

Revisión breve

***Biofilm*: modelo de comunicación bacteriana y resistencia a los antimicrobianos**

M. Mateo Maestre y J.R. Maestre Vera

Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Central de la Defensa, Madrid

Las biocapas o *biofilms* son depósitos no estructurados de células y de glucocáliz acumulado, compuestos por exopolisacáridos y una compleja comunidad de células bacterianas, que fueron definidas por R. Donlan como un “ensamblado de microorganismos incluidos en una matriz (...) con capacidad para adherirse a material protésico o tejidos dañados del organismo y favorecer su colonización” (1).

La presencia de *biofilm* sobre superficies es ubicua en la naturaleza. Son ejemplos de ello el limo o película que aparece en las estructuras en contacto con el agua (tuberías, piscinas o incluso en el lecho de los ríos), la placa dental o la capa de microorganismos que coloniza un catéter intravenoso.

Esta característica de ciertos microorganismos de “pegarse” a las superficies y desarrollar *biofilm* tiene interés en microbiología clínica por el desarrollo de procesos infecciosos que se derivan de ello, ya sea de forma directa (fibrosis quística, periodontitis) o mediante la colonización de dispositivos médicos que actúan como cuerpos extraños: los biomateriales, que son estructuras de plástico, el metal (puro o en aleación), el cemento o la cerámica, entre otros.

El complejo polímero extracelular que compone el *biofilm* constituye una barrera de difusión para el antimicrobiano, que retrasa o impide su acción en función del tipo de agente, ya que no todos se ven afectados por igual (2).

Los microorganismos embebidos en la matriz de polímeros adquieren cierta resistencia a la acción terapéutica de los antimicrobianos, por lo que las estrategias para un adecuado control en el ámbito clínico han fracasado en la erradicación de la infección que asienta sobre dispositivos médicos.

En la actualidad se estima que un 2,5% de las prótesis de rodilla y un 1,5% de las de cadera sufren la temida complicación de la infección, y las cifras son más abrumadoras si se piensa en los cerca de dieciséis mil episodios de bacteriemias por catéter que se comunican cada año sólo en Estados Unidos (3, 4). Si consideramos la formación del *biofilm* como la raíz del problema, se justifica el esfuerzo de los investigadores y los clínicos por adquirir un mayor conocimiento acerca de ello y las armas terapéuticas para combatirlo.

El estudio sobre la naturaleza de los *biofilms* se inició largo tiempo atrás, cuando A. van Leeuwenhoek (s. XVII) determinó la presencia de microorganismos sobre la superficie dental. Sin embargo, no fue hasta 1978 cuando J.W. Costerton describió una comunidad bacteriana en forma de matriz glucoproteica sobre superficies en contacto con el agua (5). Fue con el advenimiento del microscopio de barrido confocal cuando se conoció con detalle la estructura y formación de esta capa, también llamada *slime*, traducción inglesa del término “limo”.

El primer paso para la formación de un *biofilm* es la asociación entre microorganismos por un proceso denominado “coagregación” consistente en el reconocimiento célula a célula, de tal forma que las bacterias que lo constituyen puedan reconocerse y adherirse a otras mediante las adhesinas. Estas estructuras, junto con los fenómenos de hidrofobicidad, las fuerzas electrostáticas y de Van der Waals sobre las superficies celulares y del material, favorecen la unión a las proteínas, las glucoproteínas o los receptores de polisacáridos sobre las superficies del huésped (placa dental, endotelio dañado en válvula nativa) o de los biomateriales (prótesis valvulares, ortopédicas, etc.) (6). Además, una situación de estrés brusco, como la producida por un cambio en la dirección o en la velocidad de flujo, o las modificaciones en la concentración de determinados sustratos, pueden causar un aumento de la erosión del *biofilm*, y favorecer el desprendimiento celular o, por el contrario, ocasionar una mayor agregación.

Más allá de un mero depósito de bacterias sobre una superficie, la presencia de esta capa mucóide otorga a los microorganismos ciertas “ventajas”, como protección frente al medio ambiente, en concreto la resistencia a la acción bactericida de los antimicrobianos, y de forma más indirecta una alteración de los mecanismos de defensa del huésped, que dificulta la actividad fagocítica de los macrófagos al interferir en el recubrimiento de anticuerpos, bloquear la opsonización y la fagocitosis (7-9). También se especula con la posibilidad de que el *biofilm* actúe como un nicho para la generación de organismos resistentes, dada la capacidad de ciertas bacterias para intercambiar material genético por conjugación y contribuir así a la transmisión de posibles factores de resistencia a los antibióticos, o de factores que intervienen en la adhesión y en el desarrollo del *biofilm* (10). Otros autores han determinado que esta capa mucóide donde se establecen los patógenos sobre la superficie de los biomateriales les permite adoptar un estado semilatenente, con un metabolismo retardado que quizá sea una explicación del retraso o “resistencia” a la actividad antibiótica de diversos agentes (11-13). No está tan claro que estas bacterias “semilatenentes” sean resistentes a la acción antimicrobiana, aunque parece probado cierto retardo en la actividad bactericida como consecuencia de la dificultad para su penetración, o la presencia de bombas de expulsión activa (14, 15). Algunos estudios más recientes abogan por el hecho de que estas células son tan sensibles a los antibióticos como las células libres en la circulación (“células plancónicas”), y su persistencia estribaría en la invulnerabilidad frente al sistema inmunitario que les confiere la matriz de exopolisacáridos. Ello explicaría la presencia de una subpoblación de las llamadas células “persistentes” que causan la cronicación de la infección (16).

Estudios recientes han demostrado que ciertas sustancias comúnmente utilizadas en clínica, como las catecolaminas u otros inotrópicos, estimulan el crecimiento de *Staphylococcus epidermidis* y la formación de *biofilm* sobre ciertos biomateriales (17). Otras sustancias presentes en el ambiente que rodea al *biofilm* pueden alterar su producción, como la heparina o los quelantes del hierro (18), entre otros. Todo ello nos sugiere que la presencia del *biofilm* está condicionada por una expresión fenotípica y no sólo por su condición genética, aunque se reconocen cepas de ciertos microorganismos como “productoras de limo” (19, 20). No obstante, existen cepas de *S. epidermidis* comensales de la piel que no están produciendo infecciones y que son capaces de expresar limo *in vitro*, en función de situaciones de estrés en el microcosmo del microorganismo, que le obligan a desarrollar factores de virulencia. Por otra parte, no debemos olvidar que la producción de *biofilm* es uno más de los posibles factores implicados en la colonización de superficies, dado que es una característica común entre las cepas que causan las infecciones, pero no es universal en todas ellas (21).

Estudios recientes otorgan un papel primordial en el control de la formación de *biofilm* a un sistema de comunicación entre los microorganismos llamado *quorum-sensing*, que actúa como un auténtico lenguaje a través de señales químicas. Este sistema funciona a modo de “acuerdo” (*quorum*) entre las células bacterianas, para la activación o represión de genes específicos (entre ellos los que regulan la producción de *biofilm*), mediante la liberación y la detección de ciertas sustancias llamadas “autoinductores” (22). Los mecanismos moleculares y los factores que participan en este control están aún por dilucidar, aunque ya se conoce el operón que interviene en la creación de este sistema (23).

En cuanto a las estrategias para prevenir la formación de *biofilm* podemos citar algunas de ellas, como la impregnación de catéteres con antibióticos (desechado por la posibilidad de incrementar las resistencias), sales de plata u otras sustancias; la incorporación de antibióticos al cemento (polimetilmetacrilato) en el material protésico, que ha sido un eficaz sistema en la prevención de infecciones (24, 25); u otras medidas más recientes y aún en estudio, como el uso de ultrasonidos para retirar el *biofilm* de ciertas estructuras (26). El hecho de que los *biofilms* tempranos o de menor evolución sean más sensibles a la acción de los agentes antimicrobianos que los evolucionados hace necesario el desarrollo de técnicas no invasoras que detecten su formación precozmente, lo cual repercutiría en un mayor éxito en el tratamiento antibiótico (6) y, quizá, en ello podrían contribuir los ultrasonidos.

La erradicación de una infección, y en la medida de lo posible la recuperación total de una prótesis infectada, es la meta a alcanzar que debe aunar los esfuerzos de traumatólogos, clínicos y microbiólogos.

Para concluir, conviene hacer una autoevaluación del trabajo realizado hasta ahora: la presencia en el ambiente hospitalario de microorganismos cada vez más resistentes a la acción de ciertos antibióticos se debe, en parte, al uso inapropiado que se hace de ellos, tanto en su elección como en el cumplimiento escaso o incorrecto de su pauta de administración. Si a este problema genérico de las resistencias unimos el de la infección nosocomial se explica la elevada incidencia de infecciones asociadas a biomateriales. En cuanto a los microbiólogos, sería deseable un mayor conocimiento del microcosmo que rodea al patógeno y de la farmacocinética de los antimicrobianos, cuyo potencial efecto queda mermado en un ambiente en que la vascularización y, de un modo más íntimo, la penetración a la interfase tejido-biomaterial, se ve dificultada. Los antibióticos son casi siempre probados *in vitro* sobre cultivos formados por células que poseen determinadas características. Son los llamados “cultivos planctónicos”, que suelen ser cultivos puros. Para una mayor aproximación a la realidad sería interesante que se probaran en comunidades de microorganismos formando *biofilm* (27). De esta forma podríamos obviar el posible error de considerar a una bacteria como resistente a un antibiótico o una pauta antibiótica como no efectiva, cuando en realidad es posible que ésta se vea a salvo de la acción antimicrobiana por la actividad protectora del *biofilm*, nicho biológico en que se encuentra suspendida.

Correspondencia: María Mateo Maestre, Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Central de la Defensa, Glorieta del Ejército s/n, 28047 Madrid. E-mail: mmateom3@hotmail.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Donlan, M.R. *Biofilms: Microbial life on surfaces*. Emerg Infect Dis 2002; 8: 881-890.
2. Souli, M., Giamarellou, H. *Effects of slime produced by clinical isolates of coagulase-negative staphylococci on activities of various antimicrobial agents*. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 939-941.
3. Hanssen, A.D., Rand, J.A. *Evaluation and treatment of infection at the site of a total hip or knee arthroplasty*. J Bone Joint Surg 1998; 80-A: 910-922.
4. Mermel, L.A. *Prevention of intravascular catheter-related infections*. Ann Intern Med 2000; 132: 391-402.
5. Costerton, J.W., Geesey G.G., Cheng, K.-J. *How bacteria stick*. Sci Am 1978; 238: 86-95.
6. Donlan, R.M., Costerton, J.W. *Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms*. Clin Microbiol Rev 2000; 15: 167-193.
7. Shiau, A.-L., Wu, C.-L. *The inhibitory effect of Staphylococcus epidermidis slime on the phagocytosis of murine peritoneal macrophages is interferon-independent*. Microbiol Immunol 1998; 42: 33-40.
8. Jensen, E.T., Kharazmi, A., Lam, K., Costerton, J.W., Hoiby, N. *Human polymorphonuclear leukocyte response to Pseudomonas aeruginosa grown in biofilms*. Infect Immun 1990; 58: 2383-2385.
9. May, T., Shinabarger, D., Maharaj, R. y cols. *Alginate synthesis by Pseudomonas aeruginosa: A key pathogenic factor in chronic pulmonary infections of cystic fibrosis patients*. Clin Microbiol Rev 1991; 4: 191-206.
10. Ghigo, J.M. *Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development*. Nature 2001; 412: 442-445.
11. Evans, D.J., Allison, D.G., Brown, M.R.W., Gilbert, P. *Effect of growth-rate on resistance of gram-negative biofilms to ceftrimide*. J Antimicrob Chemother 1990; 26: 473-478.
12. DuGuid, I.G., Evans, E., Brown, M.R.W., Gilbert, P. *Growth-rate-dependent killing by ciprofloxacin of biofilm-derived Staphylococcus epidermidis to tobramycin*. J Antimicrob Chemother 1992; 30: 803-810.
13. Anwar, H., Strap, J.L., Chen, K., Costerton, J.W. *Dynamic interactions of biofilms of mucoid Pseudomonas aeruginosa with tobramycin and piperacillin*. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36: 1208-1214.
14. Li, X.Z., Nikaido, H., Poole, K. *Role of mexA-mexB-oprM in antibiotic efflux in Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1948-1953.
15. Nikaido, H. *Prevention of drug access to bacterial targets: Permeability barriers and active efflux*. Science 1994; 264: 382-388.
16. Lewis, K. *Riddle of biofilm resistance*. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 999-1007.
17. Lyte, M., Freestone, P.P.E., Neal, C.P. y cols. *Stimulation of Staphylococcus epidermidis growth and biofilm formation by catecholamine inotropes*. Lancet 2003; 361: 130-135.
18. Deighton, M., Borland, R. *Regulation of slime production in Staphylococcus epidermidis by iron limitation*. Infect Immun 1993; 61: 4473.
19. Christensen, G.D., Parisi, J.T., Bisno, A.L., Simpson, W.A., Beachey, E.H. *Characterization of clinically significant strains of coagulase-negative staphylococci*. J Clin Microbiol 1983; 18: 258-269.
20. Christensen, G.D., Baddour, L.M., Simpson, W.A. *Phenotypic variation of Staphylococcus epidermidis slime production in vivo and in vitro*. Infect Immun 1987; 55: 2870-2877.
21. Christensen, G.D., Simpson, W.A., Bisno, A.L., Beachey, E.H. *Adherence of slime-producing strains of Staphylococcus epidermidis to smooth surfaces*. Infect Immun 1982; 37: 318-326.
22. DeKievit, T.R., Iglewski, B.H. *Bacterial quorum-sensing in pathogenic relationship*. Infect Immun 2000; 68: 4839-4849.
23. Vuong, C., Gerke, C., Somerville, G.A., Fischer, E.R., Otto, M. *Quorum-sensing control of biofilm factors in Staphylococcus epidermidis*. J Infect Dis 2003; 188: 706-718.
24. Wininger, D.A., Fass, R.J. *Antibiotic-impregnated cement and beads for orthopedic infections*. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 2675-2679.
25. Southwood, R.T., Rice, J.L., McDonald, P.J., Hakendorf, P.H., Rozenbills, M.A. *Infection in experimental arthroplasties*. Clin Orthop 1987; 224: 33-36.
26. Zips, A., Schaule, G., Flemming, H.C. *Ultrasound as a means of detaching biofilms*. Biofouling 1990; 2: 323-333.
27. Cwechowski, M.H., Stoodley, P. *Biofilms and biocides*. J Ind Microbiol Biotechnol 2002; 29: 325.