

Impact of mutagenesis and lateral gene transfer processes in bacterial susceptibility to phage in food biocontrol and phage therapy

JÚLIA LÓPEZ-PÉREZ¹, JENNIFER OTERO^{1,2}, MIQUEL SÁNCHEZ-OSUNA¹, IVAN ERILL^{3,4}, PILAR CORTÉS^{1*}, Y MONTSERRAT LLAGOSTERA^{1*}

¹Departament de Genètica i de Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, Spain.

²SK8 Biotech, Parc Científic de Barcelona, Barcelona, Spain.

³Department of Biological Sciences, University of Maryland, Baltimore, MD, United States.

⁴Departament Enginyeria de la Informació i de les Comunicacions, Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, Spain.

✉ mariapilar.cortes@uab.cat | montserrat.llagostera@uab.cat

La resistencia bacteriana a los antibióticos supone el mayor problema sanitario del siglo XXI y urge desarrollar nuevas estrategias para abordarlo de forma global desde una perspectiva One Health. La terapia fágica ha ido ganando especial relevancia ante esta preocupante realidad. No obstante, el uso de fagos en el control de patógenos puede generar la emergencia de variantes bacterianas resistentes a ellos al igual a lo que ha ocurrido con la emergencia de resistencia a antibióticos.

En el presente trabajo se ha estudiado la emergencia de resistencias y de mecanismos de defensa frente a un cóctel de tres bacteriófagos del patógeno *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Para ello, se han aislado y estudiado, mediante métodos de microbiología convencional, molecular y de bioinformática, variantes de *Salmonella* con susceptibilidad reducida a los fagos en cultivos de laboratorio de *Salmonella* infectados con fagos (LAB), en lonchas de jamón cocido contaminadas con *Salmonella* y tratadas con fagos, como modelo de seguridad alimentaria (FOOD), y en terapia fágica oral en pollos de engorde contaminados con *Salmonella* (TF). Los resultados obtenidos evidencian

que la frecuencia de aislamiento de dichas variantes en LAB es mucho mayor que la encontrada en FOOD y en TF. Así, en LAB, el 92% de las variantes de *Salmonella* perdieron la susceptibilidad a los tres fagos 24 h después de la infección por fagos. En FOOD, un 4,3% de variantes fueron no susceptibles a al menos dos de los tres fagos después de 7 días a 4°C tras el tratamiento con fagos. En PT, el 9,7% y 3,3% de las variantes obtenidas del ciego de pollos de engorde no tratados y tratados, respectivamente, mostraron algún mecanismo de interferencia con el ciclo multiplicativo de alguno de los fagos.

Se ha demostrado que las causas de la emergencia de estas variantes son distintas en función del escenario. Así, en LAB y FOOD estas variantes son resistentes a fagos por mutaciones en los genes *rfc* y *rfaJ* implicados en la síntesis de los receptores fágicos. Sin embargo, no se han detectado variantes resistentes a fagos en TF, pero sí variantes que deben contener algún mecanismo de interferencia con el ciclo multiplicativo de los fagos. Dichos mecanismos deben estar codificados en plásmidos conjugativos presentes en la microbiota intestinal de los pollos. Así, se ha demos-

trado por primera vez que la adquisición de plásmidos por transferencia lateral puede tener mayor relevancia que la mutagenesis en la terapia fágica oral y también se ha constatado que la probabilidad de que ocurran estos eventos no afecta significativamente el éxito del biocontrol de alimentos y de la terapia fágica oral.