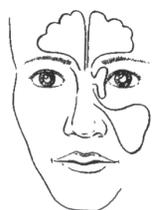


Artículos de revisión



Acta de Otorrinolaringología & Cirugía de Cabeza y Cuello

www.revista.acorl.org.co



Artículos de revisión

Biofilmes: causa del manejo refractario de la rinosinusitis crónica

Biofilms causing the refractory management in chronic rhinosinusitis

Rosa Milanés Pérez*, Cindy Caro Vásquez**, Álvaro Álvarez Coneo***

* *Otólogo-Otorrinolaringóloga, Jefe de la Sección de Otorrinolaringología, Universidad de Cartagena - Servicio de Otorrinolaringología, Hospital Universitario del Caribe. Cartagena, Colombia.*

** *Residente de Otorrinolaringología, IV año, Universidad de Cartagena - Servicio de Otorrinolaringología, Hospital Universitario del Caribe.*

*** *Médico, Bacteriólogo, maestría en Microbiología, coordinador de la maestría en Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena.*

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido: Junio 17 de 2012

Revisado: Julio 18 de 2012

Aceptado: Agosto 3 de 2012

Palabras clave:

biofilmes, sinusitis, pólipos nasales, bacterias, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

RESUMEN

Introducción: Aunque muchos pacientes con rinosinusitis crónica (RSC) mejoran luego del tratamiento médico o quirúrgico, existe una subpoblación que la padece y en la que se torna recalcitrante. Esta inflamación persistente es compatible con el perfil de una infección por biofilmes.

Objetivos: Ha habido un interés creciente en el estudio de biofilmes como factor principal en las infecciones crónicas. El propósito de este artículo es revisar la literatura disponible sobre rinosinusitis crónica y biofilmes.

Metodología: Revisión de la literatura pertinente que se obtuvo con la búsqueda selectiva de las siguientes bases de datos: Science Direct, Pubmed y Scielo. Se realizó búsqueda entre los años 2000 y 2012. Se analizaron los resúmenes y se escogieron los textos completos que trataban sobre biofilmes y rinosinusitis crónica.

Resultados: Se revisaron 34 artículos completos que se ajustaban a las exigencias de los objetivos. La evidencia científica actual relaciona los biofilmes con el desarrollo y la persistencia de la enfermedad rinosinusal crónica, con la presencia de pólipos y con pobres resultados posquirúrgicos.

Correspondencia:

Rosa Milanés Pérez

rmilanesp@unicartagena.edu.co

rosamilanesp@hotmail.com

Conclusiones: Aun cuando la evidencia parece ser convincente en cuanto al papel de los biofilmes en la rinosinusitis crónica, todavía se necesitan estudios acerca de por qué algunos pacientes forman biofilmes, qué causas aceleran su formación, cómo prevenirlos y cómo tratarlos.

Key words:

biofilms, sinusitis, nasal polyps, bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

Introduction: Although many patients with chronic rhinosinusitis (CRS) improve after medical or surgical treatment there is a subpopulation of patients with recalcitrant CRS. The persistence of chronic rhinosinusitis is compatible with the profile of a biofilm infection.

Objectives: Recently, there has been increased interest in bacterial biofilms as a major factor in chronic infections. The purpose of this review is to summarize the literature available on chronic rhinosinusitis and biofilms.

Methods: Review of relevant literature was made through a selective search of the following databases: SciELO, Science Direct. Our search was conducted from 2000 to 2012. We reviewed abstracts then obtained the complete papers for in-depth review.

Results: We reviewed 34 papers that fit our objectives. Current scientific evidence favors hypotheses postulated to relate biofilms with the persistence of chronic rhinosinusitis, the development of nasal polyposis, and poor postoperative results.

Conclusions: Although the evidence seems to be convincing about the role of biofilms in chronic rhinosinusitis, many studies are lacking on why do some patients form biofilms, what triggers biofilm formation, how can we prevent them from forming and how to treat them.

Introducción

La rinosinusitis crónica (RSC) es una de las afecciones más comunes en los Estados Unidos, donde afecta a cerca del 16% de la población, con aproximadamente trece millones de consultas médicas por año y costos anuales de miles de millones de dólares. A pesar del alto impacto social y económico, la fisiopatogenia de la RSC permanece indefinida. Se cree que es una enfermedad inflamatoria causada por factores inmunes, factores intrínsecos de la vía aérea, superantígenos de estafilococos, colonización fúngica, que induce y mantiene la inflamación eosinofílica, desórdenes metabólicos, como hipersensibilidad a la aspirina, y afección persistente por biofilmes y/u osteítis (1, 2).

Los biofilmes pueden explicar el motivo por el cual los antibióticos no logran eliminar las poblaciones bacterianas crónicamente establecidas, por lo que la rinosinusitis crónica recalcitrante, resistente al tratamiento, se ajusta al perfil de infección por biofilme (2, 3, 4).

Por otro lado, varios estudios han demostrado que los cultivos bacterianos se correlacionan en forma deficiente con la presencia de biofilmes y los tipos de bacterias dentro de ellos, por lo que no pueden detectarse con las pruebas microbiológicas de rutina (5).

Entre el 80 y 99% de los microorganismos en la naturaleza existen en el estado de biofilmes, y solo el 1% como planctónicos o libres; sin embargo, la investigación

de la mayoría de las infecciones humanas todavía se basa en el estudio de los últimos. El Instituto Nacional de Salud de EE. UU. estima que alrededor del 75% de las infecciones microbianas en humanos son causadas por biofilmes, lo cual proporciona una fuente de infecciones recurrentes por liberación de bacterias planctónicas, cuyo desprendimiento ocurre por fuerzas externas o procesos activos una vez que un nivel crítico de madurez ha sido alcanzado por el biofilme (2, 3, 6).

Varias condiciones vistas en la práctica de ORL han sido correlacionadas con ellos, incluyendo otitis media, sinusitis crónica, amigdalitis, adenoiditis, colesteatoma e infecciones por dispositivos médicos, como catéteres, tubos de ventilación, implantes cocleares y cánulas de traqueostomía (2, 3).

Cryer y cols. (7) fueron los primeros que informaron sobre la presencia de biofilmes en pacientes con RSC que habían sido intervenidos quirúrgicamente, y continuaban presentando síntomas a pesar del tratamiento médico. En estos enfermos predominó la infección por *Pseudomonas aeruginosa*. Ramadan (8, 9), mediante el empleo de microscopia electrónica de barrido, encontró evidencias de biofilmes en todas las biopsias de mucosa en senos etmoidales y maxilares en cinco pacientes, a quienes se les practicó intervención quirúrgica por RSC. En todos los especímenes se encontró denudación de cilios y de células caliciformes. Los biofilmes semejabán los de *Staphylococcus species*. También se hallaron biofilmes no identificados.

Biofilmes

Los biofilmes son comunidades de microorganismos, de una o de diferentes especies, que se caracterizan por la excreción de una matriz extracelular adhesiva que protege a la bacteria de los anticuerpos, de la fagocitosis del sistema inmune y de la penetración antibiótica, entre otros. Una biopelícula puede contener cerca de un 15% de células y un 85% de matriz extracelular. Esta matriz protectora generalmente está constituida por exopolisacáridos, que forman canales por donde circulan agua, enzimas, nutrientes, oxígeno y residuos. Allí las células establecen relaciones y dependencias: viven, cooperan y se comunican a través de señales químicas, que regulan la expresión de genes. Para adaptarse a la biopelícula, las bacterias hacen cambios importantes en su estructura y metabolismo. Hay una necesidad disminuida de oxígeno y nutrientes en este estado, que resisten fluctuaciones medioambientales de humedad, temperatura y pH (10).

Estas biopelículas inician cuando la bacteria planctónica libre se establece en una superficie biológica o inerte y forma microcolonias que aumentan su densidad, hasta que ocurren señales químicas interbacterianas, que activan el fenómeno denominado “quórum sensing” o de autoinducción. A través del mismo las bacterias sincronizan respuestas y comportamientos que las capacitan para enfrentar tareas imposibles de acometer de forma planctónica, lo cual se constituye en un proceso regulatorio celular que asegura que haya una densidad suficiente de microorganismos antes de la producción de una sustancia génica específica, como una enzima o factor de virulencia, y de esta forma asegurar que la concentración de la sustancia pueda ser efectiva. Se han identificado dos procesos: el autoinductor tipo 1 (AI-1), que es involucrado en la reacción quórum sensing intraespecies, y el AI-2, usado en la comunicación entre especies (10, 11).

Cada especie produce una señal molecular, que en las bacterias grampositivas corresponden a α -butirolactonas y oligopéptidos autoinducidos, y en las gramnegativas a la acilhomoserinalactona, quinolonas y dipéptidos cíclicos. Estos compuestos viajan vía difusión e interactúan con las superficies bacterianas vecinas y/o receptores intracelulares (12). El incremento en la resistencia a antibióticos es una de las motivaciones para la investigación de los biofilmes; a estos les falta la susceptibilidad antibiótica de la bacteria planctónica y pueden ser 1.000 veces más resistentes al tratamiento antibiótico. Esto parece ser una estrategia bacteriana universal para la supervivencia en condiciones menos óptimas (4, 10, 13).

Los biofilmes bacterianos que se han formado sobre superficies mucosas son referidos como biofilmes de mucosas. Estos tienen una exclusiva cascada de expresión genética, comparados con los biofilmes de superficies inertes, y pueden resistir el aclaramiento mucociliar normal que usualmente protege la vía aérea superior y el tracto nasosinusal (4).

Biofilmes y rinosinusitis crónica

El primer reporte de biofilmes en RSC rinosinusitis crónica fue su hallazgo en un *stent* colocado en el receso frontal, pero esto no se tomó como algo sorprendente, dada la avidez del biofilme por estas superficies. Cryer et al. (7) hicieron un avance en esta área, comoquiera que identificaron biofilmes en las biopsias de mucosa sinusal de pacientes con RSC médica y quirúrgicamente recalcitrante.

Su presencia se ha asociado con enfermedad sinusal clínica y radiológica más severa, donde el *Haemophilus influenzae* se encontró en pacientes con enfermedad leve y el *S. aureus* asociado con el perfil más severo y recalcitrante (14, 15).

El 70% de las infecciones identificadas son poli-microbianas, causadas por *Pseudomonas aeruginosa* y *S. aureus*. Las interacciones entre organismos son de interés. Por ejemplo, el *S. aureus* ha demostrado interacción física con hifas de *Candida sp.* Cuando crecen juntas in vitro crean una especie de biofilme dual y generan un método de penetración epitelial, además del intercambio de factores de expresión de virulencia, lo que se manifiesta en infección clínica por *S. aureus* con mayor compromiso; lo anterior lleva a la teoría de que el organismo fúngico es un facilitador de la infección (11).

Se han identificado biofilmes mixtos de hongos y bacterias de especímenes intraoperatorios en pacientes con RSC. Foreman et al. (16) encontraron que 9 de 11 (82%) pacientes tenían biofilmes mixtos de bacterias y hongos, con *S. aureus* o *H. influenzae*, mientras que los otros dos solo tenían biofilmes por hongos.

Los investigadores teorizan que los hongos pueden contribuir a la inflamación crónica, y que los hongos y bacterias pueden interactuar de una manera simbiótica para aumentar la resistencia a las defensas del huésped y al tratamiento (17). Se necesitan más investigaciones para determinar qué efectos tiene la presencia de biofilmes fúngicos en la mucosa sinusal y en la fisiopatología de la RCS.

Se ha demostrado también la presencia de biofilmes sobre la superficie de mucosa sana, lo que sugiere que en esta situación quizás hagan parte de la flora bacteriana y ejerzan una función de protección, por lo que debe evitarse su remoción (18).

Por otro lado, los cambios mucosos en la RSC favorecen el crecimiento de biofilmes, y una vez establecida su resistencia llevan a una continua presentación de antígeno y, por ende, propagación de procesos inflamatorios locales y activación de linfocitos T ayudadores (6, 19).

Clínicamente, en la enfermedad por biofilmes es típica la evolución lenta con infección inicial, que puede ser sutil; los antibióticos alivian los síntomas durante la exacerbación aguda, pero fallan en remover los nidos de biofilmes; como resultado se establece una infección crónica, debido a la cual el paciente recae, y remite en forma constante la enfermedad (10).

Se ha demostrado que existe diferencia significativa entre pacientes con biofilmes, con puntuación desventajosa en la escala radiológica de Lund-Mackay, frente a lo que revela

la nasoscopia de Kennedy-Lund (20). También la persistencia de inflamación mucosa luego de CEF sugiere la presencia de biofilmes (21). Es sabido que la CEF no cura a todos los pacientes con RSC; de hecho, se evidencian pobres resultados luego de la cirugía, y la evaluación retrospectiva demuestra que los biofilmes existen en la mucosa posquirúrgica de estos pacientes, donde la *Pseudomonas aeruginosa* y el *S. aureus* están asociados a los resultados desfavorables (20, 21).

A pesar de ello, la cirugía contribuye a la reducción de los síntomas y al estado general de salud, y exhibe un impacto positivo en los biofilmes debido a que ayuda a frenar su ciclo sin eliminarlos (22).

Recientes estudios han correlacionado la presencia de biofilmes con un peor pronóstico en pacientes con RSC (23-25). En estos casos, factores como la depresión, el consumo de cigarrillo, la poliposis nasal, la sensibilidad a la aspirina y el reflujo gastroesofágico influyen en su formación (10, 13, 26, 27).

Métodos de diagnóstico

Existen varias técnicas sofisticadas para estudio y diagnóstico de los biofilmes en muestras de mucosa nasosinusal: microscopia electrónica de transmisión, microscopia de barrido electrónico, microscopia láser confocal, hibridización fluorescente in situ (FISH) con microscopia epifluorescente, usando prueba específica para cada especie. Presentan variabilidad en su sensibilidad y especificidad, ya que algunas muestran adecuadamente la estructura tridimensional del biofilme, pero no de la bacteria. Dadas las dificultades técnicas, el método ideal para identificación de biofilmes es la microscopia láser confocal con pruebas de hibridización in situ fluorescentes (FISH) y/o Bac Light, que provee la estructura tridimensional e información relativa a la naturaleza polimicrobiana de los biofilmes (6, 16).

Tratamiento

La ventilación quirúrgica puede ser la terapia óptima para combatir los biofilmes bacterianos, eventualmente restaurando la fisiología normal de los senos. La cirugía es considerada efectiva contra los biofilmes, por el incremento en la tensión de oxígeno, se efectúa rompimiento mecánico de los biofilmes y ayuda a las defensas naturales del huésped en aclarar las infecciones (29).

Los biofilmes bacterianos son resistentes a la terapia antimicrobiana, por lo que se requieren nuevas terapias no tóxicas a la mucosa para que generen disrupción del biofilme e interfieran el quórum sensing o prevengan la proliferación del mismo para su erradicación (11).

Los senos paranasales son únicos por su acceso para tratamientos tópicos, siendo la RSC un prototipo de enfermedad para probar nuevos agentes contra los biofilmes. El agente ideal debe ser activo contra los biofilmes formados, más que simplemente inhibir su formación o crecimiento.

Debe tener un perfil satisfactorio de acción local y de efectos sistémicos adversos, y ser administrado en una forma que optimice la entrada de los tratamientos tópicos a los senos. El uso de medicaciones tópicas es un método alternativo, al dispensar altas concentraciones de antibióticos directamente sobre la mucosa sinusal y los biofilmes. La ventaja obvia de las preparaciones antimicrobianas tópicas es que se pueden dar altas concentraciones con pocos efectos adversos sistémicos. La mupirocina es un agente tópico que ha mostrado actividad in vitro contra *S. aureus*, y estudios in vivo que usaron irrigaciones 0,05% dos veces diarias por tres semanas demostraron mejoría subjetiva de los síntomas (11). Desrosiers y cols. (29) examinaron la mupirocina in vitro contra varias cepas de *S. aureus*, para determinar los efectos sobre el crecimiento de biofilmes. Después de 24 horas, concentraciones de mupirocina de 7,8 a 125 mg/ml erradicaban el 90% de los biofilmes en todos los aislados. Los investigadores notaron que la actividad de amplio espectro de la mupirocina la hace potencialmente atractiva para muchos pacientes con RSC.

Las siguientes opciones terapéuticas para los biofilmes, en combinación con los antibióticos que tratan las bacterias planctónicas liberadas después de la disrupción de la matriz del biofilme, se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Opciones terapéuticas para los biofilmes en combinación con los antibióticos.

MECANISMO DE ACCIÓN	OPCIÓN TERAPÉUTICA
Mecánico	Cirugía, hidrodebridadores
Antimicrobianos tópicos	Mupirocina, aceite de árbol del té, miel de manuka, tobramicina, nitrato de galio
Inhibición de adhesión mediante alteración de superficie	Agentes quelantes del hierro: EDTA disódico, lactoferrina
Terapias que rompan la estructura del biofilme o que eviten su agregación	<ul style="list-style-type: none"> Enzimas que disuelvan los polímeros de la matriz: enzimas proteolíticas: dispersina B hidrolasa (terapia potencial) Reacciones químicas que bloqueen la síntesis de la matriz. Análogos de las proteínas o péptidos que interfieren en quórum sensing Macrólidos (inhiben síntesis de polisacáridos-disrupción del quórum sensing) Surfactantes: irrigación con champú para bebés, el ácido cítrico/surfactante de zwitterionic

Nuevos tratamientos, que incluyen diuréticos de asa, como la furosemida, surfactantes y antibióticos macrólidos, pueden usarse como terapias adyuvantes para tratar la RSC asociada a biofilme (2, 30).

Se ha demostrado que los antibióticos macrólidos inhiben la síntesis de polisacáridos, y de esta manera degradarían la protección de la superficie del biofilme.

Estos antimicrobianos tienen un efecto inmunomodulador y disminuyen el quórum sensing o señales bacterianas (31). El tratamiento de biofilmes con claritromicina reduce la matriz que cubre el biofilme, tanto de *P. aeruginosa* como de *S. epidermidis*, aunque las bacterias mismas sean resistentes al antibiótico (32). La terapia con macrólidos a largo plazo ha mostrado mejorar los síntomas en pacientes seleccionados con RSC. Investigadores han demostrado que el tratamiento con macrólidos en dosis bajas, por debajo de la concentración inhibitoria mínima, es una terapia adyuvante útil para tratar la RSC asociada a biofilmes (33).

Otros agentes son el aceite del árbol de té, miel de manuka, tobramicina, nitrato de galio, que tienen actividad antibiótica, y los quelantes del hierro (6, 10-12, 15). Estos últimos son una alternativa para disminuir la fijación de la bacteria a las superficies, ya que limitan el hierro, el cual es necesario para la adhesión de los *pili* de *Pseudomonas species* (33).

Otras terapias no antimicrobianas pueden tener aplicaciones clínicas para prevenir y desestabilizar los biofilmes. Surfactantes que rompen la unión del biofilme con la superficie mucosa, tales como champú de bebé irrigado dos veces/día en solución al 1% durante cuatro semanas, generan ruptura de la atadura irreversible de la matriz. Producen mejoría subjetiva del drenaje posnasal y disminución del engrosamiento mucoso en pacientes sintomáticos después de cirugía endoscópica. Sin embargo, algunos enfermos han mostrado poca adherencia al tratamiento por los efectos adversos, irritación nasal y de la piel (10, 34).

El ácido cítrico/surfactante de zwitterionico es efectivo, pero requiere coadministración de antibiótico para tratar la bacteria planctónica liberada, o remoción física con hidrobebridadores diseñados para ese fin, pero ha mostrado tener un efecto ciliotóxico (10).

La dispersina B hidrolasa es producida por un periodontopatógeno, el *A. actinomycetemcomitans*, que degrada el polisacárido poly-N-acetylglucosamine, un componente clave en la matriz del biofilme de *S. aureus* y de *S. epidermidis*, y se considera una terapia potencial para el tratamiento contra biofilmes (10).

La seguridad y eficacia en pacientes con RSC, para agentes con actividad antibiofilme in vitro publicada, es una prioridad para estudio. En suma, se requiere todavía mucha investigación acerca del tratamiento de la rinosinusitis crónica asociada a biofilmes. Nuevas terapias indudablemente cumplirán un gran papel, y es probable que cambien nuestros paradigmas de tratamiento.

Conclusiones

Esta revisión soporta la importancia de conocer la función que cumplen los biofilmes en la fisiopatología de la rinosinusitis crónica y la necesidad de individualizar el enfoque diagnóstico y terapéutico de esta enfermedad. Se sabe que los métodos de evaluación para su detección no son realizados de rutina; sin embargo, la resistencia al manejo médico y a la cirugía, con persistencia de la enfermedad,

motiva al análisis de la presencia de biofilmes y, por tanto, a implementar estrategias terapéuticas adyuvantes para este subgrupo de pacientes.

Conflicto de intereses

Ninguno declarado.

REFERENCIAS

- Pinto T, De Melo F, Ogawa A, Mello E, Nascimento P, Voegels R. Biofilm in Chronic Sinusitis with Nasal Polyps: Pilot study. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2009; 75 (6): 788-93.
- Shu JD, Cohem NA, Palmer JN. Biofilms in chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Otol Head and Neck Surg*, 2010; 18: 27-31.
- Nazar J. Biofilmes bacterianos. *Rev de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello*, 2007; 67: 61-72.
- Suh JD, Ramakrishnan V, Palmer J. Biofilmes. *Otol Clin N Am*, 2010; 43: 521-530.
- Sanderson AR, Leid JG, Hunsaker D. Bacterial biofilms on the sinus mucosa of human subjects with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*, 2006; 116 (7): 1121-6.
- Keir J, Pedelty L. Biofilms in chronic rhinosinusitis: systematic review and suggestion for future research. *J of Laryngol & Otol*, 2011; 125: 331-337.
- Cryer J, Schipor I, Perloff JR, Palmer JN. Evidence of bacterial biofilms in human chronic sinusitis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2004; 66: 155-8.
- Ramadan HH, Sanclement, JA, Thomas JG. Chronic rhinosinusitis and biofilms. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2005; 132: 414-7.
- Ramadan HH. Chronic rhinosinusitis and bacterial biofilms. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2006; 14 (3): 183-6.
- Foreman A, Jervis J, Bardy J, Wormald P. Do Biofilms Contribute to the Initiation and Recalcitrance of Chronic Rhinosinusitis? *Laryngoscope*, 2011; 121: 1085-1091.
- Mutairi D, Shaun J. Bacterial biofilms and the pathophysiology of chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2011; 11: 18-23.
- Singhal D, Baker L, Wormald PJ, Tan L. Aspergillus fumigatus biofilm on primary human sinonasal epithelial culture. *Am J of Rhinol & Allergy*, 2011; 06: 32-46.
- Foreman A, Wormald P. Different Biofilms. Different Disease? A Clinical Outcomes Study. *Laryngoscope*, 2010; 120: 1701-1706.
- Singhal D, Foreman A, Bardy J, Wormald P. *Staphylococcus aureus* Biofilms: Nemesis of Endoscopic Sinus Surgery. *Laryngoscope*, 2011; 121: 1578-1583.
- Foreman A, Singhal D, Psaltis A, Wormald PJ. Targeted imaging modality selection for bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*, 2010; 120: 427-431.
- Foreman A, Psaltis AJ, Tan LW, et al. Characterization of bacterial and fungal biofilms in chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*, 2009; 23 (6): 556-61.
- Healy DY, Leid JG, Sanderson AR, et al. Biofilms in chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2008; 138 (5): 641-7.
- MIadina R, Skitarelic N, Music S. A biofilm exists on healthy mucosa of the paranasal sinuses: a prospectively performed,

- blinded, scanning electron microscope study. *Clinical Otolaryngol*, 2010; 35: 104-110.
19. Hekiert A, Kofonow J, Doghramji L, Kennedy D, Chiu A, Palmer J, et al. Biofilms correlate with Th1 inflammation in the sinonasal tissues of patients with chronic rhinosinusitis. *Otol Head and Neck Surg*, 2009; 141: 448-453.
 20. Singhal D, Psaltis A, Foreman A, Wormald P. The impact of biofilms on outcomes after endoscopic sinus surgery. *Am J of Rhinol & Allergy*, 2011; 24: 169-174.
 21. Hochstim C, Masood R. Biofilm and persistent inflammation in endoscopic sinus surgery. *Otol-Head and Neck Surg*, 2010; 143: 697-698.
 22. Hai PT, Lidstone C, Wallwork B. The effect of endoscopic sinus surgery on bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol Head and Neck Surg*, 2010; 142: 27-32.
 23. Sanclement JA, Webster P, Thomas J, Ramadan HH. Bacterial biofilms in surgical specimens of patients with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*, 2005; 115 (4): 578-82.
 24. Psaltis AJ, Weitzel EK, Ha KR, Wormald PJ. The effect of bacterial biofilms on post-sinus surgical outcomes. *Am J Rhinol*, 2008; 22 (1): 1-6.
 25. Bendouah Z, Barbeau J, Hamad WA, 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; 134 (6): 991-6.
 26. Bezerra T, et al. Biofilm in Chronic Sinusitis with Nasal Polyps: Pilot Study. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2009; 75 (6): 788-93.
 27. Goldstein N, Cope E, Zhao K, Vukovic K, Kofonow J, Doghramji L, et al. Tobacco smoke mediated induction of sinonasal microbial biofilms. *Plos One*, 2011, 6, Issue 1.
 28. Zhang Z, Han D, Zhang S, et al. Biofilms and mucosal healing in postsurgical patients with chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*, 2009; 23 (5): 506-11.
 29. Desrosiers M, Bendouah Z, Barbeau J. Effectiveness of topical antibiotics on *Staphylococcus aureus* biofilm in vitro. *Am J Rhinol*, 2007; 21 (2): 149-53.
 30. Cross JL, Ramadan HH, Thomas JG. The impact of a cation channel blocker (furosemide) on *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm architecture. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2007; 137 (1): 21-6.
 31. Tateda K, Comte R, Pechere JC, et al. Suppression of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing systems by macrolides: a promising strategy or an oriental mystery? *J Infect Chemother*, 2007; 13 (6): 357-67.
 32. True-Hardy M, Vanderbist F, Traore H, et al. In vitro activity of antibiotic combinations against *Pseudomonas aeruginosa* biofilm and planktonic cultures. *Int J Antimicrob Agents*, 2008; 31 (4): 329-36.
 33. Wallwork B, Coman W, Mackay-Sim A, et al. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of macrolide in the treatment of chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*, 2006; 116: 189-93.
 34. Chiu AG, Palmer JN, Woodworth BA, et al. Baby shampoo nasal irrigations for the symptomatic post-functional endoscopic sinus surgery patient. *Am J Rhinol*, 2008; 22 (1): 34-7.