

Autovacunas I

Vacunas a la carta

El sector porcino ha experimentado una admirable evolución a lo largo de los últimos 40 años, superando incluso graves crisis sanitarias como las pestes, hasta poder representar el 10% de la producción bruta y del valor añadido bruto agrario. Hoy en día la porcicultura y la avicultura son el mayor exponente de la intensificación ganadera en España, recordamos que tras Alemania, es el segundo productor comunitario de porcino con más de tres millones de toneladas y 38 millones de animales sacrificados, con capacidad para satisfacer la demanda de una población con un consumo aparente de 63,3kg/año y persona (MAPA, 2005).

J.A. Cebolla; M. Mazariegos; C. Bárcena; M.V. Latre; L. Domínguez; Vela, A.I. Vela. Laboratorio Visavet. Departamento Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense. visavet@vet.ucm.es



SON muchos y conocidos los factores que han favorecido la intensificación de la ganadería, entre ellos podríamos citar a) la necesidad de satisfacer las necesidades alimentarias de una población en aumento con cada vez mayor poder adquisitivo, b) la creación de políticas agrícolas cuyos principios fomentaban el aumento de la producción o c) el desarrollo y especialidad de diversas ciencias relacionadas con la ganadería, como la genética, la nutrición y alimentación, la higiene y el manejo y bienestar animal. Sin em-

bargo, la intensificación se ha mostrado como un régimen de producción demasiado exigente que ha favorecido la aparición de enfermedades desconocidas y reemergentes, además de facilitar la transmisión y difusión de enfermedades ya conocidas. Todo ello ha provocado un cambio de la tradicional visión sanitaria, fundamentada en tratamientos terapéuticos, por una nueva estrategia basada en la prevención y promoción de la sanidad animal.

Dentro de este nuevo campo, es conocido por todos el gran efecto benefi-

cioso que esta consiguiendo la inmunoprofilaxis mediante el empleo de vacunas, sin embargo como cualquier herramienta sanitaria esta no está exenta de ciertos inconvenientes como fallos vacúnales (consecuencia de la variabilidad inmunológica de los animales) o por interacciones con anticuerpos maternos. Se trata de fallos inherentes asociados a los planes vacúnales, que en líneas generales pueden ser asumidos dentro del gran efecto beneficioso que han proporcionado a la cabaña ganadera. Los programas eficaces de vacunación han demostrado que pueden evitar la transmisión de un agente patógeno, y reducir al mínimo la necesidad de medicamentos, hecho que podría ayudar a disminuir la selección y propagación de los microorganismos resistentes, resultando la alternativa más eficaz en relación con el costo para combatir las enfermedades.

Sin embargo la inmunoprofilaxis vacunal, mediante vacunas genéricas, tiene también ciertas limitaciones, así en ciertos casos puede carecer de interés económico (el diseño de vacunas genéricas podría ser considerado como no rentable en el caso de especies animales con un reducido valor económico, o en el caso de enfermedades menores caracterizadas por una casuística no especialmente elevada o poco frecuente). En otras ocasiones la utilización de vacunas no es la mejor alternativa debido a la aparición de problemas patológicos de tipo multifactorial y multietiológico y en el caso de poblaciones patógenas bacterianas con gran variación genética estos productos genéricos en algunos casos pueden tener un cuestionable efecto protector.

Tal vez una posibilidad inmunoprofiláctica que sirva de apoyo, en los casos en que los medicamentos tradicionales (antibióticos) y las vacunas tradicionales no logren el efecto deseado son las vacunas a la carta (AUTO-VACUNAS), siendo definidas éstas como aquel medicamento veterinario inmunológico individualizado, elaborado a partir de organismos patógenos y antígenos no virales, obtenidos de un animal o animales de una misma explotación, inactivos y destinados para el tratamiento de dicho animal o explotación (Real Decreto 109/1995).



Figura 1. Autovacunas: Protocolo de actuación.

Estos productos biológicos suelen incluir varias especies bacterianas implicadas en diferentes procesos infecciosos y que se confeccionan a partir de los microorganismos aislados en cada explotación. Para su elaboración va a ser importante la utilización de técnicas moleculares de tipificación. Estas técnicas son en este caso empleadas con fines epidemiológicos. Su empleo permitirá detectar posibles cepas prevalentes dentro de cada una de estas especies bacterianas. La inclusión en las autovacunas de estas cepas, así como de otras que quizás no sean prevalentes a nivel nacional, provincial o regional, pero sí en una explotación de-

terminada, puede eliminar los sesgos ocasionados por los cambios que pueden producirse en la microbiota de una explotación a lo largo del tiempo originados por determinadas pautas de manejo, tratamientos, variaciones ambientales, o incluso por la introducción de nuevos animales.

Recordemos que la utilización de las autovacunas esta considerada como una prescripción excepcional (Ley 29/2006), y sólo se puede utilizar bajo ciertas premisas, tales como:

✓ Además de contar con la prescripción veterinaria, debe ser aplicada por el veterinario mismo o bajo su directa vigilancia y responsabilidad. (Figura 1).

✓ Cuando no existan medicamentos veterinarios autorizados para una dolencia, especialmente para evitar un sufrimiento inaceptable a los animales de que se trate y siempre que no exista un medicamento veterinario autorizado para ser usado en una especie animal distinta o para animales de la misma especie pero para una enfermedad distinta y tampoco existiese un medicamento autorizado para uso humano.

✓ Para un animal o un pequeño número de animales de una explotación concreta.

✓ El veterinario deberá llevar un registro de todas las informaciones pertinentes, incluyendo la fecha de examen de los animales, la identificación del propietario, el número de animales tratados, el diagnóstico, los medicamentos prescritos, las dosis administradas, la duración del tratamiento, así como los tiempos de espera recomendados. Dicho registro estará a disposi-

Los programas de vacunación han demostrado que pueden evitar la transmisión de un agente patógeno, y reducir al mínimo la necesidad de medicamentos, siendo la alternativa más eficaz entre el costo y las enfermedades

ción de las autoridades competentes con fines de inspección por un período de, al menos, tres años.

Streptococcus suis y *Haemophilus parasuis* pueden ser un ejemplo del tipo de investigación que puede efectuarse en este tema.

✓ Ambos microorganismos causan enfermedades que han emergido con la intensificación de la industria porcina (Goyache y col., 2000; Ferri y col., 2000; Gottschalk, 2005; Huerta y Perea, 2006). Los factores que influyen en su aparición son la superpoblación, la mala ventilación, variaciones importantes de temperatura y mezcla de animales de distinta edad (Gottschalk, 2005).

✓ Ambos patógenos poseen unas características comunes que les hacen interesantes para el empleo de autovacunas, la multitud de serotipos existentes, en el caso de *S.suis* se pueden diferenciar al menos 35 serotipos (Higgins y Gottschalk, 1995) y en el caso de *H. parasuis* se reconocen 15 serotipos (Kielstein y Rapp-Gabrielson, 1992). En el caso de *S. suis*, las vacunas comerciales únicamente actúan dirigidas al serotipo 2; y en el caso de *H. parasuis*, varía un poco, siendo sobretodo el serotipo 5 el más utilizado. (Gottschalk, 2005).

✓ La acción patógena de ambas bacterias se presenta a menudo de forma multietiológica, los dos agentes pueden actuar conjuntamente, junto con otros agentes bacterianos como *Pasteurella* spp. o agentes víricos, como el causante del PRRS (Galina y col., 1994).

✓ Ambos casos vienen precedidos de discretos resultados en el empleo de métodos de inmunización activa, sirva como ejemplo bacterinas del serotipo 2 (Holt y col., 1990), el empleo de suilisina intravenosa (Jacobs y col., 1994), la aplicación de subunidades del serotipo 2, o en el caso de *H. parasuis* bacterinas del serotipo 4 y 5 (Rapp-Gabrielson y col., 1996,1997)

Por lo tanto el fundamento de la autovacuna, puede contrarrestar los problemas citados: en primer lugar esta técnica inmunoproláctica se basa en la selección de unas cepas bacterianas únicas que producen una alteración en la sanidad de una explotación concreta, y en segundo lugar nos per-

mite la caracterización individual de las mismas y de esta forma eliminar el sesgo que produce la diversidad de serotipos o la variabilidad de cepas patógenas en la explotación a lo largo del tiempo, cambios que pueden ser originados por determinadas pautas de manejo, tratamientos, variaciones ambientales, o incluso por la introducción de nuevos animales. Ventaja adicionales al empleo de las autovacunas es la tranquilidad que asegura la imposibilidad de la reversión de la virulencia que se podría dar en el caso de las vacunas vivas y contrarrestar las actuaciones que de forma habitual se emplean en las explotaciones porcinas por el escaso efecto de las vacunas tradicionales.

Por otra parte, uno de los temas que más ha preocupado a nuestra sociedad en los últimos tiempos, y que ha tenido y va a tener en el futuro una enorme incidencia en la producción animal y en la transformación y comercialización de sus productos, es la utilización de medicamentos en producción animal y, dentro de éstos, de antimicrobianos (Moreno y col., 2001). Aun siendo evidentes las ventajas de estos productos su administración de forma continuada y sistemática no esta exenta de ciertos riesgos, tales como:

✓ La problemática que genera la reiterada utilización de antibióticos en las explotaciones intensivas, favoreciendo la aparición de resistencias (Vela y col., 2005).

✓ La no menos grave posibilidad de presencia de antibióticos o de sus residuos en la cadena alimentaria, motivo que ha dado lugar al desarrollo de numerosa y exigente normativa tanto a nivel europeo como nacional (Real Decreto 157/1995; Real Decreto 109/1995; Real Decreto 1749/1998; Ley 29/2006).

Lo expuesto anteriormente, así como la ausencia de alternativas terapéuticas en algunas infecciones y el encarecimiento que conllevarían los trata-



mientos son razones que han provocado una cierta alarma social y han generado un rechazo a la utilización de estos productos en producción animal. Obviamente esta situación no puede dejarnos satisfechos y debemos intentar buscar otras medidas alternativas que ayuden a paliar esta situación. Conscientes de esta realidad y entendiendo que la posible solución debe abarcar muchas estrategias (manejo, etc...), una posible alternativa es la inmunoprolaxis, es decir la utilización de AUTOVACUNAS. En este sentido, debería trabajarse en mejorar su diseño para hacer de su empleo un sistema de control de muchas enfermedades en términos de seguridad y eficacia. Para ello, debe investigarse en tres líneas fundamentales: a) selección de los antígenos que deben ir incorporados

Los beneficios y soluciones que la utilización de estas autovacunas podría aportar a los sectores ganaderos, hace que la continuidad en el desarrollo de autovacunas sea una de las líneas prioritarias de la comunidad científica



en la vacuna; b) sobreexpresión de estos antígenos y c) sistema de aplicación y programa vacunal que permitan una óptima respuesta de los animales a proteger.

Los beneficios y soluciones que la utilización de estas autovacunas podría aportar a los sectores ganaderos, hace que la continuidad en el desarrollo de autovacunas sea una de las líneas prioritarias de la comunidad científica, siendo conscientes de que la investigación en este tema es una aportación más, y complementaria, a las existentes en el difícil campo del control de las enfermedades bacterianas.

Bibliografía

■ Ferri, E.F.R., Gutiérrez, C.B. de la Puente, V.A., García del Blanco, N., Navas, J., Paniagua, C., del Río, M.L., Monter, J.L., García de la Fuente, J.N. 2000. Meningitis bacterianas el cerdo: Enfermedad de Glässer. *Porci* 59: 43-60

■ Galina, L., Pijoan, C., Sitjar, M., Christianson, W., Rossow, K. Collins, J. 1994. Interaction between *Streptococcus*

suis serotype 2 and PRRS virus in specific pathogen free piglets. *Vet. Rec.* 134: 60-64.

■ Gottschalk, M. 2005. Tendencias actuales en el control de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis* y *Streptococcus suis*. *Av. Tecnol. porc.* 2: 17-38

■ Goyache, J., González, S., Fernández, E., Vela, A.I., Briones, V., Moreno, M.A., Domínguez, L. 2000. Meningitis por *Streptococcus suis*. *Porci* 59: 13-24.

■ Higgins, R., Gottschalk M. 1995. Distribution of *Streptococcus suis* capsular types in 1994. *Can. Vet. J.* 36: 320.

■ Holt, M.E., Enright, M.R., Alexander, T.J. 1990. Immunization of pigs with killed cultures of *Streptococcus suis* type 2. *Res. Vet. Sci.* 48: 23-27.

■ Huerta, B, Perea, A. 2006. Neumonía enzoótica porcina: diagnóstico y estrategias de control. *Av. Tecnol. porc.* 3: 6-18

■ Jacobs, P.L., Loeffen, A.J., van den Berg, A.J., Storm, P.K. 1994. Identification, purification, and characteriza-

tion of a thiol-activated hemolysin (suilysin) of *Streptococcus suis*. *Infect. Immun.* 62: 1742-1748.

■ Kielstein P., Rapp-Gabrielson, V.J. 1992. Designation of 15 serovars of *Haemophilus parasuis* based on immunodiffusion using heatstable antigen extracts. *J. Clin. Microbiol.* 30: 862-865.

■ Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios. BOE num. 178 de 27 julio 2006.

■ MAPA 2005. Censos y producciones ganaderas. <http://www.mapa.es/ministerio/pags/hechosydatos/espanol/pdf/10.pdf>.

■ Moreno, M.A., las Heras, A., Porrero, M.C., Teshager, T., Herrero, I.A., García, M, Goyache, J., Vela, A.I., Fernández-Garayzábal, J.F., Domínguez, L. 2001. Estrategias para el futuro de la sanidad porcina: de los antibacterianos a las vacunas de diseño. *Anaporc* 218: 8-45.

■ Rapp-Gabrielson, V.J., Kocur, G., Clark, J., Muir, S., Whige, R. 1996. Efficacy and duration of immunity of the *Haemophilus parasuis* fractions of Suvaxyn "Respifend" MH/HPS. *Proc. Int. Congr. Pig Vet. Soc.* 14: 300.

■ Rapp-Gabrielson, V.J., Kocur, G.J., Clark, J.T., Muir, S.K. 1997. *Haemophilus parasuis*: immunity in swine following vaccination. *Vet. Med.* 92: 8390.

■ Real Decreto 109/1995, de 27 de enero, sobre medicamentos veterinarios. BOE núm. 53, de 3 marzo.

■ Real Decreto 157/1995, de 3 de febrero, por el que se establecen las condiciones de preparación, de puesta en el mercado y de utilización de los piensos medicamentosos. BOE núm. 64, de 16 marzo

■ Real Decreto 1749/1998, de 31 de julio, por el que se establecen las medidas de control aplicables a determinadas sustancias y sus residuos en los animales vivos y sus productos. BOE núm. 188, de 7 agosto 1998.

■ Vela, A.I., Cebolla, J.A., González, S., Latre, M.V., Domínguez, L., Fernández-Garayzábal, J.F. 2005. Antimicrobial susceptibility of clinical strains of *Streptococcus suis* isolated from pigs in Spain. *Vet. Microbiol.* 105: 143-147.

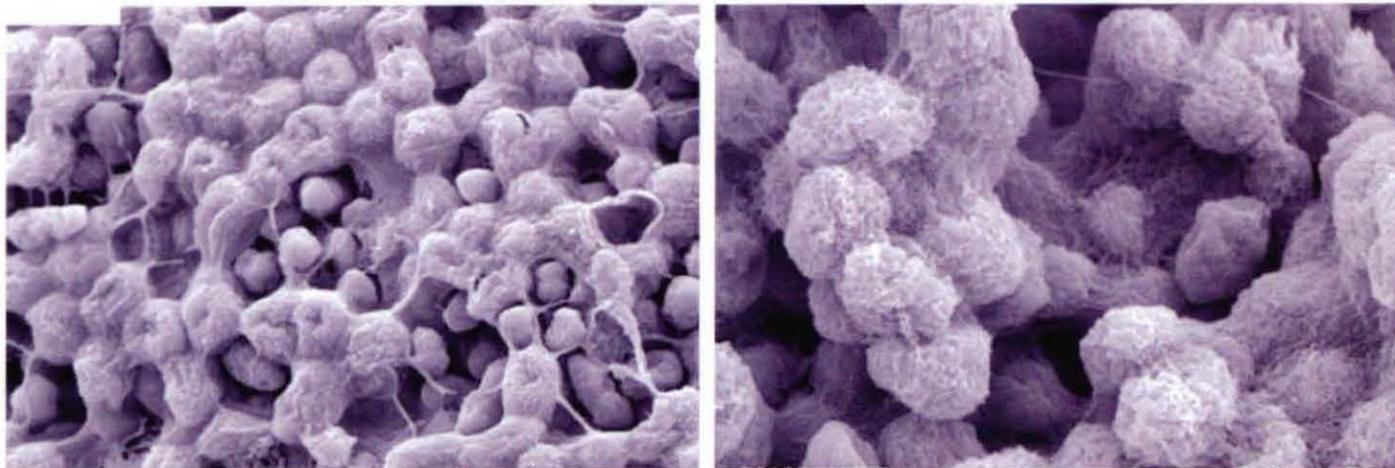


Figura 1. Estructura del biofilm de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis.

¿Por qué son difíciles de erradicar las bacterias de nuestras explotaciones?

El biofilm bacteriano: implicaciones en patogenicia

Los biofilms -comunidades de microorganismos embebidas en una matriz y adheridas a superficies biológicas o inertes- representan un modo de crecimiento habitual aunque todavía poco caracterizado de los microorganismos. Los biofilms no sólo juegan un papel importante en la patología de algunas enfermedades infecciosas crónicas del hombre y los animales sino que además constituyen un importante reservorio ambiental de microorganismos patógenos. En este trabajo, describiremos algunas de las estrategias utilizadas por las bacterias para producir biofilms, y las repercusiones, tanto económicas como sanitarias, que se derivan de ello.

María Ángeles Tormo, Miguel Martí, José Blanco, José R Penadés.

Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Apdo. 128, 12400 Segorbe, Castellón.

DURANTE el establecimiento de un proceso infeccioso resulta esencial que las bacterias, una vez se ha producido la colonización del tejido, sean capaces de persistir en el foco de infección. En los últimos años ha aumentado el interés por el estudio de los biofilms bacterianos, al comprobarse que éstos son la base de muchas infecciones bacterianas crónicas y persistentes (Costerton et al., 1999).

Los biofilms se definen como comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos, proteínas y DNA, adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo (Fig. 1). Este crecimiento no es sólo una acu-

mulación de bacterias, sino que en la actualidad se asume que las bacterias en el biofilm están estructuradas de una manera análoga a como se disponen las células eucariotas para formar un tejido (Watnick and Kolter, 2000). El crecimiento en biofilms representa la forma habitual de crecimiento de las bacterias en la naturaleza. ¿Quién no ha observado el material mucoso que recubre un jarrón en el que hemos tenido depositadas flores, el material resbaladizo que recubre las piedras

de los lechos de los ríos, los cascos de los barcos o la superficie interna de una tubería? La capacidad de formación de biofilm no parece estar restringida a ningún grupo específico de microorganismos y, como hemos mencionado, hoy se considera que es el crecimiento en biofilms la forma habitual en la que los microorganismos se desarrollan.

Aunque la composición del biofilm es variable en función del sistema en estudio, en general, el componente mayoritario del bio-

film es el agua, que puede representar hasta un 97% del contenido total. Además de agua y de las células bacterianas, la matriz del biofilm es un complejo formado principalmente por exopolisacáridos. En menor cantidad se encuentran otras macromoléculas como proteínas, DNA y productos diversos procedentes de la lisis de las bacterias.

El desarrollo del biofilm comprende dos fases: una fase de adherencia primaria y una fase de adherencia intercelular.

La fase de adherencia primaria es una fase inicial de fijación rápida de las bacterias a una superficie (inerte o biológica) que da lugar a la formación de una mo-

Los biofilms se definen como comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos, proteínas y DNA

nocapa. En esta adherencia inicial, y para muchas especies bacterianas, son las proteínas de la familia de las MSCRAMM ("componentes de la superficie microbiana que reconocen moléculas adhesivas de la matriz") las que juegan un papel importante al ser las responsables de la unión específica a estructuras de la matriz extracelular de los tejidos eucariotas (Patti et al., 1994). Además, muchas de estas proteínas pueden incluso mediar la adherencia de la bacteria a superficies abióticas una vez que los constituyentes plasmáticos o tisulares del hospedador, tales como fibronectina, fibrinógeno, laminina o trombospondina, han recubierto la superficie diana. Así, y dentro de la bacteria *Staphylococcus aureus*, en donde este tipo de proteínas mejor se han caracterizado, pertenecen a esta familia las proteínas de unión a fibronectina (FnBPA y FnBPB), unión a colágeno (Cna), unión a elastina (EbpS), las proteínas de unión a fibrinógeno (ClfA y ClfB) y la proteína A (Spa). Como hemos dicho, la mayoría de las MSCRAMM fueron descritas inicialmente en *S. aureus*, aunque en otros microorganismos se han encontrado proteínas análogas (Foster and Hook, 1998).

Después de formada la monocapa (adherencia primaria), las bacterias se acumulan en forma de agregados o microcolonias (adherencia intercelular), produciendo una matriz en la que quedan englobadas dando lugar a un biofilm maduro (figura 2; (O'Toole et al., 2000). La microcolonia sigue creciendo en volumen y las bacterias que están cerca del epitelio tienen un acceso difícil a los nutrientes del

medio externo. Sólo aquellas localizadas en las capas superiores continúan multiplicándose, situación que crea poblaciones bacterianas con diferencias en su metabolismo. Ocasionalmente, por razones puramente mecánicas, se desprenden algunas bacterias. Sin embargo, en muchas ocasiones, y por un mecanismo perfectamente controlado por la bacteria, denominado variación de fase, algunas dejan de producir esta matriz extracelular para liberarse al medio (figura 4). Este fenómeno, permite la liberación de bacterias en estado planctónico desde la matriz del biofilm, las cuales podrán colonizar otras partes de la granja y/o del hospedador,

jugando un papel importante en la dinámica del proceso de infección (Costerton et al., 1999).

En resumen, podemos indicar que el biofilm es un proceso muy relacionado con el inicio y desarrollo del cuadro infeccioso, ya que la existencia de biofilm confiere a la bacteria una serie de ventajas como son:

Favorecer la colonización

La formación de biofilm permite el asentamiento de microorganismos tanto sobre sustratos inertes que en principio parecían poco propicios a la colonización bacteriana como sobre estructuras celulares. La íntima adhesión de las bacterias entre sí y con las superficies las protege frente a la eliminación

por arrastre mecánico al que están expuestas en la mayor parte de los hábitat.

Proteger al microorganismo frente al sistema inmune del hospedador

Se ha demostrado que el biofilm confiere resistencia frente a la opsonización mediada por el complemento, uno de los mecanismos claves del sistema inmune (McKenney et al., 1998; McKenney et al., 1999) y frente a la fagocitosis en general (Barrio et al., 2000). Este efecto puede ser debido, al menos en parte, al impedimento estérico que ejerce el biofilm, ya que es mucho más sencillo fagocitar células bacterianas individuales que microcolonias enteras (Costerton et al., 1999).

Además, el biofilm protege a la bacteria frente a la destrucción oxidativa. Este efecto es debido a que en general las sustancias difun-

La formación de biofilm permite el asentamiento de microorganismos tanto sobre sustratos inertes como sobre estructuras celulares

Lista parcial de infecciones en las que los biofilms están involucrados (Costerton et al., 1999)

Infección o enfermedad	Especie bacteriana formadora de biofilm
Caries dental	Cocos gram- positivos acidogénicos (ej. <i>Streptococcus</i>)
Periodontitis	Bacterias anaeróbicas orales gram-negativas
Otitis media	Cepas no tipables de <i>Haemophilus influenzae</i>
Infecciones del músculo-esquelético	Cocos gram-positivos (ej. <i>staphylococci</i>)
Fascitis necrotizante	<i>Streptococci</i> Grupo A
Osteomielitis	Varias especies bacterianas y fúngicas
Prostatitis bacteriana	<i>E. coli</i> y otras bacterias gram-negativas
Endocarditis de la válvula nativa	<i>Streptococci</i> del grupo viridans
Neumonía por fibrosis quística	<i>P. aeruginosa</i> y <i>Burkholderia cepacia</i>
Meloidosis	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>
Neumonía	Bacilos gram-negativos
Suturas	<i>S. epidermidis</i> y <i>S. aureus</i>
Orificios de salida	<i>S. epidermidis</i> y <i>S. aureus</i>
Vías arteriovenosas	<i>S. epidermidis</i> y <i>S. aureus</i>
Bucles esclerales	Cocos gram-positivos
Cistitis	<i>E. coli</i> y otros bacilos gram-negativos
Peritonitis	Una variedad de bacterias y hongos
Dispositivos intrauterinos	<i>Actinomyces israeli</i> y muchos otros
Tubos endotraqueales	Una variedad de bacterias y hongos
Catéteres	<i>S. epidermidis</i> y <i>Candida albicans</i>
Catéteres centrales venosos	<i>S. epidermidis</i> y otros
Válvulas mecánicas	<i>S. epidermidis</i> y <i>S. aureus</i>
Injertos vasculares	Cocos gram-positivos
Bloqueo del conducto biliar	Una variedad de bacterias entéricas y hongos
Dispositivos ortopédicos	<i>S. epidermidis</i> y <i>S. aureus</i>
Prótesis del pene	<i>S. epidermidis</i> y <i>S. aureus</i>

den con gran dificultad a través del entramado polisacárido del biofilm y se ve acentuado debido a la inactivación que sufren en las capas superficiales del biofilm las sustancias oxidativas (hipoclorito, peróxido de hidrógeno) producidas por las células fagocíticas (Costerton et al., 1999).

Aumentar la resistencia a los antibióticos

La característica que mejor distingue las infecciones crónicas relacionadas con biofilms de las infecciones agudas es su respuesta a tratamientos antibióticos. Mientras que las infecciones agudas pueden ser eliminadas tras un breve tratamiento antibiótico, las infecciones por biofilms normalmente no consiguen ser completamente eliminadas, producen episodios recurrentes y la mayoría de las veces deben resolverse sustituyendo el implante. Esto se debe a que las bacterias del biofilm pueden ser hasta 1.000 veces más resistentes a los antibióticos que esas mismas bacterias crecidas en medio líquido (Donlan and Costerton, 2002; Foster and Hook, 1998; Mah and O'Toole, 2001).

¿Cuáles son las razones de esta mayor resistencia a los antibióticos? Las bases de la resistencia bacteriana en biofilm se están aún investigando, pero entre las razones barajadas se incluyen:

- ✓ La barrera de difusión física y química a la penetración de los antimicrobianos que constituye la matriz de exopolisacáridos.
- ✓ El crecimiento ralentizado de las bacterias del biofilm debido a la limitación de nutrientes.
- ✓ La existencia de microambientes que antagonizan

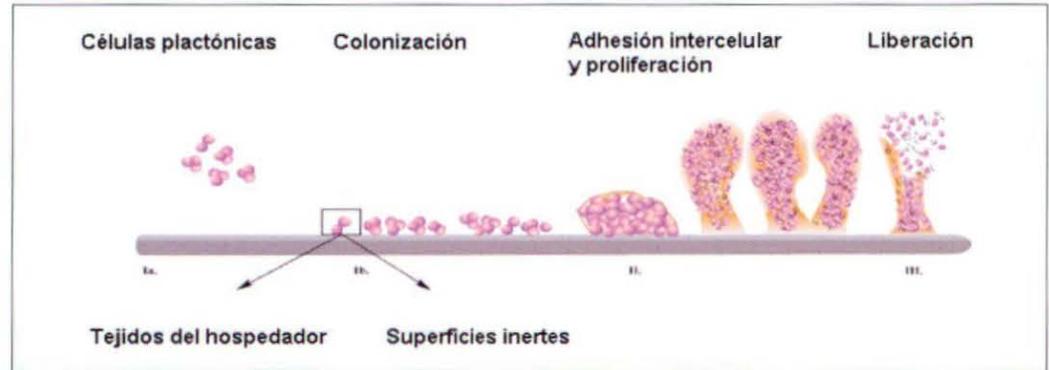


Figura 2. Etapas en la formación del biofilm.

con la acción del antibiótico. ✓ La activación de respuestas de estrés que provocan cambios en la fisiología de la bacteria y la aparición de un fenotipo específico del biofilm que activamente combata los efectos negativos de las sustancias antimicrobianas.

Entre todas estas posibles razones, la explicación más intuitiva para la pobre eficacia de los antibióticos contra las bacterias en biofilm es la incapacidad del antibiótico para penetrar en el biofilm a través de la matriz exopolisacáridica. Sin embargo, diferentes estudios en los que se ha medido la penetración de los antibióticos en los biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* han mostrado que la matriz del biofilm altera la velocidad de penetración de los antibióticos (las fluoroquinolonas penetran rápidamente y los aminoglucósidos más lentamente), pero en principio todos los antibióticos ensayados son capaces de penetrar hasta el interior del biofilm en unas horas y alcanzar concentraciones bactericidas para las formas planctónicas.

Un problema adicional de la práctica clínica relacio-

nado con la resistencia de los biofilms a los antimicrobianos es la ausencia de métodos estandarizados de uso rutinario para determinar la sensibilidad de las bacterias de un biofilm a los antimicrobianos. Se han realizado intentos por adaptar métodos desarrollados en laboratorios de investigación, pero todavía no se ha adoptado ningún protocolo estándar para este fin.

Principales enfermedades relacionadas con el biofilm en el ganado porcino

La capacidad de formación de biofilm no parece estar restringida a ningún grupo específico de microorganismos y hoy se considera que bajo condiciones ambientales adecuadas todos los microorganismos son capaces de formar biofilms. Así, numerosas infecciones que afectan al ganado porcino son producidas por bacterias capaces de formar biofilm:

La pleuroneumonía porcina producida por *Actinobacillus pleuropneumoniae* es una de las enfermedades de mayor impacto asociadas al complejo respiratorio del cerdo. Kaplan and Mulks (2005) demostraron que *A.*

pleuropneumoniae tiene la capacidad de formar biofilms en medio de cultivo sólido. La propiedad fenotípica de formar biofilm pudiera ser un factor importante para la colonización, virulencia y transmisión del agente.

La enfermedad de Glässer, producida por *Haemophilus parasuis*, afecta exclusivamente al ganado porcino y últimamente se ha detectado un aumento significativo de la incidencia, morbilidad y mortalidad de dicha enfermedad. Un estudio realizado en Copenhague indicó que la mayoría de serovares de *H. parasuis* puede formar biofilm in vitro. Un 40% de los aislados de campo virulentos y un 75% de los no virulentos podían formar biofilms, lo que sugiere que las cepas no virulentas pueden formar biofilms con mayor frecuencia, lo que les ayuda a establecer infecciones persistentes y a la evasión de la respuesta inmune (Jin et al., 2006).

Los estreptococos son los agentes causales de una serie de procesos patológicos en ganado porcino que han adquirido gran importancia en los últimos tiempos. Entre las especies del género *Streptococcus* que afectan al cerdo se estima que *Streptococcus suis* es una de las más importantes. En un estudio reciente se ha caracterizado el biofilm producido por una cepa de

La propiedad fenotípica de formar biofilm pudiera ser un factor importante para la colonización, virulencia y transmisión del agente



S. suis serotipo 2 aislado de un caso de meningitis en cerdo (Grenier et al., 2007).

Como último ejemplo, la neumonía enzoótica es una de las enfermedades que producen mayores pérdidas económicas en la producción porcina, provocando retraso de crecimiento y pérdida del índice de conversión, así como favoreciendo otras infecciones secundarias. Esta causada por el *Mycoplasma hyopneumoniae*, que también es capaz de formar biofilm (Ross, 2006).

Estrategias de intervención frente a infecciones por biofilms

La implicación del biofilm como un factor de patogenicidad ha sido un hecho reciente, por lo que todavía estamos en la fase del entendimiento de cómo las bacterias producen esta matriz, y de qué factores intervienen en el proceso. Sin embargo, si que tene-

La infección producida por las bacterias creciendo en biofilm es latente, asintomática, provocando cuadros crónicos inaparentes o estados de portador

mos claro que muy pocas infecciones asociadas a la formación del biofilm se resuelven satisfactoriamente, y la recurrencia es muy común en todos los casos. El tratamiento antibiótico sistémico en general no consigue la erradicación del biofilm pero se puede implantar para destruir las bacterias que pasan al torrente circulatorio. El tratamiento antibiótico sistémico debe ser inicialmente de amplio espectro y debe ser sustituido por antibióticos específicos cuando el laboratorio de microbiología informe la identificación y la susceptibilidad del microorganismo causante de la infección. Sin embargo, y hemos de insistir en este

aspecto, muy pocas infecciones asociadas a biofilm se resuelven satisfactoriamente, y la recurrencia es muy común, por lo que en muchas ocasiones la eliminación del animal infectado es lo más aconsejable, ya que con ello evitamos la diseminación y persistencia de la bacteria.

Otra cuestión a tener en cuenta es que en muchas ocasiones la infección producida por las bacterias creciendo en biofilm es latente, asintomática, provocando cuadros crónicos inaparentes o estados de portador. Sirva como ejemplo la presencia de animales infectados con bacteria del género *Salmonella*. En este caso, el animal actúa como disemi-

nador de la bacteria, la cual contaminará toda la explotación, creciendo en biofilms difíciles de erradicar. ¿Qué hacer en esta situación? Evidentemente, además del control de los animales, es necesario la monitorización y el análisis de distintos puntos a lo largo de la explotación, ya que es posible que sea el acantonamiento de la bacteria en algunos de estos puntos el origen de la presencia de la bacteria en la explotación.

Asimismo, y al igual que ocurría con los test de sensibilidad a los antibióticos, es necesario que todos los desinfectantes usados en la explotación sean efectivos a las bacterias cuando crecen en biofilms, y no sólo a las bacterias creciendo de forma planctónica. Una mala desinfección de la explotación puede provocar la diseminación de la bacteria, al llevarnos bacterias de una localización a otra.



Conclusiones

Las bacterias han crecido en biofilms durante millones de años, como parte de una estrategia exitosa para colonizar el planeta y la mayoría de los seres vivos. Nosotros sólo hemos reconocido esta forma de vida de las bacterias en las últimas dos décadas. La formación de biofilms representa un problema en nuestras explotaciones. Los microorganismos del biofilm son muy difíciles de tratar con agentes antimicrobianos y la liberación de bacterias desde el biofilm puede provocar la diseminación de la bacteria. Es necesario desarrollar nuevos métodos para detectar la presencia de biofilms y nuevos métodos para evaluar la respuesta frente a las estrategias de control. Finalmente, necesitamos desarrollar nuevas estrategias de control que en combinación con los antibióticos nos ayuden a combatir biofilms ya formados. Todos los esfuerzos dirigidos a la identi-

ficación de genes que sean necesarios para la formación del biofilm, la búsqueda de enzimas capaces de degradar específicamente la matriz polisacáridica del biofilm, métodos físicos como ultrasonidos que perturben la estabilidad de la matriz o los estudios dirigidos a descifrar los patrones de expresión génica entre las bacterias plactónicas y las bacterias del biofilm deben de ser considerados como fuente de posibles estrategias que nos ayudarán a comprender y combatir mejor las infecciones producidas por biofilms bacterianos.

Bibliografía

■ Barrio, B., Vangroenweghe, F., Dosogne, H., and Burvenich, C. (2000) Decreased neutrophil bacteri-

cidal activity during phagocytosis of a slime-producing *Staphylococcus aureus* strain. *Vet Res* 31: 603-609.

■ Costerton, J.W., Stewart, P.S., and Greenberg, E.P. (1999) Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284: 1318-1322.

■ Donlan, R.M., and Costerton, J.W. (2002) Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 15: 167-193.

■ Foster, T.J., and Hook, M. (1998) Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 6: 484-488.

■ Grenier, D., Grignon, L., and Gottschalk, M. (2007) Characterisation of biofilm formation by a *Streptococcus suis* meningitis isolate. *Vet J*.

■ Jin, H., Zhou, R., Kang, M., Luo, R., Cai, X., and Chen, H. (2006) Biofilm formation by field isolates and reference strains of *Haemophilus parasuis*. *Vet Microbiol* 118: 117-123.

■ Kaplan, J.B., and Mulks, M.H. (2005) Biofilm formation is prevalent among field isolates of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet Microbiol* 108: 89-94.

■ Mah, T.F., and O'Toole, G.A. (2001) Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol* 9: 34-39.

■ McKenney, D., Hubner, J., Muller, E., Wang, Y., Goldmann, D.A., and Pier, G.B. (1998) The ica locus of *Staphylococcus epidermidis* encodes production of the capsular polysaccharide/adhesin. *Infect Immun* 66: 4711-4720.

■ McKenney, D., Pouliot, K.L., Wang, Y., Murthy, V., Ulrich, M., Doring, G., Lee, J.C., Goldmann, D.A., and Pier, G.B. (1999) Broadly protective vaccine for *Staphylococcus aureus* based on an in vivo-expressed antigen. *Science* 284: 1523-1527.

■ O'Toole, G., Kaplan, H.B., and Kolter, R. (2000) Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol* 54: 49-79.

■ Patti, J.M., Allen, B.L., McGavin, M.J., and Hook, M. (1994) MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu Rev Microbiol* 48: 585-617.

■ Ross, R.F. (2006) *Pasteurella multocida* and its role in porcine pneumonia. *Anim Health Res Rev* 7: 13-29.

■ Watnick, P., and Kolter, R. (2000) Biofilm, city of microbes. *J Bacteriol* 182: 2675-2679.

Las bacterias han crecido en biofilms durante millones de años, como parte de una estrategia exitosa para colonizar el planeta y la mayoría de los seres vivos

