

Rinossinusite crónica: papel dos biofilmes

Chronic rhinosinusitis: role of biofilms

Sandra Sousa e Castro • Carla Cardoso • José Gameiro dos Santos • Cecília Almeida e Sousa

RESUMO

A rinossinusite crónica é uma doença muito prevalente e possui um impacto sócio-económico importante^{1,2}. É definida por um conjunto de sintomas, com duração superior a doze semanas, sendo os sinais da inflamação evidenciados pela rinoscopia anterior e endoscopia nasal. Também pode ser documentada imagiologicamente pela tomografia computadorizada¹.

A patogénese desta doença permanece desconhecida³. Entre os vários factores causais que são apontados, destaca-se o papel dos biofilmes que têm despertado cada vez mais a atenção dos autores, nos últimos anos^{4,5}. As infecções associadas aos biofilmes têm-se revelado refractárias ao tratamento prolongado com antibióticos^{4,6}. Os biofilmes têm sido implicados em várias infecções da cabeça e pescoço nomeadamente na doença dentária e periodontal, otite média colesteatomatosa, otorreia associada a tubos de timpanostomia e amigdalite crónica⁷. Recentemente, vários autores têm comprovado a sua implicação na rinossinusite crónica^{2,7}. Além disso, têm sido detectadas alterações estruturais na mucosa nasossinusal, por microscopia electrónica, em doentes com rinossinusite crónica portadores de biofilmes^{3,6}. Têm-se sido detectados vários níveis de gravidade desde uma desorganização ciliar até a uma ausência completa de cílios e de células *goblet*⁶.

Neste trabalho, os autores pretendem efectuar uma revisão da literatura, publicada na língua portuguesa e inglesa, com actualização dos conhecimentos acerca da rinossinusite crónica e o papel dos biofilmes nesta patologia.

Palavras-chave: rinossinusite crónica, biofilmes, mucosa nasossinusal

ABSTRACT

Chronic rhinosinusitis is a very prevalent disorder with significant societal impact and economic burden^{1,2}. It is defined by a number of symptoms which last for more than 12 weeks and by inflammatory signs which are observed through anterior rhinoscopy and nasal endoscopy. Computed tomography imaging may also be used to document the disease¹.

The pathogenesis of chronic rhinosinusitis remains largely unknown³. One of the possible etiological factors is the involvement of bacterial biofilms which has received much attention by many authors in the past few years^{4,5}. Infections associated with these biofilms have proven refractory to prolonged treatment with antibiotics^{4,6}. Biofilms have been implicated in several head and neck infections such as dental and periodontal disease, otitis media with cholesteatoma, typanoplasty tube otorrhea and chronic tonsillitis⁷. Recently, various authors have confirmed the involvement of biofilms in chronic rhinosinusitis^{2,7}. Furthermore, in patients with chronic rhinosinusitis associated with biofilms, structural alterations of the sinonasal mucosa are observed by electronic microscopy^{3,6}. Various stages of severity have been detected from ciliar disorganization to total absence of cilia and goblet cells⁶.

This paper presents a systematic review of the published medical literature in the Portuguese and English language. Current concepts of chronic rhinosinusitis and the role of biofilms in this pathology are discussed.

Keywords: chronic rhinosinusitis, biofilms, sinonasal mucosa

RINOSSINUSITE CRÓNICA

Na maioria dos indivíduos constata-se a presença simultânea de rinite e sinusite, por isso, a designação correcta desta patologia é rinossinusite¹.

A rinossinusite crónica define-se como uma inflamação do nariz e seios perinasais e caracteriza-se pela presença de pelo menos dois sintomas, devendo um dos sintomas corresponder a bloqueio/obstrução/congestão nasal ou rinorreia anterior/posterior. Os outros sintomas que podem ser referidos consistem em dor/pressão na face e/ou hiposmia ou anosmia. Para se estabelecer o diagnóstico de rinossinusite crónica, além dos sintomas, têm de ser detectadas alterações na endoscopia e/ou tomografia computadorizada. A endoscopia nasal pode revelar pólipos e/ou rinorreia mucopurulenta oriunda do meato médio e/ou edema da mucosa do meato médio. A tomografia

Sandra Sousa e Castro

Interna do Internato Complementar de ORL do Centro Hospitalar do Porto

Carla Cardoso

Assistente Hospitalar do Serviço de ORL do Centro Hospitalar do Porto

José Gameiro dos Santos

Assistente Hospitalar Graduado do Serviço de ORL do Centro Hospitalar do Porto

Cecília Almeida e Sousa

Directora do Serviço de ORL do Centro Hospitalar do Porto

Sandra Sousa e Castro

Serviço de Otorrinolaringologia – Centro Hospitalar do Porto

Largo do Prof. Abel Salazar,

4099-001 Porto

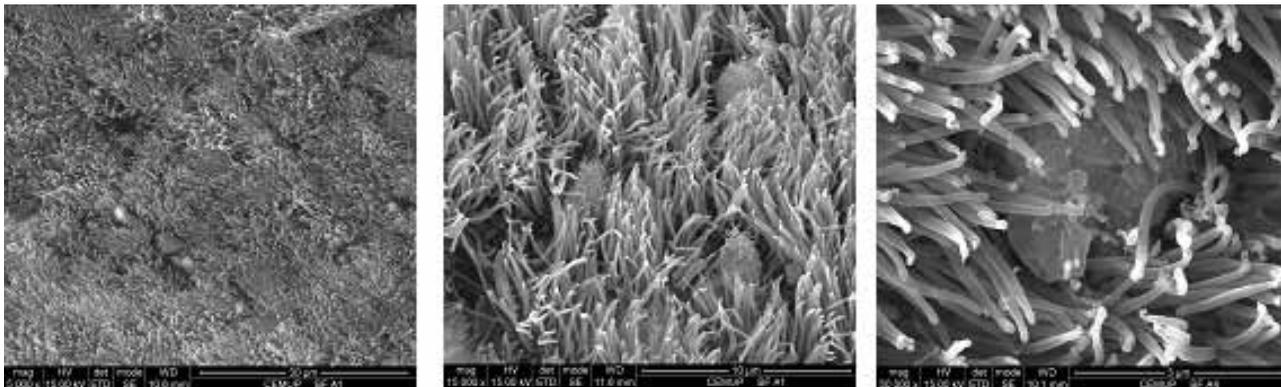
Telefone: 222077500

E-mail: sandracastro@portugalmail.com

computadorizada, pode ser útil ao revelar alterações da mucosa ao nível do complexo ostiomeatal e/ou seios perinasais. A sintomatologia deverá ter uma duração superior a 12 semanas. Apesar de poderem existir exacerbações, nunca se constata uma resolução completa das queixas¹.

FIGURA 1

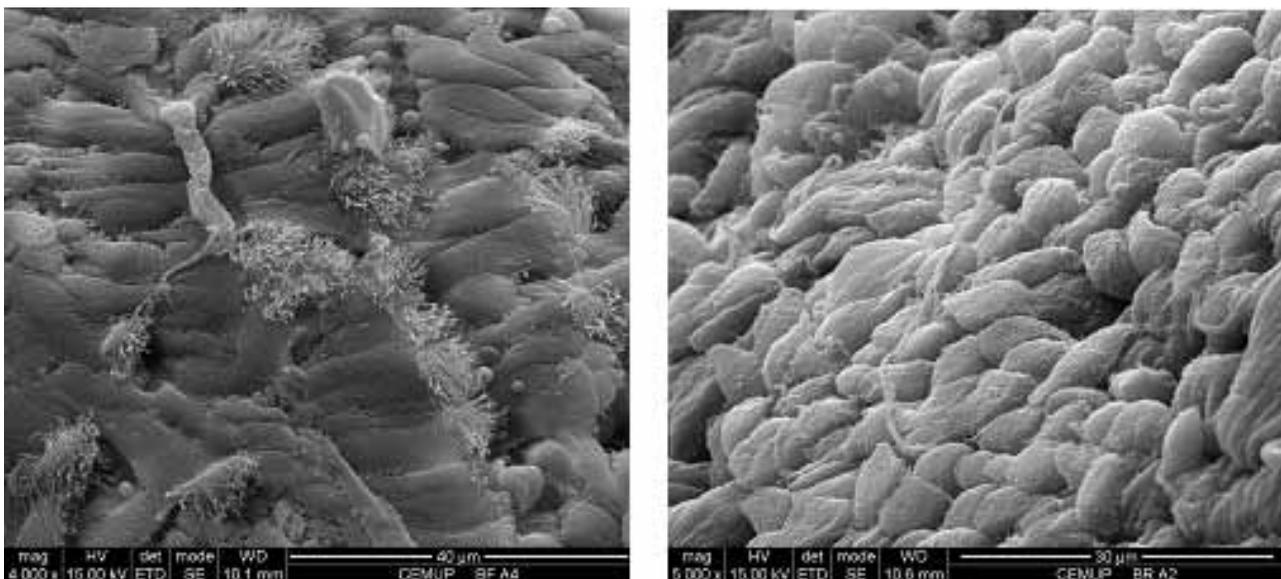
Mucosa nasossinusal com epitélio pseudoestratificado ciliado normal. Observam-se células ciliadas com algumas células goblet dispersas. (Ampliação 5000x mag, 15000x mag e 50000x mag, respectivamente).



A gravidade da doença pode ser documentada recorrendo a uma escala visual analógica (0-10 cm), em que o doente quantifica na escala de que forma os sintomas de rinossinusite crónica o incomodam no seu quotidiano. A doença pode, desta forma, ser classificada em ligeira (0-3), moderada (4-7) ou severa (8-10)¹. Apesar da elevada prevalência e da morbilidade significativa da rinossinusite crónica, a epidemiologia desta patologia não é conhecida com exactidão dada a ausência de uniformização na definição de rinossinusite crónica^{1,3}. Estima-se que afecta 15-16% da população norte-americana. A prevalência é substancialmente maior no sexo feminino, numa proporção sexo feminino/masculino de 6/4. A prevalência aumenta com a idade, com uma média de 2.7% e 6.6% nas faixas etárias dos 20-29 e

FIGURA 2

Células ciliadas destruídas, dispostas horizontalmente sobre a mucosa nasossinusal



50-59 anos, respectivamente. Após os 60 anos, a prevalência diminui para 4.7%¹.

Na patofisiologia desta entidade estão implicadas algumas situações, sendo as mais relevantes a existência de um compromisso do arejamento e drenagem dos seios perinasais, a

alteração da *clearance* muco-ciliar e a ocorrência de inflamação/ infecção^{1,5,8,9}.

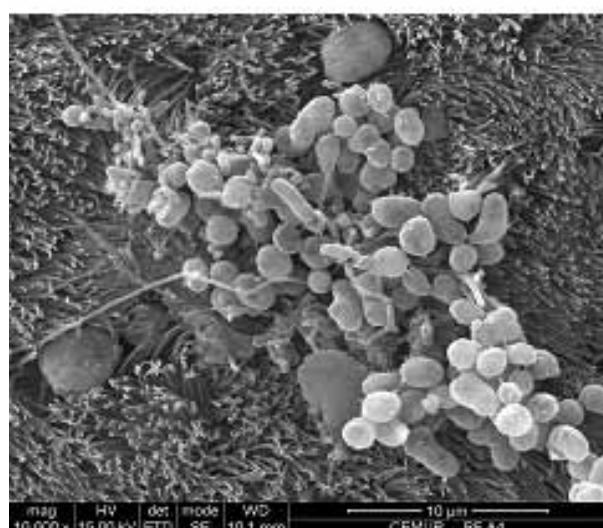
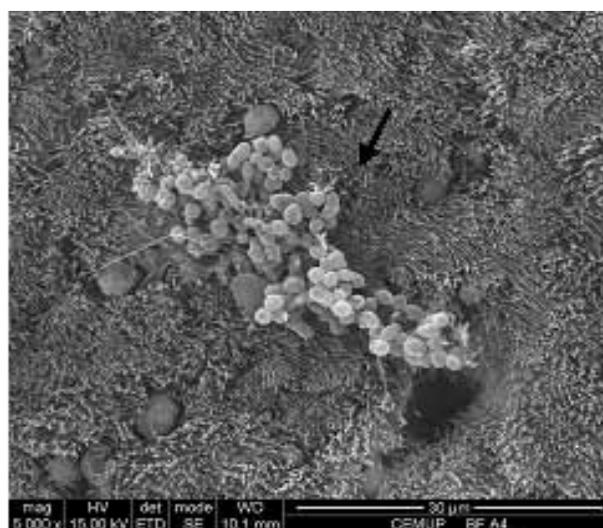
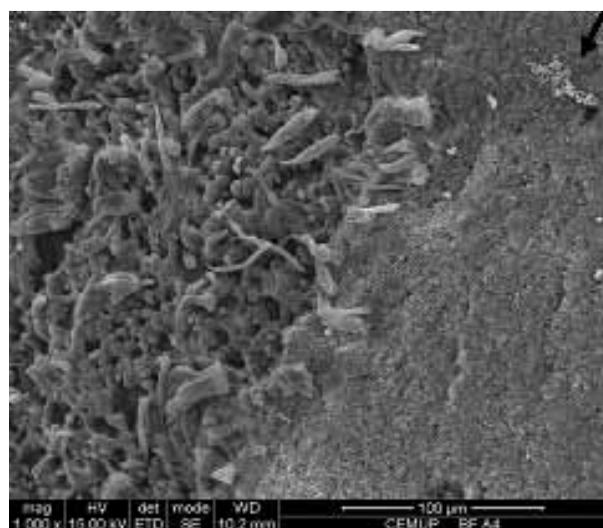
Certas variações anatómicas, como desvio do septo, hipertrofia dos cornetos inferiores, concha bulbosa ou apófise unciforme deslocada têm sido implicadas como um potencial factor de risco para o desenvolvimento de rinossinusite crónica ao causarem um obstáculo ao arejamento e drenagem dos seios perinasais^{1,6,8,9}. Apesar de não existir evidência de uma correlação causal entre as variações anatómicas nasais e a incidência de rinossinusite crónica, constata-se frequentemente a resolução das queixas nasossinusais após cirurgia¹. Alguns autores têm constatado que perante as mesmas condições, apenas alguns doentes desenvolvem rinossinusite crónica. Desta forma, doentes

portadores de alterações anatómicas semelhantes e com *clearance* mucociliar idêntico comportam-se de forma diferente e apenas alguns desenvolvem rinossinusite crónica. Falta determinar o “gatilho” que desencadeia a doença^{1,8}.

Os cílios desempenham um papel importante na *clearance* dos seios perinasais e na prevenção de inflamação crónica. Os doentes com discinesia ciliar primária e síndrome de *Kartagener* têm uma elevada prevalência de rinossinusite crónica associada a uma história de infecções respiratórias de repetição. Os cílios dos doentes com fibrose cística são incapazes de transportar o muco viscoso, causando disfunção ciliar e consequentemente rinossinusite crónica. Nos doentes com rinossinusite crónica é detectada discinesia ciliar secundária, que é potencialmente reversível, apesar de morosa^{1,9}.

FIGURA 3

Presença de biofilme (seta) em epitélio destruído, sem cílios. (Ampliação 1000x mag, 5000x mag, 10000xmag e 30000x mag, respectivamente)



É precisamente nos locais de deficiente drenagem, arejamento e *clearance* mucociliar que ocorre a inflamação nos doentes com rinossinusite crónica. A inflamação é condição universal nos doentes com rinossinusite crónica⁹. Na maioria dos

doentes é também possível isolar agentes infecciosos, sendo os microorganismos mais frequentemente detectados bactérias aeróbias (86%), nomeadamente *Staphylococcus aureus* (36%), *Staphylococcus coagulase-negativos* (20%), *Streptococcus pneumoniae* (17%). Os agentes anaeróbios são mais prevalentes em infecções secundárias a problemas dentários^{1,9}. Contudo alguns autores defendem que com a cronicidade as bactérias aeróbias vão sendo gradualmente substituídas por anaeróbias, dada a pressão selectiva que favorece o crescimento dos anaeróbios e que é causada pela redução da tensão de oxigénio e pela acidificação no interior dos seios perinasais. Frequentemente é detectada colonização polimicrobiana, incluindo fungos, contudo a contribuição dos diferentes agentes para a patogénese da doença permanece desconhecida¹.

PAPEL DOS BIOFILMES NA RINOSSINUSITE CRÓNICA

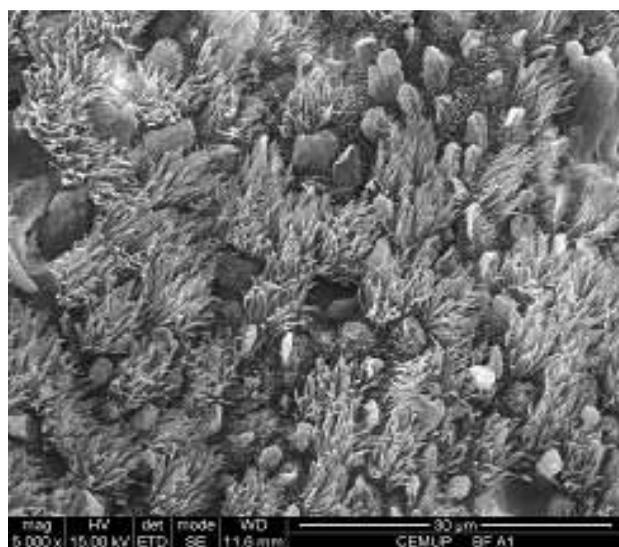
Muitos autores defendem que os biofilmes estão associados à rinossinusite crónica²⁻⁷. Acredita-se que 99% de todas as bactérias encontram-se em biofilmes e apenas 1% no estado livre

ou planctónico⁷. Publicações recentes dos Centros de Controlo e Prevenção de Doenças estimam que 65% de todas as infecções bacterianas humanas envolvem biofilmes^{2,4,7}.

Van Leeuwenhoek foi o primeiro a descrever microorganismos ancorados na superfície dos dentes. Em 1970, Characklis re-emergiu este conceito ao estudar agentes microbianos nos sistemas de água industrial que eram resistentes aos desinfetantes. Mais tarde, Costerton sugeriu que os biofilmes explicam o mecanismo pelo qual os organismos aderem a superfícies vivas ou inertes⁷.

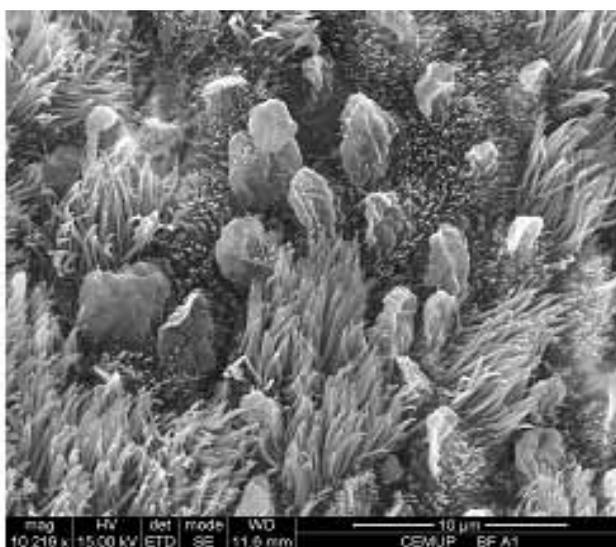
FIGURA 4

Epitélio parcialmente destruído, com diminuição das células ciliadas e aumento das células *goblet*



activas que as áreas profundas. Desta forma, as bactérias vão-se adaptando à diminuição da disponibilidade de oxigénio^{7,11}.

Durante este processo de formação do biofilme é necessária uma sinalização química coordenada entre as células. A produção de um biofilme para uma bactéria isolada só é compensada se existir um número adequado de células vizinhas. Assim, o processo de sinalização permite às bactérias a detecção de outras bactérias próximas e a resposta a várias condições. São usadas várias substâncias como acetil homoserina lactona (AHL). Este processo é designado por *quorum sensing*^{7,10}.



Um biofilme consiste numa comunidade estruturada de microorganismos englobados numa matriz polimérica auto-produzida e aderente a uma superfície viva ou inerte^{2,3,7}. A sua formação engloba várias etapas: ligação, adesão, colonização (via *quorum sensing*), desenvolvimento e dispersão^{7,10,11}.

A formação de um biofilme começa com a ligação de microorganismos livres a uma superfície. Os primeiros agentes colonizadores aderem inicialmente a essa superfície através de forças de van der Waals fracas e reversíveis. Se os colonizadores não forem imediatamente separados da superfície podem ancorar-se de forma mais permanente através de estruturas de adesão celular como as fimbrias. Os primeiros colonizadores facilitam a ancoragem de outros agentes dado que proporcionam outros locais de adesão e iniciam a formação da matriz de polissacarídeos extracelular que mantém o biofilme coeso e lhe confere uma estrutura tridimensional. Algumas espécies não são capazes de se ligarem a uma superfície mas conseguem ancorar-se à matriz ou directamente aos colonizadores anteriores^{7,10,11}.

Nesta fase de colonização, as torres e canais de água são evidentes. Os canais de água facilitam o transporte de nutrientes e resíduos, para além de criarem um gradiente de pH no biofilme. Também existe um gradiente de tensão de oxigénio no interior do biofilme, em que as áreas superficiais são metabolicamente mais

O crescimento do biofilme deve-se a uma combinação de divisão celular e recrutamento de outros microorganismos⁷.

Após os biofilmes atingirem a maturidade, as bactérias podem desagregar-se e embolizar para outras áreas, onde o processo pode recomeçar. A dispersão permite ao biofilme a disseminação e colonização de novas superfícies. As enzimas que degradam a matriz extracelular, como dispersina B e desoxirribonuclease, desempenham um papel fundamental neste processo de dispersão. Pensa-se que as enzimas que degradam a matriz do biofilme possam no futuro ser usadas como agentes anti-biofilme^{7,13}.

Os biofilmes apresentam um ambiente muito dinâmico com alteração de material genético como plasmídeos, enzimas e outras moléculas^{5,13}. Esta adaptação constante ao meio envolvente proporciona uma importante e preocupante resistência aos antibióticos^{2,5}.

A antibioterapia oral frequentemente é ineficaz no tratamento da rinosinusite crónica^{4,7,14}. Esta falência é algo surpreendente, tendo em conta a elevada taxa de sucesso dos antibióticos no tratamento da sinusite bacteriana aguda ou sinusite crónica agudizada. Os biofilmes têm sido implicados na explicação deste fenómeno. Nos casos de rinosinusite aguda ou rinosinusite crónica agudizada é possível controlar a infecção

porque as bactérias existem no estado planctônico/livre. Na rinossinusite crônica, a organização dos biofilmes confere às bactérias constituintes uma maior resistência aos antibióticos. A concentração inibitória mínima (CIM) para uma bactéria planctônica é ineficaz para a mesma estirpe bacteriana se esta estiver presente num biofilme^{4,14}. As bactérias dos biofilmes conseguem resistir a doses de antibióticos cerca de 1000 vezes mais altas do que se existirem na forma planctônica⁶. Aumentando a concentração do antibiótico pode-se ultrapassar a resistência, contudo as elevadas concentrações séricas de antibiótico aumentam o risco de toxicidade. A aplicação tópica de antibióticos parece permitir alcançar elevadas concentrações na mucosa nasossinusal, sem o risco de complicações sistêmicas. Existem alguns estudos publicados sobre este tema, mas ainda são escassos e não permitem a generalização das conclusões¹⁴.

Jacopo Galli constatou que os doentes com rinossinusite, sem evidência de biofilmes, apresentam um epitélio normal ou parcialmente preservado, em que pode haver uma diminuição das células ciliadas e um aumento de células *goblet* e de células inflamatórias. Nesta fase, o recurso a cirurgia funcional endoscópica nasossinusal permite a regeneração do epitélio e restauração da *clearance* mucociliar, constituindo uma abordagem muito eficaz no tratamento de doentes com rinossinusite crônica. Nos casos em que a mucosa nasossinusal se encontra colonizada por biofilmes bacterianos, constata-se uma destruição exuberante do epitélio respiratório com uma ausência completa de cílios e células *goblet*, o que condiciona também piores resultados após tratamento cirúrgico⁶. É imperiosa a publicação de mais estudos, com grandes amostras de doentes e randomizados, para se poder retirar conclusões sobre esta temática.

CONCLUSÃO

A rinossinusite crônica é uma doença muito prevalente, contudo a sua patogénese permanece desconhecida. Os biofilmes têm sido implicados no desenvolvimento e persistência da doença. As bactérias de um biofilme têm propriedades significativamente diferentes das bactérias livres/flutuantes da mesma espécie, dado que o ambiente denso e protector do biofilme permite uma cooperação e interacção peculiar. Um dos benefícios é o aumento da resistência a detergentes e antibióticos pois a densa matriz extracelular e as camadas superficiais protegem o interior da comunidade. Desta forma, os biofilmes presentes na mucosa nasossinusal são difíceis de erradicar com a antibioterapia convencional. Vários autores defendem que a administração tópica de antibióticos pode constituir uma solução ao permitir atingir elevadas concentrações de fármaco na mucosa nasossinusal, com uma baixa potencial absorção sistémica e sem efeitos laterais relevantes.

Referências bibliográficas

- 1- Fokkens W, Lund V, Mullol J. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps. *Rhinology*. 2007; 45 (20): 1-139.
- 2- Sanderson A, Leid J, Hunsaker D. Bacterial Biofilms on the Sinus Mucosa of Human Subjects with Chronic Rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2006 Jul; 116 (7): 1121-6.
- 3- Psaltis A, Ha K, Beule A, Wai Tan L, Wormald P. Confocal Scanning Laser Microscopy Evidence of Biofilms in Patients with Chronic Rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2007 Jul; 117 (7): 1302-6.
- 4- Bendouah Z, Barbeau J, Hamad W, Desrosiers M. Biofilm Formation by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is Associated with an Unfavorable Evolution After Surgery for Chronic Sinusitis and Nasal Polyposis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006 Jun; 134 (6): 991-6.
- 5- Ha K, Psaltis A, Butcher A, Wormald P, et al. In Vitro Activity of Mupirocin on Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* and its Potential Implications in Chronic Rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2008 Mar; 118 (3): 535-40.
- 6- Galli J, Calò L, Ardito F, et al. Damage to Ciliated Epithelium in Chronic Rhinosinusitis: What is the Role of Bacterial Biofilms? *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2008 Dec; 117 (12): 902-8.
- 7- Hassan H, Ramadan M, Sanclement J, Thomas J. Chronic Rhinosinusitis and Biofilms. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004 Jun; 132 (3): 414-7.
- 8- Brook I, Bajaracharya H, Hinthorn D. Chronic sinusitis - eMedicine Specialties. Last update: Jun 2009. Available from: URL: <http://emedicine.medscape.com/article/232791-overview>.
- 9- Lund V. Therapeutic Targets in Rhinosinusitis: Infection or Inflammation? *Medscape J Med*. 2008; 10(4): 105.
- 10- Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, et al. The Involvement of Cell-to-cell Signals in the Development of a Bacterial Biofilm. *Science*. 1998 Apr 10; 280(5361): 295-8.
- 11- De Beer D, Stoodley P, Roe F, Lewandowski Z. Effects of Biofilm Structure on Oxygen Distribution and Mass Transport. *Biotechnol Bioeng*. 1994 May; 43(11): 1131-8.
- 13- Xavier J, Picioreanu C, Rani S, Loosdrecht M, et al. Biofilm Control Strategies Based on Enzymic Disruption of the Extracellular Polymeric Substance Matrix – A Modeling Study. *Microbiology*. 2005; 151: 3817-32.
- 14- Ghannoum M, O'Toole G. *Biofilm Antimicrobial Resistance in Microbial Biofilms*. Washington DC: ASM Press. 2004; 14: 250-68.