

¿Pueden ser los bacteriófagos una medida de control frente a *Salmonella* en avicultura? Resultados preliminares.

S. Sevilla-Navarro^{1*}, V. Cortés¹, C. García¹, C. Marín², P. Catalá-Gregori¹

¹Centro de Calidad Avícola y Alimentación Animal de la Comunidad Valenciana (CECAV), C/ Nules 16, 12539 Alquerías del Niño Perdido, Castellón, Spain.

²Instituto de Ciencias Biomédicas. Departamento de Producción Animal, Sanidad Animal y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad CEU-Cardenal Herrera, C/Tirant Lo Blanc 7, 46115 Alfara del Patriarca, Valencia, Spain.

*s.sevilla@cecav.es

INTRODUCCIÓN

Salmonella spp. es uno de los principales patógenos causantes de toxiinfecciones en la Unión Europea. Los últimos datos publicados por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria recogen que ha sido la responsable de **94.625** casos de salmonelosis, siendo **S. Enteritidis** y **S. Typhimurium** los principales serotipos responsables de estas toxiinfecciones ⁽¹⁾.

Numerosos estudios han puesto en evidencia que medidas de control como la limpieza y desinfección, la vacunación o la bioseguridad, disminuyen la presencia de *Salmonella* en los lotes de aves, pero no la eliminan completamente ^(2,3).

Debido a la repercusión que tiene esta bacteria en salud pública, diferentes medidas de bioseguridad y profilácticas se han implementado con la finalidad de reducir la presencia de la bacteria hasta niveles aceptables por la legislación.

En los últimos años están emergiendo nuevas estrategias de control, como es el empleo de **bacteriófagos** ⁽⁴⁾. Estudios preliminares indican que podrían ser una nueva herramienta de control en avicultura ⁽⁵⁾.

OBJETIVOS

El **objetivo** de este estudio fue **evaluar el efecto**, *in vitro*, de un "cocktail" comercial de **bacteriófagos**, frente a 3 cepas diferentes de **S. Enteritidis** procedentes de granjas de gallinas ponedoras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las cepas empleadas fueron previamente aisladas según la **ISO 6579:2002** (recomendaciones anexo D). Tras el aislamiento, se tomó una colonia aislada de cada una de las cepas (SE32, SE33 y SE36) y se realizaron diluciones seriadas en agua de peptona tamponada al 2,5% (BPW, Oxoid Madrid, España) hasta alcanzar la concentración deseada de 10^5 ufc/mL.

A continuación, 100µL de cada uno de los inóculos se sembraron en tres puntos equidistantes en placas de Rappaport Vassiliadis semi-sólido modificado (MSRV, bioMérieux, Barcelona, España) y se enfrentaron a 100µL del producto comercial de bacteriófagos a 10^7 ufp/mL. A continuación, las placas se incubaron a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24-48 horas y se evaluó la inhibición del crecimiento de las colonias. Para poder comparar el efecto del bacteriófago sobre la cepa, se empleó un grupo control para cada cepa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

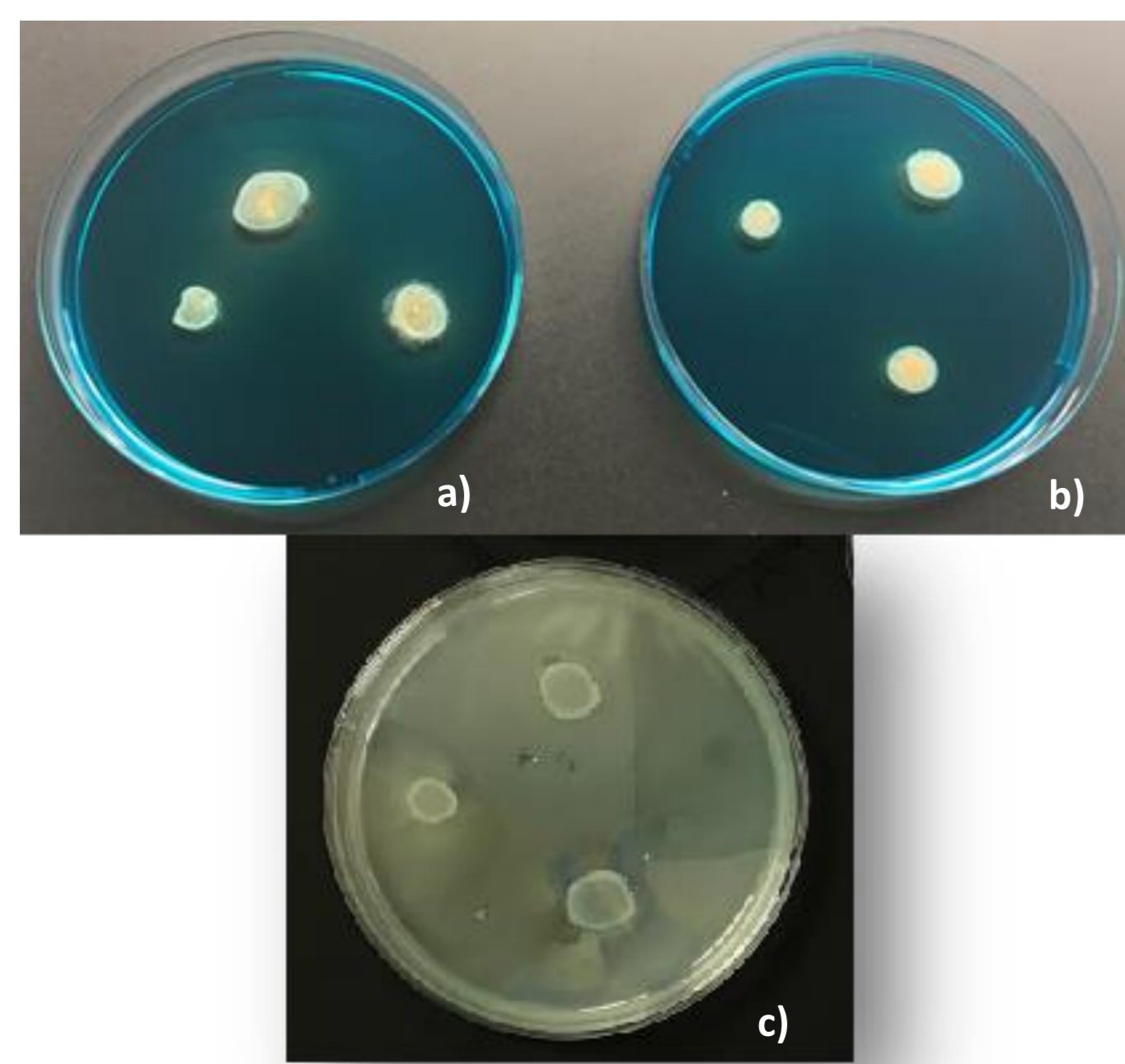


Tabla 1. Resultados obtenidos tras las 24/48 h de aplicación.

Cepa	Control		Cocktail comercial BF	
	24h	48h	24h	48h
SE32	+	+	-	-
SE33	+	+	-	-
SE36	+	+	+	+

+: crecimiento bacteriano; -: no crecimiento bacteriano; h: horas; SE32, SE33 y SE36: cepas de *S. Enteritidis*; BF: bacteriófagos.

Figura 1. Efecto del "cocktail" de bacteriófagos sobre distintas cepas *S. Enteritidis* tras las 48 horas de su aplicación en placas de MSRV. (a) Inhibición del crecimiento bacteriano en la cepa SE32. (b) Inhibición del crecimiento bacteriano en la cepa SE33. (c) Crecimiento bacteriano de la cepa SE36.

❖ Tras las primeras 24h de incubación el crecimiento bacteriano de las cepas **SE32** y **SE33** se **inhibió completamente**. Sin embargo, la cepa **SE36** **no fue inhibida** por los bacteriófagos. Este resultado se mantuvo tras las 48h de incubación (Figura 1) (Tabla 1).

❖ La inhibición del crecimiento de 2 de las 3 cepas sugiere que los bacteriófagos son una **herramienta prometedora** de aplicación a nivel de campo para luchar contra la bacteria.

❖ **1** de las cepas no fue inhibida por los **bacteriófagos**. Quizá esta última cepa fuera resistente frente al **bacteriófago** comercial, sugiriendo que esta estaba fuera del espectro de acción del "cocktail" comercial ensayado.

❖ Estudios han puesto en evidencia la importancia de controlar las mutaciones o cambios del genoma bacteriano, ya que puede afectar al comportamiento lítico del bacteriófago frente a un mismo serotipo de ***Salmonella Enteritidis*** ⁽⁶⁾.

CONCLUSIÓN

Los resultados de este trabajo ponen de manifiesto que se deben seguir realizando estudios tanto *in vitro* como *in vivo* para poder **desarrollar nuevos "cocktails"** de **bacteriófagos** con mayor espectro de acción y adaptados a la casuística de cada una de las explotaciones.

La fagoterapia puede constituir una nueva y prometedora herramienta para el control de *Salmonella* en avicultura.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a CECAV/ASAV y a la Universidad Cardenal Herrera-CEU (INDI16/20) por la financiación de este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- ⁽¹⁾ EFSA (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). (2016). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2015. EFSA Journal; 14(12).
- ⁽²⁾ CARDINALE, E., TALL, F., GUÉYE, EF., CISSE, M. and SALVAT, G. (2004). Risk factor for *Salmonella enterica* subsp. enterica infection in senegalese broiler-chicken flocks. *Preventive Veterinary Medicine* 63: 151-161.
- ⁽³⁾ MARIN C., BALASCH S., VEGA S. and LAINEZ, M. (2011). Sources of *Salmonella* contamination during broiler production in Eastern Spain. *Preventive Veterinary Medicine* 138(1): 39-45.
- ⁽⁴⁾ GARCÍA, P., MARTÍNEZ, B., OBESO, J.M. and RODRÍGUEZ, A. (2008). Bacteriophages and their application in food safety. *Letters in applied microbiology* 47(6): 479-485.
- ⁽⁵⁾ AHMADI, M., KARIMI TORSHIZI, MA., RAHIMI, S. and DENNEHY JJ. (2016). Prophylactic Bacteriophage Administration More Effective than Post-infection Administration in Reducing *Salmonella enterica* serovar Enteritidis Shedding in Quail. *Frontiers in microbiology* 9: 7: 1253.
- ⁽⁶⁾ SILLANKORVA S., PLETENEVA, E., SHABUROVA, O., SANTOS, S., CARVALHO, C., AZEREDO, J. and KRYLOV, V. (2009). *Salmonella* Enteritidis bacteriophage candidates for phage therapy of poultry. *Journal of applied Microbiology*, 108(4): 1176-86.