

# CAPÍTULO I

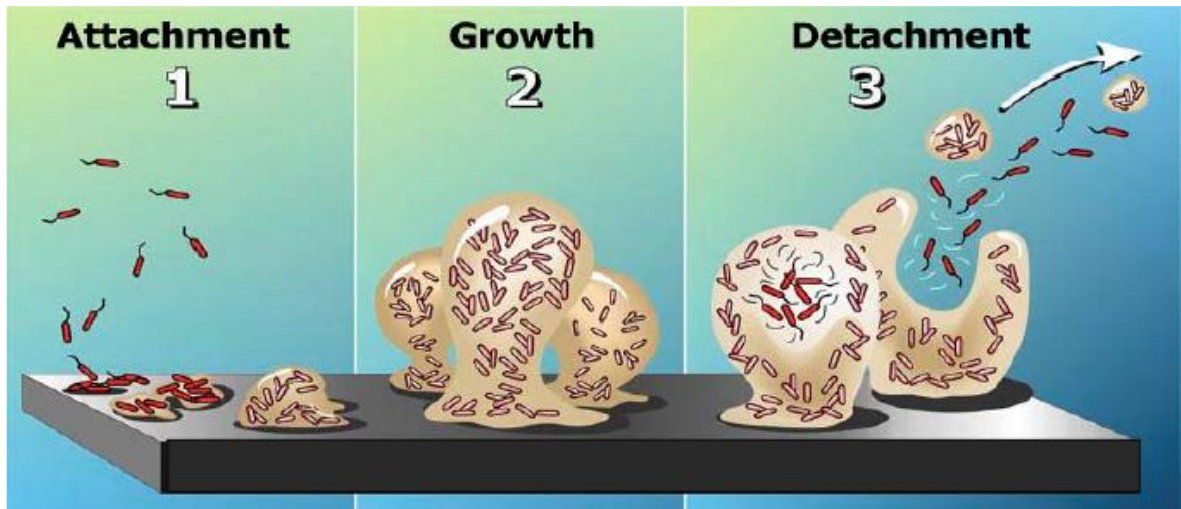
## INTRODUCCIÓN

Una biopelícula o biofilm se define como “una comunidad microbiana compuesta de células adheridas irreversiblemente a un sustrato, interfase o superficie, envueltas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) que ellas han producido y que exhiben un fenotipo alterado en relación con la tasa de crecimiento y transcripción génica” (Contreras, 2013).

Las biopelículas poseen propiedades y características propias que le confieren a los microorganismos una alta heterogenicidad metabólica y fisiológica, resistencia a antimicrobianos, uso de desinfectantes, protección frente a depredadores, compuestos tóxicos y otras especies microbianas, degradación mediante componentes del sistema inmune, factores ambientales (temperatura, pH, disponibilidad de nutrientes, etc.), además facilitan la adquisición de nutrientes y disminuye la tasa de crecimiento de los microorganismos lo que dificulta su eliminación. Por otro lado, la capacidad de formar biopelículas protege a los microorganismos frente a métodos de esterilización tanto convencionales como no convencionales.

La formación de biopelículas implica una serie de fases que incluyen adsorción, adhesión, transformación de fase plactónica al biofilm, crecimiento y desprendimiento (Martínez Díaz, 2010; Nazar, 2007). En la fase de adsorción las células en fase plactónica se unen de manera reversible a la superficie a través de interacciones no covalentes (enlaces de Van der Waals, iónicos y puentes de Hidrógeno), así como también la producción de proteínas de adhesión y flagelos/pilis bacterianos formando una monocapa de células

(Martínez Díaz, 2010); las bacterias Gram negativas producen flagelos, fimbrias y pilis tipo I y IV, las Gram positivas se unen a través de adhesinas como AtlE, Bap y Esp (Bonilla, 2007). En la fase de adhesión los microorganismos comienzan a rodearse de una matriz extracelular glucoproteica producida por ellos mismos compuesta por exopolisacárido (EPS), azúcares (glucosa, manosa, fructosa, N-acetilglucosamina), proteínas, ácidos nucleicos y teicoicos, productos de desechos celulares, agua, sales minerales y otros componentes propios del medio en menor cantidad (Donlan, 2002; Martínez Díaz, 2010); la formación de esta matriz extracelular causa que la unión a la superficie se torne irreversible, dificulta la remoción de la biopelícula y permite el desarrollo de las bacterias. La transformación de las células en fase plactónica a la biopelícula ocurre cuando las células entran en contacto con la superficie y producen el EPS, proceso que refleja los cambios fisiológicos, metabólicos y genómicos que sufren las células para adherirse a la superficie (Bonilla, 2007). El crecimiento se da a la par de la transformación de las células en fase plactónica, los microorganismos a medida que se dividen se extienden sobre la superficie y producen más EPS formando una capa densa de células adheridas entre sí que sirve de estructura para el crecimiento de la biopelícula (Nazar, 2007). Finalmente en la etapa de desprendimiento las células que forman las capas superficiales de la biopelícula pueden disociarse del resto permitiendo su dispersión y formación de nuevas biopelículas, mientras que las células de la biopelícula adheridas a la superficie disminuyen su tasa de división celular (Martínez Díaz, 2010) lo que les permite mantener la adhesión, la biopelícula, producir el EPS, facilitar la comunicación intercelular y el desarrollo de mecanismos de resistencia contra antimicrobianos y el sistema inmune.



**Figura 1: Etapas de formación de una biopelícula (Sigve Håvarstein, s/f). 1) Adhesión, las bacterias se fijan reversiblemente a la superficie mediante interacciones no covalentes; 2) Maduración, a través de un proceso denominado quorum sensing las bacterias exhiben cambios la expresión de genes (heterogenicidad de fenotipos) que resulta en la producción de una matriz extracelular abundante en polisacáridos (EPS) y la unión a la superficie se torna irreversible; 3) Liberación o Desprendimiento, debido a la heterogenicidad de las bacterias y microambientes dentro de la biopelícula causa que algunos microorganismos dejen de producir EPS y se desprendan de la biopelícula, las cuáles nuevamente podrán colonizar otras superficies.**

Los procesos implicados en la formación de las biopelículas, la comunicación célula-célula, producción del EPS, expresión de factores de virulencia, resistencia a antimicrobianos y muchas otras funciones celulares se encuentran bajo el control del Quorum Sensing (QS) (Galeano Ariza et al., 2013). El fenómeno de QS se refiere a un conjunto de moléculas señalizadoras llamadas autoinductores, capaces de interactuar con receptores de la misma célula o células adyacentes regulando la expresión génica, permitiendo la transformación de la fase plactónica a la biopelícula y coordinando su formación.

La capacidad de los microorganismos para producir biopelículas se ha presentado como una estrategia universal y exitosa de supervivencia, adoptada por la mayoría de bacterias y hongos; lo que les permite la adaptación a múltiples ecosistemas tales como suelos, sedimentos minerales, superficies de plantas y zonas marinas, glaciares y volcanes

(Contreras, 2013). Sin embargo las biopelículas no se delimitan únicamente a los ecosistemas naturales sino que también se localizan en ambientes sintéticos tales como ductos acuíferos (causando corrosión) y en la industria alimentaria (Mohsenipour & Hassanshahian, 2015). No obstante son la industria médica y el área hospitalaria quienes prestan mayor atención a las biopelículas debido a que pueden encontrarse colonizando dispositivos médicos, implantes, catéteres y causando infecciones intrahospitalarias, además de que representan uno de los factores de la persistencia de los microorganismos en las infecciones crónicas y generación de cepas multiresistentes (Wonoputri et al., 2015), en Estados Unidos 80% de las infecciones persistentes están asociadas a biopelículas bacterianas (Ziuzina et al., 2015).

Los microorganismos formadores de biopelículas con mayor importancia médica incluyen: *Streptococcus sp.* (caries dental, fascitis necrotizante, y endocarditis), *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis* (infecciones de músculo esquelético, suturas, vías arteriovenosas, catéteres, válvulas mecánicas del corazón, prótesis e implantes médicos), *Pseudomonas aeruginosa* (neumonía, fibrosis quística, contaminación de lentes de contacto y transmisión de infecciones intrahospitalarias), *Haemophilus influenzae* (otitis e infecciones intrahospitalarias), *Escherichia coli* y enterobacterias (osteomielitis, colestasis, prostatitis, cistitis, colonización de catéteres e infecciones nosocomiales) y *Candida albicans* (contaminación de catéteres y dispositivos intrauterinos) (Lasa et al., 2005).

El hierro es un oligoelemento esencial para el crecimiento tanto de organismos superiores como microorganismos por su amplio desempeño en procesos biológicos como transporte de oxígeno (hemoglobina en mamíferos), síntesis y reparación de ácidos nucleicos y respiración celular (Narrillos Rodríguez, 2014). Además el hierro forma parte estructural, cataliza reacciones enzimáticas o actúa como cofactor de muchas metaloproteínas como la

hemoglobina, ferritina (almacén de Fe), citocromos (cadena de transporte de electrones y metabolismo), rubredoxina (transporte de electrones en algunas bacterias), nitrogenasas (fijación de nitrógeno y reducción compuestos nitrogenados) peroxidasas (reacciones de óxido-reducción y efecto bactericida) y catalasas (neutralizan peróxido de hidrógeno).

Pese a la abundancia del hierro en el medio ambiente éste representa un factor limitante para el crecimiento de los microorganismos ya que suele encontrarse en su forma oxidada ( $\text{Fe}^{3+}$ ) formando compuestos insolubles y de difícil asimilación por parte de los microorganismos, mientras que su estado reducido ( $\text{Fe}^{2+}$ ) es soluble pero también es tóxico por su capacidad para formar especies reactivas de oxígeno (efecto microbicida) (Narrillos Rodríguez, 2014). Por ello los microorganismos, en especial bacterias y hongos, han desarrollado estrategias que les permiten captar y asimilar el hierro del ambiente; estos microorganismos producen unas proteínas de bajo peso molecular con alta afinidad por el  $\text{Fe}^{3+}$  denominadas sideróforos. No sólo los sideróforos son capaces de quelar el hierro del medio ambiente, sino que permite a las bacterias patógenas desarrollarse en el interior del hospedero (Ojha & Hatfull, 2007) gracias a su capacidad para secuestrar el hierro de las proteínas como transferrina o ferritina (proteínas que transportan y almacenan el hierro en humanos) y sobrevivir dentro de su hospedero. Existen muchas moléculas que se han identificado como sideróforos, sin embargo la mayor diferencia entre ellas es netamente estructural determinada por el grupo quelante de hierro, por lo cual se pueden clasificar a los sideróforos en tres grupos: 1) hidroxamatos, poseen ácidos hidroxámicos; 2) catecolatos, poseen un anillo catecol o grupo corismato; y 3) carboxilatos, similares a los hidroxamatos con grupos hidroxilácidos en su sitio de unión al hierro (Contreras, 2013).