



La alteración de la partición del plásmido de virulencia de *Salmonella* Enteritidis provoca la activación de respuestas de estrés e inhibe el proceso de formación de biofilm

Cristina Latasa¹, Begoña García¹, Cristina Solano¹, Jaione Valle¹, José R. Penadés³, Josep Casades², Iñigo Lasa¹.

¹Laboratorio de Biofilms Microbianos. Instituto de Agrobiotecnología, Universidad Pública de Navarra-CSIC-Gobierno de Navarra. Pamplona.

²Departamento de Genética, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Sevilla.

³Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias y Universidad Cardenal Herrera-CEU, 46113 Moncada, Valencia.

Salmonella Enteritidis y Typhimurium son actualmente dos de las especies bacterianas más comúnmente asociadas con brotes de toxiinfección de origen alimentario. Un factor importante asociado a esta problemática es la capacidad de estas serovariedades para sobrevivir en el medio formando comunidades que crecen embebidas en una matriz extracelular. Pese a que la composición de esta matriz varía en función de las condiciones ambientales, tres de los componentes del biofilm formado en el medio LB a temperatura ambiente han sido bastante bien caracterizados. Se trata de las fimbrias tipo curli, el exopolisacárido celulosa y la proteína de superficie BapA. Con el objetivo de encontrar nuevos elementos implicados en la formación de biofilm de *Salmonella*, estamos analizando la implicación de los plásmidos de virulencia de *Salmonella* en el proceso de formación de biofilm.

En primer lugar se procedió a la curación de los plásmidos de virulencia de varias cepas de *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*, de naturaleza conjugativa y no conjugativa respectivamente. Para ello se deletó el operón *parAB*, implicado en el proceso de partición y cuya mutación causa una desestabilización del plásmido y por tanto una segregación aleatoria del mismo que posibilita la obtención de clones libres de plásmido (Tinge and Curtis III, 1990). El análisis fenotípico de las cepas resultantes demostró que el plásmido de virulencia, tanto en el caso de *S. Typhimurium* como de *S. Enteritidis*, no está implicado en el proceso de formación de biofilm. Sin embargo, la delección del módulo de partición resultó tener un efecto negativo sobre el comportamiento multicelular de esta bacteria, causando la incapacidad para producir el biofilm en la interfase del medio LB y una alteración de los fenotipos en placas de agar suplementadas con calcofluor y rojo congo. Con el objetivo de averiguar las causas por las cuales la alteración en el proceso de partición del plásmido provoca la inhibición de la formación del biofilm, realizamos un análisis transcriptómico mediante la hibridación de microarrays. Los resultados obtenidos mostraron que la mutación de los genes *parAB* provoca una inducción del sistema de dos componentes CpxAR, indicativa de la existencia de perturbaciones a nivel de membrana, así como la activación de la respuesta SOS. Además, hemos encontrado que la delección de *yt12*, una ORF localizada delante del operón *parAB* y que se supone contribuye a que la segregación del plásmido de virulencia no se produzca al azar, compensa la capacidad para formar biofilm e inactiva la respuesta SOS y el estrés de membrana. Ensayos posteriores han demostrado que la inducción de respuestas de estrés citoplásmico y extracitoplásmico e inhabilitación para formar biofilm son mecanismos independientes, dependiendo este último de la liberación al sobrenadante de una sustancia inhibidora de naturaleza todavía desconocida.