

Bacteriosis y uso de antibióticos en protección de cultivos. Bases científicas, ventajas e inconvenientes

Emilio Montesinos Seguí (Catedrático de Producción Vegetal (Patología Vegetal). Instituto de Tecnología Agroalimentaria. Centro de Innovación y Desarrollo en Sanidad Vegetal-CIDSAV. Universitat de Girona. Email: emilio.montesinos@udg.edu).

DEFINICIÓN Y DESCUBRIMIENTO DE LOS ANTIBIÓTICOS

Un antibiótico se puede definir como una sustancia producida por microorganismos que inhibe otros microorganismos. Pero, actualmente esta definición clásica se puede extender a compuestos antimicrobianos producidos por cualquier ser vivo.

El descubrimiento de los antibióticos se debe a Alexander Fleming, que en los años 20 buscaba sustancias que se pudieran utilizar para combatir las enfermedades infecciosas. Observó que la lisozima de las lágrimas disolvía la pared de muchas bacterias. Trabajando con el mercurocromo (un producto bien conocido hoy en día como antiséptico) descubrió que en algunas placas de Petri con cultivos de estafilococos, éstos no se desarrollaban cuando estaban contaminadas por colonias de un moho azul (*Penicillium chrysogenum*), proceso que se denominó antibiosis. Más tarde Walter Florey y Ernst Chain purificaron la sustancia responsable producida por otra especie de *Penicillium*, que denominaron penicilina, iniciándose la era de los antibióticos. Desde entonces se han descubierto miles de compuestos en un sinnúmero de microorganismos aislados de muy diversos ambientes, de los cuales varios centenares han tenido en el pasado o tienen actualmente aplicación clínica. Incluso se han desarrollado antibióticos semi-sintéticos que consisten en modificaciones de la estructura nativa obtenida de la fuente natural. El espectro de acción de los antibióticos abarca desde bacterias hasta hongos y otros microorganismos, con mecanismos de acción muy diversos que en su conjunto interfieren prácticamente con todos los procesos celulares esenciales, en especial en bacterias.

Junto a las vacunas, los antibióticos han sido y son actualmente el pilar fundamental de la lucha contra las enfermedades infecciosas, principalmente las causadas por bacterias.

El consumo de antibióticos por sectores y su uso en agricultura

Es difícil evaluar el consumo de antibióticos a nivel mundial, pero existen datos fiables de EEUU y de la Unión Europea (UE). Casi la totalidad del consumo se destina a usos clínicos y veterinarios, siendo los más utilizados las penicilinas y cefalosporinas, y muy minoritarios los aminoglicósidos (EMA 2011, Van Boeckel y col., 2014). En la UE los antibióticos no están autorizados como aditivos en piensos ni en agricultura (EC Regulation 2003, Casewell y col., 2003). Varios antibióticos están autorizados en agricultura en EEUU, aunque su uso es prácticamente testimonial con menos de un 0,4% del total, restringiéndose a aquellos que casi no se utilizan en clínica.

Sin embargo, se trata de los compuestos más efectivos en el control de bacteriosis de los cultivos, empleándose sobre todo en el control del fuego bacteriano de los frutales de pepita (*Erwinia amylovora*), de la bacteriosis de los frutales de hueso (*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*) y de algunas plantas hortícolas (McManus y Stockwell 2000, 2001, Ngugi y col., 2011).

Ante la amenaza que suponen bacteriosis nuevas o emergentes en agricultura (p.e. huanglongbing de los cítricos, seca súbita del olivo), cada vez se alzan más voces reivindicando o justificando su uso, ya que no se dispone de herramientas eficientes en el control de estas enfermedades.



Placa de Petri mostrando diversas colonias de bacterias de aspecto blanco o amarillo cremoso, que se han desarrollado sobre un cultivo confluyente de un patógeno. Nótase el halo de inhibición del crecimiento del patógeno alrededor de la mayoría de las colonias, que indica la producción de antibióticos que difunden al medio.

Toxicidad e impacto ambiental

Surge por tanto la pregunta sobre la razón de su prohibición en la UE como productos fitosanitarios. No se trata de una cuestión de toxicidad, ya que obviamente han sido seleccionados entre muchos compuestos candidatos para su uso en medicina. En la mayoría de los antibióticos la DL50 se sitúa entre 5000-10.000 mg/Kg de peso en ratas (EPA 2011), toxicidad que está incluso por debajo de la de los analgésicos más populares. Sus efectos adversos en los procesos microbianos en el medio ambiente pueden ser significativos, pero los niveles suelen estar por debajo de la concentración mínima inhibitoria para la mayoría de microorganismos clave en los ciclos biogeoquímicos. Además, al tratarse de productos de origen natural, la naturaleza dispone de mecanismos para su biodegradación.

El problema de la resistencia

Existe una preocupación creciente ante numerosas enfermedades infecciosas emergentes o nuevas, causadas por bacterias resistentes a antibióticos, que afectan a la humanidad, cuyo control supone un problema difícil en la actualidad y que previsiblemente se agravará en el futuro.

Los mecanismos de la resistencia a antibióticos en las bacterias son diversos, pero son similares a los que tienen lugar en el caso de resistencia a insecticidas, herbicidas o fungicidas. La resistencia puede deberse a una disminución de la permeabilidad celular al compuesto, destoxificación por modificación química o por inmovilización del antibiótico, disminución de la afinidad en la diana celular, superación de la etapa bloqueada mediante una nueva ruta metabólica, o compensación del efecto inhibitorio mediante la mayor producción de la diana inhibida.

Por lo tanto, el principal problema reside en la posibilidad de que tras un uso masivo en agricultura se seleccionen cepas resistentes en patógenos que comparten el hombre y animales. Sin embargo, existe de fondo una microbiota natural residente en el suelo agrícola o asociada a las plantas de cultivo que es resistente a antibióticos, que puede ser autóctona o proceder de residuos domésticos o ganaderos. Esto ha sido puesto de manifiesto mediante la detección de bacterias resistentes a ampicilina en la rizosfera del maíz (Badosa y col., 2004), o a cefalotina en suelos fertilizados con estiércol (Udikovic-Kolic y col., 2014).

El seguimiento que se realiza en la UE y en EEUU, ha constatado un aumento de la incidencia de resistencia a diversos antibióticos como cefotaxima, ciprofloxacino o eritromicina (USDHHS.CDC. 2013, EFSA 2011) en patógenos indicadores de la evolución de las resistencias, como algunos relacionados con los alimentos (p.e. *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*). Sin embargo, el entorno en el que se detectan (y probablemente producen) la mayoría de casos de cepas resistentes es el propio ambiente hospitalario o veterinario (USDHHS.CDC. 2013).

La problemática se agrava por el hecho de que con frecuencia se trata de resistencia múltiple a antibióticos que puede transferirse entre bacterias de la misma especie (conjugación genética) o a otras bacterias afines taxonómicamente (transformación por DNA exógeno).

Ante este escenario resulta obvio que se requiere una adecuada preservación, protección y uso razonable de los antibióticos existentes, lo que se ve dificultado por la escasa aparición de nuevos compuestos en el mercado, debido a diversos motivos aducidos por la compañías farmacéuticas que no vienen al caso.

El proceso de adquisición de resistencia mejor estudiado es el de transferencia mediante plásmidos conjugativos (pequeños fragmentos del genoma libres

circulares) que confieren a las bacterias la capacidad de modificar o degradar el antibiótico, inactivándolo. Esto ha sido demostrado en numerosas bacterias multiresistentes de origen clínico y veterinario, pero también en bacterias fitopatógenas en EEUU, como *E. amylovora*, *P. syringae* o *X. vesicatoria* aisladas de campos de plantas de campos de cultivo tratados intensivamente con estreptomina o tetraciclina (Cooksey 1990). Además de por plásmidos conjugativos las bacterias pueden adquirir resistencia por mutación en el genoma que afecte al mecanismo de acción del antibiótico en la célula. En el caso de antibióticos con mecanismo de una sola diana, la probabilidad de resistencia es mayor que en otros con acción multidiana, por una pura cuestión de probabilidad. Por otro lado, la resistencia cruzada entre dos antibióticos se incrementa cuando el mecanismo es el mismo.

Por lo tanto se puede concluir que el riesgo de resistencia está relacionado tanto con el potencial evolutivo del patógeno (variabilidad genética) como con el mecanismo de acción del antibiótico.

El riesgo de la transferencia de la resistencia desde el entorno agrícola. Un caso concreto, los antibióticos aminoglicósidos

Se considera que existe riesgo de transferencia de la resistencia (vía transformación o conjugación) desde bacterias asociadas a las plantas (patógenas, saprofitas o comensales) a bacterias patógenas del hombre y animales. Hay que resaltar que muchas bacterias asociadas a las plantas tienen parentesco con bacterias patógenas del hombre y animales. Por ejemplo, *Pantoea agglomerans* y *Erwinia amylovora*, asociadas a plantas, están emparentadas con *Escherichia coli* y *Salmonella* porque todas son enterobacterias de gran proximidad taxonómica; lo mismo ocurre con *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas syringae* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Centrándonos en los antibióticos de uso agrícola, y en algunos que fueron autorizados en el pasado en la UE y que están autorizados actualmente en EEUU, entraremos en detalle en los aminoglicósidos. Estos antibióticos tienen en común tanto aspectos estructurales como en su mecanismo de acción ya que interfieren en los procesos de síntesis proteica en bacterias. Los aminoglicósidos estreptomina, kanamicina, neomicina y gentamicina, de uso clínico, afectan a varias etapas del proceso, pero éstas son distintas de la única etapa que inhibe la kasugamicina, consistente en bloquear la formación del complejo de la subunidad 30S del ribosoma y el mRNA en bacterias (Okuyama y col., 1971). En este sentido no es de esperar una resistencia cruzada con la estreptomina y antibióticos similares por mecanismos mutacionales. Sin embargo, podrían existir plásmidos degradativos/modificadores que inactiven todos ellos mediante un mecanismo común, aspecto que no se conoce bien en el caso de la kasugamicina.

Conclusiones

El uso de antibióticos en agricultura a nivel mundial y su impacto en el consumo total de antibióticos es minoritario comparado con su utilización en veterinaria, clínica y acuicultura. El problema del uso de antibióticos en agricultura no reside en su perfil toxicológico, sino en la posible selección de resistencias en bacterias asociadas a plantas, que eventualmente puedan ser transferidas a bacterias patógenas del ámbito clínico/veterinario. Su aplicación en agricultura debería restringirse a aquellos compuestos que no presenten resistencia cruzada con antibióticos de uso clínico, por tener un mecanismo de acción distinto.

BIBLIOGRAFÍA

- Badosa, E., Moreno, C, Montesinos, E. 2004. Lack of detection of transfer of ampicillin resistance genes from Bt176 transgenic corn to culturable bacteria under field conditions. *FEMS Microbiology Ecology*. 48:169-178.
- Casewell M., Friis C., Marco E., McMullin P., Phillips I. 2003. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *J. Antimicrobial Chemotherapy*. 52:159-161.
- Cooksey, D.A. 1990. Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28:201-219.
- EPA Pesticide fact Sheet. 2005. Kasugamycin new chemical tolerance established.
- European Food Safety Authority; EFSA approaches to risk assessment in the area of antimicrobial resistance, with an emphasis on commensal microorganisms. *EFSA Journal* 2011; 9(10):196. [29 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2011.196. Available online: www.efsa.europa.eu.
- European Medicines Agency, 2011. Trends in the sales of veterinary antimicrobial agents in nine European countries (2005-2009)' (EMA/238630/2011).
- McManus, P. and Stockwell, V. 2000. Antibiotics for Plant Diseases Control: Silver Bullets or Rusty Sabers. *APSnet Features*. Online. doi: 10.1094/APSnetFeature-2000-0600.
- McManus, P. S., and Stockwell, V. O. 2001. Antibiotic use for plant disease management in the United States. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2001-0327-01-RV.
- Ngugi, H. K., Lehman, B. L., and Madden, L. V. 2011. Multiple treatment meta-analysis of products evaluated for control of fire blight in the eastern United States. *Phytopathology* 101:512-522.
- Okuyama, A., Kinoshita, M.N.T., Tanaka, N. 1971. Inhibition by kasugamycin of initiation complex formation on 30S ribosomes. *Biochemical Biophysical Research Communications* 43: 196-199.
- Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *OJ L* 268, 18.10.2003, p. 29-43.
- Udikovic-Kolic, N., F. Wichmann, N.A. Broderick, and J. Handelsman. 2014. Bloom of resident antibiotic-resistant bacteria in soil following manure fertilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 111: 15202-15207.
- USDHHS.CDC. 2013. Antibiotic resistance threats in the US.
- Van Boeckel T.P., Gandra S., Ashok A., Caudron Q., Grenfell B.T., Levin S.A., Laxminarayan R. 2014. Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. *Lancet Infect Dis*. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70780-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70780-7).