

RELAÇÃO EXISTENTE ENTRE BIOFILMES BACTERIANOS, *QUORUM SENSING*, INFECÇÕES E RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

EXISTING BETWEEN BACTERIAL RELATIONSHIP BIOFILMS, *QUORUM SENSING*, INFECTIONS AND ANTIBIOTIC RESISTANCE: A LITERATURE REVIEW

Neila Batista Damaceno¹, Luciana Ramalho Farias²

¹ Aluna de Iniciação Científica e do Curso de Biomedicina da Faculdades Integradas Promove de Brasília;

² Professora Mestre dos Cursos de Enfermagem e Biomedicina e Orientadora de Iniciação Científica da Faculdade ICESP e das Faculdades Integradas Promove de Brasília.

Resumo

Este trabalho aborda a relação do *quorum sensing* na formação do biofilme bacteriano. O *quorum sensing* é um mecanismo de comunicação bacteriano, envolvido na expressão de fatores de virulência e formação de biofilme. Desse modo, impedir o funcionamento do *quorum sensing* é uma estratégia para contenção do biofilme. O biofilme é descrito como um aglomerado de células bacterianas ancoradas irreversivelmente a uma superfície inerte ou viva. Quando formado, o biofilme ocasiona/agrava infecções, e devido a sua estrutura tridimensional, dificulta o tratamento com antimicrobianos, promovendo a resistência aos mesmos.

Palavras-chave: Biofilme; resistência; *quorum sensing*; infecção.

Abstract

This work addresses the relationship of *quorum sensing* in the formation of bacterial biofilms. The *quorum sensing* is a mechanism of bacterial communication, involving the expression of virulence factors and the biofilm formation. Therefore, hindering the operation of *quorum sensing* is a strategy to control biofilm. The biofilm is described as a cell pellet bacteria irreversibly anchored to an inert or living surface. Once formed, biofilms cause/aggravate infections, and also, due to its three-dimensional structure, it hinders the antimicrobial treatment, promoting antimicrobial resistance.

Keywords: Biofilm; resistance; *quorum sensing*; infections.

Contato: Luciana Ramalho Farias, e-mail: fariaslr@gmail.com

Enviado: novembro de 2015

Revisado: fevereiro de 2016

Aceito: abril de 2016

Introdução

O mecanismo de *quorum sensing* (QS) consiste na produção e liberação de moléculas de sinalização para o meio, provocando a expressão de vários genes (ROMERO *et al.*, 2012). Essa comunicação possibilita às bactérias executarem funções biológicas importantes, muitas delas envolvidas com a virulência desses patógenos. Além disso, tem sido demonstrado que o *quorum sensing* desempenha um papel na adesão celular, conferindo ao biofilme uma maior proteção em relação aos agentes antimicrobianos (ANTUNES, 2003).

Os diferentes tipos de sinais do *quorum sensing* são chamados de auto-indutores e foram identificados na maioria dos casos como moléculas orgânicas que se difundem livremente pela célula e

fora dela. Existe uma vasta gama de moléculas sinalizadoras, como Oligopeptídeos, N-lactona-acil-hemosiderina (AHL - AI-1) e Furanosil borato diéster (AI-2) (KALIA *et al.*, 2012). O sinal de QS mais estudado e conhecido é o N-lactona-acil-hemosiderina, o qual é utilizado por várias bactérias Gram-negativas (ROMERO *et al.*, 2012), e é composto por duas proteínas, o sinal de síntese LuxI responsável pela produção de AHL e LuxR que é o receptor de AHL. Bactérias Gram-positivas usam oligopeptídeos, seus receptores estão ligados à membrana e o sinal ocorre através de cascatas de fosforilação (ROMERO *et al.*, 2012). O *quorum sensing* participa das primeiras etapas para a formação do biofilme bacteriano. Após formado, o biofilme torna-se irreversível e, por esta

característica, é um problema para qualquer indivíduo que, por algum motivo, possua as condições favoráveis à sua formação.

O biofilme é uma reunião de células microbianas irreversivelmente ancorada a uma superfície inerte ou viva, envolvida por uma matriz de uma substância polimérica extracelular autoproduzida e composta de material primariamente polissacarídico, que representa mais de 90% da massa do biofilme (PÁDUA *et al.*, 2009).

São três etapas até a formação do biofilme maduro: anexo inicial a uma superfície sólida; formação de microcolônias na superfície e, por fim, diferenciação de microcolônias envoltas por expopolissacarídeo (COSTERTON *et al.*, 2002).

A composição química do EPS pode variar entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Nas Gram-negativas a presença de ácidos urônicos proporciona a característica aniônica, que por sua vez permite a associação de cátions bivalentes. Esses cátions são importantes para ligações transversais com as fibras de polímero e proporcionam uma maior força de ligação do biofilme (LERICHE *et al.*, 2000). Em bactérias Gram-negativas, a composição química do EPS pode ser catiônica.

Lerich *et al.* mostraram que diferentes organismos produzem diferentes quantidades de EPS e que essa quantidade EPS aumenta com a idade do biofilme. Além disso, EPS podem associar-se a íons de metais, a outras macromoléculas sendo ainda altamente hidratado, o que evita a dissecação em alguns biofilmes naturais (LEWANDOWSKI, 2000).

Em termos de estrutura, os biofilmes são heterogêneos, visto que contém microcolônias de células bacterianas envolvidas por uma matriz de EPS e separadas de outras microcolônias por canais de água (JAMES *et al.*, 1995). Nestes canais, ocorre fluxo de líquido, o que facilita a difusão de nutrientes, oxigênio e ainda- agentes microbianos de virulência. James *et al.*, mostraram em seu experimento que a espessura do biofilme depende do número de organismos que o compõe. Em culturas puras de *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, o biofilme tem 15µ e 30µ respectivamente. Entretanto, a espessura do biofilme contendo as duas espécies apresenta cerca de 40µ, o que leva a crer que uma espécie colabora com a outra. EPS também

contribuem para propriedades de resistência antimicrobiana dos biofilmes, uma vez que impede o transporte de massa de antibióticos através do biofilme, provavelmente por se ligarem diretamente a estes agentes (DONLAN, 2000).

Segundo Costerton *et al.* (ano?), existem três hipóteses explicando como o biofilme pode ser resistente aos agentes antimicrobianos. A primeira apoia-se no fato de que a resistência acontece devido à falha do agente em penetrar por completo o biofilme. A segunda hipótese postula que algumas células do biofilme vivam a limitação de nutrientes, portanto, com crescimento lento ou o não crescimento celular, não seja susceptível a muitos agentes antimicrobianos. Essa heterogeneidade de estados metabólicos apresentados pelas células que compõem o biofilme são quase, ao certo, uma estratégia de sobrevivência a ataques de agentes antimicrobianos que possui por alvo mecanismos metabólicos diretos. O terceiro mecanismo que pode reduzir a susceptibilidade aos antibióticos é que algumas células apresentam um fenótipo diferente, o que lhes confere uma certa proteção. Outra questão que influencia claramente a resistência a agentes antimicrobianos é a troca de plasmídeos, uma vez que os mesmos podem codificar resistência a vários antibióticos, promovendo então, a difusão da resistência (DONLAN, 2000). Devido à grande quantidade de células, o biofilme se torna o nicho ideal para troca de DNA extracromossomal (GALANTE *et al.*, 2015). De acordo com Hausner *et al.*, a conjugação ocorre em maior taxa entre células que estão dispostas em biofilmes do que entre células plactônicas. Ghigo, mostra que o pili F (codificado pelo plasmídeo F) atua como um fator de adesão entre as interações célula-célula, o que resulta na formação de um biofilme tridimensional de *Escherichia coli*. Ele também afirma que, sem esse plasmídeo, os mesmos microrganismos formariam apenas microcolônias sem qualquer desenvolvimento. Uma explicação para a melhora do processo de conjugação é que o ambiente do biofilme proporciona uma melhor interação célula-célula. Neste trabalho, teve-se por objetivo estabelecer as relações entre *quorum sensing*, biofilmes, resistência a antimicrobianos e infecções hospitalares com o intuito de propor estratégias de controle de infecções causadas por biofilmes bacterianos.

DESENVOLVIMENTO

Diferentes mecanismos de quorum sensing e sua participação na formação do biofilme bacteriano

Como supracitado, existem diferentes tipos de moléculas sinalizadoras. No que se refere ao sistema AHL, as moléculas de sinalização são sintetizadas (tal como o gene *LuxI*), ficando distribuídas em torno das células. Em alta densidade celular, essa molécula se liga ao seu receptor (proteína R) e ativa o seu regulador transcricional (*LuxR*), que, por sua vez, liga-se à região promotora do gene de interesse e desencadeia a expressão (KALIA *et al.*, 2012). A ligação entre a molécula sinalizadora e seu receptor é bem específica, tendo portanto, um receptor diferente para cada molécula sinalizadora.

Apesar de ser o mais utilizado em bactérias Gram-negativas, há algumas bactérias que usam mais de um sinal de *quorum sensing*, como é o caso da *P. aeruginosa*, que além do sistema *Lux I/Lux R*, também utiliza o sistema *Rhl/RhR* (ZHANG, 2002). No caso da *P. aeruginosa*, esses genes são responsáveis pela expressão de múltiplas enzimas extracelulares, formação de biofilme, e metabólitos secundários (PEARSON *et al.*, 1997).

Em se tratando de bactérias Gram-positivas, os oligopeptídeos (AIP's) são codificados como precursores (pró AIP's) e são diferentes em estrutura e sequência. Na pesquisa feita por Olson *et al.*, foram caracterizados três tipos de AIP's: I, II e III em cepas de *Streptococcus epidermidis*. Os sinais AIP II e AIP III são os maiores AIP's estafilocócicos identificados até o momento, contendo 12 resíduos de aminoácidos de comprimento (DE KIEVIT & IGLEWSKI, 1997; OLSON *et al.*, 2014).

Transportadores especializados são necessários, pois uma vez que a membrana é impermeável aos peptídeos, os transportadores também processam os AIP's (HUME *et al.*, 2004). Após sofrer modificações, são transportados para o meio externo. Quando o limiar de concentração é atingido, dois componentes detectam uma quinase na membrana da célula. Esta, por sua vez, reconhece o peptídeo e o transfere para o meio interno, fosforilando o próximo componente. Uma proteína que atua como regulador de resposta, se liga ao DNA e assim, regula a expressão dos genes alvos (RUTHERFORD *et al.*, 2012). Um exemplo, é a bactéria

Staphylococcus aureus, que depende da expressão de uma variedade de moléculas para adesão, toxinas e compostos que afetam o sistema imunitário, fatores os quais são regulados por sistemas de QS (HUME *et al.*, 2004).

O sistema Com ABCDE foi identificado em *Streptococcus pneumoniae*. Nesse sistema, o peptídeo denominado CSP é a molécula de sinalização. É codificado pelo gene *COMC*. O CSP se acumula no exterior da célula, em alta densidade celular, é então detectado por um receptor histidina quinase ligado à membrana, o Com D (SOLA *et al.*, 2012).

O sistema de QS, furanosil borato diéster (AI-2), também é de grande importância, sintetizado a partir do gene *LuxS*, possibilita a comunicação de bactérias tanto Gram-positivas, quanto Gram-negativas (KALIA *et al.*, 2012). Consiste, portanto, em uma comunicação universal entre bactérias. Pesquisas revelam que o sistema dependente do AI-2 já foi identificado em mais de 285 espécies de bactérias, principalmente em *Salmonella entérica*, *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *S. Pneumoniae* e *Yersinia* sp (Rutherford *et al.*, 2012; Vidal *et al.*, 2013). Em um estudo feito por Raut *et al.*, utilizando biosensores, foi possível comprovar a presença de moléculas de AI-2 em amostras de fezes e saliva em pacientes com doença inflamatória intestinal. Em infecções por *S. pneumoniae* a forma predominante é como biofilme, exceto em casos de sepse, onde a forma prevaiente é a plactônica (WOODWORTH *et al.*, 2008). O sistema furanosil borato diéster (AI-2) promove a fixação da célula em qualquer superfície, facilitando o processo de formação do biofilme bacteriano (CSOLA *et al.*, 2012)

Após desenvolvido o biofilme pode desencadear infecções, como as hospitalares, ou ainda agravar doenças já existentes. Na fibrose cística, por exemplo, o defeito genético leva à perda da proteína CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Regulation*). A ausência do canal de cloreto leva a um conteúdo elevado de sal nas vias aéreas, o que inibe a atividade de peptídeos e proteínas envolvidos na imunidade. Sob estas circunstâncias, torna-se fácil a colonização com *P. aeruginosa*, e posteriormente a formação do biofilme no epitélio. Em nível de defesa celular, há anticorpos contra as células plactônicas de *P. aeruginosa*. Entretanto, o anticorpo não é capaz de penetrar o biofilme (COSTERTON *et al.*, 2002).

Em um estudo de coorte feito por Pádua *et al.*, evidenciou-se a existência de biofilmes em pacientes com rinossinusite crônica com polipose nasossinusal resistente a antibióticos. Como resultado, eles visualizaram a estrutura tridimensional, estruturas esféricas envolvidas por uma matriz expopolissacarídica envoltas por canais de água.

Tiba *et al.*, relacionou os fatores de virulência de *Escherichia coli* com a formação de biofilmes em pacientes com quadro clínico de cistite. Por meio de caracterização molecular, eles observaram que o Antígeno 43 (adesinas afimbriais) é um dos responsáveis pela formação do biofilme e pode ainda estar associado a outros fatores de virulência na formação de biofilme em infecções urinárias.

Mecanismos de inibição do quorum sensing

A principal característica do biofilme bacteriano é a resistência do mesmo à ação de moléculas antimicrobianas. Por essa razão, o maior interesse é descobrir formas de evitar ou reduzir a formação do biofilme. Com base nos estudos citados, o mecanismo de quorum sensing está ligado inteiramente à etapa inicial de formação do biofilme. Logo, a inibição do *quorum sensing* se torna o primeiro alvo no que se refere aos mecanismos de interrupção da formação do biofilme. O *quorum sensing* pode ser desfeito por diferentes modelos, como: redução da atividade da proteína do receptor de AHL, inibição da produção da molécula de QS, degradação de AHL ou ainda, imitação das moléculas de sinalização (KALIA *et al.*, 2012). O bloqueio dessa sinalização, além de impedir a formação do biofilme, torna as bactérias mais sensíveis às drogas antimicrobianas e ao próprio sistema imunológico (ANTUNES, 2003; RUTHERFORD *et al.*, 2012).

Na literatura, podem ser encontradas duas classes de enzimas capazes de degradar as moléculas sinalizadoras AHL: as lactonases, que hidrolisam o anel lactona e as ocilases, que hidrolisam a ponte amida entre a cadeia de ácido graxo e a molécula de homosiderina lactona (LIN *et al.*, 2003; STEGGLES, 2011). Os inibidores de *quorum sensing* podem ser de ordem natural, que engloba tanto substâncias produzidas tanto por eucariotos, quanto por procariotos, ou de ordem sintética, que são

moléculas análogas produzidas em laboratório (KALIA *et al.*, 2012).

Romero *et al.*, mostra que há compostos naturais que imitam a estrutura do QS, proporcionando um efeito antagonista ou até mesmo reduzindo a expressão de genes. É o caso do extrato de alho (S-acil-cisteína) que tem uma estrutura semelhante a uma parte da molécula de AHL (PERECHE *et al.*, 2001). Outro composto (piercidim A1), produzido por bactérias do solo *Kitasatospora sp.*, tem uma atividade inibidora competitiva em AHL's. Outros antagonistas são obtidos de forma química, todos lembrando a molécula de QS. Com base nisso, algumas empresas tem como projeto o lançamento de pomadas antibióticas tópicas baseadas na inibição do *quorum sensing* (HENTZER *et al.*, 2003).

A furanona natural, isolada a partir de algas *Delisea pulchra*, afeta diferentes sistemas de QS. Inibe AI-2 em *Vibrio harveyi*, diminuindo a capacidade de ligação do LuxR, regulador de resposta, ao DNA (REN *et al.*, 2004). Afeta também a formação de biofilme em: *P. aeruginosa*, *E. Coli*, *Streptococcus spp* e *Vibrio spp.* (REN *et al.*, 2004; ALASIL *et al.*, 2015).

Em um estudo conduzido por Alasil *et al.*, extrato de cultura de espécies de *Paenibacillus sp.*, isolados a partir de exploração agrícola foi usado para testar a inibição do sistema de QS de *P. aeruginosa*, *in vitro* e *in vivo*. Nos testes *in vivo*, foi avaliado o efeito terapêutico em ratos com doença pulmonar crônica. Como resultado, o extrato prolongou o tempo de sobrevivência dos ratos e diminuiu a atividade de proteases LASA (produzidas por QS, capaz de causar destruição em tecidos biológicos e agentes imunológicos) (BEVER & IGLEWSKI, 1988; BRACKMAN & COENYE, 2015).

CONCLUSÃO

É sabido que a concentração das moléculas de sinalização (QS) é proporcional à população bacteriana. Logo, é inegável que, no biofilme, a troca de moléculas sinalizadoras é intensa. Quando o limiar de concentração é atingido, as bactérias expressam determinados genes, os quais codificam fatores de virulência e propriedades que induzem o desenvolvimento do biofilme. O biofilme, por sua vez, induz e/ou agrava algumas patologias e infecções hospitalares difíceis de serem controladas devido à

complexidade do biofilme em sua estrutura e fisiologia de formação. Há alguns mecanismos que evitam o *quorum sensing*, tanto por degradação enzimática de sinais de AHL, quanto por uso de antagonistas, que imitam a estrutura da molécula. Devido à complexidade em que o biofilme é constituído, não há um mecanismo que seja menos importante a ser explorado que outro. Entretanto, a base do biofilme, que é a matriz EPS e o *quorum sensing*, é notoriamente fator que influencia na

característica principal do biofilme, que é a resistência.

Conflitos de Interesse

Os autores alegam não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS:

- 1- PÁDUA, Melo et al. Biofilme em rinossinusite crônica com polipose nasossinusal: estudo piloto. BRAZILIAN JOURNAL OF OTORHINOLARYNGOLOGY, v. 75, n. 6, p. 788-93, 2009.
- 2 - COSTERTON, J. W.; STEWART, Philip S.; GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science, v. 284, n. 5418, p. 1318-1322, 1999.3 - DONLAN, Rodney M. et al. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis, v. 8, n. 9, 2002.
- 4- LERICHE, V.; SIBILLE, P.; CARPENTIER, B. Use of an enzyme-linked lectinsorbent assay to monitor the shift in polysaccharide composition in bacterial biofilms. Applied and environmental microbiology, v. 66, n. 5, p. 1851-1856, 2000.
- 5 - DONLAN, Rodney M. Biofilm control in industrial water systems: approaching an old problem in new ways. Biofilms: recent advances in their study and control. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, p. 333-60, 2000.
- 6 - LEWANDOWSKI, Zbigniew; EVANS, L. V. Structure and function of biofilms. Biofilms: recent advances in their study and control, p. 1-17, 2000.
- 7 - JAMES, G. A.; BEAUDETTE, L.; COSTERTON, J. W. Interspecies bacterial interactions in biofilms. Journal of Industrial Microbiology, v. 15, n. 4, p. 257-262, 1995.
- 8 - DONLAN, Rodney M. Role of biofilms in antimicrobial resistance. ASAIO journal, v. 46, n. 6, p. S47-S52, 2000.
- 9 - GALANTE, Joana et al. Quorum sensing and biofilms in the pathogen, *Streptococcus pneumoniae*. Current pharmaceutical design, v. 21, n. 1, p. 25-30, 2015.
- 10 - HAUSNER, Martina; WUERTZ, Stefan. High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by quantitative in situ analysis. Applied and Environmental Microbiology, v. 65, n. 8, p. 3710-3713, 1999.
- 11 - GHIGO, Jean-Marc. Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. Nature, v. 412, n. 6845, p. 442-445, 2001.
- 12 - ROMERO, Manuel; ACUÑA, Laura; OTERO, Ana. Patents on quorum quenching: interfering with bacterial communication as a strategy to fight infections. Recent patents on biotechnology, v. 6, n. 1, p. 2-12, 2012.
- 13 - KALIA, Vipin Chandra; RAJU, Sajjan C.; PUROHIT, Hemant J. Genomic analysis reveals versatile organisms for quorum quenching enzymes: acyl-homoserine lactone-acylase and-lactonase. The open microbiology journal, v. 5, p. 1, 2011.
- 14 - ZHANG, Rong-guang et al. Structure of a bacterial quorum-sensing transcription factor complexed with pheromone and DNA. Nature, v. 417, n. 6892, p. 971-974, 2002.
- 15 - PEARSON, James P.; PESCI, Everett C.; IGLEWSKI, Barbara H. Roles of *Pseudomonas aeruginosa* las and rhl quorum-sensing systems in control of elastase and rhamnolipid biosynthesis genes. Journal of Bacteriology, v. 179, n. 18, p. 5756-5767, 1997.
- 16 - DE KIEVIT, Teresa R.; IGLEWSKI, Barbara H. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. Infection and Immunity, v. 68, n. 9, p. 4839-4849, 2000.
- 17- OLSON, Michael E. et al. *Staphylococcus epidermidis* agr Quorum-Sensing System: Signal Identification, Cross Talk, and Importance in Colonization. Journal of bacteriology, v. 196, n. 19, p. 3482-3493, 2014.
- 18- HUME, E. B. H. et al. The control of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and in vivo infection rates by covalently bound furanones. Biomaterials, v. 25, n. 20, p. 5023-5030, 2004.
- 19 - RUTHERFORD, Steven T.; BASSLER, Bonnie L. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, v. 2, n. 11, p. a012427, 2012.
- 20 - SOLA, Marília Cristina et al. Mecanismos de Quorum Sensing e Sua Relevância na Microbiologia de

Alimentos. Enciclopédia Biosfera, v. 8, n. 14, p. 1419-1441, 2012.

21 – VIDAL, Jorge E. et al. Quorum-sensing systems LuxS/autoinducer 2 and Com regulate *Streptococcus pneumoniae* biofilms in a bioreactor with living cultures of human respiratory cells. *Infection and immunity*, v. 81, n. 4, p. 1341-1353, 2013.

22 - RAUT, Nilesh; PASINI, Patrizia; DAUNERT, Sylvia. Deciphering Bacterial Universal Language by Detecting the Quorum Sensing Signal, Autoinducer-2, with a Whole-Cell Sensing System. *Analytical chemistry*, v. 85, n. 20, p. 9604-9609, 2013.

23 – WOODWORTH, Bradford A. et al. An in vitro model of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms on viable airway epithelial cell monolayers. *American journal of rhinology*, v. 22, n. 3, p. 235-238, 2008.

24 -. TIBA, Monique Ribeiro; NOGUEIRA, Gustavo Prado; LEITE, Domingos da Silva. Estudo dos fatores de virulência associados à formação de biofilme e agrupamento filogenético em *Escherichia coli* isoladas de pacientes com cistite. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 42, n. 1, p. 58, 2009.

25- ANTUNES, Luis Caetano M. A Linguagem das bactérias. *Ciência hoje*, v. 33, n. 193, p. 16-20, 2003.

26 –LIN, Yi-Han et al. Acyl-homoserine lactone acylase from *Ralstonia* strain XJ12B represents a novel and potent class of quorum-quenching enzymes. *Molecular microbiology*, v. 47, n. 3, p. 849-860, 2003.

27 - Steggles RS. Composition comprising garlic extract and an antibiotic and/or antiseptic for use in the treatment of a multispecies bacterial infection. GB2472315A, 2011.

28 – PECHERE, Jean-Claude; VAN DELDEN, Christian; MENEKSE, Oktay. Therapeutic process for *P. aeruginosa* infections using macrolide antibiotics. U.S. Patent Application 10/485,282, 3 set. 2001.

29 – HENTZER, Morten; GIVSKOV, Michael. Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. *Journal of Clinical Investigation*, v. 112, n. 9, p. 1300, 2003.

30- REN, Dacheng et al. Differential gene expression shows natural brominated furanones interfere with the autoinducer-2 bacterial signaling system of *Escherichia coli*. *Biotechnology and bioengineering*, v. 88, n. 5, p. 630-642, 2004.

31 – ALASIL, Saad Musbah et al. Inhibition of Quorum Sensing-Controlled Virulence Factors and Biofilm Formation in *Pseudomonas aeruginosa* by Culture Extract from Novel Bacterial Species of *Paenibacillus* Using a Rat Model of Chronic Lung Infection. *International Journal of Bacteriology*, v. 2015, 2015.

32 - BEVER, Robert A.; IGLEWSKI, Barbara H. Molecular characterization and nucleotide sequence of the *Pseudomonas aeruginosa* elastase structural gene. *Journal of bacteriology*, v. 170, n. 9, p. 4309-4314, 1988.

33 - BRACKMAN, Gilles; COENYE, Tom. Quorum Sensing Inhibitors as Anti-Biofilm Agents. *Current pharmaceutical design*, v. 21, n. 1, p. 5-11, 2015