

## Uso del modelo *Drosophila melanogaster* para evaluar el potencial de virulencia de aislamientos de *Salmonella enterica* prevalentes en alimentos

María Isabel López-Rivera<sup>a</sup>, Gerardo M. Nava-Morales<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma de Querétaro. Departamento de Investigación y Posgrado (DIPA).

\*gerardomnava@gmail.com

**Palabras clave:** *Salmonella*, *Drosophila melanogaster*, modelo de infección, virulencia

### Introducción

*Salmonella enterica* es un patógeno de importancia mundial ya que genera más de 94 millones de casos de gastroenteritis y 15 mil muertes al año [1]. En México, de acuerdo al Boletín Epidemiológico Nacional se reportaron más de 114 mil casos de salmonelosis para 2019 [2]. Los serotipos más reportados que afectan a humanos son Typhimurium y Enteritidis [4] y se ha estimado que la principal fuente de infección son los productos cárnicos, entre ellos la carne de pollo [3]. A nivel mundial se han generado sistemas para el monitoreo y control de este patógeno y en el laboratorio de Microbiología Molecular se ha implementado un programa de vigilancia de *Salmonella* en puntos de venta de carne de pollo en Querétaro. Sin embargo, los estudios de prevalencia no son suficientes, para conocer el impacto de este patógeno en la salud humana, ya que se ha reportado que no existe correlación entre las prevalencias de *Salmonella* en carne de pollo y los casos de salmonelosis en humanos [5]. En este sentido, es importante realizar estudios sistemáticos para evaluar el potencial de virulencia que poseen los aislamientos de *Salmonella* prevalentes en carne de pollo mediante desafíos de interacción patógeno-hospedador [6]. Para tal efecto, pueden emplearse organismos modelo como *Drosophila melanogaster*, que ofrece numerosas ventajas, por ejemplo, presenta periodos de vida cortos lo que permite ensayos de varias generaciones [7], además presenta homología en la respuesta inmunitaria innata conservada en mamíferos [8]. El uso de *D. melanogaster* en desafíos de infección oral permite evaluar el potencial de virulencia del patógeno ya que este último se enfrenta a barreras de defensa del hospedero para lograr la colonización e infección [9]. El objetivo de este trabajo es establecer un modelo de infección oral como herramienta que permita estimar el nivel de riesgo asociado a los aislamientos recuperados de matrices cárnicas.

### Metodología

Se utilizaron las cepas Oregon R y Yellow White de *Drosophila melanogaster*, mismas que fueron donadas por el Laboratorio de Neurociencias de la UNAM, campus Juriquilla. El cultivo estándar de los ejemplares se realizó de acuerdo a la metodología de Díaz-Peña, García-Arredondo, & Riesgo-Escovar [10]. Se seleccionaron dos formulaciones de alimento una rica en levadura (2%) [11] y una variante sin levadura (0%) [12] para evaluar el efecto de este componente en el desafío oral. Se seleccionaron dos cepas de *S. enterica* reportadas con morbilidad en humanos, ATCC (S. Typhimurium 23595 y S. Enteritidis 13076) [13]. Las cepas fueron activadas en caldo Luria Bertani y lavadas de acuerdo a la metodología de Kutzer y colaboradores (2019) [12]. Se realizó el ajuste bacteriano a una concentración conocida y prepararon los inóculos para el desafío oral de acuerdo a la metodología de Stevanovic et al, (2015) [14]. Se seleccionaron dos grupos de 160 organismos (hembras y machos vírgenes de las estirpes Oregon R y Yellow White bajo régimen de alimentación con y sin levadura.

La infección oral se realizó de acuerdo a la metodología reportada por Hori y colaboradores [9]. Se empleó un colorante azul brillante al 1% como indicador del consumo de inóculo [15].

### Resultados y discusión

Se evaluó el consumo de alimento utilizando dietas suplementadas con levadura (2% g/g) y sin levadura (0% g/g) ya que algunos estudios sugieren que se requiere un régimen de alimentación que contenga levadura para promover el consumo de bacterias [8]. En general, no se observaron diferencias ( $p > 0.05$ ) en el consumo de inóculo entre los grupos de estudio. El 77% de *D. melanogaster* consumió cualquier tipo de inóculo en las dos primeras horas del desafío oral. Además, se encontró la adición de bacterias no tuvo un efecto ( $p > 0.05$ ) sobre el consumo de inóculo. Interesantemente, el consumo de inóculo fue mayor en la estirpe Yellow White (81.85%) en comparación con la estirpe Oregon R (72.22 %). Estos resultados sugieren que las dietas sin levadura y la inoculación con bacterias es viable para el modelo de infección oral con patógenos en *D. melanogaster* [16].

### Conclusiones

Se ha podido estandarizar la vía de inoculación de *S. enterica* en las estirpes Yellow White y Oregon de *D. melanogaster*. Además, se ha demostrado que el régimen alimenticio no influye en el consumo de inóculo por lo que el régimen alimenticio sin levadura resulta viable. Finalmente, se ha evidenciado que *D. melanogaster* no rechaza el consumo de *S. enterica*, lo que confiere una ventaja más a este organismo como sistema modelo en los estudios de interacción patógeno-hospedador.

### Referencias

- Jajere, S. M. **2019**. Veterinary world, 12 (4), 504.
- Boletín Epidemiológico Nacional. **2020**.
- Silué, N., Malo, D. **2018**. Mammalian Genome, 29 (7–8), 558–576.
- Kang, E., Crouse, A., Chevallier, L., Pontier, S. M., Alzahrani, A., CDC. Centers for Diseases control and Prevention. Retrieved from <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>. **2019**.
- Regalado I. D. et al. **2020**, *Foods*, 9, 264
- Cosby D.E. et al., **2015**. *Appl. Poult. Res.* 24
- Verma S. et al., **2015**. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Volume 67, Number 7*
- Keeseey I.W. et al., **2017**. *Nature Communications*8: 265
- Hori A. et al., **2018**. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 495
- Díaz-Peña, L. F., García-Arredondo, A., & Riesgo-Escovar, J. R. **2019**. Journal of pharmacological and toxicological methods, 96, 56-60
- Lemaitre, B., & Hoffmann, J. **2007**. Annual Review of Immunology, 25(1), 697–743.
- Kutzer, M. A., Kurtz, J., & Armitage, S. A. **2019**. Journal of Animal Ecology, 88(4), 566-578
- Litvak, Y., et al., **2019**. Cell host & microbe, 25(1), 128-139
- Stevanovic, A. L., Arnold, P. A., & Johnson, K. N. **2015**. Appl. Environ. Microbiol., 81(23), 8215-8223.
- Shell, B. C., et al **2018**. Scientific reports, 8(1), 1-13.