

LA FORMACIÓN DE BIOFILM COMO ATRIBUTO DE VIRULENCIA EN *CAMPYLOBACTER*

Silván J. M., Pérez Boto D., Martínez-Rodríguez A. J.

Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM) / Departamento de Biotecnología y Microbiología de Alimentos / Grupo de Microbiología y Biotecnología de Alimentos. C/ Nicolás Cabrera 9, 28049, Madrid.

adolfo.martinez@csic.es

Introducción

Entre los microorganismos patógenos asociados a los alimentos, *Campylobacter* es desde hace varios años y a nivel mundial, la causa más frecuente de enfermedades diarreicas de origen bacteriano [1]. Según la máxima Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en el año 2015 se confirmaron 29.213 casos de campilobacteriosis en la Unión Europea. [2]. *Campylobacter* es el principal patógeno bacteriano asociado a los alimentos, a pesar de su extrema sensibilidad a diversos tipos de estrés, lo que constituye toda una paradoja microbiológica. A esta capacidad de sobrevivir en la cadena alimentaria contribuyen diversos atributos de virulencia que emplea este patógeno como herramientas para provocar la enfermedad en humanos, denominada campilobacteriosis. Entre estos atributos de virulencia, se ha descrito que la capacidad de formar biofilm podría ser una característica muy relevante del género *Campylobacter* para sobreponerse a los diferentes tipos de estrés presentes en la cadena alimentaria. En el presente trabajo, se ha determinado la capacidad de diferentes cepas, aisladas tanto de la cadena alimentaria de la carne de pollo, como de pacientes con campilobacteriosis, de formar biofilm. Se ha evaluado el impacto de la capacidad de formar biofilm en la virulencia de este patógeno alimentario y en el incremento de su resistencia a diferentes tratamientos.

Materiales y Métodos

Se utilizaron un total de 50 cepas de *Campylobacter*: 29 cepas aisladas de la cadena alimentaria (CA) de la carne de pollo (23 cepas de *C. jejuni* y 6 cepas de *C. coli*) y 21 cepas aisladas de casos clínicos (H) de campilobacteriosis (16 cepas de *C. jejuni* y 5 cepas de *C. coli*). Las diferentes cepas se recuperaron por siembra en placas de Mueller Hinton Sangre y se incubaron en condiciones de microaerofilia (85% N₂, 10% CO₂ y 5% O₂) utilizando un incubador de atmósfera variable (VAIN MACS-VA500, Don Whitley Scientific) a una temperatura de 42°C durante 48 horas. Para la determinación de la capacidad de *Campylobacter* de formar biofilm en superficies abióticas se utilizó un método basado en el protocolo descrito previamente por Reeser y col. [3] con modificaciones realizadas para el presente trabajo. El estudio del impacto de la formación de biofilm en la actividad antimicrobiana de los compuestos estudiados se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita en Silván y col en 2014 [4].

Resultados y Discusión

En la Figura 1 se presenta la comparación de los valores medios de formación de biofilm entre las cepas de *Campylobacter* aisladas de la cadena alimentaria de la carne de pollo (CA) y las cepas clínicas (H). Como se puede observar, las cepas aisladas de la cadena alimentaria formaron mayor cantidad de biofilm que las cepas de origen clínico, lo que sugiere que la capacidad de

formar biofilm podría ser una herramienta utilizada por las cepas alimentarias para incrementar su virulencia y perdurar a lo largo de toda la cadena alimentaria de la carne de pollo.

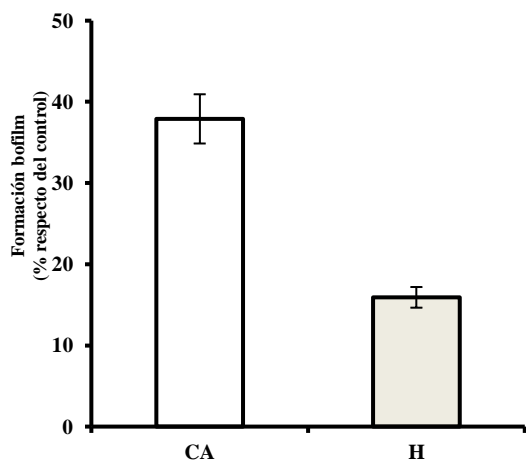


Figura 1: Formación de biofilm en cepas de la cadena alimentaria de la carne de pollo (CA) y de cepas provenientes de casos de campilobacteriosis (H).

Cuando a las cepas estudiadas se le añadió exudados de pollo, se observó un incremento de la formación de biofilm en todas las cepas. Sin embargo, este procedimiento no favoreció la formación de biofilm en aquellas cepas no formadoras. Las cepas de *C. coli* fueron más productoras de biofilm que las cepas de *C. jejuni*. La mayoría de los casos documentados de campilobacteriosis a nivel mundial se deben a la especie *C. jejuni*, que representa aproximadamente el 90% de los aislamientos confirmados, asociándose el 10% restante de los casos a la especie *C. coli* [1]. Sin embargo, en los últimos años se ha reportado en todo el mundo la emergencia de cepas de *C. coli* resistentes a diversos antibióticos, incluyendo macrólidos como la eritromicina, el cual se considera la principal opción terapéutica en el caso de la campilobacteriosis. El hecho de que esta especie presente además atributos de virulencia específicos como es una mayor capacidad de formar biofilm, la convierte en una candidata potencial a ser considerada en el futuro como una

protagonista de mayor relevancia en la infección humana por *Campylobacter*. Al comparar la capacidad de formar biofilm de ocho cepas de *C. jejuni* aisladas de dos lugares diferentes de la cadena alimentaria de la carne de pollo, jaulas y máquinas desplumadoras, antes y después de su higienización por parte de los operarios, se observó que las cuatro cepas aisladas de superficies limpias fueron capaces de producir más biofilm que las cuatro cepas aisladas de superficies sucias, lo que evidencia que la producción de biofilm podría contribuir a la resistencia de este patógeno a los protocolos de higienización, y por tanto ser una estrategia relevante en la prevalencia de *Campylobacter* en la cadena alimentaria de la carne de pollo. Finalmente, la producción de biofilm aumentó la resistencia de las cepas a desinfectantes como el hipoclorito sódico y a antimicrobianos naturales, como es el caso de un extracto de semilla de uva.

Conclusiones

La formación de biofilm puede ser una estrategia de supervivencia de *Campylobacter* en la cadena alimentaria y aumentar su resistencia a desinfectantes y otros compuestos antimicrobianos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado a través de los proyectos AGL 2013-47694-R y AGL2017-89566-R del CSIC.

REFERENCIAS

- [1] Ganan, M., Silván, J.M., Carrascosa, A.V., Martínez-Rodríguez, A.J. *Food Control*, **2012**, *24*, 6-14.
- [2] EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). *EFSA J.*, **2017**, *15*, 4694, 212.
- [3] Reeser, R. J., Medler, R. T., Billington, S. J., Jost, B. H., Joens, L. A. *Appl. Environ. Microbiol.*, **2007**, *73*, 1908-1913.
- [4] Silvan, J.M., Mingo, E., Hidalgo, M., de Pascual-Teresa, S., Carrascosa, A.V., and Martínez-Rodríguez, A.J. *Food Control*, **2013**, *29*, 25-31.