofilms in nature and disease. *Ann Rev Microbiol* 1987; 41: 435-464.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284: 1318-1322.
- Donlan RM. Biofilms and device-associated infections. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:2: 277-281.
- Tunney MM, Patrick S, Gorman SP, et al. Isolation of anaerobes from orthopaedic implants. *Rev Med Microbiol* 1997; 8: 592-593.
- Neu TR, Verkeke GJ, Herrmann IF, Shutte HK, Van der Mei HC, Busscher HJ. Microflora on explanted silicone rubber voice prostheses: taxonomy, hydrophobicity and electrophoretic mobility. *J Appl Bacteriol* 1994; 76: 521-523.
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 134-144.
- Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64: 847-867.
- Potera C. Forging a link between biofilms and disease. *Science* 1999; 283: 1837-1838.
- Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic agents. *Periodontology* 2000 2002; 28: 12-55.
- Characklis B. What is the industrial significance of biofilm? (fecha de acceso abril 15 de 2003). URL disponible en: <http://www.erc.montana.edu/Res-Lib99-SW/glossary/gintro.html>
- Stewart TL. Biofilms and corrosion in applications of marine biotechnology. (fecha de acceso abril 18 de 2003). URL disponible en: <http://www.nsgo.seagrant.org/research/biotech/initiative/i3d.html>
- Hamilton WA. Classical model of corrosion by sulfate-reducing bacteria (SRB). *Annu Rev Microbiol* 1985; 39: 195-217.
- Sturman P. Petroleum industry. (fecha de acceso abril 15 de 2003). URL disponible en: http://www.erc.montana.edu/Ind-Col99SW/IAP/petroleum_ind.htm
- Kolari M. Paper machina biofilms. (fecha de acceso abril 19 de 2003). URL disponible en: <http://www.honeybee.helsinki.fi/users/mkolari/>
- Donlan R, Gibbon DL. Bacterial population on a metal surface in an industrial condenser. (fecha de acceso abril 19 de 2003). URL disponible en: <http://www.asmusa.org/edusrc/biofilms/infopage/018i.htm>
- Garrido JM, Méndez R, Lema JM. Nitrificación de aguas residuales: Procesos de biomasa en suspensión y procesos de biopelículas. *Bitechnol Bioeng* 1996; 11: 116-122.
- Grady CP, Lin JH. *Biological water treatment theory and applications*. New York: Marcel Dekker Edit; 1997.
- Vargas MC, Ramírez NE, Rueda SM, Sánchez FN. Isolation of microorganisms with capability to degrade polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ciencia, Tecnología y Futuro* 1996; 1,2: 45-53.
- Brock TD, Madigan MT. *Microbiología*. 6ª ed. México: Prentice Hall Hispanoamericana; 1991.
- Bower J, Mitchell R. Consortia of bacteria involved in the biodegradation of PCE. (fecha de acceso abril 18 de 2003). URL disponible en: <http://www.asmusa.org/edusrc/biofilms/infopage/017i.html>
- Eweis JB, Ergas SJ, Chang DP, Schroeder ED. *Principios de biorecuperación: tratamiento para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y fisicoquímicos*. Madrid: McGraw Hill; 1999.
- Duke P. Filtration and biofiltration. (fecha de acceso abril 18 de 2003). URL disponible en: <http://ag.arizona.edu/azaqua/extension/Classroom/Filtrationpage.htm>
- Alvarez E, Grajales C, Villegas J, Loke JB. *Powdery mildew in roses by applying lixiviated plantain raquis compost*. Cali: International Center for Tropical Agriculture (CIAT); 2002.
- Beyenal H, Lewandowski Z. Dynamics of lead immobilization in sulfate reducing biofilms. *Water Research* 2004; 38: 2726-2736.
- Borriello GE, Werner F, Ehrlich GD, et al. Oxygen limitation contributes to antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 2659-2664.
- Zhang RG, Pappas T, Brace JL, et al. Structure of a bacterial quorum-sensing transcription factor complexes with pheromone and DNA. *Nature* 2002; 417: 971-974.
- Smith KM, Bu Y, Suga H. Induction and inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing by synthetic autoinducer analogs. *Chem Biol* 2003; 10: 81-89.
- Romero M, Duque Z, De Rincón OT. Desarrollo de biopelículas sobre diferentes substratos metálicos expuestos al agua del lago de Maracaibo. *Rev Latinoam Biotecnol* 2002; 4: 5-6.
- Brand D. Barnacles will cling no more with self-cleaning, non-toxic coating for ships developed. (fecha de acceso abril 18 de 2003). URL disponible en: http://www.biofilmsonline.com/NEWS/BiofilmNews/032703_1.htm
- Clarck MM. Desarrollo de productos de origen microbiano para el control del biofouling en la industria acuicola. (fecha de acceso abril 20 de 2003). URL disponible en: <http://www.uantof.cl/ProyectoDOOII166/>
- Lee AC. Food borne pathogens on surfaces found in the food processing industry. (fecha de acceso abril 19 de 2003). URL disponible en: <http://www.asmusa.org/edusrc/biofilms/infopage/044i.html>
- Keeton J. Surface treatments could make ready to eat products safer. (fecha de acceso abril 18 de 2003). URL disponible en: http://www.biofilmsonline.com/NEWS/BiofilmNews/121802_1.htm
- Sturman P. Biofilm issues in household products. (fecha de acceso abril 20 de 2003). URL disponible en: http://www.erc.montana.edu/Ind-Col99-SW/IAP/hsehold_products.htm
- Riquelme CE. Optimización de la producción de semillas de invertebrados marinos de importancia comercial mediante la utilización de biopelículas microbianas. (fecha de acceso abril 20 de 2003). URL disponible en: <http://www.uantof.cl/ProyectoDOOII168/>
- Mitchell C. Comida espacial a base de orina y defecaciones. *The Wired News*, New York, 2002, marzo 27; A:1 (columna 4).