

**AGUSTIN, María del Rosario (1), TARIFA, María Clara (2,3), BRUGNONI, Lorena I. (1,4)**

1 Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur, INBIOSUR (UNS-CONICET), Bahía Blanca, Argentina. 2 Universidad Nacional de Río Negro. CIT Río Negro. Río Negro, Argentina. 3 Centro de Investigaciones y Transferencia de Río Negro, CIT Río Negro (UNRN- CONICET), Villa Regina, Argentina. 4 Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. [mariadelrosarioagustin@gmail.com](mailto:mariadelrosarioagustin@gmail.com)

Uno de los mayores riesgos para la industria alimentaria es la inclusión de bacterias patógenas, especialmente aquellas responsables de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en biofilms formados por la microbiota residente de las plantas elaboradoras de alimentos. En particular, en industrias jugueras, la asociación que se establece naturalmente entre bacterias y levaduras es de especial interés ya que estas interacciones favorecerían la persistencia de patógenos sobre las superficies de los equipos pudiendo comprometer la calidad e inocuidad final de los productos. Con el fin de evaluar estas relaciones se estudió la interacción de un biofilm preformado de cuatro levaduras (*Candida tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefir* y *Rhodotorula mucilaginosa*) aisladas de equipos de ultrafiltración (UF) y *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* O157:H7. Los ensayos se realizaron sobre membranas de UF de fluoruro de polivinilideno y jugo de manzana clarificado como matriz alimentaria en condiciones estáticas a 25 °C. Para la formación de los biofilms multiespecie, suspensiones ajustadas de las levaduras ( $10^6$  UFC ml<sup>-1</sup>) se mezclaron en partes iguales y se pusieron en contacto con las membranas durante 24 h. Luego, se añadieron las suspensiones bacterianas ( $10^8$  UFC ml<sup>-1</sup>), cultivándose por 24-48 h más. Las muestras se analizaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y recuento en placa en agar Oxford modificado para *L. monocytogenes*, Sulfito Bismuto para *S. enterica*, EMB para *E. coli*, CHROMagar *Candida* para las levaduras. Los resultados se expresaron como Log<sub>10</sub> UFC cm<sup>-2</sup>. En el biofilm multiespecie el recuento celular se mantuvo en un rango de 8,17–8,56 Log<sub>10</sub> UFC cm<sup>-2</sup> para la mezcla de levaduras y en  $7,90 \pm 0,39$  Log<sub>10</sub> UFC cm<sup>-2</sup> para *E. coli*. Por otro lado, *L. monocytogenes* alcanzó un recuento de  $3,09 \pm 0,40$  Log<sub>10</sub> UFC cm<sup>-2</sup> y *S. enterica* de  $7,14 \pm 0,43$  Log<sub>10</sub> UFC cm<sup>-2</sup> después de 48 h de contacto con el biofilm preformado de levaduras. En las imágenes de SEM se observó que *S. enterica* y *E. coli* se distribuyeron sobre la superficie de las levaduras y de la membrana, y en menor medida se encontraron agrupadas; mientras que *L. monocytogenes* formó grandes acúmulos celulares (microcolonias) adheridos principalmente a las superficies de las levaduras y en menor grado a la membrana de UF. Además, para *L. monocytogenes* y *S. enterica* se observó la presencia de apéndices filamentosos interactuando en la adhesión. Las levaduras formaron una red tridimensional de pseudohifas, blastoporas y células encadenadas, las cuales colonizaron la superficie de la membrana de UF, siendo estas estructuras soportes para el anclaje y adhesión de las bacterias patógenas. Se concluye que la microbiota residente interacciona con las tres bacterias patógenas estudiadas, las cuales encontraron sitios de adhesión en las estructuras levaduriformes y en la membrana de UF. Estas interacciones podrían desempeñar un rol fundamental en la supervivencia de los patógenos en ambientes industriales.

Palabras clave: Biofilms multiespecie, *Candida spp.*, Bacterias patógenas, Membranas de ultrafiltración.