

SEM@foro

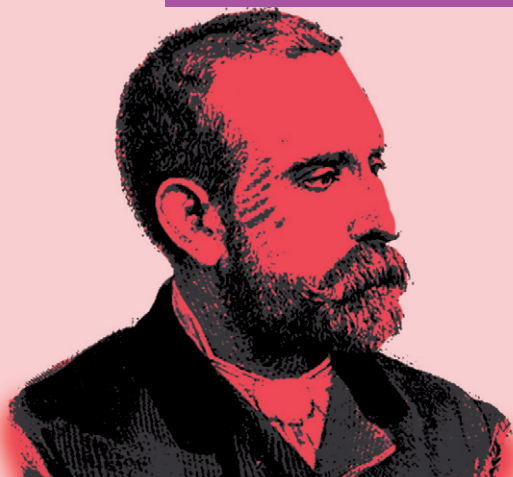
Revista de la Sociedad Española de Microbiología

JUNIO 2013

N.º 55



Especial Biología de los Microorganismos Patógenos



**Sociedades hermanas
Uruguay**

Pág. 16



Jaime Ferrán

Más allá de la Microbiología

Pág. 20

Microbiología sintética

**Artículos de Andrés Moya
y Víctor de Lorenzo**

Pág. 30

Junta Directiva de la SEM

Presidente

Ricardo Guerrero Moreno

Dpto. Microbiología. Facultad de Biología.
Universidad de Barcelona.
Avda. Diagonal, 645. 08028 Barcelona.
rguerrero@iec.cat

Presidente Electro

Antonio Ventosa Ucero

Dpto. Microbiología. Facultad de Farmacia.
Universidad de Sevilla.
C/ Prof. García González, s/n. 41012 Sevilla.
ventosa@us.es

Vice-Presidente

Francisco García del Portillo

Centro Nacional de Biotecnología. CSIC.
C/Darwin, 3. Campus Universidad Autónoma.
28049 Madrid. fgportillo@cnb.csic.es

Secretario

Juan Alfonso Ayala Serrano

Centro Biología Molecular Severo Ochoa. CSIC.
C/ Nicolás Cabrera, 1.
Campus Universidad Autónoma. 28049 Madrid.
jayala@cbm.uam.es

Tesorerera

Irma Marín Palma

Departamento de Biología Molecular
Universidad Autónoma de Madrid
Cantoblanco, 28049 Madrid.
imarín@cbm.uam.es

Editores de publicaciones

International Microbiology

José Berenguer

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.
Departamento de Biología Molecular. Universidad
Autónoma de Madrid. C/ Nicolás Cabrera, 1. Madrid.

SEM@foro

Víctor Jiménez Cid

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad
Complutense. 28040 Madrid. vicjid@farm.ucm.es

NoticiaSEM

Emilia Quesada Arroquia

Departamento de Microbiología.
Facultad de Farmacia. Campus de Cartuja,
18071 Granada.
equesada@ugr.es

Directora de la Colección Española de Cultivos Tipo

Rosa Aznar Novella

Dpto. Microbiología y Ecología.
Facultat de Ciències Biològiques. C/ Dr. Moliner 50
46100 Burjassot, València. rosa.aznar@uv.es

Responsable Cursos de Formación Continua on-line

Diego Alejandro Moreno Gómez

Dpto. de Ingeniería y Ciencia de los Materiales.
ETS Ingenieros Industriales.
Universidad Politécnica de Madrid.
José Gutiérrez Abascal, 2. E-28006 Madrid.

Vocales

M^a José Figueras Salvat

Unitat de Biologia i Microbiologia. Facultat de Medicina i
Ciències de la Salut. Universitat Rovira i Virgili.
C/ Sant Llorenç, 21. E-43201 Reus
mariajose.figueras@urv.cat

Jesús López Romalde

Dpto. Microbiología y Parasitología.
Facultad de Farmacia. 15706 Santiago de Compostela.
(A Coruña). mpromald@usc.es

Emilia Quesada Arroquia

Departamento de Microbiología.
Facultad de Farmacia. Campus de Cartuja,
18071 Granada.
equesada@ugr.es

Joaquín Moreno Casco

Dpto. Biología Aplicada. E.P.S.
Universidad de Almería.
04120 La Cañada de San Urbano. Almería.
jcasco@ual.es

Diego A. Moreno Gómez

Dpto. Ing. CC. Materiales. E.T.S.
Ingenieros Industriales. UPM.
C/ José Gutiérrez Abascal, 2. 28006 Madrid.
diego.moreno@upm.es

David Rodríguez Lázaro

Grupo Tecnología y Seguridad Alimentaria.
ITACyL. Carretera de Burgos, Km.119
47071 Valladolid.
ita-rodla@itacyl.es

Presidentes de Grupos

Biodeterioro y Biodegradación

Asunción de los Ríos Murillo

Instituto de Recursos Naturales.
Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC.
Serrano 115 dpdo. 28006 Madrid.
aríos@ccma.csic.es

Hongos Filamentosos y Levaduras (Micología)

Humberto Martín Brieve

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia.
Universidad Complutense.
28040 Madrid.
humberto@farm.ucm.es

Biología de Microorganismos Patógenos

Ángel Domínguez Olavarri

Departamento de Microbiología y Genética.
Universidad de Salamanca. E-37007 Salamanca.
ado@usal.es

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

Tomás González Villa

Dpto. Microbiología y Parasitología.
Facultad de Farmacia.
15782 Santiago de Compostela.
tomas.gonzalez@usc.es

Microbiología de los Alimentos

Francisco Javier Carballo García

Área de Tecnología de los Alimentos.
Facultad de Ciencias de Ourense.
Campus Universitario, s/n. Universidad de Vigo.
32004 Vigo.
carbateg@uvigo.es

Microbiología Molecular

María Molina Martín

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia.
Universidad Complutense de Madrid.
Plaza de Ramón y Cajal s/n.
28040 Madrid.
molmifa@farm.ucm.es

Microbiología del Medio Acuático

Juan José Borrego García

Dpto. Microbiología. Facultad de Ciencias.
Campus Universitario Teatinos.
29071 Málaga.
jjborrego@uma.es

Microbiología de Plantas

Antonio de Vicente Moreno

Dpto. de Microbiología. Facultad de Ciencias. IHSM-UMA-CSIC.
Campus de Teatinos. Universidad de Málaga.
28071 Málaga.
adevicente@uma.es

Protistología

Ana Martín-González

Dpto. Microbiología-III, Facultad de Biología.
Universidad Complutense (UCM).
C/ José Antonio Novais, 2. 28040 Madrid (Spain).
anamarti@bio.ucm.es

Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad

Antonio Ventosa Ucero

Dpto. Microbiología. Facultad de Farmacia.
Universidad de Sevilla.
C/ Prof. García González, s/n
41012 Sevilla.
ventosa@us.es

Docencia y Difusión de la Microbiología

Montserrat Llagostera Casas

Dpto. de Genètica i de Microbiologia.
Universitat Autònoma de Barcelona. E-08193
Cerdanyola del Vallès (Barcelona).
Montserrat.llagostera@uab.es

Grupo de divulgación D+D

Guillermo Quindós, Universidad del País Vasco.
Ignacio López Goñi, Universidad de Navarra.
Alfonso V. Carrascosa, CSIC.
Hortensia Rico, Universidad de Valencia.
Manuel Sánchez Angulo, Universidad Miguel Hernández.
María del Rosario Espuny Gómez, Universidad de Sevilla.
María Teresa Tejedor Junco, Universidad de Las Palmas de
Gran Canaria

SEM@foro es una publicación semestral de la Sociedad Española de Microbiología (SEM)

Director: **Víctor Jiménez Cid**. E-mail: vicjid@farm.ucm.es.

Editor del número especial Biología de los Microorganismos Patógenos: **Ángel Domínguez Olavarri**

Webmaster de la SEM: **Jordi Urmeneta Masó**. E-mail: jurmeneta@ub.edu

Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Avda. Diagonal, 645. E-08028 Barcelona.
La SEM y el Director no comparten necesariamente las opiniones que puedan aparecer en artículos, informaciones o
cartas enviados por los socios, ni se responsabilizan de su veracidad.

ISSN: 2254-4399

Depósito Legal: M-12838-2013

Maquetación e Impresión: **Diseño y Control Gráfico, S.L.** Tel.: 91 731 05 13.

E-mail: info.dcg@design2aa.com • www.design-2aa.com

www.semicrobiologia.org/sec/SEMAFORO



Visite la página web
de la SEM:

www.sem microbiologia.org

Encontrará información
actualizada sobre
congresos, reuniones,
cursos y becas

**Socios protectores
de la SEM:**

Francisco Soria Melguizo, S.A.



Fundación Medina



Para solicitar más información,
inscripciones o publicidad,
diríjase a la Secretaría de la

**Sociedad Española
de Microbiología**

Vitruvio, 8 - 28006 Madrid
Tel.: 915 613 381
Fax: 915 613 299

secretaria.sem@sem microbiologia.org

Editorial

Microbiología, con Cajal y sin «salones de mármol» 2
Ricardo Guerrero

Carta del presidente electo

Antonio Ventosa 4

Microbiología, femenino singular

Giuseppina Cattani y el tétanos 5
Mercè Piqueras

Nuestros grupos

Informes de los grupos especializados 7

Colección Española de Cultivos Tipo

Una gran red de microorganismos 12

Microrreportajes

Nacer en una gota, un nuevo libro de Rubén Duro 13

Sociedades hermanas

Pasado, Presente y Futuro de la Sociedad Uruguaya de Microbiología 16

Congresos

V Reunión del Grupo Microbiología de Plantas 18

Especial Jaime Ferrán

Jaime Ferrán, más allá de la Microbiología 20

por Jaime Ferrán y Bruno González-Zorn

Jaime Ferrán y los orígenes de la microbiología enológica española 26

por Alfonso V. Carrascosa

Microbiología sintética

Introducción 30

Víctor J. Cid

Una reflexión sobre la Biología Sintética a partir de la historia reciente
del concepto de «célula mínima» 31

Andrés Moya

¿Que teme a la Biología Sintética? 34

Víctor de Lorenzo

Artículo destacado

Diversidad Genética de *Brucella* en España 38

Montserrat Ortega, Sylvia Valdezate y J. Antonio Sáez-Nieto

Especial «Biología de los Microorganismos Patógenos»

Grupo de Biología de los Microorganismos Patógenos (GBMP) de la SEM 45

Mecanismos de virulencia de levaduras patógenas y mecanismo de acción
de antifúngicos 46

Reparación de DNA y morfogénesis en *Candida albicans* 49

Taxonomía polifásica de bacterias patógenas emergentes, atípicas y de difícil
identificación 52

Transducción de señal y respuesta inmunitaria en hongos patógenos humanos 54

Patógenos oportunistas 57

Interacciones huésped-parásito en infecciones neumocócicas 59

Biotechnología Microbiana e Industrial 61

Bases moleculares de la acción de antimicrobianos en estreptococos 63

Microbiología molecular y antimicrobianos 65

Genética Molecular de *Candida albicans* 67

Modelos experimentales en enfermedades infecciosas 70

Nuestra ciencia

Reseñas de artículos científicos de nuestros socios 73

Tesis doctorales

Resúmenes de tesis doctorales 75

Cartas al presidente

David Moreira 79

Gremlins Microbianos

Manuel Sánchez 81

Microbiología, con Cajal y sin «salones de mármol»

Ricardo Guerrero
Presidente de la SEM

Santiago Ramón y Cajal (1852–1934) es el investigador español más conocido en todo el mundo. Y todavía el más citado. Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1906, su «doctrina de la neurona», explica de una manera todavía no superada la estructura y funcionamiento del sistema nervioso. Esto es ya sabido, pero poca gente sabe que Ramón y Cajal empezó su carrera científica haciendo sus pinitos en microbiología (véase *Int. Microbiol.* 3:59-61, 2000), y que abandonó esta dedicación porque no podía pagar los colorantes necesarios. (¿A qué nos suena esta historia?).

Pero Cajal era muchas más cosas, además de científico y profesor de universidad. Era un excelente dibujante, gran fotógrafo en blanco y negro, pionero en las técnicas de la fotografía en color, prolífico autor de diversos libros autobiográficos e instructivos, y... escritor de ciencia ficción. Aunque publicó sus *Cuentos de vacaciones* en 1905, bajo el pseudónimo de *Dr. Bacteria* (enmascaramiento inútil, porque Cajal era ya era muy conocido y en el umbral del premio Nobel), las cinco «narraciones pseudocientíficas» que contiene el libro (más otras siete que han desaparecido) se adentran en un mundo con múltiples aspectos éticos y tecnológicos, mundo en el que se iba adentrando en su incipiente carrera profesional. Un buen ejemplo lo tenemos en este largo y visionario párrafo:

«Ciertamente que la ciencia, rebelándose, al parecer contra el destino, ha inventado el microscopio, con la mira de sorprender tan minúsculos enemigos (y esto representa ya un fruto intelectual del microbio). Mal haríais, sin embargo, en vanagloriaros de tan grosero instrumento. Juguete harto imperfecto todavía, a su incapacidad resolutive escapan millones de vidas infinitesimales, ultramicroscópicas: las bacterias de las bacterias; el impalpable polvo de miríadas vitales disperso en el aire, el agua y las tierras; las imperceptibles colonias intracelulares, especie de federaciones simbióticas, que ahora solamente comienzan a alborear, a título de arriesgadísimas conjeturas, en la mente de algunos sabios audaces. Algún día os será lícito quizá rastrear la morfología y costumbres de tan diminutas y ultramicroscópicas organizaciones confinantes con la nada y muy distantes aún de las más groseras construcciones moleculares. Mas para ello os será fuerza abandonar los sencillos principios de la óptica amplificante fundados sobre el fenómeno banal de la refracción de las ondas luminosas visibles

(oscilaciones bastas sobre las cuales solo ejercen influencia partículas superiores a unas décimas de micra), y recurrir a radiaciones invisibles, infinitamente delicadas y todavía ignotas, de la materia imponderable. Y así y todo, la ciencia no podrá agotar los dominios de la vida. Lo invisible, infinitamente más importante que lo visible, os envolverá siempre, y cada edad tendrá sus enemigos inaccesibles, porque el alazán del progreso solo galopa espoleado por el calcañar de la muerte.»

Este precioso texto se encuentra en «El pesimista corregido», uno de sus «cuentos de vacaciones». La idea de la existencia de la simbiosis y de su papel en la evolución era muy nueva en biología. Su premonición sobre ondas más «pequeñas» que las de la luz visible suponían una revolución para el mundo de la física. Cajal ya estaba fascinado antes de 1885 con los microbios y con los sistemas con los cuales el cuerpo humano lucha contra ellos.

Cuando aún estudiaba el bachillerato escribió una novela de aventuras que seguía el modelo del *Robinson Crusoe* de Daniel Defoe. Durante sus estudios de

medicina, escribió una segunda sobre un explorador que viajaba a Júpiter y penetraba en el cuerpo de un ser gigantesco. (Se adelantó con ello casi cien años a Isaac Asimov, que publicó su *Viaje alucinante*, en 1966.) Esta «novela biológica», según la denominó Cajal, mostraba al lector el cuerpo humano desde la perspectiva del microbio, y describía espeluznantes batallas entre los glóbulos blancos y los invasores microbianos. Ambas novelas estaban profusamente ilustradas por el propio Cajal, pero ambas, desgraciadamente, se han perdido. Cajal escribió años después que la segunda desapareció mientras él estaba en el ejército en Cuba. Otra cosa que se perdió allá.

En cuanto al contenido y estilo, *Cuentos de vacaciones* tiene más en común con esas tempranas novelas de aventuras que con sus libros de madurez. Sus *Reglas y consejos sobre la investigación científica: los tónicos de la voluntad*, de 1898, su autobiografía, *Recuerdos de mi vida*, de 1901, y su *Charlas de café*, de 1921, ofrecen astutas observaciones y sesudas advertencias sobre cómo «sobrevivir» en sociedad, y tienen mucho de ciencia —especialmente de sociología— y poco de ficción.

Pero, como es habitual en el género de la ciencia ficción, *Cuentos de vacaciones* (su título completo es: *Cuentos de vacaciones. Narraciones pseudocientíficas*) invita al lector a mirar

Cajal era, entre muchas otras cosas, escritor de ciencia-ficción

las cosas de una nueva manera, a viajar con la imaginación por un mundo donde los microbios amenazan, pero donde los científicos que los estudian pueden llegar a ser más peligrosos aún. Los cinco cuentos son: «A secreto agravio, secreta venganza», «El fabricante de honradez», «La casa maldita», «El pesimista corregido», y «El hombre natural y el hombre artificial». La pérdida de sus dos tempranas novelas y de siete de las doce «narraciones pseudocientíficas» es una gran tragedia, no solo para la literatura de ciencia-ficción sino también para la ciencia (véase L. Otis, *Int. Microbiol.* 4:175-178, 2001). Si Cajal tenía razón, nuevas maneras de ver las cosas significa nuevas ideas; y él nos las regaló a manos llenas.

Las ideas científicas influyen sobre la vida cotidiana y ayudan a crear perspectivas nuevas y a enfocar el futuro con cierto optimismo. Conviene recordar el ejemplo de Cajal. No hace falta insistir en la brillantez en el campo de la neurohistología, que ya fue reconocida en su tiempo. Como hemos mencionado, Cajal se había interesado inicialmente por la microbiología, y, por encargo de la Diputación de Zaragoza, viajó a Valencia y redactó una detallada memoria sobre «Estudios sobre el microbio vírgula del cólera y las inoculaciones profilácticas»*. Pero la investigación en este

campo de la ciencia —que es el nuestro— era demasiado cara; se necesitaba un utillaje costoso y productos químicos poco accesibles. En época de carestía es necesario recordarlo. Pero también deben recordar los responsables de la distribución del dinero de los ciudadanos, los gobernantes,

que la carestía mayor es la que sacrifica el futuro. Si se nos permite poner un ejemplo cómico —a veces es conveniente sonreír dentro de la tragedia— nos está pasando como con el tren de los Hermanos Marx en el Oeste. Hemos quemado toda la madera de los vagones, estamos prescindiendo de algunos furgones, hemos aminorado —¡qué remedio!— la velocidad, pero, si se nos agota el combustible, que son los investigadores, especialmente los más jóvenes, la locomotora se parará, y será muy difícil volver a ponerla en marcha.

Siempre hemos tenido presente la frase de Alexander Fleming «*It is not the marble halls which make for intellectual grandeur - it is the spirit and brain of the worker.*» Nunca hemos trabajado en salones de mármol. Pero sí cobijados bajo sencillas paredes de laboratorio con los medios adecuados. Desahuciar a la ciencia de estas paredes por razón de la economía puede hacer que sea la economía la que sea, finalmente, desahuciada.

Desahuciar a la ciencia por razón de la economía puede hacer que sea la economía la que sea finalmente desahuciada

* Véanse los artículos sobre Jaime Ferrán en este número de SEM@foro, págs. 20 y 26.



RELATOS MICROSCÓPICOS

I CONCURSO CIENTÍFICO-LITERARIO DE NARRACIÓN CORTA SEM

El jurado del I Premio «RELATOS MICROSCÓPICOS», compuesto por los Dres. Dña. Inmaculada Meseguer Soria, D. Rubén López García y D. Rafael Nájera Morondo, tras valorar los aspectos de divulgación, calidad y originalidad narrativa, presentación, contenido científico, estilo y redacción de los 10 trabajos anónimos presentados bajo plica y admitidos a concurso, acordó de forma unánime otorgar los siguientes premios:



PRIMER PREMIO:

«La gran historia del pequeño Mouldy», de Emilia Quesada Arroquia y Jon Trout, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.

SEGUNDO PREMIO:

«Una batalla perdida», de Esperanza Gómez-Lucía y Duato, Facultad de Veterinaria, UCM, Madrid.

TERCER PREMIO:

«Prodigiosina (la vida invisible de un manantial)», de María del Carmen de la Rosa Jorge. Facultad de Farmacia, UCM, Madrid.

La entrega de premios se realizará en el XXIV Congreso SEM, que se celebrará en L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona los días 10-13 del próximo mes de julio de 2013

Queridos colegas y amigos,

En primer lugar me gustaría agradeceros sinceramente la confianza depositada en mí al haberme elegido como Presidente electo de la Sociedad Española de Microbiología (SEM). Como sabéis, a comienzos de este año se realizaron elecciones para la renovación parcial de la Junta Directiva de la SEM, incluyendo los cargos de Presidente electo, Tesorero y tres vocales. Tras una meditada decisión presenté mi candidatura a Presidente electo de nuestra sociedad, cargo para el que fui elegido con un amplio apoyo de los socios de la SEM.



Considero un enorme honor este nombramiento, que de acuerdo a los estatutos de la SEM conlleva la actividad como futuro Presidente de la sociedad a partir de comienzos de 2015. Durante este año y el próximo trabajaré en estrecha colaboración con nuestro Presidente, el Prof. Ricardo Guerrero y la Junta Directiva de la sociedad, con la intención de adquirir la experiencia y conocimientos necesarios para el desempeño del cargo.

Soy socio ordinario de la SEM desde el 12 de febrero de 1975, fecha en la que estudiaba, como alumno de cuarto curso, la Licenciatura de Farmacia en la Universidad de Granada. Asistí por primera vez a un congreso científico en octubre de 1975, con motivo del V Congreso Nacional de Microbiología de la SEM, celebrado en Salamanca, en el que tuve la oportunidad de conocer a prestigiosos científicos nacionales e internacionales, así como a jóvenes microbiólogos ilusionados con su trabajo, hechos que sin duda me impulsaron a continuar mi formación y dedicación profesional a la Microbiología, primero en la Universidad de Granada, en la que realicé mis estudios de doctorado y posteriormente en la Universidad de Sevilla, en la que actualmente continúo, como Catedrático del Departamento de Microbiología y Parasitología. Precisamente en Salamanca, pero 16 años después, durante el XIII Congreso Nacional de Microbiología, recibí el Premio Jaime Ferrán de la SEM que conllevó la impartición de la conferencia plenaria «Microorganismos de ambientes hipersalinos», tema de investigación al que he dedicado una gran parte de mi labor investigadora. Entre las actividades en las que he participado muy activamente en nuestra sociedad me gustaría citar la organización en Sevilla de las reuniones de los grupos especializados del Medio Acuático (2002) y de Taxonomía, Filogenia y Diversidad (2010), así como la reunión de la junta directiva provisional que dio lugar a la puesta en funcionamiento del grupo de Docencia y Difusión de la Microbiología. Mención especial merece la organización en 2007 del XXI Congreso Nacional de Microbiología en Sevilla, sobre todo teniendo en cuenta que no se había realizado anteriormente un congreso de la SEM en nuestra ciudad y en el que pusimos todo nuestro empeño por el éxito del mismo. Además, he formado parte de la Junta Directiva, como vocal y más recientemente como Presidente del grupo especializado de Taxonomía, Filogenia y Diversidad.

Quisiera aprovechar esta oportunidad para ofrecer mi disposición a colaborar en todos los temas que se planteen por parte de los socios y a trabajar con la mayor intensidad y dedicación por el bien y el futuro de nuestra prestigiosa sociedad, fundada en 1946, y a llevar la voz de los microbiólogos españoles allá donde sea necesaria. Nuestra sociedad goza de una estupenda salud y nuestra ciencia, la Microbiología, se encuentra en la actualidad en una etapa consolidada y de enorme importancia y relevancia, con un excitante futuro en muchos campos científicos en los que ya actualmente y seguro que en los próximos años veremos avances significativos e inimaginables hace tan solo algunas décadas.

Entre los activos de nuestra sociedad se encuentra la magnífica revista, *International Microbiology*, que con el trabajo del Prof. Ricardo Guerrero y su equipo ha ido ganando prestigio a nivel internacional. Animo desde aquí a todos a que mandemos artículos de calidad a la revista, que entra en una nueva etapa, bajo la dirección del Prof. José Berenguer. Otras publicaciones que sin duda dinamizan el día a día de la sociedad son SEM@foro (anteriormente Actualidad SEM) y el boletín electrónico mensual NoticiaSEM. Además de los congresos nacionales, que constituyen una cita bienal de todos los socios e investigadores relacionados con la Microbiología, qué duda cabe que los grupos especializados, actualmente once, y las reuniones que organizan, durante los años alternos a los congresos nacionales, monopolizan una gran parte de las actividades de nuestra sociedad y deben recibir todo nuestro apoyo. Pero sin duda alguna los mayores activos de la SEM son sus propios socios; creo que debemos ser conscientes de la importancia que tiene permanecer unidos, teniendo como referencia nuestra sociedad, máxime en los tiempos difíciles que vivimos, de manera que nos sirva para reivindicar y expresar nuestras opiniones a través de ella. Debemos ser participativos y tener presente que el futuro de la sociedad está en nuestras manos, en las de cada uno de nosotros.

Me despido pidiendo la máxima colaboración de todos; por mi parte, espero estar a la altura de las expectativas y trabajar por nuestra sociedad y por el futuro de la Microbiología. De nuevo, muchas gracias a todos.

Un cordial abrazo,

Antonio Ventosa
Presidente electo de la SEM

Giuseppina Cattani y el tétanos*



Mercè Piqueras

Hace varios años pasé unos días en Bolonia. Un pequeño accidente antes de tomar el avión hacia aquella ciudad italiana me causó una herida profunda en un codo, y en el dispensario del aeropuerto de partida me indicaron que al llegar a Bolonia fuese a algún servicio de urgencias para que me dieran unos puntos y me pusiesen la inyección antitetánica, ya que no estaba vacunada. Así lo hice, sin imaginarme que estaba precisamente en la ciudad donde, a finales del siglo XIX, se descubrió que el tétanos estaba causado por una toxina y donde se desarrolló un tratamiento para prevenir la aparición de los síntomas tetánicos cuando existe la posibilidad de que una persona haya adquirido la infección; aunque sea una posibilidad remota, como era mi caso, conviene actuar. Pero aún menos me imaginaba que una mujer había tenido un papel destacado en aquel descubrimiento.

El tétanos es una grave enfermedad causada por la bacteria *Clostridium tetani*, que afecta el sistema nervioso y se manifiesta con contracturas musculares espasmódicas generalizadas que pueden llegar a causar la muerte. Más que una enfermedad infecciosa, es toxoinfecciosa, porque no está causada directamente por el microorganismo, sino por las toxinas que este produce. Cuando la bacteria penetra en una herida, allí se multiplica, pero sus toxinas pasan a la sangre y se esparcen por el cuerpo hasta llegar al sistema nervioso central, que es donde actúan. Hasta finales del siglo XIX se creía que el tétanos era una enfermedad del sistema nervioso. Sin embargo, en 1884 dos investigadores italianos del Instituto de Patología General de la Universidad de Turín, Antonio Carle y Giorgio Rattone, demostraron experimentalmente que la causa era una infección: provocaron la enfermedad en conejos, mediante la inoculación de material procedente de una herida de un hombre que había muerto de tétanos.

El aislamiento en cultivo puro de *Clostridium tetani*, la bacteria causante del tétanos, suele atribuirse a Shibasaburo Kitasato (1852-1931), que trabajaba en el Instituto de Higi-

ene de la Universidad de Berlín, dirigido por Robert Koch y que publicó su descubrimiento en 1889. Sin embargo, y de manera independiente, Guido Tizzoni y Giuseppina Cattani, de la Universidad de Bolonia, anunciaron, en una reunión de la Academia de Medicina de Turín, que habían aislado el bacilo (*C. tetani*) en un cultivo sin oxígeno (es una bacteria anaeróbica; en el ambiente se encuentra en forma de espora que, en el interior de las heridas profundas, lejos del oxígeno, libera una célula vegetativa que es la que produce las toxinas). Un informe de su trabajo se publicó en una revista de aquella academia y en una revista italiana (*La Riforma Medica*) el mismo año que Kitasato publicó también su descubrimiento.

Giuseppina Cattani (1859-1914), la mujer que participó en los estudios pioneros sobre el tétanos, fue la primera persona que, en 1889, enseñó bacteriología en la Universidad de Bolonia; una asignatura que propuso ella misma y que el curso siguiente se amplió con la de bacteriología patológica. Nacida en Imola el 26 de marzo de 1859, en una familia modesta, pero comprometida social e intelectualmente, tuvo el apoyo familiar cuando decidió estudiar medicina en la Universidad de Bolonia, donde obtuvo la licenciatura en Medicina y Cirugía en 1884. Fue una estudiante brillante, muy interesada por la investigación experimental, y al terminar los estudios logró una beca que le permitió trabajar dos años (1885-1887) en el Instituto de Patología General de la misma universidad, que dirigía Guido Tizzoni (1853-1932). Intentó, sin éxito, obtener una plaza en la Universidad de Parma, pero el mismo año obtuvo otra beca para estudiar en el extranjero, además de



Giuseppina Cattani
(1859-1914).

* Representación de un enfermo terminal de tétanos manifestando los signos de opisthotonos, por Charles Bell (1809). The Royal College of Surgeons of Edinburgh.

una plaza de *libera docenza*, sin sueldo, para enseñar patología general en la Universidad de Turín. Pasó dos semestres en el Instituto de Patología General de la Universidad de Zurich, con el fisiopatólogo alemán T.A. Edwin Klebs (1834-1913) y luego dos años en Turín. En 1889 regresó a su alma mater, donde se dedicó a la docencia y a la investigación, de nuevo bajo la dirección de Tizzoni. Por motivos de salud tuvo que interrumpir las clases, pero siguió como investigadora hasta 1897.

Sus trabajos más conocidos son los que realizó junto a Tizzoni, en el campo de la microbiología, que era una ciencia muy joven y en expansión. Formaron un buen tándem y el fruto de los años de colaboración quedó reflejado en sus publicaciones. Primero se centraron en el cólera, en aspectos como el tipo de infección y los cambios que se producen en algunos órganos del cuerpo a causa de la infección. Luego estudiaron el tétanos y aquellos años de trabajo culminaron con el descubrimiento de un suero para combatir la toxina tetánica, la aportación más importante de Cattani a la medicina y un gran avance en la lucha contra esa enfermedad.

Aislar *Clostridium tetani* en cultivo axénico no fue fácil. Se dieron cuenta de que crecía mejor o incluso exclusivamente en ausencia de oxígeno y realizaron numerosos ensayos cultivándolo en el vacío, en atmósfera de hidrógeno, de nitrógeno, de CO₂. Eran metodologías poco conocidas y mínimamente eficaces para obtener lo que querían: que no hubiese oxígeno en contacto con el cultivo. La técnica que dio mejores resultados fue el cultivo en una atmósfera de hidrógeno, obtenida mediante electrolisis, que describieron en 1890 en un artículo detallado, con numerosas fotografías, en una revista alemana. También en 1890 demostraron la gran resistencia a los agentes químicos de la bacteria en su forma esporulada, incluso al bicloruro de mercurio (HgCl₂) y el yodoformo (CHI₃), que otros autores habían recomendado como antídotos para esa bacteria. En cambio, comprobaron que presentaba una mínima resistencia al calor y demostraron que dos minutos de calor húmedo a 100 °C o diez minutos de calor seco a 150 °C bastaban para matar al bacilo.

En junio de 1890, Tizzoni y Cattani publicaron en la revista italiana *La riforma medica* el primer artículo que demostraba la presencia de la toxina y describieron su purificación a partir de cultivos de *C. tetani*. El mismo año publicaron dos artículos en revistas alemanas en los que profundizaban y ampliaban los resultados obtenidos. Al ser revistas de mayor difusión, ellos mismos en el futuro citaban solamente los artículos publicados en alemán, lo que podía hacer pensar que eran sus primeras publicaciones sobre la toxina. También en 1890, en agosto, el danés Knud Faber publicó un artículo describiendo la toxina tetánica y muchos autores posteriores han atribuido el descubrimiento de la toxina solo a Faber.

Tizzoni y Cattani siguieron investigando sobre *C. tetani* y su toxina. El 11 de enero de 1891, en una sesión de la Academia de Ciencias del Instituto de Bolonia, comunicaron que habían obtenido suero inmune contra el tétanos a partir de animales de tamaño relativamente pequeño (palomas y perros) y que lo habían ensayado con éxito *in vitro* e *in vivo*. Durante 1891, el

suero ya se aplicó a humanos. Al principio era suero de perro, luego de conejo o también de perro, según la disponibilidad, y en 1893 se añadió el suero de caballo, que permitía disponer de mayor cantidad de antitoxina. Cuando se trabaja en una línea de investigación en la que también trabajan otros investigadores contemporáneos, es difícil atribuir a unos u otros cada nuevo descubrimiento. En el caso del suero antitetánico, en diciembre de 1890 —un mes antes del anuncio hecho por Tizzoni y Cattani— Emil Adolf von Behring (1854-1917) y el mencionado Kitasato publicaron en Alemania la obtención de suero antitetánico a partir de un conejo. El artículo de von Behring y Kitasato marcó un hito en la historia de la inmunología y es posible que influyese en la decisión de conceder a von Behring el premio Nobel de fisiología o medicina de 1901. Sin embargo, en 1892, von Behring solo se refirió a la posibilidad de usar el suero en humanos para el tratamiento del tétanos. Es posible que durante un tiempo fuese solo el suero obtenido en Bolonia el que se estuviese aplicando a los enfermos de tétanos.

Giuseppina Cattani intentó en tres ocasiones acceder a una cátedra (dos veces a la de patología general y una a la de histología patológica). A pesar de que su trabajo ya había adquirido prestigio internacional, sus intentos fueron inútiles. En 1897 decidió abandonar el mundo académico y regresó a su ciudad natal, Imola, para dedicarse a la práctica médica. Allí trabajó como directora médica del laboratorio de anatomía e histología patológicas, de radiología y de bacteriología de un hospital hasta poco antes de su fallecimiento, el 9 de diciembre de 1914. Era un hospital pequeño, pero Cattani logró ponerlo al nivel de algunos hospitales universitarios destacados de la época.

Al tratar del trabajo de Cattani, puede pensarse que ella investigaba en aquello que le indicaba su superior, es decir, Tizzoni. Sin embargo, algunos datos hacen suponer que la investigación sobre el tétanos fue idea de ella. El estudio de la bacteria y su toxina en el laboratorio de Tizzoni se inicia

cuando Cattani regresa a Bolonia después de su estancia en la Universidad de Turín, donde trabajaban los investigadores que descubrieron el origen infeccioso del tétanos. De todos modos, Tizzoni tenía mucha más experiencia y juntos lograron llevar adelante el trabajo; compartieron el éxito y también las críticas que les dedicaron algunos colegas de su propia universidad.

El nombre de Giuseppina Cattani merece un hueco en la historia de la microbiología. Como otras pioneras de la ciencia, tuvo que afrontar una sociedad que no estaba preparada para hombres y mujeres, y renunció a la universidad en el momento en que su carrera estaba dándole los mejores frutos.

Cattani merece un hueco en la historia de la microbiología

BIBLIOGRAFÍA

- Passione R.** Cattani Giuseppina. *Scienza a Due Voci*. Le donne nella scienza italiana dal Settecento al Novecento <http://scienzaa2voci.unibo.it/biografie/134-cattani-giuseppina> (consulta marzo 2013)
- Cardano C.** (2006) Le ricerche sulle tossine svolte nella Patologia generale di Bologna dalla fine del XIX secolo a oggi (tesis doctoral). Università degli Studi di Bologna.

DOCENCIA Y DIFUSIÓN
DE LA MICROBIOLOGÍA

Montserrat Llagostera
Presidenta del Grupo D+D SEM

Desde este foro he de agradecer a todos los miembros de la SEM, y en particular a los miembros de nuestro grupo, vuestra buena disposición con D+D SEM, ya que desde mi última reseña en SEM@foro hasta ahora hemos recibido vuestro apoyo y colaboración siempre que os lo hemos pedido. Esta es la base de que el grupo se consolide y pueda abordar diferentes iniciativas. Muy brevemente me gustaría destacar algunas de ellas.

Por lo que se refiere a los grupos de trabajo, voy a comentaros la actividad de tres de ellos:

- **Divulgación científica de la SEM.** Este nuevo grupo está realizando un excelente trabajo, recopilando la información que los miembros de la SEM le envían sobre sus publicaciones científicas. Su actividad es básica para la difusión de nuestra ciencia en SEM@foro y Noticias SEM. Seguro que todos os habréis percatado que ambas publicaciones contienen breves reseñas sobre artículos científicos publicados por miembros de la SEM. Además de esta actividad, el grupo se ocupa de mantener el blog <http://noticiasmicrobiologicas.blogspot.com.es/> cuyo objetivo es recopilar y comentar información referida a microorganismos que los medios en castellano transmiten a la sociedad. Igualmente, el grupo también se ocupa de contactar con los medios en aquellos casos en que se detectan «flagrantes» errores microbiológicos. He de deciros que nos ha sorprendido la positiva respuesta de los medios y esperamos que, paulatinamente, este grupo sea un referente para los medios en cuanto a consultas sobre temas microbiológicos.
- **Coordinación de recursos docentes.** Este grupo se nutre de la imparable creatividad e innovación docente de los miembros de la SEM. Desde estas líneas os agradezco la colaboración recibida y, a los que todavía no lo habéis hecho, os invito a que conectéis con su responsable y le deis acceso a vuestros recursos docentes para que el grupo los valore y puedan formar parte de nuestra web en breve.
- **Archivo gráfico.** Este grupo es nuestra «espinita». Nació con la ilusión de crear un archivo de imágenes de acceso libre en la web de la SEM (microfotografías de microorganismos, fotografías de cultivos y de técnicas), así como de videoclips que ilustren sobre

la realización de técnicas microbiológicas, pero hasta el momento solo hemos conseguido disponer de unos excelentes vídeos de técnicas microbiológicas y del *link* a la excelente colección de imágenes «La vida oculta del agua». Estamos convencidos de que los miembros de la SEM, en su conjunto, disponen de un gran número de imágenes y de vídeos de calidad, de forma que, si las ceden a la SEM a través de este grupo de trabajo, además de compartir estos recursos entre nosotros, redundará en aumentar el prestigio de nuestra sociedad y, por consiguiente, de todos sus miembros. Por ello, os pido que consultéis la página http://www.semicrobiologia.org/ddm/pdf/archivo_grafico.pdf y que os animéis a tener vuestro rincón en el archivo gráfico de la SEM.

También comentaros la reciente creación del nuevo grupo de trabajo «**Jóvenes Investigadores**», aun no visible en la web de D+D SEM, que se dará a conocer en el XXIV Congreso de Microbiología SEM en l'Hospitalet del Llobregat el próximo julio. Y, ya que hablamos del Congreso de nuestra sociedad, os informo que el simposio de nuestro grupo se titula «**Microbiología y periodismo: una relación simbiótica**». Esperamos que sea de interés para todos los miembros de la SEM. Os recuerdo que, según las instrucciones para la presentación de comunicaciones al Congreso, se admite una comunicación por inscripción, exceptuando aquellos casos en los cuales además se quiera presentar una comunicación en el ámbito de la docencia de la microbiología. Por tanto, os animo a que presentéis vuestras experiencias en docencia y vuestra actividad divulgadora al XXIV Congreso de Microbiología SEM. También os informo que durante el Congreso dispondremos de una sala de ordenadores para poder presentar vuestros materiales *on line*, ya sean programas, páginas web, podcats, blogs, etc.

Finalmente, entre otras muchas actividades e iniciativas de D+D SEM que se están llevando a cabo en estos últimos meses, señalaros dos ellas por su especial interés. La primera es la participación de D+D SEM en la sesión «Microbiology education» del 5th Congress of European Microbiologists (FEMS). Dicha sesión estará presidida por Joanna Verran de la SGM y el vicepresidente de nuestro grupo, Antonio Ventosa, impartirá la conferencia titulada «*The education & communication group of the Spanish Society for Microbiology (D+D SEM): a meeting point for academic microbiologists, students and the general public*». Como habréis deducido se trata de nuestra presentación en sociedad y de comenzar a sentar las bases para establecer una colaboración a nivel europeo para promover la docencia de la Microbiología.

El segundo aspecto a destacar es el trabajo de nuestro grupo respecto al curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología. Respondiendo al encargo de la Junta Directiva de la SEM, elaboramos un borrador para fijar las bases que deben regir la organización de dicho curso. Tras la preceptiva discusión y modificación, dichas bases fueron aprobadas por la Junta Directiva de la SEM en su reunión de 8 de febrero de 2013. Este fue el pistoletazo de salida para la organización por parte de nuestro grupo del XVII Curso

de Iniciación a la Investigación en Microbiología que se celebrará los días 9 y 10 de julio en Barcelona, justo antes del XXIV Congreso de Microbiología SEM. Como novedad destacar que se facilita la asistencia de los alumnos del curso a nuestro Congreso, ya que su inscripción es gratuita. Esperamos que esta iniciativa estimule la participación de estudiantes a nuestros congresos.

A modo de reflexión final, tengo la convicción de que nuestro grupo es ciertamente muy activo y de que abre continuamente nuevos horizontes. Nuestra vocación es ser un grupo abierto a toda propuesta de los miembros de la SEM, relacionada con docencia y difusión de la microbiología, para canalizarla y darle respuesta. Seáis o no miembros de D+D SEM, deseamos que D+D SEM sea algo muy próximo a todos vosotros. Por ello os animo a que colaboréis con nosotros y a que nos comuniquéis cualquier propuesta, ya que D+D SEM se nutre de vuestra participación.

Nos encontrareis en:

<http://www.semicrobiologia.org/ddm/index.php>.

MICROBIOLOGÍA DEL MEDIO ACUÁTICO



Juan José Borrego
Presidente del Grupo

IX Congreso de Microbiología del Medio Acuático de la SEM

En Septiembre de 2012 el Grupo celebró el IX Congreso de Microbiología del Medio Acuático de la SEM en Barcelona en la magnífica sede del Instituto de Estudios Catalanes. Asistieron a este evento un número superior a 100 científicos especializados en los distintos ámbitos de la Microbiología del Medio Acuático procedentes de todo el Estado. También participó de forma destacada el profesor Paul Hunter, de la Norwich School of Medicine de la Universidad de East Anglia del Reino Unido que fue el invitado de honor del congreso e impartió la conferencia inaugural del mismo que llevó por título «*Health risks associated with very small drinking water supplies*». La conferencia de clausura «Herramientas genómicas para la descripción de la microbiota de medios acuáticos» fue impartida por el profesor Francisco Rodríguez Varela de la Universidad Miguel Hernández en Elche.

Tal como viene siendo habitual en nuestros congresos, los investigadores jóvenes tuvieron una destacada parti-

cipación y se concedieron premios a las mejores presentaciones de cada sesión lo cual no fue tarea fácil dada la homogénea alta calidad de las contribuciones. Se concedió además el primer premio Microkit concedido por los laboratorios Microkit, S.L. y el Grupo de Microbiología del Medio Acuático de la SEM a la mejor ponencia de la especialidad presentada en el congreso.

Durante el congreso tuvo lugar la Asamblea del Grupo, así como diversos actos sociales como la recepción de bienvenida, una visita al Acuario de Barcelona y la cena del Congreso.

Finalmente solamente queda agradecer al comité organizador, Profs. Albert Bosch, Anicet Blanch, Francisco Lucena y Rosa M. Pintó, al Prof. R. Guerrero y a las secretarías de la Sociedad Catalana de Biología, Mariàngels Gallego y Maite Sánchez, por la excepcional labor desarrollada y a todos los participantes por contribuir una vez más a que nuestro congreso sea un evento de gran calidad científica.

Elecciones a cargos de la Junta Directiva

Del 5 de marzo al 11 de abril de 2013 se realizará la votación on-line de cargos para la renovación parcial de la Junta Directiva del Grupo, en sus categorías de presidencia, tesorería y dos vocales. Los candidatos presentados han sido los siguientes:

- Presidencia: Juan José Borrego García. Universidad de Málaga (renovación).
- Tesorera: M^a Carmen Macián Rovira, CECT. Universidad de Valencia (renovación).
- Vocales: M^a José Figueras Salvat, Universidad de Rovira i Virgili (renovación); y José Agustín Guijarro, Universidad de Oviedo.

La proclamación de resultados se realizará en la Asamblea del Grupo en el XXIV Congreso de la SEM de Barcelona en julio de 2013.

Mesa Redonda/Simposium del Grupo en el XXIV Congreso de la SEM

En el XXIV Congreso de la SEM (Barcelona, 2013) se celebrará un Simposio organizado por el Grupo, moderado por la Dra. Dolors Furones (I.R.T.A) y el Dr. Carles Borrego, Universidad de Girona, y contando con los siguientes ponentes:

- Dr. Lluís Bañeras. Universidad de Girona.
- Dr. Jesús L. Romalde. Universidad de Santiago de Compostela.
- Dr. Ramón Roselló. Universidad de Isles Balears.
- Dr. Remy Guyoneaud. Universidad de Pau (Francia).

En esta misma sesión y como quinto ponente participará el galardonado con el Premio a la Mejor Tesis Doctoral (2010/11). Al Premio, que está siendo actualmente evaluador por un comité de expertos, se han presentado 5 magníficos trabajos, por lo que como en otras ocasiones, el nivel de excelencia continua en nuestro Grupo.

TAXONOMÍA, FILOGENIA Y BIODIVERSIDAD

Antonio Ventosa
Presidente del Grupo



El grupo especializado de Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad celebró su XIV reunión en Granada, del 10 al 12 de mayo de 2012. La reunión estuvo organizada por la Dra. Emilia Quesada y su grupo del Departamento de Microbiología de la Universidad de Granada, a los que agradecemos la labor realizada y les damos nuestra enhorabuena por su magnífica organización. A dicha reunión asistieron más de 70 investigadores y se presentaron 47 ponencias o comunicaciones libres (6 ponencias invitadas, 26 comunicaciones orales y 15 comunicaciones en paneles). Debemos destacar dos sesiones especiales, una inaugural dedicada a «algunos retos de hoy en la taxonomía clínica» y la de clausura, titulada «la biodiversidad microbiana como fuente de productos de interés médico e industrial». Además de una inolvidable cena de clausura en un carmen situado a la falda de la Alhambra, pudimos realizar una interesante excursión a la Alpujarra y degustar los productos típicos de la tierra. En la asamblea del grupo se realizó la renovación parcial de la Junta Directiva, tras las recientes elecciones, de los cargos de presidente (Antonio Ventosa), tesorera (Maribel Farfán) y un vocal (Fernando Martínez-Checa) en sustitución de Jorge Lalucat, M^a Carmen Fusté y Victoria Béjar, respectivamente, a quienes aprovechamos para darles las gracias por su magnífica labor a lo largo de sus mandatos respectivos.

Por otro lado, el número 54 de SEM@foro, publicado el pasado mes de diciembre de 2012 se dedicó monográficamente al grupo de Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad, que incluyó dos magníficos artículos sobre los problemas actuales en la identificación clínica de *Streptococcus pneumoniae* (Ernesto García) y la situación taxonómica de los hongos patógenos humanos (Ana Alastruey-Izquierdo), basados en las conferencias que impartieron en Granada durante la reunión del grupo. Además, se describieron las actividades de los grupos de investigación más activos en la actualidad en nuestro grupo especializado. Agradecemos a Víctor Jiménez Cid, director de SEM@foro, la oportunidad que nos brindó para difundir las actividades del grupo y su completa disposición y excelente trabajo realizado.

El grupo organizará durante el próximo Congreso de Microbiología, que se celebrará en julio de 2013 en L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona), un simposium que será moderado por las Dras. Victoria Béjar y Emilia Quesada, de la Universidad de Granada y que se dedicará a la memoria del Prof. Carl Woese, fallecido el pasado mes de diciembre de 2012. La Dra. Béjar

iniciará la sesión destacando la importancia de los estudios de Woese acerca de la evolución y filogenia de los seres vivos, que cambiaron nuestro conocimiento acerca de las relaciones filogenéticas de los mismos, reconociendo la clasificación de las bacterias, arqueas y eucariotas como grupos filogenéticamente diferentes. Las ponencias que se presentarán en este simposium son: «Blattabacterias: variabilidad genética vs. *stasis* metabólica» (Eugenio Belda), «Nuevas aproximaciones al estudio de comunidades microbianas» (Pedro Belda-Ferré), «Los verdaderos grupos taxonómicos de los hábitats hipersalinos» (Nahid Oueriaghli) y «Diversidad clonal en poblaciones procariontes concurrentes» (Ana Belén Martín-Cuadrado). Durante este congreso el grupo celebrará la correspondiente asamblea ordinaria en la que se debatirá acerca de los futuros objetivos y se decidirá la sede de la próxima reunión del grupo en 2014.

PROTISTOLOGÍA

Ana Martín Gonzalez
Presidenta del Grupo



En el XXIV Congreso de Microbiología de la SEM, el Grupo Especializado de Protistología ha propuesto el Symposium titulado «**Interacciones de los protistas con otros seres vivos**», que será moderado por nuestro anterior presidente Aurelio Serrano Delgado. Se incluyen cuatro ponencias diferentes: «Interacciones entre escuticociliados y el sistema inmunitario de peces» (Jose M Leiro Vidal, Universidad de Santiago de Compostela), «¿Predador o presa? El papel de los protistas en el modo de vida de *Legionella pneumophila*» (Francisco Amaro Torres, University of Chicago), «Amebas de vida libre vs patógenas: la clave son los factores de virulencia» (Jacob Lorenzo-Morales, Universidad de La Laguna) y «Neuropéptidos en la defensa de los organismos: ¿moléculas primitivas para el diseño de nuevos antimicrobianos?» (Elena Gonzalez-Rey, Instituto de Parasitología y Biomedicina «Lopez-Neyra». Granada). Os animamos a asistir, ya que prometen ser muy interesantes.

Se ha abierto en la página web de nuestro grupo, una sección nueva en la que se van a incluir publicaciones de los miembros del grupo, para su difusión a todos los socios de la SEM. Los socios interesados pueden mandar sus trabajos, en formato pdf, al webmaster de la página de nuestro Grupo (juancar@bio.ucm.es).

No quisiera terminar sin recordar a nuestra antigua socia Raquel Prado (Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de A Coruña) fallecida recientemente. Allí donde estés, siempre te recordaremos.

HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS



Humberto Martín
Presidente del Grupo

El año pasado se convocaron elecciones para la renovación de la Junta Directiva del Grupo. Dado que no se presentó ninguna candidatura durante el periodo establecido, en la reunión del grupo que se celebró en septiembre de 2013, durante el XI Congreso Nacional de Micología en Cádiz, la Junta Directiva procedió a la proclamación directa de la candidatura surgida en dicho Congreso, compuesta por Humberto Martín Brieva (Presidente), José Cansado Vizoso (Vicepresidente), Antonio di Pietro (Secretario) y Belén Patiño Álvarez (Vocal), que tomaron posesión de sus cargos a principios de este año. En nombre de todo el grupo, la Junta Directiva entrante agradece a Amparo Querol, María Jesús Martínez y Victoriano Garré su excelente labor al frente de la anterior Junta Directiva.

El grupo ha organizado el simposio «**Señalización, morfogénesis y virulencia en hongos**» que, moderado por Antonio Di Pietro y José Cansado Vizoso, se celebrará durante el próximo XXIV Congreso Nacional de Microbiología (Hospitalet de Llobregat, Barcelona, julio 2013). Las ponencias propuestas serán:

- Oscar Zaragoza (Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid): «Importancia de la morfogénesis en la virulencia de *Cryptococcus*».
- Pilar Pérez (Instituto de Biología Funcional y Genómica, Consejo Superior de Investigaciones Científicas CSIC/Departamento de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca): «GTPasas Rho y crecimiento polarizado en la levadura de fisión».
- José Ignacio Ibeas (Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide/Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Sevilla): «La glicosilación de proteínas en *Ustilago maydis* y su papel durante el proceso infeccioso».
- Eulàlia de Nadal (Cell Signaling Unit, Departament de Ciències Experimentals i de la Salut, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona): «Control de la expresión génica por la proteína quinasa activada por estrés Hog1».

Conjuntamente con la SEM el grupo concederá premios para incentivar la participación en este congreso. Os animamos a asistir a la reunión del grupo que tendrá lugar durante el mismo.

BIODETERIORO, BIODEGRADACIÓN Y BIORREMEDIACIÓN



Asunción de los Ríos
Presidenta del Grupo

El Grupo va a organizar durante el XXIV Congreso de Microbiología SEM, el miércoles 8 de julio del 2013, un simposio de título «**Uso sostenible de biocidas**» organizado por Marta Urizal, que va a contar con financiación de la empresa Thor Especialidades, S.A. y las siguientes ponencias:

- «THOR AMMETM Technology for Dry-Film Preservation» (Scott Betts, Thor Specialities (UK) Limited).
- «Control del biodeterioro del hormigón mediante el uso de Biocidas encapsulados» (Jose M^a Vaquero Martínez, BASF).
- «Recubrimientos Antibacterias-Realidad o Estrategia de Marketing» (Marta Urizal Comas, Thor Especialidades, S.A).
- «Estrategias para la eliminación de agentes microbianos biodeteriorantes de piedra monumental» (Asunción de los Ríos Murillo, CSIC).

El grupo está actualmente en fase de preparación del número de SEM@foro especial del Grupo, que está previsto para diciembre del 2013.

MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



Francisco Javier Carballo
Presidente del Grupo

Simposio en el XXIV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Microbiología

El próximo 11 de julio, de 11:45 a 14 horas, en el marco del XXIV Congreso Nacional de Microbiología a celebrar en L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona), y moderado por el

Dr. Baltasar Mayo Pérez del IPLA-CSIC de Asturias, tendrá lugar el Simposio titulado **«Técnicas ómicas en Microbiología de los Alimentos»**, con las siguientes ponencias y ponentes:

- Genómica en bacterias de interés en alimentación. Utilidades y limitaciones.
Ester Jiménez, Departamento de Bromatología y Tecnología de Alimentos, Universidad Complutense de Madrid.
- Proteómica: respuesta celular a los cambios ambientales de los alimentos.
Borja Sánchez, IPLA-CSIC, Villaviciosa, Asturias.
- Metagenómica: diversidad microbiana y dinámica de poblaciones en ecosistemas alimentarios.
Susana Delgado, IPLA-CSIC, Villaviciosa, Asturias.
- Integración de ómicas: *«Multifactorial diversity sustains stability in the microbial community of an undefined dairy starter culture»*.
Eddy Smid, Laboratory of Food Microbiology, Wageningen University, The Netherlands.

Congreso de Microbiología SEM que se celebrará el próximo mes de julio en l'Hospitalet de Llobregat (Barcelona). Este simposio titulado **«Transferencia genética horizontal»** ha sido organizado por el Dr. José Rafael Penadés del Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV-CSIC) y contará con los siguientes conferenciantes y ponencias:

- *«Going mobile with oriT mimicry: a new paradigm for mobilization of genomic islands?»*. Dr. Vincent Burrus (Université de Sherbrooke, Québec, Canadá).
- *«Integrans, antibiotics, SOS response and horizontal gene transfers: intimate connections»*. Dr. Didier Mazel (Institut Pasteur).
- *«Evolución y actividad de los sistemas de interferencia CRISPR-Cas en Escherichia coli»* Dr. Francisco Juan Martínez Mójica (Universidad de Alicante).
- *«Papel de las proteínas bacterianas asociadas a la cromatina codificadas por plásmidos en la transferencia genética horizontal»*. Dr. Antonio Juárez (Universidad de Barcelona).

MICROBIOLOGÍA MOLECULAR

Maria Molina
Presidenta del Grupo



Como en anteriores ocasiones, el grupo de Microbiología Molecular ha propuesto un simposio dentro del XXIV

Esperamos que el simposio sea de interés para todos los asistentes al congreso. Además, el grupo participará junto con la SEM en la concesión de premios a los mejores pósteres y comunicaciones orales de jóvenes investigadores asistentes al congreso.

Este año corresponde celebrar elecciones para la renovación de la Junta Directiva del grupo, por lo que se ha iniciado el proceso electoral que se prevé termine a principios de junio con la proclamación de la nueva Junta.

La presidenta del grupo aprovecha esta ocasión para expresar su agradecimiento a todos los miembros del grupo por su confianza, y en especial a los compañeros de la Junta Directiva saliente por su amistad y su constante apoyo, disponibilidad y colaboración que ha convertido en un verdadero placer el ejercicio de este cargo, así como a los miembros de la Junta Directiva de la SEM con los que ha tenido el privilegio de compartir esta responsabilidad.

SEM@foro y **NoticiaSEM** publican artículos de opinión y divulgación sobre Microbiología, así como todo tipo de reseñas e información sobre la actividad de los Grupos Especializados de la SEM, congresos, simposios, seminarios, etc.

Además, **SEM@foro** y **NoticiaSEM** admiten **PUBLICIDAD** de las actividades, servicios o productos de tu empresa o institución.

Solicita los precios de publicidad a los directores de las publicaciones o a secretaria.sem@semicrobiologia.org.

Comunicado por **Rosa Aznar**,
Directora de la Colección
Española de Cultivos Tipo



Una gran red de microorganismos



**Dr. Erko Stackebrandt (MIRRI Coordinator), Dr. Dagmar Fritze (MIRRI Coordinator),
Dr. André Oumard (MIRRI Project Manager)**



Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures,
Braunschweig, Germany

RESUMEN

MIRRI¹ (*Microbial Resource Research Infrastructure*) reúne los Centros de Recursos Microbianos (CRM) Europeos que persiguen objetivos similares. Fue incluida en el plan estratégico de ESFRI² (*European Strategy Forum on Research Infrastructures*) en 2010, y la Comisión Europea financia la Fase Preparatoria que comenzó el 1 de noviembre de 2012. Esta decisión de ESFRI reconoce la importancia económica de los recursos microbianos, puesta de manifiesto recientemente por la Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (OCDE). El objetivo de esta primera fase es sentar las bases para la construcción de una infraestructura pan-Europea coordinada y descentralizada que permita un mejor acceso a los recursos microbianos de calidad como base para el desarrollo de una bioeconomía sostenible. Se espera que la estrecha colaboración entre los CRM y sus usuarios redunde en un gran beneficio para la ciencia europea y la bioeconomía.

RELACIONES ENTRE LAS COLECCIONES DE CULTIVO PÚBLICAS

La decisión de la UE de apoyar el proyecto MIRRI por un período de tres años en la fase preparatoria se fundamenta en dos razones. Por un lado, en la enorme y creciente importancia de bacterias, hongos, virus y líneas celulares para la investigación y la industria, así como la necesidad de optimizar su disponibilidad a través de las instalaciones de servicios públicos. Por otro lado, en la tradicional existencia de relaciones informales entre los CRM europeos generadas a través de proyectos previos financiados por la UE, reconocida como valiosa y ampliable. MIRRI es la base para la construcción de una estructura mejor coordinada y con sinergias innovadoras que permitirá a los usuarios el acceso tanto al material biológico de alta calidad, la información y conocimiento asociado al mismo, como a las propias instalaciones de la infraestructura para la realización de estancias y aprendizaje. Todo ello bajo un marco legal y de forma coordinada entre los diferentes CRM.

La necesidad de vincular los intereses comunes de las colecciones microbianas públicas y sus usuarios se recono-

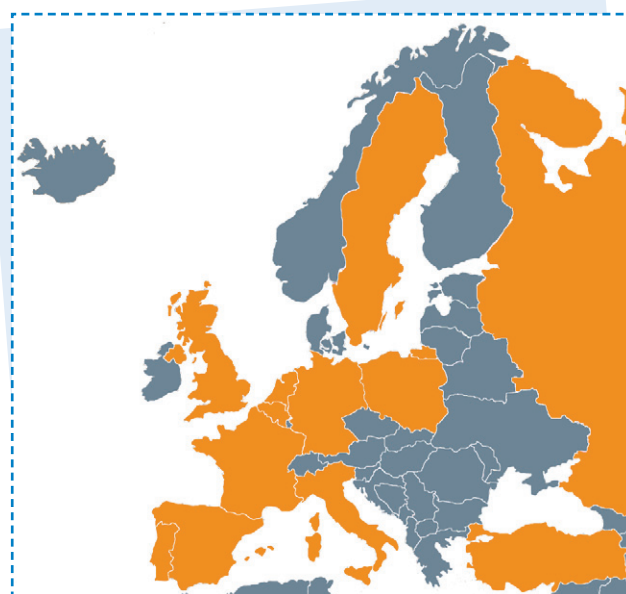


Fig. 1. Países integrados en el Proyecto MIRRI.

ció por primera vez, y fue puesta en práctica por la UE, a mediados de la década de 1980 con el proyecto MINE³. En el siguiente proyecto, CABRI³, algunas de las colecciones más importantes de Europa permitieron el acceso a los contenidos de sus catálogos individuales para su comparación a través de un motor de búsqueda, que en la versión actualizada proporciona acceso a un hiper-catálogo. Al mismo tiempo, se desarrolló un modelo de directrices para las técnicas de laboratorio y para el procesamiento de datos de material biológico que fue publicado también en línea. Ambos constituyeron una valiosa base para el establecimiento por la OCDE del nuevo concepto «Centros de Recursos Biológicos» acuñado en 2001 en el marco de una iniciativa del gobierno japonés. La OCDE fue encargada en 1999 de elaborar directrices que permitieran a las colecciones microbiológicas satisfacer el incremento de demandas resultantes del creciente interés en la biodiversidad y la genómica, así como responder al

correspondiente aumento en los requisitos de calidad de los materiales biológicos y sus datos asociados, que a su vez conduciría a un mayor acceso a la información. Los usuarios de cultivos microbiológicos constituyen uno de los ejes de la bioeconomía, y por ello se les debe ofrecer un espectro más amplio y de mayor calidad de recursos, datos y servicios. La mayor cantidad de conocimiento científico y biotecnológico debería influir de forma más eficiente en los procesos de producción con el fin de generar métodos eficaces y sostenibles para el desarrollo de nuevos productos («Biotecnología blanca», Alfred Oberholz, Degussa AG).

El proyecto EBRCN³, continuación de CABRI, tomó elementos de la propuesta de la OCDE para los Centros de Recursos Biológicos (BRC)⁴ y de la posterior publicación en 2007 de las «*OECD Best Practice Guidelines for Biological Resource Centres*»⁵ que exigían mejorar la estrategia de las colecciones de cultivo públicas con el fin de satisfacer las demandas de una biotecnología más eficiente para el siglo XXI. El objetivo de EBRCN era encaminar las directrices de calidad establecidas por la OCDE hacia un sistema ISO de gestión de calidad. A continuación, el proyecto EMbaRC³ amplió el espectro de actividades y abordó temas de actualidad como la seguridad biológica, la mejora de los métodos de identificación y el desarrollo de una red europea de bancos de ADN.

MIRRI COMO PARTE DE UNA RED GLOBAL DE CENTROS DE RECURSOS

Entre 2008 y 2011, el Ministerio Federal Alemán de Educación e Investigación (BMBF) dio otro paso importante hacia la expansión de una bioeconomía basada en el conocimiento para apoyar la investigación y la biotecnología, mediante la financiación de un proyecto piloto para el desarrollo de una Red Global de Centros de Recursos Biológicos (Global BRC Network, GBRCN)⁶. En resumen, se reconoció la necesidad de establecer normas uniformes y de alta calidad para conseguir el objetivo acordado de cooperación en investigación y desarrollo global. Para mejorar el acceso y la entrega de los recursos microbianos a nivel mundial, el resultado de este proyecto piloto indicaba la recomendación a los gobiernos nacionales de iniciar el mecanismo mediante actividades políticas internacionales coordinadas. En particular, el informe final GBRCN destaca la oportunidad de agrupar varias actividades a través de una infraestructura global, cuya actual fragmentación es un obstáculo para el progreso, y de mejorar la colaboración entre los CRM, usuarios, autoridades y proveedores de fondos con el fin de encontrar soluciones innovadoras a problemas globales tales como la salud, la seguridad nutricional y el cambio climático.

Puesto que, tal como define la OCDE, estas iniciativas conciernen a todo tipo de material biológico, una secretaría GBRCN tendrá que constar de varios nodos, cada uno responsable de un tipo particular de material biológico. Dentro de un nodo microbiológico (procariotas, eucariotas microbianos), se podría prever un consorcio de socios regionales que representarían a las distintas regiones del mundo.



Algunas regiones ya están en proceso de desarrollo de tales redes (Asia Oriental, Brasil, Australia, EE.UU.) pero hasta el momento ninguno en Europa podría representar esta región con un mandato político. Debido a su ambicioso objetivo, si MIRRI tiene éxito, estaría destinado en el futuro a asumir el papel de liderazgo de la red global europea.

LOS PASOS SIGUIENTES

En la etapa inicial, la tarea de MIRRI, coordinado por la DSMZ y con el apoyo administrativo del Centro Helmholtz de Investigación sobre Infecciones en Braunschweig (Alemania), se centrará en el desarrollo estratégico. Al final de esta fase, el concepto desarrollado de CRM como infraestructura europea mejor integrada tiene que convencer a los responsables de la toma de decisiones de política nacional sobre el valor añadido para los usuarios (en la ciencia y la industria, así como para los gobiernos y otros organismos oficiales). Sin el apoyo sus gobiernos, los respectivos CRM nacionales no podrán jugar un papel activo en la implementación de las recomendaciones durante la segunda fase («Implementation Phase»).

Las múltiples tareas durante la fase preparatoria se han dividido en paquetes de trabajo, que en resumen persiguen el desarrollo de los siguientes objetivos a desarrollar durante la fase de implementación:

- Criterios funcionales para MIRRI como una infraestructura global que facilite recursos y servicios, esquema de la estructura de gestión y criterios para la adhesión a MIRRI. Ello requiere conocer y evaluar las necesidades de los usuarios.
- Estructura conceptual de una secretaría, estructura de la futura gestión, estatuto jurídico y planes financieros y económicos.

- Criterios básicos de la gestión de calidad y normas específicas de CRM.
- Estructuras de comunicación entre los CRM, y entre estos y los usuarios, así como con las autoridades políticas nacionales e internacionales; entre MIRRI y otras infraestructuras de investigación dentro de ESFRI.
- Mejora de la provisión de servicios (incluyendo el material y la experiencia), la educación y la formación para usuarios y personal de los CRM.
- Mejora de la calidad, la cantidad y la interoperabilidad de los datos relacionados con los recursos, así como el acceso a tales datos.
- Aplicación de los acuerdos internacionales sobre el acceso a los recursos microbianos.

EN BUSCA DE DIÁLOGO...

Con esta breve presentación de MIRRI, los traductores de este artículo, que son miembros de la fase preparatoria de MIRRI, hacen un llamamiento a todos los microbiólogos a participar activamente en la consecución de los objetivos MIRRI. El éxito de este proyecto depende de un estrecho diálogo entre los MRC y sus usuarios; la participación de

los usuarios es crucial para poder diseñar estrategias convincentes. Si usted es el responsable de una colección de microorganismos derivada de proyectos de investigación, un científico usuario actual o potencial de material microbiano en una universidad u otra institución científica, o un investigador que trabaja en la bioindustria y está interesado en colaborar, por favor póngase en contacto con andre.oumard@dsmz.de.

BIBLIOGRAFÍA

1. **MIRRI** (<http://www.mirri.org>).
2. **ESFRI** (http://ec.europa.eu/research/infrastructures/index_en.cfm?pg=esfri).
3. **MINE**, Microbial Information Network Europe; CABRI: Common Access to Biological Resources and Information (<http://www.cabri.org>); EBRCN, European Biological Resource Center Network (<http://www.ebrcn.net>); EMbaRC, European Consortium of Microbial Resources Centres (<http://www.embarc.eu>).
4. **Biological Resource Centres** Underpinning the future of life sciences and biotechnology (<http://www.oecd.org/sti/biotechnologypolicies/biologicalresourcecentres.htm>).
5. **OECD Best Practice Guidelines** (<http://www.oecd.org/sti/biotechnologypolicies/oecdbestpracticeguidelinesforbiologicalresourcecentres.htm>).
6. **GBRCN** (<http://www.gbrcn.org>).

NUEVOS SOCIOS DE LA SEM

- | | | |
|--------------------------------|--|--|
| • Agudo Pena, Sonia | • Gallego Parrilla, José Jesús | • Peñalva Soto, Miguel Ángel |
| • Aranda Ballesteros, Elisabet | • Garção Curiao, Tania Isabel | • Pérez Andrés, Jenifer |
| • Bárcena Varela, Sergio | • García Fierro, Raquel | • Pérez Cruz, Carla |
| • Blesa Esteban, Alba | • Gómez Ramiro, Cristina | • Pérez de Nanclares Arregui, Elixabet |
| • Caballo Ponce, Eloy | • Grau Cotonat, Maica | • Pérez Gómez, Mercedes |
| • Civicos Villa, Carlos | • Hernández Sánchez, Verónica | • Ramió Pujol, Sara |
| • Correia, Benedito Eduardo | • Leiro Vidal, José Manuel | • Rodríguez Herrán, Alexandra |
| • Corrocahno Peláez, Luis M. | • Martín de la Cruz, M ^a del Carmen | • Rufián Plaza, José Sebastián |
| • Corsini Carvalho, Bruno | • Martínez Hidalgo, Pilar | • Sánchez Andrea, Irene |
| • Crespo Puig, Anna | • Mascaraque Martín, Victoria | • Sánchez Busó, Leonor |
| • Cubero González, Meritxell | • Moreno Verbo, Isabel | • Serch Arroyo, Mònica |
| • Díaz de Tuesta García, Juan | • Muñoz Gil, Jesús María | • Simón Valencia, María Carmen |
| • Dueñas Viñuela, Cristina | • Noguerola Solà, Imma | • Tarazona Castelblanque, Eva |
| • Durán Prieto, Laura | • Oiartzabal Arano, Elixabet | • Uriz Lespe, Josune |
| • Esquinas Villajos, Zaira | • Palacios González, Isabel M ^a | • Vázquez Castellanos, Jorge Francisco |
| • Estupiñán Romero, Mónica | • Pazos Arenal, Marta | • Vera Gargallo, Blanca |

Altas desde el 23/11/2012 hasta 21/4/2013

Nacer en una gota

Un nuevo libro de
Rubén Duro

En una carta fechada el 7 de septiembre de 1674, Anton van Leeuwenhoek, un comerciante de telas holandés, describió por primera vez unas minúsculas formas de vida al observar, a través de una simple lupa construida por él mismo, una gota de agua de un lago cercano a Delft. Sus descripciones sobre la maravillosa vida microscópica que se esconde en una gota de agua fueron recibidas con escepticismo por muchos científicos de la época, incluso de la prestigiosa *Royal Society* londinense.

Sin escepticismo, pero con la misma emoción y sorpresa, casi 340 años después, Rubén Duro nos ofrece una exquisita selección de las mejores fotografías del mundo microscópico que se esconde en una simple gota de agua. Seres vivos diminutos que solos vemos gracias al microscopio, y que Rubén Duro tiene la maestría de enseñarnos. Miden no más de unos cientos de micras (una micra es la milésima parte de un milímetro). Diminutos pero de una gran importancia ecológica, reciclan la materia y la energía, y muchos son la base de las cadenas alimenticias de nuestro planeta. De nuevo nos recuerda que son microorganismos no sería posible la vida en la Tierra.

El autor aprovecha las imágenes para, de forma muy didáctica y divulgativa, explicarnos las distintas estrategias de reproducción del mundo microscópico. Desde protozoos ciliados que se dividen por bipartición, hasta el desarrollo larvario de algunos mosquitos, pasando por los partos múltiples de la pulga de agua *Daphnia*, o la gemación del pólipo de agua dulce *Hydra*. De la mano del

autor, nos asomamos a la lucha por la supervivencia, a la evolución en una gota de agua. Distintas formas de nacer, pero todas en el agua. Y entendemos un poco mejor por qué hace millones de años la vida surgió en una gota de agua, por qué el agua es vida.

La obra incluye excelentes fotografías de distintos seres vivos microscópicos, algunos en estado larvario: protozoos ciliados (*Oxytricha*), amebas (*Arcella*), rotíferos (*Cephalodella*, *Ptygura*, *Rotaria*), nematodos y anélidos (*Chaetogaster*) de tamaño microscópico, pólipos de agua dulce (*Hydra*), pulgas de agua (*Simocephalus*, *Alona*, *Chydorus sphaericus*, *Daphnia pulex*), copépodos (*Cyclops*, *Harpacticoida*), microcrustáceos (*Artemia salina*), ácaros acuáticos, pequeños mosquitos de los grupos de quironómidos y ceratopogónidos, insectos como los tricópteros, minúsculos caracoles de agua dulce, mosquitos del género *Culex*, simúlidos, colémbolos y piojos. Todo un universo de vida, biología hecha vida.

Gracias a Rubén Duro, colega, biólogo y divulgador científico, por las horas, muchas horas que ha pasado pegado al microscopio. Y gracias por compartir con nosotros este apasionante mundo. ¡Enhorabuena!

Nacer en una gota. Rubén Duro. 2013. 3,14 Servicios Editoriales, S.L. D.L.: B.4177-2013. <http://www.314-editoriales.es/nacerenunagota/>

Ignacio López Goñi
Universidad de Navarra

A veces tenemos la suerte y privilegio de vivir en primera persona páginas irrepetibles de la Historia de la Microbiología. Congresos internacionales, premios, grandes momentos, anécdotas... ¿Estuviste allí? Cuéntanoslo a los socios de la SEM. ¿Tienes un blog sobre Microbiología? ¿Opinión? ¿Divulgación? Envíanos tu post favorito. Todos los investigadores llevamos un reportero dentro.

Notas para esta sección a semaforo@semicrobiologia.org

Pasado, Presente y Futuro de la Sociedad Uruguaya de Microbiología

Prof. Matilde Soubes

Cátedra de Microbiología de la Facultad de Química, Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay



Instantáneas del reciente congreso de la SUM en Montevideo.

NÚMERO 55

16

SEM@FORO

JUN.
2013

HISTORIA

En septiembre de 1939, en el III Congreso Internacional de Microbiología en Nueva York, se realizó una reunión de microbiólogos de América en la que se resolvió crear la Sociedad Panamericana de Microbiología, con filiales en todos los países de América. Su Comisión Provisoria fue: Presidente Alfredo Sordelli de Argentina y el Secretario, F. Duran Reynals de EE.UU.

En abril de 1940, se fundó la Sociedad Uruguaya de Microbiología (SUM) durante una reunión realizada en el Instituto de Higiene, en Montevideo. Ahí se constituyó el Comité local provisorio, integrado por Estenio Hormaeche (Presidente), Miguel Rubino, Rodolfo Tálce, Rafael Schiaffino y Juan E. Mackinnon (Secretario).

Hubo luego un período de transición hasta que en abril de 1961 el Director del Instituto de Higiene (Dr. Ciro A. Peluffo), solicitó al Presidente de la «*International Association of Microbiological Societies*» (IMS), Stuart Mudd, aceptara al Instituto de Higiene como miembro de la Sociedad Internacional en representación de Uruguay.

Sin perjuicio de lo anterior, en Asamblea de Microbiólogos realizada el 6 de agosto de 1962, se resolvió refundar la Sociedad Uruguaya de Microbiología y se designó una Comisión Provisoria abriéndose un período hasta el 30 de abril para el registro de solicitudes de afiliación a la Sociedad, adjuntando un proyecto de Estatutos.

Se adquirió Personería Jurídica recién el 29 de diciembre de 1978, en Montevideo, siendo sus miembros fundadores Roberto Caffarena, Raúl Somma, Sara Ballardini,

Horacio Laborde, Eleuterio Vallote, Carmen Legnani, Alicia Arias, Gloria Martínez, Ismael Conti, Héctor Jiménez y Luis Calegari, según consta en actas.

Estos procedimientos fueron aprobados en agosto de 1979, y en abril de 1980 se obtiene autorización de las autoridades del período de facto para realizar la elección de nuevas autoridades, que se concretaron el 12 de mayo de 1980.

La Sociedad Uruguaya de Microbiología es una Sociedad de carácter exclusivamente científico, sin fines de lucro cuyos propósitos se establecen en el artículo 2° de sus Estatutos que son:

- a) Promover e incentivar el estudio, la enseñanza y la investigación en Microbiología.
- b) Facilitar el intercambio de información y experiencias, estimulando las producciones de valor científico y su divulgación en ámbitos pertinentes.
- c) Promover actividades que signifiquen progreso para la Microbiología nacional, teórica y aplicada, procurando que tanto la acción colectiva como la individual se rijan por estrictos principios de ética.
- d) Mantener vinculación con organizaciones internacionales y otras nacionales dedicadas a la Microbiología.
- e) Asesorar a personas o a instituciones del Estado o privadas que crean puedan ser beneficiadas.

Se destaca asimismo que esta asociación no tendrá incumbencia en asuntos de naturaleza gremial ni política, y que se excluye de sus propósitos sociales toda otra finalidad que las previstas en sus estatutos.

SITUACIÓN ACTUAL

Uruguay tiene 3,5 millones de habitantes y la Sociedad Uruguaya de Microbiología entre 100 y 150 socios.

Los socios profesionales, incluidos los docentes universitarios, pagan una cuota anual de 20 dólares americanos y los estudiantes de grado 10 dólares.

Si bien no se cuenta con una sede propia, en los últimos años se han realizado las reuniones en el Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Instituto dependiente del Ministerio de Educación y Cultura, que es su dirección oficial a efectos legales.

Todas las personas que trabajan para la Sociedad Uruguaya de Microbiología, lo hacen en forma honoraria.

La Comisión Directiva actual está integrada por: Matilde Soubes (Presidente), Pilar Irisarri (Vicepresidente), Magela Laviña (Tesorera), Martín Fraga (Secretario) y Lucía Yim, María Albini, María Inés Siri, Claudia Etchebehere, Inés Mota, Margarita Sicardi, Gabriela García, Paola Scavone, Eloisa Poey y Viviana Ramas (vocales).

En función del bajo número de socios que cubren prácticamente a todos los actores del área académica (Universidades e Institutos de Investigación), no se han constituido ramas, sino que la Comisión Directa que es electa cada dos años se integra en función de una lista confeccionada con actores de las diferentes ramas de la Microbiología.

ACTIVIDADES NACIONALES

No se edita ninguna revista, sino que se envían boletines a los asociados.

Se realiza anualmente una Jornada Académica donde se trata por parte de especialistas algún tema de relevancia nacional o internacional.

Además se cierra la actividad anual con la presentación oral resumida de varias tesis de posgrado ya defendidas, por parte de los jóvenes recientemente graduados que se seleccionan en base a su calidad y tratando de cubrir una vez más diferentes áreas de la microbiología.

Congreso. Cada dos años se realiza el Encuentro Nacional de Microbiólogos, donde se realizan presentaciones orales, paneles y se invita a algunos científicos extranjeros. El presente año del 15 al 16 de abril se llevó a cabo en Montevideo y asistieron a él unos 180 científicos.

ACTIVIDADES INTERNACIONALES

La SUM ha participado desde su fundación en la Asociación Latinoamericana de Microbiología; es así que en 1971 se realizó en Punta del Este el Congreso Latinoamericano de Microbiología.

En el año 2008, en la Asamblea de ALAM realizada durante el Congreso Latinoamericano en Quito, Uruguay propuso el ingreso de España y Portugal a la ALAM, lo cual fue aprobado.

En el año 2010, del 27 al 30 de septiembre, se realizó en Montevideo el XX Congreso Latinoamericano de Microbiología ALAM2010 en el que participaron más de 1000 científicos de 23 países. En dicha oportunidad se ratificó la admisión de la recientemente creada Sociedad Colombiana de Microbiología como miembro activo y se designó a la «*American Society for Microbiology*» como Institución Asociada. Es de destacar el apoyo recibido en dicha oportunidad por la Sociedad Española de Microbiología a través de su Presidente el Dr. Guerrero quien además de dictar la conferencia inaugural, colaboró para organizar un Simposio con participación exclusiva de microbiólogos españoles, que se ha vuelto una tradición en los Congresos de ALAM.

También la SUM se halla integrada la «*International Union of Microbiological Societies*» (IUMS).

Recientemente hemos firmado un acuerdo con la Sociedad Argentina de Microbiología y con la Sociedad de Brasilera de Microbiología lo hay de hecho, por los cuales los socios de unas y otras instituciones tienen idénticos beneficios en los tres países a efectos de participar de eventos y cursos.

EL FUTURO

La microbiología en Uruguay está creciendo en forma sostenida, ampliándose permanentemente las áreas de investigación, y se está formando un número importante de jóvenes que esperamos se puedan insertar en diferentes campos de trabajo.

También seguiremos trabajando para incorporar más microbiólogos, fundamentalmente de las áreas profesionales a nuestra Sociedad.

V Reunión del Grupo Microbiología de Plantas en Girona

Ramón Penyalver

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA)

Del 10 al 12 del pasado mes de abril se celebró en Girona la V reunión del grupo especializado «Microbiología de Plantas» (MiP), durante la cual se produjo un relevo parcial en la Junta Directiva. Los resultados de las votaciones (29 votos emitidos de 60 socios) celebradas por primera vez en nuestro grupo íntegramente «on-line», a través de la página web de la SEM, llevaron a la elección de los siguientes socios para los cargos que se relacionan a continuación: como Vicepresidente, **Pablo Rodríguez Palenzuela** (CBGP-UPM-INIA), como Secretario, **Diego Romero Hinojosa** (IHSM-UMA-CSIC) y como Vocal, **Marta Martín Basanta** (UAM). Los elegidos han relevado a **Alejandro Pérez García** (IHSM-UMA-CSIC) en el puesto de Secretario y a **Ramón Penyalver Navarro** (IVIA) en el de Vocal. La Junta Directiva y la Asamblea de Socios del grupo estuvieron de acuerdo en agradecer la tarea desarrollada por los miembros salientes, que han trabajado por la consolidación del grupo desde su creación; así como en felicitar a las nuevas incorporaciones por su elección, deseándoles una fructífera gestión. Durante la misma también se refrendó a Ramón Penyalver como el encargado de la difusión de las actividades del grupo. Tras las elecciones la Junta Directiva del Grupo quedó compuesta, además de por los recién elegidos, por **Nuria Gaju Ricart** (UAB) como vocal, **Emilia López Solanilla** (CBGP-UPM-INIA) como Tesorera y **Antonio de Vicente Moreno** (IHSM-UMA-CSIC) como Presidente (**Fig. 1**).

En el Parque Científico y Tecnológico de la Universidad de Girona, y organizada por el grupo de Patología Vegetal de dicha Universidad, dirigido por el Dr. **Emilio Montesinos** (ITA-CIDSAV-UG) y con la presencia del Dr. **Ricardo Guerrero** (UB) (Presidente de la SEM) (**Fig. 2**), se dieron cita 72 participantes principalmente de universidades, así como otros del CSIC, INIA, IVIA y algunas empresas (**Fig. 3**).

El formato de la misma fue, el ya clásico en esta reunión bienal, dar preferencia a la exposición oral de los trabajos por parte de los estudiantes predoctorales o postdoctorales, que presentaron 42 comunicaciones sobre los aspectos más recientes en el campo de la Microbiología de plantas, tanto a nivel molecular, en especial sobre las bases moleculares de las interacciones beneficiosas y patogénicas en las plantas, tanto con bacterias, como con hongos, como en aspectos más aplicados, en especial sobre los avances en el desarrollo de aplicaciones para su explotación en forma de nuevos productos bioplaguicidas y biofertilizantes. Como



Fig. 1. El Dr. Antonio de Vicente, Presidente del MiP, en uno de los momentos de su intervención, destacando que «ya podemos decir» que el grupo especializado de Microbiología de Plantas de la SEM se ha consolidado como tal, después de cinco reuniones bienales, la alta participación y la gran calidad científica de sus miembros.

novedades o avances considerables, respecto a la reunión anterior, cabría destacar, entre otros, la presentación de una herramienta informática para el análisis de genomas de bacterias asociadas a plantas, así como, la disección de varios genomas de agentes de biocontrol. Se mostró que la luz puede controlar procesos esenciales también en bacterias asociadas a plantas, y se describió por primera vez a la bacteria «*Candidatus Liberibacter solanacearum*», asociada a desarreglos vegetativos en hortalizas. En el mundo de los hongos, se presentaron avances considerables, entre otros, sobre estudios transcriptómicos en la interacción de dos hongos, así como, en el análisis funcional de mutaciones que confieren resistencia a los fungicidas benzimidazoles.

Además, durante la reunión, el Centro de Innovación y Desarrollo en Sanidad Vegetal (CIDSAV) de la red TECNIO



Fig. 2. La inauguración de la V Reunión del MiP contó, entre otros, con la presencia del Dr. Ricardo Guerrero, presidente de la SEM.

organizó una jornada dedicada a bioplaguicidas y biofertilizantes microbianos, que contó con más de 140 participantes, entre científicos, técnicos y empresas del sector. Se analizaron las «Perspectivas y limitaciones de los bioplaguicidas y biofertilizantes microbianos», a cargo de **Emilio Montesinos** (ITA-CIDSAV-UG); el «Desarrollo, registro y comercialización desde la experiencia de una PYME»,

a cargo de **Carolina Fernández** (Futureco Biosciences), y finalmente la «Biosseguridad de las bacterias beneficiosas para las plantas desde la genómica» por **Brion Duffy** (Agroscope Changins-Wädenswil, Suiza). Posteriormente se celebró una Mesa redonda que dejó patente el interés de este tema.

En conclusión, hay que destacar el gran éxito de participación y la alta calidad científica de la reunión.



Fig. 3. Asistentes a la V Reunión del MiP celebrada en Girona.

Jaime Ferrán

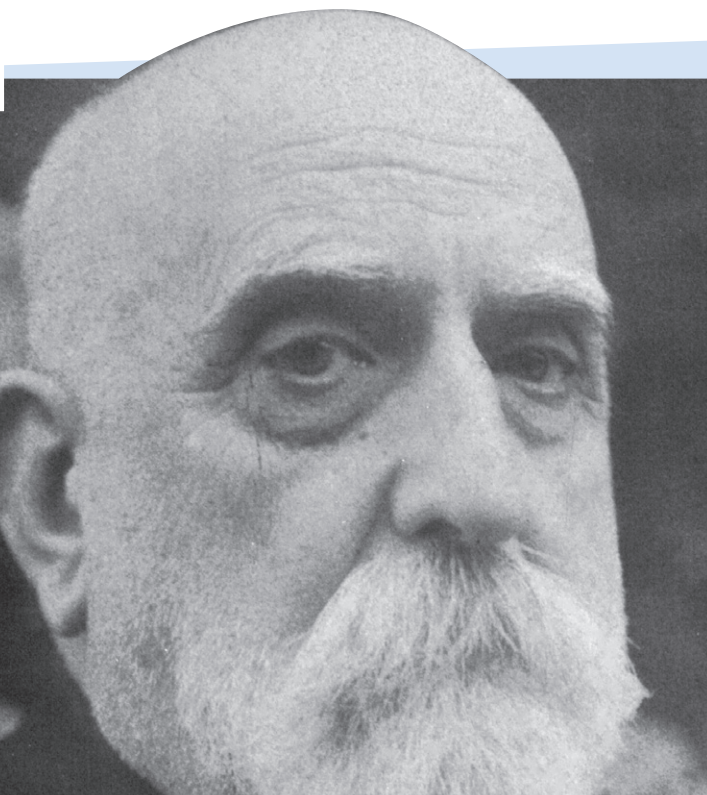
Más allá de la Microbiología

INOCULACION PREVENTIVA DEL CÓLERA MÉTODO FERRÁN.

ADVERTENCIAS.

- 1.ª La inoculación se practica por medio de inyecciones hipodérmicas de un centímetro cúbico del líquido profiláctico en cada brazo.
- 2.ª Los efectos que la inoculación produce son de dos clases: unos en el sitio mismo donde se hacen las inyecciones y se reducen a un dolor que aparece a las dos ó tres horas, que no es muy intenso y que cesa al día siguiente casi por completo; otros son generales y la mayor parte de las veces se limitan a un escalofrío más ó menos fuerte y una fiebre no muy alta, de 24 horas, acompañada de un debilitamiento, pesadez y dolor de cabeza. A los tres días todo ha terminado. En los treinta mil inoculaciones practicadas hasta ahora no ha habido accidente alguno. La Comisión oficial nombrada en Mayo por el Gobierno y la Real Academia de Medicina de Madrid han declarado inofensivas las inoculaciones en sus informes.
- 3.ª La vacuna anticolérica necesita cierto tiempo para actuar, que se ha calculado en trece días, teniendo también en cuenta el período de incubación del cólera. En una población de incubación del cólera, que vayan a ser epidémica, puede suceder que, sin saberlo, vacunados algunos individuos que, sin saberlo, llevan ya dentro del cuerpo el germen del cólera: a estos la vacuna no da inmunidad porque es inútil, puesto que dichos individuos están ya infectados; pero si es inútil, es completamente inofensiva y no aumenta ni agrava el mal.
- 4.ª No puede, pues, contarse con la inmunidad de la vacuna hasta cinco días después de hecha la inoculación. Los vacunados que se ven atacados dentro de dichos cinco días están fuera de la acción preservadora de la vacuna.
- 5.ª Una vez pasados los cinco días, el número de invasiones y muertes entre los vacunados disminuye notablemente, y hasta pueden reducirse a cero, como se prueba por las estadísticas hechas por los médicos en Benifayó, Cheste y Rafelcofer, donde sufrieron la inoculación casi todos sus habitantes.
- 6.ª Ninguna vacuna preserva en absoluto de la enfermedad: la vacuna de la viruela no impide que algunos de los individuos vacunados mueran de ella. Lo mismo sucede con la vacuna del cólera: esta no impide tampoco en absoluto la muerte, pero reduce notablemente la cifra de invasiones y de mortalidad, que ordinariamente es de 80 por 100, al 8 ó al 10 por 100.

Alicante 11 Agosto de 1885.
J. FERRÁN.



Jaime Ferrán¹ y Bruno González-Zorn²
¹Ing Ind. nieto del Dr. Ferrán, ²Univ. Complutense Madrid

Jaime Ferrán y Clua es reconocido como el primer microbiólogo español que tuvo proyección internacional.

Su gran hito fue ser el primero en obtener la inmunización activa humana mediante una vacuna bacteriana, lo que le valió el premio Bréant de la Academia de Ciencias, de París en 1907. La vacunación masiva durante la epidemia de cólera de Valencia se inició en Alcira el 24 de abril del 1885 y se vacunaron al final de la campaña cerca de cincuenta mil personas.

Su padre, Juan Ferrán y Llombart¹, fue médico en Corbera de Ebro. Casó con una hija del pueblo, Liberata Clua, y tuvieron a su hijo Jaime el 1 de febrero de 1851². Hijo único, a la muy temprana muerte de su madre, se fue a vivir con una hermana de su madre a Mora de Ebro, hasta que se reunió con su padre en Tortosa, donde terminó el bachillerato el 9 de junio de 1869. Ese mismo año inicia sus estudios de medicina en Barcelona y se licencia el 9 de Diciembre de 1873.

Al terminar sus estudios fue destinado a un pequeño pueblo llamado Pla del Penedès. Desde allí se instala en el 1874 en Tortosa, donde ejerce la oftalmología y la electroterapia que había estudiado con Eduardo Bertrán y Eusebio Nonell. Se fabrica una instalación de corriente galvánica

y farádica y aplica corrientes a pacientes hemipléjicos. Ferrán, además de ser el médico titular, es nombrado Director del Hospital Civil de la Casa Provincial, Subdelegado de Medicina y médico del puerto.

Debido a que la conjuntivitis tracomatosa era endémica en aquella zona, profundiza en sus estudios de oftalmología que había cursado con el Dr. Josep Caralt y Mateu y ejerce también como oculista.

En Tortosa conoce al «ingeniero» Inocencio Paulí³, primo de su esposa, que será su colaborador hasta 1890, con quién desarrollará gran parte de su obra científica, particularmente la no médica. Paulí le presenta a José Joaquín Landerer, valenciano casado con una hija de Tortosa que era una persona autodidacta y poliglota y reputado astrónomo, geólogo y paleontólogo, que poseía una importante biblioteca científica. La posición económica desahogada de Landerer, le permite a Ferrán disponer de su biblioteca y de su gran cantidad de sus instrumentos científicos y utiliza el microscopio que Landerer usa para sus estudios de las rocas hasta que encarga su propio microscopio a Nachet en París.

Landerer colaboraba con la *Académie des Sciences* de París publicando en sus *Comptes Rendus*. Así, Ferrán a lo

largo del año 1879 se interesa por la microbiología leyendo las comunicaciones de Pasteur⁴ entre otros, que se publicaban en los *Comptes Rendus* de la Academia de Ciencias.

Se casa en el 1877 y, durante el año 1879, ejerce en Zaragoza como médico-oculista, habiendo constancia que estuvo allí hasta la Navidad de ese año como mínimo, aunque se desconocen hasta hoy los motivos por los que se fue a ejercer a Zaragoza durante un tiempo.

En el año 1880, a los 29 años de edad, inicia sus trabajos microbianos en su laboratorio de Tortosa, preparando por primera vez en España en 1882 las vacunas pasteurianas contra las epizootias (los entonces llamados «rouget» y «carbúnculo»).

En el 1884 presenta a la Real Academia de Medicina de Madrid su premiada⁵ «Memoria sobre el parasitismo bacteriano».

A raíz de este trabajo, y ante la epidemia de cólera que asola el Mediterráneo, el Ayuntamiento de Barcelona crea una comisión de la que forma parte, para que acuda a Toulon y Marsella. Ferrán y Paulí conocen allí a los comisionados por el gobierno francés, los microbiólogos Nicatti y Riestch, con quienes aprenden a identificar el microbio del cólera en los excrementos de los enfermos, y con quienes mantendrá una continua correspondencia, comunicándose los avances que están haciendo⁶, y a quienes remiten además fotografías que Ferrán y Paulí habían hecho en Marsella.

Regresan a Tortosa, y el 13 de diciembre de 1884, en una carta⁷ a Nicatti y a Riesch, Ferrán le comunica que han encontrado la forma de vacunar cobayas contra el cólera y visto el buen resultado, se han auto-vacunado y *«que hasta ese momento están de maravilla y que van a continuar sus experiencias y llenar sus humanidades (sic) de coma-bacilos»*.

El 7 de enero de 1885 Ferrán presenta un comunicado «Estudios sobre el cólera», al Ayuntamiento de Barcelona y a la Real Academia de Medicina y Cirugía de Barcelona, que nombra una comisión que confirma los experiencias del estudio, y propone para Ferrán además de una medalla de oro, que el Ayuntamiento de Barcelona monte un laboratorio a semejanza de los recientemente creados de Higiene de París y Bruselas, y que bajo la dirección de Ferrán se ocupe de los estudios microbiológicos⁸. El 16 de diciembre de 1886 Ferrán es nombrado Director del futuro Laboratorio Microbiológico Municipal de Barcelona, el primero de su clase en España, y que empezó con las primeras vacunaciones antirrábicas el 17 de mayo de 1887⁹.

Es curioso resaltar que el Ayuntamiento de Barcelona hace saber a Pasteur que va a constituir un laboratorio municipal dirigido por Ferrán y que Pasteur por carta fechada desde Bordighera en Italia, felicita al Ayuntamiento por la iniciativa y por la elección del Dr. Ferrán como director. Añade que la microbiología está progresando y está llamada a dar a la higiene y a la medicina un gran socorro y que el

deber de los grandes municipios es inspirarse en todos las cuestiones que interesen a la salud pública. Se despide ofreciendo toda la colaboración de su laboratorio. El instituto Pasteur de París se construye el año siguiente, en 1888.

Entre tanto, a principios de 1885, un grupo de médicos valencianos encabezados por Amalio Gimeno, ante la proximidad de la llegada del cólera a Valencia, se desplazan a Tortosa para conocer los trabajos de Ferrán y convencidos de la bondad de estos se dejan vacunar por el mismo Ferrán.

Cuando se produce la epidemia de cólera en Valencia, a finales de marzo de 1885, a través de Amalio Gimeno, varios ayuntamientos afectados solicitan la ayuda de Ferrán y junto con Paulí y otros colaboradores, montan un laboratorio en casa del ginecólogo Dr. Candela y se desplazan a varios municipios.

En Alcira, donde se inicia la vacunación el 24 de abril de 1885, de sus 16.000 habitantes, se consiguió vacunar a 11.000 y de entre ellos solo hubo 15 defunciones por cólera mientras que del resto se registraron 206 defunciones¹⁰.

Vamos a obviar en este artículo todo lo que rodea al triste desarrollo y desenlace final de las vacunaciones de Valencia y la llamada «cuestión Ferrán» en la que tanto tuvo que ver el Ministro de la Gobernación Romero Robledo y que llegó al Congreso de los Diputados donde Castelar y Sagasta defendieron la vacunación. ¡Un desconocido médico de pueblo estaba diciendo a los estamentos médicos de la época lo que la ciencia conocida no avalaba!

En realidad, durante toda su producción científica, las afirmaciones de Ferrán parecían en un primer momento poco científicas y más empíricas, aunque el tiempo las confirmaría en su gran mayoría.

La excelente tesis doctoral del doctor en historia, Juan José Fernández Sanz¹¹ aborda con gran profundidad todos los aspectos políticos, médicos, sociodemográficos y económicos de la primera vacunación masiva humana con una vacuna biológica bacteriana.

El 22 de mayo de 1885, el antiguo profesor de Ferrán, el médico y catedrático José de Letamendi, escribe a Ferrán desde Madrid y le propone que vaya a Madrid para instalar un laboratorio microbiológico¹².

Establece su propio Instituto Ferrán en Barcelona en 1900 donde, desde que abandona el Laboratorio Municipal en el 1906, sigue trabajando e investigando hasta su muerte.

No entraremos en este artículo sobre los detalles de su actividad y producción científica en el campo de otras vacunas, que están en otras publicaciones bien documentados, como sus trabajos en 1886 sobre la

vacuna supra intensiva de la rabia, en 1887 sobre la antitífica, en 1890 sobre el suero antidiftérico, en 1898 sobre la posibilidad de que el agente del tétanos viva en condiciones anaerobias y se vuelva atóxico con lo que se podía preparar una vacuna, en 1899 sobre una vacuna química

Pasteur felicita al Ayuntamiento de Barcelona por la construcción del laboratorio microbiológico municipal y por la elección del Dr. Ferrán como director

* Véase el artículo de Alfonso V. Carrascosa en este mismo número de SEM@foro.

contra la peste bubónica llamada la vacuna anti pestosa Ferrán-Affkine y también sus estudios sobre la tuberculosis con el descubrimiento del bacilo alfa que demuestra que es capaz de mutar el hasta entonces considerado inmutable bacilo de Koch haciendo que este mute e infecte a los organismos lo que le llevó a producir al vacuna Anti-alfa, y por fin sin olvidar tampoco sus aportaciones de levaduras para las industrias vínicas y lácteas catalanas.

El Dr. Ferrán, que habla y escribe en francés y en alemán, no deja de trabajar y publicar hasta 1928, un año antes de su muerte que se produce el 22 de noviembre de 1929.

SU VERTIENTE TÉCNICA

Un cambio de planes en su primer año de estudios, le obligó a hacer un curso preparatorio que estaba a cargo de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales y que incluía las asignaturas de física experimental, química general, zoología, botánica y mineralogía con nociones de geología. Su conocimiento y práctica de la electroterapia y sus estudios de óptica hacen que, desde su instalación en Tortosa el 1874 junto con Paulí y hasta 1879 que ya se dedica plenamente a la microbiología, cultive su vertiente tecnológica.

Existe un debate sobre la instalación de una línea telefónica entre Tortosa y Tarragona, que se les atribuye y de la que dudamos en cuanto a su extensión y sobre el que el químico Salvador Tió i Saureda¹³ ha investigado.

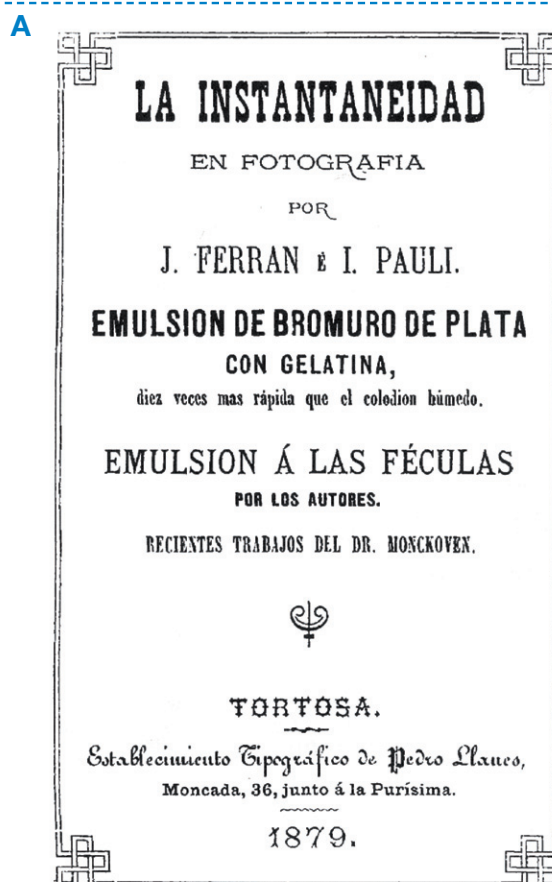
En el 1878, con Paulí, publican en la revista de prestigio *Crónica científica* el artículo «Estudios sobre el micrófono con objeto de establecer su teoría»¹⁴ y en el 1879, en la misma revista, «El Telectroscopio»¹⁵ en el cual contemplan la posibilidad de transmitir imágenes con sus colores naturales mediante el uso de una cámara fotográfica, un telégrafo y la electricidad.

El Dr. Ferrán haría durante toda su vida uso de sus amplios conocimientos técnicos diseñando sus propios equipos tanto para su producción bacteriológica como para sus hobbies científicos.

LA FOTOGRAFÍA INSTANTÁNEA

Ferrán era muy aficionado a la fotografía como ocurría con otros hombres de ciencia de la época y era socio desde 1880 de la Société Française de Photographie a la que se unió Paulí en 1881¹⁶.

En aquella época la fotografía estaba justo superando el reto de poder usar placas pre-preparadas que tuvieran la sensibilidad suficiente para evitar los posados largos. El químico belga Monckhoven, en agosto del 1879, acababa de comprobar que la sensibilidad de las emulsiones de bromuro de plata mejoraban al cambiar su estado molecular y esto se consigue con la adición de amoníaco. Ferrán y Paulí publican en 1879 un libro «La Instantaneidad en Fotografía» en el que se mostraba por primera vez como obtener un soporte sensible y flexible muy rápido para uso fotográfico. Ellos son los primeros en proponer una superficie sensible y mate sobre gelatinobromuro de plata



B

Núm. 268

Este talon, que acompaña á cada ejemplar, dá derecho al comprador á que pueda hacernos las consultas que crea convenientes siempre que se refieran á lo que se trata en nuestro opúsculo, y mediante abono de los gastos de correo. Debe precisamente enviarnos este talon en la primera de las consultas que se nos haga, continuando al pie la direccion:

D. _____

Calle de _____ núm. _____ piso _____

Prévia estipulada retribucion se admiten consultas sobre todos los ramos de la fotografia como són: Fotografia al carbon, foto-litografia, fotografia á las tintas grasas, foto-gliptia, foto-grabado, reproducción de planos, etc., etc.

De la part des auteurs i

Prévo de vouloir en accuser la réception á Zaragoza, D. J. Ferran, Médico oculista á Barcelona, D. I. Paulí, Riera S. Juan, 33, 2.

A. Tapa del libro «La instantaneidad en Fotografía» del Museo de Historia de la Medicina de Cataluña, Barcelona. **B.** Ticket acompañando a cada ejemplar del libro «La instantaneidad en Fotografía». Archivo Ferrán, Museo de Historia de la Medicina de Cataluña, Barcelona.

aunque las primeras emulsiones de gelatinobromuro sobre vidrio son del 1878.

El libro consta de cuatro partes; la primera y más larga hace un estudio en profundidad de lo que se conocía hasta entonces sobre el proceso del gelatinobromuro de plata y explica muy didácticamente su forma de prepararlo; la segunda, de cómo fabricar un soporte flexible; la tercera sobre la substitución de la gelatina por el almidón y la cuarta sobre las investigaciones publicadas hacía semanas por Monckhoven para aumentar la sensibilidad de los soportes. Estas segunda y terceras partes son las grandes aportaciones innovadoras de Ferrán y Paulí al mundo de la fotografía que permitió luego desarrollar películas flexibles y por tanto el soporte para las películas del primer cinematógrafo.

Solo hay en España tres ejemplares originales de este libro, que se sepa, pero es interesante hacer notar que el antes mencionado Salvador Tió ha escrito un importante trabajo¹⁷ de investigación sobre este libro que reproduce en facsímil en su anexo de la edición impresa. En este trabajo Tió repasa además las biografías de Ferrán y Paulí de forma novedosa.

«La Instantaneidad en Fotografía» tiene una difusión mundial ya que lo envían a las principales asociaciones fotográficas europeas y a las principales revistas fotográficas de todo el mundo.

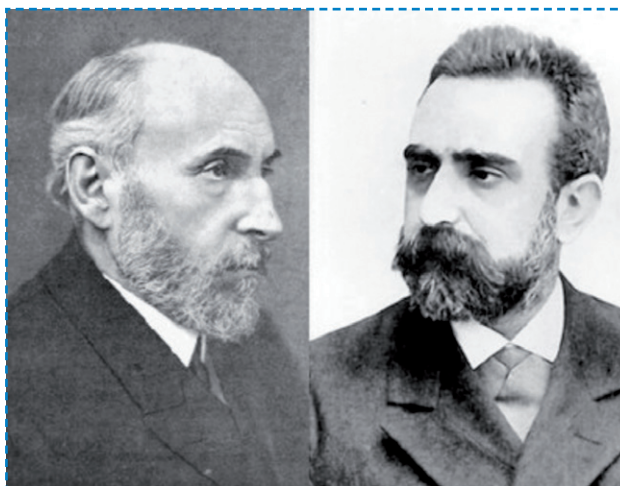
Al final de la década de los 90, Kodak es demandada por un tema de patentes para la fabricación de papel fotográfico mate por la empresa alemana G.J. Junk, y Kodak gana el pleito porque, aunque ella empieza a fabricar los llamados «Mat silver bromide papers» en 1894 y la patente de Junk es del 1893, el proceso ya había sido publicado por Ferrán y Paulí en 1879. En agradecimiento, Kodak regala a Ferrán una de sus más avanzadas cámaras de aquel momento. Tió investiga¹⁸ e intenta confirmar documentalmente con la misma Kodak el tema. Por razones obvias la correspondencia de los departamentos jurídicos no confirma ni desmiente el hecho pero le hacen llegar una carta en la que se hace referencia al pleito y se indica que un «Spaniard» había utilizado antes un procedimiento similar. En la George Eastman House en Rochester, hay dos ejemplares del libro.

Cuando Salvador Tió fue a ver al nieto del Dr. Ferrán y coautor de este artículo, se presentó diciendo que no nos dábamos cuenta de la inmensa importancia que tenían las aportaciones de Ferrán al mundo de la fotografía.

FERRÁN Y CAJAL

Durante la conversación habida con Tió, Jaime Ferrán le hizo notar que en el boleto de consulta que aparece en el libro y que se reproduce aquí (ver Fig. pág. 22), el Dr. Ferrán da una dirección en Zaragoza como médico oculista. Esta estancia en Zaragoza era desconocida para los descendientes del Dr. Ferrán.

Cajal desde su cátedra en Valencia ganada en 1884 y Ferrán, desde Tortosa, se cartean y se tratan como amigos. Tomando los encabezados y las despedidas de las cartas de Cajal a Ferrán que están en el Archivo Ferrán, se desprende una relación cordial.



Cajal y Ferrán probablemente se conocieron en Zaragoza y compartieron la afición por la fotografía.

Así el 17 de febrero Cajal escribe:

D. Jaime Ferrán

Mi estimado amigo y coprofesor:

Difícil disculpa tiene mi larguísimo.....

Escribame cuando quiera que ya no tengo títulos bastantes para rogarle que lo haga pronto y reciba la seguridad más completa de mi consideración y amistad más distinguida.

Santiago Ramón Cajal

Calle de las Avellanas, nº 11, piso 3º der. Valencia

El 8 de julio:

Amigo Ferrán:

...

Dentro de pocos días pasaré por esa y tendré el gusto de abrazarle y hablar sobre estos asuntos...

Santiago Ramón Cajal

Plaza de Comedias, nº 16 2º piso, Valencia

En noviembre:

D. Jaime Ferrán

Mi apreciable coprofesor y amigo: Recibí su atenta última por la cual veo que sigue V. todavía con sus trabajos bacteriológicos con más empeño que nunca.

Yo voy a dejar definitivamente el virgula cuyo terreno juzgo ya muy estéril y voy a emprenderla por otros derroteros.

.....

Dentro de pocos días entraré en la Academia y tendré el gusto de servir a V. en la recomendación que me hace.

Mande lo que guste a su amigo que le quiere,

Santiago Ramón y Cajal



Plano de la ciudad de Valencia en el que se inscriben los fallecimientos por la epidemia de cólera. Cada punto rojo indica una defunción; de El cólera en la ciudad de Valencia en 1885 / memoria de los trabajos realizados durante la epidemia por la Alcaldía al Excmo. Ayuntamiento en nombre de la Junta Municipal de Sanidad de Valencia: Imprenta de Manuel Alufre, 1886, 180, [28] p., [14] (<http://www.ine.es/>).

Pero ¿dónde y cuándo se habían conocido e intimado?

Cajal y Ferrán tenían muchos puntos en paralelo. Ambos nacieron con un año de diferencia, hijos de médico y médicos ellos mismos, trabajaron intensamente con el microscopio en campos completamente nuevos, amantes de la fotografía y la pintura y llenos de inquietud por los avances que la ciencia de la segunda mitad del XIX les ofrecía. Cajal se reúne con su padre en Zaragoza en el 1875 al regreso de su servicio militar en Cuba, se doctora en Medicina y en 1879 gana la plaza de Director de Museos Anatómicos de Zaragoza.

Que Ferrán estuvo en Zaragoza el año 1879 lo prueba un anuncio que publicó en la prensa y que da como domicilio «Cerdá, 63 Principal», y en el que publicita un consultorio médico quirúrgico dirigido por él como médico oculista y de electroterapia. Tió en su trabajo antes citado, concluye que se conocieron a través de la fotografía. En cualquier caso,

pudiéndose haber conocido como médicos en ejercicio en Zaragoza, no hay duda que tuvieron amistades comunes dentro del mundo de la fotografía.

En sus memorias, Ramón y Cajal, hablando de la fabricación y venta de placas al gelatinobromuro¹⁹ a la que se dedicaba en Zaragoza, dice sin mencionar a Ferrán que «Había leído yo en un libro moderno la fórmula de la emulsión argéntica sensible». Como bien apunta Tió, este procedimiento no estuvo al alcance del público en general hasta 1878, cuando se publican los primeros libros en francés, y en España el primero es el de Ferrán en 1879.

Escolá también era amigo de Ferrán y en una entrevista en el Heraldo de Aragón²⁰, con motivo de sus bodas de oro con la fotografía, y refiriéndose a su aprendizaje dice:

- ¿Quién le facilitó a usted los secretos de laboratorio, tan preciados entonces y tan vulgarizados hoy?
- Fue el doctor Ferrán, con el que intimé. Vivía en la estación de Copa, hoy Utrillas, y una tarde, después

de haberlo hecho confidente de mis dificultades, me llevó a su casa, donde me explicó algunas recetas de revelado y preparación de placas al colodión húmedo, único procedimiento que entonces se usaba, y me entregó un libro que trataba de fotografía. Estudié —continúa— y para adquirir práctica marché a mi pueblo donde fotografié gratuitamente a todos mis paisanos. Tuve algunos aciertos y decidí establecerme en Zaragoza con el fin que le he indicado anteriormente.

Escolá cuenta también cómo con Cajal preparaban placas al gelatinobromuro y que Cajal le había un día aportado una placa al bromuro que precisaba tres segundos de exposición en lugar de los tres minutos habituales. En cuanto a lo que cuenta Escolá sobre Ferrán, seguramente este le explicó la aplicación al colodión en lugar de la más nueva del gelatinobromuro porque era más sencillo prepararlo y revelarlo y Escolá tenía necesidad de ganarse la vida de inmediato y podía sacar posteriormente la información necesaria del gelatinobromuro del libro «La Instantaneidad» que le había regalado. En cualquier caso Escolá confirma que Ferrán vivió en Zaragoza y dice dónde.

Por otra parte, el periodista y Secretario de la Sociedad de Historia de la Fotografía Española, Miguel B. Márquez, en su publicación: «Santiago Ramón y Cajal: Algo más que un fotógrafo»²¹, resalta que cuándo Cajal hace referencia en sus memorias a que «Había leído en un moderno libro la fórmula de la emulsión argéntica sensible...»²², se refiere al libro de Ferrán y Paulí, y dice con razón que desvelar esta relación es una «aportación que hace en su publicación pues no había sido investigada con anterioridad». El Doctor, Senador y Académico, Ángel Pulido Fernández, que estuvo en las vacunaciones de Valencia y fue uno de sus primeros vacunados, amigo de Ferrán, en su libro biográfico sobre Ferrán, dice que Ferrán por sus aficiones (entre otras) fotográficas «conoció y trató a Cajal»²³.

La relación entre Ferrán y Cajal se rompe en 1885, después de un informe desfavorable que Cajal hizo para la diputación de Zaragoza sobre la vacunación del cólera en Valencia.

Cuando Cajal es nombrado catedrático de Histología en Barcelona en 1887, su relación es fría. Sin embargo, Ramón y Cajal, reconoce en su «Tratado de Anatomía Patológica»²⁴ la autoría de la primera vacuna preparada y en «Recuerdos de mi vida»²⁵ se recogen varios párrafos dedicados a Ferrán.

BIBLIOGRAFÍA

- Ferrán, Juan.** Nacido el 8 de abril de 1820 era natural de Riudoms (Tarragona) y estudió y se licenció en medicina en la Universidad de Cervera, única Universidad operativa en Cataluña desde que Felipe V mando cerrar las universidades catalanas en el 1717 hasta la reapertura de la de Barcelona en 1837. El traslado de la universidad a Barcelona termina en el 1840, por lo que el Dr. Juan Ferrán fue de la última promoción que se graduó en Cervera. Fue nombrado en el 1875 Director de la Sanidad Marítima de San Carlos de la Rápita (Tarragona).
- La bibliografía histórica dice erróneamente que nació el 2 de febrero del 1852. Con ocasión de un trabajo su nieto Jaime Ferrán encontró una partida de nacimiento en el expediente académico del Dr. Ferrán en el Instituto de Tarragona que corrobora la fecha indicada en esta publicación. Este hecho fue objeto de un trabajo por Elena Guardiola y Josep-Eladi Baños en *Annals de Medicina*, vol. 84, nº 1, Enero Febrero 2001, Pág. 54-56., titulado «Jaume Ferran: es compleixen 150 anys del seu naixement».
- Paulí i Galcerán, Inocencio** Tortosa 1854 Barcelona 1921. Estudiante de ingeniería, electricista reputado y miembro de la Sociedad Española de Electricidad y finalmente licenciado en medicina en el 1900 a los 42 años, tiene un papel fundamental en los trabajos de Ferrán hasta su separación en el 1891.
- En el Archivo Ferrán del Museo de Historia de la Medicina en Barcelona se conserva la correspondencia que mantiene con Pasteur.
- García del Real, Eduardo** Catedrático de la Universidad de Madrid. JAIME FERRÁN Biblioteca de la cultura española. M Aguilar Editor Madrid. 1ª Edición 1935. Pág. 16.
- Archivo Ferrán**, Museo de Historia de la Medicina; Registros C1D45, C1D47, C1D49 Y C1D55.
- Archivo Ferrán**, Museo de Historia de la Medicina.
- «Informe dado al Excmo. Ayuntamiento por la Real Academia de Medicina y Cirugía de Barcelona, sobre la memoria del doctor Ferrán», Barcelona, 11 de marzo de 1885. Biblioteca de la Universitat de Barcelona-Medicina, R.724.198.
- Casas y Durán F.** Historia del Laboratori Municipal de Barcelona. Introducció a un centenari (1889-1987). Barcelona: Els Llibres de la Frontera, 1988; 20-49.
- Sanchis Bayarri, Vicente.** Ferrán y el Cólera del 85 en Valencia. Anales de la Universidad de Valencia. Vol. XXV —Curso 1951-52. Cuaderno III— Medicina Pág. 54.
- González Sanz, Juan José** 1885 EL AÑO DE LA VACUNACIÓN DE FERRÁN trasfondo Político, Médico, Sociodemográfico y Económico de una Epidemia. 1990 Fundación Ramón Areces ISBN: 84-87191-49-9
- Archivo Ferrán**, Museo de Historia de la Medicina.
- Tió i Sauleda, Salvador.** «Ferran i Paulí: La instantaneidad en fotografía», Cátedra Unesco de Técnica y Cultura. Universidad Politècnica de Catalunya. Pág. 50-55. ISSN: 1135-934X.
- Crónica científica** (1878) Tomo I 512-517.
- Crónica científica** (1879), Tomo II, Núm. 27, 49-51.
- Página web de la «Association Française de Photographie»
- Tió i Sauleda, Salvador.** Op. cit. puede ser adquirido como libro o consultado en la web en <http://upcommons.upc.edu/revistes/handle/2099/4273>.
- Tió i Sauleda, Salvador.** Op. cit Pág. 199-204.
- Ramón y Cajal, Santiago** Recuerdos de mi vida. Editorial Pueyo (1923).
- El Heraldo de Aragón.** «Las bodas de oro de un fotógrafo». Jueves 23 de enero de 1930.
- Márquez, Miguel B.** Ámbitos N.º 11-12 1 y 2 semestre 2004. Pág. 143.
- Ramón y Cajal, Santiago.** Mi infancia y juventud. Espasa Calpe. Madrid Pág. 262.
- Pulido Fernández, Ángel.** «Precursor, representativo y mártir: estado actual de la experimentación mundial sobre la doctrina antituberculosa del Doctor Ferrán : Ensayo en Palma de Mallorca» Ed. Instituto Nacional de Sordomudos. Madrid. 1921.
- Ramón y Cajal, Santiago.** «Tratado de Anatomía patológica». Quinta edición Cap. XVIII pag 137, Cap. XXIII Pág. 183, Cap. XXIV Pág. 193,194.
- Ramón y Cajal, Santiago.** «Recuerdos de mi vida» 3ª edición. Imprenta Juan Pueyo. (1923) Pág. 178-180.

Jaime Ferrán y los orígenes de la microbiología enológica española



Alfonso V. Carrascosa
Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación CIAL (UAM-CSIC)

Del mismo modo que el químico francés Louis Pasteur fue el origen de la microbiología enológica y sanitaria tanto mundial como francesa, así ocurrió con el médico experto en patología microbiana Jaime Ferrán en España. Si bien es cierto que su faceta sanitaria es muy conocida, no lo es tanto la enológica. En este artículo se reseña su aportación a los orígenes de la microbiología enológica española a través de la biotecnología de la vinificación mediante el uso de levaduras seleccionadas.

En un artículo precedente se dio cuenta de cómo la profesión médica fomentó la implantación de la microbiología en España, y de su influencia en la creación del Laboratorio de Bacteriología y serología de la Residencia de Estudiantes¹. Las aplicaciones de la joven disciplina científica en el ámbito de la medicina se materializaron gracias a la actividad de médicos, como es obvio. Pero es menos conocido que hubo también médicos especializados en microbiología patológica que fomentaron la aplicación de la ciencia naciente a otros ámbitos no propiamente médicos. A este respecto, cabe destacar que se ha mencionado a Jaime Ferrán (1851-1929) como preparador de levaduras para vinificación².

Esta actividad está también reseñada con mayor profusión en un texto de la época³, concretamente en «Haremos

de España la bodega del mundo», Cartilla Vinícola de Diego Pequeño publicada en 1888, que en su 3ª edición de 1901 (Ministerio de Fomento, Madrid 1901), a la que la Sociedad Española Vitícola y Enológica le concedió la Medalla de Oro, incluía comentarios sobre la microbiología del vino de sumo interés, así como una reseña directa al papel que ya entonces el Dr. Ferrán jugaba en dicha área. El autor, en el prólogo de la obra, consciente de la situación del sector en nuestro entorno más inmediato, plantea con claridad la intención de la misma³:

«Preparémonos, pues, a sostener la competencia; mas para ello urge, en primer término, cambiar nuestros antiguos y defectuosos métodos de elaboración. A dicho fin se encamina la fecunda idea del presente concurso. Júzgase por todos necesario la difusión de los conocimientos racionales de la industria vinícola y que en lenguaje claro y sencillo, al alcance de las inteligencias medianamente cultivadas, se dicten reglas prácticas, que tiendan al mejoramiento de tan importante fuente de riqueza; pero al propio tiempo entendemos que urge también elevar el nivel científico de la mayoría de nuestros vinicultores, al objeto de que no se convierta en grosera rutina lo que tiene sus fundamentos en los más sublimes principios de la ciencia.»

Al hilo de lo comentado, se refiere directamente al argumento que nos ocupa³:

«... damos á conocer la palpitante cuestión del empleo industrial de los fermentos seleccionados, cuestión que, ó mucho nos equivocamos, ó está llamada, con el tiempo, á realizar una verdadera revolución en el arte enológico.»

Al final de la cartilla aparece la «Nota acerca del empleo de los fermentos seleccionados» (3, pp. 243-256). Comienza situando la cuestión en el origen, es decir, en los estudios de Pasteur, y continúa comentando los excesos que se han llegado a enumerar como beneficios del uso de lo que él denomina *levaduras puras y selectas*. Al referir el éxito que ha tenido su uso en la industria de la cerveza, señala que la diferencia fundamental del empleo de las mismas en bodega es la variabilidad inicial de sustrato con el que se enfrenta el enólogo:

«Partiendo del hecho cierto de que la elaboración de la cerveza, con levadura seleccionada, ha logrado metodizarse, regularse y unificarse, consiguiendo tipos superiores y de perfecta homogeneidad, han pretendido hacer lo propio con los mostos de la uva, sin parar mientes en que los cerveceros operan sobre líquidos de composición conocida, preparados á voluntad, mientras que el vinicultor tiene que habérselas con un producto fisiológico de naturaleza más compleja y variable en sumo grado, y no bien conocida aún.»



Ferrán ensayando sus vacunas en perros.

Pero más adelante se refiere con toda claridad y rotundidad a que se han cometido excesos de sobrevaloración sobre la capacidad de la levadura inoculada³:

«...ni el vino es solo la fermentación alcohólica, ni en la fermentación alcohólica lo es todo el fermento...En virtud de este olvido, pretendieron lo imposible; es decir, con mostos



Reportaje de la revista La Semana Gráfica publicado el 30 de noviembre de 1929 con motivo del fallecimiento de Ferrán, en el que se observaban varias fotografías del funeral y de Ferrán junto con Alfonso XIII.

ordinarios de cualquier región, elaborar vinos de Margaux, Laffitte, Clode-Vougaut, Romanée, Champagne, etc., empleando levaduras seleccionadas procedentes de estos incomparables pagos; y es claro, el fracaso tenía que ser la consecuencia de tan ilógico é inmoderado optimismo...»

No obstante termina comentando que³:

«Pero, ¿significa esto que el empleo de las levaduras selectas y seleccionadas deba abandonarse? En modo alguno; antes por el contrario, creemos, y sobre todo, creen los más distinguidos vinicultores, ver aquí el fondo de toda una transformación radical en muchas prácticas enológicas. Entienden que se abre un nuevo y anchuroso campo a la viticultura racional.»

Tras estas reflexiones iniciales, pasa a enumerar que los experimentos ya realizados por él y por otros estudiosos permite considerar que, al inocular la levadura seleccionada, esta se encuentra con una microbiota indígena, que él denomina *levaduras autótonas*, que serían el equivalente a las habitualmente denominadas levaduras autóctonas. Para solventar la dificultad enuncia las dos alternativas utilizadas: añadir una alta concentración de la levadura seleccionada o esterilizar el mosto. Esta última opción señala que se ha afrontado practicando la filtración en gres, aplicando electricidad, gas sulfuroso, etc., quedando como única metodología efectiva la pasteurización a 56 °C. Tras comentar los resultados obtenidos por diversos autores contemporáneos sobre el efecto del calentamiento en los vinos (Kayser, Barba, Rosenthal), recoge los de una autoridad en el tema, Duclaux, autor del *Traité de Microbiologie* (1900), libro de referencia de la época en cuanto a levaduras se refiere. Duclaux afirma que el efecto de las levaduras no será igual en cualquier mosto, ya que las condiciones de este determinarán —por lo que él mismo ha experimentado— el resultado final, algo totalmente cierto y que se sigue constatando en la actualidad. Al comentar los resultados de uno de los autores, un tal Sr. Blavia, este comunica³:

«Los vinos fermentados con levaduras especiales seleccionadas, ¿ganan en sabor y bouquet sobre los testigos fabricados con el mismo mosto y con su fermento propio? En caso afirmativo será ventajoso hacer intervenir levaduras exóticas y buscar las mejores. En caso negativo, hay que limitarse a dejar funcionar las levaduras propias, concretándose a regularizar su acción. No conozco ningún documento que a la hora presente permita responder a estas preguntas de un modo seguro. Una comisión respetable de catadores, convocada para juzgar comparativamente dos vinos de un pago ordinario, fabricados por el procedimiento de M. Rosenthal, y fermentados con levaduras de Romanée-Conti, de Moulin-O-Vent, del Clos-Vougeot, de Chambertin, de Cortón y de Volnay, fueron clasificados, es cierto, en el mismo orden en que colocamos las levaduras, lo que demuestra que los vinos se diferenciaron unos de otros por la adición de dichos fermentos, los que les comunicaron los caracteres de los vinos de que procedían.»

Más adelante el autor, Diego Pequeño, sigue incorporando al texto de la nota que nos ocupa conocimiento del que tiene constancia a través de las publicaciones de la época. En este caso refiere observaciones del químico y bacteriólogo M. Jacquemin, y de sus comunicaciones a la Academia de Ciencias de París en 1897 y 1898, en las que se refería a los resultados de sus experimentos de vinificación incorporando extractos de hojas de vid para reforzar el carácter que él denomina *terroir*, que tan buenas perspectivas hace albergar en el sentido del empleo de levaduras seleccionadas, y que Jacquemin recomienda inocular simultáneamente a la adición de extractos de hojas. Citándole literalmente, Pequeño escribe³:

«resulta de los experimentos hechos sobre un gran número de vinos diferentes, que el empleo de las hojas de

cepas finas y de calidad, bajo la forma de extractos, aun a la dosis mínima de una milésima, constituye un precioso coadyuvante para la vinificación por el intermedio de levaduras puras seleccionadas.»

Volviendo a citar a Jacquemin más adelante, referirá cómo aconseja se inicie la fermentación vinica³:

«Los racimos destinados al fermento se lavarán con buen agua de fuente ó pozo, para quitarle todas las impurezas y fermentos que puedan llevar adheridos a la superficie. Se estrujan rápidamente las uvas, se separa el escobajo y las películas por medio de una criba de mallas estrechas, se recibe el mosto en un tonel bien limpio y libre de todo mal olor, y se deja fermentar hasta el momento de utilizarle.»

Pequeño indica que Jacquemin no descarta el uso de calor para conseguir la práctica esterilidad del mosto.

Finalmente llega a la mención de mayor interés en este artículo, que es la referida al Dr. Ferrán. De manera inequívoca menciona Pequeño que en la época y hasta dónde él conoce, solo Ferrán prepara y expende en Barcelona levaduras seleccionadas en envases metálicos, a 10 pts./Kilo. En las instrucciones que acompañan a las levaduras dice³:

«Se escoge uva sana y bien sazónada; se estruja en cantidad suficiente para obtener 50 litros de mosto; se pone este en un pequeño tonel previamente esterilizado con ácido sulfuroso (azufrado, quemando pajuelas), y se añade un litro de levadura seleccionada; tómate nota del momento en que comienza a fermentar esta mezcla, y treinta ó cuarenta horas después rocíase con ella la uva á medida que se estruja y tira al lagar.»

Las recomendaciones de Ferrán no hablan de añadir extracto de hojas ni de esterilizar con calor el mosto. Además Ferrán aconseja añadir un litro de levadura por cada 20 hectolitros de mosto siempre que la temperatura del lagar no exceda los 35 °C ni baje de los 25 °C.

Finaliza Pequeño con un conjunto de conclusiones de todo lo expuesto en la Nota comentada³:

1. Que los vinos ordinarios pueden mejorar su gusto y aroma empleando fermentos puros seleccionados, aun cuando no se esterilice el mosto.
2. Que es innegable la influencia beneficiosa de las levaduras selectas.
3. Que esterilizados, previamente los mostos, sus efectos son más marcados.
4. Que no existe peligro en pasteurizar los vinos comunes, no pasando de 65°.
5. Para los finos, la esterilización convendrá efectuarla a 55° y en presencia del ácido carbónico.
6. Que el máximo de mejoramiento se logra empleando los glucósidos de las hojas.

Solo Ferrán prepara y expende en Barcelona levaduras seleccionadas

7. Que la fermentación se desarrolla más franca y rápidamente, evitando el funesto abocado.
8. Que los vinos resultan más iguales y uniformes;
9. «Que se obtienen siempre más limpios, mejor hechos y de más fácil y larga conservación, resistiendo mejor las enfermedades.

Los puntos 1-2 y 8-9 siguen de plena actualidad. Después de señalar que ni mucho menos lo comentado es la última palabra, ya que los estudios no han hecho más que empezar, finaliza justificando por ello que se haya puesto el tema en nota aparte segregada del resto del libro y lamentándose del siguiente modo³:

«¡Lástima grande que a la hora presente, no existan bodegas centrales ó sociales, donde pudieran aplicarse, con indiscutible éxito, los nuevos procedimientos de vinificación!»

La obra de Diego Pequeño constituye un testimonio de sumo interés sobre la práctica biotecnológica en enología

en la época escasamente posterior a los descubrimientos de Pasteur y, por tanto, probablemente se trate de la primera referencia escrita de cómo la incipiente microbiología se aplica a la industria, fabricando en este caso el vino, por lo que sea un testimonio del nacimiento de la biotecnología española. Sorprende que el propio Ferrán, que claramente fue el microbiólogo más prolífico de su época⁴ no parece haber dejado constancia escrita de sus actividades en pro de la microbiología enológica siendo, como puede desprenderse de lo dicho, un pionero en el empleo y comercialización de las levaduras vínicas.

Tampoco el célebre Juan Marcilla (1886-1950), mayor experto en enología del siglo xx⁵ y Presidente fundador de la Sociedad Española de Microbiología⁶, menciona en su obra cumbre⁷ escrito alguno de Ferrán, y sí la obra de Diego Pequeño, que nos ha servido como testimonio directo de la intensa tarea de este médico bacteriólogo en el desarrollo de la microbiología enológica aplicada. La actividad científica en microbiología enológica de Marcilla, que fuera vicepresidente del CSIC, se vio continuada en el mismo por la Escuela de Madrid de Microbiología Enológica⁸, y llega hasta nuestros días⁹.

AGRADECIMIENTOS

La actividad científica del autor es financiada por los proyectos AGL 2009-07894, ALIBIRD-CM-P 2009/AGR-1469 (Comunidad de Madrid) y CSD2007-00063FUN-C-FOOD (CONSOLIDER INGENIO 2010). Actualmente el autor coordina el grupo «Historia de la Microbiología Española» (D+D SEM), cuyo primer volumen saldrá pronto a la venta.

BIBLIOGRAFÍA

1. «El Laboratorio de Bacteriología y Serología de la Residencia de Estudiantes de Madrid». Alfonso V. Carrascosa 2009. REV ESP PATOL 2009; Vol 42, n.º 3: 183-190
2. «Evolució de l'art de fer bon vi al Principat durant els últims 60 anys». Joan Pere Vilà-Hors 1993. En «Vinyes I Vins: Mil Anys d'Historia. I». Coord. Emili Giralt. Universitat de Barcelona, Publicacions. Barcelona.
3. «Haremos de España la bodega del mundo», Cartilla Vinícola de Diego Pequeño publicada en 1888, que en su 3ª edición de 1901 (Ministerio de Fomento, Madrid 1901)
4. «La microbiología en los artículos de revistas y comunicaciones a congresos de medicina del siglo XIX español». Báguena MJ. 1984. Rev Esp Doc Cientif 1984;7:29-38.
5. «Los orígenes de la microbiología enológica española» Carrascosa, A.V. (2007). Sem. Vitivin. 3162:809-813
6. «Nuestra historia. Juan Marcilla. Presidente fundador de la SEM». Carrascosa, AV. 2008. Actualidad SEM. 45,16-21
7. «Tratado práctico de viticultura y enología españolas». Marcilla, J. 1942. Ed. SAETA, Madrid.
8. «Orígenes de la microbiología enológica y la ecología microbiana, española y del Bierzo». Carrascosa, AV. 2011. Estudios Bercianos 35-36, 163-176.
9. «Molecular Wine Microbiology» Eds. Carrascosa, AV; Muñoz, R. y González R. 2011. Premio OIV 2012.



Microbiología sintética



¿Una nueva «edad de oro» para la Microbiología en el s. XXI?

San Francisco, diciembre de 2012, congreso de la *American Society for Cell Biology*. La omnipresente, a veces polémica, «SynBio» (de *Synthetic Biology*) anda en boca de todos. Wendell Lim, de la Universidad de California en San Francisco dirige y modera una sesión plenaria sobre *Synthetic Cell Biology*. La mayoría de los pilares en los que se asientan las tesis de esta tendencia son modelos microbianos. No hay duda: es lo que se está cocinando en la era «post-ómica».

Lim habla con autoridad y buenos argumentos. En uno de ellos, acaso el más convincente, utiliza una cita clásica de uno de los padres de la nanotecnología: «*If we can build it, we can understand it*», en línea con la «verdad como resultado del hacer» (*verum ipsum factum*) del filósofo napolitano del XVIII Giambattista Vico. Todo esto lo cita también Lim en la editorial de un número especial *ad hoc* en *Trends in Cell Biology*¹. Y es cierto... Ahora que la Genómica Funcional nos ha legado prácticamente todo el catálogo de piezas que componen un sistema biológico solo comprenderemos la mecánica del reloj en la medida en que nos atrevamos a hacer de relojeros y las ensamblamos. Es ahí donde los biólogos tenemos nuestras lagunas, donde se esconden en nuestros tiempos los secretos de la vida. ¿Cómo encajan todas esas partes en un todo dinámico capaz de integrar procesos y estructuras, además de readaptarlas con asombrosa plasticidad mediante complejos fenómenos regulatorios? Por este camino, la SynBio promete ser más que una filosofía: aspira a ser la piedra angular de la investigación básica en Biología en las próximas décadas.

A nadie se le escapa, sin embargo, que la promesa de la SynBio está en su faceta aplicada. A nuestros políticos, que parecen empeñados en desintegrar nuestros proyectos de

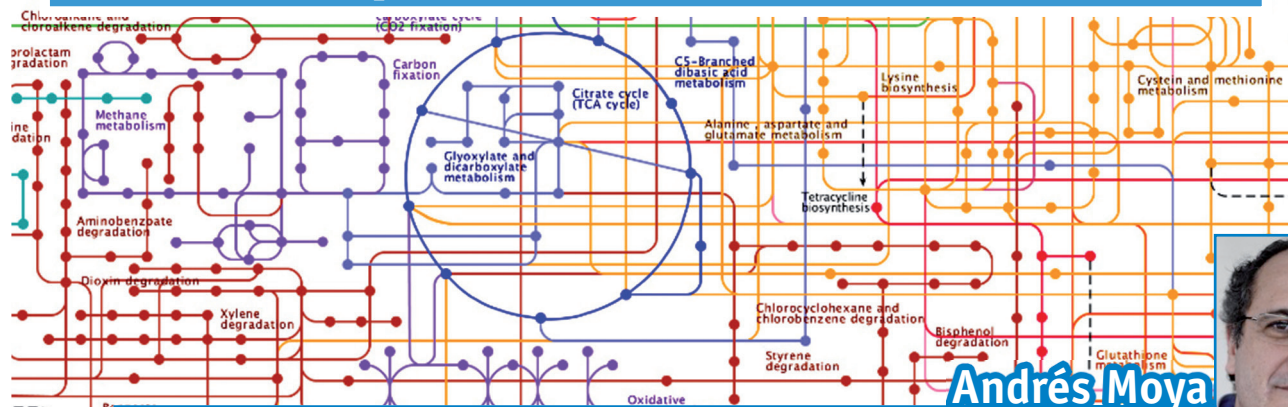
investigación básica (¿y si les hacemos escribir cien veces en la pizarra la manida máxima de Pasteur: «No hay ciencia aplicada, sino ciencia pura y las aplicaciones de esa ciencia?»), habrá que embellecerles los anteriores argumentos con la palabra mágica «ingeniería». Porque eso es la SynBio en esencia. El invitado de Lim, Jay Keasling, de la *University of California at Berkeley*, compara los módulos de para la biosíntesis del antimalárico de origen vegetal artemisinina que él incorpora en *Saccharomyces* con un Lego™ molecular. En efecto, dan ganas de jugar con las piezas, de construir circuitos metabólicos. ¿Estamos realmente empezando a hacer grandes obras de ingeniería biológica precisamente cuando el término de «ingeniería genética» está casi en desuso? Paradojas léxico-temporales. Dejando aparte toda rimbombancia, estamos ante la evolución lógica de la Biología Molecular, la madurez de una disciplina que nos permite «reprogramar» sistemas biológicos, ya no de manera empírica, sino tras un concienzudo trabajo de ingeniería biológica, de auténtico relojero. El potencial en el campo biotecnológico es enorme y los microorganismos ocupan un papel protagonista como gallinas de los huevos de oro de la Biología Sintética.

Dos de nuestros grandes de la SynBio, **Andrés Moya** y **Víctor de Lorenzo** nos desgranar las sombras y las luces de esta disciplina en **SEM@foro** en los excelentes artículos que siguen a estas líneas. No se los pierdan. El siglo XXI prácticamente acaba de empezar.

Víctor J. Cid. SEM@foro

1. Lim WA, Alvania R, Marshall WF. (2012) Cell biology 2.0. Trends Cell Biol. 22:611-612.

Una reflexión sobre Biología Sintética a partir de la historia reciente del concepto de «célula mínima»



Andrés Moya

Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva de la Universitat de València, Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP-FISABIO) y CIBER en Epidemiología y Salud Pública.

Andrés Moya, Dr. en Biología y en Filosofía, es Catedrático de Genética en la Universitat de València. Ha sido promotor del Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva de esa Universidad, del Centro de Astrobiología (INTA-CSIC) y del Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP-FISABIO) del que es su director científico. Su actividad científica e intelectual se sitúa en los campos de la Genética, la Evolución y la Filosofía. La evolución experimental y la genómica evolutiva son las áreas donde ha hecho contribuciones más significativas. Ha realizado una amplia labor de divulgación y reflexión sobre la ciencia y publicado varios libros, siendo la teoría evolutiva y el alcance del pensamiento evolutivo el núcleo central de toda esa actividad. Es presidente de la Sociedad Española de Biología Evolutiva. Ha recibido el **Premio Fundación Lilly de Investigación Biomédica 2013**.

Me gustaría empezar esta reflexión reivindicando la historia de la ciencia y, en general, la historia del pensamiento y las ideas, cuando se supone que estamos frente a un nuevo hallazgo o una nueva explicación científica. Dado el carácter acumulativo que la ciencia parece mostrar se suele afirmar, casi como si fuera una cuestión de obligado cumplimiento, que los nuevos descubrimientos o las nuevas explicaciones superan a las previas; es decir, que el conocimiento científico pasado es remplazado por el actual en la medida que este último está más acabado, tiene mayor capacidad explicativa. Pero hay que tener cuidado con tal forma de concebir la ciencia y la pretensión de formarnos como científicos a partir del conocimiento actual, haciendo caso omiso a cómo pudo ser en el pasado siguiendo, para ello, la máxima de que la ciencia no se estudia por su historia sino desde su actualidad. Dos son los argumentos a los que deseo recurrir para dar apoyo a mi advertencia. Primero: la historia de la ciencia brinda lecciones al que quiere ser científico que van más allá del conocimiento o explicación de alguna cuestión particular, a saber: ¿cómo se pudo resolver o explicar esa cuestión con las teorías y las técnicas disponibles en determinado momento?; porque es probable que lleguemos a la conclusión de que, aten-

diendo a ellas, aquellos científicos, los mejores de entre ellos, no pudieron ir más allá de donde llegaron; es decir: hicieron exactamente lo que pudieron, lo que no deja de ser algo bien grato. Y segundo, porque la *especulación* es una poderosa herramienta en ciencia. Si no queremos usar ese término por la impresión negativa que pudiera provocar en algunos, quedémonos con el de *intuición* o, simplemente, con el de *idea*. Las intuiciones, las ideas, brotan de la mente del buen científico; y buenos científicos han existido siempre, junto a muchos otros, tal y como ocurre hoy. Saber de sus intuiciones e ideas en torno a aquellos temas que nos atraen no deja de ser una fuente de inspiración potencialmente muy interesante. De sobra es conocida la expresión «no hay nada nuevo bajo el sol». Mejor no airear demasiado esta frase en nuestro país, donde todavía parece que no nos hemos quitado de encima aquello de que «inventen otros». La actitud que subyace a «no hay nada que inventar» es diferente a la que existe tras la de que «inventen otros». La historia de la ciencia ha ido dejando sus mejores frutos no solamente en los grandes descubrimientos y explicaciones del mundo natural, sino también en sus mejores científicos. Y estos han formulado ideas o tenido intuiciones incontestables con las teorías y las técnicas de su tiempo.

Vale la pena, y mucho, estudiarlos de nuevo, porque su pensamiento puede servir de inspiración a nuestras ideas.

Voy a servirme del tema de la célula mínima y cómo este asunto llega a formar parte de la biología sintética actual, para ilustrar lo anteriormente expuesto. Podría pensarse que la biología sintética es una nueva disciplina que ha surgido recientemente al amparo de los avances en las últimas décadas en biología molecular, bioquímica, genómica y otras disciplinas ómicas y ciencias de la computación aplicadas a la biología, particularmente al mundo intracelular. Pero esto no es totalmente cierto. Tomemos una definición de biología sintética, la que aparece en la Wikipedia en español. Según ella, biología sintética se define como «*la síntesis de biomoléculas o ingeniería de sistemas biológicos con funciones nuevas que no se encuentran en la naturaleza. Se trata de una disciplina que, a diferencia de otras, no se basa en el estudio de la biología de los seres vivos, sino que posee como objetivo el diseño de sistemas biológicos que no existen en la naturaleza. La biología sintética busca la creación de nuevos organismos programables, es decir, la creación de microorganismos a la carta que se comporten como pequeños ordenadores*». Sin pretender entrar en el análisis de todos los asuntos que se incorporan a la definición, o incluso en la bondad de la definición misma, lo cierto es que se hace referencia a temas que han estado en la mente y en las manos de otros científicos y pensadores del pasado. Más próxima a la filosofía natural que a la ciencia en torno al sueño prometeico de fabricar seres «a nuestra imagen y semejanza», se podría relatar una cierta historia del pensamiento Occidental en torno a este asunto que culmina, en cierto modo, con Frankenstein en el Romanticismo, con la posibilidad de dar vida a un ser humano a partir de insuflarle una cierta forma de energía a un conjunto de partes cosidas de cadáveres. En 1912 S. Lédur ya hablaba de biología sintética y se preguntaba en qué medida podría ser más difícil sintetizar una molécula que una célula. Y aunque se

La especulación es una poderosa herramienta en ciencia

pueden formular más ejemplos, además del que acabo de indicar, en torno a nociones sobre biología sintética que nos llevarían a principios del siglo xx, los hay posteriores que probablemente capten más nuestro interés porque son, progresivamente, más próximos a la realización fáctica de una célula. J.B.S. Haldane, en 1920, se pregunta sobre la cuestión del tamaño apropiado de los organismos, incluida la célula, en función de ciertos factores como la gravedad, la tensión superficial o el consumo de agua y oxígeno. En esa misma línea, hacia finales de los 50 del siglo pasado, el biofísico H. Morowitz reflexiona sobre cual sería el tamaño mínimo de una célula atendiendo a las propiedades de las membranas, el agua, la presencia de ribosomas así como otras macromoléculas. La cuestión sobre la célula mínima adquiere una nueva dimensión cuando la pregunta que formula Morowitz es en torno a la

definición de lo que pudiera ser una entidad autorreplicativa mínima. Morowitz busca procariotas de vida libre en la naturaleza y encuentra a

los micoplasmas. Basándose en criterios estrictamente relacionados con el número de átomos que componen las moléculas fundamentales de la maquinaria metabólica y replicativa de los organismos, llega a la conclusión de que esos organismos deberían tener como límite inferior un diámetro de 0,30 micras. Teniendo muy presente que sea, además, un microorganismo independiente de posibles hospedadores a los que parasite, encuentra que determinadas especies de micoplasmas con genomas en torno a las 1500 kb bien pudieran ser células mínimas. Es más, ya se dispone entonces de medios relativamente ricos donde poder crecer algunas de esas especies (por ejemplo *Mycoplasma mycoides* y *M. capricolum*).

Todavía no se hablaba de biología sintética cuando Morowitz desarrolla sus ideas, con relativo soporte empírico, sobre lo que sería una célula mínima. Y este concepto, ahora, forma parte del vocabulario de la nueva disciplina. A poco que se piense se concluirá que los requerimientos ambientales son fundamentales, y que un microorganismo

COLILOQUIO by Víctor



fundamentalmente autótrofo probablemente requiera un genoma y un metabolismo más complejo que uno heterótrofo. Una cianobacteria, por ejemplo, puede crecer en un medio relativamente simple, pero su genoma y metabolismo ser sustancialmente más complejo que el de un micoplasma, como es el caso. Los micoplasmas han sido ampliamente estudiados con posterioridad. El genoma de *M. genitalium* es el primero en ser secuenciado por el grupo de C. Venter y, en una fecha tan reciente como 2009, un consorcio internacional liderado por L. Serrano lleva a cabo un estudio multiómico y ultraestructural sin precedentes sobre *M. pneumoniae* que, a mi juicio, sienta las bases para lo que constituye una aproximación sistémica al estudio de las células mínimas. Mi grupo formula en 2004 la hipótesis de una configuración mínima de genes necesarios para una vida independiente heterótrofa, con un metabolismo, mínimo también, pero estequiométricamente factible. Lo que sorprende de nuestra hipótesis es la gran coincidencia sobre los productos necesarios para ese metabolismo con las conclusiones a las que llega el equipo de Serrano a partir de su sistema experimental. En 2010 el grupo de C. Venter sintetiza químicamente el genoma de *M. genitalium* y muestra su funcionalidad cuando se incorpora a otra especie a la que se le ha privado de su cromosoma natural. Nunca hemos estado más cerca de lograr fabricar una célula mínima.

Uno de los objetivos de la biología sintética actual es la creación de organismos sintéticos aplicando técnicas de ingeniería así como su correspondiente modelización y simulación. La computación es un asunto relevante en esta nueva ciencia, algo que se añade al conocimiento biológico tradicional. Se trata, ahora, de simulaciones de caja transparente, en las que se conocen con suficiente detalle los contenidos o los componentes y las operaciones que tienen lugar en los sistemas que se pretenden simular. ¿Cómo podemos saber si el modelo es correcto? La respuesta dependerá de lo que entendamos por correcto. Un modelo correcto podría ser aquel que simula con rapidez suficiente como para ser de interés práctico aunque sea a costa de no dar resultados tan precisos como otro más lento pero más detallado. Además, no debemos olvidar los errores experimentales asociados a la definición de los componentes de la caja transparente, de forma tal que los resultados de la simulación, no importa cuán rápida o precisa, van a estar condicionados por ellos, porque pueden ser tanto o más grandes que los asociados a la propia simulación.

Incluso los sistemas celulares mínimos resultan de una complejidad abrumadora y encierran niveles de regulación insospechados

La biología sintética se ha interpretado como una disciplina de ingeniería en la que los componentes desarrollados deben estar estandarizados y presentar un comportamiento predecible y controlable. El poner énfasis en el control, para evitar incertidumbres, requiere aplicar dos niveles de control de calidad. Primero en la etapa de diseño, explorando todas las condiciones ambientales imaginables y, en segundo lugar, tras el ensamblaje del sistema en el chasis. Evidentemente es más fácil controlar dispositivos biológicos simples que células enteras y, considerando células particulares, es más fácil conducirse con células mínimas o elementales que con células complejas. Y, desde luego, sería una aproximación excelente el poder aprender de la naturaleza el modo de evolución de las células mínimas.

De forma complementaria a la aproximación *ingenieril* de la biología sintética, hemos de considerar el hecho de las propiedades emergentes en los fenómenos biológicos. Desde la perspectiva de la simulación lo cierto es que ya contamos con avances en las ciencias de la computación que permiten reproducir la fenomenología de la emergencia cuando se simula el comportamiento celular. Y desde la perspectiva de la exploración de los sistemas celulares completos reales de menor tamaño, como el caso ya citado de *M. pneumoniae*, su complejidad resulta ser abrumadora y encierra niveles de regulación insospechados que todavía hay que explorar. A esta visión la denomino «la concepción de la biología de sistemas aplicada a la biología sintética» y probablemente se ajusta más a las expectativas de los biólogos, entrenados en la perplejidad de la complejidad, que la concepción de la biología sintética imaginada por los ingenieros, educados en los sistemas simples y controlables.

Nos mostramos confiados ante la plausibilidad y la proximidad de la construcción de una entidad viviente, sea una imitación de la naturaleza, sea completamente artificial. Las células mínimas son un buen recurso, complementario a otros, para llevar adelante este ambicioso proyecto intelectual y tecnológico. La biología sintética abre la vía a aplicaciones en áreas tan diversas como la medicina, la producción de energía y el medio ambiente. Con todo, va a requerir una reflexión profunda en torno a los riesgos y los compromisos asociados al trabajo con tales entidades. Como en cualquier otro avance científico y tecnológico, nosotros somos los únicos responsables de liberar a Prometeo sin abrir la caja de Pandora.

* La segunda mitad de este texto es una adaptación del apartado 5.4 del libro de A. Moya y J. Peretó (2011): *Simbiosis. Seres que evolucionan juntos*. Editorial Síntesis, Madrid.

¿Quién teme la Biología sintética?

Víctor de Lorenzo

Profesor de Investigación del CSIC en Programa de Biología de Sistemas del Centro Nacional de Biotecnología donde dirige el Laboratorio de Microbiología Ambiental Molecular (<http://www.cnb.csic.es/~meml>). En la actualidad **coordina la iniciativa europea ST-FLOW** (<http://www.cnb.csic.es/~stflow-project>) para desarrollar estándares para la ingeniería de sistemas biológicos complejos, dentro del cual se ha lanzado la colección de vectores SEVA (*Standard European Vector Architecture*, <http://seva.cnb.csic.es>).



Tanto la *Biología de Sistemas* como la *Biología Sintética* forman parte de una agenda investigadora en Ciencias de la Vida que trata de comprender a las entidades biológicas como objetos completos en vez de conformarse con un mero análisis de sus componentes¹. Para ello es necesario apartarse del reduccionismo extremo de la Biología Molecular y tratar de hacer frente a la complejidad de los sistemas vivos como tales utilizando una perspectiva integradora. Uno de los objetivos fundamentales de la Biología de Sistemas es el exponer las propiedades implícitas en la organización interna de los objetos biológicos. Con este fin, cualquier enfoque *sistémico* se organiza en tres etapas, a saber: la descripción del sistema, la de-construcción del sistema en sus componentes y, eventualmente, la re-construcción del sistema con las mismas u otras propiedades (Fig. 1). Hay que hacer notar que el término *de-construcción* tiene dos significados diferentes, ambos incorporados a la jerga de la Biología de Sistemas. En primer lugar, significa un dismantelamiento gradual de los componentes de un objeto para su análisis o reutilización. Pero de-construcción es también el descubrimiento de un significado implícito u oculto en un texto o en un dispositivo, que no se desprende de una descripción superficial. Por último, la reconstrucción de un sistema es una prueba final de comprensión de su funcionamiento, haciéndose eco de la célebre observación del ganador del Premio Nobel de Física en 1965, Richard Feynman «... lo que no puedo crear, no lo entiendo». La Biología Sintética retoma este último aspecto hasta el punto de proponer el diseño de sistemas biológicos no-naturales siguiendo un plan racional que se traduzca en propiedades a la carta tanto para responder a preguntas fundamentales como para aplicaciones biotecnológicas.

Pero, por interesante que sea, este contenido más científico de la Biología Sintética parece estar completamente

eclipsado por el significado que ha dado al término la comunidad más mas activa en promocionar el campo: los ingenieros. Tom Knight (Massachusetts Institute of Technology) merece el crédito de haber sido el primero en mirar a los sistemas biológicos con los ojos de un ingeniero *puro y duro* y en importar a la Biología muchos de los marcos conceptuales y la jerga descriptiva que se usa para la fabricación de circuitos eléctricos. Inspirado por la obra de Harold Morowitz, un físico y biólogo de Yale, Knight adoptó en los años 90 una nueva visión de los objetos vivos que le llevaron a establecer un grupo de Biología en el Laboratorio del Inteligencia Artificial del MIT. Este equipo (y sus descendientes emigrados a otros lugares en los años siguientes), creó y cultivó el concepto de *parte biológica* o BioBrick, uno de los productos más inspiradores (y polémicos) de esta escuela². Tales BioBricks son segmentos de ADN que codifican funciones biológicas únicas e inequívocas y que se declaran (aunque no necesariamente se demuestran) como componentes conectables, intercambiables y reutilizables. Sobre esta base, la colección de BioBricks y partes biológicas (<http://partsregistry.org>) ha ido creciendo cada día y su impacto ha sido enorme a través del concurso anual iGEM (<http://www.igem.org>) en el que estu-

La reconstrucción de un sistema es una prueba final de comprensión de su funcionamiento

diantes pre-graduados de Biología e Ingeniería de un gran número de Universidades de todo el mundo (entre ellas, por ejemplo, Valencia, Lleida y Sevilla) compiten por los mejores diseños genéticos de sistemas biológicos. Para ello, los concursantes deben proponer una combinación racional de BioBricks de la colección con objeto de generar propiedades que antes no existían. La analogía de estos diseños con los circuitos eléctricos permitiría así modificar las características de los sistemas biológicos existentes o la creación de otros nuevos por completo. De acuerdo también con esta visión *ingenieril* de los sistemas vivos, las actividades biológicas pueden abstraerse, modularizarse y reconectarse de forma

racional, tal y como un ingeniero diseñaría dispositivos para un Airbus... Aunque todo esto esté en una fase temprana, el encuentro entre la Ingeniería *de verdad* (no solo metafórica como en la *Ingeniería Genética*) y la Biología Molecular va a tener necesariamente consecuencias³. Pero, ¿cuánto de todo esto es algo realmente nuevo y cuanto es simplemente cambiar el nombre a cosas que ya existen?

La cuestión en juego es si los sistemas vivos pueden en realidad dividirse en una lista de piezas que luego puedan re-conectarse con un propósito distinto a la funcionalidad que tienen en su situación natural. Mientras que esto sería ideal para un constructor, el hecho es que el funcionamiento de prácticamente todas las partes biológicas existentes parece ser dependiente de su contexto. La presión evolutiva da lugar con frecuencia a una complejidad cada vez mayor de las redes de interacción entre componentes y a una interdependencia creciente en todas las escalas⁴. Además, las proteínas poseen una capacidad asombrosa para contactar otras proteínas y desarrollar nuevos vínculos moleculares en cuanto se someten a la presión selectiva en un nuevo huésped. Uno puede pasar por alto este hecho y hacer la abstracción de que las unidades biológicas, una vez separadas de su contexto nativo, pierden su capacidad inherente para conectar a otros componentes y por lo tanto se pueden volver a ensamblar siguiendo un plan racional. Pero no es deseable abusar de esta abstracción: necesitamos un marco conceptual más adecuado que nos permita entender cuales son los *bloques mínimos de construcción* de los sistemas biológicos que permitan una re-ingeniería al gusto del usuario⁵.

En mi opinión, hay dos cuestiones independientes que deben abordarse lo antes posible para que la Biolo-

gía Sintética pueda cumplir mínimamente alguna de sus promesas. En primer lugar, las unidades de construcción para la ingeniería biológica, deberían ser *ortogonales* (es decir, con un funcionamiento independiente del contexto). Esto disminuiría la posibilidad de que aparezcan propiedades emergentes inesperadas en los objetos diseñados (el peor escenario para un ingeniero). Hay algunos intentos parciales en esa dirección que implican, por ejemplo, la expansión del código genético mediante la reasignación de tripletes redundantes, o en la creación de códigos de cuatro

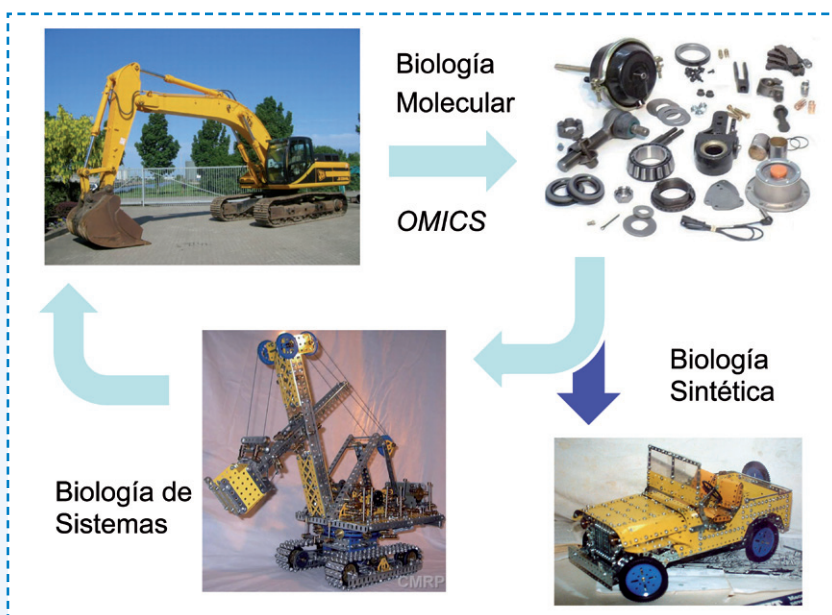
bases en vez de tres. El problema de la sustitución de los aminoácidos naturales en las proteínas por homólogos

no-naturales es todavía una tarea bastante difícil. Otra posibilidad atractiva es el desarrollar ácidos xeno-nucleicos (XNAs) como moléculas portadoras de información alternativas al DNA canónico, ya que estos XNAs serían incapaces de intercambiar material genético con su entorno⁶. Todavía hay un largo camino para transformar los componentes, módulos y sistemas biológicos existentes en equivalentes ortogonales, pero la recompensa en términos de ingeniería será sin duda enorme.

La segunda cuestión es la estandarización y el formato de las partes biológicas y los módulos para facilitar (e incluso disociar) su concepción y su producción de su montaje final. La estandarización de los materiales de la ingeniería industrial globalizada permite que el diseño de un objeto se conciba en Chicago, las piezas se produzcan en Méjico y el montaje final se realice en Malasia para el mercado europeo. Los que hacen el montaje no tienen necesariamente que saber cómo fueron diseñados o producidos esos componentes. ¿Hay algo similar que se pueda hacer con los dispositivos biológicos? Hay muchas maneras

Los beneficios de tener unas normas de montaje para ensamblar segmentos de ADN podrían ser enormes

Fig. 1. La relación entre la Biología de Sistemas y la Biología Sintética puede asimilarse al proceso resumido en la figura. Un sistema complejo puede dividirse en partes y dispositivos más simples a través de la Biología Molecular y las técnicas ómicas. Con esos componentes pueden desarrollarse modelos que capturan la arquitectura interna y las bases del funcionamiento de ese sistema. Pero también pueden reconectarse de forma racional para generar nuevas funcionalidades y propiedades.



de abordar esta cuestión, que dependen del objetivo final. La estandarización de los procedimientos de clonación es fácil, ya que muchas enzimas de restricción producen extremos cohesivos pre-establecidos en los segmentos de ADN que facilitan su posterior ligadura a otras secuencias. Sin embargo esta oportunidad de estandarización se ha venido ignorando desde el comienzo de la ingeniería genética. Cada laboratorio y cada empresa producen vectores con arquitecturas completamente arbitrarias y nombres aún más arbitrarios. Hay una necesidad urgente de contar con algún tipo de estándares y formatos fijos para los vectores y su designación. Para ello bastaría adoptar un conjunto de reglas muy simples sobre las secuencias que están en los puntos de unión entre los elementos funcionales de los vectores correspondientes. La nomenclatura de los plásmidos y otras herramientas genéticas es igualmente caótica. En los comienzos de la era de los plásmidos se propusieron estándares de construcción y denominación, pero fracasaron estrepitosamente. Ni los intereses comerciales ni el espíritu más o menos anárquico de muchos biólogos moleculares (en contraste con la cultura más metódica de ingeniería) parecen ayudar mucho en este sentido. Los beneficios de tener unas normas de montaje para ensamblar segmentos de ADN podrían ser enormes. Nuestro laboratorio ha hecho recientemente una propuesta para la arquitectura de vecto-

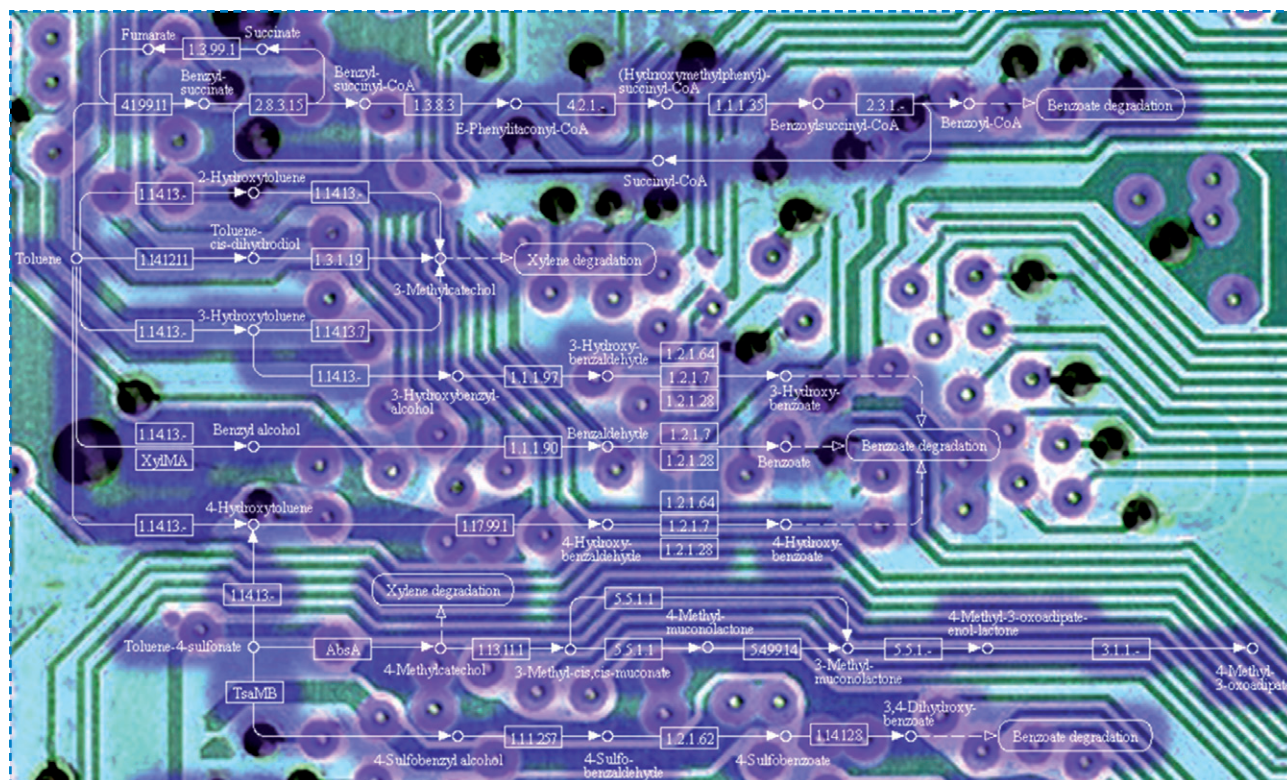
res para bacterias Gram-negativas que hemos denominado formato SEVA (*Standard European Vector Architecture*) y que esperamos que sea de gran utilidad⁷. Tal vez el problema del ensamblaje de ADN desaparecerá pronto con el abaratamiento de la síntesis de ADN. ¡Entre tanto la mayoría de los laboratorios de Biología Molecular seguirá empleando procedimientos manuales y caprichosos de cortar y pegar ADN para hacer sus construcciones!

Pero el reto real de la estandarización no es el *montaje de fragmentos de DNA*,

sino la *ingeniería de funciones biológicas*. En este aspecto, uno se enfrenta desde el principio con problemas nada triviales, comenzando

por el de cuantificar esas funciones y predecir su rendimiento. Un caso claro de esto es la transcripción y su medida. Muchas redes genéticas en Biología Sintética se basan en circuitos transcripcionales en los que los promotores son los dispositivos que computan una o más señales de entrada (*inputs*) y los convierten en señales de salida (*outputs*) con una lógica predeterminada, tal y como lo hacen las puertas lógicas de los ordenadores⁸. Sin embargo la electrónica tiene unidades de medida bien definidas (amperios, ohmios, etc.) y sistemas para cuantificarlas de manera infalible. Los biólogos, por el contrario, utilizan sistemas indicadores (*reporters*) de todo tipo (*lacZ*, *GUS*, *lux*, *GFPs*, *ina*, etc.) junto con procedimientos

La ortogonalización y la estandarización son los desafíos inmediatos más difíciles para la Biología Sintética



de lo mas variado para medirlos⁹. Es muy difícil comparar los datos de potencia de un mismo promotor en dos laboratorios distintos con dos *reporters* distintos. Incluso las míticas unidades Miller de β -galactosidasa tienen el problema de carecer de una referencia interna que haga las medidas inequívocas, por no decir nada de los efectos post-transcripcionales. Pero es que además los trabajos más recientes sobre transcripción en procariontes (usando, por ejemplo, secuenciación masiva de RNA) están revelando rasgos inquietantes sobre cómo las bacterias, aún las más simples, gestionan su maquinaria de expresión *in vivo*. Iniciaciones abortivas, terminaciones prematuras, producciones masivas de RNAs anti-sentido, comportamiento estocástico de la RNA polimerasa, promotores crípticos y un largo etcétera generan toda una colección de transcritos de cada gen, desafiando la noción del operón como sistema codificante de un mRNA poli-cistrónico perfectamente definido. A la vista de esto, ¿se pueden proponer normas y estándares para la transcripción como herramienta de construcción de sistemas biológicos no-naturales pero predecibles? Evidentemente uno tiene primero que acudir a Biología de Sistemas para entender las reglas y luego explotar esas reglas para construir bio-sistemas. Pero, mientras tanto, cuanto más se miran los datos reales, más intentos fallidos vemos de predecir la potencia de los promotores y el grado de dependencia contextual de cualquier módulo transcripcional. ¿Podemos establecer principios fiables y unidades reales de la actividad, teniendo en cuenta que todavía ignoramos algunos hechos fundamentales sobre el control de la transcripción?

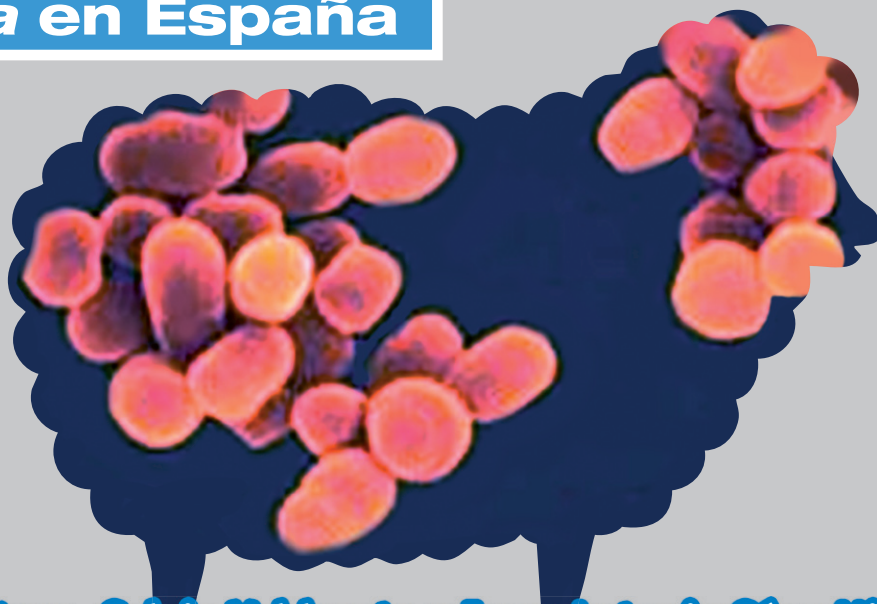
Un primer intento en la buena dirección podría ser la estandarización de los métodos de medida de la fuerza de los promotores para darnos una cuantificación operativa de los niveles de expresión de los genes de interés⁹. Pero ¿qué ocurre cuando se pone el mismo promotor al frente de un gen diferente en un contexto fisiológico o genómico distinto? Muchos biólogos de la vieja guardia argumentarían que esto es imposible de predecir. ¿Debemos entonces desistir de hacer intentos para desarrollar promotores estandarizados con una especificación precisa de la función de transferencia entre el *input* y el *output*. Esta es una pregunta abierta que se encuentra en el centro de la Biología Sintética contemporánea. Tal vez podamos volver una vez más a la naturaleza y encontrar en ella respuestas a esta cuestión. Por ejemplo, las ARN polimerasas virales, como la del archi-famoso bacteriófago T7, parecen

haber evolucionado precisamente para funcionar de una manera muy independiente de la maquinaria de expresión del hospedador. Dado que la mayor parte de la diversidad genética de la Biosfera reside en el *viroma* ambiental, bien puede ocurrir que las construcciones sintéticas del futuro se basen en bloques de construcción ortogonales reclutados de bacteriófagos en vez de bacterias de crecimiento rápido. Hay a la vista una agenda de investigación considerable antes de llegar a una conclusión definitiva sobre estas cuestiones. Entre tanto, aunque la ortogonalización y la estandarización son en mi opinión los desafíos inmediatos más difíciles a la Biología Sintética, el campo ya está produciendo dividendos muy interesantes. La primera ola de innovaciones biotecnológicas con un componente de Biología Sintética ya está en camino de la mano de la ingeniería metabólica, los biomateriales y los biocombustibles^{10,11}.

BIBLIOGRAFÍA

1. Porcar, M. *et al.* (2011) The ten grand challenges of synthetic life. *Systems and Synthetic Biology* 5, 1-9.
2. Canton, B., Labno, A. & Endy, D. (2008) Refinement and standardization of synthetic biological parts and devices. *Nature Biotechnology* 26, 787-793.
3. de Lorenzo, V. & Danchin, A. (2008) Synthetic biology: discovering new worlds and new words. *EMBO Reports* 9, 822-827.
4. de Lorenzo, V. (2010). Synthetic Biology: something old, something new. *BioEssays* 32, 267-270.
5. de Lorenzo, V. (2011) Beware of metaphors: chasses and orthogonality in synthetic biology. *Bioengineered* 2, 3-7.
6. Schmidt, M. & de Lorenzo, V. (2012) Synthetic constructs in/for the environment: managing the interplay between natural and engineered Biology. *FEBS Letters* 586, 2199-2206.
7. Silva-Rocha, R. *et al.* (2013) The Standard European Vector Architecture (SEVA): a coherent platform for the analysis and deployment of complex prokaryotic phenotypes. *Nucleic Acids Research* 41, D666-675.
8. Silva-Rocha, R. & de Lorenzo, V. (2008) Mining logic gates in prokaryotic transcriptional regulation networks. *FEBS Letters* 582, 1237-1244.
9. de Las Heras, A., Carreno, C. A., Martinez-Garcia, E. & de Lorenzo, V. (2010) Engineering input/output nodes in prokaryotic regulatory circuits. *FEMS Microbiology Reviews* 34, 842-865.
10. Keasling, J. D. (2012) Synthetic Biology and the development of tools for metabolic engineering. *Metabolic Engineering* 14, 189-195.
11. Zhang, F., Rodríguez, S. & Keasling, J. D. (2011) Metabolic engineering of microbial pathways for advanced biofuels production. *Current Opinion in Biotechnology* 22, 775-783.

Diversidad Genética de *Brucella* en España



Montserrat Ortega, Sylvia Valdezate y Juan Antonio Sáez-Nieto

Unidad de Taxonomía del Servicio de Bacteriología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda (Madrid)

RESUMEN

La brucelosis constituye una de las principales zoonosis existentes en España y, presenta una gran relevancia en países de la Unión Europea, especialmente en países mediterráneos, y del Centro y Sur de América¹. Sus presentaciones humana y animal, suponen un serio problema sanitario y económico. El bajo polimorfismo genético de *Brucella*, patógeno intracelular facultativo responsable de la infección, y el riesgo biológico en su manipulación, han restringido el desarrollo de métodos de tipificación necesarios en la vigilancia epidemiológica de la brucelosis. Las nuevas técnicas moleculares de tipificación proporcionan herramientas útiles para la caracterización de aislamientos de *Brucella spp.* En el laboratorio de Taxonomía del Servicio de Bacteriología, del Centro Nacional de Microbiología (CNM), del Instituto de Salud Carlos III, se ha profundizado en la epidemiología y análisis filogenético de *Brucella melitensis* por ser el principal agente etiológico de la brucelosis humana en nuestro país.

ANTECEDENTES

La brucelosis es una zoonosis de distribución mundial, endémica en la Unión Europea, en áreas del Mediterráneo, oeste asiático y en diferentes zonas de África, Centroamérica y Sudamérica, así como en Estados Unidos¹⁻⁴ (Figura 1), que origina abortos y esterilidad en animales y enfermedad sistémica en el hombre. El establecimiento de medidas higiénicas en alimentación, veterinaria, la vacunación, así

como los programas de seguimiento han reducido el número de casos de brucelosis en el hombre⁵. Sin embargo, su adquisición en humanos sigue produciéndose debido a la exposición ocupacional por contacto directo con los animales infectados, sus secreciones, o sus cadáveres, e indirecta con el consumo de leche o productos lácteos frescos o no pasteurizados^{6, 7}. La adquisición alimentaria es la vía prioritaria en humanos en países industrializados, generándose numerosos brotes de origen alimentario^{2, 3}.

La brucelosis en humanos constituye una infección sistémica importante, de carácter debilitante de tipo crónico, con implicación multiorgánica: gastrointestinal, cardiovascular, genitourinaria, hematopoyética, nerviosa, esquelética, pulmonar, renal, cutánea y ocular^{8, 9}. La sintomatología de la brucelosis no es específica: fiebre, artralgias, calambres, dolor de cabeza y espalda, dolor, fatiga, demencia, linfadenopatías, hepato-esplenomegalia, lo que origina que el número de casos de brucelosis activa pudiera ser superior a lo notificado^{10, 11}. Estas mismas características de la infección, hacen que *Brucella* aparezca como potencial agente de amenaza biológica de categoría B en la lista del CDC¹². Su clasificación es controvertida¹³ porque los estudios de hibridación DNA-DNA han demostrado la alta homología (>95%) de *Brucella spp.* Actualmente se tiende a utilizar la taxonomía clásica, considerando las especies y biovariedades descritas hasta el momento, que se indican en la tabla 1, con afinidad por distintos huéspedes. Aún así no siempre se puede hablar de una adaptación absoluta a los mismos.

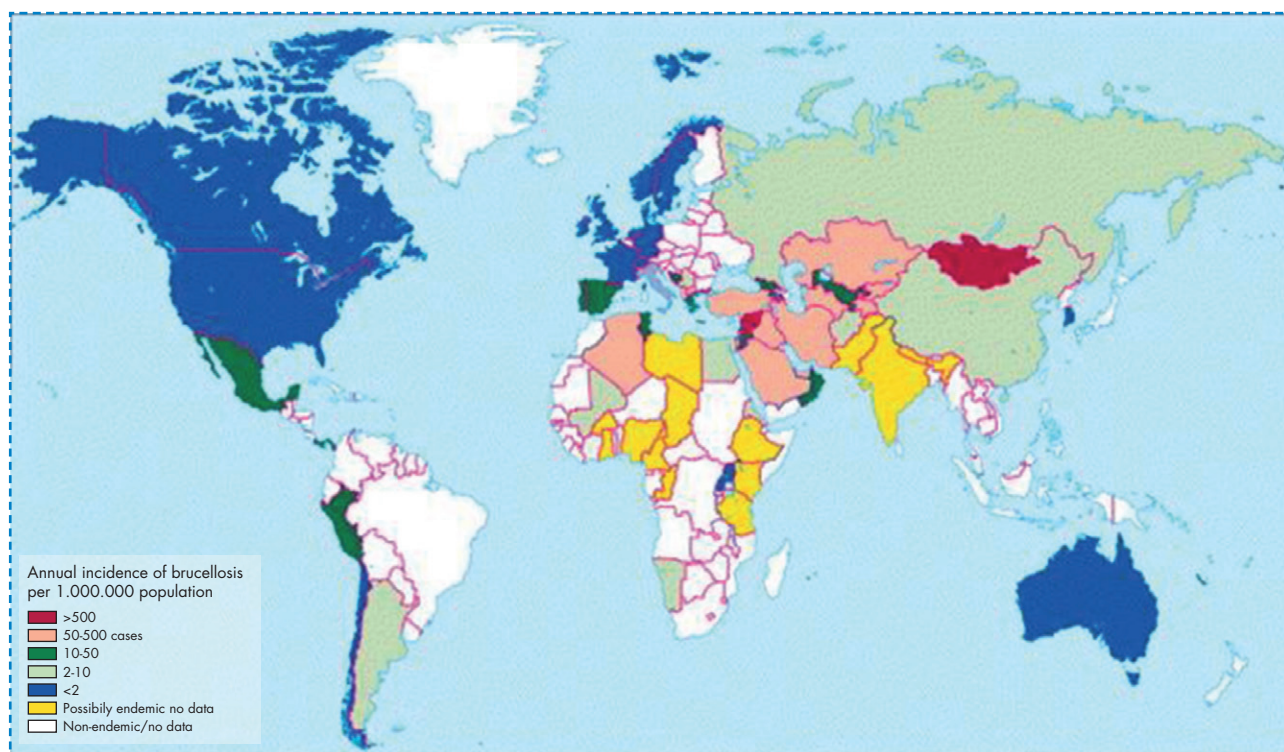


Fig. 1. Incidencia mundial de la brucelosis humana (Pappas G y cols, 2006).

ESPECIES	BIOVARIEDADES DESCRITAS	PRINCIPAL/ES HOSPEDADOR/ES
Especies clásicas		
<i>B. melitensis</i>	1-3	ovinos, camello
<i>B. abortus</i>	1-6, (7), 9 ^a	ternera, búfalo, camello, yak
<i>B. suis</i>	1-5	cerdo, liebre, reno, roedor, caribú ^b
<i>B. canis</i>	-	perro
<i>B. ovis</i>	-	oveja
<i>B. neotomae</i>	-	roedor
Especies recientes		
<i>B. ceti</i>	-	delfín, ballena, marsopa
<i>B. pinnipedialis</i>	-	foca
<i>B. microti</i>	-	zorro rojo, roedor de campo
<i>B. inopinata</i>	-	desconocido
Especies futuras		
BO2	-	desconocido
Aislado de babuino	-	Babuino

^a La biovariedad 7 está bajo revisión, posiblemente la cepa de referencia procede de un cultivo mixto.

^b la preferencia por un hospedador es dependiente de la biovariedad.

Tabla 1. Taxonomía actual de Brucella.

Los principales objetivos definidos por el departamento de agricultura de la FAO para la vigilancia de la brucelosis humana¹⁴ son la identificación de los nuevos casos de brucelosis y la detección de la(s) fuente(s) responsables de la infección, ocupacional¹⁵ o por el contrario alimentaria². Para poder llevar a cabo estos objetivos se ha hecho uso de distintos marcadores moleculares que pretenden mejorar el conocimiento sobre la patogénesis de la infección permitiendo la detección de brotes de brucelosis y la identificación de reservorios y mecanismos de transmisión.

IDENTIFICACIÓN DE *BRUCELLA*

La falta de polimorfismo genético de *Brucella spp*¹⁶ ha limitado la identificación y la aplicación de técnicas convencionales de tipificación en este patógeno, como ha sucedido con la electroforesis en campo pulsado (PFGE)¹⁷, con la amplificación polimórfica al azar (RAPD)¹⁸ o la amplificación arbitraria (AP-PCR)¹⁹, obligando al desarrollo y aplicación de nuevos marcadores moleculares. Desde el punto de vista diagnóstico, la amplificación de un fragmento (223 pb) de una proteína de membrana inmunogenética, BCSP31, ha permitido la detección eficiente de *Brucella spp.* en muestras clínicas²⁰.

Sin embargo, a diferencia de lo que sucede con otros patógenos bacterianos, la identificación de las distintas especies de *Brucella spp* no se consigue mediante la secuenciación del 16S rRNA²¹ ni con la amplificación de la región del DNA ribosomal situada entre el 16S-23S²². Una de las propuestas más eficientes para la diferenciación entre especies de *Brucella* consiste en la utilización de la distribución variable de una secuencia de inserción en el cromosoma, IS711, generándose diferentes tamaños de amplicón según la especie^{23, 24}. Esta técnica ha permitido la identificación de *B. abortus* (bv. 1, 2, 4), *B. melitensis*, *B. ovis*, y *B. suis* (bv.1) pero no así la identificación de *B. abortus* bv 3, 5-7, ni de *B. suis* bv 2-5. Un estudio posterior que utilizaba una región específica de *B. abortus* S19, eryC-eryD, permitió amplificar los biovars 3b, 5, 6 y 9²⁵. Sin embargo ambos métodos han fallado en la detección de todas las especies y de todos los biovars.

Una mejor identificación ha sido posible mediante la utilización de una PCR múltiple de nueva generación, «Bruce-ladder», con 8 parejas de primers especie-específicos, que amplifican 7 productos con diferencias en número y en tamaño, logrando la identificación de *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomae*, y *B. pinnipedialis* y *B. ceti* (mamíferos marinos), aunque no la diferenciación de biovars²⁶. La información epidemiológica a largo plazo que proporciona el MLST («multilocus sequence typing») mediante el estudio de 9 genes «housekeeping» (*gap*, *aroA*, *glk*, *dnaK*, *gyrB*, *trpE*, *cobQ*, *omp25* e *int-hyp*) en aislamientos de *Brucella spp* ha permitido la diferenciación clara en clusters que corresponden a especies clásicas de *Brucella spp*; *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. ovis* y *B. neotomae*, además de observar una mayor diversidad en *B. suis* y un cluster diferenciado para *Brucella spp* de mamíferos marinos²⁷. Una novedosa PCR con ligación en la que la

mayoría de los marcadores utilizados proceden de los genes utilizados en el esquema original de MLST ha logrado la identificación de todas las especies de *Brucella* descritas hasta el momento²⁸.

ESTUDIO DE LA CLONALIDAD DE *BRUCELLA*

La secuenciación genómica completa de *B. melitensis*, *B. abortus* y *B. suis*, ha supuesto el inicio de nuevas técnicas dirigidas hacia la identificación de genes que permiten la diferenciación genómica de especies y biovariedades de *Brucella spp*, así como la caracterización genotípica. En este aspecto, la aplicación de técnicas de AFLP-PCR (*amplified fragment length polymorphism PCR*)²⁹; del análisis de la existencia y transcripción «in vitro» de determinados genes implicados en el metabolismo, virulencia, sistemas de secreción, y recombinasas sitio-específicas o mediante la detección de repeticiones en tándem (TRs) presentes en 8 genes³⁰ han supuesto un avance en la identificación de este género.

Concretamente, con la información epidemiológica a corto plazo proporcionada por las técnicas **MLVA** (*multi-locus variable number of tandem repeats analysis*) se ha alcanzado una información epidemiológica de mayor nivel, ya que los marcadores incluidos actúan como un reloj molecular rápido. Basadas en la variación de secuencias repetidas en tándem, **VNTRs**, están siendo adecuadas para estudios locales epidemiológicos como tipo de adquisición, brotes, reactivación, etc...

A raíz de la descripción de una técnica de MLVA denominada **HOOF-Prints** (*Hypervariable Octameric Oligonucleotide Finger-Prints*), para la detección de TRs hipervariables en 8 loci de genoma de *Brucella spp*,³¹ se ha conseguido un importante avance en la tipificación de este microorganismo. Es aplicable a todas las especies y biovariedades. Esta técnica ha sido ampliamente estudiada en *B. abortus* de origen animal³⁸, mostrando una gran capacidad discriminatoria y eficiencia en la distinción de cepas implicadas en brotes. Por otro lado, **VNTR-21** incrementó la capacidad de HOOF-Prints al añadir 13 marcadores nuevos. La inclusión de VNTRs de mayor tamaño de repetición (pero con menor diversidad), permitió la agrupación de los aislamientos en clusters constituidos por las especies tradicionalmente consideradas (Figura 2) consiguiendo una resolución a nivel inter e intra-especie³³.

Actualmente, **MLVA-16** se ha convertido en el método de tipificación de mayor aplicación, tanto en aislamientos humanos como de animales y de diferentes ámbitos locales y globales. Surgida de añadir un marcador más a los 15 seleccionados de **MLVA-15** que fueron agrupados en 3 paneles tras analizar 80 VNTRs en cepas de referencia^{30, 34} ha permitido la identificación de las especies descritas recientemente: *B. microti* y *B. inopinata* (Figura 3). El panel 1 formado por 8 minisatélites ha establecido en *B. melitensis* los grupos o biotipos: **americano**, **mediterráneo-este** y **mediterráneo-oeste**. Los paneles MLVA-16 2A y 2B con 3 y 5 microsatélites (6-9 pb), respectivamente, presentan una mayor discrimina-

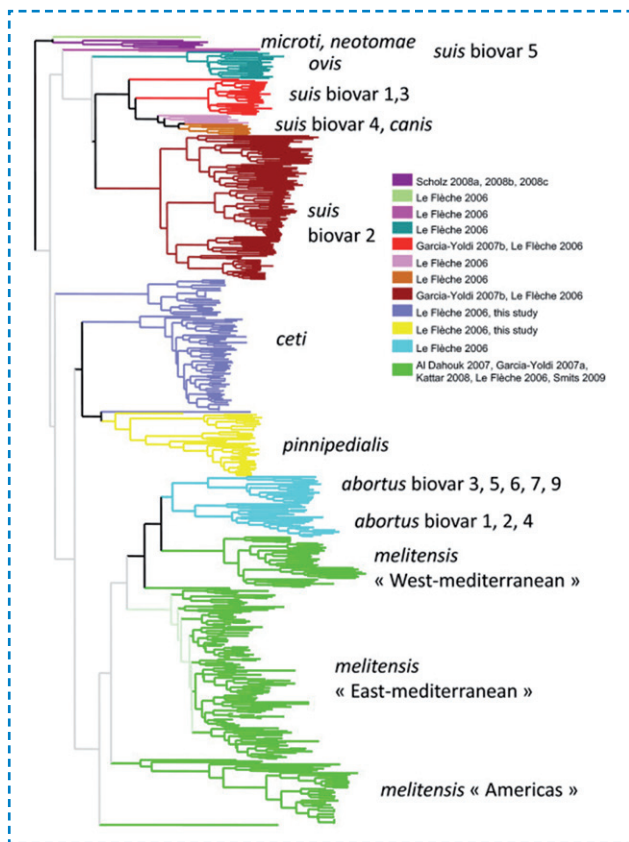


Fig. 2. Estructura de la población global del género *Brucella*. El tipado mediante MLVA-16 de 295 aislados de *Brucella* de mamíferos marinos procedentes de distintos orígenes tanto animal como geográfico identificó 7 grandes grupos. (Maquart M y cols, 2009).

ción permitiéndonos conocer los casos y fuentes implicados en brotes, y confirmar o descartar el tipo de adquisición.

Este método taxonómico también permitió la detección de una línea clonal de *B. abortus* biovar 3b diferente a la Europea y Africana mediante el análisis de cinco cepas de pacientes españoles que presentaban 5 genotipos MLVA-16 (similitud genética del 80-95%), 5 genotipos HOOOF-Prints (similitud del 35-65%) y que por otro lado eran idénticas, por biotipia, y también por 16S rDNA, *rpoB*, *gyrA*, *parC*, y MLST³⁵.

Una gran ventaja que ha supuesto MLVA-16 ha sido la creación de la plataforma internacional *MLVA database Brucella 2012* (<http://mlva.u-psud.fr/brucella/>), que codifica los alelos y los perfiles de las cepas analizadas, agrupando los MLVA-16 tipos que se identifican a nivel mundial, facilitando así el intercambio de información entre laboratorios.

Actualmente, técnicas moleculares como VNTR-21 y MLVA-16 permiten para *Brucella spp.* estudios taxonómicos

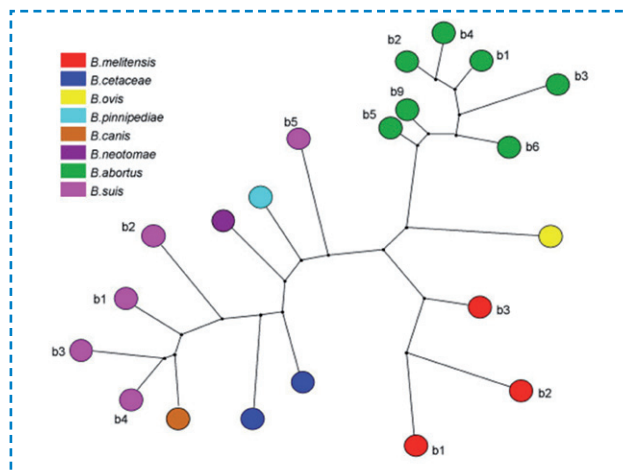


Fig. 3. Análisis, mediante máxima parsimonia, en 21 cepas de referencia utilizando la técnica de MLVA-16 (Le Flèche P y cols, 2006).

y filogenéticos utilizando los marcadores minisatélites, y estudios de tipificación mediante el empleo de los marcadores microsatélites. Bien es cierto, que para la tipificación de este patógeno quedan aún un largo camino por recorrer, como la adecuada selección de marcadores o loci más eficientes según la especie y biovariedad, así como una reducción del número de marcadores. Además habría que conseguir una estandarización y validación de las técnicas empleadas, además de favorecer el intercambio entre laboratorios de la información obtenida, mediante la recopilación de datos a través de la web.

EPIDEMIOLOGÍA Y ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE CEPAS ESPAÑOLAS DE *BRUCELLA MELITENSIS*

Según los datos del Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO) y del Sistema de Brotes se observa una evolución de las tasas de incidencia de brucelosis humana en España pasando de 5,3 casos/100.000 habitantes en 1996 a 0,22 casos/100.000 habitantes en 2011.

En España, *B. melitensis* es la principal especie responsable de la mayoría de los casos de brucelosis humana. La biovariedad 3 de *B. melitensis* aparece, además, como la más frecuente en Francia, España, Portugal, Grecia y Turquía³⁶. Cada año y desde 1996, en el Laboratorio de Taxonomía Bacteriana del CNM se reciben aislamientos de *Brucella spp* procedentes de toda la geografía española para la confirmación de género y la identificación a nivel de especie. Aprovechando esta información y que *B. melitensis* es responsable del 97,5% de los casos notificados en nuestro país³ este Laboratorio ha realizado estudios que han permitido un mayor conocimiento a nivel epidemiológico y filogenético de la especie.

La aplicación de la aparición variable de repeticiones múltiples en tandem (TR) descritos en las técnicas «HOOF-Prints» y MLVA, ha permitido detectar los distintos genotipos en *B. melitensis*, su relación genética y evolución, y la identificación de los clones responsables de los diferentes brotes en nuestro país, así como el origen de la infección.

En una primera aproximación del estudio de la brucelosis en España, se analizan 87 cepas de infección en humanos procedentes de casos esporádicos y de brotes causantes de brucelosis en España durante un período de 9 años, por exposición alimentaria u ocupacional³⁷. Como marcador molecular se analizó el uso de HOOFs-Prints basado en los VNTRs³¹. Los alelos fueron definidos para cada VNTR de acuerdo al número de unidades de repetición encontradas y se asignó un HOOF tipo (HT) a cada muestra, basado en la combinación de los alelos para VNTRs 1-8. Estas cepas se clasificaron en 3 grupos en función de su vínculo geográfico: no relacionadas, semi-relacionadas y estrechamente relacionadas. Siete de los ocho HOOFs utilizados fueron detectados en estos grupos, así como en la población completa. Por otro lado, esta técnica fue útil para poder distinguir entre cepas de casos esporádicos de aquellas que pertenecían a un brote: dentro del grupo de cepas estrechamente relacionadas se encontró que la similitud entre HTs había aumentado, con un coeficiente de similitud genética elevada (>90%). Tras una investigación clínica de los pacientes cuyas cepas presentaban esta similitud, se constató que estaban todos implicados en un mismo brote, en el cual la brucelosis había sido adquirida por el consumo de queso fresco de cabra³⁷.

Esta fue la primera vez que esta técnica se utilizaba para el análisis de una colección de muestras humanas de *B. melitensis* con diferentes características epidemiológicas pero procedentes del mismo país. Además, la gran diversidad y altas tasas de mutación de los VNTRs utilizados en el estudio proporcionaron una gran resolución del análisis de las epidemias, sin tener en cuenta el nivel del vínculo epidemiológico. Concretamente, VNTR-5, VNTR-7, VNTR-4 y VNTR-1 fueron los loci con mayor grado de diversidad tanto en el grupo no relacionado geográficamente como en la población entera, lo que implicaba su utilidad para estudios de muestras de un único país, permitiendo obtener resultados para un preliminar tipado molecular.

Posteriormente, se profundizó en un nuevo estudio de *B. melitensis* mediante el análisis de una población de 109 cepas humanas de *B. melitensis* procedentes de 29 provincias de España recogidas durante un período de más de 10 años, que permitió el análisis de la capacidad de tipificación así como de los genotipos circulantes a partir del uso de MLVA-16³⁸. Esta técnica proporcionó una muy buena discriminación, diferenciando 86 genotipos agrupados en los tres biotipos o clusters principales descritos anteriormente^{30, 34}. A diferencia de otras técnicas basadas en repeticiones en tándem, el tipado con MLVA-16 requirió un gran número de marcadores que se agruparon en tres paneles complementarios. En este estudio, la baja diversidad encontrada en los paneles 1 y 2A no permitió un análisis exhaustivo de la filogenia de las muestras presentes en

España, pero que sí se consiguió con el alto polimorfismo que presentaban los marcadores del panel 2B³⁸.

Por otro lado, el panel 1 fue de gran utilidad para la identificación de 9 genotipos. En este estudio destacó el **genotipo 42** del biotipo mediterráneo-oeste, que fue el más frecuente (55%), encontrándose también su predominancia en otros países como Turquía y Portugal³³. Este genotipo mostró un bajo polimorfismo alélico para los marcadores de MLVA-16 con una similitud alélica del 75 al 94%, hecho que podría sugerir una evolución reciente de sus cepas a partir de un antecesor común en España, o bien limitaciones en el tipado de *B. melitensis* utilizando este método.

Paralelamente se estudió el potencial uso de la subunidad beta de la ARN polimerasa, *rpoB*, principal responsable de la actividad catalítica de esta enzima, al haberse demostrado su utilidad como un potente instrumento para la identificación a nivel de género, especie y subespecie^{39, 40}. Se establecieron tres tipos *rpoB* basándose en dos SNPS (codones 1249 y 1309). El análisis mediante los modelos UPGMA y MST mostraron una clara correlación entre los tres biotipos principales y los tres asignados mediante el tipado con *rpoB*, de modo que, como se muestra en la Figura 4, existía la siguiente **correlación: biotipo americano con tipo *rpoB* 1, biotipo mediterráneo-este con tipo *rpoB* 2 y biotipo mediterráneo-oeste con tipo *rpoB* 3**. Al igual que ocurre con otras bacterias, el estudio de polimorfismos detectados en esta subunidad proporciona una herramienta muy útil para la identificación y tipado a nivel inter e intra especies, siendo fácil su incorporación en cualquier laboratorio como un inicial marcador de la brucelosis.

Además, con solo la mitad de marcadores requeridos para MLVA-16, el uso de **HOOF-Prints** ha mostrado un alto grado de diversidad intraespecies^{33, 34}. En esta población se

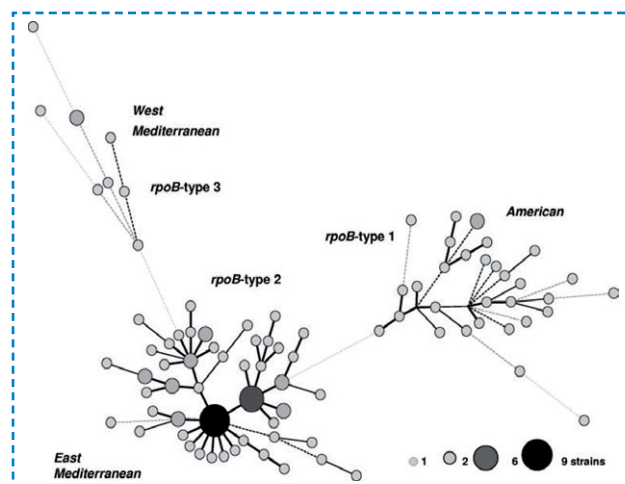


Fig. 4. Perfecta asociación entre los tres biotipos determinados por MLVA-16 y los otros 3 mediante *rpoB* (análisis con los modelos UPGMA y MST) de las cepas de *B. melitensis* estudiadas (Valdezate S y cols, 2010).

encontró una mayor diversidad para el genotipo 42 de lo que lo hizo el tipado con MLVA-16, sugiriendo que cepas aparentemente relacionadas podrían no estarlo tanto, siendo este hecho consecuencia de la hipermutabilidad de los loci de H00F-Prints que están en continua microevolución. También, como en el estudio anterior se pudo dilucidar con estas técnicas qué cepas estaban relacionadas y cuál era la fuente de infección.

Todos estos estudios han revelado la importancia de combinar diferentes técnicas de tipado molecular para una mejor vigilancia epidemiológica de *B. melitensis*.

AGRADECIMIENTOS

G. Carrasco, MJ. Medina, P. Villalón y N. Garrido del Laboratorio de Taxonomía del Servicio de Bacteriología del CNM.

BIBLIOGRAFÍA

- Corbel MJ. (1997) Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis*, 3: 213-221.
- Méndez Martínez C, Páez Jiménez A, Cortés Blanco M, Salmoral Chamizo E, Mohedano E, Plata C y cols. (2003) Brucellosis outbreak due to unpasteurized raw goat cheese in Andalucía (Spain). *Euro Surveill* 8: 164-168.
- Sánchez-Serrano LP, Ordóñez P, Díaz MO, Torres A. (2004) Vigilancia de la brucelosis. *Bol Epidemiol. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Sanidad y Consumo*. 12: 209-220.
- Troy SB, Rickman LS, Davis CE. (2005) Brucellosis in San Diego: epidemiology and species-related differences in acute clinical presentations. *Medicine (Baltimore)*. 84: 174-187.
- European Commission. (2009) Commission decision of 5 August 2009. *Off J Eur Union*. 52: L/204/39-42.
- Young EJ. (1995). An overview of human brucellosis. *Clin Infect Dis*. 21(2): 283-289.
- Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos E. (2006) The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis*. 6: 91-99.
- Colmenero JD, Reguera JM, Martos F, Sanchez-De-Mora D, Delgado M, Causse M, Martín-Farfan A, Juárez C. (1996) Complications associated with *Brucella melitensis* infection: a study of 530 cases. *Medicine*.
- Reguera JM, Alarcon A, Miralles F, Pachon J, Juárez C, Colmenero JD. (2003) *Brucella* endocarditis: clinical, diagnostic, and therapeutic approach. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 22: 647-650.
- Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. (2005) Brucellosis. *N Engl J Med*. 352: 2325-2326.
- Vassalos CM, Vangelis E, Vassalou E, Papadopolou C. (2009) Brucellosis in humans: why is it so elusive? *Rev Med Microbiol*. 20: 63-73.
- Yagupsky G, Baron EJ. (2005) Laboratory exposures to brucellae and implications for bioterrorism. *Emerg Infect Dis*. 11: 1180-1185.
- Vizcaino N, Cloeckert A, Verger J, Grayon M, Fernández-Lago L. (2000) DNA polymorphism in the genus *Brucella*. *Microbes Infect*. 2: 1089-1100.
- Robinson A. (2003) Guidelines for coordinated human and brucellosis surveillance. In: *Animal Production and Health Division FAO Agriculture Department*. EMPRES. 4: 11-15.
- Serra J, Pujol R, Godoy P. (2000) Seroepidemiological study of brucellosis in a rural endemic area. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 18: 74-78.
- Gándara B, Merino AL, Rogel MA, Martínez-Romero E. (2001) Limited genetic diversity of *Brucella spp.* *J Clin Microbiol*. 39: 235-240.
- Jensen AE, Cheville NF, Ewalt DR, Payeur JB, Thoen CO. (1995) Application of pulsed-field gel electrophoresis for differentiation of vaccine strain RB51 from field isolates of *Brucella abortus* from cattle, bison, and elk. *Am J Vet Res*. 56: 308-312.
- Fekete A, Bantle JA, Halling SM, Stich RW. (1992). Amplification fragment length polymorphism in *Brucella* strains by use of polymerase chain reaction with arbitrary primers. *J Bacteriol*. 174: 7778-7783.
- Tcherneva E, Rijpens N, Jersek B, Herman LM. (2000) Differentiation of *Brucella* species by random amplified polymorphic DNA analysis. *J Appl Microbiol*. 88: 69-80.
- Queipo-Ortuño MI, Morata P, Ocón P, Manchado P, Colmenero JD. (1997) Rapid diagnosis of human brucellosis by peripheral-blood PCR assay. *J Clin Microbiol*. 35: 2927-2930.
- Gee JE, De BK, Levett PN, Whitney AM, Novak RT, Popovic T. (2004) Use of 16S rRNA gene sequencing for rapid confirmatory identification of *Brucella* isolates. *J Clin Microbiol*. 42: 3649-3654.
- Fox KF, Fox A, Nagpal M, Steinberg P, Heroux K. (1998) Identification of *Brucella* by ribosomal-spacer-region PCR and differentiation of *Brucella canis* from other *Brucella spp.* pathogenic for humans by carbohydrate profiles. *J Clin Microbiol*. 36: 3217-3222.
- Ouahrani S, Michaux S, Sri Widada J, Bourg G, Tournebise R, Ramuz M, Liautard JP. (1993) Identification and sequence analysis of IS6501, an insertion sequence in *Brucella spp.*: relationship between genomic structure and the number of IS6501 copies. *J Gen Microbiol*. 139: 3265-3273.
- Bricker BJ, Halling SM. (1994) Differentiation of *Brucella abortus* bv. 1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* bv. 1 by PCR. *J Clin Microbiol*. 32: 2660-2666.
- Ocampo-Sosa AA, Agüero-Balbín J, García-Lobo JM. (2005) Development of a new PCR assay to identify *Brucella abortus* biovars 5, 6 and 9 and the new subgroup 3b of biovar 3. *Vet Microbiol*. 110: 41-51.
- López-Goñi I, García-Yoldi D, Marín CM, de Miguel MJ y cols. (2008) Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all *Brucella* species, including vaccine strains. *J Clin Microbiol*. 46: 3484-7.
- Whatmore AM, Perrett LL, Macmillan AP. (2007) Characterisation of the genetic diversity of *Brucella* by multilocus sequencing. *BMC Microbiol*. 7: 34.
- Wattiau P, Whatmore AM, Van Hesse M, Godfroid J, Fretin D. (2011) Nucleotide polymorphism-based single-tube test for robust molecular identification of all currently described *Brucella* species. *Appl Environ Microbiol*. 77: 6674-6679.
- Whatmore AM, Murphy TJ, Shankster S, Young E, Cutler SJ, Macmillan AP. (2005) Use of amplified fragment length polymorphism to identify and type *Brucella* isolates of medical and veterinary interest. *J Clin Microbiol*. 43: 761-769.
- Le Fleche P, Jacques I, Grayon M, Al Dahouk S, Bouchon P, Denoeud F. (2006) Evaluation and selection of tandem repeat loci for a *Brucella* MLVA typing assay. *BMC Microbiol*. 6: 9.
- Bricker BJ, Ewalt DR, Halling SM. (2003) *Brucella* «H00F-Prints»: strain typing by multi-locus analysis of variable number tandem repeats (VNTRs). *BMC Microbiol*. 3: 15.
- Bricker BJ, Ewalt DR. (2005) Evaluation of the H00F-Print assay for typing *Brucella abortus* strains isolated from cattle in the United States: results with our performance criteria. *BMC Microbiol*. 5: 37.
- Whatmore AM, Shankster SJ, Perrett LL, Murphy TJ, Brew SD, Thirlwall RE, Cutler SJ, MacMillan AP. (2006) Identification and characterization of variable-number tandem-repeat markers for typing of *Brucella spp.* *J Clin Microbiol*. 44: 1982-93.
- Al Dahouk S, Fleche P, Noeckler K, Jacques I, Grayon M, Scholz HC. (2007) Evaluation of *Brucella* MLVA typing for human brucellosis. *J Microbiol Methods*. 69: 137-145.

- Valdezate S, Navarro A, Virginia R, et al.** (2009) Emergence of a clonal lineage of *Brucella abortus* biovar 3 in clinical cases in Spain. *J Clin Microb.* 47: 2687-2688.
- Gruner E, Bernasconi E, Galeazzi RL, Buhl D, Heinze R, Nadal D.** (1994) Brucellosis: an occupational hazard for medical laboratory personnel. Report of five cases. *Infection.* 22: 33-36.
- Valdezate S, Cervera I, Hernández P, Navarro A, and. Saéz-Nieto J.A.** (2007) Characterization of human brucellosis outbreaks and sporadic cases by the use of H00F variable number tandem repeats. *Clin Microbiol Infect.* 13: 887-892.
- Valdezate S, Navarro A, Villalón P, Carrasco G, and Saéz-Nieto JA.** (2010) Epidemiological and phylogenetic analysis of Spanish human *Brucella melitensis* strains by multiple-locus variable-number tandem-repeat typing, hypervariable octameric oligonucleotide fingerprinting and *rpoB* typing. *J Clin Microb.* 48: 2734-2740.
- Marianelli C, Ciuchini F, Tarantino M, Pasquali P, Adone R.** (2006) Molecular characterization of the *rpoB* gene in *Brucella* species: new potential molecular markers for genotyping. *Microb Infect.* 8: 860-865.
- Sayan M, Yumuk O, Bilenoglu O, Erdenling S, Willke A.** (2009). Genotyping of *Brucella melitensis* by *rpoB* gene analysis and reevaluation of conventional serotyping method. *J Infect Dis.* 62: 160-163.
- Maquart M, Lefelche P, Foster G, et al.** (2009) MLVA-16 typing of 295 marine mammal *Brucella* isolates from different animal and geographic origins identifies 7 major groups within *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedalis*. *BMC Microbiol.* 9: 145-155.



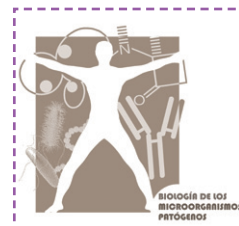
Cerámica histórica en la fachada de una vivienda del casco histórico de la ciudad de Coria (Extremadura), que certifica la salubridad epidemiológica del inmueble.

Grupo de Biología de los Microorganismos Patógenos (GBMP) de la SEM

Ángel Domínguez (Presidente del GBMP)¹ y José Pedro Martínez²

¹Departamento de Microbiología y Genética, CIETUS, IBSAL, Edificio Departamental, Plaza de los Drs. de la Reina, s/n, 37007-Salamanca. ado@usal.es

²Departamento de Microbiología y Ecología, Facultad de Farmacia, Universitat de Valencia/Estudi General (UEVG), Avda. Vicente Andrés Estellés, s/n, 46100-Burjasot, Valencia. jose.pedro.martinez@uv.es



Si algo ha caracterizado a la Microbiología desde sus orígenes como ciencia, ha sido el estudio de la interacción huésped-patógeno por su impacto e importancia en salud humana, animal y vegetal. En este contexto, el Grupo de Biología de los Microorganismos Patógenos de la SEM se originó y estructuró con la idea de agrupar a científicos de todas las áreas interesados en analizar dichas interacciones desde todos los puntos de vista como son: el establecimiento del proceso infeccioso y subsiguiente desarrollo de la enfermedad; la respuesta inmunitaria; los aspectos de la biología estructural y molecular y los abordajes de la genómica, proteómica, metagenómica y metabolómica de los microorganismos patógenos; la búsqueda de nuevos fármacos antimicrobianos y la caracterización de sus mecanismos de acción, etc.

Desde un punto de vista organizativo se ha pretendido aunar esfuerzos para que la Sociedad y nuestro grupo supongan un puente entre aquellos microbiólogos que desarrollan un trabajo más clínico, esencialmente en hospitales y en contacto directo con los pacientes, con los que tienen responsabilidades en laboratorios farmacéuticos desarrollando nuevos compuestos con actividad antimicrobiana y los que trabajan en investigación básica utilizando los microorganismos como modelos, esencialmente en laboratorios universitarios. Tratamos de incorporar más activamente y con la relevancia debida a todos aquellos microbiólogos que se dedican a la sanidad animal y vegetal.

El grupo especializado se creó inicialmente con el nombre de Grupo de Microbiología Clínica bajo la presidencia de Ernesto García y con dicha denominación se celebraron las tres primeras reuniones en La Pobla de Segur (Lérida), Valencia y Ávila. En esta última reunión, después del

correspondiente debate entre los miembros del grupo y prácticamente por unanimidad se decidió cambiar el nombre del mismo por el actual, proponerme como candidato a presidente del grupo y asumir la correspondiente renovación parcial de la junta mediante el correspondiente proceso electoral. Después de un tiempo de adaptación nos encontramos rediseñando la página web del grupo, tratando de encontrar patrocinadores y redefiniendo nuestras estrategias futuras.

Si siempre ha sido necesaria una mayor y mejor interacción entre aquellos que trabajan en laboratorios universitarios o en OPIs y los que llevan a cabo el contacto directo con el enfermo humano, animal o vegetal, ahora lo es más que nunca debido a la delicada situación económica, política y social en la que nos encontramos actualmente (solo recordar que los científicos españoles no podemos participar en INFECT-ERA, <http://www.infect-era.eu/>, el reciente programa europeo que se adaptaba perfectamente a nuestro grupo por no haber aportado el Estado Español la financiación correspondiente).

Por ello quiero aprovechar esta ocasión para hacer una llamada especialmente a los investigadores jóvenes para que se incorporen al grupo y aporten nueva savia e ideas a nuestras actividades. En el próximo congreso general de la SEM (el vigésimo cuarto, que se celebrará en Barcelona) y en la reunión que celebraremos dentro del mismo será el momento de recoger sugerencias para mejorar nuestro grupo. En nombre de toda la junta directiva deseo también ofrecer nuestra ayuda a todos aquellos que necesiten alguna referencia o contacto internacional para llevar a cabo iniciativas o proyectos de investigación en el ámbito científico del grupo. Un cordial saludo a todos.

Mecanismos de virulencia de levaduras patógenas y mecanismo de acción de antifúngicos

Rocío García Rodas, Ana Cecilia Mesa Arango, Nuria Trevijano Contador, Luis Ros Vidal, Cristina Rueda Hernández y Oscar Zaragoza Hernández
Servicio de Micología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda, Madrid



De izquierda a derecha: Cristina Rueda Hernández, Nuria Trevijano Contador, Rocío García Rodas, Suélen Rossi, Óscar Zaragoza Hernández, Ana Cecilia Mesa Arango, Luis Ros Vidal.

Nuestro grupo se encuentra en el Servicio de Micología del Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III. El grupo está liderado por el Dr. Oscar Zaragoza Hernández, y cuenta con cuatro becarios predoctorales (Rocío García Rodas, Nuria Trevijano Contador, Ana Cecilia Mesa Arango y Luis Ros Vidal) y una contratada postdoctoral (Cristina Rueda Hernández). Además, el grupo ha recibido a estudiantes extranjeros, principalmente de Brasil (Liliana Scorzoni, Fernanda Sangalli-Leite y Suélen Rossi).

Nuestro trabajo se centra en levaduras patógenas oportunistas. Nuestras actividades se dividen en dos líneas: 1) Investigación de mecanismos de adaptación al huésped; y 2) Estudio de mecanismos de acción de antifúngicos. Además, el grupo ha dedicado un esfuerzo para poner a punto modelos de huéspedes no mamíferos para estudiar la virulencia fúngica.

ESTUDIO DE LOS MECANISMOS DE VIRULENCIA Y ADAPTACIÓN AL HUÉSPED DE LEVADURAS PATÓGENAS

En el laboratorio estamos usando la levadura patógena *Cryptococcus neoformans* como modelo para estudiar la virulencia fúngica. Este patógeno afecta principalmente a enfermos VIH y tiene particular incidencia en regiones en vías de desarrollo, donde causa más de 650.000 muertes anuales. *Cryptococcus* tiene una cápsula de polisacárido la cual es necesaria para la virulencia. Además, *Cryptococcus* ha desarrollado mecanismos de adaptación al huésped y de evasión de la respuesta inmune. Entre ellos, se incluyen cambios morfológicos, que afectan principalmente al tamaño de la cápsula y al tamaño total de la célula. Durante las primeras horas de infección en ratones, *Cryptococcus* aumenta

el tamaño de la cápsula, lo que la protege de factores de estrés y de la muerte por macrófagos. *Cryptococcus* también puede aumentar el tamaño total de la célula, incluyendo tanto la cápsula como el cuerpo celular, formándose lo que hemos denominado «células gigantes o titanes», que pueden alcanzar un diámetro de 100 micras (ver figura 1). Estas células aparecen al cabo de 2-3 semanas. Las células gigantes/titanes son resistentes a factores de estrés, y contribuyen a evadir la respuesta inmune permitiendo al patógeno perdurar en el huésped. En los últimos años, el grupo ha investigado estos dos fenómenos para entender su función durante la infección. Además, hemos desarrollado diferentes estrategias para identificar los mecanismos moleculares que permiten la aparición de estas células. Creemos que estos cambios morfológicos son importantes durante la infección, ya que resultan en la aparición de diferentes tipos de células que permiten la evasión de la respuesta inmune y por lo tanto, contribuyen al desarrollo de la enfermedad y persistencia en el huésped.

INVESTIGACIÓN DE LOS MECANISMOS DE ACCIÓN Y DE ADAPTACIÓN A LOS ANTIFÚNGICOS

El tratamiento de las infecciones fúngicas se basa en el uso de fármacos antifúngicos, que pertenecen principalmente a tres familias: polienos (anfotericina B), azoles y equinocandinas. Aunque es necesario el desarrollo de nuevos antifúngicos, es complicado que en un futuro próximo vayan a aparecer nuevos fármacos para tratar estas infecciones, por lo que es prioritario entender tanto los mecanismos de acción de los antifúngicos disponibles, como los mecanismos de resistencia que producen la adaptación a estos antifúngicos. En particular, nuestros estudios se centran en dos fármacos, la anfotericina B y la caspofungina.

La anfotericina B es el antifúngico que más se ha utilizado para tratar las infecciones causadas por levaduras patógenas. La anfotericina B tiene actividad fungicida y un amplio espectro de acción, aunque su precio y toxicidad son factores limitantes en su utilización. Aunque se ha descrito que este fármaco se une al ergosterol y forma poros, otros estudios ponen en duda que este sea su principal mecanismo de acción. En este sentido, se ha descrito que la anfotericina B también induce acumulación de radicales libres. Nuestro grupo se ha centrado en la importancia del estrés oxidativo en el mecanismo de acción de la anfotericina B. Nuestros resultados sugieren que la acumulación de radicales libres es un mecanismo necesario para que la anfotericina cause la muerte celular, y que la resistencia a este antifúngico se correlaciona con defectos en la acumulación de radicales libres o con un aumento de enzimas antioxidantes. Por ello, pensamos que nuestro trabajo contribuirá a diseñar nuevas estrategias que mejoren la efectividad de la anfotericina.

La caspofungina es una equinocandina que tiene actividad fungicida frente a *Candida* ya que inhibe la enzima β -1,3-glucano sintasa. Aunque el principal mecanismo de resistencia es la aparición de mutaciones en la diana (codificada por los genes *FKS*), se han descrito situaciones en las que las levaduras son capaces de tolerar altas concen-

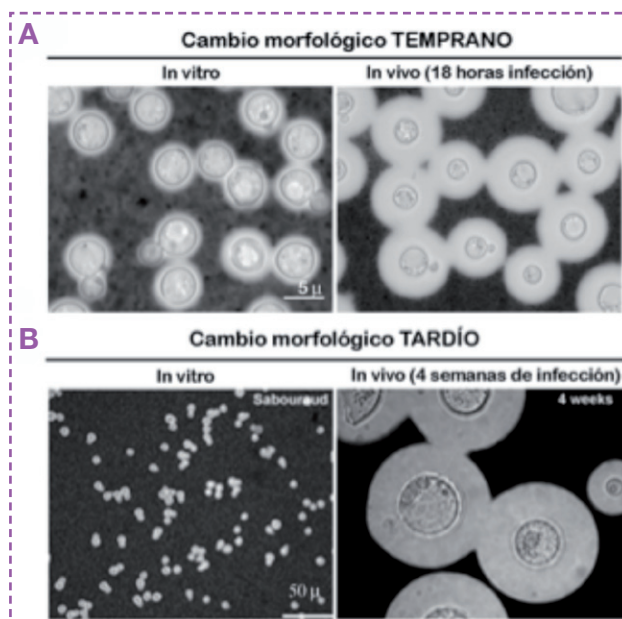


Fig. 1. Cambios morfológicos en *C. neoformans*.

Suspensión de las células en tinta china, que permite visualizar la cápsula como un halo blanco alrededor de la célula. **A.** Aumento del tamaño de la cápsula (cambio temprano). Izquierda, células *in vitro* (cápsula pequeña); derecha, células aisladas de un ratón infectado durante 18 horas (cápsula grande). Ambas fotos tienen la misma magnificación. **B.** Células gigantes. Izquierda, células *in vitro*, derecha, células aisladas de un ratón infectado durante 4 semanas. Barra de magnificación en panel izquierdo aplica a ambos paneles.

traciones de antifúngico. Nuestro grupo ha estudiado los mecanismos involucrados en el crecimiento paradójico, el cual se define como el crecimiento de las levaduras a altas concentraciones de antifúngico, pero no a concentraciones intermedias. Este efecto es particularmente importante en presencia de caspofungina, ya que se da en alrededor de un 40% de cepas de *Candida albicans*. Nuestros resultados revelan que este efecto se debe a la inducción de mecanismos que resultan en la reestructuración de la pared celular y que causan una disminución de la virulencia de las levaduras. En la actualidad, estamos investigando las posibles implicaciones clínicas de estos mecanismos de adaptación.

USO DE HUÉSPEDES ALTERNATIVOS Y APLICACIÓN DE LA REGLA DE LAS «3RS»

Las actividades del grupo implican la utilización de modelos animales. Aunque los ratones constituyen el modelo más utilizado, nuestro grupo ha realizado un esfuerzo para reducir el número de animales utilizados y con ello cumplir

con la regla de las «3Rs» (reducir, reemplazar y refinar) para minimizar los problemas bioéticos asociados a la experimentación animal. Una alternativa es reemplazar los modelos de mamífero por otros organismos que tengan un sistema neuronal poco desarrollado. Por ello, hemos implantado de manera rutinaria el modelo del lepidóptero *Galleria mellonella*, que permite utilizar un gran número de individuos por experimento, tienen bajo coste y son fáciles de manipular. *Galleria mellonella* es un modelo óptimo para investigar factores de virulencia y mecanismos de adaptación al huésped (por ejemplo, la morfogénesis de *Cryptococcus*), para evaluar la virulencia de levaduras patógenas que presentan baja virulencia en ratones y para determinar la eficacia de antifúngicos *in vivo*. Además, algunos aspectos de la inmunidad innata están conservados entre lepidópteros y mamíferos, lo que nos ha permitido investigar aspectos de la fagocitosis de levaduras patógenas. La implantación de este modelo ha multiplicado el número de experimentos *in vivo* realizados en el laboratorio. Además, el uso de este modelo ha permitido realizar experimentos que no están justificados usando ratones, como por ejemplo el rastreo de colecciones de mutantes para identificar genes involucrados en virulencia.

Por último, también hemos comenzado a utilizar como modelo de huésped el nematodo *Caenorhabditis elegans*, el cual ofrece como principal ventaja la disponibilidad de gusanos «knockout» y así poder investigar la función de elementos del huésped en la interacción con levaduras patógenas.

COLABORACIONES

Toni Gabaldón (Centro de Regulación Genómica, Barcelona).
Juan Carlos Argüelles (Universidad de Murcia).
Jesus Pla (Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid).
Arturo Casadevall (Albert Einstein College of Medicine, Nueva York, Estados Unidos).
Eleftherios Mylonakis (Brown University, Providence, Estados Unidos).
Josh Nosanchuk (Albert Einstein College of Medicine, Nueva York, Estados Unidos).
Guilhem Janbon (Institut Pasteur, París, Francia).
Maria Jose Mendes-Gianinni (Universidade Estadual Paulista de São Paulo, Araraquara, Brasil).
Carlos P. Taborda (Universidad de São Paulo, Brasil).
Enrique Herrero (Universidad de Lleida, España).
Encarnación Lozano (Centro Nacional de Microbiología, ISCIII, Madrid).

BIBLIOGRAFÍA

Zaragoza O, Nielsen K. (2013) Titan cells in *Cryptococcus neoformans*: cells with a giant impact. *Curr Opin Microbiol.* En prensa.
García-Rodas R, Cordero R, Zaragoza O. (2013) *Cryptococcus*. En Human Pathogenic Fungi: New technologies and new insights. Horizon Scientific Press.
Scorzoni L, de Lucas MP, Mesa-Arango AC, Fusco-Almeida AM, Lozano E, Cuenca-Estrella M, Mendes-Gianinni MJ, Zaragoza O. (2013) Antifungal Efficacy during *Candida krusei* Infection in Non-Conventional Models Correlates with the Yeast In Vitro Susceptibility Profile. *PLoS One* 8: e60047.
Thomaz L, García-Rodas R, Guimarães AJ, Taborda CP, Zaragoza O, Nosanchuk JD (2013). *Galleria mellonella* as a model host to study *Paracoccidioides lutzii* and *Histoplasma capsulatum*. *Virulence* 15: 139-46.



Fig. 2. *Galleria mellonella*.

Mesa-Arango AC, Forastiero A, Bernal-Martínez L, Cuenca-Estrella M, Mellado E, Zaragoza O. (2012) The non-mammalian host *Galleria mellonella* can be used to study the virulence of the fungal pathogen *Candida tropicalis* and the efficacy of antifungal drugs during infection by this pathogenic yeast. *Med Mycol.* En prensa.
Mesa-Arango AC, Scorzoni L, Zaragoza O. (2012) It only takes one to do many jobs: Amphotericin B as antifungal and immunomodulatory drug. *Front Microbiol.* 3: 286.
Rodríguez, ML, Casadevall, A, Zaragoza O. (2012) The architecture and antigenic composition of the polysaccharide capsule with emphasis on events and structure outside the cell membrane. In *Cryptococcus: From human pathogen to model yeast*. ASM Press.
García-Rodas R, Zaragoza O. (2012) Catch me if you can: phagocytosis and killing avoidance by *Cryptococcus neoformans*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 64: 147-61.
García-Rodas R, Casadevall A, Rodríguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M, Zaragoza O. (2011) *Cryptococcus neoformans* capsular enlargement and cellular gigantism during *Galleria mellonella* infection. *PLoS One.* 6: e24485
González-Párraga P, Sánchez-Fresneda R, Zaragoza O, Argüelles JC. (2011) Amphotericin B induces trehalose synthesis and simultaneously activates an antioxidant enzymatic response in *Candida albicans*. *Biochim Biophys Acta.* 1810: 777-83.
García-Rodas R, González-Camacho F, Rodríguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M, Zaragoza O. (2011) The interaction between *Candida krusei* and murine macrophages results in multiple outcomes, including intracellular survival and escape from killing. *Infect Immun.* 79: 2136-44.
Sangalli-Leite F, Scorzoni L, Mesa-Arango AC, Casas C, Herrero E, Gianinni MJ, Rodríguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M, Zaragoza O. (2011) Amphotericin B mediates killing in *Cryptococcus neoformans* through the induction of a strong oxidative burst. *Microbes Infect.* 13: 457-67.
Zaragoza O, García-Rodas R, Nosanchuk JD, Cuenca-Estrella M, Rodríguez-Tudela JL, Casadevall A. (2010) Fungal cell gigantism during mammalian infection. *PLoS Pathog.* 17 6: e1000945.
Zaragoza O, Rodríguez ML, De Jesus M, Frases S, Dadachova E, Casadevall A. (2009) The capsule of the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Adv Appl Microbiol.* 68: 133-216.
Zaragoza O, Chrisman CJ, Castelli MV, Frases S, Cuenca-Estrella M, Rodríguez-Tudela JL, Casadevall A. (2008) Capsule enlargement in *Cryptococcus neoformans* confers resistance to oxidative stress suggesting a mechanism for intracellular survival. *Cell Microbiol.* 10: 2043-57.

Reparación de DNA y morfogénesis en *Candida albicans*

Jonathan Gómez Raja, Alberto Bellido, Rosario Cueva, Toni Ciudad, Belén Naranjo, Encarnación Andaluz y Germán Larriba

Dpto. de Ciencias Biomédicas, Área de Microbiología. Universidad de Extremadura



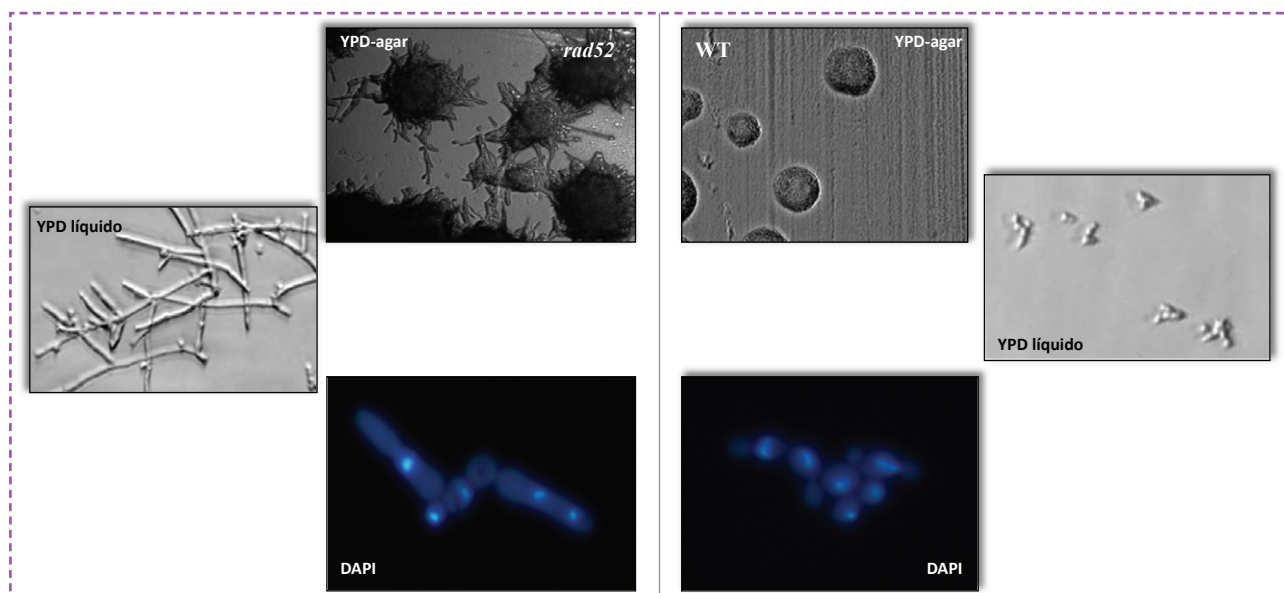
De izquierda a derecha : Jonathan Gómez Raja, Alberto Bellido, Rosario Cueva, Toni Ciudad (delante), Belén Naranjo, Encarnación Andaluz y Germán Larriba.

El grupo de trabajo comenzó a desarrollar su labor hace unos 15 años, cuando la línea de investigación anterior (Secreción y glicosilación en levaduras) fue dando paso paulatinamente a la de «Reparación de DNA y morfogénesis en *C. albicans*». En el año 2007 se publicó el último trabajo en el primer tema, en tanto que el primero de la línea actual se publicó en 1996. Ello significa que el grupo se dedica al estudio exclusivo de *C. albicans* solo hace seis años. Este grupo está formado actualmente por dos Catedráticos (Germán Larriba y Encarnación Andaluz), un Profesor Titular (Rosario Cueva), un Contratado Doctor (Toni Ciudad), un post-doctoral contratado (Jonathan Gómez Raja), un Becario predoctoral (Alberto Bellido), y un Técnico de Laboratorio (Belén Naranjo).

C. albicans es un organismo generalmente diploide con un genoma de unas 32 kb (16 x 2) distribuido en 8 pares de cromosomas. En la naturaleza y en el laboratorio su reproducción es clonal (vegetativa), pero en el año 2000 se

descubrió un ciclo parasexual que implica conjugación de células de distinto o incluso del mismo sexo. El tetraploide formado no sufre meiosis, sino que regresa a la fase diploide por pérdida concertada de cromosomas. Recientemente, se han aislado cepas haploides, las cuales surgen, igualmente, de un diploide por pérdida concertada de cromosomas. Evidentemente, estas células haploides han eliminado los alelos recesivos deletéreos de la población diploide de *C. albicans*, en la que las mutaciones letales en un alelo pasan inadvertidas debido a la funcionalidad del alelo residual. Los procesos de recombinación mitótica traen a homocigosidad alelos beneficiosos surgidos por mutación, una manera habitual de adaptación de *C. albicans* a estreses ambientales incluida la presencia de antifúngicos.

Nuestros esfuerzos se han dedicado a la caracterización de genes de *C. albicans* implicados en recombinación homóloga (HR) y fusión de extremos no homólogos (NHEJ, *non-homologous end-joining*) y a la generación de los corres-



Morfología colonial y celular de mutantes *rad52-ΔΔ* (izquierda) y de cepa silvestre (CAI4) (derecha) de *C. albicans*. Arriba: colonias jóvenes en placas de YPD. Medio: células en YPD líquido. Abajo: células procedentes de medio líquido teñidas con DAPI para la observación de núcleos (obsérvese que en *rad52-ΔΔ* aparecen células anucleadas).

pondientes mutantes, utilizando diferentes técnicas (*URA blaster*, *SAT-flipper*, *PCR-based short-flanking cassettes*). Así, poseemos ahora una colección amplia de mutantes simples, dobles y triples, necesarios para abordar el estudio detallado de procesos específicos de recombinación. También hemos combinado estas mutaciones con construcciones que poseen proteínas etiquetadas con GFP, V5, HA, TAP, etc. En HR nos hemos concentrado en *RAD51*, *RAD52*, y *RAD59*, mientras que en NHEJ hemos estudiado *LIG4*, y *KU70*.

Utilizando mutantes *rad52-ΔΔ* y aprovechando la heterozigosis, descubierta en nuestro laboratorio, existente en el locus *HIS4* de la cepa de referencia SC5314 (Gómez-Raja *et al.*, 2007) aislamos por vez primera cepas de *C. albicans* que son totalmente homocigóticas y aparecen espontáneamente en los cultivos. Este trabajo (Andaluz *et al.*, 2011) fue precursor del descubrimiento de cepas haploides (Hickman *et al.*, 2013, Nature doi:10.1038/nature11865).

Hemos analizados la sensibilidad de los mutantes a diferentes genotoxinas incluyendo químicos (MMS, agentes oxidantes — H_2O_2 , menadiona), radiación ionizante (IR) y ultravioleta (UV), y drogas antitumorales (bleomicina —BLM— y camptotecina —CPT—). Tanto la cepa silvestre de *C. albicans* como sus mutantes de recombinación son entre 40 y 100 veces más resistentes a BLM que las correspondientes cepas de *S. cerevisiae*. De igual manera, los mutantes de recombinación de *C. albicans* son significativamente más resistentes a CPT que los de *S. cerevisiae*. En cambio, los mutantes en HR de *S. cerevisiae* son más resistentes a IR y UV que los de *C. albicans*. Por otra parte, tanto Rad52 como Rad51 son necesarios para la virulencia

de *C. albicans* (Chauhan *et al.*, 2005). Finalmente, todos los mutantes analizados mostraron la misma sensibilidad que la cepa silvestre frente a amphotericina B, anidulafungina, micafungina, y voriconazol, y solo los mutantes *rad52-ΔΔ* y *rad52-ΔΔ rad59-ΔΔ* mostraron mayor sensibilidad a caspofungina, fluconazol e itraconazol. Los mutantes *rad51 rad59* mostraron una alta frecuencia de revertientes resistentes en placas E-test (Bellido, resultados no publicados).

Los mutantes de recombinación en genes importantes para HR (*rad51-ΔΔ*, *rad52-ΔΔ*) exhiben un fenotipo filamentosos (Andaluz *et al.*, 2006), similar al observado en la cepa silvestre en presencia de genotoxinas como MMS o HU (hidroxiurea). Como se deduce de la ausencia de filamentación en los dobles mutantes *rad9 rad52* y *rad53 rad52*, este fenotipo está mediado por las proteínas Rad9 y Rad53 de la cascada de señalización de daño en el DNA. Actualmente trabajamos para conocer el mecanismo por el cual el daño en el genoma induce crecimiento hiperpolarizado en *C. albicans*. Una observación interesante es que, a diferencia de *S. cerevisiae*, los telómeros de *C. albicans* están sujetos a recombinación en presencia de telomerasa (Ciudad *et al.*, 2004; Chico *et al.*, 2011).

Poseemos varias colaboraciones internacionales. Con Richard Calderone (Georgetown University, Washington, DC) hemos colaborado durante la iniciación de la línea de trabajo, especialmente en estudios de virulencia. BB Magee y Judy Berman (Universidad de Minnesota) han proporcionado fósidos y colaborado ocasionalmente en el análisis genómico (hibridación genómica comparada) de nuestras cepas. Kaustuv Sanyal (JCASR, Bangalore, India) solicitó

nuestra colaboración en la determinación epigenética de localización de centrómeros en *C. albicans*, a la que hemos aportado la interacción entre Rad52 y la proteína centromérica Cse4. Neal Lue participó muy decisivamente en el análisis de telómeros de mutantes *rad52* y *ku70*; Christophe d'Enphert (Institute Pasteur, París) trabaja en determinación de haplotipos utilizando nuestras cepas homocigóticas; colaboramos con el Dr. Ruiz-Herrera (CINVESTAV, Irapuato, Mx) en recombinación homóloga en *Yarrowia lipolytica*; y asesoramos a la Maestra Alejandra Espinosa Texis (BUAP, Puebla, Mx), en la caracterización de cepas de *Candida tropicalis* aisladas en México, y en la construcción y análisis de mutantes de recombinación en esta especie.

PUBLICACIONES REPRESENTATIVAS DEL GRUPO

- Andaluz E, Larriba G, Calderone R. (1996) A DNA ligase-encoding gene from *Candida albicans*. *Yeast* 12: 893-898.
- Andaluz E, Calderone R, Larriba G. (1999) Cell cycle regulation of a DNA-ligase encoding gene (CaLIG4) from *Candida albicans*. *Yeast* 15: 1119-1210.
- Larriba G, Coque JJR, Ciudad A, Andaluz E. (2000) *Candida albicans* molecular biology reaches its maturity. *Internat. Microbiol.* 3: 247-252.
- Andaluz E, Calderone R, Reyes G, Larriba G. (2001) Phenotypic analysis and virulence of *Candida albicans* LIG4 mutants. *Infect & Immun* 69: 137-147.
- Ciudad T, Andaluz E, Steinberg-Neifach O, Lue Nf, Gow Nar, Calderone R, Larriba G. (2004) Homologous Recombination In *candida albicans*: Role of CaRad52p in DNA repair, integration of linear DNA fragments and telomere length. *Mol Microbiol.* 53: 1177-1194.
- Conde R, Cueva R, Pablo G, Polaina J, Larriba G. (2004) A search for glycosylation signals in yeast glycoproteins. *J Biol Chem* 279, 43789-43798.
- Andaluz E, Ciudad T, Gómez-Raja J, Calderone R, Larriba G. (2006) Rad52 depletion in *Candida albicans* triggers both the dna-damage checkpoint and filamentation accompanied by but independent of the expression of hypha specific genes. *Mol Microbiol* 59: 1452-1472.
- Chauhan N, Ciudad T, Rodriguez Alejandre A, Larriba G, Calderone R, And Andaluz R. (2005) Virulence and karyotype analysis of *rad52* mutants of *Candida albicans*: regeneration of a truncated chromosome of a revertant strain (*rad52/rad52*) in the host. *Infect & Immun* 73, 8069-8078.
- Andaluz E, Jonathan Gómez-Raja J, Hermosa B, Ciudad T, Rustchenko E, Calderone R, Larriba G. (2007) Loss and fragmentation of chromosome 5 are major events linked to the adaptation of *rad52-ΔΔ* strains of *Candida albicans* to sorbose. *Fungal Genet Biol* 44: 789-798.
- Conde R, Cueva R, Larriba G. (2007) RSC14-controlled expression of MNN6, MNN4 and MNN1 regulates mannosylphosphorylation of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall mannoproteins. *FEMS Yeast Res* 7: 1248-1255.
- Gómez-Raja J, Andaluz E, Magee B, Calderone R, Larriba G. (2008) A single SNP, G929T (Gly310Val), determines the presence of a functional and a non-functional allele of HIS4 in *Candida albicans* SC5314: detection of the non-functional allele in laboratory strains. *Fungal Genet Biol* 45: 527-541.
- Larriba G, Calderone R. (2008) Heterozygosity and loss of heterozygosity in *Candida albicans*. En «Pathogenic Fungi: Insights in molecular biology» pp. 43-76, Caister Academic Press, UK.
- Ahmad A, Kabir Ma, Kravets A, Andaluz E, Larriba G, Rustchenko E. (2008) Chromosome instability and unusual features of some widely used strains of *Candida albicans*. *Yeast* 25: 433-48.
- García-Prieto F, Gómez-Raja J, Andaluz E, Calderone R, Larriba G. (2010) Role of the homologous recombination genes RAD51 and RAD59 in the resistance of *Candida albicans* to UV light, radiomimetic and anti-tumor compounds and oxidizing agents. *Fungal Genet Biol.* 47: 433-445.
- Zacchi LF, Gomez-Raja J, Davis DA. (2010) Mds3 regulates morphogenesis in *Candida albicans* through the TOR pathway. *Mol Cell Biol* 30: 3695-3710.
- Andaluz E, Bellido A, Gómez-Raja J, Selmecki A, Bouchonville K, Calderone R, Berman J, And Larriba, G. (2011) Rad52 suppresses chromosome loss, and truncation in *Candida albicans*. *Mol Microbiol* 79: 1462-1482.
- Chico L, Ciudad T, Hsu M, Lue N, Larriba G. (2011) The *Candida albicans* Ku70 modulates telomere length and structure by regulating both telomerase and recombination. *PLoS One* 6: e23732.
- Larriba G. and Calderone R. (2011) Genomic instability and DNA repair in *Candida albicans*. En «Candida and Candidiasis». American Society for Microbiology, ASM Press, Washington DC.
- Gomez-Raja J, Davis DA. (2012) The beta-arrestin-like protein Rim8 is hyperphosphorylated and complexes with Rim21 and Rim101 to promote adaptation to neutral-alkaline pH. *Eukaryot Cell* 11: 683-693.

Sigue a la SEM

facebook

twitter

Scoop.it!

www.semicrobiologia.org

Taxonomía polifásica de bacterias patógenas emergentes, atípicas y de difícil identificación

Juan Antonio Sáez Nieto y Sylvia Valdezate

Laboratorio de Taxonomía. Servicio de Bacteriología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. 28220 Majadahonda, Madrid



Laboratorio de Taxonomía (Izda-Dcha): Gema Carrasco, M^a José Medina, Sylvia Valdezate, Juan Antonio Sáez Nieto, Noelia Garrido y Pilar Villalón.

El laboratorio de taxonomía del Servicio se enmarca en las actividades de diagnóstico, referencia e investigación del Servicio de Bacteriología del CNM. Así, se reciben cepas bacterianas y muestras para diagnósticos especiales de 250 laboratorios de microbiología de hospitales, delegaciones territoriales de salud, departamentos universitarios y de otros centros de investigación. Las actividades desarrolladas son: identificación feno- y genotípica de especies bacterianas productoras de patologías humanas emergentes, inusuales y de difícil identificación; caracterización de brotes comunitarios y nosocomiales producidos por bacterias inusuales; descripción de nuevas especies; determinación de marcadores fenotípicos y moleculares de variabilidad, virulencia y resistencia a antimicrobianos en bacterias emergentes e inusuales; diagnóstico de botulismo. Nuestro grupo también se integra el laboratorio de Referencia Nacional de estreptococos β -hemolíticos, en el cual se desarrollan las siguientes actividades: vigilancia microbiológica de las cepas de *Streptococcus pyogenes* (St A) y otros estreptococos β -hemolíticos (grupos C y G), productoras de cuadros invasivos graves y otros síndromes; determinación de serotipos, susceptibilidad a los antibióti-

cos utilizados para el tratamiento y control de la infección; detección de los principales factores de virulencia (toxinas y superantígenos) de las cepas circulantes.

METODOLOGÍA APLICADA A ESTAS ACTIVIDADES

En Taxonomía:

- Pruebas bioquímicas/fisiológicas convencionales: paneles de identificación bioquímica y metabólica.
- Secuenciación de genes con fines taxonómicos y de factores de virulencia: 16S RNA, 23S RNA, *rpoB*, *recA*, *gyrB*, genes *housekeeping* integrados en los diferentes esquemas de MLST «*multilocus sequence variants*», genes de neurotoxinas de *Clostridium botulinum* y *Clostridium perfringens*, entre otros.
- Caracterización molecular (brotes y estudios de poblaciones): identificación de genotipos mediante electroforesis en camEpo pulsado (PFGE); «*Multilocus sequence-typing*» (MLST); «*Multilocus variable number tandem analysis*» (MLVA).

- Estudio fenotípico y genotípico de la resistencia a antibióticos: antibiograma (ϵ -test, difusión en disco, dilución en placa y microdilución); genes de resistencia a β -lactámicos, macrólidos, aminoglicósidos, quinolonas, tetraciclinas, glicopéptidos, principalmente.
- Diagnóstico y detección de los serotipos de *Clostridium botulinum*: tipado y subtipado de neurotoxinas

En *S. pyogenes* y otros beta-hemolíticos:

- Pruebas bioquímicas convencionales, paneles de identificación fenotípica y molecular del género *Streptococcus* (94 especies)
- Coaglutinación con sueros serogrupo-específicos para la determinación del grupo de Lancefield (β -hemolíticos) y aglutinación con sueros específicos del antígeno T de *Staphylococcus aureus*.
- Secuenciación del gen *emm* (tipos de la proteína M) y detección de genes de toxinas y superantígenos de *S. aureus* (*speA*, *speB*, *speC*, *speF*, *speG*, *speJ*, *speH*, *smeZ* y *ssa*).
- Estudio de brotes por PFGE.
- Sensibilidad a antimicrobianos (E-test) y fenotipos de resistencia a macrólidos (DDS).
- Detección de genes de resistencia a macrólidos, tetraciclina y rifampicina (*erm*, *msr*, *mef*, *tetM*, *tetO* y *rpo*.)

Además de la actividad de referencia mencionada, se desarrollan varias líneas de investigación:

Caracterización de nuevas especies implicadas en infección humana

Desde 1996 en el que se creó el grupo hasta la actualidad se han identificado 11.964 cepas aisladas de infección y de muestras ambientales relacionadas con brotes. Las cepas pertenecieron a 144 géneros y 399 especies de Gram-negativas y 108 géneros y 517 especies de Gram-positivas. De estas, 308 cepas Gram-negativas pertenecientes a 50 géneros y 465 cepas Gram-positivas de 60 géneros, no se adscribieron a las especies existentes. Por lo que englobarían un número significativo de posibles nuevas especies implicadas en infección humana. Actualmente el grupo está investigando las cepas identificadas de *Bacillus sp.*, *Paenibacillus sp.* y géneros afines a *Nocardia* (*Actinomadura*, *Streptomyces* y *Actinomyces*). En gram-negativos se investigan nuevas especies de *Acinetobacter*, *Ralstonia* y *Chryseobacterium*.

Filogenia de los géneros *Nocardia* y *Brucella*

Actualmente se realizan estudios comparativos de identificación, tipado y filogenias de las especies de *Nocardia* más frecuentes en España: *N. abscessus*, *N. cyriacigeorgica*, *N. farcinica* y *N. nova*, mediante análisis del 16S, *rpoB*, y *gyrB*. Estos dos últimos genes están mostrando un buen comportamiento como herramientas en la caracterización intraespecífica de estas poblaciones.

En el caso de *Brucella melitensis*, responsable del 97% de los casos humanos de brucelosis, se han aplicado diferentes marcadores moleculares para el estudio de poblaciones circulantes: MLST, MLVA-16 y HOOF-Print (Hypervariable Octameric Oligonucleotide Finger-Print). Las dos últimas técnicas nos han permitido: establecer la estructura de la población de las cepas circulantes en España, agrupándose en tres clusters principales: grupo Americano, Mediterráneo Este y Mediterráneo Oeste; su correlación con los tipos *rpoB1*, *rpoB2* y *rpoB3*, respectivamente y el gran predominio del genotipo 42*.

BIBLIOGRAFÍA (ÚLTIMOS 5 AÑOS)

- Bou G, Saleta JL, Sáez Nieto JA, Tomas M, Valdezate S, Sousa MD, Lueiro F, Villanueva R, Pereira MJ, Linares P. (2008) Outbreak caused by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* Emerg Infect Dis 14: 968-71.
- Romero MP, Quiles MI, Peña P, Gutierrez A, García de Miguel MA, Jimenez C, Valdezate S, Sáez Nieto JA. (2008) Outbreak of *Burkholderia cepacia* bacteremia caused by contaminated chlorhexidine in a haemodialysis unit. Infect Ctrl Hosp Epidemiol 29:377-8.
- Valdezate S, Labayru C, Navarro A, Mantecon A, Ortega M, Coque MT, García M, Sáez Nieto JA (2008) Large clonal outbreak of multidrug resistant CC17 ST17 *Enterococcus faecium* containing Tn5382 in a Spanish hospital. J Antimicrob Chemother 63:17-20.
- Fernandez Natal I, Sáez Nieto JA, Valdezate S, Rodríguez Pollan R-HG, Lapeña S, Cachon F, Soriano F. (2009) Isolation of *Corynebacterium ureicelivorans* from normally sterile sites in humans. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 28: 677-681.
- Valdezate S, Navarro A, Rubio V, Garin-Bastuji B, Albert D, Hernandez P, Alonso PM, Sáez Nieto JA. (2009) Emergence of a clonal lineage of *Brucella abortus* biovar 3 in clinical cases in Spain. J Clin Microbiol 47: 2687-8.
- Monterrubio J, Gonzalez V, Valdezate S, Cordoba A, Villalon P, Sáez Nieto JA. (2009) Outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* in a polyvalent intensive care unit: clinical, epidemiological analysis and PFGE-printing evolution. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 9: 1281-4.
- Valdezate S, Navarro A, Medina MJ, Carrasco G, Sáez Nieto JA. (2010) Molecular screening for rifampicina and fluoroquinolone resistance in a clinical population of *Brucella melitensis*. J Antimicrob Chemother 65: 51-53.
- Escudero R, Elia M, Sáez Nieto JA, Menendez V, Toledo A, Royo G, Rodríguez-Vargas M, Whipp MJ, Gil H, Anda P. (2010) A possible novel *Francisella* genomic species isolated from blood and urine of a patient with severe illness. Clin Microbiol Infect- 2010; 16: 1026-30.
- Valdezate S, Navarro A, Villalon P, Carrasco G, Sáez Nieto JA. (2010) Epidemiological and phylogenetic analysis of Spanish human *Brucella melitensis* strains by MLVA-16 typing, Hoof-printing and *rpoB*. J Clin. Microbiol 48: 2734-40.
- Villalon P, Valdezate S, Medina MJ, Rubio V, Vindel A, Sáez Nieto JA (2011) Clonal diversity of nosocomial epidemic *Acinetobacter baumannii* in Spain. J Clin Microbiol 49: 875-882.
- Fernandez A, Pereira MJ, Suarez JM, Villalon P, Treviño M, Poza M, Sáez Nieto JA, Regueiro BJ, Villanueva R, Bou G. (2011) Emergence in Spain of a multidrug resistant *Enterobacter cloacae* clinical isolate producing SFO-1 extended-spectrum beta-lactamase. J. Clin. Microbiol 49: 822-828.
- Valdezate S, Miranda C, Navarro A, Freitas AR, Carrasco G, Coque T, Jimenez E, Sáez Nieto JA. (2012) Clonal outbreak of multidrug

* Véase nuestro artículo el la página 38.

resistant ST17 *Enterococcus faecium* harbouring an INC18:Tn1546 plasmid in a haemo-oncology Ward of a spanish hospital. J Antimicrob Chemother 67: 832-836.

Medina-Pascual MJ, Valdezate S, Villalon P, Garrido N, Rubio V, Sáez-Nieto JA. (2012) Identification, molecular characterization and antimicrobial susceptibility of genovars of the *Burkholderia cepacia* complex in Spain. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 31: 3385-3396.

Sáez Nieto JA, Valdezate, Medina MJ, Carrasco G, Garrido N, Villalon P, Ortega M, Navarro A, Rubio V. (2012) Taxonomía polifásica de bacterias patógenas y ambientales relacionadas con casos de infección. MONOGRAFÍAS DE BACTERIOLOGÍA Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. 1: 1-117.

Rubio V, Valdezate S, Alvarez D, Villalon P, Medina MJ, Salcedo C, Sáez Nieto JA. (2012) Molecular epidemiology, antimicrobial susceptibilities and resistance mechanisms of *Streptococcus pyogenes* isolates resistant to erythromycin and tetracycline in Spain (1994-2006). BMC Microbiology 12: 215.

Villalon P, Valdezate S, Medina MJ, Carrasco Vindel A, Sáez Nieto JA. (2013) Epidemiology of the *Acinetobacter*-derived cephalosporinase, caerapem hydrolising oxacillinase and metallo-beta-lactamase genes, and of common insertion sequences in epidemic clones of *Acinetobacter baumannii* from Spain. J Antimicrob Chemother 68: 550-553.

Salvadó M, Plasencia V, Segura C, Gómez J, Medina M^aJ, Sáez Nieto JA, Castellanos S, Horcajada JP. (2013) Infection due to *Actinobaculum spp.*: Report of 12 patients in Spain. J Infect 66: 107-113.

Transducción de señal y respuesta inmunitaria en hongos patógenos humanos

Elvira Román, Rosalía Díez-Orejas, Rebeca Alonso-Monge y Jesús Pla

Departamento de Microbiología II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España



De izquierda a derecha, V. Urrialde, AD. Prieto, B. Huertas, E. van de Plassche, I. Correia, E. Román, R. Díez Orejas, R. Alonso-Monge, J. Pla y C. Gómez-Pavón.

Nuestro grupo de trabajo lleva muchos años dedicándose al estudio de una levadura patógena del ser humano, *Candida albicans*. Este microorganismo forma parte de

nuestra microbiota, comportándose como un comensal, y tan solo en condiciones en las que se produce una alteración de las defensas del huésped, principalmente de tipo

inmunológico, puede producirnos enfermedades que se llaman, colectivamente, candidiasis. Aunque las infecciones fúngicas no tienen la relevancia de las bacterianas, principalmente debido a su menor incidencia, pueden ser de enorme gravedad en ciertas situaciones. En palabras de un médico clínico, cuando un paciente trasplantado o con una deficiencia genética grave adquiere una de estas infecciones puede llegar a convertirse en una auténtica «placa de Petri» que permite el crecimiento incontrolado del microorganismo. *C. albicans* es, probablemente, el mejor modelo de hongo patógeno que existe hoy día. Es un microorganismo fácil de cultivar en el laboratorio, aunque presentaba hasta hace pocos años una serie de inconvenientes que dificultaba su manipulación genética, tales como su diploidía, ausencia de ciclo sexual y la ausencia de plásmidos naturales. En la actualidad, sin embargo, se ha secuenciado su genoma y se han descrito numerosas herramientas (parte de ellas por nuestro grupo de trabajo) tales como genes reporteros (Figura 1), sistemas de expresión regulada o de delección génica. Presenta además, el fenómeno del dimorfismo, proceso por el cual la forma de levadura cambia a forma hifal, lo que le permite invadir y escapar a la acción de las células fagocíticas.

Nuestro grupo se ha centrado, desde hace bastantes años ya, en el estudio de las rutas de señalización mediadas por quinasas de tipo MAP en este hongo. La línea empezó a dar sus frutos cuando Federico Navarro, que actualmente lleva una línea de investigación en microorganismos ambientales en nuestro Departamento, clonó el homólogo del gen *SLT2* de *Saccharomyces cerevisiae*, con el que la profesora M. Molina desarrollaba un trabajo sobre genes de autólisis en levadura iniciado años atrás por los Dres. C. Nombela y A. Durán. Estas rutas, de las que se conocen cuatro hasta el momento en *C. albicans*, desencadenan respuestas celulares frente a situaciones de estrés muy diversas, como cambios en la osmolaridad del medio, en el potencial redox o daños en la superficie de la célula fúngica. Su activación por fosforilación permite al hongo desencadenar una respuesta transcripcional y así adaptarse y sobrevivir a dichos cambios. Desde el punto de vista funcional, son muy específicas del estímulo inicial y existen estrechas interconexiones entre sus elementos que regulan su activación, inhibición o desactivación. Su enorme complejidad funcional las convierte en un auténtico «sistema nervioso» del hongo, esencial para percibir el entorno y los cambios que en él se producen.

Nuestros proyectos en los últimos años han sido subvencionados tanto por programas nacionales (Programa Nacional de Biotecnología) como transnacionales (ERANET-Pathogenomics) y han ido encaminados a identificar, en primer lugar, los elementos que intervienen en estas rutas, utilizando en buena medida, la levadura no patógena *S. cerevisiae* como hospedador genético. Una segunda etapa ha consistido en caracterizar su papel en el funcionamiento del hongo, y en especial en tres procesos como son 1) la transición dimórfica, responsable del cambio de morfología de levadura a hifa; 2) la construcción de la pared celular,

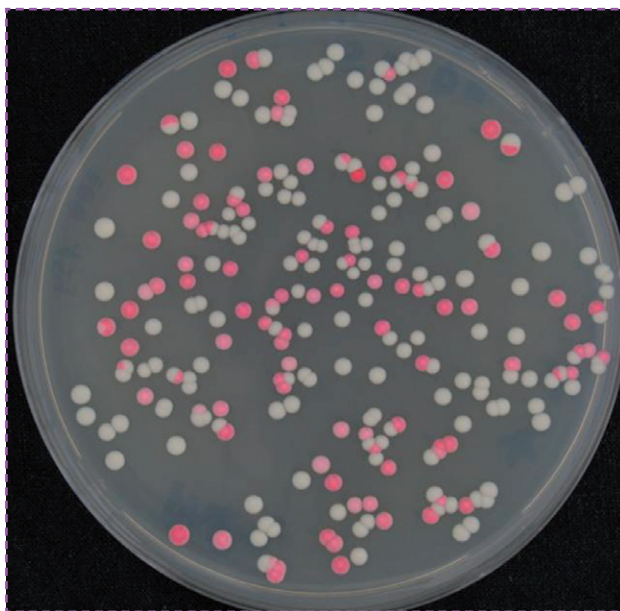


Fig. 1. Placa de Petri en la que muestran colonias de *C. albicans* que portan un gen reportero que emite fluorescencia verde (GFP, color blanco) y roja (DsRed, rojo). Tesis de AD. Prieto.

estructura de enorme importancia como mediador de la interacción con las células del hospedador y posible diana de antifúngicos y 3) la respuesta de defensa frente a daños oxidativos, de gran importancia para el control de la infección por células inmunitarias. Algunas de estas rutas regulan la transición dimórfica, la construcción de la pared celular y la capacidad de responder al daño oxidativo, lo que parece explicar su menor virulencia en ciertos modelos animales.

En nuestro trabajo, utilizamos diferentes aproximaciones experimentales y metodologías. La genética ha sido —y es— esencial para la construcción de cepas, mientras que usamos la bioquímica, la inmunodetección en geles de acrilamida o la citometría de flujo para la cuantificación de la activación de dichas rutas o la expresión de determinados genes reporteros. Utilizamos también aproximaciones ómicas, como la proteómica o transcriptómica, para caracterizar la respuesta global de la levadura en las situaciones de estrés celular.

El trabajo con una levadura patógena nos dirige, obviamente, a estudiar aspectos de interés clínico relacionados con la interacción con el hospedador. Por ello, y utilizando los mutantes que vamos generando, analizamos procesos como la adhesión del hongo, usando diferentes modelos *in vitro* y *ex vivo* o la fagocitosis mediada por macrófagos, neutrófilos o células dendríticas (ver Figura 2). Igualmente, estamos desarrollando y caracterizando un modelo de comensalismo en ratón, que pensamos supone una buena

aproximación metodológica para conocer los mecanismos que condicionan la translocación de esta levadura a través del tracto gastrointestinal y su diseminación hacia órganos internos.

Recientemente, hemos orientado más nuestro trabajo hacia el estudio de la respuesta inmunitaria, crucial en el control de las candidiasis. Estamos, por ejemplo, usando cepas obtenidas en nuestro grupo como vehículos recombinantes para expresar un antígeno modelo *in vivo* y estudiar así el patrón (anticuerpos, tipo de respuesta celular) de respuesta inmunitaria que produce. También estamos caracterizando el papel del receptor CCR6 en la infección fúngica mediante la utilización de ratones *knock out* en este receptor. Una de las metas a corto/medio plazo es desarrollar de herramientas (genes reporteros) y metodologías experimentales (microscopía o luminiscencia) para poder visualizar *in vivo* el curso de una infección fúngica. Ello creemos que puede ser de gran utilidad el diseño de estrategias que permitan el control de la infección fúngica.

Nuestro grupo consta de unas 5-10 personas, entre personal de plantilla, becarios pre y post doctorales y estudiantes de últimos cursos de licenciatura, normalmente de la licenciatura de Farmacia. Además, colaboramos científicamente con diversos grupos de investigación, tanto en nuestro país como extranjeros, que tienen unas temáticas afines a las nuestras como los siguientes:

- Dr. E. Herrero, Dept. Ciencias Médicas Básicas, Universidad de Lleida.
- Dr. JE Pérez Ortín, Dept. De bioquímica, Universidad de Valencia.
- Dr. ML Gil y D. Gozalbo, Dept. de Microbiología y Ecología, Universidad de Valencia.
- Dr. S. Panwar, Jawaharlal Nehru University, Nueva Delhi, India.
- Dr. R. Calderone, Georgetown University Medical Center, Washington DC, USA.
- Dr. J. Ernst, Dept. Biologie, Universidad Heinrich Heine, Dusseldorf, Alemania.
- Dr. U. von Andrian, Dept. de Patología, Facultad Medicina, Universidad Harvard, USA.
- Dr. B. Hube, Dept. of Microbial Pathogenicity Mechanisms, Hans-Knoell-Institute, Jena, Alemania.

BIBLIOGRAFÍA

- Alonso-Monge R, Roman E, Arana DM, Prieto D, Urrialde V, Nombela C, and Pla J. (2010) The Sko1 protein represses the yeast-to-hypha transition and regulates the oxidative stress response in *Candida albicans*. *Fungal Genet Biol* 47: 587-601.
- Arana DM, Alonso-Monge R, Du, C, Calderone R, and Pla J. (2007) Differential susceptibility of mitogen-activated protein kinase pathway mutants to oxidative-mediated killing by phagocytes in the fungal pathogen *Candida albicans*. *Cell Microbiol* 9: 1647-1659.
- Arana DM, Nombela C, and Pla J. (2010) Fluconazole at subinhibitory concentrations induces the oxidative- and nitrosative-responsive genes *TRR1*, *GRE2* and *YHB1*, and enhances the resistance of *Candida albicans* to phagocytes. *J Antimicrob Chemother* 65: 54-62.

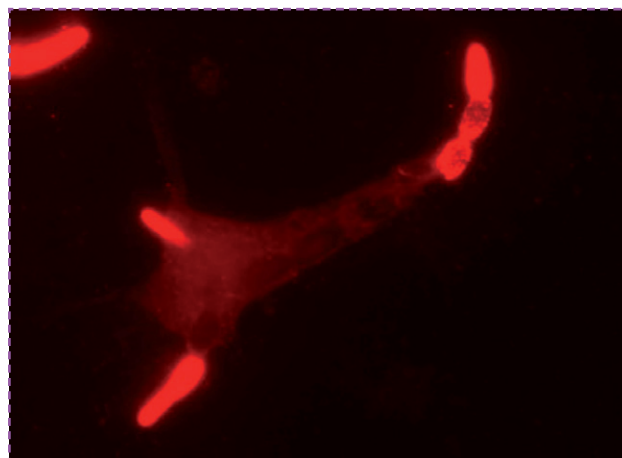


Fig. 2. Macrófago en el proceso de ingestión de *C. albicans*. Como se puede observar, la forma hifal empieza a emerger y acabará finalmente provocando la muerte del macrófago. Tesis D. Molina Arana.

- Arana DM, Prieto D, Roman E, Nombela C, Alonso-Monge R and Pla J. (2009) The role of the cell wall in fungal pathogenesis. *Microb Biotechnol* 2: 308-320.
- Correia I, Alonso-Monge R, and Pla J. (2010) MAPK cell-cycle regulation in *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida albicans*. *Future Microbiol* 5: 1125-1141.
- Díez-Orejas R, and Fernandez-Arenas E. (2008) *Candida albicans*-macrophage interactions: genomic and proteomic insights. *Future Microbiol* 3: 661-681.
- Ernst JF, and Pla J. (2011) Signaling the glycoshield: maintenance of the *Candida albicans* cell wall. *Int J Med Microbiol* 301: 378-383.
- Fernandez-Arenas E, Bleck CK, Nombela C, Gil C, Griffiths G and Díez-Orejas R. (2009) *Candida albicans* actively modulates intracellular membrane trafficking in mouse macrophage phagosomes. *Cell Microbiol* 11: 560-589.
- Galan-Díez M, Arana DM, Serrano-Gomez D, Kremer L, Casasnovas JM, Ortega M, et al. (2010) *Candida albicans* beta-glucan exposure is controlled by the fungal *CEK1*-mediated mitogen-activated protein kinase pathway that modulates immune responses triggered through dectin-1. *Infect Immun* 78: 1426-1436.
- Herrero de DC, Roman E, Díez C, Alonso-Monge R, and Pla J. (2013) The transmembrane protein Opy2 mediates activation of the Cek1 MAP kinase in *Candida albicans*. *Fungal Genet Biol* 50: 21-32.
- Li D, Williams D, Lowman D, Monteiro MA, Tan X, Kruppa M, et al. (2009) The *Candida albicans* histidine kinase Chk1p: signaling and cell wall mannan. *Fungal Genet Biol* 46: 731-741.
- Relloso M, Aragonese-Fenoll L, Lasarte S, Bourgeois C, Romera G, Kuchler K, et al. (2012) Estradiol impairs the Th17 immune response against *Candida albicans*. *J Leukoc Biol* 91: 159-165.
- Román E, Cottier F, Ernst JF and Pla J. (2009) Msb2 signaling mucin controls activation of Cek1 mitogen-activated protein kinase in *Candida albicans*. *Eukaryot Cell* 8: 1235-1249.
- Szafranski-Schneider E, Swidergall M, Cottier F, Tielker D, Roman E, Pla J and Ernst JF. (2012) Msb2 Shedding Protects *Candida albicans* against Antimicrobial Peptides. *PLoS Pathog* 8: e1002501.

Patógenos oportunistas

José Luis Martínez

Departamento de Biotecnología Microbiana. Centro Nacional de Biotecnología. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Darwin 3. 28049-Madrid

www.cnb.csic.es/index.php/es/home/biotecnologia-microbiana/patogenos-oportunistas.html



Componentes del grupo de izquierda a derecha: de pie, Alejandra Bernardini, María Blanca Sánchez, José Luis Martínez, Guillermo García-León, Trinidad Cuesta. En cuclillas, Felipe Lira, Manuel Alcalde, Fernando Corona, Jorge Olivares.

Las enfermedades infectocontagiosas continúan siendo una causa fundamental de la morbilidad y mortalidad en el mundo. Uno de los motivos de esta situación es la emergencia de microorganismos resistentes a los antibióticos, bien porque hayan adquirido dicha resistencia como consecuencia de la presión selectiva debido al uso de los antibióticos, bien porque sean intrínsecamente resistentes a los mismos. En nuestro laboratorio estamos interesados en este último tipo de microorganismos y en particular en las bacterias patógenas oportunistas de origen medioambiental que causan una parte importante de las infecciones hospitalarias. Nuestro interés fundamental consiste en entender las redes

que conectan la resistencia a los antibióticos con la virulencia de estos patógenos, así como delimitar si estas redes están bajo control metabólico. Para estos análisis, estamos usando técnicas de genómica, biología molecular y celular, así como estudios de fisiología microbiana.

La mayor parte de los estudios sobre la resistencia a los antibióticos se centran en los aspectos clínicos de este problema. Por ese motivo, el papel que pueden tener los ecosistemas naturales en la evolución de la resistencia y la virulencia ha recibido una atención menor. Sin embargo, hemos de tener en cuenta que todos los genes de resistencia que han adquirido los patóge-

nos humanos provienen de microorganismos medioambientales. En el caso de patógenos oportunistas, como *P. aeruginosa*, todos los aislados, independientemente de cual sea su origen, comparten un alto nivel de resistencia a los antibióticos, que ha sido adquirido antes del uso de los antibióticos por la humanidad para tratar las enfermedades infecciosas. De igual modo, todas las estirpes de *P. aeruginosa* contienen en su genoma determinantes de virulencia semejantes, lo que indica que este patógeno ha desarrollado estos determinantes para sobrevivir en los ecosistemas naturales (no clínicos) en los que habitualmente se encuentra y puede usarlos también para infectar al paciente humano.

Nuestros estudios han permitido aportar nuevas ideas sobre el papel funcional que tienen los antibióticos y los genes de resistencia a los mismos en los ecosistemas naturales. En particular, hemos propuesto que los antibióticos y sus genes de resistencia podrían tener una función diferente a la de desplazar al competidor y resistir dicha agresión en los ecosistemas naturales. Hemos determinado también que los determinantes de virulencia pueden ser importantes para evitar la acción de depredadores en ecosistemas no clínicos y que pueden ser un factor selectivo importante en la evolución de los meta-zoos (hipótesis de Haldane). Asimismo, hemos propuesto nuevas normas para predecir la emergencia y diseminación de la resistencia a los antibióticos en las bacterias patógenas y hemos estudiado la evolución de las mismas durante infecciones crónicas. Finalmente, nuestros análisis del resistoma intrínseco de patógenos microbianos nos está permitiendo definir nuevos blancos cuya inactivación hace que bacterias como *P. aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* o *Klebsiella pneumoniae* sean más sensibles a los antibacterianos.

BIBLIOGRAFÍA

- Fernández L, Alvarez-Ortega C, Wiegand I, Olivares J, Kocincová D, Lam JS, Martínez JL, Hancock RE.** (2013) Characterization of the polymyxin B resistome of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 57: 110-119.
- Martínez JL** (2013). Bacterial pathogens: from natural ecosystems to human hosts. *Environment Microbiol* 15: 325-333
- Olivares J, Alvarez-Ortega C, Linares JF, Rojo F, Köhler T, Martínez JL.** (2012) Overproduction of the multidrug efflux pump MexEF-OprN does not impair *Pseudomonas aeruginosa* fitness in competition tests, but produces specific changes in bacterial regulatory networks. *Environment Microbiol* 14: 1968-1981.
- Sánchez MB, Martínez JL.** (2012) Differential epigenetic compatibility of qnr antibiotic resistance determinants with the chromosome of *Escherichia coli*. *PLoS One* 7: e35149.
- Hernández A, Ruiz FM, Romero A, Martínez JL.** (2011) The binding of triclosan to SmeT, the repressor of the multidrug efflux pump SmeDEF, induces antibiotic resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *PLoS Pathogens* 7: e1002103.
- Martínez JL, Baquero F, Andersson DI.** (2011) Beyond serial passages: new methods for predicting the emergence of resistance to novel antibiotics. *Curr Opin Pharmacol* 5: 439-445.
- Martínez JL, Rojo F.** Metabolic regulation of antibiotic resistance (2011) *FEMS Microbiol Rev* 35: 768-789.
- Linares JF, Moreno R, Fajardo A, Martínez-Solano L, Escalante R, Rojo F, Martínez JL.** (2010) The global regulator Crc modulates the metabolism, the susceptibility to antibiotics and the virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Environment Microbiol* 12: 3196-3212
- Alvarez-Ortega C, Eiegand I, Olivares J, Hancock RW, Martínez JL.** (2010) Genetic determinants involved in the susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to β -lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 4159-4167.
- Hernández A, Maté MJ, Sánchez-Díaz PC, Romero A, Rojo F, Martínez JL.** (2009) Structural and functional analysis of SmeT, the repressor of the *Stenotrophomonas maltophilia* multidrug efflux pump *smeDEF*. *J Biol Chem* 284: 14428-14433.
- Martínez JL, Sánchez MB, Martínez-Solano L, Hernández A, Garmendía L, Fajardo A, Alvarez-Ortega C.** (2009) Functional role of bacterial multidrug efflux pumps in the microbial natural ecosystems. *FEMS Microbiol Rev* 33: 430-44.
- Martínez JL.** (2008) Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science* 321: 365-367.
- Fajardo A, Martínez-Martín N, Mercadillo M, Galán JC, Ghysels B, Matthijs S, Cornelis P, Wiehlmann L, Tummeler B, Baquero F, Martínez JL.** (2008) The neglected intrinsic resistome of bacterial pathogens. *PLoS ONE* 3: e1619.
- Martínez-Solano L, Macía MD, Fajardo A, Oliver A, Martínez JL.** (2008) Chronic *Pseudomonas* infection in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Clin Infect Dis* 47: 1526-1533.
- Martínez JL, Baquero F, Andersson DI.** (2007) Predicting antibiotic resistance. *Nature Rev Microbiol* 5: 958-965.
- Navas A, Cobas G, Ayala J, Talavera M, Lopez JA, Martínez JL.** (2007) Experimental validation of Haldane's hypothesis on the role of infections as an evolutionary force for Metazoans. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 13728-13731.
- Linares JF, Gustafsson I, Baquero F, Martínez JL.** (2006) Antibiotics as intermicrobial signaling agents instead of weapons. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 19484-19489.

OTRAS PUBLICACIONES

http://scholar.google.es/citations?hl=es&user=MHW0UdYAAAAJ&view_op=list_works

Interacciones huésped-parásito en infecciones neumocócicas

Pedro García y Ernesto García

Departamento de Microbiología Molecular y Biología de las Infecciones,
Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC), c/Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid



Miembros del grupo de investigación (de izquierda a derecha): Pedro García, Miriam Moscoso, Eloísa Cano, Mirian Domenech, Lidia Araújo, Ernesto García, Susana Ruiz, Leire Aguinagalde, Roberto Díez, Alma Sotillo, Héctor de Paz, Elisa Ramos, Mar Reinés.

El origen de nuestro grupo se remonta a 1975 cuando Rubén López y Concepción Ronda regresaron al viejo Centro de Investigaciones Biológicas de Madrid después de una estancia en el laboratorio de Alexander Tomasz de la Rockefeller University (Nueva York). Desde entonces y durante casi 40 años, *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) ha constituido el *leitmotiv* de nuestro quehacer. Neumococo es un patógeno humano muy importante y causa frecuente de meningitis, sepsis, neumonía, otitis media, etc., en niños menores de 5 años y adultos de edad avanzada. Se calcula que, globalmente, esta bacteria es responsable directa de la muerte de entre 700 000 y un millón de niños al año. Además de la ya clásica vacuna 23-valente, en 2001 y 2010, respectivamente, se licenciaron en nuestro país vacunas compuestas por 7 y 13 polisacáridos capsulares conjugados a una proteína portadora. La vacuna 13-valente se recomienda para niños y jóvenes a partir de 6–8 semanas de vida y hasta los 17 años, además de estar indicada para

adultos mayores de 50. A pesar de estas medidas preventivas, la realidad es que se ha producido un reemplazamiento de los tipos capsulares (se han descrito, al menos, 94 serotipos) y no está demostrado que la vacunación de la población infantil sea coste-efectiva.

A lo largo de casi 40 años, el interés científico del grupo se ha centrado en diferentes aspectos de la biología de neumococo entre los que se pueden mencionar: 1) enzimas líticas de pared o peptidoglicán hidrolasas (PgH), 2) fagos, 3) bases moleculares de la biosíntesis capsular, 4) formación de biofilmes y 4) desarrollo de nuevas terapias. Como veremos a continuación, las estrechas relaciones genéticas existentes entre las PgH del huésped y sus fagos han conducido a una *co-evolución* de los apartados 1 y 2.

Según Maclin McCarty, neumococo posee «tendencias suicidas». Con esta afirmación, McCarty (uno de los tres descubridores de que el DNA constituye la base de la herencia genética) quería significar que *S. pneumoniae* posee una

enzima autolítica sumamente potente (una *N*-acetilmuramyl-L-alanina amidasa; NAM-amidasa) que produce la lisis y muerte celular poco después de que el cultivo entre en la fase estacionaria. En 1985 fuimos capaces de clonar, secuenciar y expresar, en *Escherichia coli*, el gen *lytA* que codifica la principal autolisina neumocócica lo que, en aquel momento, supuso la primera clonación y expresión funcional de una autolisina bacteriana. El aislamiento y caracterización molecular de diversos mutantes y la clonación de este gen en neumococo usando un mutante delecionado en *lytA* permitieron la definición precisa de algunas de las funciones de la NAM-amidasa LytA. Además, la obtención de estos mutantes permitió la identificación de otras PgH de neumococo entre las que cabe mencionar Pce (una fosforilcolinesterasa), LytC (una lisozima autolítica a la temperatura del tracto respiratorio superior) y la glucosaminidasa LytB responsable de la separación de las células hijas al final de la división. El desarrollo de un método de purificación de estas proteínas en un solo paso cromatográfico ha facilitado la obtención de numerosos datos fisicoquímicos, así como el estudio de la relación estructura-función de varias proteínas de unión a colina o *choline-binding proteins* (CBPs) que se han conseguido cristalizar. Estos trabajos se realizan en colaboración con los grupos de Margarita Menéndez y Juan Hermoso del Instituto Rocasolano (CSIC). Asimismo, hay que resaltar la colaboración con el grupo de José Manuel Pingarrón, de la Universidad Complutense y de Jesús Mingorance del Hospital La Paz de Madrid, que ha dado como resultado el desarrollo de un genosensor basado en la amplificación por PCR de una región específica del gen *lytA* que permite la identificación precisa de neumococo de manera rápida y con mucha sensibilidad.

El aislamiento y caracterización de diversos fagos que infectan a neumococo ha constituido uno de nuestros mayores intereses. Además de estudios sobre los mecanismos de replicación de diversos fagos, incluyendo los fagos Cp's que contienen una proteína unida covalentemente a su genoma, a lo largo de los años hemos estudiado las enzimas líticas (endolisinas) responsables de la liberación de la progenie al final del ciclo lítico del fago. En 1988, caracterizamos molecularmente la lisozima Cpl-1, la primera enzima lítica codificada por un fago de neumococo. De la comparación de las secuencias de LytA y Cpl-1, propusimos que las enzimas líticas de neumococo y sus fagos son proteínas modulares construidas según un patrón en que la mitad de la proteína (normalmente la N-terminal) es la responsable de la actividad catalítica mientras que la C-terminal reconoce al sustrato insoluble, la pared celular. Con el tiempo, se han clonado, secuenciado y expresado un buen número de endolisinas codificadas tanto por fagos líticos como atemperados de neumococo y especies próximas.

El esquema que ha resultado de todos estos estudios es que, a excepción de la lisozima Cpl-7 codificada por un fago de la familia Cp, todas las demás PgH de neumococo y sus fagos son enzimas modulares que pertenecen a la familia de las CBPs. Cpl-7 es un caso especial ya que es capaz de degradar las paredes celulares independientemente de

que contengan o no colina (la colina es un aminoalcohol característico de los ácidos teicoicos y lipoteicoicos de neumococo). En los últimos años y en colaboración con Jose Yuste del Centro Nacional de Microbiología del ISCIII, se ha demostrado que las PgH de neumococo están implicadas de manera directa en la virulencia de este patógeno desempeñando un papel muy importante en la evasión de los mecanismos de defensa del huésped y siendo fundamentales tanto para la colonización de la nasofaringe como para el desarrollo de la enfermedad neumocócica invasiva.

A pesar de su importancia histórica en los estudios de transformación genética, la secuencia y organización de los genes capsulares no empezó a ser desvelada hasta 1993. Aunque hoy se conoce la estructura del *cluster* responsable de la biosíntesis de los 94 tipos capsulares, fueron datos obtenidos en nuestro laboratorio los que permitieron demostrar que existen dos tipos de organizaciones génicas: los serotipos 3 y 37 se sintetizan mediante una sola glicosiltransferasa (sintasa) mientras que el resto de los polisacáridos requieren una proteína tipo Wzy que actúa catalizando la polimerización de las unidades repetidas que forman parte del polisacárido. Además, demostramos que el gen *galU*, que codifica una UDP-glucosa pirofosforilasa, es esencial para la biosíntesis capsular.

Solo muy recientemente se ha puesto en evidencia la capacidad de neumococo para formar biofilmes y nuestro laboratorio ha contribuido a ello. Además de demostrar que algunas CBPs y otras proteínas son importantes en este proceso, hemos aportado pruebas directas de la existencia de DNA extracelular y, al menos, un polisacárido, entre las sustancias poliméricas extracelulares del biofilm neumocócico. Por otro lado, hemos demostrado el poder de algunas PgH para deshacer los biofilmes de *S. pneumoniae* *in vitro*.

Las PgH, tanto las de origen fágico como la propia NAM-amidasa LytA, han demostrado ser enzimas promotoras que poseen actividad antibiótica (enzimbióticos) en modelos murinos de infección neumocócica y, dado que son eficaces en aislados clínicos de *S. pneumoniae* multirresistentes, poseen un futuro prometedor por sí solas o en terapias combinadas con antibióticos tradicionales. Actualmente se está investigando el potencial terapéutico antineumocócico tanto de fármacos de uso clínico con otras aplicaciones como nuevos compuestos inhibidores de las PgH y, en un sentido más amplio, de las CBPs.

BIBLIOGRAFÍA

- Bustamante N, Rico-Lastres P, García E, García P, Menéndez M. (2012) Thermal stability of Cpl-7 endolysin from the *Streptococcus pneumoniae* bacteriophage Cp-7; cell wall-targeting of its CW₇ motifs. *PLoS One* 7: e46654.
- Campuzano S, Esteban-Fernández de Ávila B, Pedrero M, et al. (2011) Electrochemical magneto-immuno-PCR approach for direct and highly sensitive detection of *Streptococcus pneumoniae*. *Chemical Sensors* 1: 8.
- Campuzano S, Esteban-Fernández de Ávila B, Yuste J, et al. (2010) Disposable amperometric magnetoimmunosensors for the specific detection of *Streptococcus pneumoniae*. *Biosens Bioelectron* 26: 1225-1230.

Campuzano S, Pedrero M, García JL, García E, García P, Pingarrón JM. (2011) Development of amperometric magnetogenosensors coupled to asymmetric PCR for the specific detection of *Streptococcus pneumoniae*. Anal Bioanal Chem 399: 2413-2420.

Domenech M, García E, Moscoso M. (2011) In vitro destruction of *Streptococcus pneumoniae* biofilms with bacterial and phage peptidoglycan hydrolases. Antimicrob Agents Chemother 55: 4144-4148.

Domenech M, García E, Moscoso M. (2012) Biofilm formation in *Streptococcus pneumoniae*. Microb Biotechnol 5: 455-465.

Domenech M, García E, Prieto A, Moscoso M. (2013) Insight into the composition of the intercellular matrix of *Streptococcus pneumoniae* biofilms. Environ Microbiol 15: 502-516.

Ramos-Sevillano E, Moscoso M, García P, García E, Yuste J. (2011) Nasopharyngeal colonization and invasive disease are enhanced by the cell wall hydrolases LytB and LytC of *Streptococcus pneumoniae*. PLoS One 6: e23626.

Ramos-Sevillano E, Rodríguez-Sosa C, Cafini F, et al. (2012) Cefditoren and ceftriaxone enhance complement-mediated immunity in the presence of specific antibodies against antibiotic-resistant pneumococcal strains. PLoS One 7: e44135.

Ramos-Sevillano E, Rodríguez-Sosa C, Díez-Martínez R, et al. (2012) Macrolides and β -lactams antibiotics enhance C3b deposition on the surface of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* strains by a LytA autolysin-dependent mechanism. Antimicrob Agents Chemother 56: 5534-5540.

Biotecnología Microbiana e Industrial

Los enzibióticos como herramienta terapéutica

Tomás González Villa

Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia de la USC



Integrantes del grupo de investigación (de izquierda a derecha): Trinidad de Miguel Bouzas, Mauricio Roberto Carreño López, Tomás González Villa, José Luis Rodríguez Rama, Lucia Feijoo Siota, Ana Gonzalez Abril, Fernando María Punín y Nistal.

Nuestro grupo de investigación posee una amplia experiencia en la clonación y explotación de genes de potencial industrial. Comenzando su actividad como grupo en el año 1983, encuadrado dentro del grupo de Biotecnología perteneciente al Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia de la USC.

La actividad del grupo se centra fundamentalmente en moléculas con alto potencial biotecnológico en los ámbitos farmacéuticos, de ingeniería de procesos y tecnología de alimentos. Siendo una de nuestras líneas de investigación la expresión de proteínas con actividad enzibiótica.

Los enzibióticos son enzimas líticas que emplean los virus bacteriófagos en algún momento durante su ciclo lítico. Con estas enzimas, matan y lisan las bacterias que infectan. Si bien uno de los principales miedos entre no expertos tiene que ver con la seguridad del uso de los bacteriófagos y en concreto con la posibilidad de que interactúen con nuestras células o incluso integren sus genes en nuestro genoma. Frente a esto ha de recordarse que los humanos estamos expuestos a los bacteriófagos desde el mismo momento del nacimiento (y probablemente antes) y que los consumimos constantemente tanto en aguas (las aguas libres de contaminación contienen hasta 2×10^8 bacteriófagos por mililitro) como en alimentos (yogur, quesos, sauerkraut, salami, etc.), se encuentran de un modo natural en la piel, boca, orina y otras partes del cuerpo y son inocuos para nosotros, son enemigos naturales de las bacterias y nosotros lo único que hacemos en esta estrategia bacteriófágica es «SER AMIGOS DE LOS ENEMIGOS DE NUESTROS ENEMIGOS».

Ha de tenerse en cuenta que el uso masivo de antibióticos convencionales ha provocado la aparición de microorganismos resistentes a un amplio espectro de fármacos, por lo que la efectividad de terapias antibacterianas se ha visto mermada. Esto hace necesario la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos para el control de infecciones causadas por microorganismos multirresistentes. Una alternativa es así el empleo de sustancias enzibióticas. Existen dos tipos de enzibióticos: lisinas (incluyendo las lisozimas) y holinas.

Las lisozimas son β -1,4-acetilmuramidasa que actúan rompiendo enlaces entre el ácido N-acetilmurámico y la N-acetilglucosamina del peptidoglucano que forma la pared bacteriana.

Las holinas forman poros en la membrana para que las lisinas fágicas puedan acceder a la pared bacteriana.

Aunque se conocen desde principios del siglo xx, los enzibióticos quedaron olvidados cuando se descubrieron los antibióticos convencionales, pero ahora resurgen debido a las amplias posibilidades que nos presenta la Biotecnología en la manipulación de microorganismos.

Si el concepto de enzibiótico se extiende a aquellas enzimas capaces de actuar sobre las paredes fúngicas, como las actividades glucanásicas y las quitinasas producidas por hongos como *Trichoderma harzianum* o la bacteria *Bacillus circulans*, la batería terapéutica se amplía enormemente.

Las grandes ventajas que presenta la terapia con enzibióticos son su gran especificidad hacia la especie bacteriana que causa la infección, no producen efectos secundarios, no presentan resistencias, los costes de producción son bajos y no atacan a la microflora normal debido a su gran especificidad.

Este grupo de investigación ha estado trabajando en la aplicación de las enzimas endoglucanasa para el tratamiento de enfermedades fúngicas. Y en la actualidad prevé el inicio de trabajos destinados al estudio y el empleo de holinas.

Por último reseñar que este grupo realiza colaboraciones con diversos grupos de investigación así como con varias empresas:

- Catedrático Miquel Viñas Ciordi. Universidad de Barcelona. Dpto. de Patología y Terapéutica Experimental.

- Catedrático José Pedro Martínez García. Universidad de Valencia. Dpto. Microbiología.
- Catedrático Germán Larriba Calle. Universidad de Extremadura. Dpto. de Microbiología.
- Profa. Patricia Veiga Crespo. Universidad de Lund.
- Agroaxis y Curaxys: producción de fármacos.
- Feiraco: producción de derivados lácteos.

BIBLIOGRAFÍA

- Vallejo JA, Sánchez-Pérez A, Martínez JP, Villa TG. (2013) Cell aggregations in yeasts and their applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 97: 2305-2318.
- Vallejo JA, Ageitos JM, Poza M, Villa TG. (2012) A comparative analysis of recombinant chymosins. *J Dairy Sci* 95: 609-613.
- Alvarez-Rivera G, De Miguel T, Llompart M, García-Jares C, Villa TG and Lores M. (2012) A novel outlook on detecting microbial contamination in cosmetic products: analysis of biomarker volatile compounds by solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Methods* 5: 384-393.
- Fusté E, Galisteo GJ, Jover L, Vinuesa T, Villa TG, Viñas M. (2012) Comparison of antibiotic susceptibility of old and current *Serratia*. *Future Microbiol* 7: 781-786.
- Veiga-Crespo P, Sánchez-Pérez A, Villa TG. (2012) Cloning and characterization of the beer-foaming gene CFG1 from *Saccharomyces pastorianus*. *J Agr Food Chem* 60: 10796-10807.
- Ageitos JM, Vallejo JA, Veiga-Crespo P, Villa TG. (2011) Oily yeasts as oleaginous cell factories. *Appl Microbiol Biot* 90: 1219-1227.
- Araya-Garay JM, Feijoo-Siota L, Veiga-Crespo P, Villa TG (2011) cDNA cloning of a novel gene codifying for the enzyme lycopene β -cyclase from *Ficus carica* and its expression in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotech* 92: 769-777.
- Feijoo-Siota L, Villa TG. (2011) Native and biotechnologically engineered plant proteases with industrial applications. *Food Bioprocess Tech*, 4: 1066-1088.
- Veiga-Crespo P, Fusté E, Vinuesa T, Vinas M, Villa TG. (2011) Synergism between outer membrane proteins and antimicrobials. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 2206-2211.
- Veiga-Crespo P and Villa TG. (2010) Advantages and Disadvantages in the use of antibiotics or phages as therapeutic agents, in *Enzybiotics: Antibiotic Enzymes as Drugs and Therapeutics* (eds T. G. Villa and P. Veiga-Crespo), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9780470570548.
- Veiga-Crespo P and Villa TG. (2010) Phylogeny of enzybiotics, in *Enzybiotics: Antibiotic Enzymes as Drugs and Therapeutics* (eds T. G. Villa and P. Veiga-Crespo), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9780470570548.
- Veiga-Crespo P and Villa TG. (2010) Concluding remarks: the future of enzybiotics, in *Enzybiotics: Antibiotic Enzymes as Drugs and Therapeutics* (eds T. G. Villa and P. Veiga-Crespo), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9780470570548.
- Sieiro C, Sestelo ABF, Villa TG. (2009) Cloning, Characterization, and Functional Analysis of the EPG1-2 Gene: A New Allele Coding for an Endopolygalacturonase in *Kluyveromyces marxianus*. *J Agr Food Chem* 57: 8921-8926.
- Fenosa A, Fusté E, Ruiz L, Veiga-Crespo P, Vinuesa T, Guallar V, Villa TG, and Viñas M. (2009) Role of TolC in *Klebsiella oxytoca* resistance to antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 63: 668-74.
- Vallejo JA, Ageitos JM, Poza M, Villa TG. (2008) Cloning and Expression of Buffalo Active Chymosin in *Pichia pastoris*. *J Agr Food Chem* 56: 10606-10610.

Bases moleculares de la acción de antimicrobianos en estreptococos

María José Ferrándiz y Adela González de la Campa

Unidad de Genética Bacteriana, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Crtra Majadahonda-Pozuelo Km 2, 28220 Madrid. CIBER de Enfermedades Respiratorias



De izquierda a derecha: Cristina Arnanz, Luz Balsalobre, María Isabel Cercenado, Adela G. de la Campa, A. Javier Martín-Galiano, María José Ferrándiz.

Nuestro grupo estudia desde hace más de 20 años los mecanismos de resistencia a antibióticos en estreptococos, principalmente en *Streptococcus pneumoniae*, mediante una combinación de estudios moleculares básicos y otros más aplicados (epidemiología, emergencia *in vivo* de resistencia durante el tratamiento antibiótico). Estos estudios han incluido tanto antimicrobianos que se utilizan para el diagnóstico (optoquina) como otros utilizados en el tratamiento de infecciones (principalmente fluoroquinolonas, Fqs). Los objetivos del grupo son conocer las bases moleculares de la acción de antimicrobianos así como buscar nuevos compuestos y nuevas dianas de acción. El grupo está formado actualmente por un Investigador Científico del CSIC (Adela González de la Campa), una Investigadora Titular de OPI (María José Ferrándiz), dos Investigadores Posdoctorales (Luz Balsalobre y Antonio Javier Martín-Galiano) y dos Técnicos de Laboratorio (Cristina Arnanz y María Isabel Cercenado). A continuación se exponen las líneas de investigación del laboratorio.

SUSCEPTIBILIDAD DE *S. PNEUMONIAE* A OPTOQUINA Y DROGAS ANTIMALÁRICAS

Nuestros primeros trabajos permitieron determinar las bases moleculares de la característica susceptibilidad de

S. pneumoniae a optoquina, habitualmente la única prueba utilizada en clínica para diferenciar el neumococo de los estreptococos *viridans* (SV). La diana de la optoquina resultó ser la ATPasa de membrana F_0F_1 (subunidades a, b, g, d, e) es el complejo citoplásmico, que dispone del sitio catalítico para la hidrólisis de ATP y F_0 (a, c, b) es transmembranal y forma el canal de protones. Caracterizamos las mutaciones de resistencia, tanto a optoquina como a otras drogas antimaláricas (quinina, mefloquina, etc.) en las α -hélices transmembranales de las subunidades c y a. Puesto que la quinina y la quinidina son drogas utilizadas para el tratamiento parenteral de malaria causada por *P. falciparum* resistente a cloroquina y el mecanismo de acción de estos compuestos es todavía desconocido, propusimos a neumococo como un sistema modelo para el ensayo de dichos compuestos. Por otra parte, demostramos que la ATPasa F_0F_1 es esencial para la viabilidad celular y constituye por tanto un blanco idóneo para el desarrollo de nuevos antibacterianos. Esta enzima, presente en mitocondrias y cloroplastos, es la enzima fundamental para la síntesis de ATP. Sin embargo, en *S. pneumoniae*, que carece de cadena respiratoria, la enzima genera un gradiente transmembranal de protones por medio de la energía liberada por la hidrólisis del ATP y actúa regulando el pH intracelular. Determinamos

namos que la cantidad de ATPasa F_0F_1 se regula a nivel de la iniciación de la transcripción del operón dependiendo del pH intracelular. También estudiamos la respuesta de tolerancia a ácido y la expresión génica global de esta respuesta utilizando microarrays. La respuesta a ácido es fundamental para la adaptación de la *S. pneumoniae* a los diferentes hábitats en que se encuentra (tracto respiratorio, líquido cefalorraquídeo, sangre) y por tanto para su capacidad patogénica.

SUSCEPTIBILIDAD DE *S. PNEUMONIAE* A FLUOROQUINOLONAS Y CUMARINAS

La resistencia a antibióticos, tanto en neumococo como en otras bacterias Gram-positivas, ha llevado al desarrollo de nuevas fluoroquinolonas (Fqs), que actualmente están indicadas para el tratamiento de infecciones respiratorias en adultos. Aunque la prevalencia actual de cepas resistentes a Fqs es todavía baja (<5%), la emergencia de estas cepas puede llegar a ser un problema clínico importante. Sin embargo, la resistencia a Fqs entre los estreptococos viridans (SV), bacterias comensales que comparten nicho ecológico con neumococo en la nasofaringe y causan endocarditis y bacteriemia en pacientes inmuno-comprometidos, es superior a la de neumococo (13%-20%). Nosotros hemos detectado la existencia de cepas de neumococo recombinantes que han adquirido mutaciones de resistencia a Fqs por transferencia horizontal desde los SV, lo que permite deducir que los SV están actuando como un reservorio de resistencia. Nuestro trabajo ha revelado que las cepas de *S. pneumoniae* resistentes a Fqs se han seleccionado de entre las pertenecientes a los clones epidémicos multiresistentes y que, entre ellas, se encuentran cepas recombinantes. La diseminación de la resistencia a Fqs a través de estos clones, incluyendo las cepas recombinantes, puede provocar un aumento rápido de la resistencia si se incrementa el consumo de Fqs.

La resistencia a Fqs ocurre principalmente por alteración de los blancos celulares: DNA topoisomerasa IV (topo IV: $ParC_2ParE_2$) y DNA girasa (girasa: $GyrA_2GyrB_2$). Estas enzimas esenciales controlan la topología del DNA. Nuestro grupo ha caracterizado los genes que codifican la girasa y la topo IV de *S. pneumoniae*. Hemos localizado las mutaciones responsables de resistencia a Fqs en los dominios N-terminales de *parC* y *gyrA* y en el C-terminal de *ParE* (el dominio de interacción *ParC-ParE*). Experimentos de transformación genética nos permitieron demostrar que, en *S. pneumoniae*, la topo IV es el blanco primario para la mayoría de las Fqs, siendo la girasa un blanco secundario. La cuantificación de la inhibición de las actividades enzimáticas de superenrollamiento (girasa) y de decatenación (topo IV) en presencia de Fqs nos permitió demostrar también a nivel bioquímico que la topo IV es blanco primario para las Fqs. Además, hemos estudiado la eficacia biológica de las cepas con topoisomerasas recombinantes. Hemos demostrado que, aunque determinadas mutaciones producen un coste biológico, este coste se compensa en las cepas recombinantes por restauración del nivel global de superenrollamiento debido a la presencia de topoisomerasas subóptimas. Por otra parte, la caracterización genética de

la girasa nos permitió la detección de una mutación en el extremo N-terminal de *GyrB* de *S. pneumoniae* que fue la primera caracterización de mutación responsable de resistencia a cumarinas en una bacteria Gram-positiva. Aunque las cumarinas tienen propiedades farmacológicas desfavorables, son un grupo de antibacterianos no relacionado químicamente con las Fqs que presentan elevada actividad frente a las bacterias Gram-positivas y constituyen un grupo importante para el futuro desarrollo de fármacos.

REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN POR SUPERENROLLAMIENTO

Recientemente hemos demostrado que la relajación del cromosoma de *S. pneumoniae* por tratamiento con novobiocina (inhibidor de *GyrB*) dispara una respuesta transcripcional global y homeostática en la que están implicadas todas las topoisomerasas: la girasa se activa y las topoisomerasas I y IV se inhiben. Más del 13% del genoma muestra respuesta transcripcional, y la mayoría (>68%) de estos genes están localizados en 15 agrupamientos (14.6-85.6 Kb) con transcripción coordinada. Hemos determinado que existe una organización estructural del genoma que correlaciona el contenido AT con el nivel de expresión y que incluye dominios topológicos cuya transcripción está regulada por superenrollamiento y regiones con función estructural. Hemos demostrado que el nivel de superenrollamiento es un parámetro general que regula la expresión génica, independientemente de otros tipos de regulación más específica. Puesto que este nivel puede variar en los diferentes nichos en los que se encuentra en el hombre *S. pneumoniae*, su regulación sería crucial para la patogenicidad de esta bacteria.

LA DNA TOPOISOMERASA I COMO NUEVA DIANA ANTIMICROBIANA

Hasta ahora no se había identificado ningún compuesto que actuara eficientemente sobre la DNA topoisomerasa I. Nosotros hemos testado la inhibición de esta enzima por alcaloides semisintéticos derivados de la boldina habiendo detectado dos que la inhiben a concentraciones equivalentes a las que inhiben el crecimiento bacteriano (~10 mM). Estos compuestos son activos frente a cepas multiresistentes, no afectan la viabilidad de células humanas y representan nuevas alternativas para el tratamiento de infecciones neumocócicas. Hemos patentado recientemente el uso de estos nuevos antimicrobianos (P200931186).

PUBLICACIONES RECIENTES REPRESENTATIVAS DEL GRUPO

- Balsalobre L, de la Campa AG. (2008) Fitness of *Streptococcus pneumoniae* fluoroquinolone resistant strains with topoisomerase IV recombinant genes. *Antimicrob Agents Chemother* 52: 822-830.
- de la Campa AG, Ardanuy C, Balsalobre L, Pérez-Trallero E, Marimón JM, Fenoll A, Liñares J. (2009) Changes in fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae* clones during 7-valent conjugate vaccination, Spain. *Emerg Infect Dis* 15: 905-911.

Ferrándiz MJ, Martín-Galiano AJ, Schwartzman JB, de la Campa AG. (2010) The genome of *Streptococcus pneumoniae* is organized in topology-reacting gene clusters. *Nucleic Acids Res* 38: 3570-3581.

García MT, Blázquez MA, Ferrándiz MJ, Sanz MJ, Silva-Martín N, Hermoso JA, de la Campa AG. (2011) New alkaloid antibiotics that target the DNA topoisomerase I of *Streptococcus pneumoniae*. *J Biol Chem* 286: 6402-6413.

Balsalobre L, Ferrándiz MJ, de Alba G, de la Campa AG. (2011) Nonoptimal DNA topoisomerases allow maintenance of supercoiling levels and improve fitness of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 1097-1105

Ferrándiz MJ, Ardanuy C, Liñares J, Balsalobre L, García MT, de la Campa AG. (2011) New species genetic approach to identify strains of streptococci mitis group that are donors of rifampin resistance to *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 368-372

Domenech A, Ardanuy C, Balsalobre L, Martí S, Calatayud L, de la Campa AG, Brueggemann AB, Liñares J. (2012) Pneumococci can persistently colonise adult patients with chronic respiratory disease. *J Clin Microbiol* 50: 4047-4053.

Balsalobre L, Ortega M, de la Campa AG. (2013) Characterization of recombinant fluoroquinolone-resistant pneumococcus-like isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 57: 254-260.

Microbiología molecular y antimicrobianos

Miguel Viñas

Campus de Ciencias de la Salud, Universidad de Barcelona. Hospitalet de Llobregat



El grupo de investigación al completo, en una reciente celebración.

El Grupo de Microbiología Molecular y Agentes Antimicrobianos del Campus de Bellvitge (Hospitalet de Llobregat, Barcelona) de la UB tiene 21 años de existencia e inició su actividad cuando Miguel Viñas llegó a este Campus en el año olímpico de 1992 procedente de la Facultad de Farmacia. El grupo tiene una considerable actividad docente que abarca los estudios de Medicina, Odontología, Podología y Enfermería, así como la participación en diversos masters oficiales. La actividad investigadora del grupo se centra

en la exploración de algunos de los mecanismos de resistencia a los antibióticos, particularmente los que hacen referencia a la interacción entre agentes antimicrobianos y membranas bacterianas. Las herramientas utilizadas principalmente para este fin se centran en la utilización de nanotecnologías, y particularmente la utilización de microscopía de fuerza atómica, y el estudio de la capacidad formadora de canales transmembrana por métodos electrofisiológicos y, particularmente, por la técnica de medición de conductancia

de canal simple en bicapas lipídicas artificiales una vez las proteínas de membrana están reconstituidas en el dominio lipídico. Asimismo se trabaja sobre el efecto de la capacidad formadora de biofilm y su relación con la susceptibilidad a los antimicrobianos. Todo ello bajo un doble prisma: el comportamiento microbiano y también las condiciones ambientales y de material soporte. Los organismos con los que se trabaja son, esencialmente, *Pseudomonas aeruginosa* responsable de infecciones respiratorias en afectados de fibrosis quística y otros patógenos respiratorios; bacterias responsables de úlceras en pie diabético, diversas especies Gram positivas y Gram negativas formadoras de biofilm oral; y, finalmente, el agente productor de la enfermedad de Chagas (*Trypanosoma cruzi*). En relación a esta última investigación el grupo forma parte del proyecto BERENICE, acrónimo de **BE**nznidazol and **triazol RE**search group for **N**anomedicine and **I**nnovation on **C**hagas **d**iseases (Grupo de investigación en benznidazol y triazol para la nanomedicina y la innovación en la enfermedad de Chagas) 7FP-Health, que trabaja en la reformulación de un medicamento ya existente, el Benznidazol, para obtener un perfil de toxicidad más seguro y un incremento de su eficacia. En el laboratorio se realiza el análisis *in vitro* de la actividad biológica que presentan los distintos formulados frente a las diversas fases del ciclo parasitario. Para ello se mantienen en el laboratorio tres cepas: una transfectada con beta-galactosidasa y dos con perfiles intermedio y resistente a los fármacos empleados frente a *T. cruzi*. Se realizan cultivos axénicos para epimastigotes y tripomastigotes metacíclicos y cultivos celulares en fibroblastos para la obtención de amastigotes y tripomastigotes. También se estudia la infectividad en cultivos primarios de neuroglia y cardiomiocitos. Asimismo se realiza la determinación de la citotoxicidad frente a las líneas celulares utilizadas en el mantenimiento del parásito y frente a células metabólicamente más activas como HepG2. El laboratorio está equipado con un microscopio de fuerza atómica (Park Systems X-70) así como un equipo para la reconstitución de canales transmembrana y medida de la conductancia (*single channel conductance in bilayers*), aparte, obviamente, de las técnicas microbiológicas y bioquímicas más comunes. La actividad investigadora de los miembros del grupo se desarrolla en estrecha colaboración con otros grupos nacionales (Tomas G. Villa, J.P. Martínez) así como internacionales (Roland Benz y Mathias Winterhalter en Alemania, Stefania Stefani en Italia) y, particularmente, con el servicio de Microbiología del Hospital Universitario de Bellvitge (Josefina Liñares y Rogelio Martín). El grupo está financiado por dos proyectos nacionales y un proyecto europeo. El grupo mantiene, aparte de las relaciones laborales y científicas una notable vida social y en la actualidad está organizando el XXIV Congreso Nacional de Microbiología a celebrar en julio.

MIEMBROS DEL GRUPO

- Dr. Miguel Viñas (Catedrático e IP).
- Dra. Teresa Vinuesa (Profesora Titular e IP del proyecto europeo).

- Dr. Antonio Zalacain (Profesor Titular).
- Dra. Blanca Martínez (Investigadora post-doctoral).
- Dra. Ester Fusté (Investigadora Post-doctoral y Profesora Asociada).
- Dr. Pedro López (Investigador Post-doctoral).
- Lidia López (Profesora ayudante).
- Carolina Padrós (Prof. Colaboradora).
- Elena de Planell (Prof. Colaboradora).
- Guadalupe Jiménez (Profesora asociada).
- Alex Merlos (Becaria Predoctoral).
- Eulalia Sans (Becaria predoctoral).
- Iraida Gil (Becaria predoctoral).
- Erica Cantadori (estudiante de doctorado).
- Rocío Herraiz (estudiante de doctorado).
- Clara Alarcón (estudiante de doctorado).
- Marina Etcheberria (estudiante de doctorado).
- Anna Maluquer (administración).

BIBLIOGRAFÍA

- Fusté E, López-Jiménez L, Segura C, Gainza E, Vinuesa T, Viñas M. (2013) Carbapenem resistance mechanisms of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from Barcelona, Spain. J Med Microbiol. En prensa.
- Segura C, Plasencia V, Ventura E, Miró E, Navarro F, Grau S, Fusté E, Montero M, Horcajada JP, Viñas M. (2013) In Vitro Activity of Ceftazidime and Meropenem in Combination with Tobramycin or Ciprofloxacin in A Clone of Multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. J Microbiol Res 3: 99-105.
- Fusté E, Galisteo GJ, Jover L, Vinuesa T, Villa TG, Viñas M. (2012) Comparison of antibiotic susceptibility of old and current *Serratia*. Future Microbiol 7: 781-6.
- Blasco L, Veiga-Crespo P, Viñas M, Villa TG. (2011) A new disruption vector (pDHO) to obtain heterothallic strains from both *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces pastorianus*. Int Microbiol 14: 201-6.
- Blasco L, Viñas M, Villa TG. (2011) Proteins influencing foam formation in wine and beer: the role of yeast. Int Microbiol 14: 61-71.
- Ruiz-Martínez L, López-Jiménez L, d'Ostuni V, Fusté E, Vinuesa T, Viñas M. (2012) A mechanism of carbapenem resistance due to a new insertion element (ISPa133) in *Pseudomonas aeruginosa*. Int Microbiol 14: 51-8.
- Ruiz-Martínez L, López-Jiménez L, Fusté E, Vinuesa T, Martínez JP, Viñas M. (2011) Class 1 integrons in environmental and clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Int J Antimicrob Agents. 38: 398-402.
- López-Jornet MP, García-Teresa G, Viñas M, Vinuesa T. (2011) Clinical and antimicrobial evaluation of a mouthwash and toothpaste for xerostomia: a randomized, double-blind, crossover study. J Dent 39: 757-63.
- Veiga-Crespo P, Fusté E, Vinuesa T, Viñas M, Villa TG. (2011) Synergism between outer membrane proteins and antimicrobials. Antimicrob Agents Chemother 55: 2206-2211.
- Zalacain A, Obrador C, Martínez JP, Viñas M, Vinuesa T. (2011) Characterization of the antimicrobial susceptibility of fungi responsible for onychomycosis in Spain. Med Mycol 49: 495-499.
- Pérez-Tomás R, Viñas M. (2010) New insights on the antitumoral properties of prodiginines. Curr Med Chem 17: 2222-31.
- Arnabat J, Escribano C, Fenosa A, Vinuesa T, Gay-Escoda C, Berini L, Viñas M. (2010) Bactericidal activity of erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser in root canals. Lasers Med Sci 25: 805-10.
- Fenosa A, Fusté E, Ruiz L, Veiga-Crespo P, Vinuesa T, Guallar V, Villa TG, Viñas M. (2009) Role of TolC in *Klebsiella oxytoca* resistance to antibiotics. J Antimicrob Chemother 63: 668-74.

Genética Molecular de *Candida albicans*

E. Valentín Gómez, JP. Martínez García y L. del Castillo Agudo

Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia,
Universidad de Valencia, Av. Vicente Andrés Estellés s/n, 46100-Valencia



Integrantes del grupo GMCA (de izquierda a derecha): Mauro Monasterio, Lucas del Castillo, Mariela Gómez, Ana Guerrero, Jesús Américo, Teresa Moscardó, Eulogio Valentín, Amelia Murgui; (al frente) José Pedro Martínez.

El grupo de investigación Genética Molecular de *Candida albicans* (GMCA) es actualmente el resultado de la fusión de los grupos de investigación Patología Molecular de Hongos, liderado por el Prof. Dr. José Pedro Martínez García, y el grupo de investigación Genética Molecular de *Candida albicans* liderado por el Prof. Dr. Eulogio Valentín Gómez. Ambos grupos de investigación tienen su origen en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valencia (UVEG) en el antiguo edificio de la Facultad de Ciencias, en el campus de Blasco Ibáñez, y hoy sede del Rectorado de la UVEG. En enero de 1993, ambos grupos de investigación se trasladaron a las nuevas instalaciones de la Facultad de Farmacia en el Campus de Burjassot, donde recientemente se fusionaron adoptando el

nombre de Genética Molecular de *Candida albicans* (GMCA) bajo la dirección del Prof. Dr. Eulogio Valentín Gómez. El nuevo grupo de investigación GMCA se dedica, de manera preferente, al estudio de especies del género *Candida*, haciendo hincapié en *Candida albicans*, responsable de un 46% de las enfermedades fúngicas invasivas, de aquí su interés clínico sanitario. El grupo de investigación GMCA está constituido por Eulogio Valentín Gómez, José Pedro Martínez García, Lucas del Castillo Agudo y Manuel Casanova Monroig (Catedráticos de Microbiología), M^a Amelia Murgui Faubel, M^a Micaela Gómez García (Profesoras Titulares en el Departamento de Bioquímica, Universidad de Valencia), Elisa Ibáñez, Virginia Pérez, Borja Balbastre y Teresa Moscardó Polop (estudiantes de doctorado), Ana Guerrero,

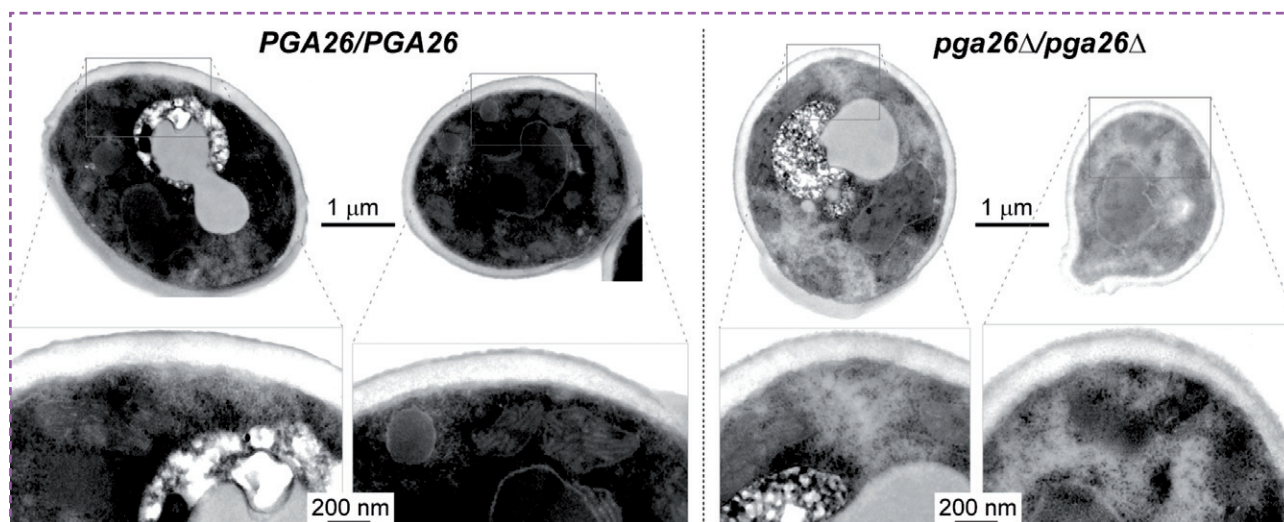


Fig. 1. Pga26 está implicada en la integridad de la pared celular de *Candida*. Imágenes de TEM mostrando las estructuras de la pared celular del mutante nulo *pga26Δ/pga26Δ* y la cepa parental *PGA26/PGA26*.

Mauro Monasterio y Jesús Américo Sulbarán (estudiantes de intercambio, Universidad de Caracas) y Estela Pons García (Técnica de Laboratorio).

Las líneas de investigación se centran en los componentes de la pared celular implicados en la virulencia y patogenicidad de *C. albicans* y en el desarrollo de métodos moleculares de identificación y diagnóstico de candidiasis. Las líneas de investigación que desarrolla el grupo se pueden agrupar en los siguientes apartados: (I) Caracterización de moléculas presentes en la pared celular de *Candida albicans* mediante métodos proteómicos. (II) Aislamiento y caracterización de genes cuyos productos son importantes en la biogénesis de la pared celular. (III) Puesta a punto de métodos diagnósticos moleculares. (IV) Estudio molecular de las biopelículas como factor de virulencia de *Candida albicans*. (V) Diseño de modelos de inmunización frente a *Candida albicans*.

El estudio de la pared celular y de las biopelículas fúngicas es de sumo interés. La pared celular es la primera estructura que interacciona con las células del hospedador y es la principal diferencia entre el hongo y las células de aquel; es por tanto la pared celular una diana ideal para el desarrollo de nuevos agentes antifúngicos. Las biopelículas, un factor de virulencia importante del hongo, son comunidades microbianas estructuradas y embebidas en una matriz extracelular constituida principalmente por carbohidratos y proteínas, adheridas a una superficie. La caracterización de los componentes proteicos de dicha matriz a nivel molecular y funcional de los componentes que constituyen la misma permitirá, *a priori*, profundizar en el conocimiento de los mecanismos mediante los cuales las células fúngicas colonizan, infectan e interaccionan con los tejidos del hospedador, y podrá contribuir al diseño de estrategias para la prevención, diagnóstico y tratamiento de las candidiasis.

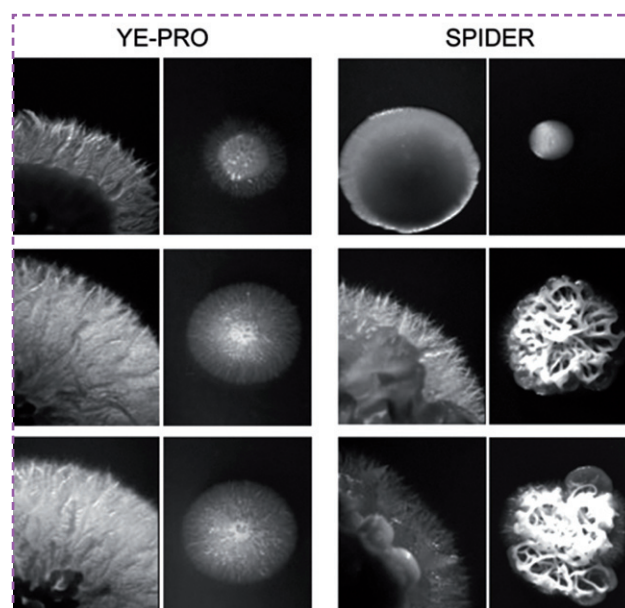


Fig. 2. Delección del gen *PGA13*, que codifica una proteína GPI de la pared celular de *Candida albicans* retrasa el proceso morfológico.

El grupo colabora con varios grupos de investigación, nacionales e internacionales:

- Dra. W. LaJean Chaffin (Texas Tech University Health Sciences Center, Lubbock, Texas, USA).
- Dr. José Luis López-Ribot (Department of Medicine/ Division of Infectious Diseases, The University of

Texas Health Sciences Center at San Antonio, San Antonio, Texas, USA).

- Drs. Neil A.R. Gow y Alistair Brown (Department of Molecular and Cell Biology, Institute of Medical Sciences, Foresterhill, Aberdeen, Reino Unido).
- Prof. Ángel Domínguez Olavarri, Catedrático de Microbiología de la Universidad de Salamanca.
- Dr. Joachim Ernst (Institut für Mikrobiologie, Molekulare Mykologie, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Germany).
- Piet W.J. de Groot (Centro Regional de Investigación Biomédica, Parque Científico y Tecnológico de Albacete, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete)
- Prof. Juan Carlos Argüelles Ordoñez, Catedrático de Microbiología de la Universidad de Murcia.
- Profa. María Martínez-Esparza Alvargonzález, Profesora Titular de Bioquímica, Universidad de Murcia.
- Grupo Europeo GALAR FUNGAIL (<http://www.galar-fungal.org/>).
- Drs. Javier Pemán y Emilia Cantón, Centro de Investigación y Servicio de Microbiología del Hospital La Fe de Valencia.
- Profa. Amina Bakhrouf (University of Monastir, Túnez).
- Prof. José Ruiz-Herrera (Departamento de Ingeniería Genética, Unidad Irapuato, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Irapuato, Mexico).

BIBLIOGRAFÍA

- Sánchez-Fresneda R, Guirao-Abad JP, Argüelles A, González-Párraga P, Valentín E, Argüelles JC. (2013) Specific stress-induced storage of trehalose, glycerol and d-arabitol in response to oxidative and osmotic stress in *Candida albicans*. *Biochem Biophys Res Comm* 430: 1334-1339.
- Gelis S, de Groot PWJ, Castillo L, Moragues MD, Sentandreu R, Gómez MM, Valentín E. (2012) Pga13 in *Candida albicans* is localized in the cell wall and influences cell surface properties, morphogenesis and virulence. *Fungal Genet Biol* 49: 322-331.
- Vercher MP, García-Martínez JM, Cantón E, Pemán J, Gómez-García MM, Valentín-Gómez E and Del Castillo-Agudo L. (2011) Differentiation of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis* by specific PCR amplification of the *RPSO* intron. *Int J Med Microbiol*, 301: 531-535.
- Laforet L, Moreno I, Sánchez-Fresneda R, Martínez-Esparza M, Martínez JP, Argüelles JC, de Groot PWJ, Valentín-Gómez E. (2011) Pga26 mediates filamentation and biofilm formation and is required for virulence in *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res* 11: 389-397.
- Ben Abdeljelil J, Saghrouni F, Noumi E, Valentín-Gómez E, Chatti N, Boukadida J, Ben Said M, Del Castillo L. (2011) Molecular typing of *Candida albicans* isolates from patients and health care coworkers in a neonatal intensive care unit. *J Appl Microbiol* 111: 1235-1249.
- Pérez A, Ramage G, Blanes R, Murgui A, Casanova M, Martínez JP. (2011) Some biological features of *Candida albicans* mutants for genes coding fungal proteins containing the CFEM domain. *FEMS Yeast Res* 11: 273-284.
- Veses V, Casanova M, Murgui A, Gow NAR, and Martínez JP. (2009) *Candida albicans* *ABG1* gene is involved in endocytosis. *FEMS Yeast Res* 9: 293-300.
- Castillo L, Calvo E, Martínez AI, Ruiz-Herrera J, Valentín E, López JA and Sentandreu R. (2008) A study of the *Candida albicans* cell wall proteome. *Proteomics* 8: 3871-3881.
- Castillo L, Martínez AI, Garcerá A, García-Martínez J, Ruiz-Herrera J, Valentín E, Sentandreu R. (2006) Genomic response programs of *Candida albicans* following protoplasting and regeneration. *Fungal Genet Biol* 43: 124-134.
- Ramage G, Martínez JP, López-Ribot JL. (2006) *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS Yeast Res* 6: 979-986.
- Veses V, Casanova M, Murgui A, Domínguez A, Gow NAR, Martínez JP. (2005) *ABG1*, a novel and essential *Candida albicans* gene encoding a vacuolar protein involved in cytokinesis and hyphal branching. *Eukaryot Cell* 4: 1088-1101. Una figura de este artículo fue seleccionada como portada del volumen correspondiente de la revista en donde se publicó.
- D'Enfert C et al., Valentín E, Brown AJP. (2005) CandidaDB: a genome database for *Candida albicans* pathogenomics. *Nucleic Acid Res* 33: 353-357.
- Pedreño Y, Maicas S, Argüelles JC, Sentandreu R, Valentín E. (2004) The *ATC1* gene encodes a cell wall-linked acid trehalase required for growth on trehalose in *Candida albicans*. *J Biol Chem* 279: 40852-40860.
- Garcerá A, Martínez AI, Castillo L, Elorza MV, Sentandreu R, Valentín E. (2003) Identification and study of a *Candida albicans* protein homologue to *Saccharomyces cerevisiae* *SSR1*, an internal cell wall protein. *Microbiology* 149: 2137-2145.
- Cervera AM, Gozalbo D, McCreath KJ, Gow NAR, Martínez JP, Casanova M. (1998) Molecular cloning and characterization of a *Candida albicans* gene coding for cytochrome c heme lyase and a cell wall related protein. *Mol Microbiol* 30: 67-82.
- Sepúlveda P, López-Ribot JL, Gozalbo D, Cervera AM, Martínez JP, Chaffin WL. (1996) Ubiquitin-like epitopes associated with *Candida albicans* cell surface receptors. *Infect Immun* 64: 4406-4408. Trabajo seleccionado para la sección Journals Highlights de la revista *ASM News* (volumen de diciembre de 1996).
- Sepúlveda P, Murgui A, López-Ribot JL, Casanova M, Timoneda J, Martínez JP. (1995) Evidence for the presence of collagenous domains in *Candida albicans* cell surface proteins. *Infect Immun* 63: 2173-2179.
- Casanova M, López-Ribot JL, Monteagudo C, Llombart-Bosch A, Sentandreu R, Martínez JP. (1992) Identification of a 58 kilodalton cell surface fibrinogen-binding mannoprotein from *Candida albicans*. *Infect Immun* 60: 4221- 4229.
- López-Ribot JL, Casanova M, Murgui A, Martínez JP. (2004) Antibody response to *Candida albicans* cell wall antigens. *FEMS Immunol Med Microbiol* 41: 187-196.
- Chaffin WL, López-Ribot JL, Casanova M, Gozalbo D, Martínez JP. (1998) Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. *Microbiol Mol Biol Rev* 62: 130-180.
- Martínez JP, Gil ML, López-Ribot JL, Chaffin WL. (1998) Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*. *Clin Microbiol Rev* 11: 121-141.

Modelos experimentales en enfermedades infecciosas

Ángel Domínguez Olavarri

Departamento de Microbiología y Genética. Universidad de Salamanca



Nuestro colaborador en el Instituto Politécnico de Bragança en Portugal, Altino Choupina.



Miembros del grupo en la Universidad de Salamanca: de Izquierda a Derecha Laura Durán, M^a Carmen López, Carlos Cívicos, Manuel Sánchez, Ángel Domínguez, Luis Fernández-Lago, Elisa Muñoz y M^a Ángeles Pérez.

El grupo de investigación **«Modelos experimentales en enfermedades infecciosas»** reconocido como grupo de Investigación por la Universidad de Salamanca bajo la dirección del Prof. Ángel Domínguez está estructurado en tres subunidades:

La dirigida por el Prof. Luis Fernández-Lago **«Mecanismos de virulencia de *Brucella sp.* e Inmunidad frente a la Infección»** estudia, al tratarse *Brucella* de un microorganismo parásito extracelular e intracelular facultativo, los distintos factores celulares implicados en la penetración de la bacteria en macrófagos y células dendríticas, con el fin de establecer nuevas estrategias encaminadas a controlar la penetración en el interior de estas células y evitar, en consecuencia, la cronicación de la infección. En la actualidad estamos analizando la participación de las balsas lipídicas

(*lipid rafts*) y de la fosfatidilinositol quinasa de la clase III en estos procesos. Además, nuestro grupo de investigación también se encuentra trabajando en determinar el papel de distintas citoquinas, como la interleucina 12/23 (IL-12/23), IL-18, IL-10, IL-17, Interferón-gamma, Factor de Necrosis Tumoral-alfa, además de los linfocitos T-reguladores y T-supresores, a lo largo del proceso infeccioso, como estrategia encaminada a conocer más exactamente las interacciones entre la inmunidad innata y adquirida en la brucelosis. Estos estudios pueden en un futuro incidir en el desarrollo de vacunas más eficaces frente a la infección.

La dirigida por el Prof. Altino Choupina estudia la enfermedad conocida como **«Tinta del Castaño»**. En Europa (Portugal, España y Francia) el cultivo del casta-

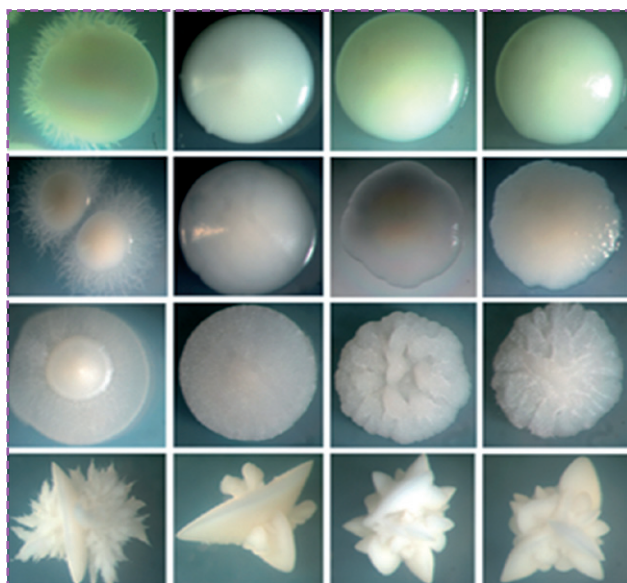


Fig. 1. Diversas morfologías coloniales de *Candida albicans*.

ño, *Castanea sativa* Mill. es extremadamente importante. El mayor porcentaje de pérdida de la producción se debe a la enfermedad conocida como tinta del castaño, cuyo agente causante es el oomiceto, *Phytophthora cinnamomi*. La mayor parte de nuestra investigación se centra en los genes que caracterizan aspectos importantes de la interacción entre *P. cinnamomi*-huésped, particularmente aquellos involucrados en los procesos de infección. Utilizamos técnicas genómicas. Nuestro grupo ya ha identificado proteínas implicadas en la infección por *P. cinnamomi* i.e. una endo-1,3-beta-glucanasa y una exoglucanasa, responsable de la adherencia, la penetración y colonización de tejidos del huésped; así como una transglutaminasa que induce respuestas de defensa. En resumen, estamos secuenciando el genoma de *P. cinnamomi* y caracterizando su transcriptoma durante la infección de *C. sativa*, lo que nos permitirá la identificación de los factores moleculares (genes y proteínas) responsables de la enfermedad «tinta del castaño» y la identificación de inductores o represores de dichas moléculas con el fin de desarrollar una estrategia científica adecuada para el tratamiento de la enfermedad.

Nuestra tercera línea de investigación «*Candida albicans* y patogenicidad» se subdivide a su vez en dos. La primera «Glicosilación de proteínas en *Candida albicans* y su implicación en patogenicidad» está dirigida por la Prof. M^a Carmen López. *Candida albicans* se ha adaptado a vivir como comensal en la superficie de las mucosas del hombre. Sin embargo, tiene una prominente capacidad de invadir los tejidos cuando el hospedador presenta defectos naturales o adquiridos en su sistema inmunológico. Se han propuesto

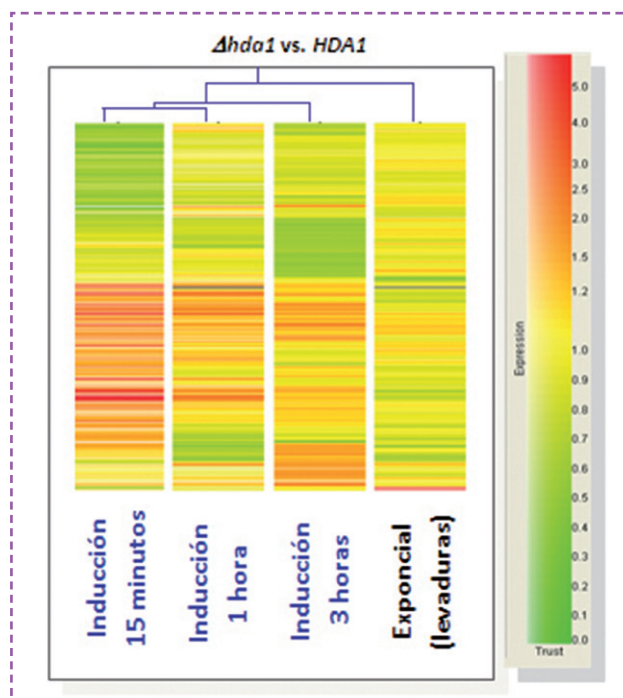


Fig. 2. Clustering de datos transcriptómicos obtenidos en mutantes de modificación de histonas en *Candida albicans*.

un conjunto de factores de virulencia que pueden contribuir a este proceso entre los que se encuentran la secreción de enzimas hidrolíticas, la capacidad de llevar a cabo la transición morfológica (levadura-hifa), la variabilidad antigénica, la capacidad de cambio entre diferentes fenotipos celulares y la adhesión a sustratos inertes y biológicos. La parte más externa de la célula, la pared, interviene en el primer contacto físico entre el hongo y el huésped, por lo que es una estructura muy importante a considerar en la patogenicidad de *C. albicans*. Contiene manoproteínas de alto peso molecular que contribuyen al 30-40% del peso seco de la pared celular. Variaciones en la glicosilación pueden afectar a la conformación de estas proteínas y a la abundancia relativa de las estructuras fibrilares en que se organizan algunas, llevando a cambios de hidrofobicidad y en la exposición de antígenos en la superficie celular que pueden afectar a la virulencia. Estamos construyendo mutantes defectivos en distintas etapas del proceso de glicosilación de proteínas (cepas delecionadas en los genes *CaALG3*, y en ortólogos de *MNT4* y *MNN1* de *Saccharomyces cerevisiae*) y analizando los efectos sobre virulencia y morfogénesis, así como los cambios globales a nivel de transcriptoma y proteoma que tienen lugar en ellos.

La línea «Histona acetiltransferasas en *Candida albicans*, efecto sobre dimorfismo y virulencia. Una aproximación Post-Genómica» está dirigida por el Prof. Ángel

Domínguez. Un importante mecanismo de regulación de la expresión génica es la acetilación reversible de histonas de los nucleosomas. Las actividades de dos clases de enzimas competitivas, las acetil-transferasas (HATs) y las desacetilasas de histonas (HDACs), dan como resultado patrones específicos celulares de expresión génica. Hat1p es el único ejemplo conocido de acetiltransferasas de histonas del tipo B. Las histonas acetiltransferasas del tipo B se distinguen por su especificidad de sustrato y su localización subcelular. La enzima acetila específicamente la lisina 12 y, en un grado menor, la lisina 5 de la histona H4 libre (no unida a cromatina). El complejo se aísla habitualmente en la fracción citosólica y se piensa que está implicado en el ensamblaje de la cromatina. En *Saccharomyces cerevisiae* los complejos HAT-B contienen también la proteína Hat2p que parece estimular la actividad catalítica de Hat1p. Varios autores han detectado complejos HAT en el núcleo y, en nuestra anotación del genoma de *Candida*, no hemos sido capaces de detectar un ortólogo de la proteína Hif1p. Estamos trabajando en la localización celular de las proteínas Hat1p y Hat2p, en el transcriptoma de los mutantes nulos simples y del mutante doble *hat1Δ hat2Δ* durante la transición levadura-hifa y durante el cambio morfológico. Finalmente tratamos de analizar la función de la proteína Hat1p humana en levaduras.

BIBLIOGRAFÍA

- Banerjee D, Martin N, Nandi S, Shukla S, Dominguez A, Mukhopadhyay G, Prasad R. (2007) A genome-wide steroid response study of the major human fungal pathogen *Candida albicans*. *Mycopathologia* 164: 1-17.
- Morín M, Monteoliva L, Insenser M, Gil C, Domínguez A. (2007) Proteomic analysis reveals metabolic changes during yeast to hypha transition in *Yarrowia lipolytica*. *J Mass Spectrometry* 42: 1453-1462.
- Caro-Hernández P, Fernández-Lago L, De Miguel MJ, Martín-Martín AI, Cloeckaert A, Grilló MJ, Vizcaíno N. (2007) Role of the Omp25/Omp31 family in the outer membrane properties and virulence of *Brucella ovis*. *Infect Immun* 75: 4050-61.
- Ramírez-Zavala B, Domínguez A. (2008) Evolution and phylogenetic relationships of APSES proteins from hemiascomycetes. *FEMS Yeast Res* 8: 511-519.
- Martín-Martín AI, Caro-Hernández P, Orduña A, Vizcaíno N, Fernández-Lago L. (2008) Importance of the Omp25/Omp31 family in the internalization and intracellular replication of virulent *B. ovis* in murine macrophages and HeLa cells. *Microb Infect* 10: 706-10.
- Mantecón MA, Gutiérrez MP, Zarzosa MP, Fernández-Lago L, Colmenero JD, Vizcaíno N, Bratos MA, Almaraz A, Cubero A, Muñoz MF, Rodríguez-Torres A, Orduña A. (2008) Influence of Brucellosis history on serological diagnosis and evolution of patients with acute brucellosis. *J Infect* 57: 397-03.
- Martín-Martín AI, Caro-Hernández P, Sancho P, Tejedor C, Cloeckaert A, Fernández-Lago L, Vizcaíno N. (2009) Analysis of the occurrence and distribution of the Omp25/Omp31 family of surface proteins in the six classical *Brucella* species. *Vet Microbiol* 137: 74-82.
- Martín-Martín AI, Vizcaíno N, Fernández-Lago L. (2010) Cholesterol, Ganglioside GM(1) and class A scavenger receptor contribute to infection by *B. ovis* and *B. canis* in murine macrophages. *Microb Infect* 12: 246-51.
- Rashki-Ghalehnoo Z, Rashki A, Najimi M, Domínguez A. (2010) The role of diclofenac sodium in the dimorphic transition in *Candida albicans*. *Microbial Pathogenesis* 48: 110-115.
- Meirinho S, Carvalho M, Domínguez A, Choupina A. (2010) Isolation and characterization by asymmetric PCR of the END01 gene for glucan endo-1,3-β-glucosidase in *Phytophthora cinnamomi* associated with the ink disease of *Castanea sativa* Mill». *Brazilian Archives of Biology and Technology* 53: 513-518.
- Rodríguez C, Tejera P, Medina B, Guillén R, Domínguez A, Ramos J, Siverio JM. (2010) Ure2 Is Involved in Nitrogen Catabolite Repression and Salt Tolerance via Ca²⁺ Homeostasis and Calcineurin Activation in the Yeast *Hansenula polymorpha* *J Biol Chem* 285: 37551-37560.
- Brena S, Cabezas-Olcoz J, Moragues MD, Fernández De Larrinoa I, Domínguez A, Quindós G, Pontón J. (2011) Fungicidal Monoclonal Antibody C7 Interferes with Iron Acquisition in *Candida albicans* *Antimicrob. Agents Chemother* 55: 3156-3163.
- Martín-Martín AI, Sancho P, Tejedor C, Fernández-Lago L, Vizcaíno N. (2011) Differences in the outer membrane-related properties of the six classical *Brucella* species. *Vet J* 189: 103-5.
- Morales-Vargas AT, Domínguez A, Ruiz-Herrera J. (2012) Identification of dimorphism-involved genes of *Yarrowia lipolytica* by means of microarray analysis. *Res Microbiol* 163: 378-387.
- Morin M, Asturias J, Domínguez A. (2012) Expression of Alt a 1 allergen from *Alternaria alternata* in the yeast *Yarrowia lipolytica* *FEMS Microbiol Lett* 333: 121-128.
- Hodurova Z, Ferreira L, Sánchez-Juanes F, Domínguez A, Gbelska Y. (2012) Cytosolic proteome of *Kluyveromyces lactis* affected by the multidrug resistance regulating transcription factor KIPdr1p. *J Proteomics* 75: 5316-5326.
- Rashki A, Rashki-Ghalehnoo Z, Domínguez A. (2012) The early response of *Candida albicans* filament induction is coupled with whole-sale expression of the translation machinery. *Comp Clin Pathol* 21: 1533-1545.
- Martín-Martín AI, Sancho P, De Miguel MJ, Fernández-Lago L, Vizcaíno N. (2012) Quorum-sensing and BvrR/BvrS regulation, the type IV secretion system, cyclic glucans, and BacA in the virulence of *Brucella ovis*: similarities and differences from smooth brucella. *Infect Immun* 80: 1783-93.

HISTORIA DE LA MICROBIOLOGÍA

LOS PREMIOS NOBEL Y LA MICROBIOLOGÍA: DOS NACIMIENTOS COETÁNEOS QUE MARCARON EL DESARROLLO Y LA VISIBILIDAD DE LA CIENCIA EN EL SIGLO XX

Informa: M^a Francisca Colom.

El nacimiento de los premios Nobel en los comienzos del siglo xx coincidió con lo que se denomina *la edad de oro* de la Microbiología, en la que se sentaron las bases del conocimiento de los microorganismos y de las herramientas fundamentales para su estudio.

Durante la primera década de su existencia (1901-1910) el premio Nobel de Fisiología o Medicina recayó en seis microbiólogos. Casi todos ellos relacionados con los laboratorios fundados por Louis Pasteur y Robert Koch. Este último fue uno de los premiados (1905) después de una carrera investigadora extensa e intensa. A él le debemos el concepto de «cultivo puro» y en su laboratorio se desarrollaron técnicas y métodos de trabajo todavía hoy vigentes para el cultivo de microorganismos (el uso del agar-agar, las placas de Petri y otros). Desarrolló algunas de las tinciones más importantes en bacteriología y describió las esporas bacterianas y su elevada resistencia. Pero su mayor contribución fue formular los postulados propuestos por Jacob Henle para demostrar la implicación de un microorganismo en una enfermedad infecciosa. La aplicación de los postulados de Koch-Henle llevó la microbiología a su zénit, permitiendo la descripción de los agentes causales específicos de muchas enfermedades contagiosas.

Además de Koch, otros cinco microbiólogos fueron galardonados con el Nobel en la primera década del siglo xx. Emil A. von Behring (1901) fue premiado por el desarrollo de la inmunoterapia (terapia sérica). Demostró que la capacidad para resistir frente a la difteria (y otras enfermedades) residía en la parte no celular de la sangre (el suero), trabajo que desarrolló junto con el japonés S. Kitasato. Al año siguiente (1902) Ronald Ross recibió el Nobel por su estudio de la malaria. Describió el papel del mosquito *Anopheles* en la transmisión y en el ciclo biológico del parásito. También en el campo de los protozoos parásitos trabajaba Charles L. A. Laveran que fue premiado en 1907. Los últimos microbiólogos premiados en la década fueron Ilya Metchnikov y Paul Ehrlich (1908). Ambos trabajaron en diferentes aspectos de la respuesta a la infección, aunque Ehrlich se considera el padre de la quimioterapia por el desarrollo de compuestos con actividad antimicrobiana y baja toxicidad celular (salvarsán), mientras que la contribución más relevante de Metchnikov fue sin duda la teoría general de la fagocitosis.

Juan-Carlos Argüelles. (2013) *The early days of the Nobel Prize and Golden Age of Microbiology*. Hektoen International. 5(1). <http://www.hekint.org/the-early-days-of-the-nobel-prize.html>.

MICROBIOLOGÍA MOLECULAR

CÓMO *BACILLUS SUBTILIS* “REGALA” COPIAS DE SU ADN A SUS COMPAÑEROS

Informa: Manuel Sánchez.

El equipo, formado por Olga Zafra, María Lamprecht y Carolina González, y dirigido por Eduardo González-Pastor, del Departamento de Evolución Molecular del Centro de Astrobiología, ha demostrado que una población de *Bacillus subtilis* es capaz de coordinar la liberación de ADN al medio y su captación por otros individuos de la población, lo cual es muy importante desde un punto de vista evolutivo.

En ciencia no es raro que fenómenos que parecen ya explicados del todo revelen sorpresas cuando se miran con más detalle. Ese es el caso de los fenómenos de transferencia genética horizontal. Es decir, de cómo un microorganismo captura un fragmento de ADN que hay en el medio extracelular y lo mete en su interior, insertándolo en su genoma de tal forma que es capaz de expresar la información genética codificada en dicho ADN. El ejemplo más comentado es el caso de la transformación genética bacteriana con genes que codifican resistencias a los antibióticos.

¿Cuál es el origen de dicho ADN extracelular? Generalmente se asume que proviene de células que han sido lisadas y han liberado su contenido al medio ambiente. Ese ADN vagará por el medio ambiente, y probablemente será destruido o degradado, pero en ocasiones puede provocar un fenómeno de transformación genética si es captado por una bacteria.

En la bacteria *B. subtilis* también estaba descrito que en cultivos que se encontraban en la fase tardía de crecimiento exponencial se podían detectar cantidades apreciables de ADN extracelular. Se suponía que ello era debido a algún tipo de lisis de una subpoblación de las bacterias, pero lo que se han encontrado los investigadores del CAB es algo muy distinto.

Resulta que las bacterias secretan ADN al medio de manera activa cuando se encuentran en la fase tardía de crecimiento exponencial. Los fragmentos secretados corresponden a todo el genoma del microorganismo, lo que indica que no hay una región cromosómica con preferencia para exportar sobre otra región del genoma. Y no solo eso, también son más susceptibles a captar ADN extracelular. Es lo que se conoce como estado de competencia para los fenómenos de transformación genética.

El descubrimiento puede tener varias implicaciones para explicar diversas pautas evolutivas, sobre todo el papel de los fenómenos de transferencia horizontal en la aparición de nuevas especies microbianas. A nivel más práctico, podría ser muy útil para estudiar la dispersión de los genes de resistencia a los antibióticos y poder así poner un freno a dicho proceso tan importante desde el punto de vista de la salud pública.

Zafra O, Lamprecht-Grandío M, de Figueras CG, González-Pastor JE. (2012) Extracellular DNA release by undomesticated *Bacillus subtilis* is regulated by early competence. *PLoS One* 7 (11) PMID: 23133654.

TAXONOMÍA, FILOGENIA Y BIODIVERSIDAD

¿NI UNA SOLA BACTERIA HUÉRFANA!

Informa: David R. Arahal.

Entre otras cosas, la Taxonomía bacteriana (de procariotas) es una disciplina altamente pragmática, consigo misma y como vehículo para el avance de otros campos de la Ciencia. Un buen ejemplo lo hallamos en el trabajo que se reseña.

Entre los años 1930 y 1980 se sentaron las bases de la Taxonomía bacteriana moderna que tiene como uno de sus elementos más significativos la necesidad de hacer disponible al público un referente (la cepa tipo) para cada especie reconocida. Por otra parte, y desde el punto de vista metodológico, el análisis de secuencias de 16S rRNA, irrumpe a partir de 1980 y sobre todo 1990 como método de rutina para hacer reconstrucciones genealógicas entre procariotas y para sustentar identificaciones. Pese a contar con algunas limitaciones (baja resolución a niveles taxonómicos inferiores, variabilidad entre operones) es con diferencia el gen que cuenta con un mayor repositorio de secuencias. Algunos de estos repositorios son revisados de forma automatizada y de forma manual por expertos y ofrecen ventajas como herramientas de análisis, datos de estructura secundaria, alineamientos, etc. En plena era de la secuenciación genómica masiva, a la que naturalmente también se ha sumado la Taxonomía bacteriana, la genialidad de este trabajo está tratar de cerrar una brecha detectada en el proyecto Living Tree Project (LTP): aproximadamente el 5,7% de las especies procariotas carecían de una secuencia pública de este gen (o si la tenían, esta no era de suficiente calidad). Así, estas especies «huérfanas» de secuencia pública de 16S rRNA, fueron el objetivo de la iniciativa «Sequencing the Orphan Species» (SOS), liderada por el equipo LTP y asistida por 12 centros colaboradores (en su mayoría colecciones de cultivos públicas como la CECT) y cuyos resultados han sido publicado a principios de este año.

Yarza P, Spröer C, Swiderski J, Mrotzek N, Spring S, Tindall BJ, Gronow S, Pukall R, Klenk HP, Lang E, Verburg S, Crouch A, Lilburn T, Beck B, Unosson C, Cardew S, Moore ER, Gomila M, Nakagawa Y, Janssens D, De Vos P, Peiren J, Suttels T, Clermont D, Bizet C, Sakamoto M, Iida T, Kudo T, Kosako Y, Oshida Y, Ohkuma M, Arahal DR, Spieck E, Pommerening Roeser A, Figge M, Park D, Buchanan P, Cifuentes A, Munoz R, Euzéby JP, Schleifer KH, Ludwig W, Amann R, Glöckner FO, Rosselló-Móra R. (2013) Sequencing orphan species initiative (SOS): Filling the gaps in the 16S rRNA gene sequence database for all species with validly published names. *Syst Appl Microbiol* 36: 69-73.

MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

¿PODEMOS CONTROLAR EL RIESGO DE TRANSMISIÓN DE SALMONELLA EN ALIMENTOS A TRAVÉS DE MODELOS MATEMÁTICOS?

Informa: Aitor Rementeria.

Existe una tendencia en la industria alimentaria a evitar tratamientos drásticos finales para eliminar los microorganismos en los alimentos (alterantes o patógenos, como *Salmonella*). El control de los microorganismos se lograría mediante la aplicación de tratamientos sucesivos o combinados más leves (*hurdle technology*) que actúan como obstáculos (o barreras) que la microbiota debe superar para comenzar a crecer. En estas condiciones de los alimentos, las bacterias deben invertir sus energías en su mantenimiento (equilibrio homeostático) en vez de en su crecimiento. La microbiología predictiva consiste en el desarrollo de modelos matemáticos de crecimiento/no crecimiento, que recojan los efectos individuales y combinados de cada una de dichas barreras para confirmar el control microbiano alcanzado mediante combinaciones de las mismas y poder así diseñar nuevos sistemas de control eficaces. Sin embargo, los mecanismos de acción de cada tratamiento no son completamente conocidos, lo que complica estos estudios.

Un grupo de investigación español ha publicado una buena revisión de cinco de estos modelos de crecimiento/no crecimiento desarrollados entre 2001 y 2011 y los ha comparado utilizando algunos de los factores de barrera implicados (temperatura, pH y actividad de agua) con dos puntos de corte en las probabilidades calculadas. Esto les permite asignar un grado de conservación a cada uno de los cinco modelos analizados. Además, comentan las principales herramientas predictivas en microbiología de alimentos (o modelos terciarios) incluyendo un software para modelaje de crecimiento/no crecimiento (*Microbial Responses Viewer*). Por último, incluyen algunas advertencias sobre este tipo de modelos matemáticos para que se tengan en cuenta en investigaciones posteriores.

Carrasco E, del Rosal S, Racero JC y García-Gimeno RM. (2012) A review on growth/no growth *Salmonella* models. *Food Research International* 47: 90-99.

La sección «nuestra ciencia» publica reseñas de artículos científicos producidos por nuestros socios. La extensión máxima es de 250 palabras. Envía tus reseñas a la Dirección de las revistas o al grupo de divulgación D+D SEM.

sem.microbiologia@gmail.com
semaforo@semicrobiologia.org
noticiasem@semicrobiologia.org

COLONIZACIÓN MICROBIANA DE YESO E INGNIMBRITA EN LA REGIÓN HIPERÁRIDA DEL DESIERTO DE ATACAMA

Autor: Beatriz Cámara Gallego.

Directores: Asunción de los Ríos Murillo y Carmen Ascaso Ciria.

Centro de realización: Grupo de Ecología Microbiana y Geomicrobiología del Sustrato Lítico (ECO-GEO), Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC).

Centro de presentación: Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid.

El Desierto de Atacama, que se extiende 1000 km a lo largo de la Costa Pacífica de América del Sur, abarcando el sur de Perú y el norte de Chile, es uno de los desiertos más áridos y antiguos del planeta y por estas características constituye uno de los ambientes más extremos para la vida. En este desierto, el yeso y la ignimbrita son sustratos líticos que aparecen ampliamente distribuidos a lo largo del mismo y constituyen hábitats potenciales para los microorganismos.

En esta tesis doctoral se ha podido demostrar que en ciertas zonas del Desierto de Atacama, incluidas en la región hiperárida, donde prevalecen condiciones de escasa disponibilidad de agua y nutrientes, variaciones drásticas de temperatura y radiación ultravioleta intensa, condiciones que hacen que la colonización epilítica no sea viable o que sea escasa, existe una colonización microbiana endolítica abundante en yesos e ignimbrita. Esta colonización contiene distintos grupos de microorganismos incluyendo bacterias no fotosintéticas, cianobacterias y algas y hongos tanto de vida libre como liquenizados, y las características físico-químicas del yeso y de la ignimbrita (especialmente porosidad y transparencia), se han revelado como factores que pueden facilitar esta colonización y que contribuyen a su habitabilidad.

A lo largo de este estudio se ha comprobado, por una combinación de técnicas de microscopía, principalmente con abordaje *in situ*, y técnicas de biología molecular, que todas las comunidades litobióticas analizadas en la región hiperárida del Desierto de Atacama, comparten una baja diversidad genética pero difieren en el tipo de colonización según la localidad de origen. Estas diferencias radican fundamentalmente en que los yesos e ignimbritas del área de la Depresión Preandina mostraron una colonización estrictamente endolítica, en forma de distintos patrones, con microorganismos fotosintéticos como principales colonizadores, siendo las cianobacterias relacionadas con el género *Chroococcidiopsis* los microorganismos más predominantes. En contraste, los yesos, en forma de costras, procedentes del área de la Cordillera de la Costa revelaron, en posiciones epilíticas y endolíticas, la presencia abundante de hongos, tanto en su forma de vida libre como en forma de asociaciones líquénicas. Por todo ello, se ha podido concluir que el tipo de aporte de agua propio de cada una

de las localidades muestreadas (alta humedad relativa, niebla marina y escasas precipitaciones) es uno de los factores más determinantes en cuanto al tipo de colonización (endolítica y/o epilítica) y a la presencia o ausencia de hongos.

Dada la abundancia de hongos de vida libre con ciertas características de pigmentación y morfología presentes en los microhábitats líticos de las costras de yeso de la Cordillera de la Costa, se llevó a cabo su aislamiento y crecimiento en medios de enriquecimiento, siendo especialmente destacable la convergencia morfológica en cuanto a pigmentación oscura, tasa de crecimiento lenta y morfología irregular de las colonias mostrada en la fracción fúngica obtenida. El análisis filogenético multi-génico de los aislados ha permitido determinar que se trata de hongos ascomicetos que mayoritariamente se asignan al orden *Capnodiales* (clase *Dothideomycetes*), relacionados con hongos litobióticos de distintos ambientes y conocidos también por su alta tolerancia a periodos de deshidratación. Además, se pudo determinar un comportamiento halófilo y halotolerante en dos de los aislados fúngicos durante los ensayos de tolerancia a condiciones de salinidad, capacidades que les pueden conferir ventaja para colonizar los yesos del Desierto de Atacama.

Por último, en esta tesis doctoral no solo se ha demostrado que el yeso facilita la supervivencia de los microorganismos en el Desierto de Atacama, sino que es capaz de preservar señales o huellas de la presencia y/o actividad de comunidades microbianas, en forma de precipitados de carbonato cálcico y estructuras enriquecidas en silicio y magnesio y en forma de cristales de oxalato cálcico monohidratado, y por tanto pueden ser considerados como biomarcadores.

Por todo ello, consideramos que este trabajo de tesis doctoral contribuye a la caracterización geomicrobiológica y ecológica de la colonización microbiana litobiótica en desiertos, en concreto aportando nuevos datos sobre la diversidad genética y morfológica de los microorganismos de comunidades litobióticas en yeso e ignimbrita de la región hiperárida del Desierto de Atacama

PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR FUMONISINAS EN MAÍZ

Autor: Ana Cao Camaño.

Directores: Dra. Ana M^a Butrón Gómez, Dr. Rogelio Santiago Carabelos y Dr. Antonio J. Ramos Girona.

Centro de realización: Misión Biológica de Galicia (CSIC)-Universidad de Lleida.

Centro de defensa: Universidad de Vigo.

Las especies del género *Fusarium* son los mohos encontrados más frecuentemente en cultivos de cereales en las regiones templadas. Muchas de estas especies poseen la capacidad de producir micotoxinas, un grupo diverso de sustancias tóxicas para seres humanos y animales.

Publicación de resúmenes de Tesis Doctorales

SEM@foro publica resúmenes de Tesis Doctorales realizadas por miembros de la SEM. Deben enviarse a la Secretaría de la SEM (secretaria.sem@semicrobiologia.org) o al Director Editorial (vicjcid@farm.ucm.es) por correo electrónico, siguiendo el formato: Título, Autor, Director(es), Centro de realización, Centro de presentación (si es distinto) y Resumen (máximo, unas 200 palabras).

SEM@foro se reserva el derecho a no publicar la información si el resumen es excesivamente largo o el tema del trabajo no guarda suficiente relación con la Microbiología.

Las fumonisinas son una familia de micotoxinas que se encuentran predominantemente en maíz y sus productores principales son *F. verticillioides* y *F. proliferatum*. Estas micotoxinas han sido clasificadas como «agente posiblemente carcinogénico en humanos» por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer y se han regulado sus contenidos máximos en los alimentos destinados al consumo humano y animal en la Unión Europea y en otros países.

En Galicia, a pesar de existir un clima favorable para el desarrollo de mohos, apenas se ha investigado la presencia de especies micotoxigénicas o la contaminación con micotoxinas en maíz u otros cereales. Actualmente, no existe información concreta sobre qué factores ambientales y/o genotípicos determinan el nivel de infección fúngica y el contenido de fumonisinas en los granos en el momento de cosecha. Este conocimiento es importante y necesario a la hora de valorar el riesgo y tomar decisiones de prevención de la contaminación con fumonisinas. Por esta razón, se ha estudiado cuáles son estos factores, el peso que tiene cada uno de ellos y en qué momentos a lo largo del periodo de cultivo son críticos para la infección por *F. verticillioides* y la contaminación con fumonisinas de los granos de maíz. También se ha determinado el grado de presencia de otras especies de *Fusarium* en los granos para valorar el riesgo de contaminación con otras micotoxinas. Al mismo tiempo, se ha querido averiguar cómo influyen los factores ambientales, bióticos y abióticos, en el proceso de infección fúngica y de acumulación de fumonisinas a lo largo del desarrollo fisiológico y secado del grano en campo. Por último, y de forma paralela, se ha evaluado la resistencia a la acumulación de fumonisinas de cuatro híbridos de maíz blanco tras inoculación artificial con un aislado local de *F. verticillioides*.

Como resultado de este trabajo, podemos confirmar que *F. verticillioides* es la especie más abundante y la principal productora de fumonisinas en los granos de maíz cultivado en Pontevedra. Con menor frecuencia, se detectaron otras especies micotoxigénicas del género *Fusarium* por lo que existe un riesgo potencial de contaminación con otras micotoxinas. Las siembras tardías y las cosechas tempranas fueron menos favorables para la infección por *F. verticillioides*, su desarrollo y la acumulación de fumonisinas en los granos, por lo que su aplicación es recomendable para reducir la contaminación con estas micotoxinas. Se observó que la contaminación con fumonisinas estuvo especialmente influenciada por las condiciones ambientales durante la floración y durante el secado del grano. Es necesario ser cauteloso cuando las condiciones climáticas durante la floración son más secas y calurosas, y tratar de evitar, mediante recolecciones tempranas, las precipitaciones intensas antes de la cosecha y daños mayores en los granos, producidos principalmente por insectos. El uso de variedades con cierta resistencia a la polilla, al taladro y con una buena cobertura de brácteas puede ser una herramienta útil para reducir el riesgo de contaminación con fumonisinas.

A lo largo del desarrollo de los granos, el aumento significativo de la concentración de fumonisinas se produjo a partir de la madurez fisiológica y durante el secado en campo. Este aumento fue favorecido por la disminución de las temperaturas y por el crecimiento fúngico, favorecido, a su vez, por el daño de polilla, e indicando que, además del estado de desarrollo del grano, las condiciones ambientales locales durante el secado en campo pueden ser decisivas en la acumulación de fumonisinas.

Finalmente, se ha verificado el comportamiento estándar de un aislado local de *F. verticillioides* y su capacidad de producir fumonisinas, y se ha confirmado, mediante inoculación artificial, la resistencia parcial del híbrido de maíz blanco EP10 x EC22 a la acumulación de fumonisinas en los granos.

TRANSLOCACIÓN DE ADN A TRAVÉS DE SISTEMAS DE SECRECIÓN TIPO IV DE PATÓGENOS HUMANOS INTRACELULARES

Autora: Esther Fernández González.

Directores: Matxalen Llosa Blas y Félix J. Sangari García.

Centro: Universidad de Cantabria-Instituto de Biotecnología y Biomedicina (IBBTEC).

Las bacterias patógenas son microorganismos capaces de causar enfermedades en el huésped. Para llevar a cabo ese proceso infeccioso, poseen una serie de factores de virulencia entre los que se encuentran los Sistemas de Secreción Tipo IV (T4SS), los cuales presentan una gran versatilidad, siendo capaces de translocar proteínas y ADN al medio extracelular u otra célula receptora que puede ser procariota o eucariota.

En este trabajo de Tesis doctoral, hemos querido indagar en el proceso de reclutamiento de sustratos por distintos T4SS, una de las presumibles causas de su versatilidad biológica. Para ello, nos hemos centrado en el estudio de la transferencia de ADN a través de tres T4SS implicados en virulencia, los de los patógenos humanos intracelulares: *Bartonella henselae*, *Brucella suis* y *Burkholderia cenocepacia*, utilizando la maquinaria conjugativa del plásmido R388.

Los resultados obtenidos han sido muy diversos dependiendo del T4SS utilizado. Así, hemos demostrado que *Bartonella henselae* es capaz de transferir ADN tanto a células de mamífero como a otras bacterias a través de su VirB T4SS, en un mecanismo mediado por la relaxasa conjugativa del plásmido R388, TrwC. Sin embargo, los T4SS de *Brucella suis* y *Burkholderia cenocepacia* no son capaces de transferir complejos similares, lo que es una prueba más de la gran versatilidad que presentan estos sistemas.

A lo largo de este trabajo también se ha llevado a cabo la caracterización de uno de los dos T4SS para los que codifica *B. cenocepacia*, el Ptw T4SS, responsable del efecto «watersoaking» en plantas. Dicho T4SS fue de interés para nosotros debido a la presencia de una posible relaxasa conjugativa (PtwC) que presenta alta identidad con TrwC. Mediante la caracterización de este sistema, del que se poseían escasos datos, hemos podido demostrar su carácter conjugativo entre bacterias, pero no así desde *B. cenocepacia* a células de mamífero.

Estos resultados destacan de nuevo la gran versatilidad existente entre los T4SS implicados en virulencia y la diferencia existente entre unos y otros. El modelo de estudio empleado, la transferencia heteróloga de sustratos, permite indagar en las bases moleculares del reclutamiento de sustratos por los T4SS, lo que permitirá su posterior manipulación.

MONITORING, IDENTIFICATION, GENOTYPING AND INACTIVATION OF ENTERIC VIRUSES IN THE FOOD CHAIN

Autor: Marta Diez Valcarce.

Directores: Marta Hernández Pérez y David Rodríguez Lázaro.

Centro de realización: Subdirección de Investigación y tecnología del instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.

Centro de presentación: Facultad de Veterinaria, Universidad de León.

El trabajo se centró en la estandarización de la metodología de análisis y en la evaluación de la eficacia de tecnologías

emergentes de inactivación vírica aplicables en la industria alimentaria. Para ello, se diseñaron u optimizaron tres controles analíticos para su implantación en protocolos estandarizados de detección de virus de origen alimentario mediante métodos moleculares; el control de procesamiento de la muestra, el control interno de amplificación, y el uso de ácidos nucleicos sintéticos como estándares de cuantificación y como controles positivos. Se llevó a cabo un estudio sobre la aplicación de tratamientos enzimáticos para la cuantificación de la capacidad infecciosa de un virus mediante métodos moleculares. Se validó la metodología mediante un ensayo inter-laboratorio en el que participaron once laboratorios de nueve países europeos diferentes, y ya que los resultados de sensibilidad y especificidad se consideraron suficientemente robustos, se procedió a realizar tres estudios de muestreo en dos cadenas alimentarias, la cadena de producción de porcino y la de producción de moluscos bivalvos. Finalmente, se llevaron a cabo ensayos con dos tecnologías emergentes para la inactivación de virus: las altas presiones hidrostáticas y la utilización de compuestos naturales presentes en los aceites esenciales de plantas.

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE CULTIVOS INICIADORES AUTÓCTONOS SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS Y SENSORIALES DEL CHORIZO GALLEGO

Autor: Sonia Fonseca Balvís.

Directores: Francisco Javier Carballo García y María Inmaculada Franco Matilla.

Centro: Área de Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias, Universidad de Vigo.

El Chorizo Gallego es un embutido crudo-curado tradicional elaborado en el noroeste de España que goza de una muy buena aceptación entre los consumidores y posee una gran presencia en los mercados locales. Para su elaboración se parte de magro (80 %) y grasa dorsal (20 %) de cerdo a los que, una vez picados, se añade sal (15 g/kg), ajo (4 g/kg), pimentón dulce (22 g/kg), pimentón picante (1 g/kg) y agua (40 mL/kg). La masa se deja reposar (24 horas a 4 °C) y se embute en tripa natural de cerdo (36-38 mm de diámetro), realizando a continuación un atado en ristras, dejando entre las unidades la típica bola característica de este embutido. A continuación, los embutidos se someten a un proceso de secado-maduración de duración variable entre 15 y 45 días. Actualmente, el Chorizo Gallego se elabora de forma tradicional mediante fermentación espontánea y, como consecuencia de ello, los productos presentes en los mercados muestran una enorme heterogeneidad en sus características y atributos sensoriales; la no adición de cultivos iniciadores posibilita también el eventual crecimiento de microorganismos patógenos y/o alterantes, con lo que la estabilidad y salubridad de los productos no está garantizada. La utilización en la elaboración de este embutido de un cultivo iniciador propio, integrado por cepas microbianas aisladas de elaboraciones artesanales, debidamente caracterizadas en sus actividades metabólicas, y testadas en sus efectos en fabricaciones a escala de planta piloto, permitiría la elaboración de un Chorizo de calidad elevada y constante, sanitariamente seguro y que conserve intacta su personalidad y sus características diferenciales frente a otros embutidos.

En este trabajo se ensayaron como cultivos iniciadores en la fabricación del Chorizo Gallego una cepa de *Lactobacillus* (*L. sakei*

LS131) y tres de *Staphylococcus* (*S. equorum* SA25, *S. saprophyticus* SB12 y *S. epidermidis* SA49) previamente aisladas de embutidos tradicionales y debidamente caracterizadas en cuanto a sus condiciones de crecimiento y a sus actividades metabólicas. A lo largo de la maduración de lotes de embutido control (elaborados sin adición de cultivo iniciador) y de lotes inoculados (*L. sakei* LS131 + *S. equorum* SA25, *L. sakei* LS131 + *S. saprophyticus* SB12 y *L. sakei* LS131 + *S. epidermidis* SA49) se estudió la evolución de las poblaciones bacterianas mediante el empleo tanto de métodos de microbiología clásica como de técnicas moleculares.

La monitorización de lactobacilos y estafilococos se llevó a cabo mediante PCR cuantitativa en tiempo real utilizando *primers* específicos para género y para especie. La identificación de los aislados a nivel de género y especie se realizó mediante diferentes PCR específicas y secuenciación del gen ARNr 16S. Finalmente, para la caracterización de la comunidad bacteriana a nivel de cepa se utilizó la técnica de rep-PCR usando el *primer* (GTG)₅.

De acuerdo con los resultados obtenidos, las especies dominantes dentro de los géneros *Staphylococcus* y *Lactobacillus* cuando el Chorizo Gallego sufre una fermentación y maduración espontánea son *Staphylococcus equorum* y *Lactobacillus sakei*, respectivamente. Además, se observó que las cepas *L. sakei* LS131, *S. equorum* SA25 y *S. saprophyticus* SB12 lograron dominar el proceso madurativo cuando se añadieron como cultivos iniciadores, mientras que la cepa *S. epidermidis* SA49 no consiguió establecerse de forma apropiada, y su desarrollo se vio superado por el de la microbiota autóctona.

También se estudió el efecto de la adición de los diferentes cultivos iniciadores ya descritos sobre el perfil de compuestos volátiles y las propiedades sensoriales del Chorizo al final del proceso madurativo. Los compuestos volátiles se determinaron mediante la técnica de SPME-GC/MS y la evaluación sensorial fue llevada a cabo por un panel de 15 catadores que realizaron distintos test (análisis dúo-trío, análisis triangular y análisis descriptivo cuantitativo). De acuerdo con los datos obtenidos, no se encontraron diferencias significativas entre los lotes inoculados con los diferentes cultivos iniciadores. Sin embargo, la evaluación sensorial reveló que la aceptación general fue más elevada en los lotes inoculados que en los lotes control sin inocular, lo que reafirma la idea de que el uso de cultivos iniciadores autóctonos debidamente seleccionados en la elaboración de embutidos tradicionales hace posible la obtención de productos más homogéneos sin renunciar a las características típicas deseadas, obtenidas en las elaboraciones artesanales.

METAGENÓMICA COMPARATIVA DE LA BIODIVERSIDAD PROCARIOTA DE UNA SALINA

Autor: Ana Beatriz Fernández González.

Directores: Antonio Ventosa y Cristina Sánchez-Porro.

Centro: Universidad de Sevilla.

El objetivo de este estudio ha sido determinar la biodiversidad filogenómica y metabólica de un ambiente hipersalino mediante una aproximación metagenómica. Para ello se ha seleccionado la salina «Bras del Port» de Santa Pola (Alicante), que ha sido ampliamente utilizada durante las últimas décadas para estudios microbiológicos basados tanto en técnicas clásicas de aislamiento y cultivo de bacterias y arqueas halófilas como en técnicas moleculares independientes de cultivo. En esta tesis se han estudiado tres estanques de esta salina, con concentraciones del 13%, 19% y 33% de sales, a partir de los cuales se obtuvieron los correspondientes metagenomas (designados SS13, SS19 y SS33), mediante

la extracción de ADN total procariótico y posterior secuenciación mediante la plataforma de secuenciación Genome Sequencer FLX Titanium (454 Life Sciences). Además, se han estudiado tres metagenomas de referencia, obtenidos de un estanque cristalizador saturado en NaCl (37 %) de esta misma salina (designado SS37) y de dos bases de datos metagenómicas de bajas salinidades (3,8 % y 6,4 %) para examinar las tendencias producidas con el aumento de la salinidad y las adaptaciones hipersalinas. Las bases de datos metagenómicas obtenidas tenían tamaños comprendidos entre 475 y 309 Mb (longitud media de las secuencias de 305-417 pb).

El análisis comparativo de las secuencias metagenómicas de ARNr 16S ha permitido determinar que la comunidad bacteriana disminuye a medida que aumenta el gradiente de salinidad, y viceversa, para la comunidad de arqueas. Además, a bajas salinidades se obtuvo un mayor porcentaje de secuencias no clasificadas a nivel de phylum y género relacionadas con el dominio *Bacteria* y a altas salinidades un mayor porcentaje de secuencias no clasificadas a nivel de phylum y género relacionadas con el dominio *Archaea*. A nivel de género, el número de secuencias clasificadas en los estanques de la salina «Bras del Port» es mayor a altas salinidades, debido a que en estos ambientes solo predominan unos pocos microorganismos, que se han aislado y descrito en su momento a partir del estanque cristalizador SS37, como *Haloquadratum walsbyi* y *Salinibacter ruber*. La estructura de la comunidad en los estanques con una mayor concentración salina (SS19, SS33 y SS37) está principalmente relacionada con los dos géneros de arqueas *Haloquadratum* y *Halorubrum* y el género bacteriano *Salinibacter*. Sin embargo, en el estanque SS13 existe una mayor abundancia de representantes de la clase *Alphaproteobacteria*, fundamentalmente de los géneros *Roseovarius* y *Oceanicola*; por otro lado, es de resaltar

que todavía se detectan algunas secuencias relacionadas con el género *Haloquadratum*.

Este estudio pone de manifiesto la existencia de un elevado porcentaje de secuencias correspondientes a nuevos taxones no cultivados todavía entre las poblaciones tanto de bacterias como de arqueas de la salina «Bras del Port»; la gran mayoría de estas secuencias están relacionadas, principalmente, con el orden *Halobacteriales*. El agrupamiento obtenido por los «contigs» ensamblados de la base de datos SS19 sugiere que, aparte de *Haloquadratum walsbyi*, existen otros dos representantes muy abundantes en este estanque, pertenecientes, respectivamente, al phylum *Euryarchaeota* pero con un contenido de bajo G+C (no relacionado con *Haloquadratum walsbyi*) y a la clase *Gammaproteobacteria* (relacionado con los géneros *Alkalilimnicola* y *Nitrococcus*, de la familia *Ectothiorhodospiraceae*).

La luz puede ser una fuente de energía fundamental para estos organismos procariotas a través de diferentes tipos de rodopsinas y la oxidación del monóxido de carbono mediante la fotólisis de compuestos orgánicos, ya que se han detectado muchas secuencias relacionadas con estos genes en las bases de datos metagenómicas de la salina «Bras del Port». Por último, en estanques con salinidades intermedias se observan principalmente secuencias relacionadas con transportadores de betaína y genes de síntesis de glutamato y a altas salinidades se detecta una mayor proporción de secuencias relacionadas con la síntesis de glicerol. Los microorganismos que utilizan la estrategia «salt-out» muestran principalmente una preferencia hacia el transporte o la síntesis de estos solutos compatibles dependiendo de la salinidad a la que se encuentren. Por otra parte, algunos microorganismos conocidos por utilizar la estrategia «salt-in» podrían ser capaces de integrar la síntesis de solutos compatibles con la acumulación de iones en su citoplasma.

MICROBIOGRAMA

HORIZONTALES

1. Bacteria patógena invasiva (¡cuidado con los huevos!). 2. Puede ser la citosina o la timina, pero en sentido antiparalelo. 3. *Lipid transfer protein*, un péptido antimicrobiano de plantas. / La inmunoglobulina más abundante en suero. / Eso era Metchnikoff, Nobel y padre de la inmunología. 4. El cristal del Gram. / Treonina seguida de prolina: un *target* para quinasas MAPK. 5. El lípido del lipopolisacárido que constituye la endotoxina de las Gram-negativas. / La ética del revés. / Si no viene de otro planeta, *Enterococcus termitis*. 6. Síndrome grave asociado al consumo de aspirina en niños con varicela y otras infecciones respiratorias víricas. / Si no sabes qué es, llámalo así. / Represor del fago lambda que inhibe la lisogenia. 7. Objetos inanimados capaces de portar microorganismos infecciosos de derecha a izquierda. / En inglés, ello se resuelve con el dipéptido Ile-Thr. 8. Bien, bien, de esa manera. / *Aspergillus ibericus*: muy nuestro, pata negra. / Centro de apoyo a la investigación. 9. Género de bacterias con ácidos micólicos de cadena corta. Serotipo de meningococo frente al que se puede vacunar. 10. La colección de todos los genes de una especie microbiana.

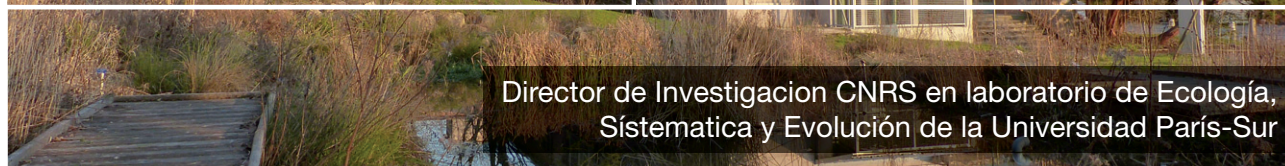
VERTICALES

1. La bala mágica de Ehrlich. 2. Ponle este prefijo al cuerpo y lo convertirás en inmunoglobulina. / Tiene patas arriba. 3. La más famosa especie del género de levaduras *Yarrowia*. 4. Doctor en Medicina por Harvard. / Leu-Ala-Glu-Ile, un tetrapéptido, cuando no es el índice de elasticidad de grandes arterias. / Apócope de anaerobio. 5. Real, pero boca abajo. / Nuestra tinción favorita, pero no la enfocarás si no pones el porta al derecho. 6. El meningococo abreviado. / Toxina inactivada. 7. Así llamaba Pasteur a su mujer haciendo el pino. / Y juntando esta con las dos siguientes, se acabó. 8. Ley Orgánica de Reforma Universitaria del 25 de agosto de 1983. / Polisacárido antigénico del neumococo. / Autora de una tesis gallega sobre micotoxinas (v. pág. 75). 9. Bacteria patógena muy invasiva (¡cuidado con las leches!). / Temible proteína de superficie de *Streptococcus pyogenes*. 10. ¡Esa célula eucariótica se está suicidando!

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										



**David
Moreira**



Director de Investigación CNRS en laboratorio de Ecología, Sistemática y Evolución de la Universidad París-Sur

Querido Presidente,

En primer lugar, gracias por haberme invitado a escribir una de las primeras «Cartas al Presidente», una iniciativa que creo puede ser especialmente valiosa para los estudiantes que inician una carrera científica y que pueden estar interesados en recibir noticias de primera mano sobre cómo es el mundo de la ciencia fuera de España, algo que Gemma Reguera ha plasmado muy bien en la primera carta de esta serie. A diferencia de ella, mi carrera ha sido más convencional ya que yo abandoné España tras haber conseguido el título de Doctor, para iniciar una estancia postdoctoral en la Universidad de París-Sur. De ello hace ya más de quince años, aunque este largo periodo en Francia se vio interrumpido por un breve intento de regresar a España tras los primeros tres años de postdoctorado. Las experiencias vividas durante ese intento de regreso, que solo duró un año, unido a lo que ya había podido ver a mi alrededor durante la tesis, bastó para convencerme de lo vano de intentar reincorporarme en España en buenas condiciones laborales y científicas. La causa de ello me temo que va a ser un tema recurrente en estas Cartas al Director. Obviamente, hablo de la tristemente célebre endogamia que tanto daño ha hecho, hace y hará a la investigación española. Paradójicamente, la sensación de rechazo por «venir de fuera» la he vivido en España y nunca en Francia, pese al despectivo calificativo de «chovinistas» que tradicionalmente asociamos a los franceses. Más sorprendente aún fue darme cuenta de hasta qué punto la endogamia había calado entre los más jóvenes, muy críticos con las generaciones anteriores de catedráticos y profesores, pero en realidad feroces defensores de la tranquilidad de su pequeño terruño laboral, que bajo ningún concepto quieren ver perturbado por los que vienen «de fuera». Lamentablemente, esto garantiza que esta lacra no va desaparecer en un futuro cercano. En mi caso personal, un currículum que no fue juzgado suficiente para una plaza de profesor ayudante sí que me permitió entrar en el CNRS, el equivalente francés del CSIC, al primer intento y con un grado bastante elevado dentro de su escala de investigadores.

El concurso de entrada al CNRS y la inserción en un nuevo centro de investigación desmontó definitivamente cualquier

presunción de chovinismo que aún pudiera albergar respecto a los franceses. En el año de mi concurso, 2001, más de un tercio de los varios cientos de investigadores contratados por el CNRS fueron extranjeros, una tónica que se ha mantenido invariable hasta el día de hoy. Esta apertura no es exclusiva del CNRS, ya que también existe en otros organismos de investigación franceses e incluso, aunque en menor medida, en las Universidades, pese a las dificultades que la barrera lingüística puede presentar a los docentes que vienen de otros países. Una consecuencia directa de esta política es el carácter internacional de un gran número de laboratorios franceses. Por ejemplo, en el instituto en el que actualmente trabajo, la plantilla de profesores e investigadores permanentes incluye alemanes, serbios, croatas, canadienses, estadounidenses, colombianos, argelinos, españoles y, por supuesto, franceses. Este grupo multinacional se enriquece aún más con estudiantes pre- y post-doctorales de procedencias muy diversas. Nuestro instituto no es una excepción sino un caso muy corriente en Francia. Algo así me parece impensable para la gran mayoría de centros en España. De hecho, en estos tiempos de zozobra económica, Francia se ha convertido más que nunca en un refugio para los científicos de todo el mundo. No creo que sea necesario insistir aquí en los méritos que esta medida reporta al sistema científico francés, que de esta manera se permite el lujo de incorporar investigadores de élite de todo el mundo sin haber tenido que invertir nada en su formación. Por el contrario, España gasta sumas considerables en formar científicos que, muy a menudo, darán sus frutos en otros países. Año tras año, el CNRS figura entre los mejores centros de investigación a escala mundial en virtud del número e impacto de sus publicaciones, en parte gracias al trabajo de los numerosos científicos extranjeros a los que lleva acogiendo desde hace décadas.

Por otra parte, Francia invierte significativamente en ciencia y tecnología. La atribución de esta inversión a los distintos laboratorios ha sufrido importantes cambios durante el tiempo que he vivido en este país. Cuando llegué, el dinero se repartía equitativamente según el número de investigadores, profesores y técnicos de cada laboratorio. Desde hace unos años, esta financiación de base se ha

visto fuertemente reducida, coincidiendo con la creación en 2005 de la ANR (*Agence Nationale de la Recherche*), un organismo estatal que gestiona la atribución de proyectos a través de convocatorias abiertas a todas las disciplinas o focalizadas sobre campos específicos. Cito este cambio en la política de financiación de la investigación porque es representativo de algunos aspectos de la mentalidad francesa. En efecto, un concepto sagrado para muchos franceses es el de igualdad (parte de la célebre trilogía «*Liberté, Égalité, Fraternité*» nacida durante la Revolución). Desde su punto de vista, la financiación a través de proyectos atenta contra la igualdad a partir del momento en el que no todos los laboratorios consiguen hacer pasar sus proyectos. La creación de la ANR supuso un cataclismo para muchos científicos franceses que hasta entonces nunca habían necesitado pedir proyectos para sufragar su investigación. Sin embargo, tras varios años de funcionamiento del nuevo sistema, mi impresión es positiva ya que ha permitido realizar proyectos de una envergadura muy superior a la que era posible gracias al antiguo método de reparto. Pese a ello, sigue existiendo un rechazo instintivo entre muchos científicos franceses al nuevo modelo. En ocasiones, reconozco que esta tendencia al inmovilismo puede tener aspectos positivos. Fue el caso durante el anterior Gobierno, que trató de iniciar un proceso de debilitación del CNRS con la idea de trasladar toda la actividad investigadora a las universidades. La comunidad científica, tanto el propio CNRS como las universidades, reaccionó de inmediato contra esta medida hasta el punto de que, ante la insistencia del Gobierno, la práctica totalidad de directores de laboratorio franceses dimitieron de sus cargos en una reunión multitudinaria que tuvo lugar en el Ayuntamiento de París. Ante un rechazo de este calibre, el Gobierno retiró la propuesta. En su momento, todo este proceso me sorprendió, en especial la capacidad de reacción y movilización de la ciencia francesa, difíciles de imaginar en España. Sin duda, algo así sería muy útil en estos momentos de penuria en la ciencia española.

Otro aspecto que me resultó llamativo en aquellos instantes fue poder percibir el apoyo de la sociedad a los científicos. El tema se trataba a diario en los medios de comunicación y muchos ciudadanos estaban al corriente de lo que ocurría y de sus implicaciones. En efecto, amplios sectores de la sociedad francesa están interesados en la ciencia. Para darse cuenta, basta con ver el número de programas de radio y televisión, conferencias para el gran público o los innumerables «bares y cafés de ciencias», algo cuya existencia desconocía hasta que vine aquí y que consiste en invitaciones periódicas a científicos para que la gente discuta con ellos de todo tipo de temas científicos alrededor de una cerveza. También llama la atención la cantidad de revistas de divulgación de calidad accesibles en los kioscos, incluyendo varias dirigidas a un público infantil.

Obviamente, la ciencia francesa también tiene aspectos negativos. A mi juicio, el más importante es la complejidad de su administración, a menudo sin mucha utilidad y que añade una cantidad de trabajo, y de tiempo perdido, considerable a los investigadores. Históricamente, cuando

se ha presentado algún problema administrativo grave, ante la dificultad de llevar a cabo verdaderas reformas en la administración, auténtico poder fáctico, las autoridades han optado por añadir otra capa (una nueva agencia, o secretaría, o instituto), es decir, incrementar aún más la complejidad del sistema. Pese a ello, cuando hablo con los colegas que se quedaron en España tengo claro que la decisión de venir a Francia fue la correcta, aunque eso no impide que admire el tesón y la valentía de muchos jóvenes investigadores que luchan por hacerse un hueco allí. A todos les animo a perseverar, pero también a que no olviden que en otros países no muy lejanos es posible encontrar lo que España les niega.

BREVE CV

David Moreira es Director de Investigación CNRS en el laboratorio de Ecología, Sistemática y Evolución de la Universidad París-Sur. Obtuvo su doctorado en Biología Molecular por la Universidad Autónoma de Madrid en 1995. Tras dos estancias postdoctorales, primero en la Universidad París-Sur y después en la Universidad Miguel Hernández, accedió a un puesto de investigador del CNRS en 2001. Tras un año en la Universidad Pierre et Marie Curie de París, se instaló en la Universidad París-Sur, en Orsay. Su trabajo de investigación se centra en el estudio de la diversidad y la evolución de los microorganismos procariotas y eucariotas utilizando herramientas moleculares (filogenia molecular, genómica comparativa y metagenómica). Uno de los temas que más le interesan es la macrofilogenia, es decir, la reconstrucción de las relaciones filogenéticas entre los grandes reinos de organismos. Entre sus publicaciones destacan los primeros estudios de ecología molecular de protistas y los trabajos sobre la filogenia de los distintos grupos de eucariotas fotosintéticos. Otro aspecto importante de su trabajo concierne el estudio de la evolución precoz de los primeros seres vivos utilizando la genómica comparativa. Para más detalles, puede visitarse la página web de su equipo (<http://www.esu-psud.fr/rubrique7.html?lang=en>).

CENTRO DE TRABAJO

El CNRS es una institución con laboratorios repartidos por todo en territorio francés, muy a menudo en asociación con universidades. Es el caso del laboratorio de Ecología, Sistemática y Evolución, que se encuentra en la Universidad París-Sur. Esta universidad, creada en 1971, está especializada en ciencias y desde hace unos años ocupa el primer lugar entre las francesas en cuanto a la cantidad y calidad de su producción científica. Para más información se puede visitar su página oficial (www.u-psud.fr).

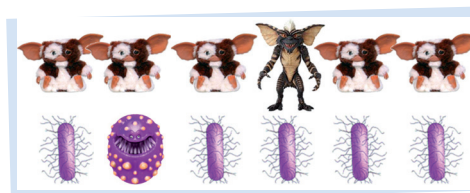
El laboratorio de Ecología, Sistemática y Evolución agrupa a unos 200 investigadores, profesores, técnicos y estudiantes. Los distintos grupos que lo componen trabajan en una gran diversidad de proyectos en torno a la biodiversidad, la filogenia, la genética de poblaciones o la ecología de comunidades.

Gremlins microbianos

Manuel Sánchez Angulo

Universidad Miguel Hernández

curiosidadesdelamicrobiologia.blogspot.com.es/



En la famosa película los *gremlins* eran pequeños gnomo de aspecto adorable pero que si uno se descuidaba y no los manejaba correctamente, podían transformarse en diablillos terroríficos que causaban desastres varios. Bueno, podríamos trazar un paralelismo con algunas situaciones que se han dado en la ciencia. En ocasiones los investigadores han pensado que tenían entre sus manos un descubrimiento importante que ha acabado convirtiéndose en una pesadilla, generalmente porque han sido poco cuidadosos en la aplicación del método científico. Este es un pequeño repaso de algunos ejemplos microbiológicos de lo que se conoce como «ciencia patológica».

NUMMULITES POR TODAS PARTES

Los restos fósiles de estos foraminíferos llegaron a obsesionar al zoólogo Randolph Kirkpatrick hasta tal punto que en 1903 llegó a publicar un libro titulado «La Nummulosfera» en el que defendía que todas las rocas del planeta en realidad estaban formadas por la acumulación de dichos protozoos. La pintoresca historia está recogida en el libro «El pulgar del panda» de Stephen Jay Gould.

CUIDADO CON LAS CONTAMINACIONES

En abril del año 2009 un grupo de la universidad de Upsala publicaba un artículo en PNAS en el que afirmaban que en cultivos envejecidos de *Mycobacterium marinum* se podían observar endosporas y proponían un posible mecanismo que explicaría la latencia y persistencia del patógeno *M. tuberculosis*. Sin embargo, en enero de 2010 el grupo de Richard Losick publicaba otro artículo en la misma revista en el que refutaban las observaciones del grupo sueco y explicaban que dichos resultados eran debidos a una contaminación de los cultivos de *M. marinum* con algún tipo de *Bacillus*.

Y FELISA CONSIGUIÓ SU TRABAJO

En diciembre de 2010 la NASA convocó una rueda de prensa para comunicar una noticia impactante. En lugar de presentar un microorganismo marciano la cosa se quedó en el anuncio del aislamiento de una bacteria extremófila llamada GFAJ-1 (*Give Felisa a Job*) que se suponía que era capaz de usar arsénico en lugar de fósforo. Nada más publicarse los resultados en la revista *Science* fueron muchos los investigadores que pusieron en duda el trabajo. De todas las refutaciones publicadas quizás la más prominente fue

la de Rosie Redfield, publicada en la revista *Science* de julio de 2012.

NANOBACTERIAS

En los años 80 del pasado siglo, una serie de investigadores afirmaron haber observado unos microorganismos extremadamente pequeños en cultivos de células eucarióticas. Consistían en una envoltura exterior de carbonato cálcico y proteínas englobando a ácidos nucleicos y diversas macromoléculas. Incluso se consideraron que eran las responsables de diversas patologías reumáticas y llegó a desarrollarse un kit de anticuerpos para detectarlas. Sin embargo en el año 1998 se publicó un artículo en PNAS que demostraba que las «nanobacterias» eran en realidad partículas de carbonato cálcico que se formaban espontáneamente cuando dejabas medio de cultivo almacenado en el incubador durante mucho tiempo.

LA BACTERIA QUE NUNCA EXISTIÓ

¿Ha oído hablar del preparado homeopático «Oscillococcinum»? Parece increíble que se pueda vender como antigripal, pero más increíble es la historia de su creación. En plena pandemia de la gripe de 1918, un tal Joseph Roy que dicen que era médico militar francés, observó en la sangre de los enfermos un tipo de microorganismo oscilante al que bautizó como «Oscillococcus». Posteriormente también lo observó en todo paciente que caía en sus manos. Intentando desarrollar una vacuna al estilo homeopático, Roy buscó si tal microorganismo estaba presente en animales y lo encontró en el hígado de un tipo de pato, bautizándolo como «Oscillococcinum». No debe de sorprendernos que no exista ninguna microfotografía de estas supuestas bacterias, pero lo que es curioso es que parece que el tal Joseph Roy tampoco existió. Desgraciadamente, el «Oscillococcinum» sí que existe y es un éxito de ventas. Y es que hay muchos crédulos por el mundo.

BIBLIOGRAFÍA

<http://www.pnas.org/content/early/2009/06/16/0904104106.short>
<http://www.pnas.org/content/107/2/878.full>
<http://www.sciencemag.org/content/332/6034/1163>
<http://www.sciencemag.org/content/337/6093/470.abstract>
<http://curiosidadesdelamicrobiologia.blogspot.com.es/2008/04/adios-nanobacteria-adios.html>
<http://curiosidadesdelamicrobiologia.blogspot.com.es/2013/03/el-homeopata-homeopatico-y-la-bacteria.html>

SESIONES PLENARIAS

Conferencia Inaugural: Bernhard Schink

Conferencia *in memoriam* M. Regué: Roland Benz

Conferencia Premio Jaime Ferrán



XXIV CONGRESO
DE MICROBIOLOGÍA

SEM

L'HOSPITALET DE LLOBREGAT (BARCELONA)

10-13 JULIO 2013

15 SIMPOSIOS

Viejas enfermedades, nuevos retos

El microbioma del suelo y de la planta

Carl Woese: Evolución de los procariotas

Microbiología y periodismo: una relación simbiótica

Técnicas ómicas en Microbiología de los Alimentos

Señalización, morfogénesis y virulencia en hongos

Microbios, simbiosis y evolución. En recuerdo de Lynn Margulis

Interacciones de los protistas con otros seres vivos

Transferencia Genética Horizontal

Uso Sostenible de Biocidas

Etc., etc.

Tu Congreso

...Y MUCHO MÁS



XVII CURSO DE INICIACIÓN A LA INVESTIGACIÓN EN MICROBIOLOGÍA



9 y 10 de julio de 2013

Sede del Curso: Institut d'Estudis Catalans, calle del Carme, 47, 08001 Barcelona



Institut
d'Estudis
Catalans

Martes 9 de julio		
Apertura del Curso	Presidente de la SEM	8,45 h
Probióticos: Aspectos Funcionales	José Antonio Moreno	9,00 h
Cuerpos de inclusión en bacterias recombinantes: ¿Desechos o nuevos materiales nanoestructurados para biomedicina?	Antoni Villaverde	10,15 h
	Pausa	11,30 h
Enzimas microbianas para tecnologías sostenibles	Javier Pastor	12,00 h
La filosfera como hábitat microbiano	María Ramos Martínez	13,15 h
	Pausa	14,30 h
Visita al Museo de Ciencias Naturales de Barcelona (Museu Blau), Fórum	Mercè Piqueras	16,00 h
Miércoles 10 de julio		
Ensayos de biotratibilidad y búsqueda de microorganismos de interés en biorremediación	Gloria Andrea Silva	9,00 h
Análisis genético de la patogenicidad en hongos	Antonio De Pietro	10,15 h
	Pausa	11,30 h
Infección invasiva por neumococo: ¿Cómo nos ataca y cómo nos defendemos?	José Yuste	12,00 h
Investigaciones actuales con microalgas como objeto de estudio	Carmen Rioboo	13,15 h
	Pausa	14,30 h
Degradación de hidrocarburos por bacterias marinas: ¿Estrategia de vida o efecto colateral?	Balbina Nogales	16,00 h
Aplicaciones de los bacteriófagos en seguridad alimentaria	Montserrat Llagostera	17,15 h

