

## Efecto del Tween 80 sobre cepas de *H. pylori*

Gonzalez Magallanes, B.<sup>1</sup>, Avilés Jiménez, F.<sup>2</sup>, y Hernández Sánchez, H.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología de alimentos, Departamento de Ingeniería Bioquímica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. Av. Wilfrido Massieu 399, Nueva Industrial Vallejo, Gustavo A. Madero, 07738, Ciudad de México, México. Tel: 5567664594, 5557296000 ext. 57866. <sup>2</sup>Hospital de pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Av. Cuauhtémoc 330, Doctores, Cuauhtémoc, 06720, Ciudad de México, México. Tel. 56276900 ext. 22408. Correo: [bgm-1621@hotmail.com](mailto:bgm-1621@hotmail.com)

**Palabras clave:** *Helicobacter pylori*, Tween 80, inhibición

### Introducción

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es una bacteria Gram negativa en forma de espiral que afecta hasta al 50% de la población mundial, con una prevalencia más alta en los países en desarrollo. *H. pylori* es la causa más importante de gastritis crónica o atrófica, úlcera péptica, linfoma gástrico y carcinoma gástrico; sin embargo, estas complicaciones se observan con menos frecuencia en niños y adolescentes en comparación con los adultos. La infección por *H. pylori* generalmente se adquiere durante la infancia y persiste en ausencia de tratamiento. La transmisión de *H. pylori* puede ocurrir por las vías fecal-oral, gástrica-oral, oral-oral o sexual. Un factor de riesgo importante para una mayor prevalencia de infección es el nivel socioeconómico más bajo. La prevalencia de *H. pylori* varía en todo el mundo, y los Estados Unidos tienen una prevalencia del 5% en niños menores de 10 años. Las poblaciones hispanas y afroamericanas tienen una mayor prevalencia en comparación con las estadounidenses blancas [1].

Actualmente, el principal desafío para combatir la infección por *H. pylori* es la resistencia a los antibióticos, que influye en la eficacia de los regímenes de erradicación. Las tasas de resistencia primaria y secundaria a claritromicina, metronidazol y levofloxacina excedieron el 15% (niveles alarmantes) en todas las regiones de la Organización Mundial de la Salud (OMS). En 2017, *H. pylori* resistente a la claritromicina se definió como una bacteria de alta prioridad en la lista de prioridades de la OMS de bacterias resistentes a los antibióticos. La terapia triple tradicional basada en inhibidores de la bomba de protones (IBP) (IBP más dos antibióticos) se ha utilizado para erradicar *H. pylori* durante más de 20 años. Sin embargo, la terapia triple basada en IBP proporciona un bajo éxito del tratamiento, que se define como inaceptable según el boletín de calificaciones utilizado para calificar la terapia contra *H. pylori* [2].

Además del uso de antibióticos, existen pruebas de otros agentes capaces de inhibir el crecimiento de *H. pylori*. En el año 2012, Figura y colaboradores comprobaron la actividad bactericida de polisorbato (Tween) 80 y el efecto sinérgico de la asociación con antibióticos, sobre 22 cepas de *H. pylori*. Los resultados mostraron que el polisorbato 80 es bactericida para *H. pylori* en un rango de concentraciones bactericidas mínimas (MBC por sus siglas en inglés) de 2.6 a 32 µg/mL, donde la MBC50 fue de 16 µg/mL, concentraciones que podrían lograrse fácilmente en el estómago. Además, los experimentos en animales han establecido que las dosis tóxicas de polisorbato 80 son muy altas: la dosis tóxica equivalente para los seres humanos es >350 gramos al día durante tres días. La mejor demostración de que dicha sustancia es segura y tolerada proviene de la observación de que está presente en la mayoría de los alimentos en Europa y América, donde cada persona ingiere aproximadamente 100 mg de polisorbato 80 en alimentos por día [3].

El polisorbato 80 es un tensioactivo sintético compuesto por ésteres de ácidos grasos de polioxietilensorbitán. La composición de ácidos grasos es principalmente ácido oleico, pero se pueden incluir otros ácidos grasos, como el palmítico o linoleico. Por lo tanto, el polisorbato 80 generalmente está disponible como una mezcla químicamente diversa de diferentes ésteres de ácidos grasos con el ácido oleico que comprende > 58% de la mezcla. Sin embargo, el componente principal del polisorbato 80 es el monooleato de polioxietilen-20-sorbitán, estructuralmente similar a los polietilenglicoles. El polisorbato 80 tiene restos tanto hidrófobos como hidrófilos. Los restos hidrófobos del polisorbato 80 dan como resultado la formación de micelas a concentraciones superiores a la concentración micelar crítica de 0.01%

(peso/volumen) en una solución acuosa sin proteínas. Esta formación de micelas puede jugar un papel crítico en el mecanismo de acción del polisorbato 80 [4].

El polisorbato 80 es de uso común en alimentación y tiene poca aplicación en medicamentos, vacunas y otros. El polisorbato 80 de grado alimenticio ayuda a que los líquidos a base de agua y los ingredientes a base de aceites se mezclen fácilmente. Sus aplicaciones alimentarias comunes son en helados, encurtidos, vitaminas y salsas. En el helado proporciona una textura cremosa, evita la formación de cristales de hielo, resistente a derretirse. Ha sido aprobado como ingrediente seguro por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), así como por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA). Es un ingrediente multifuncional que se puede utilizar de forma segura en los alimentos como emulsionante, antiespumante, agente solubilizante y dispersante, tensioactivo, agente humectante y adyuvante [5].

Los siguientes alimentos pueden contenerlo y con las dosis máximas de uso:

Helado 0.1%

Antiespumante de levadura 4ppm

Encurtidos y encurtidos 500 ppm

Preparaciones vitamínicas, la ingesta máxima de polisorbato 80 por día 175-475 miligramos

Mantecas y aceites comestibles al 1% (con o sin polisorbato 60)

requesón 0.008%

Cobertura de aceite comestible batido 0.4% con/sin monoestearato de sorbitán/polisorbato 60/polisorbato 65

Postres y mezclas de gelatina 0.082%

Salsa barbacoa 0.005%

El objetivo de este estudio fue conocer el efecto que tiene el polisorbato 80 (Tween) a distintas concentraciones, sobre cepas de *H. pylori* en un modelo de difusión en placa por pozos.

## Metodología.

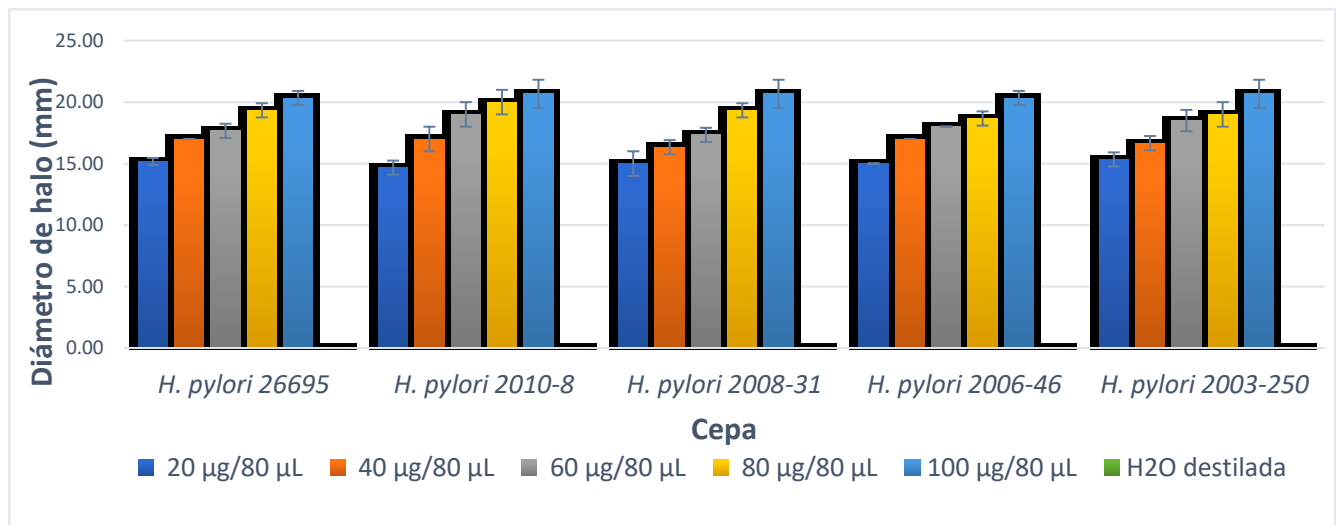
A partir de crioviales almacenados en nitrógeno, se sembraron las cepas de *H. pylori* en placas de agar base sangre con 5% de sangre de cordero desfibrinada estéril. Las placas se incubaron en condiciones de microaerofilia (con 10% de CO<sub>2</sub>) a 37 °C durante 2-3 días. Posterior al tiempo de incubación, se realizó una resiembra, basándose en la escala de McFarland, en donde se tomó como referencia el tubo 0.5. A un tubo que contenía solución salina al 0.85%, se le agregó inóculo de las cepas hasta obtener una turbidez similar y se sembró en las placas por estría masiva, posteriormente se realizaron pozos de 0.85 cm sobre el agar inoculado con las cepas correspondientes de *H. pylori*. A cada uno de los pozos realizados sobre el agar se le agregaron distintas concentraciones de Tween 80 disuelto en agua destilada (20 µg/80µL, 40 µg/80µL, 60 µg/80µL, 80 µg/80µL y 100 µg/80 µL), después las placas se incubaron en condiciones microaerofílicas (con 10% de CO<sub>2</sub>) a 37 °C durante 72 h. Los ensayos se realizaron por triplicado. Se examinó el efecto del Tween 80 observando la formación de halos de inhibición alrededor de los pozos.

## Resultados y discusión.

En la Figura 1 se puede observar el tamaño de los halos de inhibición que se formaron a distintas concentraciones del detergente. Así mismo, en la figura 2, se observa una imagen con los halos que se formaron sobre el agar utilizando la técnica de difusión en agar, donde a cada pozo hecho sobre el agar con la cepa de *H. pylori* correspondiente ya inoculada, se le agregó la muestra.



**Figura 1.** Tamaño del diámetro de los halos de inhibición de *H. pylori* con distintas concentraciones de Tween 80. Se utilizaron las concentraciones marcadas en la figura de Tween 80 para conocer el efecto que tenían sobre cepas de *H. pylori*. Se utilizó agua destilada como control.



**Figura 2.** Formación de halos producidos por distintas concentraciones de Tween 80 sobre cepas de *H. pylori*. En cada uno de los pozos realizados sobre el agar se pusieron distintas concentraciones de Tween 80 a) 20 µg, b) 40 µg, c) 60 µg, d) 80 µg, e) 100 µg y f) agua destilada.

Con base en los resultados obtenidos, Tween 80 es capaz de inhibir el crecimiento de las cepas *H. pylori* 2010-8 y *H. pylori* 2008-31 (gastritis no atrófica), las cepas *H. pylori* 2006-46 y *H. pylori* 2003-250 (cáncer gástrico) y la cepa de referencia *H. pylori* ATCC 700392, utilizadas en este trabajo. El Tween 80 puede aumentar la permeabilidad de las células bacterianas. En un estudio se observó que Tween 80 puede permeabilizar un modelo de membrana más simple que una membrana real bacteriana, habiendo una perturbación membranar, también puede afectar el crecimiento bacteriano a través de sus propiedades como ionóforo, uniendo (y transportando) reversiblemente iones metálicos como  $K^+$ ,  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$ . Los iones toman parte en algunos procesos celulares como señalización y actividad enzimática. Se ha sugerido que Tween 80 puede afectar a bacterias planctónicas y biopelículas a través de múltiples mecanismos. El surfactante puede afectar la disponibilidad de nutrientes de tres maneras: (i) reduciendo el tamaño de las partículas de nutrientes, lo que indica la dispersión de, por ejemplo, agregados de péptidos y una mayor proporción de superficie a volumen, (ii) actuando como una fuente de nutrientes en sí misma y (iii) aumentando la permeabilidad de las membranas [6].

En realidad, pueden ser muchos mecanismos más por los cuales este detergente inhibe el crecimiento bacteriano. Con estos resultados, se comprobó que efectivamente el Tween 80 tiene un efecto de inhibición sobre las cepas de *H. pylori* utilizadas en este proyecto. Se ha demostrado que Tween 80 muestra una actividad bactericida contra *H. pylori* y ejerce un efecto sinérgico con algunos quimioterapéuticos. La principal acción del polisorbato 80 consiste en la alteración de la membrana externa de la bacteria. En un estudio se observó que el Tween 80 puede inhibir la formación de biopelículas de *P. aeruginosa* en una variedad de superficies, incluyendo lentes de contactos, así como la inhibición de formación de biopelículas de otras bacterias Gram positivas y Gram negativas de aislados clínicos. Además, se encontró y caracterizó una mutante de *P. aeruginosa* que era capaz de formar biopelícula en presencia del surfactante, revelándose que la mutante tenía sobre-expresada una lipasa, LipA, la cual puede escindir al Tween 80 [7]. Con base en lo anterior se podría decir que el consumo de alimentos que contengan en su formulación Tween 80 sería potencialmente benéfico en el caso de infecciones de *H. pylori*.

## Conclusión

El Tween 80 utilizado a distintas concentraciones es capaz de inhibir el crecimiento de las cepas de *H. pylori* en un modelo de difusión en placa por pozos.

## Referencias

1. Parikh N. S., Ahlawat R. *Helicobacter Pylori*. [10 agosto 2020]. In: StatPearls [online]. Treasure Island (FL): StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534233/> Consultado: 23 marzo 2021.
2. Hu Y., Zhu Y., Lu N. H. (2020). Recent progress in Helicobacter pylori treatment. *Chin. Med. J.* **133**(3): 335-343.
3. Figura N., Marcolongo R., Cavallo G., Santucci A., Collodel G., Spreafico A., Moretti E. (2012). Polysorbate 80 and *Helicobacter pylori*: A microbiological and ultrastructural study. *BMC Microbiol.* **12**:217.
4. Schwartzberg L. S., Navari R. M. (2018). Safety of Polysorbate 80 in the Oncology Setting. *Adv. Ther.* **35**(6): 754-767.
5. Food Additives (21 abril 2020) What is Tween 80/Polysorbate 80 (E433) in Food? Uses, Safety, Side effects. [online]. <https://foodadditives.net/emulsifiers/polysorbate-80/> Consultado: 15 junio 2021.
6. Nielsen C. K., Kjems J., Mygind T., Snabe T., Meyer R. L. (2016). Effects of tween 80 on growth and biofilm formation in laboratory media. *Front. Microbiol.* **7**(1878): 1-10.
7. Toutain-Kidd C. M., Kadivar S. C., Bramante C. T., Bobin S. A., Zegans M. E. (2009). Polysorbate 80 inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and its cleavage by the secreted lipase LipA. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**(1): 136-145.