

# Efecto inhibitorio sobre *Campylobacter* de dos compuestos ricos en polifenoles

P. VAZQUEZ<sup>1\*</sup>, C. MILLÁN<sup>1</sup>, J. SÁNCHEZ<sup>1</sup> y F.J. GARCÍA-PEÑA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Imasde Agroalimentaria, S.L., Madrid; <sup>2</sup>Laboratorio de Sanidad Animal de Algete, MAGRAMA, Madrid, España.

\*E-mail: [pvazquez@e-imasde.com](mailto:pvazquez@e-imasde.com)

---

Se evaluó la capacidad inhibitoria *in vitro* de dos concentrados en polifenoles (A y B) frente a tres cepas de *Campylobacter jejuni* y tres cepas de *Campylobacter coli* aisladas de ciegos de pollo. El concentrado A contiene 9,0 mg/g ácidos benzoicos, 0,2 mg/g ácidos hidroxicinámicos y 13,8 mg/g flavanoles, mientras que el concentrado B contiene 6,8 mg/g ácidos benzoicos, 0,8 mg/g ácido hidroxicinámicos y 63,2 mg/g flavanoles. Se examinaron cuatro concentraciones de cada producto mediante la prueba de difusión en agar, comparándose los halos de inhibición con los obtenidos frente a discos de ciprofloxacina (5 µg/ml) y de eritromicina (5 y 15 µg/ml). Las cepas se sembraron en agar Mueller-Hinton suplementado con sangre de caballo lacada y *Campylobacter* Growth Supplement (FBP), y se incubaron a 41,5°C durante 48 h en atmósfera de microaerofilia. Las diluciones más altas de ambos concentrados (12,5 y 25 mg/ml) apenas tuvieron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las cepas examinadas. Sin embargo, las diluciones con una concentración de 125 y 250 mg/ml mostraron claros halos de inhibición de crecimiento, comparables a los producidos por los antibióticos control. Se observaron diferencias entre ambos productos, observándose un mayor efecto inhibitorio del crecimiento de ambas especies de *Campylobacter* con el concentrado A que con el concentrado B. Se ha demostrado que los productos ricos en polifenoles evaluados tienen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Campylobacter in vitro*, aunque las concentraciones necesarias para ello son bastante elevadas. El producto más eficaz fue el concentrado A, lo cual podría indicar que la familia de ácidos benzoicos puede tener un mayor poder de inhibición que los flavanoles y ácidos hidroxicinámicos.

---

**Palabras clave:** *Campylobacter*; inhibición *in vitro*; polifenoles

---

The *in vitro* inhibitory capacity of two products rich in polyphenols (products A and B) was evaluated against three strains of *Campylobacter jejuni* and three strains of *Campylobacter coli* isolated from chicken ceca. Product A contains, by group, 9.0 mg/g of benzoic acids, 0.2 mg/g of hydroxycinnamic acids and 13.8 mg/g flavanols. Product B contains 6.8 mg/g benzoic acids, 0.8 mg/g hydroxycinnamic acids and 63.2 mg/g flavanols. Four concentrations of each product were assayed by the agar diffusion test, and the inhibition halos were compared to disks of ciprofloxacin (5 µg/ml) and erythromycin (5 and 15 µg/ml). Strains were plated in Mueller-Hinton agar supplemented with laked horse blood and *Campylobacter* Growth Supplement (FBP), and were incubated at 41.5°C for 48 h in microaerophilic conditions. Higher dilutions of both products (12.5 and 25 mg/ml) had a very low or even non inhibitory effect on *Campylobacter* strain growth. However, dilutions with higher concentrations of product (125 and 250 mg/ml) shown clear zones of inhibition growth, comparable to those produced by the control antibiotics used. Some differences appeared between the two products, and higher inhibition effect against both *Campylobacter* species was observed with product A. It is concluded that products rich in polyphenols show inhibitory effect on *in vitro* *Campylobacter* growth, although the needed concentration are quite high. The most efficacious compound was product A, which might

**indicate a higher inhibition capacity of the benzoic acids group over the flavanols and hidroxicinamic acids.**

---

**Palabras clave:** *Campylobacter*; *in vitro* inhibition; polyphenols

## Introducción

*Campylobacter spp.* es, hoy en día, una de las principales causas de gastroenteritis de origen alimentario ocasionada en las personas. Desde hace varios años, se sabe que la mayor fuente de infección es la carne de pollo (EFSA, 2014). El principal sitio de colonización de *Campylobacter jejuni* es el tracto gastrointestinal, y más concretamente los ciegos (Shane, 1992), por lo que una vez que *Campylobacter* entra en un lote, se transmite rápidamente de forma horizontal a la mayoría de los animales componentes de la manada (Humphrey et al., 2007). La política que sigue la Unión Europea de reducir al máximo la utilización de antibióticos en animales de granja, abre la puerta a la utilización de sustancias alternativas, normalmente de origen vegetal, para luchar y reducir en la medida de lo posible la contaminación de alimentos de origen animal.

Productos naturales como los polifenoles han demostrado tener ciertos efectos antibacterianos *in vitro* (Gañan et al., 2009, Anderson et al., 2012, Redondo et al., 2014). Sin embargo, existen una gran variedad de polifenoles, según sean condensados e hidrolizables, y una gran variedad de presentaciones, de forma que la concentración que muestra efecto bacteriostático o bactericida es variable. Por este motivo, se planteó un experimento donde se trataba de ver cuál era la mínima concentración inhibitoria de dos productos ricos en polifenoles sobre el crecimiento de tres cepas de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* *in vitro*.

## Materiales y métodos

Se utilizaron tres cepas de *Campylobacter jejuni* y tres cepas de *Campylobacter coli* aisladas de ciegos de pollo. Se ensayaron dos concentrados diferentes ricos en compuestos polifenólicos: concentrado A con una composición de 9,0 mg/g ácidos benzoicos, 0,2 mg/g ácidos hidroxicinámicos y 13,8 mg/g flavanoles, y concentrado B, con una composición de 6,8 mg/g ácidos benzoicos, 0,8 mg/g ácido hidroxicinámicos y 63,2 mg/g flavanoles. Se examinaron cuatro concentraciones de cada producto (250, 125, 25 y 12,5 mg/ml de agua esterilizada) mediante la prueba de difusión en agar, comparándose los halos de inhibición con los obtenidos frente a discos de ciprofloxacina (5 µg/ml) y de eritromicina (5 y 15 µg/ml). A continuación se procedió a la realización de los distintos pocillos donde se inocularían 100 µl de las distintas diluciones de productos preparadas. Una vez preparadas las placas de agar Mueller-Hinton suplementado con sangre de caballo lacada y *Campylobacter* Growth Supplement (FBP), se sembraron las cepas de *C. jejuni* (11039, 10810 y 10385) y de *C. coli* (4326, 4332 y 10131). En cada pocillo se inoculó 100 µl de cada una de las cuatro diluciones (de mayor a menor dilución de abajo hacia arriba) preparadas de cada producto (4 de concentrado A a la derecha y 4 de concentrado B a la izquierda). En la línea central de cada placa se ubicaron los botones con antibiótico, ciprofloxacina (5 µg/ml) en el centro, eritromicina (5 µg/ml) arriba y eritromicina (15 µg/ml) abajo. Así preparadas las placas se incubaron a 41,5°C durante 48 h en atmósfera de microaerofilia. Posteriormente, se tomaron muestras de las colonias que crecieron en las placas y se corroboró al microscopio que eran *Campylobacter* y que estaban vivos.

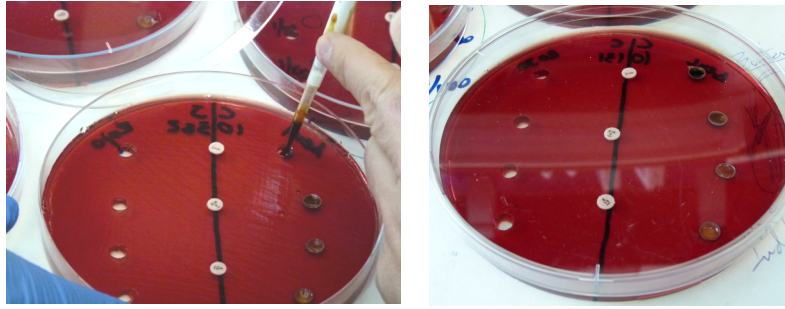


Figura 1. Preparación de las placas

## Resultados y discusión

Los dos concentrados fenólicos ensayados difundieron correctamente a través del agar Mueller-Hinton, hecho que se observa en el halo de color oscuro formado alrededor de los pocillos (Figura 2). Las diluciones más altas de ambos concentrados (12,5 y 25 mg/ml) apenas tuvieron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las cepas examinadas. Sin embargo, las diluciones con una concentración de 125 y 250 mg/ml mostraron claros halos de inhibición de crecimiento, comparables a los producidos por los antibióticos control. Se observaron diferencias entre ambos productos, observándose un mayor efecto inhibitorio del crecimiento de ambas especies de *Campylobacter* con el concentrado A que con el concentrado B (Figuras 3 y 4).

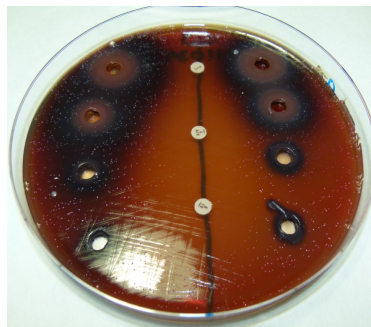


Figura 2. Difusión de los concentrados A y B

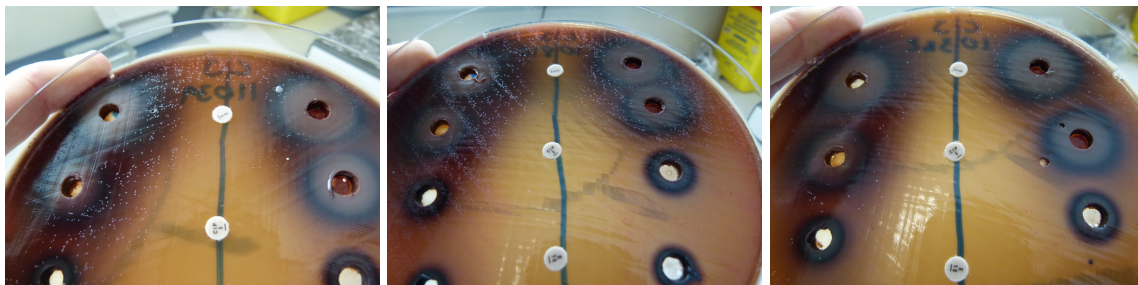


Figura 3. Efecto inhibitorio de los concentrados A (derecha) y B (izquierda) diluidos a concentraciones de 250 mg/ml (parte superior) y 125 mg/ml (inmediatamente debajo) sobre *Campylobacter jejuni* (cepas 11039, 10810 y 10385).

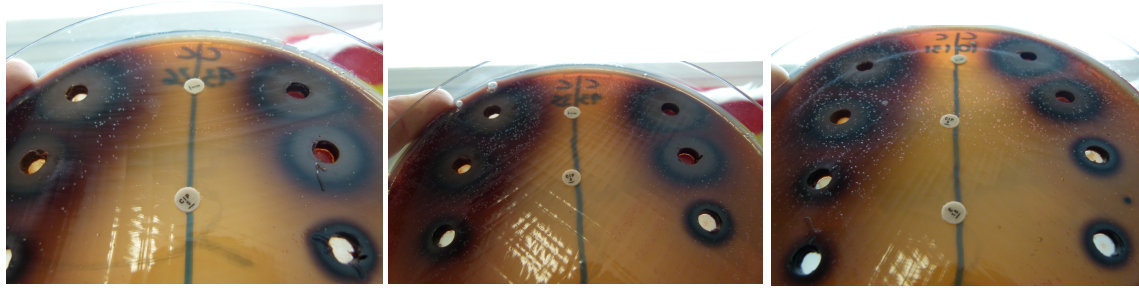


Figura 4. Efecto inhibitorio de los concentrados A (derecha) y B (izquierda) diluidos a concentraciones de 250 mg/ml (parte superior) y 125 mg/ml (inmediatamente debajo) sobre *Campylobacter coli* (cepas 4326, 4332 y 10131).

## Conclusiones

De los resultados de este estudio *in vitro*, podemos concluir que los productos ricos en polifenoles evaluados tienen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento *in vitro* de *Campylobacter*, aunque las concentraciones necesarias para ello son bastante elevadas. El producto más eficaz fue el concentrado A, lo cual podría indicar que la familia de ácidos benzoicos puede tener un mayor poder de inhibición que los flavanoles y ácidos hidroxicinámicos.

## Referencias

- ANDERSON, R.C., VODOVNIK, M., MIN, B.R., PINCHAK, W.E., KRUEGER, N.A., HARVEY, R. B. (2012). Bactericidal effect of hydrolysable and condensed tannin extracts on *Campylobacter jejuni* in vitro. *Folia Microbiologica* **57**: 253–258.
- EFSA (2014). *Campylobacter jejuni*: a bacterial paradox. *EFSA Journal* **12**(2):3547
- GANAN, M., CARRASCOSA, A. V., & MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A. J. (2009). Antimicrobial activity of phenolic compounds of wine against *Campylobacter jejuni*. *Food Control* **20**, 739-742.
- HUMPHREY, T., O'BRIEN, S., MADSEN, M. (2007). Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective. *International Journal of Food Microbiology* **117**: 237–257.
- REDONDO, L. M., CHACANA, P. A., DOMINGUEZ, J. E., FERNANDEZ M. E., 2014. Perspectives in the use of tannins as alternative to antimicrobial growth promoter factors in poultry. *Frontiers in Microbiology* **5**, 118: 1-7
- SHANE, S.M. (1992). The Significance of *Campylobacter jejuni* Infection in Poultry – a Review. *Avian Pathology* **21**: 189–213.