



## Presidente

Antonio Ventosa Uvero

Dpto. Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia.  
Universidad de Sevilla.  
C/ Prof. García González, 2. 41012 Sevilla.  
ventosa@us.es

## Vice-Presidente

Rafael Giraldo Suárez

Centro de Investigaciones Biológicas. CIB-CSIC.  
C/ Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid.  
rgiraldo@cib.csic.es

## Secretario

Juan Alfonso Ayala Serrano

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.  
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.  
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 Madrid.  
jayala@cbm.csic.es

## Tesorero

Víctor Jiménez Cid

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

## Editores de publicaciones

### International Microbiology

José Berenguer

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.  
Departamento de Biología Molecular.  
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.  
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 Madrid.  
jberenguer@cbm.uam.es

### SEM@foro

Manuel Sánchez Angulo

Departamento de Producción Vegetal y Microbiología.  
Universidad Miguel Hernández.  
03202 Elche (Alicante).  
m.sanchez@umh.es

### NoticiaSEM

Inmaculada Llamas Company

Departamento de Microbiología.  
Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.  
Campus de Cartuja. 18071 Granada.  
illamas@ugr.es

## Directora de la Colección Española de Cultivos Tipo

Rosa Aznar Novella

Dpto. Microbiología y Ecología.  
Facultat de Ciències Biològiques. Univ. de València.  
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.  
diego.moreno@upm.es

## Vocales

M<sup>ª</sup> 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 (Tarragona).  
mariajose.figueras@urv.cat

Inés Arana Basabe

Dpto. de Inmunología, Microbiología y Parasitología.  
Facultad de Ciencias y Tecnología.  
Universidad del País Vasco (UPV/EHU).  
C/ Barrio Sarriena s/n. E-48940 Leioa (Bizkaia).  
ines.arana@ehu.es

Montserrat Llagostera Casas

Dpto. de Genética i Microbiologia. Universitat Autònoma  
de Barcelona. Cerdanyola del Vallès. 08193 Barcelona.  
montserrat.llagostera@uab.cat

Ignacio Belda Aguilar

Departamento de Microbiología III.  
Facultad de Biología. Universidad Complutense  
de Madrid. 28040 Madrid.  
ignaciobelda@ucm.es

Diego A. Moreno Gómez

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

David Rodríguez Lázaro

Grupo Tecnología y Seguridad Alimentaria.  
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.  
Carretera de Burgos, Km.119. 47071 Valladolid.  
ita-rodrlazda@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.  
arios@ccma.csic.es

### Hongos Filamentosos y Levaduras (Micología)

Humberto Martín Brieva

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

### Biología de Microorganismos Patógenos

Ángel Domínguez Olavarrí

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

### Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

Francisco Javier Pastor Blasco

Dpto. de Genética, Microbiología y Estadística  
Facultad de Biología. Univ. de Barcelona.  
Avda. Diagonal 643. 08028 Barcelona.  
fpastor@ub.edu

### Microbiología de los Alimentos

Gonzalo García de Fernando Minguillón

Dpto. Nutrición, Bromatología y Tecnología  
de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, UCM.  
Avda. Puerta de Hierro s/n. 28040 Madrid.  
e-mail: mingui@vet.ucm.es

### Microbiología Molecular

Bruno González Zorn

Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET).  
Universidad Complutense.  
Av. Puerta de Hierro, s/n. 28040 Madrid.  
bgzorn@ucm.es

### Microbiología del Medio Acuático

Alicia Estévez Toranzo

Departamento de Microbiología.  
Facultad de Biología / CIBUS.  
Universidad de Santiago de Compostela.  
Campus Universitario Sur, s/n.  
15782 Santiago de Compostela - (A Coruña).  
alicia.estevez.toranzo@usc.es

### Microbiología de Plantas

Antonio de Vicente Moreno

Dpto. de Microbiología. Facultad de Ciencias.  
IHSM-UMA-CSIC.  
Campus de Teatinos. Universidad de Málaga.  
29071 Málaga.  
adevicente@uma.es

### Protistología

Ana Martín González

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

### Taxonomía, Filogenia y Diversidad

Jesús López Romalde

Dpto. Microbiología y Parasitología.  
Facultad de Farmacia, Univ. de Santiago de Compostela.  
15706 Santiago de Compostela (A Coruña).  
jesus.romalde@usc.es

### Docencia y Difusión de la Microbiología

Inés Arana Basabe

Dpto. de Inmunología, Microbiología y Parasitología.  
Facultad de Ciencias y Tecnología.  
Universidad del País Vasco (UPV/EHU).  
C/ Barrio Sarriena s/n. E-48940 Leioa (Bizkaia).  
ines.arana@ehu.es

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

Director: **Manuel Sánchez Angulo**. E-mail: [m.sanchez@umh.es](mailto:m.sanchez@umh.es).

Co-editor de la Sección Taxonomía, Filogenia y Diversidad: **Jesús López Romalde**

Webmaster de la SEM: **Jordi Urmeneta Masó**. E-mail: [jurmeneta@ub.edu](mailto: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](mailto:info.dcg@design2aa.com) • [www.design-2aa.com](http://www.design-2aa.com)

[www.semicrobiologia.org/sec/SEM@FORO](http://www.semicrobiologia.org/sec/SEM@FORO)

# SUMARIO

SEM@FORO

NUM. 65 | JUNIO 2018



Collage realizado a partir de las imágenes de los diferentes artículos de los miembros del Grupo de Taxonomía, Filogenia y Diversidad.

Visite la página web de la SEM:  
[www.semicrobiologia.org](http://www.semicrobiologia.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**

C/ Rodríguez San Pedro, 2  
Planta 2ª – despacho 210  
28015 Madrid  
Tel. 91 561 33 81

[secretaria.sem@semicrobiologia.org](mailto:secretaria.sem@semicrobiologia.org)

## NOTA DEL PRESIDENTE

Antonio Ventosa ..... 2

## NUESTROS GRUPOS

Informes de los grupos especializados ..... 4

## ARTÍCULOS

Proyecto ProInfant-CYTED: "Alimentos vegetales con funcionalidad probiótica para poblaciones infantiles desnutridas" ..... 5  
Las Microbiólogas y la Filatelia (I). Pioneras olvidadas ..... 7  
Diseminación de enterobacterias portadoras de *mcr-1* en agua residual en España ..... 10  
*Xylella fastidiosa* o la amenaza de una bacteria fitopatógena emergente ..... 13

## LIBROS

Fundamentos de biotecnología farmacéutica ..... 18  
Superbacterias ¿Moriremos por infecciones? ..... 18

## REUNIONES Y CONGRESOS

Bergey's International Society for Microbial Systematics (BISMIS 2018) ..... 20  
Tercer Retiro de la Academia Europea de Microbiología en La Granja de San Ildefonso ..... 21  
VI *workshop* Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria ..... 22

## ESPECIAL TAXONOMÍA, FILOGENIA Y DIVERSIDAD

Grupo de Taxonomía, Filogenia y Diversidad ..... 24  
Bacterias halófilas: biodiversidad, quorum sensing, quimiotaxis y aplicaciones biotecnológicas ..... 26  
Filogenia molecular y procesos de diversificación en *Aeromonas* ..... 28  
Epidemiología molecular de microorganismos patógenos: entre la evolución y la clínica ..... 31  
Identificación y Caracterización Molecular de Patógenos Bacterianos de Origen Animal (ICM) ..... 33  
Taxonomía de bacterias patógenas inusuales, emergentes, atípicas y de difícil identificación ..... 36  
Ecología microbiana molecular: explorando la diversidad procarionótica y vírica de ambientes hipersalinos y marinos ..... 38  
Ecología Microbiana, Genómica y Sistemática Bacteriana ..... 40  
Diversidad procarionótica en ambientes hipersalinos ..... 42  
Taxonomía y epidemiología de los géneros *Aeromonas* y *Arcobacter* ..... 44  
Taxonomía y diversidad de microorganismos asociados a moluscos ..... 47  
Microbiología ambiental en Baleares ..... 50

## ENTREVISTA JISEM

Fernando Baquero. Consejos para jóvenes microbiólogos ..... 53

## LA NUEVA ETAPA DE INTERNATIONAL MICROBIOLOGY

..... 55

## NUESTRA CIENCIA

..... 56

## TESIS

Resúmenes de tesis doctorales ..... 57

## Nota del Presidente

Antonio Ventosa

Presidente de la SEM



Aprovecho la oportunidad que me brinda este nuevo número de SEM@foro para reparar algunas noticias de la Sociedad Española de Microbiología (SEM) de interés para nuestros socios. Además de las ya habituales secciones de informes de grupos especializados, reseñas de congresos y otras actividades de la SEM, incluido un interesante artículo sobre *Xylella fastidiosa*, este número está dedicado al grupo especializado de Taxonomía, Filogenia y Diversidad y en él encontrarás una actualización acerca de las actividades de algunos de los grupos que trabajan en este campo.

Quisiera resaltar la excelente labor que viene realizando Manuel Sánchez Angulo, Director de SEM@foro, al frente de esta publicación y me gustaría recordar que tanto SEM@foro como nuestra revista digital mensual NoticiaSEM, son los dos órganos de difusión de los que disponen nuestros socios y os animo a que nos hagáis llegar todas vuestras opiniones, noticias, actividades, etc... Os recuerdo una vez más que ambas publicaciones son la voz de nuestros socios y que vuestras contribuciones siempre serán bienvenidas.

El inicio de este año 2018 ha supuesto algunos cambios importantes en varios aspectos de la gestión de nuestra sociedad. Tras las negociaciones llevadas a cabo a lo largo del pasado año, que culminamos con la firma de un contrato con Springer Nature, nuestra revista *International Microbiology* (IM) ha pasado a ser publicada por esta editorial a partir de este año 2018. Este hecho ha supuesto un paso importante en cuanto a la consolidación de nuestra revista en un periodo cambiante con respecto a las publicaciones científicas, teniendo además en cuenta el elevado número de nuevas revistas que están surgiendo y el auge del sistema de publicación abierto "Open-Access". Desde hace varios meses estamos ya recibiendo

los manuscritos a través de la plataforma de Springer (<http://www.editorialmanager.com/intm/default.aspx>) y todo el proceso de transformación desde el sistema anterior al nuevo se está realizando de forma satisfactoria. Agradezco la labor realizada por todos los agentes implicados, especialmente a los responsables de Springer que con una enorme profesionalidad están poniendo todo su empeño en el proceso, al Editor-Jefe de IM, José Berenguer y al nuevo equipo editorial, así como a Diego Moreno, Ana M<sup>a</sup> García, Jordi Urmeneta y Ricardo Guerrero, por su labor en el periodo de transición en la publicación de la revista durante estos pasados meses. Ahora solo queda lo más importante, que nuestros socios consideren la revista como suya, como una parte importante de su actividad científica y que envíen manuscritos de calidad que permitan mejorar el impacto y la calidad de la misma entre las revistas del área de la Microbiología.

Hace algunas fechas FEMS nos envió un informe final del pasado congreso celebrado conjuntamente entre FEMS y SEM en Valencia en julio de 2017 y nos gustaría destacar dos aspectos que considero relevantes y muy positivos. En primer lugar, la elevada asistencia a las sesiones científicas durante todos los días del congreso, especialmente a las organizadas por la SEM. Sirva como muestra que entre las cinco sesiones con mayor asistencia de participantes, tres de ellas fueron organizadas por la SEM, lo cual refleja lo acertado de la selección de los temas tratados y de los conferenciantes de las mismas. En segundo lugar, el balance económico del congreso ha sido muy positivo. Ha habido un superávit, que de acuerdo al contrato que firmamos con FEMS nos ha reportado un beneficio de unos 14.000 euros. El destino de este superávit será debatido y decidido en una próxima reunión de la Junta Directiva de la SEM y nuestra propuesta será que lo destinemos a ayudas de asistencia al próximo

congreso nacional y a otras actividades para jóvenes investigadores.

Desde comienzos de este año estamos trabajando en la organización del próximo congreso nacional de Microbiología, que tendrá lugar en Málaga durante los días 2 a 5 de julio de 2019. Aprovechando la experiencia del congreso anterior celebrado conjuntamente con FEMS, estamos empeñados en introducir mejoras en el proceso de organización del mismo. Fundamentalmente, dándole un mayor protagonismo a los socios, con la idea de que piensen que los congresos bienales de la SEM son una cita obligada para los mismos y que contribuyan con sus aportaciones a la elaboración de un programa científico que sea de interés general, con temas transversales y de gran impacto científico para los participantes. Por ello, en un reciente número de NoticiaSEM, Juan José Borrego, Presidente del Comité Organizador del congreso, ha solicitado la colaboración de todos los socios para que hagan llegar sus ideas y sugerencias acerca de las temáticas que consideren más adecuadas para las diferentes sesiones científicas.

Este año se celebrarán diversas reuniones de los grupos especializados, que sin duda alguna son uno de los grandes activos de nuestra sociedad y posibilitan el intercambio de ideas e información y el establecimiento de colaboraciones entre grupos de investigación en muy diversas áreas de la Microbiología en un ambiente relajado y dándole un gran protagonismo a los jóvenes investigadores. En junio se celebra en Cádiz la reunión del grupo de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana, en julio la cita será en Madrid por parte del grupo de Docencia y Difusión de la Microbiología, con un atractivo simposio denominado "Microbiología y Sociedad: Retos", el primer simposio nacional de los Jóvenes Investigadores de la SEM y un mini-simposio satélite de la Red SWI@SPAIN

“Small World Initiative”, la rama española del proyecto cuya finalidad es la búsqueda y concienciación sobre el uso de los antibióticos. Durante el mes de septiembre se celebrarán las reuniones de Microbiología de los Alimentos y de Micología, en este caso en la ciudad de Tarragona y a comienzos de octubre tendremos la oportunidad de asistir a la reunión conjunta de los grupos especializados de Microbiología del Medio Acuático y de Taxonomía, Filogenia y Diversidad, en esta ocasión en Sitges, Barcelona. Por último, a comienzos del próximo año 2019 se celebrará en Osuna (Sevilla) la reunión del grupo especializado de Microbiología de Plantas. Os animamos

a que asistáis a las reuniones que dentro de vuestra área de investigación consideréis más adecuadas y que vuestra participación activa contribuya al éxito de las mismas.

Y finalizo destacando que un año más celebraremos una nueva edición, en este caso la vigésima segunda, del Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología, en esta ocasión organizado por David Rodríguez Lázaro, en la Facultad de Ciencias y en el Centro de Biotecnología Alimentaria de la Universidad de Burgos, durante los días 4 a 6 de julio de 2018. Y una vez más debemos también agradecer a la Fundación Ramón

Areces el patrocinio de dicha actividad encaminada a la formación y captación de futuros microbiólogos y su apoyo incondicional hacia la SEM. Por último, me gustaría mencionar que la Junta Directiva en su última reunión decidió dedicar dichos cursos a la memoria de D. Julio Rodríguez Villanueva, y así a partir de esta edición pasará a denominarse como “Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología Prof. J.R. Villanueva”.

Recibe un cordial saludo.

Antonio Ventosa  
*Presidente de la SEM*



**Palacio de Congresos de Tarragona, Tarragona, España**  
**19 – 21 Septiembre 2018**

<https://xivcongresonacionalmicologia2018.wordpress.com/>  
<https://aemicol.com/xiv-congreso-nacional-de-micologia-tarragona-19-21-septiembre-2018/>



## DOCENCIA Y DIFUSIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA



Inés Arana Basabe  
Presidenta del Grupo

El grupo Docencia y Difusión de la Microbiología continúa con sus actividades. A destacar dos, ya tradicionales y con una amplia repercusión: el **curso de iniciación a la microbiología** y la **reunión del grupo especializado Docencia y Difusión de la Microbiología** de la Sociedad Española de Microbiología. El primero de estos acontecimientos tendrá lugar en Burgos, bajo el patrocinio de la Fundación Ramón Areces y de la Facultad de Ciencias y del Centro de Investigación en Biotecnología Alimentaria (CIBA) siendo responsable de la organización el Prof. David Rodríguez Lázaro. El grupo JISEM está, como es habitual, colaborando en la difusión de la microbiología entre los microbiólogos noveles y en la selección de l@s candidat@s. El programa diseñado es de un gran atractivo, incluyendo clases magistrales, debates y visitas de interés. Al cierre de las inscripciones se llevan contabilizadas más de 100 solicitudes que serán evaluadas por JISEM. El segundo de los hitos es la celebración de la IV Reunión del grupo especializado D+D de la Sociedad Española de Microbiología. La reunión tendrá lugar en Madrid (19 y 20 de julio, <http://dyd18.semimicrobiologia.org/17818/detail/microbiologia-y-sociedad-retos-iv-reunion-nacional-de-docencia-y-difusion-de-la-microbiologia.html>) en colaboración con la Universidad Complutense, VISAVET y CIB-CSIC con la organización del Prof. Víctor Jiménez Cid y su eficiente equipo. Como anticipo del evento, el 18 de julio tendrá lugar el **simposio SWI@Spain** de inscripción gratuita (<https://eventos.ucm.es/21770>). En este simposio SWI@Spain se presentarán las actividades, logros y valora-

ciones de los grupos que han desarrollado esta propuesta que involucra a l@s alumn@s de Secundaria o Bachillerato en un proyecto de investigación real y que promueve la exploración de la biodiversidad microbiana en los suelos en busca de nuevos microorganismos productores de antibióticos. Desde el grupo D+D os animamos a participar!!!!

Además, debemos destacar dos publicaciones divulgativas realizadas por miembros de nuestro grupo. Son dos obras de lectura agradable e instructiva, muy explicativas para interesad@s en la microbiología sin necesidad de ser expert@s en el tema: **Microbiota, los microorganismos de tu organismo** del Prof. Ignacio López Goñi (Premio ASEBIO 2017) y **Superbacterias, moriremos por infecciones** del Prof. José Ramos Vivas. Lecturas recomendadas!!!!

Y estamos a la espera de noticias de #EUROmicroMOOC, iniciativa de los Prof. López Goñi y Sánchez Angulo que cuenta con la colaboración de FEMS y seguro que será un éxito al igual que los anteriores.

## BIODETERIORO, BIODEGRADACIÓN Y BIORREMEDIACIÓN



Asunción de los Ríos  
Presidenta del Grupo

Como ya se informó en la última reunión del Grupo, celebrada en Valencia durante el congreso FEMS-SEM 2017, este año corresponde la renovación total de la Junta Directiva del Grupo. Ya hemos empezado con los tramites y está previsto abrir el plazo para la presentación de las candidaturas el 2 de Mayo de 2018, el cual se cerrará a final del

citado mes. Desde la Junta Directiva del Grupo saliente os animamos a presentar candidaturas y a participar activamente en este proceso electoral, para que la nueva Junta cuente con el máximo respaldo de los miembros del Grupo. Las votaciones se realizarán en la segunda quincena del mes de junio, tras cumplirse los plazos establecidos, y como ya viene siendo habitual, se realizarán on-line. Os mantendremos informados a través de correo electrónico de los detalles del proceso y fechas. Como presidenta saliente, aprovecho estas líneas para agradecer a todos los miembros del Grupo su participación en las distintas actividades que se han promovido desde la Junta del Grupo en estos últimos cuatro años y al resto de miembros de la Junta, su labor y dedicación.

## HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS



Humberto Martín  
Presidente del Grupo

Nuestro próximo Congreso, como siempre conjuntamente con la AEM (Asociación Española de Micología), tendrá lugar en Tarragona del 19 al 21 de septiembre de 2018. Toda la información sobre este "XIV Congreso Nacional de Micología" está disponible en la web (<https://xivcongresonacionalmicologia2018.wordpress.com/>). Por otra parte, ya se ha fallado el premio Fleming 2018. Podéis conocer quiénes son los premiados y disfrutar de un resumen del trabajo galardonado en la página 54 de este número de Sem@foro. Nuestra más sincera enhorabuena a los ganadores.

¡Nos vemos en Tarragona!

# Proyecto ProInfant-CYTED: “Alimentos vegetales con funcionalidad probiótica para poblaciones infantiles desnutridas”

Rosa Aznar<sup>1</sup> y Patricia Ruas-Madiedo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Colección Española de Cultivos Tipo. Universitat de València

<sup>2</sup> Instituto de Productos Lácteos de Asturias - Consejo Superior de Investigaciones Científicas



La Colección Española de Cultivos Tipo es uno de los grupos de investigación que participa en el proyecto “Alimentos vegetales con funcionalidad probiótica para poblaciones infantiles desnutridas”, único proyecto financiado por CYTED dentro del Tema estratégico “Alimentos funcionales” de la convocatoria 2016, coordinado desde el Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC).

CYTED es el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, creado por los gobiernos de los países iberoamericanos para promover la cooperación en temas de ciencia, tecnología e innovación para el desarrollo armónico de Iberoamérica (<http://www.cytred.org/es>). El Programa incluye la generación de proyectos de I+D estratégicos donde participan empresas y expertos que desde la plataforma de cooperación de CYTED acceden a fondos internacionales. Entre ellos, los Proyectos en Temas Estratégicos son proyectos de investigación y desarrollo tecnológico entre grupos de los países CYTED que se financian tanto con fondos CYTED como con aportes externos de los países integrantes a través de sus organismos nacionales (ONCYT). Se convocaron por primera vez en 2016 con dos temas identificados como relevantes por el número de expresiones de interés manifestados por los países: 1) Alimentos funcionales (Argentina, Chile, Colombia, España, Guatemala, México, Nicaragua, Perú y República Dominicana); 2) Cambio climático y desarrollo socioeconómico marino-costero (Argentina, Cuba, Chile, España, Guatemala, México, Nicaragua, Perú, Portugal y República Dominicana).

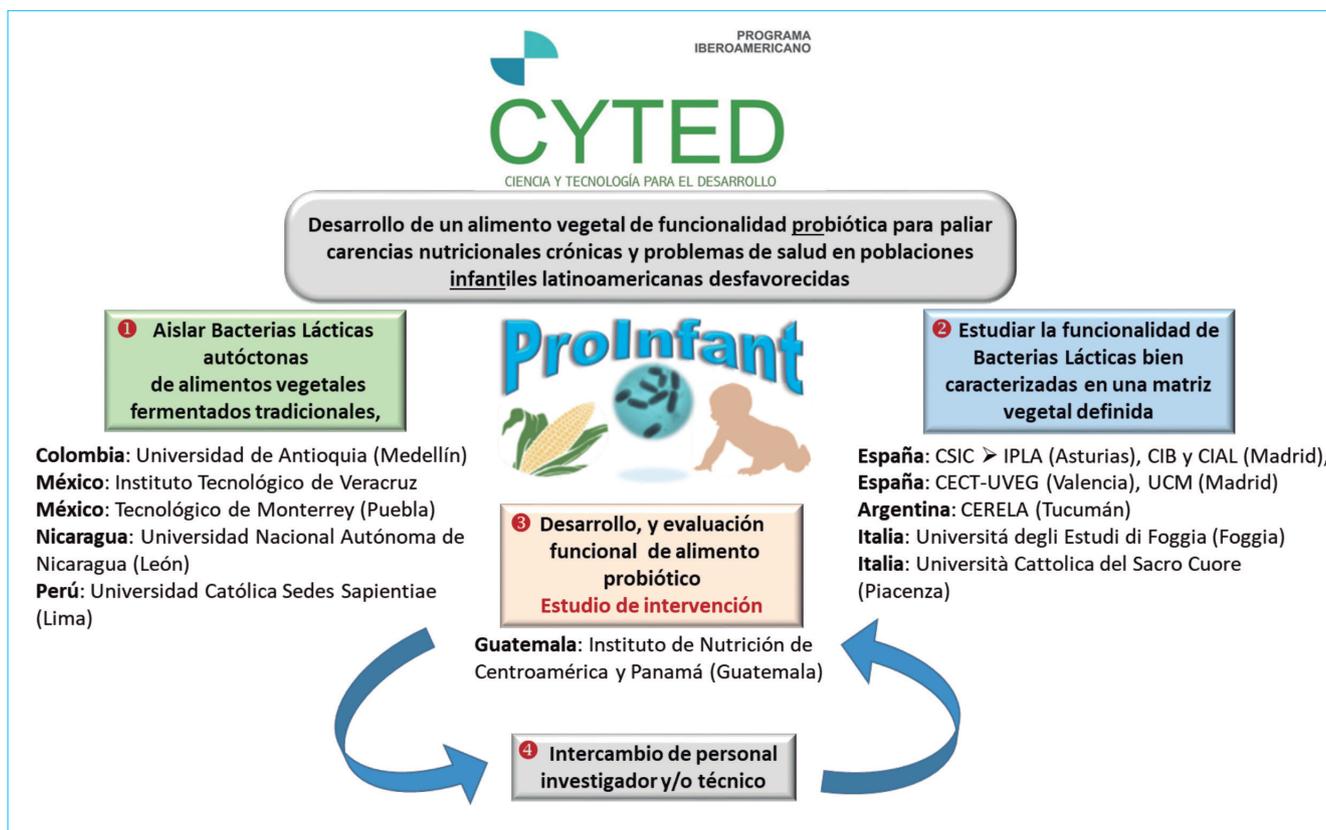
En dicha convocatoria se presentaron 12 solicitudes para el tema 1) Alimentos funcionales, siendo financiado por CYTED el proyecto “Alimentos vegetales con funcionalidad probiótica para poblaciones infantiles desnutridas” con el acrónimo “ProInfant” en el que participan 73 investigadores, organizados en 9 grupos procedentes de 7 países iberoamericanos (Argentina, Colombia, España, Guatemala, México, Nicaragua y Perú). Dos de los 9 grupos participantes son españoles, el grupo Coordinador (CSIC: IPLA, CIAL y CIB) y el grupo A (CECT-UVEG, UCM). El consorcio incluye a dos grupos Asociados italianos, Università degli Studi di Foggia (Foggia) y Università Cattolica del Sacro Cuore (Piacenza) y cuenta con la colaboración de la empresa biotecnológica Biópolis S.L. (<http://www.biopolis.es>), con sede en Valencia (España). El proyecto comenzó en 2017 y se prolongará hasta 2019.

Los grupos españoles, Coordinador (IP P. Ruas-Madiedo, IPLA-CSIC) y Grupo A (IP R. Aznar, CECT-UVEG) cuentan con la financiación de MINECO dentro de la convocatoria de Acciones de Programación Conjunta Internacional (PCIN), contempladas en el Programa Estatal de I+D+I Orientada a los Retos de la Sociedad, en el marco del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2013-2016, mediante los proyectos PCIN-2017-075 y PCIN-2017-003.

Con el proyecto ProInfant pretendemos desarrollar alimentos vegetales de funcionalidad probiótica para paliar carencias nutricionales crónicas y problemas de salud en poblaciones infantiles iberoamericanas

desfavorecidas. En este ámbito de actuación, se propone contribuir al desarrollo de un producto de origen vegetal, con materia prima latinoamericana, fermentado con bacterias lácticas autóctonas que aporten un valor añadido, como la producción *in situ* de micronutrientes (vitaminas), la capacidad para generar compuestos antimicrobianos, y/o con características probióticas, seleccionando aquellas cepas con habilidad para competir frente a patógenos que causan infecciones cuya incidencia se ve incrementada en estados de malnutrición crónica. El proyecto incluye un estudio de intervención con niños de Guatemala, contando con Biópolis para la producción de biomasa del probiótico de grado alimentario.

Como objetivo general se persigue que todos los países que participan en el consorcio ProInfant desarrollen la capacidad para elaborar alimentos funcionales probióticos. Para ello se utilizarán recursos vegetales y alimentos fermentados de origen vegetal típicos de diversas regiones latinoamericanas, y se estudiarán los usos tradicionales que los habitantes han venido empleando para el consumo de estos vegetales. Se pretende que puedan disponer de cepas autóctonas que se aislarán de alimentos vegetales típicos de cada país (objetivo específico 1), aplicando metodologías que se pondrán “a punto” con cepas de lactobacilos de origen vegetal (o de leche materna), las cuales ya han sido previamente caracterizadas (objetivo específico 2), y demostrando su eficacia en modelos de estudio complejos *in vitro* e *in vivo*, incluido un estudio de intervención en la población diana: niños con carencias



nutricionales (objetivo específico 3). Todo esto se conseguirá mediante la formación de personal e intercambio de conocimientos entre los miembros que forman el consorcio (objetivo específico 4). Además, la obtención de las cepas autóctonas se llevará a cabo siguiendo el “Protocolo de Nagoya” que es un acuerdo internacional sobre acceso a los recursos genéticos y participación justa y

equitativa en los beneficios derivados de su utilización, que implementa el Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB).

Por tanto, se trata de un proyecto en el que, además de objetivos científicos, se persigue un “fin social”: que las poblaciones menos favorecidas de estos países con gran riqueza en recursos agrarios puedan disponer de

alimentos, a precios razonables, obtenidos de vegetales autóctonos, utilizados de forma sostenible; que mejoren su estado de salud mediante el aporte de nutrientes esenciales y la prevención de enfermedades infecciosas suministrando el alimento vegetal probiótico a un sector muy vulnerable como son los niños de edad temprana dentro de la “ventana de intervención de 1000 días”.

## Coloquio, by Víctor.



# Las Microbiólogas y la Filatelia (I). Pioneras olvidadas

J.J. Borrego<sup>1</sup> e I. Llamas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Málaga

<sup>2</sup> Universidad de Granada

Son muchas las mujeres que han contribuido de una manera importante a lo largo de la historia en el desarrollo de nuestra Ciencia, aunque desgraciadamente no han recibido, al igual que muchos ilustres microbiólogos varones, el honor de ser la imagen de un sello postal. Desde su creación, la Unión Postal Internacional (UPU) tiene como norma que los Servicios Filatélicos asociados no emitan sellos de personas vivas, exceptuando a las personalidades que representan a un Estado. Esta regla se ha cumplido estrictamente durante más de 175 años, con cuatro excepciones, el sello homenaje a Adolfo Suárez que emitió España, en 2013, unos meses antes de su fallecimiento, los sellos dedicados a Yuri Gagarin por la URSS y a Valentina Terechkova por la República Democrática de Alemania en la década de 1960, y uno dedicado a la Dra. Lise Thiry (Figura 1), microbióloga que había desarrollado un método de detección del HIV en Bélgica.

Debido a esta norma de la UPU, una serie de ilustres microbiólogas todavía hoy en día no han sido imagen de un sello, como es el caso de **Margarita Salas**, **Jennifer Doudna**, **Rita**

**C. Colwell**, **Colleen Cavanaugh**, **Pascale Cossart**, **Susan Gottesman**, **Sheng-Yung P. Chang**, **Lisa Hensley**, **Patricia Spear**, **Hilary Margaret Lappin-Scott**, **Isabel García-Acha**, **Yuan Chang**, **Emmanuelle Charpentier**, **Mary A. Voytek**, **M<sup>a</sup> Eugenia Farias**, **Carolyn Bertozzi**, **Nancy Hopkins**, **Jane Flint**, **Nubia Muñoz Calero**, **Ethel-Michelle de Villiers** o **Lydia Villa-Komaroff**, por citar a algunas de ellas.

Hay otras muchas microbiólogas que desgraciadamente han desaparecido y que no han tenido el honor de estar plasmadas en una imagen filatélica. Por ello, nos gustaría a través de estas líneas hacerles un pequeño homenaje a sus figuras y sus obras.

**Fanny Hesse** (nacida como **Angelina Fanny Elishemius**) (1850-1934, Estados Unidos-Alemania) no fue una microbióloga, pero hay que reconocer su valiosa aportación del polímero agar-agar (Figura 2) como agente solidificante en los medios de cultivos (para más información véase *NoticiaSEM*, nº 117, 2018, *Robert Koch*).

**Giuseppina Cattani** (1859-1914, Italia) participó en los estudios pioneros sobre el **tétanos**, en la Universidad de Bolonia. El aislamiento en cultivo puro de *Clostridium*

*tetani*, la bacteria causante del tétanos, suele atribuirse a Shibasaburo Kitasato, que publicó su descubrimiento en 1889. Sin embargo, y de manera independiente, Guido Tizzoni y Giuseppina Cattani, anunciaron previamente, en una reunión de la Academia de Medicina de Turín (recogido en *La Riforma Medica*, 1889), que habían aislado del ambiente el bacilo (*C. tetani*) en un cultivo sin oxígeno en forma de espora y que, en el interior de las heridas profundas, lejos del oxígeno, liberaba una célula vegetativa que es la que producía las toxinas. Además, al año siguiente, Tizzoni y Cattani publicaron en la misma revista el primer artículo que demostraba la presencia de la toxina y describieron su purificación a partir de cultivos de *C. tetani*. En agosto de 1890, el danés Knud Faber publicó también un artículo describiendo la toxina tetánica, y es por ello que muchos autores atribuyeron el descubrimiento de la toxina solo a Faber. En enero de 1891, en una sesión de la Academia de Ciencias del Instituto de Bolonia, los autores italianos comunicaron que habían obtenido suero inmune contra el tétanos a partir de perros y aves y que lo habían ensayado con éxito *in vitro* e *in vivo*, y ya en ese año, el suero obtenido de perros se aplicó a humanos. Sin embargo, no fueron los primeros ya que un año antes, en diciembre de 1890, Emil Adolf von Behring y el mencionado Kitasato publicaron en Alemania la obtención de suero antitetánico a partir de conejo (Figura 3). El art-



Fig. 1.- Bélgica (2007). Lise Thiry como imagen de fondo tras un esquema de la morfología del HIV. Catálogo Michel nº 3754.



Fig. 2. Representación del polímero agar-agar en los medios de cultivo. Estados Unidos. Colección Zazzle (2017).



Fig. 3.- Etiopia (1988). Inmunoprofilaxis del tétanos. Catálogo Michel nº 1291.

culo 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 y Medicina en 1901. Para más información véase el trabajo de *Mercè Piqueras (2013). Giuseppina Cattani y el tétanos. SEM@foro 55: 5-6.*

**Lilian Jane Gould** (1861-1936, Reino Unido) fue conocida por sus estudios sobre el uso de los microorganismos en licores y escribió junto a su marido, Victor Herbert Veley, *The Micro-organism of Faulty Rum*. Fue una de las primeras mujeres en ser admitida en la Sociedad Linneana de Londres.

**Anna Wessels Williams** (1863-1954, Estados Unidos) fue la primera mujer en ser elegida Presidenta de la *American Public Health Association*. Sus méritos científicos se basan en sus trabajos de diagnóstico de microorganismos y en desarrollar una antitoxina contra la difteria.

**Gladys Rowena Henry Dick** (1881-1963, Estados Unidos) trabajó junto a su marido George F. Dick en el desarrollo de una vacuna contra la escarlatina (*Streptococcus pyogenes* serogrupo A). Fue propuesta como candidata al Premio Nobel en Fisiología y Medicina.

**Alice Catherine Evans** (1881-1975, Estados Unidos) realizó investigaciones sobre la bacteriología de los lácteos. Demostró que *Bacillus abortus* causaba la brucelosis tanto en el ganado como en humanos. El hecho de que fuera mujer, no doctora, junto con que era la primera vez que se demostraba que una misma bacteria podía causar enfermedades distintas en humanos y en animales, podrían haber sido las causas de que su descubrimiento fuera recibido con mucho escepticismo, hasta que se finalmente demostró la validez de sus resultados en 1930. Alice Evans consiguió demostrar que *Micrococcus melitensis*, la bacteria aislada por Bruce, era muy similar a *Bacillus abortus*, el microorganismo descubierto por Bang. La única diferencia entre ambos microorganismos es que el primero tenía forma esférica y el segundo era bacilar, pero en lo demás, ambas bacterias eran totalmente idénticas. Por ello, los microbiólogos taxónomos decidieron reclasificar la primera bacteria e incluir las dos especies *Brucella melitensis* y *B. abortus* en

el mismo género. Los posteriores estudios de otros científicos ratificaron las investigaciones de la microbióloga y sus hallazgos llevaron a la pasteurización de la leche, lo que redujo significativamente la incidencia de la brucelosis en humanos (Figura 4).

En 1918, Alice Evans consiguió un puesto en el Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos. Allí trabajó en la pandemia de la llamada gripe española y posteriormente, en 1928, fue nombrada presidenta de la Sociedad Americana de Bacteriólogos (la actual Sociedad Americana de Microbiología o ASM). Era la primera vez que una mujer ocupaba dicho puesto. A lo largo de su vida científica trabajó también desarrollando un suero para tratar la meningitis epidémica, la parálisis infantil, la enfermedad del sueño y las infecciones causadas por estreptococos. Se retiró del trabajo activo de laboratorio en 1945 y falleció 30 años después. Años más tarde, en 1983, la ASM estableció los premios que llevan su nombre. Para más información véase el magnífico artículo de *Rita C. Colwell (1999). Alice C. Evans: Breaking barriers. Yale Journal of Biology and Medicine, 72: 349-356.*

**Ida Albertina Bengtson** (1881-1952, Estados Unidos) aisló a partir de moscas verdes un clostridio (*Clostridium botulinum*) que producía una toxina, hoy conocida como toxina C. El microorganismo producía la enfermedad del cuello flácido (del inglés *limberneck*) en aves de corral. Bengtson obtuvo las primeras preparaciones de las antitoxinas específicas para los tipos A, B y C. En 1924 Bengtson abordó el estudio del tracoma, productor de una conjuntivitis folicular crónica y, aunque se sabía que era de origen infeccioso, no se conocía su agente causal. Por aquel entonces el japonés Hideyo Noguchi lo atribuyó a una bacteria que denominó *Bacterium granulosis*, pero hoy en día se sabe que el tracoma está causado por *Chlamydia trachomatis*, una bacteria que es un parásito intracelular obligado y su cultivo requiere técnicas parecidas a las que se emplean en Virología. Bengtson durante siete años estudió la enfermedad y entre los posibles agentes causales de ella consideró a las rickettsias. En 1937, el principal objeto de su trabajo fueron las enfermedades causadas por rickettsias, primero la fiebre de las Montañas Rocosas y el tifus exantemático endémico y epidémico; después, la fiebre de Tsutsugamushi o tifus

de los matorrales, descrita en Japón en 1930 (Figura 5), y la fiebre Q, causada por *Coxiella*, otra bacteria intracelular obligada, descrita en Australia en 1935.

En 1938, H. R. Cox descubrió que el saco vitelino del embrión de pollo era un medio adecuado para el crecimiento de las rickettsias y, Bengtson realizó algunas modifica-



Fig. 4.- Congreso Antibrucelosis celebrado en La Valeta. Malta (1964). Catálogo Yvert et Tellier nº 290.



Fig. 5.- Campaña contra el tifus de los matorrales (fiebre de Tsutsugamushi) causada por la rickettsia *Orientia tsutsugamushi*. Malasia (1976), catálogo Yvert et Tellier nº 149.

ciones a la prueba de fijación del complemento para la detección y diferenciación de las infecciones por rickettsias. Su técnica rápidamente alcanzó una gran difusión y su trabajo fue clave para el desarrollo de una vacuna contra el tifus exantemático. Para más información véase el artículo de *Mercè Piqueras (2014)*. *Ida Albertina Bengtson*. *SEM@foro 57: 5-7*.

**Elizabeth Lee Hazen** (1885-1975, Estados Unidos) fue conocida por su notable contribución en la obtención de la nistatina, junto a Rachel Fuller Brown. Los ingresos que ambas investigadoras obtuvieron con la patente de este fungicida (alrededor de 13 millones de dólares) se invirtieron en una corporación de investigación sin ánimo de lucro. En la década de 1920, Hazen trabajó con la ricina y su efecto sobre la toxina botulínica. Para más información véase: *Elizabeth Lee Hazen and Rachel Brown: Chemical Heritage Foundation*.

**Marjory Stephenson** (1885-1948, Reino Unido) fue una de las primeras mujeres elegidas como miembro de la *Royal Society*. Aisló la primera enzima bacteriana, la lactato deshidrogenasa, y estudió el metabolismo anaerobio bacteriano. Stephenson fue una de las fundadoras de la *Society for General Microbiology*, de la que fue Presidenta y tras su muerte, en 1953, la Sociedad estableció un premio bienal en reconocimiento a su labor que lleva su nombre.

**Sara Elizabeth Branham Matthews** (1888-1962, Estados Unidos) trabajó en el aislamiento de *Neisseria meningitidis* así como en el diseño de medidas para su tratamiento.

**Emmy Klieneberger-Nobel** (1892-1985, Alemania-Reino Unido) al ser judía, fue expulsada de Alemania por los nazis y se trasladó a Inglaterra. Fue pionera en el estudio de los micoplasmas. En 1935, descubrió y cultivó unas variedades no usuales de cepas que carecían de pared celular, y las denominó “bacterias con forma L” en honor al Instituto Lister (Reino Unido) en el que trabajaba en ese momento. Entre otros reconocimientos a

su memoria, la *International Organization for Mycoplasmaology* concede cada año el Premio Emmy Klieneberger-Nobel a un destacado investigador/a en micoplasmas.

**Rebecca Craighill Lancefield** (1895-1981, Estados Unidos) trabajó con los estreptococos del grupo A y su relación con las fiebres reumáticas. Su fama se debe a la clasificación serológica de los estreptococos  $\beta$ -hemolíticos (Figura 6). La clasificación de “los estreptococos de Lancefield” se basa en la distinta naturaleza antigénica de los polisacáridos de su pared. Los antígenos de Lancefield son designados con letras desde la A hasta la W, con la excepción de la I y la J. Estos antígenos de grupo se pueden determinar mediante sencillos métodos como la precipitación, aglutinación o anticuerpos marcados. Las investigaciones de Lancefield permitieron desarrollar nuevos métodos de prevención y tratamiento de las enfermedades causadas por estreptococos. Demostró que uno de esos grupos, el grupo A de los estreptococos (*Streptococcus pyogenes*, beta hemolítico) era específico de humanos y estaba relacionado con varias enfermedades como la faringitis, escarlatina, fiebre reumática, nefritis y el impétigo. También demostró que los estreptococos del grupo B estaban asociados con enfermedades neonatales. Lancefield demostró, además, que había cierta variedad en los estreptococos del grupo A, una variabilidad antigénica debida a una proteína de la superficie celular que denominó proteína M. Descubrió que esta proteína M protegía a las bacterias del ataque de los macrófagos. La *American Society for Microbiology* considera los trabajos de Rebecca Lancefield entre los principales acontecimientos de la historia de la Microbiología. Lancefield fue la segunda mujer que presidió la *American Society for Microbiology* en 1943 y la primera que presidió la *American Association for Immunologists*. Para más ampliación véanse *Elizabeth M. O'Hern (1975)*. *Rebecca Craighill Lancefield, pioneer microbiologist*. *ASM News 41: 805-810*; y *Mercè Piqueras (2014)*. *Rebecca C. Lancefield (1895-1981) ordenadora de los estreptococos*. *SEM@foro 58: 6-11*.

**Rachel Fuller Brown** (1898-1980, Estados Unidos) trabajó en el Departamento de

Salud en la identificación de las bacterias causantes de neumonías y ayudó a desarrollar una vacuna contra la neumonía que todavía hoy en día se utiliza. Más tarde, en el año 1948 empezó un proyecto con Elizabeth Lee Hazen, una autoridad en los hongos, que condujo al descubrimiento de la nistatina (*nystatin*: nombre en honor al centro de investigación: *New York State Division of Laboratories and Research*), considerado el primer antifúngico (antibiótico contra hongos). Posteriormente, las dos investigadoras descubrieron otros dos nuevos antibióticos antifúngicos, falamicina y capacidina (phalamycin y capacidin). Véase más información en *Eulalia Pérez Sedeño: Rachel Fuller, SEBBM, 2012*.

**Dame Annie Jean Macnamara** (1899-1968, Australia) (Figura 7) junto con Burnet demostraron la existencia de varios serotipos de poliovirus implicados en los casos de poliomielitis, lo que contribuyó posteriormente al desarrollo de la vacuna de Salk. Desde 1930 estudió el virus de la mixomatosis y cómo combatir la epizootia que afectaba a conejos. Descubrió el carácter epizootico del virus y su transmisión por vectores dípteros.

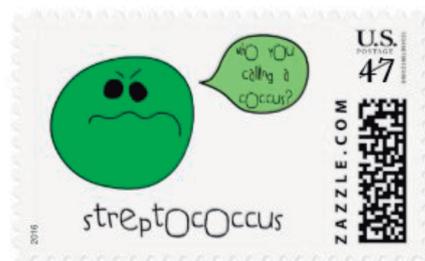


Fig. 6. Representación de un Streptococcus. Estados Unidos. Colección Zazzle (2016).



Fig. 7. - Australia (1995). J. Macnamara. Catálogo Yvert et Tellier nº 1463.

# Diseminación de enterobacterias portadoras de *mcr-1* en agua residual en España

Jose F. Delgado-Blas y Bruno González-Zorn

Unidad de Resistencia Antibióticos. Dpto de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, y Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Universidad Complutense de Madrid

Se presenta aquí un resumen del artículo "Spread of *mcr-1*-carrying *Enterobacteriaceae* in sewage water from Spain". que ha sido galardonado con el premio PRAN 2017 en la categoría de mejor publicación científica sobre la resistencia a los antibióticos

El objetivo principal de este estudio fue determinar la presencia y diseminación del gen *mcr-1* en bacterias de la familia Enterobacteriaceae obtenidas de muestras de aguas residuales de plantas de tratamiento y de ríos localizados en el área de Barcelona.

El gen *mcr-1* fue descrito a finales del año 2015 en China por Liu *et al.*, siendo el primer mecanismo transferible de resistencia a colistina. La colistina es un antibiótico perteneciente al grupo de las polimixinas descubierto en 1949 que ha sido ampliamente empleado en medicina veterinaria desde entonces, mientras que su uso se restringió en medicina humana debido principalmente a su elevada nefrotoxicidad en administración sistémica. Sin embargo, con la diseminación y aumento de las infecciones causadas por bacterias extremadamente resistentes, la colistina se ha convertido en muchos casos en la única alternativa terapéutica en el hombre, por lo que ha alcanzado la categoría de antibiótico de importancia crítica en los últimos años.

Tras la primera identificación de *mcr-1*, este gen de resistencia ha sido ampliamente descrito en bacterias de la familia Enterobacteriaceae procedentes de muestras humanas y animales, tanto de animales de producción y compañía como de productos de origen animal, debido al gran riesgo que supone su elevada diseminación y su asociación con clones bacterianos de alto riesgo y otros mecanismos de resistencia frente a antibióticos de importancia clínica.

Las muestras empleadas en el estudio fueron obtenidas de julio a noviembre del año 2013 de dos ríos (Cardener y Llobregat), tanto de aguas como de sedimentos de los mismos, y de dos plantas de tratamiento de aguas residuales localizadas en el Baix Llobregat (El Prat y Gavá), en distintos puntos y fechas de recolección (Figura 1). De estas muestras se obtuvieron finalmente 105 Enterobacterias procedentes de los ríos y 90 procedentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

## IMPLICACIÓN Y SINERGIAS DE LOS DIFERENTES SECTORES QUE HUBIERAN PARTICIPADO

La consecución del proyecto realizado ha sido posible gracias a la colaboración con el grupo de investigación de la Dra. María Teresa

Muniesa del Departamento de Microbiología de la Universitat de Barcelona, el cual ha sido responsable de la recogida de muestras de los ríos y plantas de tratamiento de aguas residuales. También, gracias a la colaboración de los responsables de las plantas de tratamiento de aguas residuales de El Prat y Gavá, localizadas en la región del Baix Llobregat.

La continuidad del proyecto ha sido posible gracias a la sinergia de distintos grupos multidisciplinares entre los que se encuentran el grupo del Dr. Fernando de la Cruz del Departamento de Biología Molecular de la Universidad de Cantabria y la Unidad de Bioinformática del Instituto de Salud Carlos III dirigido por la Dra. Isabel Cuesta de la Plaza.

Por lo tanto, el presente proyecto se encuentra conformado por expertos en distintas áreas en centros de reconocido prestigio.

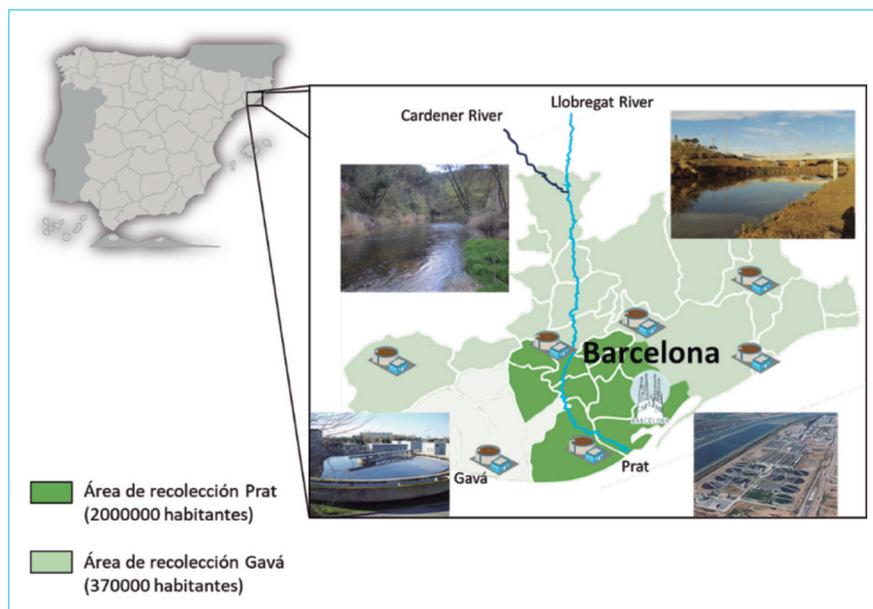


Figura 1. Mapa del área metropolitana de Barcelona donde se muestra la localización de las siete plantas de tratamiento de aguas residuales y los dos ríos. Cada planta de tratamiento recolecta agua de un área específica.



La presencia de este gen en aguas residuales constituye un gran riesgo de diseminación del mismo a aguas naturales, ya que los procesos de tratamiento de aguas no eliminan por completo la carga bacteriana de los efluentes. Esto podría suponer la colonización de otros nichos por bacterias portadoras de este gen, la diseminación del mismo a otras bacterias con capacidad patógena y la posibilidad de asociación de *mcr-1* a nuevas plataformas genéticas que aumenten su transferencia.

Por todo ello, los resultados de este estudio suponen un gran avance en el conocimiento de la dinámica de diseminación de este importante mecanismo de resistencia a colistina en el ambiente. La monitorización y el estudio de la diseminación de *mcr-1* es esencial para determinar los puntos críticos y los elementos implicados y desarrollar medidas que frenen el avance de este peligroso gen para la Salud Pública.

Desde la publicación del artículo científico que presentamos, hemos continuado avanzando en el estudio de las bacterias portadoras de *mcr-1* obtenidas de las plantas de tratamiento de las aguas residuales. Los aislados han sido secuenciados por Illumina y Minlon. Los resultados han sido presentados en 2017 y 2018 en el European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Actualmente, seguimos trabajando en el estudio de las secuencias de estos aislados para conocer en profundidad todos los elementos implicados en el éxito de la asociación genes-plásmidos-clones bacterianos que ha favorecido la diseminación de los mismos.

Además, estamos comenzando, en colaboración con los grupos de investigación mencionados anteriormente, un proyecto en el que pretendemos realizar un muestreo aún

mayor e incluyendo muestras de las aguas tras el proceso realizado en las plantas de tratamiento. De esta forma, queremos determinar la proporción de bacterias portadoras del gen *mcr-1* que proceden de aguas residuales y alcanzan corrientes naturales, las cuales suponen un gran riesgo. También, pretendemos realizar un muestreo poblacional representativo de las áreas de las que recolectan aguas estas plantas de tratamiento, con el fin de determinar el posible origen de estos clones bacterianos exitosos resistentes a colistina.

Asimismo, con las muestras de aguas residuales obtenidas de las plantas de tratamiento, queremos probar diferentes técnicas y procesos de tratamiento de aguas para evaluar cuáles de estas son más eficientes en la eliminación de bacterias portadoras de genes de resistencia como *mcr-1* y disminuir al máximo su eliminación al medio y a las corrientes naturales.

#### EL PLANTEAMIENTO INNOVADOR Y ORIGINAL

El ambiente y, más concretamente, las aguas tienen un importante papel en la diseminación de la resistencia a antibióticos, ya que actúan como reservorio de múltiples genes de resistencia en los que tienen lugar fenómenos de adquisición, transmisión y evolución. En el caso de las aguas residuales, al estar conformadas por los efluentes de numerosos individuos de diferentes orígenes e influenciadas por diversos factores, constituyen un punto crítico en el que diferentes elementos de elevado riesgo (genes de resistencia frente a antibióticos de importancia crítica, plásmidos con una alta frecuencia de transferencia y clones bacterianos hiperepidémicos) confluyen y pueden

asociarse, generando un gran problema en Salud Pública. **Este es el primer estudio que sugiere que la población humana sana puede representar un reservorio de *mcr-1*.** En el último Congreso Europeo de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (Madrid, 21-24 de Abril de 2018), varios grupos han corroborado este mismo hecho en otros países.

La gran mayoría de estudios realizados en el campo de la resistencia a antibióticos se centran en la caracterización de aislados de origen humano y animal. Sin embargo, hoy en día sabemos que el ambiente constituye un componente de gran importancia en el ciclo de diseminación de genes de resistencia a antibióticos. Además, el estudio del componente ambiental no sólo está formado por nichos naturales, sino también por aquellos nichos influenciados por la actividad antropogénica en los que la actividad humana genera una serie de factores que influyen en los fenómenos de diseminación de la resistencia a antibióticos.

Por todo ello, el artículo científico presentado y el proyecto del que deriva están basados en un planteamiento innovador y enmarcado en el concepto "ONE HEALTH", ya que incluye el estudio de aislados de origen ambiental, tanto de muestras naturales como de muestras de plantas de tratamiento de aguas. Esto dota de gran relevancia al artículo publicado, ya que profundiza en el conocimiento de la diseminación del gen *mcr-1* en un ámbito poco estudiado y de gran importancia en Salud Pública.

Referencia al artículo original: "Spread of *mcr-1*-carrying *Enterobacteriaceae* in sewage water from Spain" *J Antimicrob Chemother.* 2017, 72:1050-1053 doi: 10.1093/jac/dkw533.

# *Xylella fastidiosa*

## La amenaza de una bacteria fitopatógena emergente

Ester Marco-Noales y Silvia Barbé

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología  
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113 Moncada, Valencia

### INTRODUCCIÓN

Casi a diario podemos encontrar noticias sobre *Xylella fastidiosa* en los medios de comunicación. Pero ¿qué es y qué sabemos realmente de este organismo? *X. fastidiosa* es una bacteria fitopatógena Gram negativa que coloniza dos hábitats: el xilema de la planta hospedadora y el tracto digestivo anterior de insectos que se alimentan de savia bruta. Tiene un rango de más de 350 especies de plantas huéspedes, tanto mono como dicotiledóneas, pertenecientes a más de 200 géneros y más de 70 familias botánicas, y es transmitida por distintas especies de insectos que actúan como vectores. Su actualidad en Europa radica en el brote epidémico detectado en 2013 en la región de Apulia, en el sur de Italia, donde hasta la fecha la bacteria ha devastado miles de olivos. Una visita a la zona, con extensas áreas de olivos muertos y completamente secos, da idea de los efectos de la presencia de la bacteria y justifica la alarma generada en el continente (Figura 1).

*X. fastidiosa* es el agente causal de graves enfermedades en cultivos de gran importancia económica como olivo, vid, cítricos, frutales, almendro, y es también capaz de afectar a especies forestales y plantas ornamentales. Su amplia gama de huéspedes, que ha ido en aumento en los últimos años, y lo que aún desconocemos de ella, la convierten en una amenaza imprevisible que está emergiendo en Europa de manera poco predecible.

Las primeras referencias de las enfermedades causadas por esta bacteria se remontan a finales del siglo XIX en Estados Unidos, cuando una patología hasta entonces desconocida arrasó miles de viñedos en California, y en la misma época se describió la enfermedad del falso melocotonero en Georgia, con la misma etiología. En la década de 1930 a la enfermedad en vid se le dio el nombre de enfermedad de Pierce en reconocimiento al trabajo de Newton B. Pierce, el investigador que varios años antes había descrito con detalle los sín-

tomas observados. Una década más tarde se identificaron varias especies de insectos vectores transmisores de la enfermedad, pero no fue hasta 1978 cuando se consiguió aislar en un medio de cultivo la bacteria agente causal. En 1987, esta bacteria se describió y clasificó, dándosele el nombre de *Xylella fastidiosa*, que hace referencia a su hábitat en el xilema (del griego *xylon*, madera) y a sus exigencias nutricionales que dificultan su crecimiento *in vitro* (fastidiosa) (Figura 2). En esa misma década, en Argentina y Brasil se describió una enfermedad en naranjo denominada clorosis variegada de los cítricos, con síntomas de amarilleamiento en hojas, y se pudo demostrar que su agente causal era también *X. fastidiosa*. A partir de entonces la bacteria empezó a detectarse en muchas otras especies de plantas cultivadas y silvestres, produciendo o no enfermedad. Y ésta es una de sus peculiaridades, que puede estar presente en plantas asintomáticas de forma latente durante muchos años. De hecho, la colonización de una planta por *X. fastidiosa*



Figura 1. Síntomas avanzados de la enfermedad del desecamiento rápido del olivo producida por *Xylella fastidiosa*, observados en la región de Apulia, sur de Italia. Noviembre de 2016. (Foto: E. Marco-Noales, IVIA)

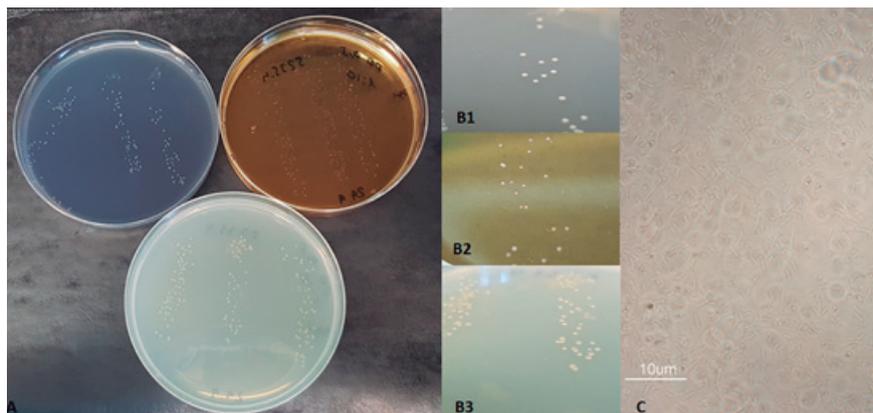


Figura 2. A) Crecimiento *in vitro* de la cepa IVA5235 de *Xylella fastidiosa* subespecie *fastidiosa* ST1, aislada de cerezo (Mallorca, 2016 -primera detección de *X. fastidiosa* en España-), en los medios de cultivo recomendados para su aislamiento tras 17 días de incubación a 28 °C: B1) medio BCYE; B2) medio PWG y B3) medio PD2. C) Imagen de microscopía óptica de una preparación en fresco de la cepa IVA6035 de *Xylella fastidiosa* subespecie *fastidiosa* ST1, aislada de *Calicotome spinosa* (Mallorca, 2017). (Fotos: S. Barbé, IVIA)

no implica necesariamente el desarrollo de enfermedad, ya que ésta es resultado de complejas interacciones entre la bacteria, la planta, el vector y el ambiente.

Hasta 2013, la distribución de *X. fastidiosa* se limitaba casi exclusivamente al continente americano, desde Canadá a Argentina. Sin embargo, después del brote de Italia han ido apareciendo más casos en Europa. En 2015 *X. fastidiosa* se detectó en Francia, en un primer momento en Córcega, en plantas ornamentales de *Polygala myrtifolia*, y posteriormente en otros huéspedes y también en la zona continental (Costa Azul). En este mismo año se detectó en Suiza, como una intercepción, en plantas de café importadas de Sudamérica. Un año más tarde se detectó en Alemania en una planta de adelfa de un pequeño invernadero. En 2016 se detectó en Mallorca, en tres cerezos de un centro de jardinería, y progresivamente se ha ido detectando en numerosos huéspedes y en todas las islas Baleares, a excepción de Formentera. Meses más tarde, en junio de 2017, se detectó por primera vez en la Península Ibérica, en plantaciones de almendro de la provincia de Alicante. En abril de 2018, la bacteria ha sido detectada en un olivo de la Comunidad de Madrid y en ese mismo mes en tres plantas de *P. myrtifolia* de un vivero de Almería. Ante este panorama, inevitablemente surgen varias preguntas: ¿Está *X. fastidiosa* presente

en muchos otros lugares además de allí donde hasta el momento se ha detectado? ¿Está presente de forma latente en muchas plantas? ¿Desde cuándo está en Europa? Sin duda ninguna, *X. fastidiosa* plantea un apasionante desafío para el investigador científico.

### BIOLOGÍA DE *X. fastidiosa*

*X. fastidiosa* es una bacteria no flagelada que tiene movilidad vertical en el xilema gracias a *pili* de tipo IV (*twitching motility*), y que forma biopelículas tanto en los vasos xilemáticos de la planta hospedadora como en el tracto digestivo anterior del insecto vector, en las que tienen un papel muy importante los *pili* de tipo I. Los mecanismos específicos por los que es capaz de causar enfermedad no se conocen bien aún, aunque parece que el desarrollo de los síntomas se debe, al menos inicialmente, a respuestas fisiológicas de la planta, desencadenadas por el déficit hídrico originado por el taponamiento de los vasos del xilema con biopelículas de la bacteria. Mientras que unas cepas de *X. fastidiosa* son capaces de multiplicarse en la planta y colonizarla de modo generalizado, produciendo una infección sistémica, otras viven como organismos endófitos sin producir síntomas. Las que se extienden ampliamente desde el sitio de infección se unen a las paredes de los vasos xilemáticos y forman colonias que

pueden llegar a bloquear el transporte de agua y sales minerales. Las membranas de los haces del xilema pueden ser degradadas por la bacteria mediante la producción de enzimas del tipo poligalacturonasa, y la planta, como defensa, fabrica tilosas y sustancias polisacáridicas que también pueden llegar a bloquear el xilema.

Los síntomas que se producen varían en función de la planta huésped, y de la interacción con factores ambientales, pero en general lo que se observa es que las plantas afectadas se secan, el follaje adquiere la apariencia de estar quemado (Figura 3), y eventualmente la planta puede morir por el bloqueo del transporte de la savia bruta en los vasos. Los primeros síntomas observables consisten en una necrosis marginal de las hojas, generalmente acompañada de un halo clorótico, que avanza por el limbo, y las hojas pueden llegar a secarse completamente y caer. En ciruelo y en almendro a esa necrosis marginal se le denomina escaldado (Figura 4). Las plantas pueden reducir su crecimiento y tener una producción más baja y corta en el tiempo y los frutos pueden secarse. El desarrollo de los síntomas frecuentemente es lento (varios meses desde la infección) y puede darse en una parte o en el árbol entero; se manifiestan más claramente durante verano y otoño, cuando la demanda hídrica de la planta es mayor y está dificultada por la oclusión de los haces



Figura 3. Aspecto de un almendro de la zona infectada por *Xylella fastidiosa* de El Castell de Guadalest (Alicante, 2017 -primera detección de *X. fastidiosa* en la Península Ibérica-). Se observa que las hojas adquieren una tonalidad ligeramente dorada al secarse. En California, este síntoma es conocido como *Golden death* o muerte dorada. (Foto: E. Marco-Noales, IVIA)



Figura 4. Detalle de la sintomatología producida por *Xylella fastidiosa* en hoja de almendro, en donde se aprecia la banda clorótica que separa la zona escaldada del tejido verde. (Foto: I. Navarro, IVIA)

vasculares. En algunos casos, las plantas no llegan a morir pero pueden ser más susceptibles a otras enfermedades y a plagas. La clorosis variegada de los cítricos se caracteriza por manchas amarillas en el haz de las hojas, similares a deficiencias nutricionales, y pequeñas manchas de color marrón claro en el envés; los frutos son muy pequeños, duros, maduran prematuramente y no resultan aptos ni siquiera para su procesamiento industrial. No es fácil emplear los síntomas como herramienta de diagnóstico porque son similares a los inducidos por estrés hídrico y por otras causas bióticas y abióticas.

Otro factor importante para que la enfermedad se desarrolle son las condiciones climáticas, en concreto la temperatura. El rango de temperaturas que permite la multiplicación de *X. fastidiosa* en vid (la planta más estudiada) es de 17 a 25 °C; las poblaciones decrecen por debajo de 5 °C. Sin embargo, la capacidad de supervivencia de *X. fastidiosa* puede variar según la subespecie considerada, la especie vegetal infectada y su cultivar.

### LAS SUBESPECIES DE *X. fastidiosa* Y LOS GRUPOS GENÉTICOS

Dentro de la especie *X. fastidiosa* hay varios grupos genéticamente distintos, que se denominan subespecies. Además, dentro de cada subespecie hay pequeñas variaciones que dan lugar a grupos genéticos (ST, *sequence type*), de los que se conocen más de 80. Esta clasificación está basada en el análisis multilocus (MLST, *multilocus sequence typing*) de la secuencia nucleotídica de siete genes de mantenimiento (*leuA*, *petC*, *malF*, *cysG*, *holC*, *nuoL*, *gltT*). La variabilidad de *X. fastidiosa* se debe a que es propensa a intercambiar material genético dentro de sus poblaciones mediante recombinación. La recombinación podría explicar que el flujo genético que se produce a consecuencia de este fenómeno sea uno de los motores de la emergencia de nuevas enfermedades producidas por esta bacteria.

Las principales subespecies son: *fastidiosa*, que afecta sobre todo a vid, almendro y alfalfa; *multiplex*, a numerosos huéspedes de *Prunus* spp., *Quercus* spp., *Ulmus* spp., olivo, *Rubus* spp. y *Morus* spp.; *pauca*, a naranjo, café y olivo; y *sandyi*, a adelfa. Entre las subespecies

parece haber cierto grado de diferenciación en función del huésped; sin embargo, los mecanismos moleculares de la especificidad no se conocen todavía. Actualmente, se desconoce si muchas especies de plantas europeas, principalmente silvestres, serían huéspedes de *X. fastidiosa*, dado que nunca antes han estado expuestas a la bacteria. El aislamiento geográfico propició, aparentemente, una divergencia genética del 1-3% entre las cuatro subespecies en los últimos 20.000-50.000 años. Pero este aislamiento se rompió por la actividad humana, que favoreció la recombinación homóloga de subespecies que antes estaban físicamente separadas. La variabilidad observada en las cepas estudiadas llevó a proponer una quinta subespecie para agrupar aislados de la bacteria que causan enfermedad en la planta ornamental *Chitalpa tashkentensis*, en Nuevo México (Estados Unidos), pero su posición filogenética no está clara. Del mismo modo, se propuso la subespecie *morus* para aislados identificados en moreras en Estados Unidos. Otros aislados de perales enfermos en Taiwán, que en un principio se habían clasificado como otra subespecie distinta, según los últimos estudios filogenéticos conforman ahora una nueva especie del género, *X. taiwanensis*.

### LOS INSECTOS QUE SE ALIMENTAN DE XILEMA SON TRANSMISORES POTENCIALES DE *X. fastidiosa*

*Xylella fastidiosa*, que está restringida al xilema de la planta hospedadora, es transmitida por insectos del orden Hemiptera, suborden Auchenorrhyncha, que se alimentan exclusivamente del xilema. En estos insectos no existe transmisión transovarial o entre estadíos, ya que la ninfa, al mudar, pierde la cutícula y, por tanto, las bacterias adheridas a ella; pero la bacteria persiste en insectos adultos, siendo estos infectivos el resto de su vida.

El insecto adquiere la bacteria al chupar la savia bruta de una planta infectada, y la bacteria se adhiere a la cutícula de la parte anterior del tracto digestivo del insecto, el estomodeo, donde puede multiplicarse y formar biopelículas. Sin embargo, la multiplicación y la formación de biopelículas no son requisitos necesarios para la transmisión, como lo demuestra el hecho de que no existe período

de latencia en el vector, por lo que *X. fastidiosa* puede ser transmitida inmediatamente a una planta sana. Parece que el número de eventos de inoculación es más importante que el número de células bacterianas inoculadas en ellos, ya que unas pocas bacterias son suficientes para originar infección. El flujo de *X. fastidiosa* dentro de la planta es un proceso relativamente lento y es posible que múltiples infecciones en diferentes puntos de la planta resulten en una colonización más rápida, propiciando una expresión de síntomas más temprana.

Mientras que en América se conocen muchos de los vectores transmisores, en Europa solo se ha identificado como tal la especie *Philaeus spumarius*, en el brote de Italia, vector que no había sido identificado anteriormente como una plaga del olivo. Es un insecto polífago con una amplia distribución mundial que, como todos los Cercopoidea, secreta una espuma protectora en el estado de ninfa (Figura 5). Este insecto se ha convertido en Italia en un vector muy efectivo para diseminar la enfermedad.

### LA PREVENCIÓN Y LA VIGILANCIA SON LAS MEJORES ESTRATEGIAS DE CONTROL

La prevención es, sin duda, la primera y más efectiva medida de control. Además, en la actualidad no existe ningún método eficaz para combatir a *X. fastidiosa*. Si la bacteriosis se introduce en una zona, tarde o temprano la bacteria es diseminada por vectores locales, aunque la eficacia de esa transmisión y la consiguiente dispersión de la enfermedad dependen de diversos factores.



Figura 5. Detalle de la espuma protectora que producen las ninfas de *Philaeus spumarius*. (Foto: Francisco J. Beitía, IVIA)

En Italia han ensayado varios tratamientos en olivo, y algunos parece que reducen la severidad de los síntomas, pero no llegan a curar completamente. Además, el modo de administración de los posibles productos presenta una dificultad añadida, ya que en principio requerirían inyecciones en el xilema de cada planta de manera individual, lo que hace el método casi inviable. Además, el uso de determinados productos que pueden ser efectivos, como formulaciones de cobre, manganeso, zinc, podría tener efectos negativos por su acumulación en suelo, su toxicidad, y por el posible desarrollo de resistencias en las bacterias diana. El campo de los tratamientos bactericidas frente a *X. fastidiosa* es un ámbito en continua experimentación. Hay métodos más amigables con el medio ambiente, como el uso de péptidos antimicrobianos o de virus bacteriófagos, que son prometedores pero que requieren todavía desarrollo y experimentación. Otro frente abierto en este sentido es la investigación en la búsqueda de cultivares tolerantes o más resistentes a la enfermedad.

### SITUACIÓN ACTUAL DE *X. fastidiosa* EN ESPAÑA

Como se ha comentado anteriormente, en octubre de 2016 se detectó *X. fastidiosa* en tres cerezos de un centro de jardinería en Manacor (Mallorca). Poco después se empezó a detectar en diversas especies vegetales cultivadas, sil-

vestres y ornamentales, incluyendo acebuche, almendro, ciruelo, olivo, vid y *P. myrtifolia* entre las 18 identificadas hasta el momento en las islas. Además, se han descrito tres subespecies, *fastidiosa* y *multiplex* en Mallorca, *multiplex* en Menorca y *pauc* en Ibiza. Las muestras analizadas de la isla de Formentera han sido siempre, hasta ahora, negativas.

Casi un año después de la primera detección de *X. fastidiosa* en España, en junio de 2017 se produce la primera detección en la Península Ibérica, en la localidad alicantina de El Castell de Guadalest (Alicante, Comunidad Valenciana), en una parcela de almendros de alrededor de 30 años de edad (Figura 6). En mayo de este año 2018 el número de parcelas de almendro con muestras positivas ascendía a 178, todas en municipios de esa zona de la provincia de Alicante. En las parcelas infectadas y en los alrededores se han capturado ejemplares de los insectos *P. spumarius* y *Neophilaenus campestris*, y en un pequeño porcentaje de ellos, con más frecuencia en los primeros, se ha detectado *X. fastidiosa*; está pendiente demostrar su capacidad de transmisión de la bacteria en las condiciones locales.

El pasado mes de abril se comunicó la detección de *X. fastidiosa* en un olivo de la Comunidad de Madrid, en una parcela de Villarejo de Salvanés (Figura 7). Y unos días después se informó de la detección en unas plantas ornamentales de *P. myrtifolia* de un vivero de El Ejido, Almería.

Aunque la detección de *X. fastidiosa* ha seguido una secuencia espacio-temporal en Europa desde el brote de Italia en 2013, los datos de los que disponemos indican que los brotes identificados con posterioridad al de Italia no son consecuencia de una dispersión de la bacteria desde el mismo, puesto que hay diversidad de subespecies y grupos genéticos según el foco considerado. Además, no hay que perder de vista que los controles, las inspecciones y los análisis se han intensificado desde 2014, y eso también ha contribuido a que se detecte con mayor frecuencia esta bacteria que, probablemente, lleva mucho tiempo en Europa. De hecho, el material vegetal importado debe haber sido el medio de transporte por el que *X. fastidiosa* ha llegado al continente europeo. Las importaciones anteriores a 2014, sobre todo de plantas ornamentales, ascienden a miles de toneladas anuales y, en algunos casos, su procedencia era de países en donde se sabe que la bacteria está presente. Un ejemplo del riesgo de introducción de material vegetal contaminado podemos encontrarlo en la similitud de secuencia nucleotídica de la cepa de *X. fastidiosa* aislada en el brote de Italia con cepas de Costa Rica, apoyando la hipótesis de la introducción de esta bacteria en el continente europeo con plantas infectadas procedentes de Centroamérica. Es, por tanto, muy probable que haya habido múltiples introducciones de la bacteria en Europa y que, dependiendo de diversas circunstancias, en algunos lugares y en determinados huéspedes



Figura 6. Parcela de almendros afectados por *X. fastidiosa* en El Castell de Guadalest (Alicante, 2017 - primera detección de *X. fastidiosa* en la Península Ibérica-), donde se aprecian labores de erradicación. (Foto: E. Marco-Noales, IVIA)



Figura 7. Detalle de hojas sintomáticas de un olivo infectado por *Xylella fastidiosa* detectado en una parcela de Villarejo de Salvanés (Comunidad de Madrid, 2018). Se observan las típicas necrosis marginales en forma de "punta de flecha". (Foto: A. Monterde, IVIA)

des estén manifestándose síntomas de las enfermedades que causa.

## INVESTIGACIÓN SOBRE *X. fastidiosa* EN EUROPA

Actualmente hay dos proyectos de investigación del Horizonte 2020 de la Unión Europea: POnTE (*Pest Organisms Threatening Europe*) y XF-ACTORS (*Xylella Fastidiosa Active Containment Through a multidisciplinary-Oriented Research Strategy*), en los que participan muchos países europeos, y varios equipos españoles. Ambos proyectos están liderados por el CNR de Bari (Italia), y en ellos se trata de abordar el patosistema de *X. fastidiosa* de un modo multidisciplinar y global. Su objetivo general es el avance en el conocimiento de la bacteria, el vector y la planta hospedadora, y en posibles estrategias de gestión de las enfermedades en los distintos huéspedes, pero con un énfasis especial en el olivo, dado que cuando estos proyectos se gestaron el único brote en Europa era el del sur de Italia y la emergencia era en este hospedador. La investigación de este patosistema se está abordando mediante NGS, transcriptómica y estudio del microbioma, con la meta de encontrar soluciones sostenibles. Se pretenden identificar recursos genéticos de olivar resistentes a la infección por *X. fastidiosa* y evaluar la efectividad de biomoléculas seleccionadas y antagonistas para el control en planta. Además, hay resultados prometedores que combinan *remote-sensing* con mediciones en campo y con herramientas innovadoras para la detección *in situ*.

Los objetivos, que se complementan entre ambos proyectos, son: la implementación de evaluaciones de riesgo para las diferentes áreas geográficas, la prevención de la entrada de la bacteria en zonas libres mediante el desarrollo de métodos de detección temprana, tanto de laboratorio como de campo, la mitigación del impacto socio-económico de las enfermedades causadas por *X. fastidiosa*, la gestión integrada mediante múltiples apro-

ximaciones (resistencia varietal, tratamientos amigables con el medio ambiente, etc.), y el apoyo a las políticas europeas de toma de decisiones basadas en el conocimiento científico. En definitiva, se trata de generar conocimiento sobre la patogenidad, la transmisión y la susceptibilidad de los huéspedes a las diferentes cepas de *X. fastidiosa* encontradas en los brotes europeos.

## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Nuestras condiciones climáticas son favorables para el establecimiento y la dispersión de *X. fastidiosa*, por lo que esta bacteria, que está ya presente en distintos lugares de la geografía española, constituye una grave amenaza para la agricultura en general. El genotipo de cada cepa de *X. fastidiosa* encontrada, la abundancia y eficiencia de transmisión de los vectores implicados y las condiciones climáticas concretas de cada zona son factores que condicionan la situación de cada brote de la enfermedad. Cuanto más avancemos en el conocimiento de este patosistema, más capaces seremos de optimizar el modo de abordar los problemas que puedan surgir en el sector agrícola. Una legislación adecuada, basada en los avances científicos, flujo de información y cooperación entre los sectores implicados, inspecciones, coordinación entre territorios y fomento de la investigación interdisciplinar son los pilares para una buena gestión.

Desde el punto de vista científico, *X. fastidiosa* es una bacteria muy interesante. No olvidemos que la enfermedad de Pierce en vid se describió a finales del siglo XIX y, a pesar del tiempo transcurrido, todavía se desconoce mucho sobre su agente causal. Sus características hacen a esta bacteria particularmente difícil de estudiar y controlar. Las enfermedades que produce deben entenderse como el resultado de las interacciones entre los diferentes genotipos de la bacteria, las plantas huéspedes y los vectores, y el conocimiento de esas interacciones

nos permitirá comprender la ecología y la evolución de esta bacteria.

¿Está *X. fastidiosa* presente en cualquier lugar del mundo? ¿Cuánta diversidad genética hay en sus poblaciones? ¿Por qué hay especificidad entre genotipos de *X. fastidiosa* y plantas huéspedes? ¿Existe especificidad entre los genotipos de *X. fastidiosa* y los vectores? ¿Cómo es el proceso de colonización del insecto por *X. fastidiosa*? ¿Por qué en unas plantas se desarrollan síntomas y en otras la infección es latente? ¿Discriminan los vectores entre plantas sintomáticas y asintomáticas? ¿Por qué es heterogénea la distribución de *X. fastidiosa* dentro de la planta? Son muchas las preguntas que todavía no tienen una respuesta clara y que requieren una investigación multidisciplinar que permita tener una visión de conjunto de esta fascinante bacteria.

Los autores agradecen la financiación a los proyectos del Horizonte 2020 de la Unión Europea POnTE (*Pest Organisms Threatening Europe, agreement* No 635646) y XF-ACTORS (*Xylella Fastidiosa Active Containment Through a multidisciplinary-Oriented Research Strategy, No 727987*).

## REFERENCIAS

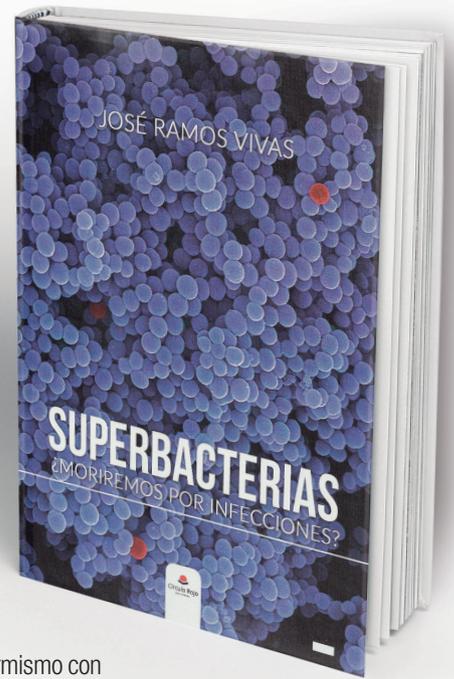
- Almeida, R.P.P. 2016. *Xylella fastidiosa* vector transmission biology, pp. 165-173. En: Judith K. Brown (ed.), *Vector-Mediated Transmission of Plant Pathogens*. The American Phytopathological Society.
- Almeida, R.P.P. y Nunney, L. 2015. How do plant diseases caused by *Xylella fastidiosa* emerge? *Plant Disease* 99: 1457-1467.
- Chatterjee, S., Almeida, R.P. y Lindow, S. 2008. Living in two worlds: the plant and insect lifestyles of *Xylella fastidiosa*. *Annu Rev Phytopathol.* 46: 243-71.
- Hopkins, D. L. y Purcell, A. H. 2002. *Xylella fastidiosa*: Cause of Pierce's disease of grapevine and other emergent diseases. *Plant Dis.* 86:1056-1066.
- Janse, J.D. y Obradovic, A. 2010. *Xylella fastidiosa*: Its biology, diagnosis, control and risks. *J. Plant Pathol.* (92), sup. 1; pp. 35-48.
- Landa, B.B., Marco-Noales, E. y López, M.M. 2017. Enfermedades causadas por *Xylella fastidiosa*. *Cajamar Caja Rural* (ed.).
- Purcell, A.H. 2013. Paradigms: examples from the bacterium *Xylella fastidiosa*. *Ann. Rev Phytopathol.* 51: 339-356.

## Superbacterias ¿Moriremos por infecciones?

Víctor J. Cid

José Ramón Vivas • Ed. Círculo Rojo • diciembre 2017

José Ramos Vivas (Ourense, 1973), microbiólogo del Instituto de Investigación Sanitaria Valdecilla (IDIVAL) en Santander sigue la estela de Ignacio López Goñi, su colega de la SEM ya consagrado en la divulgación científica en Microbiología en los últimos años. Mientras éste último está a punto de publicar un tercer libro sobre microbiota tras el éxito de “¿Funcionan las Vacunas?” (Ed. Next Door, 2017) y “Virus y Pandemias” (Glyphos/Naukas, 2015), José Ramos Vivas ha sacado a la luz un excelente libro divulgativo sobre lo que ya empezamos a conocer como la “crisis de los antibióticos”. El estilo de José es muy diferente al de Nacho, pero no menos efectivo. Más que un compendio de píldoras concisas con mensaje directo, al estilo bloguero, a las que nos tiene acostumbrado Nacho, José ha elaborado un texto que se va desarrollando capítulo a capítulo, en el que el lector se va viendo envuelto en temas de complejidad *in crescendo*, sin escatimar en la interpretación de artículos científicos clave en la historia de la resistencia antimicrobiana o descubrimientos recientes. Es notable la capacidad de José de divulgar en sentido estricto, es decir, de sintetizar en un lenguaje asequible para un lector no iniciado aspectos complejos de la literatura científica. No hay ningún aspecto de este problema de salud global que quede sin cubrir en este libro, desde capítulos introductorios muy básicos sobre la microbiota y la historia de la antibioterapia hasta un análisis del origen de la crisis y la situación actual desde múltiples perspectivas (microbiológica, sanitaria, ecológica, económica...), así como las posibles soluciones. Muchos datos, sí, pero expuestos siempre con un lenguaje amable -o, para ser más precisos, simpático- con el lector, que invita siempre a la reflexión. ¿Moriremos por infecciones? La lectura de este libro deja bastante claro que la respuesta está en nuestras manos... Pero hemos de conseguir que la gente lo lea para que sea consciente de ello desde una perspectiva científica, alejada del alarmismo con el que la magnitud del problema obliga a los medios y redes sociales a tratar este tema tan complejo.



## Fundamentos de biotecnología farmacéutica

Rafael Rotger Anglada

Humberto Martín Brieua (coordinador) • 456 páginas • Formato: rústica, 19,5 x 24 cm • ISBN papel: 978-84-16898-51-0 • ISBN digital: 978-84-16898-58-9 • 33,75 € (papel), 19,99 € (ebook)

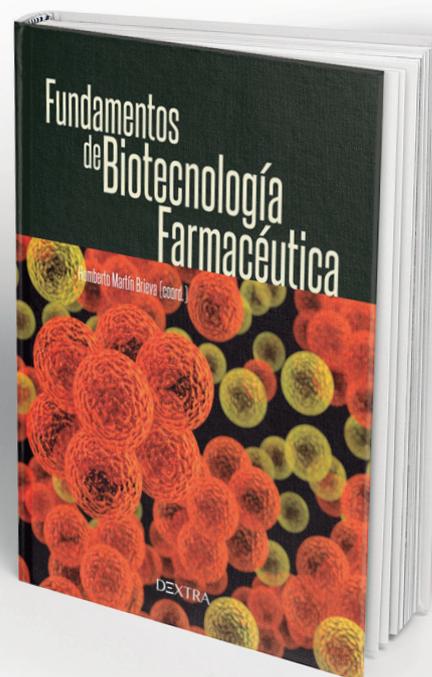
Indudable y justificadamente, los estudios sobre Biotecnología están de moda: puede estudiarse un Grado en Biotecnología en más de 20 universidades públicas (3 de ellas con una nota de corte superior a 12) y media docena privadas. Además, hay una veintena de Masters en Biotecnología con variadas especializaciones. Sin embargo, la oferta de libros de texto es bastante limitado, y en español hay solamente alguna traducción. Por lo tanto, hay que dar la enhorabuena a la iniciativa del Profesor Humberto Martín y de la Editorial Dextra por proporcionarnos este nuevo manual.

La cobertura del libro es exhaustiva: tras la presentación de los aspectos básicos, donde se describen las técnicas de análisis y manipulación de DNA y proteínas, en el laboratorio e *in silico*, se trata de los procesos de producción industrial, describiendo la producción en sistemas de microorganismos, de células animales y vegetales; además, se completa el enfoque puramente biológico con otro más químico, dedicado a la biocatálisis. Cubre así las diferentes especializaciones de la biotecnología dentro de la orientación sanitaria. Se incluyen referencias históricas, ejemplos y numerosos esquemas; los autores han sido capaces de combinar el estudio en profundidad con una presentación muy didáctica, imprescindible para el objetivo de este libro de servir como manual de estudio. Me ha parecido muy atractivo el capítulo titulado “Descubrimiento y desarrollo de moléculas con actividad farma-

cológica", que representa la esencia del libro; en mi opinión debería estar situado justo después de los temas básicos, ya que está un poco perdido entre otros temas especializados.

Firman los 17 capítulos 19 autores, que son o han sido profesores de la Universidad Complutense de Madrid. Se echa en falta una presentación con sus méritos y especialidades; de este modo el lector sabría que sus conocimientos de la materia son muy directos: según los casos, se corresponden con sus líneas de investigación, tienen patentes, están implicados en la secuenciación masiva y el análisis informático, construyen fermentadores, tienen experiencia adquirida en la Agencia Española del Medicamento o la industria Farmacéutica, etc. . . El coordinador y la mayoría de los autores han sido profesores de asignaturas de Biotecnología en los Grados de Farmacia y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, o del Máster en Biotecnología de la Universidad Complutense. Es algo que indudablemente se nota a la hora de enfocar los temas y de desarrollarlos.

La buena presentación con un precio muy ajustado, y la disponibilidad tanto en papel como electrónica, terminan de redondear el atractivo de esta obra, que rellena de forma espléndida el hueco existente en la bibliografía de esta especialidad. Sin dudarlo, totalmente recomendable para profesores y alumnos.



Estimados/as compañeros/as,

El Grupo Especializado de Microbiología de Plantas de la Sociedad Española de Microbiología nos ha encargado la organización de la VIII Reunión del Grupo Especializado de Microbiología de Plantas (MIP19). Tras el éxito del congreso anterior en Salamanca (MIP17) y la gran aceptación de anteriores ediciones, queremos que este encuentro vuelva a fomentar el intercambio de información entre grupos de investigación que estudian las interacciones entre plantas y microorganismos, tanto las beneficiosas como las patogénicas.

Con el objetivo de mantener la tradición de este tipo de reuniones, el lugar de celebración será en la sede de la Universidad de Sevilla en la localidad de Osuna, del 23 al 25 de enero de 2019, aprovechando el 25 aniversario de la reapertura de este centro universitario, cuyos edificios fueron utilizados con el mismo fin por primera vez en el año 1548. También os recordamos que los protagonistas de este evento son los investigadores pre y post-doctorales. Ellos tendrán la oportunidad de exponer sus trabajos mediante comunicaciones orales.

Desde la Universidad de Sevilla consideramos que es un buen momento para que nos hagáis una visita aprovechando la(s) semana(s) blanca(s) para aquellos que trabajáis en la Universidad. La localización del municipio de Osuna a 87 km de Sevilla es ideal por sus conexiones a través de autopista y de tren. Para aquellos que no conozcáis Osuna, os sorprenderán sus calles, su ambiente, sus monumentos y su gastronomía.

Nos vemos pronto,

Francisco Javier López-Baena y José María Vinardell  
Universidad de Sevilla



# Bergey's International Society for Microbial Systematics (BISMIS 2018)

Raúl Riesco Jarrín y Martha E. Trujillo



Del 8 al 11 de abril, enmarcada en las proximidades de la denominada “cuna de la humanidad” tuvo lugar la cuarta edición de la conferencia internacional BISMIS (Bergey's International Society for Microbial Systematics). La reunión, organizada por el profesor Stephanus Venter, se celebró en las proximidades de Johannesburgo, Sudáfrica, una zona caracterizada por el valioso registro fósil de homínidos y por su gran diversidad natural.

El programa científico del congreso, dividido en cinco sesiones, abarcó diversos temas de interés en el mundo de la taxonomía actual, entre los que destacan el uso de la secuenciación genómica, metagenómica y metabolómica, la validación de nombres de procariontes no cultivados y los retos futuros e importancia de las colecciones de cepas tipo. Se celebraron también dos

sesiones de pósteres científicos, en las que los ponentes, en su mayoría jóvenes investigadores, tuvieron la oportunidad de explicar su trabajo en formato de mini-ponencias de dos minutos.

Tanto las charlas como los trabajos en formato de póster trataron temas de gran interés, desde nuevos avances bioinformáticos aplicables al mundo de la taxonomía, pasando por revisiones en base al genoma de géneros conflictivos hasta incluso una charla sobre la influencia que estaba teniendo la taxonomía bacteriana en otras disciplinas como la sistemática de hongos.

Se repartieron también varios premios en esta reunión. Por un lado, el prestigioso Bergey Award fue concedido en esta edición a Jongsik Chun, profesor de la Univer-

sidad Nacional de Seúl y CEO de la empresa Chunlab inc., por su invaluable contribución a la sistemática bacteriana. Por otro lado, la revista IJSEM (International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology) repartió tres premios a participantes postdoctorales y estudiantes de doctorado, al mejor poster científico (Kgothatso Chauke), a la mejor ponencia postdoctoral (Marika Palmer) y a la mejor ponencia predoctoral (Raúl Riesco).

La próxima edición del congreso tendrá lugar en 2021, en China y será organizado por el profesor Wen-Jun Li. Desde aquí le deseamos mucha suerte al nuevo equipo organizador, y una felicitación al equipo saliente capitaneado por el profesor Stephanus Venter por la brillante organización de este congreso.

## Tercer Retiro de la Academia Europea de Microbiología en La Granja de San Ildefonso

Miguel Vicente

Asistentes a la reunión de izquierda a derecha.

Atrás: Catherine Cotton, Roland Brosch, Anjelika Grundling, Uri Gophna, Rino Rappuoli

En medio: Francisco Martínez Mojica, Cecilia Arraiano, Dörte Becher, Mariagrazia Pizza, Frédéric Barras, Carmen Buchrieser, Tracy Palmer, Regine Hengge, Patrik Bavoil, Tone Tonjum, Elizaveta Bonch-Osmolovskaya, Jay Hinton, Csaba Pal, Petra Dersch, Antonio Ventosa

Delante: Miguel Vicente, Fernando Baquero, Eliora Ron, Philippe Sansonetti, Jean-Claude Piffaretti, Bauke Oudega, Milton da Costa, Ute Römling



Organizado por Laura Cueto y Miguel Vicente, ambos del Centro Nacional de Biotecnología, del CSIC, se celebró durante el viernes 6 y sábado 7 de abril en La Granja de San Ildefonso el tercer retiro de la Academia Europea de Microbiología. A esta reunión, que cada dos años se efectúa en la población segoviana, asistieron más de treinta académicos. Durante ella se presentaron varios trabajos de los académicos admitidos en 2018. Entre ellos Francisco Martínez Mojica (Universidad de Alicante), descubridor del sistema de inmunidad bacteriana conocido como CRISPR. Junto con una panorámica retrospectiva del descubrimiento y su potencial en la edición genómica de organismos eucarióticos, Mojica expuso el potencial de las aplicaciones del sistema CRISPR-Cas para su uso en bacterias.

Estudiando la variante ST313 de *Salmonella enterica* sv Typhimurium muy frecuente en África subsahariana y que es especialmente virulenta, Jay Hinton (Universidad de Liverpool) ha encontrado que la única diferencia con las menos virulentas ST19 que abundan en el resto del mundo es un simple cambio en una base de la secuencia -10 del promotor que controla la expresión del gen *pgtE* que codifica un factor de virulencia. Este simple cambio aumenta la pro-

ducción del factor y parece ser el responsable de la mayor virulencia de los aislados africanos.

Otras charlas comentaron temas tan actuales como la resistencia a los antibióticos (Uri Gophna de Tel Aviv y Csaba Pal de la Academia de Ciencias Húngara), la regulación de la formación de biofilms (Ute Römling del Instituto Karolinska), la síntesis de la pared bacteriana (Angelika Grundling del Imperial College de Londres), la transferencia génica en *Vibrio* (Melanie Blokesch de la Escuela Politécnica Federal de Lausanne), la interacción de patógenos como *Yersinia* con el epitelio intestinal (Petra Dersch del Centro Helmholtz de Investigación en Infecciones), el catabolismo de procariontas termófilas (Elizaveta Bonch-Osmolovskaya del Instituto Winogradsky de Microbiología en Moscú) y el estudio del proteoma bacteriano (Dörte Becher de la Universidad de Greifswald).

Por último Patrik Bavoil, de la Universidad de Maryland en los Estados Unidos y ahora encargado de las revistas de FEMS hizo un resumen de los contenidos de cada una de ellas y planteó varias opciones para su mejora, entre las que se encuentra una conexión más estrecha con la Academia.

La Academia Europea de Microbiología, fundada en junio de 2009 en Göttingen durante el tercer congreso de FEMS, agrupa a los más destacados microbiólogos europeos y se reúne cada dos años coincidiendo con los congresos de FEMS. En los años alternativos organiza un retiro que tradicionalmente se celebra en La Granja de San Ildefonso para dar la bienvenida a los nuevos académicos. En éstos retiros se analiza asimismo el funcionamiento de la Academia y se proponen acciones para mejorar y difundir sus actividades.

### THIRD RETREAT OF THE EUROPEAN ACADEMY OF MICROBIOLOGY AT LA GRANJA DE SAN ILDEFONSO

Organized by Laura Cueto and Miguel Vicente, both from the National Biotechnology Center of the CSIC, the third retreat of the European Academy of Microbiology was held on Friday 6 and Saturday 7 April at La Granja de San Ildefonso. This meeting, which takes place every two years in the Segovian town, was attended by more than thirty academics. During it several papers of the academics admitted in 2018 were presented. Among them Fran-

cisco Martínez Mojica (University of Alicante), discoverer of the bacterial immunity system known as CRISPR. Along with a retrospective overview of the discovery and its potential in the genomic edition of eukaryotic organisms, Mojica discussed the potential of CRISPR-Cas system applications for use in bacteria.

Studying the ST313 variant of *Salmonella enterica* sv Typhimurium very common in sub-Saharan Africa and which is especially virulent, Jay Hinton (University of Liverpool) has found that the only difference with the less virulent ST19 that abounds in the rest of the world is a simple change in one base of the -10 sequence of the promoter that controls the expression of the *pgtE* gene that encodes a virulence factor. This simple change increases the production of the factor and seems to be responsible for the greater virulence of the African isolates.

Other talks discussed current issues such as antibiotic resistance (Uri Gophna of Tel Aviv

and Csaba Pal of the Hungarian Academy of Sciences), the regulation of biofilm formation (Ute Römling of the Karolinska Institute), the synthesis of the bacterial wall (Angelika Grundling of the Imperial College London), the gene transfer in *Vibrio* (Melanie Blokesch of the Federal Polytechnic School of Lausanne), the interaction of pathogens such as *Yersinia* with the intestinal epithelium (Petra Dersch of the Helmholtz Center for Infection Research), the catabolism of thermophilic prokaryotes (Elizaveta Bonch-Osmolovskaya of the Winogradsky Institute of Microbiology in Moscow) and the study of the bacterial proteome (Dörte Becher of the University of Greifswald).

Finally Patrik Bavoil, from the University of Maryland in the United States and now in charge of the FEMS journals, summarized the contents of each of them and proposed several options for improvement, among which is a closer connection with the Academy.



Uri Gophna.

The European Academy of Microbiology, founded in June 2009 in Göttingen during the third FEMS congress, brings together the most prominent European microbiologists and meets every two years coinciding with the FEMS congresses. In the alternative years it organizes a retreat traditionally held at La Granja de San Ildefonso to welcome new academics. In these retreats the functioning of the Academy is also analyzed and actions are proposed to improve and disseminate its activities.

## XVI workshop

# Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria

Josep Yuste Puigvert y Marta Capellas Puig

<http://jornades.uab.cat/workshopmrama>



Del 21 al 24 de noviembre de 2017, tuvo lugar el XVI *workshop* sobre Métodos rápidos y automatización en microbiología

alimentaria (MRAMA), en la Facultad de Veterinaria de la *Universitat Autònoma de Barcelona* (UAB; Bellaterra, Cerdanyola del

Vallès), dirigido por la Dra. Marta Capellas Puig y el Dr. Josep Yuste Puigvert, profesores de Ciencia y Tecnología de los alimentos.

tos, y organizado por el *Centre d'Innovació, Recerca i Transferència en Tecnologia dels Aliments* (CIRTTA) y el Departamento de Ciencia animal y de los alimentos de la UAB. Celebrado anualmente, el *workshop* MRAMA, de un contenido aplicado y de futuro, amplía y difunde los conocimientos teóricos y prácticos sobre métodos innovadores para detectar, contar, aislar y caracterizar rápidamente los microorganismos, y sus metabolitos, habituales en los alimentos y el agua.

En el *workshop*, participaron conferenciantes de renombre. Se encargó de la ponencia inaugural el **Dr. José Juan Rodríguez Jerez**, profesor de nuestro Departamento, que ofreció una visión general de los métodos rápidos y miniaturizados y la automatización en microbiología. El **Dr. Armand Sánchez Bonastre**, director del Servicio Veterinario de Genética Molecular de la UAB y profesor de nuestro Departamento, informó exhaustivamente sobre la aplicación a la seguridad alimentaria de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la secuenciación genómica masiva, métodos genéticos en constante evolución para detectar e identificar microorganismos. La **Sra. Rosella Brozzi**, de la *European Food Safety Authority* (EFSA), en Parma (Italia), presentó un tema de gran importancia como es el riesgo de resistencias a los antimicrobianos. El **Sr. Joan Roquet-Jalmar Pàmies**, de Kellogg Manufacturing España, en Valls, habló sobre la implantación de un sistema de verificación de limpieza basado en bioluminiscencia. El **Sr. Pascal Monzó Martos**, de Productos Florida, en Vila-real, explicó su experiencia en *Campylobacter* y *Salmonella* en productos avícolas. La **Sra. Ana Torres Rubio**, de Florette Ibérica, en Milagro, y el **Sr. Armando Marín Martínez**, de Eurofins Análisis Alimentario Nordeste, en Tudela, también expusieron su experiencia en alimentos de IV y V gamas, respectivamente: normativa, criterios, riesgos, muestreo, tendencias, etc. El **Dr. Seppo Ilmari Niemelä**, de la *University of Helsinki* (Finlandia), transmitió magistralmente a los asistentes sus amplios conocimientos sobre la incertidumbre de la medida de los recuentos microbiológicos. Y el **Sr. Xavier Lizana Alcazo**, de ACONSA, en Sant Joan Despí, participó con una interesante ponencia acerca de

una herramienta para la gestión de auditorías de higiene alimentaria. Los contenidos de las ponencias del miércoles dieron lugar a una **mesa redonda** en que se abordaron aspectos sobre el día a día del control microbiológico en la industria.

Además, asistieron importantes **empresas de microbiología**, que explicaron y mostraron sus productos y sus servicios (funcionamiento, ventajas y limitaciones, y técnicas en que se basan). Estas empresas, que patrocinaron el XVI *workshop* MRAMA, fueron: 3M España, BC Aplicaciones Analíticas, BD Diagnostic Systems, BioControl Italia, bioMérieux España, Bio-Rad Laboratories, Bioser, BioSystems, Devea (Francia), Eppendorf Ibérica, Hygiene International (Reino Unido), IDEXX Laboratorios, iMICROQ, Interscience (Francia), ITRAM HIGIENE, Laboratorios MICROKIT, LGC Standards, Merck (Alemania), MicroPlanet Laboratorios, Neogen Europe (Reino Unido), Nirco, PanReac AppliChem, Raypa (R. Espinar), Thermo Fisher Diagnostics y Tiselab.

También colaboran con el *workshop* MRAMA: ainia, centro tecnológico, el Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria (CNTA), Premiumlab, Productos Florida, la *Associació Catalana de Ciències de l'Alimentació* (ACCA), Publica – Revista *Técnicas de Laboratorio*, Estrategias Alimentarias – Revista *euocarne*, Sweet Press – Revista *Tecnifood*, la Sociedad Española de Microbiología (SEM), la Asociación de Consultores y Formadores de España en Seguridad Alimentaria (ACOFESAL), la Sociedad Española de Seguridad Alimentaria (SESAL), la *Agència de Salut Pública de Barcelona*, la *Agència de Salut Pública de Catalunya*, y la Sociedad Española de Químicos Cosméticos (SEQC).

El *workshop* ha sido una actividad exitosa, tanto por los ponentes y sus ponencias, como por la asistencia de público y la participación de las empresas de microbiología. Reunió a 208 personas, de diversos colectivos nacionales e internacionales: (i) Laboratorios, asesorías y consultorías, e industrias de los ámbitos agroalimentario (entre otros, los sectores cárnico y avícola, lácteo, comidas preparadas, panificación y bollería, cacao, bebidas analcohólicas – aguas, bebidas refrescantes– y alcohólicas

–cervecero, cava–, ingredientes y aditivos, preparados alimenticios, productos dietéticos, envasado), biotecnológico, cosmético, material para laboratorios, etc.; (ii) Profesores y estudiantes de la UAB (grado de Ciencia y Tecnología de los alimentos, y tercer ciclo) y otras universidades; (iii) Otros centros de investigación; (iv) Administración.

Durante tres días, se realizaron unas **sesiones prácticas en el laboratorio**, en las que se trabajó con algunos equipos y los productos más innovadores del campo de los métodos rápidos y la automatización. Y se organizaron cuatro **talleres**: (i) *Uso de los recursos para microbiología predictiva disponibles en internet*, a cargo de la **Sra. Montse Vila Brugalla** (*Agència de Salut Pública de Barcelona*); (ii) *¿Peligros microbiológicos en los sistemas APPCC? ¡Por fin, identificalos correctamente en tu empresa!*, a cargo del **Sr. Jon Basagoiti Azpitarte** (Imaging Management Systems, Ermua); (iii) *Micotoxinas, un peligro oculto. Métodos rápidos de detección*, a cargo de Bioser – Romer Labs Diagnostic (Austria); (iv) *El fraude alimentario en los esquemas de certificación. Un nuevo reto para las industrias*, a cargo de SGS ICS Ibérica.

La **mesa redonda** previa a la clausura oficial, con varios ponentes y profesionales de empresas de microbiología, fue sobre la instrumentación en microbiología de los alimentos, las tendencias del mercado mundial y otros temas de actualidad del sector, y constató, junto con las ponencias del *workshop*, la preocupación por el creciente riesgo de resistencias a los antimicrobianos; la importancia del correcto muestreo, relacionado directamente con la contaminación del producto; la relevancia de la automatización en el laboratorio; la diversidad de necesidades en cuanto a métodos microbiológicos, según el sector, adaptándose siempre a los criterios y las normativas; así como los progresos en el desarrollo de soluciones que aportan rapidez, precisión, sensibilidad y especificidad.

**El XVII *workshop* MRAMA se celebrará del 20 al 23 de noviembre de 2018.**

# Grupo de Taxonomía, Filogenia y Diversidad

Jesús L. Romalde

*Presidente del Grupo*

La gran variedad de vida microbiana es el mayor reservorio de diversidad biológica desconocida en la Tierra. Para comprender esta vasta y en gran parte desconocida diversidad con su potencial genético, enzimático e industrial sin explotar, la sistemática microbiana está experimentando un cambio revolucionario en su enfoque para describir nuevos taxones en base a información genómica y ambiental.

La caracterización de un organismo ya no está limitada por barreras metodológicas, y ahora es posible secuenciar el genoma completo de una cepa, estudiar genes individuales o examinar la información genética mediante el uso de diferentes técnicas. De hecho, la aplicación de la genómica está ayudando, no solo a proporcionar una mejor comprensión de los límites de los géneros y los niveles más altos de clasificación, sino también a refinar nuestra definición del concepto de especie. Además, una mayor comprensión de la filogenia permite predecir el potencial genético de los microorganismos para aplicaciones biotecnológicas y la adaptación a los cambios ambientales.

El grupo especializado de Taxonomía, Filogenia y Diversidad es uno de los más antiguos y consolidados de la Sociedad Española de Microbiología. Creado en 1984 se constituyó oficialmente como Grupo de Taxonomía Bacteriana durante la celebración de la 1ª Reunión en Granada (Figura 1). En dicha reunión, organizada por el Comisionado de SEM para su creación y primer presidente del grupo Dr. Alberto Ramos Cormenzana, no solo se eligió a la primera Junta Directiva sino que se establecieron los objetivos y actividades futuras del nuevo grupo especializado, con una clara vocación de servir de vehículo de intercambio de información, interacción, colaboración y discusión de los resultados de los diferen-

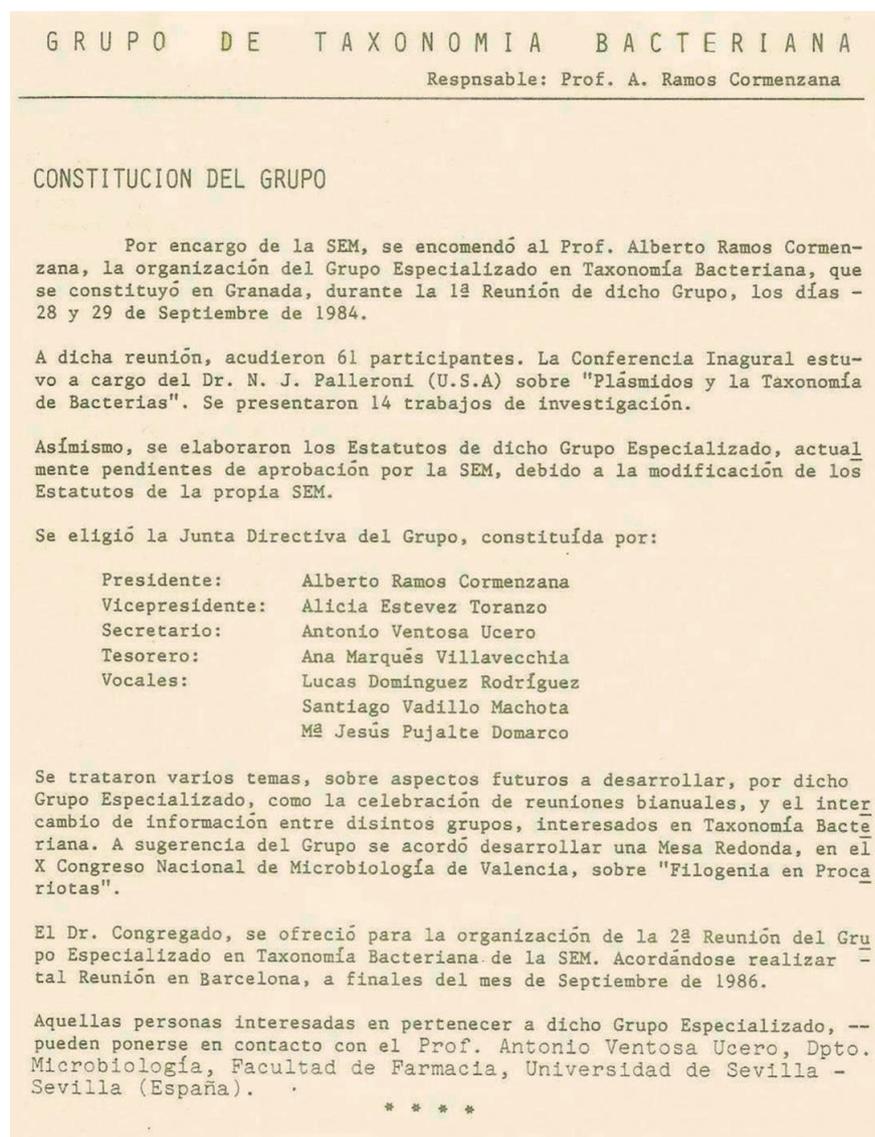


Figura 1. Documento de constitución del Grupo Especializado en Taxonomía Bacteriana de la SEM.

tes grupos implicados. Todos estos aspectos originarios han sido una excelente guía para los siguientes presidentes del grupo, Guillermo Suárez, Francisco Congregado, Jorge Lalucat y Antonio Ventosa, y siguen siendo esenciales en la actualidad bajo la presidencia de Jesús L. Romalde.

Pese a no ser un grupo muy numeroso (no fue hasta 2017 en que se sobrepasaron los 100 socios), está constituido por grupos de investigación de prestigio y con trayectorias consolidadas que desarrollan su labor a lo largo de toda la geografía de nuestro país (Figura 2). En los últimos años se han reali-

zado importantes contribuciones a la Taxonomía y Filogenia de los microorganismos desde nuestro país, y buena prueba de ello son las diferentes investigaciones y actividades que presentan en este monográfico algunos de los equipos más activos de nuestro grupo especializado.

Somos conscientes desde nuestro grupo de la transversalidad de la taxonomía y sus implicaciones en muchos otros aspectos de la microbiología, desde la microbiología clínica humana y animal, donde un correcto diagnóstico es fundamental, a la microbiología de alimentos o la ambiental. Es por esto que nuestra próxima reunión bienal, la XVII, se celebrará conjuntamente a la del Grupo Especializado de Microbiología del Medio Acuático. Estamos convencidos que será un éxito, como lo fueron experiencias previas de Mesas Redondas conjuntas con otros grupos dentro de los Congresos Nacionales de la SEM, como la celebrada con el Grupo de Microbiología Molecular en Logroño en 2015. En cualquier caso, los jóvenes tendrán un papel preponderante en la reunión, ya que se mantendrá el formato de las reuniones anteriores que tan buenos resultados ha dado en el desarrollo científico de nuevas generaciones de taxónomos microbianos.

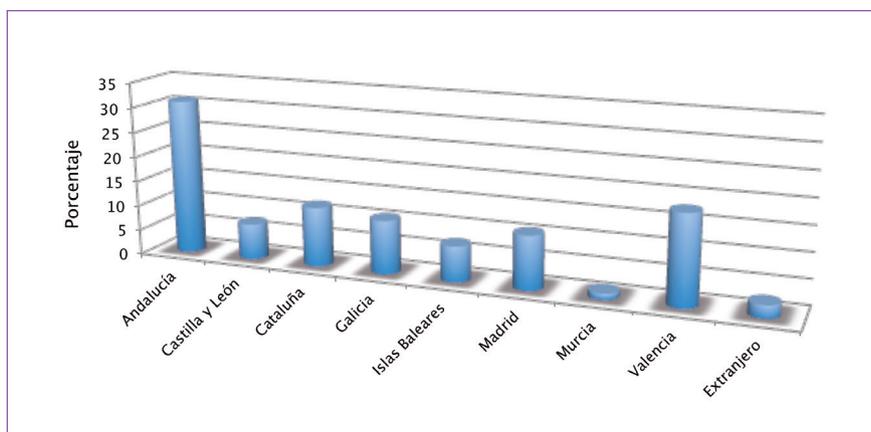


Figura 2. Distribución de los socios del grupo especializado por autonomías.

Por otro lado, también somos conscientes de la importancia de divulgar los logros y últimas investigaciones de nuestro grupo especializado más allá de nuestras fronteras. En este sentido, y con el empeño de diversificar las actividades del grupo, algunos de sus miembros (incluyendo a su presidente y al presidente de la SEM) se han implicado en editar un número especial de la revista *Frontiers in Microbiology* dedicado a la Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad, que ha tenido muy buena acogida internacional, y en el que han participado diferentes grupos de investigación españoles (algunos de los cuales participan también

en este monográfico) con trabajos de un nivel excelente.

En resumen y para terminar, los grupos que se incluyen en este monográfico son un perfecto ejemplo de la diversidad de aspectos y aplicaciones de la taxonomía, de la utilidad de las técnicas clásicas y las más recientes en el estudio de todo tipo de microorganismos, así como de la transversalidad de nuestra disciplina. Espero que este número monográfico sirva para que los socios de la SEM conozcan mejor nuestro grupo y constituya el punto de ignición de posibles colaboraciones futuras.

# Bacterias halófilas: biodiversidad, *quorum sensing*, quimiotaxis y aplicaciones biotecnológicas

Victoria Béjar, Ana del Moral, Fernando Martínez-Checa, Inmaculada Sampedro, Marta Torres, José Carlos Reina, Miguel Angel Rodríguez, Esther Palacios e Inmaculada Llamas



Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. 18071 Granada. Laboratorio de Microbiología. Instituto de Biotecnología. Centro de Investigación Biomédica. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud. Universidad de Granada. 18100 Granada



Miembros del grupo de Exopolisacáridos Microbianos BIO 188 de la UGR. De izquierda a derecha: Esther Palacios, Inmaculada Sampedro, José Carlos Reina, Victoria Béjar, Fernando Martínez-Checa, Ana del Moral, Miguel Angel Rodríguez, Inmaculada Llamas. Más información en <http://www.ugr.es/~eps/es/index.html>

El grupo de investigación “Exopolisacáridos Microbianos” (BIO 188 Junta de Andalucía) [www.ugr.es/~eps/es/index.html](http://www.ugr.es/~eps/es/index.html) inició su andadura en los años 90 con Emilia Quesada que estuvo como IP responsable hasta su jubilación en 2016. En la actualidad está compuesto por cinco profesores, un becario posdoctoral, un becario predoctoral, un contratado predoctoral y un técnico de laboratorio. Además en él colaboran distintos alumnos de grado, realizando el TFG, y de máster, realizando el TFM. En la página web se puede hallar más información sobre sus componentes y actividades.

Nuestra línea de investigación es el estudio de bacterias halófilas, incluyendo sus potenciales aplicaciones en biotecnología, agricultura y acuicultura; los estudios de *quorum sensing* y *quorum quenching*, así como su

quimiotaxis y el análisis de la biodiversidad de ambientes salinos.

Actualmente desarrollamos tres proyectos: dos financiados por el Ministerio de Economía y Competitividad (“Alternativa ecológica y sostenible para combatir la vibriosis en acuicultura: *quorum sensing versus quorum quenching*” y “Role of intra- and inter-species signaling via small molecules in microbe-plant-interactions (infection and symbiosis)” y otro financiado por la Universidad de Granada para la dirección de un doctorado industrial “Control biológico de *Botrytis* por la cepa XT1 e implicaciones en la producción de plantas de interés agrícola”.

El grupo tiene una potente actividad de transferencia. Ha desarrollado 3 patentes

nacionales y 2 internacionales. Una de ellas está en explotación por Xtrem Biotech S.L. y genera royalties a la Universidad de Granada desde 2017 (EP3178325A1). Asimismo y gracias a diversos contratos de transferencia de resultados, Lipotec-Lubrizol ha patentado dos de nuestros exopolisacáridos para su utilización en cosmética como agentes antiedad (CELLYNKAGE™) y como anticelulítico (NOC-TURSHAPE™). Estas patentes son la base de dos productos cosméticos comercializados y generan royalties a la universidad de Granada desde 2015.

Además, en 2013 algunos miembros del grupo impulsaron junto a profesionales de otros campos la creación de la *spin off* Xtrem Biotech ([www.xtrembiotech.com](http://www.xtrembiotech.com)) con el fin de aprovechar el potencial de estos

microorganismos extremófilos. Aunque la empresa es independiente en su gestión y funcionamiento, el grupo colabora estrechamente con ella prestando asesoramiento científico; de hecho dos de los miembros de la empresa están realizando un doctorado industrial bajo la dirección de tres profesores del grupo BIO 188.

En los últimos cinco años hemos trabajado en colaboración con equipos de investigación de las siguientes entidades: Centro de Investigación Biomédica de la Universidad de Granada (Dr. Molina), Fundación Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores de Andalucía (Fundación MEDINA), así como de las siguientes universidades: Sevilla (Dr. Ventosa), Alicante (Dra. Antón), Montpellier (Dra. Destoumieux-Garzon), Paris (Dr. Dessaux y Dra. López), Granada (Dra. Reche), Nottingham (Dr. Cámara y Dr. Heeb), Innsbruck (Dr. Siles), California (Dr. Parales), Hiroshima (Dr. Kato), y Nijmegen, Holanda (Dr. Smolinska) así como del College Dartmouth, USA (Dra. Hill). Nuestro grupo pertenece a la Red Nacional de Microorganismos Extremófilos desde su fundación a principios de los noventa. La red engloba actualmente una veintena de grupos de investigación distribuidos por universidades y centros del CSIC de todo el país.

Nuestros principales logros investigadores en las diferentes líneas de investigación son los siguientes:

## TAXONOMÍA Y BIODIVERSIDAD

- Puesta a punto de la metodología necesaria para el aislamiento, identificación y estudio fisiológico y genético de bacterias halófilas moderadas, en lo que nuestro equipo fue pionero a nivel internacional.
- Descubrimiento de una veintena de especies y de varios géneros de bacterias halófilas aisladas del medio ambiente, entre las que destacamos *Halomonas maura* y *Halomonas stenophila* que tienen interés biotecnológico debido a las propiedades funcionales y biológicas de sus exopolisacáridos y diferentes especies de *Bacillus* con gran potencial para la agricultura.

- Descripción de la biodiversidad de hábitats hipersalinos utilizando técnicas de ecología molecular, técnicas clásicas de cultivo y técnicas de dilución a extinción. El ambiente que con mayor profundidad hemos investigado en los últimos cinco años ha sido Rambla Salada (Murcia) encontrando que *Halomonas* es el microorganismo más frecuentemente aislado y que, sin embargo, aguas y suelos salinos contienen una plétora de bacterias y arqueas no cultivadas hasta el presente, pertenecientes a los filos *Euryarchaeota*, *Crenarchaeota*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* y *Firmicutes*.
- Aislamiento, aplicando nuevas técnicas de dilución a extinción, de procariotas halófilos que no habían podido ser cultivados por métodos convencionales. Con dichas técnicas hemos hallado nuevas especies de microorganismos pertenecientes a los géneros *Blastomonas* y *Roseovarius* entre otros.

## EXOPOLISACÁRIDOS

- Caracterización, estudio físico-químico y funcional de una veintena de exopolisacáridos.
- Caracterización de los genes *carAB* implicados en la síntesis del exopolisacárido producido por *Halomonas eurihalina*, y del operón *epsABCJ* responsable de la síntesis del exopolisacárido en *Halomonas maura*.

## QUORUM SENSING Y QUORUM QUENCHING

- Estudios de sistemas *quorum sensing* (QS) y de regulación global en bacterias halófilas. Hemos identificado por primera vez la producción de moléculas señal del tipo *N*-acilhomoserín lactonas (AHLs) en distintas especies del género *Halomonas* y caracterizado el sistema de comunicación *hanR/hanI* así como el sistema de regulación de dos componentes *gacS/gacA* en *Halomonas anticariensis* FP35<sup>T</sup> que regula tanto la síntesis de moléculas

AHLs como la producción del exopolisacárido.

- Selección de bacterias marinas y de enzimas que interfieren los sistemas *quorum sensing* para su utilización en el control de enfermedades infecciosas en acuicultura y agricultura. Se han seleccionado un grupo de bacterias capaces de interferir los sistemas QS de bacterias patógenas en las que los factores de virulencia están controlados por moléculas AHLs (*quorum quenching*). Asimismo, se ha identificado y caracterizado un nuevo tipo de enzima degradadora de AHLs a partir de una librería metagenómica construida a partir de un suelo salino. Dichas actividades se han ensayado con excelentes resultados *in vivo* frente a bacterias patógenas de la acuicultura y agricultura, demostrando así potenciales aplicaciones biotecnológicas.

## QUIMIOTAXIS

Estudio de la quimiotaxis de bacterias halófilas y de su influencia en la colonización de plantas. A pesar de los exhaustivos estudios de quimiotaxis hechos con bacterias modelo, tales como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* no existe, que sepamos, estudios que analicen la quimiotaxis de las bacterias halófilas. Hemos analizado el papel de la quimiotaxis en la colonización de plantas por bacterias halófilas demostrando el efecto quimioatrayente de exudados de plantas para estas bacterias. Por otro lado, también hemos podido observar la menor producción de moléculas señal del tipo AHL en bacterias mutantes en quimiotaxis respecto a la bacteria original demostrando así la relación quimiotaxis-QS.

## PUBLICACIONES SELECCIONADAS

- Amjres H, Béjar V, Quesada E, Carranza D, Abrini J, Siquine C, Rastikole J, Collic-Jouaulte S y Llamas I.** (2015). Characterization of haloglycan, an exopolysaccharide produced by *Halomonas stenophila* HK30. *Int. J. Biol. Macromol.* 72:117 -124
- Castro DJ, Llamas I, Béjar V y Martínez-Checa F.** (2017). *Blastomonas quesadae* sp. nov., isolated from a saline soil by dilution-to-extinction cultivation. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 7:2001-2007.
- D'Annibale A, Sampedro I, Federici F y Petruccioli M.** (2014). Aqueous extract from dry olive mill residue

as a possible basal medium for laccase production. *Env. Eng. Manag.* 12: 3037-3044.

**León-Palmero E, Joglar V, Alvarez PA, Martín-Platero A, Llamas I y Reche I.** (2018). Diversity and antimicrobial potential in sea anemone and holothurian microbiomes. *PLoS One* (13 e0196178).

**Lluque R, Béjar V, Quesada E y Llamas I.** (2014). Diversity of halophilic bacteria isolated from Rambla Salada, Murcia (Spain) *Can. J. Microbiol* 60:1-8.

**Queriaghli N, Bejar V, Quesada E y Martínez-Checa F.** (2013). Molecular ecology techniques reveal both spatial and temporal variations in the diversity of archaeal communities within the athalassohaline environment of Rambla Salada, Spain. 2013. *Microb. Ecol.* 66: 297-311.

**Queriaghli N, González-Domenech C, Martínez-Checa F, Muyzer G, Ventosa A y Quesada E, Béjar V.** (2014). Diversity and distribution of *Halomonas* in Rambla Salada, a hypersaline environment

in the Southeast of Spain. *FEMS Microbiol. Ecol.* 87:460-474.

**Quesada E, Tahrioui A y Llamas I.** (2013). Genetic and phenotypic analysis of the *gacS/gacA* system in the moderate halophile *Halomonas anticariensis*. 2013. *Microbiology SGM* 159:462-474.

**Siles JA, Pérez-Mendoza D, Ibañez JA, Scervino JM, Ocampo JA, García-Romera I y Sampedro I.** (2014). Assessing the impact of biotransformed dry olive residue application to soil: Effects on enzyme activities and fungal community. *Int. Biod. Biodeg.* 89: 15-22.

**Tahrioui A, Quesada E y Llamas I.** (2013). Draft genome sequence of the moderately halophilic gamma proteobacterium *Halomonas anticariensis* FP35<sup>T</sup> *Genome A* doi:10.1128/genomeA.00497-13

**Tahrioui A, Schwab M, Quesada E y Llamas I.** (2013). Quorum sensing in some representative species of *Halomonadaceae*. *Life* 3:260-275.

**Torres M, Reina JC, Fuentes-Monteverde JC, Fernández G, Rodríguez J, Jiménez C y Llamas, I.** (2018). AHL-lactonase expression in three marine emerging pathogenic *Vibrio* spp. reduces virulence and mortality in brine shrimp (*Artemia salina*) and manila clam (*Venerupis philippinarum*). *PLoS ONE* 13: e0195176.

**Torres M, Romero M, Prado S, Dubert J, Tahrioui A, Otero A y Llamas I.** (2013). N-acylhomoserine lactone-degrading bacteria isolated from hatchery bivalve larval cultures. *Microb. Res.* 66: 297-311.

**Torres M, Rubio Portillo E, Antón J, Ramos-Esplá AA, Quesada E y Llamas I.** (2016). Selection of the n-acylhomoserine lactone-degrading bacterium *Alteromonas stellipolaris* PQQ-42 and its potential for biocontrol in aquaculture. *Front. Microbiol.* 7:1-13.

**Torres M, Uroz S, Salto R, Fauchery L, Quesada E y Llamas I.** (2017). Hqja, a novel quorum-quenching enzyme which expands the AHL lactonase family. *Sci. Rep.* 7:1-15.

## Filogenia molecular y procesos de diversificación en *Aeromonas*

Maribel Farfán, Vicenta Albarral, José Gaspar Lorén y M<sup>a</sup> Carmen Fusté



Grupo de Genética de Poblaciones Bacterianas y Filogenia Molecular. Departamento de Biología, Sanidad y Medio Ambiente, Sección de Microbiología, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona



Miembros del grupo de investigación (de izquierda a derecha): José Gaspar Lorén, Vicenta Albarral, M<sup>a</sup> Carmen Fusté, Maribel Farfán y Ariadna Sanglas.

Nuestro grupo de investigación se formó en el año 1996, basándose en la experiencia adquirida por los doctores Lorén y Fusté

en el estudio de la estructura genética de poblaciones bacterianas de *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* y *Neisseria meningitidis*.

Mediante la aplicación de la técnica de electroforesis de enzimas multilocus (MLEE) y, más tarde, de la secuenciación de genes

multilocus (MLST, MLSA) se estudiaron diferentes poblaciones de bacterias patógenas y de interés industrial, como *Haemophilus influenzae*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas stutzeri* y *Aeromonas* sp.

Hace más de una década que el estudio de la taxonomía, la filogenia molecular y la genética de poblaciones del género *Aeromonas* constituye una de las principales líneas de investigación del grupo. Este género bacteriano es un modelo idóneo para este estudio, ya que es un grupo de bacterias que incluye formas de vida libre, patógenos oportunistas y primarios, de una gran ubicuidad, con especies definidas mediante métodos clásicos y moleculares y con una taxonomía compleja y aún no del todo resuelta. Los trabajos con *Aeromonas* se iniciaron mediante un estudio de caracterización fenotípica de cepas aisladas de moluscos y aguas. Fruto de este análisis fue la constatación de la presencia de distintas especies de *Aeromonas* en estos hábitats y la descripción de dos nuevas especies: *A. molluscorum* y *A. bivalvium*. De la colección de cepas obtenida, se seleccionaron las pertenecientes al “complejo de especies *Aeromonas hydrophila*” (*A. hydrophila*, *A. bestiarum*, *A. salmonicida*, *A. popoffii*), un grupo de *Aeromonas* en el que es difícil establecer de manera clara la separación entre especies a nivel fenotípico y molecular, y se llevó a cabo un estudio de genética de pobla-

ciones con la técnica de MLEE. Los resultados mostraron que cinco loci son suficientes para una excelente separación de las especies de este grupo.

Con el desarrollo de las técnicas moleculares nos planteamos llevar a cabo un estudio filogenético mediante la secuenciación de varios genes esenciales o conservados (“housekeeping genes”). Los resultados obtenidos con las secuencias de los genes analizados han permitido la asignación del nombre de especie *A. diversa* para las cepas anteriormente denominadas *Aeromonas* sp. Grupo 501 y las reclasificaciones de una cepa control de ensayos de calidad (*A. hydrophila* CIP 57.50 en *A. salmonicida* CIP 57.50) y de *Aeromonas hydrophila* subsp. *anaerogenes* dentro de *A. caviae*. Hemos secuenciado también los genomas completos de dos especies de *Aeromonas*: *A. molluscorum* y *A. diversa*.

Más recientemente, el estudio de genética de poblaciones realizado a partir de las secuencias correspondientes a 6 genes conservados (*cpn60*, *dnaJ*, *gyrB*, *mdh*, *recA*, *rpoD*) de 128 cepas representativas de las especies del “complejo *A. hydrophila*”, ha puesto de manifiesto que se trata de un grupo no monofilético, ya que precisamente la especie que da nombre al grupo diverge filogenéticamente de *A. bestiarum* y *A. salmo-*

*nicida*. Este estudio ha desvelado que mientras que *A. salmonicida* constituye un grupo homogéneo de cepas (a pesar de estar constituido por 5 subespecies), en *A. hydrophila* y *A. bestiarum* se separan distintos grupos. Este trabajo se ha completado con un estudio para establecer la posible existencia de genes implicados en la virulencia de *Aeromonas* y la determinación de la capacidad de adherencia, invasión y citotoxicidad de estas cepas en cultivos celulares. El análisis ha permitido demostrar la presencia de diversos genes de virulencia, tanto en cepas medioambientales como en otras de origen clínico, y su capacidad para adherirse e invadir los cultivos celulares (Fig. 1).

Para evaluar si el gen *recA* podría ser un buen marcador molecular del género *Aeromonas*, se realizó un estudio filogenético con 221 cepas representativas de todas las especies de *Aeromonas*. En este trabajo se identificó la presencia de un fragmento recombinante en 4 cepas de *Aeromonas bestiarum* de una longitud total de 248 pares de bases, que afectaba a la región terminal del gen *recA* y al inicio del gen *recX*. Se pudo determinar que el posible origen de la región recombinante sería una cepa de *Aeromonas eucrenophila*. Todos los fragmentos eran prácticamente idénticos, diferían en pocos nucleótidos, indicando que era una adquisición relativamente reciente.

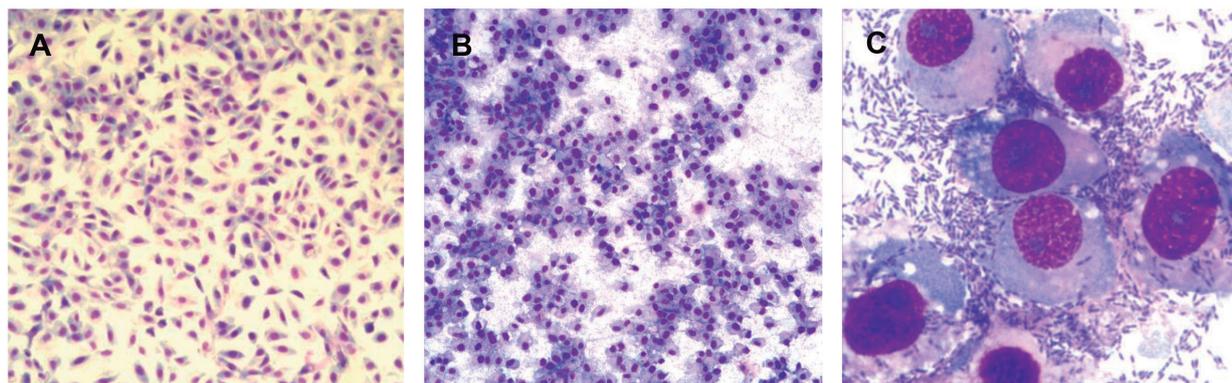


Figura 1. Micrografías de células monocapa de Caco-2: A) células no infectadas (control, x10), B) y C) células infectadas con *Aeromonas hydrophila* CECT 5174 (x10 y x100, respectivamente).

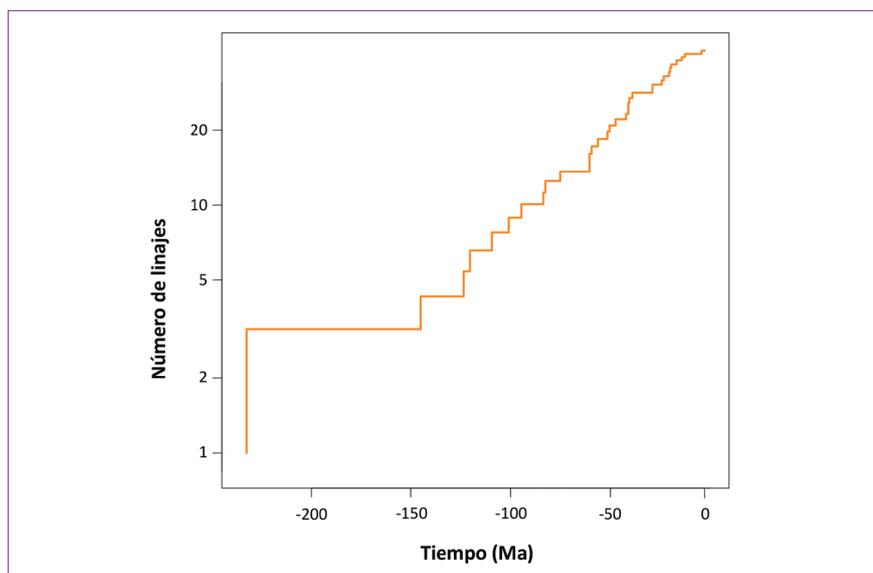


Figura 2. Análisis de diversificación del género *Aeromonas*. El gráfico semilogarítmico muestra la aparición de linajes a lo largo del tiempo (lineages-through-time o LTT plot) a partir del cronograma construido.

En la actualidad el grupo está trabajando en el estudio de los procesos de diversificación y especiación y en nuevas aproximaciones al estudio de la diversidad y la evolución bacteriana. Tradicionalmente la datación, los modelos de diversificación y las tasas de especiación y extinción de una población se han determinado a partir del análisis del registro fósil, o indirectamente a partir de eventos geofísicos. Sin embargo, el registro fósil no siempre está disponible para todas las especies, está restringido a los últimos 600 millones de años, y en el caso de los procariotas es prácticamente inexistente. La reciente expansión de las filogenias moleculares ha proporcionado la posibilidad de solventar este problema. Desde los primeros modelos propuestos por Nee y colaboradores en el año 1994, se han desarrollado diversos métodos para estimar los tiempos de divergencia y los modelos de diversificación de un linaje a partir de datos moleculares, más concretamente a partir de filogenias reconstruidas con taxones contemporáneos.

Nuestros trabajos más recientes se basan en utilizar como modelo el género *Aeromonas* para estimar el origen y los tiempos de divergencia de los clados principales y determinar el modelo y la tasa de diversificación de este género. A partir del árbol ultramétrico datado (cronograma), construido por inferencia bayesiana a partir de las secuencias concatenadas de dos o más genes conservados, se puede estimar el origen de este género y realizar el análisis de diversificación. Los resultados obtenidos muestran que *Aeromonas* se habría originado hace aproximadamente 250 Ma (período Pérmico-Triásico) y seguiría un modelo de diversificación constante (Fig. 2). Más recientemente, hemos aplicado un método de delimitación de especies, el llamado "Generalized Mixed Yule Coalescent" o GMYC, a un grupo representativo de cepas de todas las especies de *Aeromonas*. A partir de un árbol filogenético, el método GMYC establece el umbral de divergencia que delimita las especies basándose en el patrón de ramas del árbol, y fija la transición entre el proceso

de especiación (inter-específico) y el de coalescencia (diversificación intra-específica). El análisis ha permitido delimitar claramente las especies de este género, incluso en el caso de los conflictivos complejos de especies de *A. veronii* o *A. media*.

## BIBLIOGRAFIA SELECCIONADA DE LOS ÚLTIMOS AÑOS

- Fusté MC, Farfán M, Miñana-Galbis D, Albarral V, Sanglas A y Lorén JG.** (2012). Population Genetics of the "*Aeromonas hydrophila* Species Complex". In *Studies in Population Genetics*, pp. 39-54. InTech. Croatia. ISBN 978-953-51-0588-6.
- Farfán M, Spataro N, Sanglas A, Albarral V, Lorén JG, Bosch E y Fusté MC.** (2013). Draft genome sequence of the *Aeromonas diversa* type strain. *Genome Announcements* 1: e00330-13.
- Spataro N, Farfán M, Albarral V, Sanglas A, Lorén JG, Fusté MC y Bosch E.** (2013). Draft genome sequence of *Aeromonas molluscorum* strain 848T<sup>T</sup>, isolated from bivalve molluscs. *Genome Announcements* 1: e00382-13.
- Farfán M, Albarral V, Sanglas A, Lorén JG, Fusté MC.** (2013). The effect of recombination in *Aeromonas*. In *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences III*, pp. 179-193. Transworld Research Network. India. ISBN: 978-81-7895-605-3.
- Miñana-Galbis D, Farfán M, Albarral V, Sanglas A, Lorén JG y Fusté MC.** (2013). Reclassification of *Aeromonas hydrophila* subspecies *anaerogenes*. *Syst Appl Microbiol* 36: 306-308.
- Lorén JG, Farfán M y Fusté MC.** (2014). Molecular phylogenetics and temporal diversification in the genus *Aeromonas* based on the sequences of five housekeeping genes. *PLoS One* 9: e88805.
- Sanglas A, Albarral V, Farfán M, Lorén JG y Fusté MC.** (2016). Direct evidence of recombination in the *recA* gene of *Aeromonas bestiarum*. *Syst Appl Microbiol* 39: 106-114.
- Albarral V, Sanglas A, Palau M, Miñana-Galbis D y Fusté MC.** (2016). Potential pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* complex strains isolated from clinical, food, and environmental sources. *Can J Microbiol* 62: 296-306.
- Sanglas A, Albarral V, Farfán M, Lorén JG y Fusté MC.** (2017). Evolutionary roots and diversification of the genus *Aeromonas*. *Front Microbiol* 8: 127.
- Lorén JG, Farfán M y Fusté MC.** (2018). Species delimitation, phylogenetic relationships and temporal divergence model in the genus *Aeromonas*. *Front Microbiol* doi: 10.3389/fmicb.2018.00770

# Epidemiología molecular de microorganismos patógenos: entre la evolución y la clínica

Fernando González-Candelas, M<sup>a</sup> Alma Bracho, Julia Hillung, Alvaro Chiner, Paula Ruiz-Hueso, Carlos Francés-Cuesta, M<sup>a</sup> Lorena Mejía, Beatriz Beamud, Marta Pla-Díaz y Neris García-González



Unidad Mixta de Investigación "Infección y Salud Pública" FISABIO-Universitat de València. Instituto de Biología Integrativa de Sistemas, I2SysBio, CSIC-Universitat de València. CIBER en Epidemiología y Salud Pública.



Foto del grupo "Epidemiología Molecular" de la Universidad de Valencia-FISABIO.

Nuestro grupo de investigación surge hace 20 años para resolver un problema complicado. Muchos lectores recordarán el brote masivo de hepatitis C que se detectó en esas fechas en la ciudad de Valencia. En ese momento, algunos de los integrantes del grupo nos ocupábamos de problemas básicos en biología evolutiva, utilizando virus como el de la fiebre aftosa y el de la estomatitis vesicular como organismos modelo para estudios de evolución experimental, a la vez que trabajábamos en la aplicación de la teoría evolutiva en la conservación de especies vegetales en riesgo de extinción. Nuestra aproximación fundamental en ambos casos era la Genética de poblaciones y la teoría de la evolución y aplicábamos sus principios para analizar la variabilidad genética de las muestras y poblaciones estudiadas, bien mediante la secuenciación de fragmentos de genes o con la

aplicación de otros marcadores moleculares, muchos de los cuales han caído en desuso hoy en día. Con estos antecedentes, y tras conocer que se estaban secuenciando virus de la hepatitis C derivados de la posible fuente y afectados por el brote, planteamos ante las autoridades sanitarias, primero, y las judiciales, a continuación, que la conjunción de los análisis moleculares del virus y los métodos filogenéticos podrían resolver las principales cuestiones planteadas: ¿había realmente un brote con una única fuente y, en ese caso, cual era ésta?, ¿quiénes de los posibles afectados habían sido infectados realmente por una fuente común?, y, finalmente, ¿cuándo se había producido cada infección? El análisis de más de 4000 secuencias de un fragmento de apenas 400 nucleótidos del VHC nos permitió dar respuestas a esas preguntas no sólo desde un punto de vista científico (González-Can-

delas *et al.* 2013), sino en sede judicial, en la que contribuimos a identificar al anestesista Juan Maeso como culpable de la infección con VHC de más de 275 de sus pacientes a lo largo de 10 años de actividad profesional.

Con este estudio iniciamos lo que ha resultado ser una fructífera y estrecha colaboración con la Dirección General de Salud Pública de la Conselleria de Sanitat de la Generalitat Valenciana, plasmada en numerosos trabajos científicos y de asesoramiento, que detallaremos más adelante, y en la creación de una unidad mixta de investigación entre la Universitat de València y la fundación FISABIO, gestora de la investigación de la DGSP y otros centros sanitarios en la Comunitat Valenciana. Nuestro planteamiento es sencillo: al igual que en el caso del brote de hepatitis C, vamos a aplicar el análisis molecular, evolutivo y genético poblacional a microorganismos

mos infecciosos, tanto virus como bacterias, con dos objetivos básicos, ampliar nuestro conocimiento de cómo evolucionan estos patógenos y aplicarlo en la vigilancia epidemiológica y la resolución de brotes y casos de transmisión.

Los virus de RNA y muchas bacterias tienen tasas de mutación y evolución muy elevadas, lo que permite que se acumulen suficientes diferencias genéticas en sus genomas en tiempos muy cortos. El análisis de genes que evolucionan rápidamente o el de genomas completos permite la reconstrucción de las relaciones genealógicas entre los aislados obtenidos tanto de muestras clínicas como de fuentes ambientales o de otros orígenes. Con estos análisis hemos identificado el origen de varios brotes de distintos virus (VIH, VHA, VHB, Enterovirus, etc., ver, p.e., Patiño-Galindo *et al.* 2017) y bacterias, en especial de *Legionella pneumophila* (Coscollá *et al.* 2010; Sánchez Busó *et al.* 2016), si bien en la actualidad estamos estudiando brotes nosocomiales de otras bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* o *Serratia marcescens*.

Los estudios de brotes suelen tener gran repercusión tanto en los medios como para las autoridades sanitarias, pero las posibilidades que ofrece la epidemiología molecular van mucho más allá de esta aplicación concreta. Así, el estudio de los brotes de *L. pneumophila* en Alcoy (Sánchez-Busó *et al.* 2013) mediante la secuenciación de 69 genomas completos nos ofreció una visión muy novedosa de la dinámica evolutiva y epidemiológica de esta bacteria. Determinamos, por ejemplo, que casi el 98% de la variabilidad genética introducida en los últimos 20 años en las principales cepas responsables de esos brotes se debe a eventos de recombinación con otros linajes de *L. pneumophila* y no a eventos de mutación puntual. Además, esos eventos de recombinación no se producen al azar en el genoma de la bacteria, sino que se localizan en “zonas calientes” que han sido descritas con más precisión posteriormente. El estilo de vida intracelular de esta bacteria parece ser, en gran medida, el responsable de esta alta promiscuidad en el intercambio genético, que se extiende tanto a genes de origen eucariota así como a los procedentes de otras bacterias (Coscollá *et al.* 2011). En ese mismo estudio pusimos de manifiesto que las definiciones de brote pueden diferir según la perspectiva con que se estudien. En concreto, un brote en epidemiología se define por la acumulación extraordinaria de

casos en el espacio y el tiempo mientras que desde un punto de vista biológico definiríamos un brote por el origen común del organismo infeccioso que afecta a varias personas, por ejemplo. En el caso de Alcoy, probamos que *L. pneumophila* aisladas en un mismo brote podían tener distintos orígenes biológicos y que aislados de brotes diferentes podían ser más parecidos. Si esta situación se repite en otras localidades, y nada hace sospechar que no pueda suceder así, la investigación y determinación de la fuente o fuentes de los brotes de *Legionella* puede resultar mucho más compleja de lo que ya es.

Al comparar las secuencias genéticas de microorganismos de evolución rápida podemos estudiar otros aspectos más allá de su mayor o menor parecido o proximidad filogenética. Podemos, por ejemplo, estudiar qué factores y procesos evolutivos han actuado sobre sus poblaciones, separando el efecto de la selección del de la recombinación o determinando cuáles han sido las dianas sobre las que ha actuado la selección y en qué forma lo ha hecho (Patiño-Galindo y González-Candelas, 2017). También podemos analizar la dimensión temporal de los acontecimientos evolutivos. Cambiando de organismo, esto es lo que hemos hecho recientemente con la bacteria *Treponema pallidum*, causante de la sífilis (Arora *et al.* 2017). En un estudio pionero por haber analizado el genoma completo de un buen número de cepas no cultivadas de esta bacteria, al comparar los cambios genómicos de la subespecie *T. pallidum pallidum* con los de *T.p. pertenue* y *T.p. endemicum*, causantes de las treponemosis conocidas como pian y bejel, respectivamente, hemos revelado una división reciente en dos linajes (Nichols y SS14) producida a mitad del siglo XVIII. El segundo de estos linajes es el principal responsable de la expansión epidémica de esta bacteria en la actualidad, habiendo desarrollado resistencia al tratamiento con azitromicina a pesar de que no es el antibiótico de primera opción para esta infección. Desafortunadamente, los datos disponibles no nos permiten establecer una fecha y menos un lugar de origen para *T.p. pallidum*, por lo que uno de los grandes interrogantes de la historia de las enfermedades infecciosas aún está pendiente de resolver.

En la actualidad, nuestro grupo está ampliando las líneas de investigación ya apuntadas, siempre manteniendo nuestro interés en la dualidad de los resultados obtenidos. Por ejemplo, en el último proyecto para el que hemos

recibido financiación del MINECO (BFU2017-89594R) abordamos la epidemiología y evolución de la resistencia a antibióticos desde una perspectiva genómica. Nos centramos en *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEEs con el objetivo de secuenciar un número elevado (>2000) de aislados en hospitales de la CV en los próximos años. El proyecto se complementará con un análisis más detallado de los plásmidos presentes en estas bacterias y con estudios de evolución experimental, con los que nos proponemos indagar en las relaciones epistáticas entre las mutaciones responsables de la resistencia a distintos antibióticos así como en coexistencia con fagos (proyecto PROMETEO2016-122 de la Generalitat Valenciana). Seguimos, además, caracterizando la epidemiología molecular de infecciones de transmisión sexual (*Neisseria gonorrhoeae*, *T. pallidum* y *Chlamydia trachomatis*) a la vez que estamos iniciando una línea de trabajo en infecciones alimentarias (*Salmonella enterica* y *Campylobacter jejuni*). Por lo que respecta a la epidemiología y evolución de virus, nos centramos en la vigilancia epidemiológica de virus de la parotiditis y de hepatitis C y E, mientras mantenemos varias colaboraciones en estudios con VIH, VHC y citomegalovirus, entre otros. Podéis encontrar más información sobre nuestros proyectos, publicaciones y otras actividades en la web del grupo <https://www.uv.es/epimolecular/>

## REFERENCIAS

- Arora, N. *et al.* 2017. Origin of modern syphilis and emergence of a pandemic *Treponema pallidum* cluster. *Nature Microbiology* 2:16245.
- Coscollá, M. *et al.* 2010. Legionellosis outbreak associated with asphalt paving machine, Spain, 2009. *Emerging Infectious Diseases* 16(9): 1381-1387.
- Coscollá, M. *et al.* 2011. Quantifying Nonvertical Inheritance in the Evolution of *Legionella pneumophila*. *Molecular Biology and Evolution* 28(2): 985-1001.
- González-Candelas, F. *et al.* 2013. Molecular evolution in court: Analysis of a large hepatitis C virus outbreak from an evolving source. *BMC Biology* 11: 76.
- Patiño-Galindo, J.A.; González-Candelas, F. 2017. Comparative analysis of variation and selection in the HCV genome. *Infection, Genetics and Evolution* 49: 104-110.
- Patiño-Galindo, J.A. *et al.* 2017. The molecular epidemiology of HIV-1 in the Comunidad Valenciana (Spain): analysis of transmission clusters. *Scientific Reports* 7:11584.
- Sánchez-Busó, L. *et al.* 2014. Recombination drives genome evolution in outbreak-related *Legionella pneumophila* isolates. *Nature Genetics* 46(11): 1205-1211.
- Sánchez-Busó, L. *et al.* 2016. Genomic investigation of a legionellosis outbreak in a persistently colonized hotel. *Frontiers in Microbiology* 6: 1556.

# Identificación y Caracterización Molecular de Patógenos Bacterianos de Origen Animal (ICM)

Ana Isabel Vela, José Fco. Fernández-Garayzábal y Lucas Domínguez



Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET).  
Universidad Complutense, 28040 Madrid



Laboratorio de Taxonomía (Izda-Dcha):  
Lucas Domínguez, Leydis Zamora, José Francisco  
Fernández-Garayzábal, Irene Cerdá, Almudena  
Casamayor, Isabel Camacho, Elvira San Martín,  
Marta Pérez Sancho, Ana Isabel Vela, Elisa Pulido

Nuestro grupo de investigación comenzó a desarrollar su labor aproximadamente hace 20 años en el antiguo Departamento de Patología Animal I de la Facultad de Veterinaria de Universidad Complutense de Madrid. Actualmente todos sus miembros pertenecen al Departamento de Sanidad Animal y al grupo VISAVET de la UCM donde desarrollan su labor docente e investigadora. ICM está formado actualmente por los profesores Lucas Domínguez Rodríguez, José Francisco Fernández-Garayzábal Fernández y Ana Isabel Vela Alonso, dos contratados postdoctorales (Marta Pérez Sancho y Leydis Zamora Morales), dos Licenciados (Elvira San Martín y Luis Bouzo) y una técnico de laboratorio (Almudena Casamayor). Nuestro trabajo se centra de forma preferente en la investigación y en el desarrollo de tecnologías para el diagnóstico y control de enfermedades animales, especialmente zoonóticas, aunque esta dedicación no es exclusiva puesto que nuestro trabajo de investigación abarca otras áreas distintas,

como Salud Pública, Seguridad Alimentaria y Medio Ambiente. En conjunto ICM tiene una amplia experiencia en las siguientes líneas de investigación: a) Taxonomía y biodiversidad bacteriana, b) Diagnóstico clínico y caracterización molecular de bacterias patógenas de interés veterinario, c) Aplicación de MALDI TOF en el diagnóstico microbiológico clínico y en taxonomía.

## TAXONOMÍA BACTERIANA Y BIODIVERSIDAD

En el área de la taxonomía bacteriana, y en estrecha relación con el diagnóstico clínico, hemos identificado un total de 53 nuevos géneros o especies bacterianas aisladas a partir de diversos procesos clínicos en diferentes especies animales. Se ha abordado el estudio de nuevos patógenos bacterianos en distintas poblaciones animales que ha conducido al descubrimiento por parte de nuestro

grupo de nuevas especies y géneros bacterianos (*Streptococcus entericus*, *Corynebacterium aquilae*, *Corynebacterium testudinoris*, *Corynebacterium suicordis*, *Uruburuella suis*). Nuestras principales contribuciones han sido en el Género *Streptococcus*, *Corynebacterium* y en la Familia *Flavobacteriaceae*. En el primero de los géneros hemos descrito hasta la fecha 11 nuevas especies bacterianas. En el género *Corynebacterium* nuestras aportaciones han sido 7 nuevas especies. Respecto a la Familia *Favobacteriaceae*, nuestro trabajo se ha centrado en la descripción de nuevas especies encuadradas en géneros distintos (*Bergeyella*, *Flavobacterium* y *Chryseobacterium*). Nuestra contribución en este sentido asciende a un total de 12 especies. Asimismo, los estudios taxonómicos nos han permitido la asociación, en el ámbito veterinario, de ciertas especies bacterianas con nuevos procesos clínicos o la implicación de ciertas bacterias como patógenas en otras especies animales (por ejemplo *Weisella ceti*, *Globi-*

*catella sanguinis* o *Weissella confusa*). Finalmente hemos realizado estudios de diversidad centrándonos en la microbiota presente en distintas especies animales, tales como buitres, o aves de vida libre.

Publicaciones representativas del grupo en esta línea de investigación a lo largo de los tres últimos años:

- Morales-Covarrubias MS, Bolan-Mejía MC, Vela AI, Fernández-Garayzabal JF, Gómez-Gil B. *Streptococcus penaeicida* sp. nov., isolated from a diseased farmed Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). Int J Syst Evol Microbiol. IN PRESS
- Vela AI, Casas-Díaz E, Fernández-Garayzabal JF, Serrano E, Agustí S, Porrero MC, Sánchez del Rey V, Marco I, Lavín S, Domínguez L. Estimation of cultivable bacterial diversity in the cloacae and pharynx in Eurasian griffon vultures (*Gyps fulvus*). Microbiol Ecol. 69:597-607. 2015
- González-Braojos S, Vela AI, Ruiz-de-Castañeda R, Briones V, Cantarero A, Moreno J. Bacteria on nestling skin in relation to growth in pied flycatchers. J Ornithol. 156:327-30. 2015.
- Zamora L, Pérez-Sancho M, Fernández-Garayzabal JF, Orden Ja, Domínguez-Bernal G, De La Fuente R, Domínguez L, Vela AI. *Streptococcus ovuberis* sp. nov., isolated from a subcutaneous abscess in the udder of a sheep. Int J Syst Evol Microbiol. 7:4340-4. 2017.
- Zamora L, Domínguez L, Fernández-Garayzabal JF, Vela AI. *Bergeyella porcorum* sp. nov., isolated from pigs. Syst Appl Microbiol. 139:160-3. 2016.
- Vela AI, Mentaberre G, Lavín S, Domínguez L, Fernández-Garayzabal JF. *Streptococcus caprae* sp. nov., isolated from Iberian Ibex (*Capra pyrenaica hispanica*). Int J Syst Evol Microbiol. 66:196-200. 2016
- Vela AI, Perez Sancho M, Domínguez L, Busse H-J, Fernández-Garayzabal JF. *Pelistega suis* sp. nov., a new *Pelistega* species isolated from domestic and wild animals. Int J Syst Evol Microbiol. 65:4909-14. 2015
- Vela AI, Casas-Díaz E, Lavín S, Domínguez L, Fernández-Garayzabal JF. *Streptococcus pharyngis* sp. nov., a new streptococcal species isolated from the respiratory tract of wild rabbits. Int J Syst Evol Microbiol. 65:2903-7. 2015.
- Díaz-Delgado J, Sierra E, Vela AI, Domínguez L, Andrada M, Arbelo M, Fernández A. Endocarditis associated with *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica* in a short-beaked common dolphin (*Delphinus delphis*). J Wild Dis. 51:283-6 2015.

## DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS PATÓGENAS DE INTERÉS VETERINARIO

En esta línea de trabajo trabajamos fundamentalmente con bacterias patógenas responsable de diferentes procesos clínicos en animales. Así hemos centrado nuestros esfuerzos en enfermedades que afectan al ganado ovino (como la mamitis clínica y

subclínica), al ganado porcino (centrándonos en el estudio de procesos respiratorios y meningitis), en el campo de la acuicultura (investigando distintos aspectos de patologías como la lactococosis, la enfermedad de la boca roja, la forunculosis o la vibriosis de animales marinos). El grupo ha destacado internacionalmente en las investigaciones realizadas en mastitis de ganado ovino, en el diagnóstico de enfermedades infecciosas de animales salvajes y exóticos, así como en procesos bacterianos en ganado porcino y peces. En esta línea de investigación, utilizamos diferentes técnicas de caracterización genética (PFGE, MLST, VNTR, RAPD) para el tipado de patógenos bacterianos de gran importancia para Salud Pública o Sanidad Animal. La aplicación de estas técnicas genéticas nos ha permitido estudiar la diversidad de la población de distintos microorganismos, como por ejemplo, conocer la posible existencia de relaciones clonales entre aislados de una misma especie bacteriana y analizar sus implicaciones epidemiológicas. Así, hemos trabajado con diferentes poblaciones bacterianas trazando vínculos epidemiológicos entre cepas aisladas de animales procedentes del mismo brote de enfermedad (*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*) o realizando estudios epidemiológicos globales (*Pseudomonas anguilliseptica*, *Yersinia ruckeri*, *Listeria monocytogenes*, *Lactococcus garviae*, *Streptococcus suis*).

Publicaciones representativas del grupo en esta línea de investigación a lo largo de los tres últimos años:

- García-Alvarez A, Vela AI, San Martín E, Chaves F, Fernández-Garayzabal JF, Domínguez L, Cid D.** Characterization of *Pasteurella multocida* associated with ovine pneumonia using multi-locus sequence typing (MLST) and virulence-associated gene profile analysis and comparison with porcine isolates. Vet. Microbiol. 204:180-7. 2017
- Zheng H, Du P, Qiu X, Kerdsin A, Roy D, Bai X, Xu J, Vela AI, Gottschalk M.** Genomic comparisons of *Streptococcus suis* serotype 9 strains recovered from diseased pigs in Spain and Canada. Vet Res. 49:1-13. 2018.
- Poirer L, Kieffer N, Fernandez-Garayzabal JF, Vela AI, Larpin Y, Nordmann P.** MCR-2-mediated plasmid-borne polymyxin resistance most likely originates from *Moraxella pluranimalium*. J Antimicrob Chemother. 72:2947-9. 2018
- Bustos CP, Guida N, Casamayo A, Muñoz AJ, Fernández-Garayzabal JF, Vela AI.** First report of molecular characterization of Argentine isolates of *Streptococcus equi* subsp. *equi*. by pulsed-field gel electrophoresis. J Equine Vet Sci. 53 30-37. 2017.

- Sánchez del Rey V, Fernández-Garayzabal, JF, Gottschalk M, Domínguez L, Vela AI.** Screening of virulence-associated genes as a molecular typing method for characterization of *Streptococcus suis* isolates recovered from wild boars and pigs. Vet J. 209:108-12. 2016
- Díaz-Delgado J, Sierra E, Vela AI, Arbelo M, Zucca D, Groch KR, Fernández A.** Coinfection by *Streptococcus phocae* and cetacean morbillivirus in a short-beaked 2 common dolphin (*Delphinus delphis*). Dis Aquatic Org. 124:247-52. 2017
- Vela AI, Villalón P, Sáez-Nieto JA, Chacón G, Domínguez L, Fernández-Garayzabal JF.** Characterization of *Streptococcus pyogenes* from Animal Clinical Specimens, Spain. Emerg Infect Dis. 23:2013-6. 2017.
- Díaz-Delgado J, Manuel A, Sierra E, Vela AI, Domínguez M, Paz Y, Andrada M, Domínguez L, Fernández A.** Fatal *Erysipelothrix rhusiopathiae* septicemia in an Atlantic spotted dolphin (*Stenella frontalis*) and an Atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) "Erysipelas in dolphins". Dis Aquatic Org. 116:75-81. 2015
- Cardoso-Toset F, Gómez-Laguna J Amarilla SP, Vela AI, Carrasco L, Fernández-Garayzabal JF, Astorga RJ, Luque I.** Multi-etiological nature of tuberculosis-like lesions in condemned pigs at the slaughterhouse. PLOS ONE. 10(9):e0139130. 2015.

## APLICACIÓN DE LA TÉCNICA MALDI TOF/TOF EN EL CAMPO DE LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA Y LA AGROALIMENTACIÓN

Esta línea de investigación es de las más recientes, comenzando en el año 2013 con la adquisición de una plataforma MALDI TOF/TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization y Time-Of-Flight). Esta plataforma de espectrometría de masas consta de tres aplicaciones multidisciplinares: identificación de microorganismos, MALDI Imaging y LC-MALDI (Proteómica/Metabolómica). La técnica MALDI-TOF se ha aplicado de manera tradicional para estudios de proteómica como la identificación y caracterización de proteínas de interés. En los últimos años, se ha demostrado la enorme utilidad que tiene esta técnica analítica en el campo de la microbiología tanto para la identificación como para la caracterización de microorganismos, fundamentalmente, bacterias y hongos. La técnica MALDI-TOF la estamos utilizando, además de en el diagnóstico microbiológico clínico (para la diferenciación de subespecies de distintas bacterias, tales como *Photobacterium damsela*), como herramienta en taxonomía bacteriana para la diferenciación e identificación de nuevas especies bacterianas, tales como *Jeotgalibaca porci* o *Streptococcus ovuberis*.

Publicaciones representativas del grupo en esta línea de investigación a lo largo de los tres últimos años:

**Pérez-Sancho M, Vela AI, Kostrzewa M, Zamora L, Casamayor A, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF.** First analysis by MALDI-TOF MS technique of *Chryseobacterium* species relevant to aquaculture. *J. Fish Dis.* 41:389-92. 2018.

**Pérez-Sancho M, Vela AI, Wiklund T, Kostrzewa M, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF.** Differentiation of *Flavobacterium psychrophilum* from *Flavobacterium psychrophilum*-like species by MALDI-TOF mass spectrometry. *Res. Vet. Sci.* 115:345-52. 2017.

**Pérez-Sancho M, Vela AI, García-Seco T, González S, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF.** Usefulness of MALDI-TOF MS as a Diagnostic Tool for the Identification of *Streptococcus* Species Recovered from Clinical Specimens of Pigs. *PLoS One.* 12:e0170784. 2017.

**Pérez-Sancho M, Vela AI, Awad MA, Kostrzewa M, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF.** Differentiation of *Photobacterium damsela* subspecies using Matrix-Assisted Laser-Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) in fish isolates. *Aquaculture.* 464:159-64. 2016.

**Pérez-Sancho M, Vela AI, García-Seco T, Gottschalk M, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF.** Assessment of MALDI-TOF MS as alternative tool for *Streptococcus suis* identification. *Front. Public Health* 3:202. 2015.

En estas líneas de investigación, ICM colabora con varios grupos de investigación nacionales e internacionales, además de con varias empresas:

- Dr. J.J. Soler. Universidad Granada: Diversidad microbiana
- Dr. J. Fernández. Hospital Central Universitario, Asturias. Diversidad microbiana
- Dr. M. Gottschalk. University of Montreal, Quebec, Canada. Diversidad Microbiana
- Dr. J. Moreno. Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC. Madrid. Diversidad microbiana
- Dra. M.S. Morales-Covarrubias. A.C. Mazatlán Unit for Aquaculture, Sinaloa, Mexico. Taxonomía bacteriana
- Prof. A. Ventosa. Universidad de Sevilla. Taxonomía bacteriana
- Profa. C. Tarradas. Universidad de Córdoba. Diversidad microbiana

- Dr. E. Moore. University of Gothenburg, Suecia. Taxonomía bacteriana
- Dr. H.-J. Busse. Universität Wien. Austria. Taxonomía bacteriana
- Dr. J.A. Sáez-Nieto. Diversidad microbiana y Taxonomía bacteriana
- Dr. T. Wiklund. Åbo Akademi University, Artillerigatan Finland. MaldiTof.
- Exopol. (Zaragoza). Diagnóstico y Diversidad microbiana
- Piszolla S.L. (Salamanca): Taxonomía bacteriana, Diagnóstico y Diversidad microbiana
- Grupo Dibaq (Segovia) y Exopol (Zaragoza): Diagnóstico y Diversidad microbiana
- Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany. Maldi-Tof

## Nuevos socios de la SEM

- Abreu Yanes, Estefanía
- Albert Sola, Manuel
- Alonso Fernandes, Elena
- Barreiro Méndez, Carlos
- Buruaga Ramiro, Carolina
- Cabaleiro Amil, Juan Manuel
- Cabañas Romero, Lourdes Verónica
- Cea Sánchez, Sara
- Celada Crespo, Lucía
- Correa Galeote, David
- de Pedro Jové, Roger
- Delgado Martín, Josemaría
- Encinar del Dedo, Javier
- Espejo Serrano, Carmen
- Fernández Cantos, María Victoria
- Fernandez Cassi, Xavier
- Fernández Escámez, Pablo
- Fernández Fernández, Rosa
- Fernández Morales, Ana
- Fillol Homs, Mireia
- Galván Romero, Ana Isabel
- García Fernández, Beatriz
- Gómez Torres, Natalia
- González Garrido, Cristina
- González Serrano, Rafael
- Haro Moreno, Jose Manuel
- Heredia Barroso, Abel
- Hernández Bolaños, Eduardo Antonio
- Jabalera Ruz, Ylenia María
- Jorda Moret, Jaume Vicent
- Libkind, Diego
- Liébana García, Rebeca
- Marchesini Tovar, Giuseppina
- Margalet Català, María del Mar
- Marín Orensa, Clara
- Molina Menor, Esther
- Montesdeoca Flores, David Tomás
- Morena Gatiús, Angela Gala
- Núñez Nepomuceno, David
- Ruiz Dueñas, Francisco Javier
- Sánchez León, Irene
- Sans Català, Ariadna
- Sastre Gallard, Martín
- Soder Walz, Jesica Maiara
- Tascón Márquez, Delia
- Vázquez Merchán, Almudena
- Vega, Santiago
- Velasco Rodríguez, Oscar

Altas desde el 25/05/2017 hasta 09/11/2017

# Taxonomía de bacterias patógenas inusuales, emergentes, atípicas y de difícil identificación

Juan Antonio Sáez Nieto y Sylvia Valdezate

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



Laboratorio de Taxonomía (Izda-Dcha):  
Pilar Villalón, M<sup>a</sup> Jose Medina,  
Miguel Angel Fernandez Torres,  
Juan Antonio Sáez Nieto, Sylvia Valdezate,  
Gema Carrasco, Noelia Garrido

El Laboratorio de Taxonomía (desde 1996, fecha de su creación) se enmarca en las actividades de diagnóstico, referencia e investigación del Área de Bacteriología del Centro Nacional de Microbiología. Así, se reciben cepas bacterianas y muestras para diagnósticos especiales de 270 laboratorios de microbiología de hospitales, delegaciones territoriales de salud, departamentos universitarios y de otros centros de investigación. Las actividades desarrolladas son: identificación fenotípica y genotípica de especies bacterianas productoras de patología humana 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 integra el laboratorio de Referencia Nacional de estreptococos  $\beta$ -hemolíticos, en el cual se desarrollan las siguientes actividades: vigilancia microbio-

lógica de las cepas de *Streptococcus pyogenes* (SGA) y otros estreptococos  $\beta$ -hemolíticos (grupos, C y G), productoras de cuadros invasivos graves y otros síndromes; determinación de serotipos, susceptibilidad a los antibióticos 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*, *hps65*, *secA1*, *tuf*, *rpoD*, y otros genes metabólicos

housekeeping” integrados en los diferentes esquemas de MLST “multilocus sequence typing, genes codificantes de neurotoxinas de *Clostridium botulinum* y *Clostridium perfringens* y otros genes de virulencia.

- Caracterización molecular (brotes y estudios de poblaciones): identificación de genotipos mediante electroforesis en campo pulsado (PFGE); “Multilocus sequence-typing” (MLST); Multilocus variable number tandem analysis” (MLVA).
- Estudio fenotípico y genotípico de la resistencia a antibióticos: antibiograma (E-test, difusión en disco, dilución en placa y microdilución); genes de resistencia a  $\beta$ -lactámicos, macrólidos, aminoglicósidos, quinolonas, tetraciclinas, glicopéptidos, principalmente.
- Diagnóstico y detección de los serotipos de *Clostridium botulinum*: tipado y subtipado de neurotoxinas

- Análisis y secuenciación de genomas completos en cepas de *Nocardia*, *Burkholderia*, *Xanthobacter*, *Paenibacillus* y *Saezia*.

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

- Pruebas bioquímicas convencionales, paneles de identificación fenotípica y molecular del género *Streptococcus* (94 especies).
- Aglutinación del latex con serogrupo-específicos para la determinación del grupo de Lancefield ( $\beta$ -hemolíticos)
- Secuenciación del gen *emm* (tipos de la proteína M) y detección de genes de toxinas y superantígenos de SGA (*speA*, *speB*, *speC*, *speF*, *speG*, *speJ*, *speH*, *smeZ* y *ssa*).
- Estudio de brotes por PFGE y MLST.
- Sensibilidad a antimicrobianos (E-test) y fenotipos de resistencia a macrólidos (DDS).
- Detección de genes de resistencia a macrólidos, tetraciclina (*erm*, *msr*, *mef*, *tetM*, *tetO*).

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

- a. Caracterización de nuevas especies implicadas en infección humana

Desde 1996 en el que se creó el grupo hasta la actualidad se han estudiado 15.000 cepas aisladas de infección y de muestras ambientales relacionadas con brotes. Las cepas pertenecieron a 168 géneros y 501 especies de gram-negativas y 127 géneros y 656 especies de gram-positivas. De estas, 155 cepas pertenecientes a los phyla: *Proteobacteria*, ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* y *Synergistetes*) no se adscribieron a los géneros y/o especies existentes. Por lo que englobarían a posibles nuevas especies implicadas en infección humana. Actualmente el grupo esta investigación las cepas candidatas a nuevas especies de *Bacillus sp.*, *Paeniba-*

*cillus sp.* y géneros afines a *Nocardia* (*Actinomadura*, *Streptomyces* y *Actinomyces*). En gram-negativos se investigan nuevas especies de *Acinetobacter*, *Ralstonia* y *Chryseobacterium*,. Así como en géneros poco habituales en infección humana como: *Paracoccus*, *Brevundimonas*, *Xanthobacter* y otros ( $\alpha$ -*Proteobacteria*), *Massilia*, *Ottowia* ( $\beta$ -*Proteobacteria*), *Pseudoxanthomonas*, *Idiomarina* ( $\gamma$ -*Proteobacteria*). Recientemente el grupo ha descrito un nuevo Género perteneciente a  $\beta$ -*proteobacteria*, aislado de un hemocultivo, en el Hospital Clínico de San Carlos de Madrid: "*Saezia sanguinis*" así como 11 nuevas especies del género *Paenibacillus*, aisladas de muestras clínicas en diversos hospitales. Actualmente se analiza el genoma completo de diversas candidatas a nuevas especies de *Paenibacillus*, *Xanthobacter* y *Saezia* (género descrito en nuestro laboratorio recientemente).

- b. Filogenia de los géneros *Nocardia* y *Brucella*

Actualmente se realiza 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*, así como de otras especies. Otro aspecto importante que se ha desarrollado es el estudio de caracterización molecular de cepas de *Nocardia* con elevada resistencia a antimicrobianos.

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 HOO-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; predominando el genotipo 42, del grupo Mediterráneo Este.

## BIBLIOGRAFIA RECIENTE DEL GRUPO

- M.I. de Garnica, J.A. Sáez-Nieto, R. Gonzalez, J.A. Santos, C. Gonzalo.** Diversity of gran-positive catalase-negative cocci in sheep bulk tan by comparative 176s rDNA sequence analysis. INTERNATIONAL DAIRY JOURNAL 2014; 34: 142-145. doi:10.1016/j.igairyj.2013.08.002
- M.J. Medina-Pascual, S. Valdezate, G. Carrasco, P. Villalon, N. Garrido, J.A. Sáez Nieto.** Increase of isolation of *Burkholderia contaminans* from Spanish patients with cystic fibrosis. CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTION 2015; 21:150-156. doi: 10.1016/j.cmi.2014-07-014
- G. Carrasco, S. Valdezate, N. Garrido, M.J. Medina-Pascual, P. Villalon, J.A. Sáez Nieto.** *gyrB* as a tool for identifying *Nocardia species* and exploring their phylogeny. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY 2015; 53: 997-1001. doi:11.1128/JCM.03072-14
- P. Villalon, S. Valdezate, T. Cabezas, Ana Vindel, M.J. Medina Pascual, N. Garrido, M. Ortega, J.A. Sáez Nieto.** Endemic and epidemic *Acinetobacter baumannii*: a twelve-year study in a tertiary care hospital. BMC MICROBIOLOGY 2015; 15:47. doi:10.1186/S12866-015-0383-Y
- S. Valdezate, N. Garrido, G. Carrasco, P. Villalon, M.J. Medina, J.A. Saez Nieto.** Resistance gene pool to co-trimoxazole in non-susceptible *Nocardia* strains. FRONTIERS IN MICROBIOLOGY 2015; 6:376. doi:10.3389/fmicb.2015.00376
- J.A. Sáez Nieto, S. Valdezate, M.J. Medina, G. Carrasco, N. Garrido, P. Villalon.** Taxonomía polifásica de bacterias patógenas y ambientales relacionadas con casos de infección(2012-2014). MONOGRAFÍAS DE BACTERIOLOGÍA. CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA, ISCIII. 2015 Vol. 3 Pag. 1-75.
- G. Carrasco, J.D. Caballero, N. Garrido, S. Valdezate, R. Canton, J.A. Saez-Nieto.** Shortcomings of the comercial MALDI-TOF database and use of MLSA as an arbiter in the identification of *Nocardia species*. FRONTIERS IN MICROBIOLOGY http://idex.doi.org/10.3389/fmicb/2016.00542.
- F. Traverso, A. Blanco, P. Villalon, N. Beratz, J.A. Saez Nieto, Horacio Lopeardo,** National Collaborative group for the study of streptococci and related bacteria. Molecular characterization of invasive *Streptococcus dysgalaciae subsp. equisimilis*. Multicenter study: Argentina 2011-2012.REVISTA ARGENTINA DE MICROBIOLOGIA 2016; 48:279-289. 10.1016/j.ram.2016.07.001.
- S. Valdezate, N. Garrido, G. Carrasco, Mª Jose Medina-Pascual, P. Villalon, A. M. Navarro, J.A. Sáez Nieto.** Epidemiology and susceptibility to antimicrobial agents of the main *Nocardia species* in Spain. JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY. 2017; 72:754-761. doi: 10.1093/jac/dkw.489.
- J.A. Sáez Nieto, M.J. Medina-Pascual, G. Carrasco, N. Garrido, M.A. Fernandez-Torres, P. Villalon, S. Valdezate.** *Paenibacillus spp.* isolated from human and environmental samples in Spain. Detection of eleven new species. NEW MICROBES AND NEW INFECTIONS 2017; 19:19-27. doi: 10.1016/j.nmni.2017.05.006
- J.A. Sáez Nieto, S. Valdezate, M.J. Medina, G. Carrasco, N. Garrido, P. Villalon.** Taxonomía

polifásica de bacterias patógenas y ambientales relacionadas con casos de infección(2015-2017). MONOGRAFÍAS DE BACTERIOLOGÍA. CENTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA, ISCIII. 2018; Vol. 4 Pag. 1-80.

**A.I. Vela, P. Villalon, J.A. Saez Nieto, G. Chacon, L. Dominguez, J.F. Fernandez-Garaizabal.** Detection

and characterization of *Streptococcus Pyogenes* from animal clinical specimens. EMERG INFECT DIS 2017; 23: 2011-2016.

**S. Valdezate, S. Monzon, N. Garrido, A. Zaballos, M.J. Medina Pascual, UJM Azcona-Gitierrez, B. Villar.** First insight into the genome sequences of two linezolid-resistant *Nocardia farcinica* strains isolated

from patients with cystic fibrosis. GENOME ANNOUNCEMENT 2017; 16:5 (46).

**G. Carrasco, S. Monzon, P. Jimenez, I. Cuesta, J. Bartolome-Alvarez, S. Valdezate.** First draft genome sequence of a clinical strain of *Nocardia cerradoensis*. GENOME ANNOUNCEMENT 2017; 28; 5 (39).

## Ecología microbiana molecular: explorando la diversidad procariótica y vírica de ambientes hipersalinos y marinos

Borja Aldegue-Riquelme, Pepa Antón\*, Inmaculada García-Heredia, María Gomariz, Cristina López, Mónica Lluesma, Lucía Maestre, Ana B. Martín-Cuadrado, Manuel Martínez-García, Fran Martínez-Hernández, Fernando Santos, Esther Rubio-Portillo, Loles Ramos-Barbero, Judith Villamor



Grupo de Ecología Microbiana Molecular, Departamento de Fisiología, Genética y Microbiología, Universidad de Alicante, Carretera de San Vicente s/n, 03690 Sant Vicent del Raspeig, Alicante



Miembros del grupo de Ecología Microbiana Molecular desde sus inicios hasta la actualidad, ordenados cronológicamente. De izquierda a derecha empezando por la fila superior: Pepa Antón, Fernando Santos, Arantxa Peña, Lenin Maturrano, Manuel Martínez-García, Mehmet Burçin Mutlu, Cristina López, Débora Nercessian, María Gomariz, Ines Boujelben, Inmaculada Meseguer, Esther Rubio-Portillo, Judith Villamor, Ece Albayrak, Pedro González-Torres, Loles Ramos-Barbero, Nuria Sarrias, Borja Aldegue-Riquelme, Mónica Lluesma, Fran Martínez-Hernández, Ana B. Martín-Cuadrado, Inmaculada García-Heredia y Lucía Maestre.

### PRESENTACIÓN DEL GRUPO

El grupo de Ecología Microbiana Molecular de la Universidad de Alicante empezó a funcionar en 1999, cuando estaba constituido por un par de estudiantes de doctorado recién licenciados, Fernando Santos y Arantxa Peña, y su fundadora, Pepa Antón que acababa de obtener su plaza de profesora titular de Microbiología. Poco después el grupo consiguió sus primeros proyectos financiados (uno de ellos coordinado con Ramon Rosselló-Móra, del IMEDEA, con el que desde entonces mante-

nemos una fructífera y estable colaboración) y se incorporaron al mismo dos nuevos estudiantes, Lenin Maturrano y Manuel Martínez García, que empezaron también a desarrollar sus tesis doctorales. Estas cuatro primeras tesis (de Fernando, Lenin, Arantxa, y Manuel) fueron la semilla de lo que luego serían nuestras principales líneas de investigación durante gran parte de nuestra trayectoria: virus en ambientes hipersalinos, diversidad procariótica de ambientes hipersalinos, *Salinibacter ruber* y microbiota de invertebrados marinos, respectivamente.

Durante estos casi 20 años de trayectoria, son muchos los investigadores que han pasado por nuestro grupo para realizar estancias cortas o hacer sus tesis doctorales (la figura 1 muestra a gran parte de ellos), además de numerosos estudiantes que han llevado a cabo con nosotros sus DEAs, TFMs y TFGs. Algunos de los miembros iniciales siguen en el grupo y ya han empezado a formar sus grupos independientes pero todavía englobados en el de Ecología Microbiana Molecular, ya que una parte esencial de nuestra labor científica se basa en la cooperación y la optimización de

recursos. Los componentes del grupo en la actualidad son los firmantes de este resumen, que aparecen ordenados alfabéticamente.

## PRINCIPALES LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN Y COLABORACIONES DEL GRUPO

En general, nuestra investigación se centra en la caracterización de la microbiota, virus incluidos, de distintos tipos de ambientes marinos e hipersalinos por lo que se engloba dentro del campo de la Ecología Microbiana. Las distintas líneas tienen en común el desarrollo y aplicación de herramientas independientes de cultivo, normalmente moleculares, que permiten eludir las bien conocidas limitaciones de la denominada “gran anomalía del recuento en placa” cuando se pretende caracterizar comunidades naturales e interacciones virus-hospedador. Ejemplos de este tipo de herramientas desarrolladas por nuestro grupo son la puesta a punto de protocolos de CARD-FISH para ambientes hipersalinos, la clonación de genomas víricos completos en fósidos, el uso de microarrays para el estudio de la expresión vírica, la identificación de pares virus-hospedador y, más recientemente, la optimización de protocolos de *single virus genomics*, liderada por M. Martínez-García. En la actualidad, el grupo está desarrollando protocolos que combinan técnicas de metagenómica y microfluídica para, entre otros objetivos, caracterizar las interacciones virus-hospedador en ambientes naturales.

No quiere esto decir que despreciemos el cultivo. De hecho, la recuperación en cultivo de microorganismos ecológicamente relevantes es también uno de nuestros objetivos. Fue precisamente el descubrimiento y aislamiento en cultivo puro del halófilo extremo *S. ruber*, el primer representante descrito del dominio Bacteria con relevancia ecológica en ambientes cercanos a saturación, el punto de partida del grupo de investigación y lo que le permitió obtener su primera financiación. Posteriormente, hemos cultivado otras bacterias abundantes y ampliamente distribuidas en ambientes hipersalinos, tales como *Salicola* spp. (descubierta en las salinas de Maras en los Andes peruanos) o los nuevos *Bacteroidetes* hiperha-

lófilos y marinos que estamos aislando de las salinas de Bras del Port en Santa Pola.

Como se ha comentado anteriormente, colaboramos con el grupo del Dr. Ramon Rosselló-Móra, en el IMEDEA (CSIC-UIB) desde hace 20 años. De hecho, Ramon estuvo implicado en el descubrimiento de *S. ruber* en el verano de 1998 en el grupo del Dr. Rudi Amann, con el que también hemos seguido colaborando posteriormente, en el Instituto Max-Planck de Microbiología Marina en Bremen. Desde el año 2000, hemos venido recibiendo financiación ininterrumpida del estado español para nuestros proyectos coordinados, a los que se ha incorporado Eduardo González-Pastor hace 5 años.

La línea de estudio de la microbiota de invertebrados marinos ha sido posible gracias a la participación del Dr. Ramos, biólogo marino de la Universidad de Alicante, con el que también colaboramos desde el inicio de nuestra actividad investigadora.

Otras colaboraciones relevantes han sido las del Dr. Parro, implicado en el desarrollo de microarrays para el estudio de interacciones virus-hospedador, los Dres. Dopazo y Gabaldón, con los que nos iniciamos en el estudio de la genómica de *S. ruber*, o las del grupo de la Dra. Ascaso, que ha contribuido mediante el uso de la microscopía electrónica al análisis de la microbiota de los corales.

Una descripción más detallada de las actividades del grupo, sus colaboraciones con otros grupos y los proyectos financiados se puede encontrar en: <https://web.ua.es/es/emm/presentacion/presentacion-grupo-de-investigacion-ecologia-microbiana-molecular.html>

## PRINCIPALES CONTRIBUCIONES DEL GRUPO EN LOS ÚLTIMOS 10 AÑOS (EN SU CASO, SE INDICA LA TESIS DOCTORAL ASOCIADA)

Villamor J, Ramos-Barbero MD, González-Torres P, Gabaldón T, Rosselló-Móra R, Meseguer I, Martínez-García M, Santos F, Antón J. (2017). Characterization of ecologically diverse viruses infecting co-occurring strains of cosmopolitan hyperhalophilic

*Bacteroidetes*. ISME J 12:424-437. (Tesis de Judith Villamor).

Martínez-Hernández F, Fornas O, LluésmaM, Bolduc B, de la Cruz MJ, Martínez JM, Antón J, Gasol JM, Rosselli R, Rodríguez-Valera F, Sullivan M, Acinas SG, Martínez-García M. (2017). Single-virus genomics reveals hidden cosmopolitan and abundant viruses. Nat Com 8: 15892. (Tesis de Fran Martínez).

Rubio-Portillo E, Santos F, Martínez-García M, de los Ríos A, Ascaso C, Souza-Egipsy V, Ramos-Esplá AA, Antón J. (2016). Structure and temporal dynamics of the bacterial communities associated to microhabitats of the coral *Oculina patagonica*. Environ Microbiol. 18: 4564 - 4578. (Tesis de Esther Rubio).

Gomariz M, Martínez-García M, Santos F, Constantino M, Meseguer I, Antón J. (2015) Retinal-binding proteins mirror prokaryotic dynamics in multi-pond solar salterns. Environ Microbiol 17: 514 - 526. 2015. (Tesis de María Gomariz).

González-Torres P, Prysacz LP, Santos F, Martínez-García M, Gabaldón T, Antón J. (2015). Interactions between closely related bacterial strains revealed by deep transcriptome sequencing. App Environ Microbiol. 81: 8445 - 8456. (Tesis de Pedro González).

Gomariz M, Martínez-García M, Santos F, Rodríguez F, Capella-Gutiérrez S, Gabaldón T, Rosselló-Móra R, Meseguer I, Antón J. (2015). From community approaches to single-cell genomics: the discovery of ubiquitous hyperhalophilic *Bacteroidetes* generalists. ISME J 9: 16 - 31. (Tesis de María Gomariz).

Martínez-García M, Santos F, Moreno-Paz M, Parro V, Antón J. (2014). Unveiling viral-host interactions within the ‘microbial dark matter’. Nat Com 5: 4542.

Rubio-Portillo E, Yarza P, Peñalver C, Ramos-Esplá AA, Antón J. (2014). New insights into *Oculina patagonica* coral diseases and their associated *Vibrio* spp. communities. ISME J 8: 1794-1807. (Tesis de Esther Rubio).

Santos F, Yarza P, Parro V, Meseguer I, Roselló-Móra R, Antón J. (2012). Culture-independent approaches for studying viruses from hypersaline environments. Appl Environ Microbiol 78: 1635 - 1643.

Santos F, Moreno-Paz M, Meseguer I, López C, Roselló-Mora R, Parro V, Antón J. (2011). Metatranscriptomic analysis of extremely halophilic viral communities. ISME J 5: 1621-1633. (Tesis de Fernando Santos).

Peña A, Teeling H, Huerta-Cepas J., Santos F, Yarza P, Brito-Echeverría J., Lucio M., Schmitt-Kopplin P., Meseguer I., Schenowitz C., Dossat C., Barbe V., Dopazo J, Rosselló-Móra R, Schüller M, Glöckner FO, Amann R, Gabaldón T, Antón J. (2010). Fine-scale evolution: genomic, phenotypic and ecological differentiation in two coexisting *Salinibacter ruber* strains. ISME J 4: 882 - 895. (Tesis de Arantxa Peña).

Santos F, Yarza P, Parro V, Briones C, Antón J. (2010). The metavirome of a hypersaline environment. Environ Microbiol 12: 2965 - 2976. (Tesis de Fernando Santos).

Martínez-García M, Stief P, Díaz-Valdés M, Wanner G, Ramos-Esplá A, Dubilier N, Antón J. (2008). Ammonia-oxidizing Crenarchaeota and nitrification inside the tissue of a colonial ascidian. Environ Microbiol 10: 2991 - 3001. (Tesis de Manuel Martínez).

# Ecología Microbiana, Genómica y Sistemática Bacteriana

Martha E. Trujillo, Patricia Benito, Brenda Román, Lorena Carro, Raúl Riesco e Irene Moro



Departamento de Microbiología y Genética, Edificio Departamental, Campus Miguel de Unamuno, Universidad de Salamanca, Salamanca, Spain



Figura 1. Miembros del grupo. De izquierda a derecha: Irene Moro, Brenda Román, Raúl Riesco, Lorena Carro, Martha E. Trujillo y Patricia Benito.

Nuestro Grupo de Investigación Reconocido (GIR) de la Universidad de Salamanca "Ecología y Biotecnología Microbiana" es dirigido por la doctora Martha E. Trujillo Toledo profesora del departamento de Microbiología y Genética de la Universidad de Salamanca y editora en jefe de la reputada revista *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. El grupo profundiza en el estudio del género *Micromonospora* y actualmente estamos llevando a cabo dos líneas de investigación: la primera centrada en el rol ecológico de *Micromonospora* y su interacción con diferentes leguminosas; y la segunda dirigida a estudios genómicos y de sistemática bacteriana.

El género *Micromonospora* descrito por primera vez en 1923 por Ørskov, es un grupo de actinobacterias Gram-positivas que en la actualidad está representado por 82 especies reconocidas oficialmente. Este género se ha aislado de diferentes hábitats naturales incluyendo ambientes acuáticos, marinos, suelos, manglares, animales y tejidos de plantas. Diversos estudios realizados en nuestro laboratorio han demostrado la presencia de *Micromo-*

*nospora* en nódulos fijadores de nitrógeno de plantas actinorrizas, pero sobre todo de nódulos de diferentes leguminosas procedentes de climas templados y tropicales. En 2007 nuestro grupo publicó el primer aislamiento de *Micromonospora* procedente de nódulos de altramuza (*Lupinus angustifolius*), creyendo en un primer momento que era una contaminación debida a una inadecuada esterilización de los nódulos. Este hallazgo fue muy importante debido a que se consideraba que únicamente bacterias del género *Frankia* y del grupo de los rhizobia eran los únicos microorganismos que habitaban en el interior de nódulos de fijación de nitrógeno de plantas actinorrizas y leguminosas respectivamente, donde llevan a cabo la fijación de nitrógeno como endosimbiontes. Desde entonces diferentes cepas de *Micromonospora* se han aislado de gran variedad de plantas, no solo de nódulos fijadores de nitrógeno, sino también de rizosfera y otras zonas de la fisiología de la planta. A lo largo de nuestra trayectoria de trabajo hemos descrito alrededor de 13 especies pertenecientes a dicho género, entre las que se incluyen a *M. saelicesensis* Lupac 09<sup>T</sup> y *M. lupini* Lupac 14N<sup>T</sup> aisladas de nódulo-

los de altramuza azul, *Micromonospora ureilytica* GUI23<sup>T</sup> y *Micromonospora noduli* GUI43<sup>T</sup> procedentes de nódulos de guisante, *M. cremaea* CR30<sup>T</sup>, *Micromonospora halotolerans* CR18<sup>T</sup> y *M. zamorensis* CR38<sup>T</sup> obtenidas de rizosfera de guisante. Nuestro grupo también ha participado en varios proyectos taxonómicos con investigadores nacionales e internacionales, gracias a los cuales se han descrito nuevas especies de géneros diferentes a *Micromonospora* como *Kribbella lupini* LU14<sup>T</sup> aislada de raíces de altramuza azul, *Promicromonospora kroppenstedtii* RS16<sup>T</sup> aislada de suelo arenoso, *Auraticoccus monumenti* MON 2.2<sup>T</sup> aislado de monumentos históricos, *Microbacterium diaminobutyricum* RZ63<sup>T</sup> y *Microbacterium proteolyticum* RZ36<sup>T</sup> procedentes de raíces de la planta halófila *Halimione portulacoides*, *Epidermidibacterium keratini* EPI-7<sup>T</sup> aislado de epidermis humana o *Modestobacter caceresii* KNN 45-2b<sup>T</sup> y *Pseudonocardia nigra* ATK03<sup>T</sup> procedentes de suelo y rocas del desierto de Atacama. A pesar del gran número de bacterias descritas por el grupo, hoy en día tenemos una colección de cerca de 4.000 cepas que, congeladas, están a la espera de ser estudiadas.

En la actualidad nuestro grupo está apostando fuertemente por la secuenciación de genomas completos y su utilización, no solo para determinar las cualidades y propiedades de los microorganismos, sino para la descripción de nuevas especies. Esto es debido a que la implementación de tecnologías de secuenciación de genomas completos hace posible obtener información que las pruebas fenotípicas son incapaces de aportar, aumentando nuestro conocimiento de los procesos evolutivos y de desarrollo, pero también proporcionando nuevas métricas para el reconocimiento de los límites entre diferentes géneros o especies. Por todo ello, nuestro grupo de investigación ha presentado en los últimos congresos diferentes trabajos que versan sobre la importancia del uso de nuevas técnicas, no solo de secuenciación, sino de análisis de datos que están surgiendo con mayor rapidez y efectividad, con el objetivo de clasificar las nuevas especies de manera correcta y sin errores que luego deban ser solventados en el futuro con nuevas reclasificaciones. También en este último año, hemos publicado un artículo donde se muestra que la utilización de genomas completos nos puede proporcionar un nuevo enfoque taxo-genómico de la sistemática de procariotas, ayudando a la resolución de la estructura de taxones complejos como son los géneros *Amycolatopsis*, *Rhodococcus*, *Streptomyces* e incluso *Micromonospora* y proporcionando conocimientos valiosos sobre el potencial biotecnológico y ecológico de los grupos definidos. Además de proveer información taxonómica, la secuenciación de genomas puede generar datos sobre las propiedades biológicas y biotecnológicas de las diferentes cepas de estudio, lo que resulta de gran interés en grupos productores de antibióticos como es el caso de *Micromonospora*.

Un ejemplo de la importancia del estudio de los genomas bacterianos a la hora de estudiar su potencial ecológico es el caso de *Micromonospora lupini* Lupac 08, la cual cuenta con casi 7.000 genes, de los cuales, casi 200 codifican para enzimas hidrolíticas que destruyen tejidos vegetales, lo que resulta paradójico en una bacteria que se encuentra en el interior de las plantas y que favorece su protección y crecimiento, según lo demuestran varios estudios. Además de presentar estos genes relacionados con enzimas hidrolíticas *M. lupini* está caracterizada por presentar genes relacio-



Figura 2. Morfología típica de *Micromonospora*.

nados con promoción del crecimiento vegetal, tales como la producción de sideróforos, fitohormonas como el ácido indol acético, degradación de quitina (biocontrol), y la biosíntesis de trehalosa para contribuir al bienestar de la planta huésped. Dichas actividades además de ser localizadas en el genoma han podido ser observadas *in vitro* en nuestro laboratorio. Conocer el conjunto de genes de *Micromonospora* puede ayudarnos a entender su interacción con cultivos importantes, como los cultivos de garbanzos, lentejas, judías o alfalfa; lo que abre la puerta al desarrollo de nuevos avances agrobiotecnológicos. La información proporcionada tras el estudio del genoma de Lupac 08 nos ha ayudado a acercarnos a la respuesta sobre qué función o funciones tiene *Micromonospora* en su asociación con la planta. Por ello en el último año mediante la combinación de técnicas de microscopía confocal y electrónica de transmisión con proteínas fluorescentes hemos podido estudiar el proceso de colonización entre *M. Lupini* (Lupac 08), tomada como modelo, y tres plantas huéspedes diferentes como son el trébol (*Trifolium repens*), la alfalfa (*Medicago sativa*) y el altramuz (*Lupinus albus*). Este es el primer estudio que describe en detalle la interacción de una bacteria no rizobio con varias leguminosas desde el proceso de colonización hasta su observación en el interior de los nódulos fijadores de nitrógeno cohabitando con las bacterias fijadoras de nitrógeno. Estos estudios, además, muestran una relación no específica entre *Micromonospora* y la planta, ya que *M. lupini* fue aislada de nódulos de *Lupinus angustifolius*, y sin embargo tiene la capacidad de infectar los tejidos de leguminosas como trébol, alfalfa y otra variedad de altramuz diferente de la que fue aislada (*Lupi-*

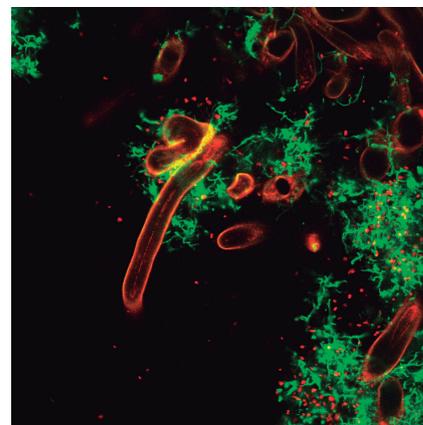


Figura 3. Interacción de *Micromonospora* (verde) con pelos radicales de trébol junto a la bacteria *Rhizobium* sp. (rojo).

*nus albus*), sugiriendo que esta cepa tiene un amplio rango de hospedadores.

Actualmente estamos trabajando en un proyecto donde se han secuenciado los genomas de 17 cepas de *Micromonospora* con el fin de determinar algunos de los procesos de interacción entre la bacteria y la planta. Para completar la información que nos proporcionan los genomas a la hora de estudiar el papel ecológico de *Micromonospora* en relación con plantas se están realizando una serie de estudios proteómicos y transcriciómicos, cuyos datos están proporcionando sólidos pilares para acercarnos a la respuesta sobre qué papel tiene *Micromonospora* en su cercana relación con las leguminosas y plantas actinorrízicas. Para ello, nuestro grupo de trabajo realiza investigación conjunta con científicos de España, Inglaterra, Francia, Alemania, Estados Unidos, Corea del Sur, Japón, México, Portugal, entre otros países.

## BIBLIOGRAFÍA

- Benito P, Alonso-Vega P, Aguado C, Luján R, Anzai Y, Hirsch AM y Trujillo ME. (2017) Monitoring the colonization and infection of legume nodules by *Micromonospora* in co-inoculation experiments with rhizobia. *Sci Rep* 7 (1), 11051
- Carro L, Nouioui I, Sangal V, Meier-Kolthoff JP, Trujillo ME, Montero-Calasanz MDC, Sahin N, Smith DL, Kim KE, Peluso P, Deshpande S, Woyke T, Shapiro N, Kyrpides NC, Klenk HP, Göker M y Goodfellow M. (2018) Genome-based classification of micromonosporae with a focus on their biotechnological and ecological potential. *Sci Rep* 8(1):525.
- Trujillo ME, Bacigalupe R, Pujic P, Igarashi Y, Benito P, Riesco R, Médigue C y Normand P. (2014) Genome features of the endophytic actinobacterium *Micromonospora lupini* strain Lupac 08: on the pro-

cess of adaptation to an endophytic life style? PLoS One 9(9): e108522.

**Trujillo ME, Kroppenstedt RM, Fernandez-Moliner C, Schumann P y Martinez-Molina E** (2007)

*Micromonospora lupini* sp. nov. and *Micromonospora saelicesensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Lupinus angustifolius*. Int J Syst Evol Microbiol 57:2799–2804.

**Trujillo, ME, Riesco, R, Benito, P, and Carro, L.** (2015). Endophytic actinobacteria and the interaction of *Micromonospora* and nitrogen fixing plants. Front Microbiol 6, 1–15.

## Diversidad procariota en ambientes hipersalinos

Cristina Sánchez-Porro, Rafael Ruiz de la Haba y Antonio Ventosa

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla.

sanpor@us.es  
rrh@us.es  
ventosa@us.es



De izquierda a derecha: Blanca Vera Gargallo, Antonio Ventosa, María José León, Cristina Sánchez-Porro, Clara López Hermoso, Carmen Infante Domínguez, Ana Durán Viseras y Rafael Ruiz de la Haba.

Nuestro grupo de investigación lleva activo desde hace más de 35 años; durante este tiempo hemos centrado nuestros estudios en aspectos relacionados con la diversidad y taxonomía de bacterias y arqueas halófilas, es decir, aquellas que habitan en ambientes con elevadas concentraciones de sales. Hasta la fecha nuestro grupo ha dado nombre a más de 130 especies de bacterias y arqueas, 34 géneros, varias nuevas familias y una clase. Recientemente hemos participado en la actualización del Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, con 19 capítulos dedicados a las haloarqueas, que incluyen 10 géneros, 6 familias, 2 órdenes y una clase. Aunque nuestros estudios se han centrado en el estudio taxonómico y de biodiversidad de procariotas de ambientes acuáticos hipersalinos, también hemos realizado importantes aportaciones en otros

campos tales como la genómica y la metagenómica, los mecanismos de adaptación a los ambientes extremos y las aplicaciones biotecnológicas de estos microorganismos, especialmente con relación a la producción de enzimas extracelulares por bacterias halófilas moderadas.

### EL NUEVO GÉNERO *SPIRIBACTER*

En los últimos años, hemos incorporado las nuevas tecnologías de secuenciación masiva a nuestros estudios de diversidad procariota y hemos obtenido los metagenomas de varios estanques de las salinas de Santa Pola (Alicante) y de Isla Cristina (Huelva). Su análisis nos ha permitido conocer en profundidad tanto la diversidad filogenómica como metabólica de estos ambien-

tes hipersalinos. Estos estudios pusieron de manifiesto, entre otros muchos datos interesantes, la presencia de un nuevo grupo perteneciente a la clase *Gammaproteobacteria*, muy abundante en los estanques de salinidad intermedia, que no había sido ni aislado ni caracterizado hasta la fecha. Tras un meticoloso trabajo de aislamiento y caracterización describimos un nuevo género bacteriano, al que denominamos *Spiribacter*, debido a su peculiar morfología celular en forma de espiral. Hasta la fecha el género consta de cuatro especies: *S. salinus*, *S. curvatus*, *S. roseus* y *S. aquaticus*, todas ellas descritas por nuestro equipo. En la actualidad estamos estudiando aspectos relacionados con la biología de este nuevo grupo bacteriano, como son su peculiar morfología, sus mecanismos de osmorregulación y su distribución geográfica.

## FILOGENÓMICA DEL GÉNERO *SALINIVIBRIO*

Por otro lado hemos realizado una profunda revisión del género *Salinivibrio*, habitante habitual de las salinas solares. Tras numerosos muestreos y aislamientos, a partir de diferentes ambientes hipersalinos, obtuvimos una colección de 70 cepas pertenecientes a este género. Además del estudio inicial basado en la comparación de secuencias del gen ARNr 16S de estas cepas, junto con las seis cepas tipo de las especies y subespecies del género, se llevó a cabo un estudio MLSA (*MultiLocus Sequence Analysis*), basado en las secuencias individuales y concatenadas de los genes *gyrB*, *recA*, *rpoA* y *rpoD*, que nos permitió clasificarlas en cuatro filogrupos diferentes, a excepción de la cepa tipo de la especie *Salinivibrio sharmensis*, que no pudo ser incluida en ningún filogrupo, constituyendo, por tanto, un filotipo independiente del resto. Con la finalidad de poder emplear este esquema MLSA con fines taxonómicos en la descripción de nuevas especies de *Salinivibrio*, realizamos una comparación y posterior validación de este estudio MLSA frente a los datos de hibridación ADN-ADN (DDH). En todos los casos, los valores de DDH confirmaron los filogrupos obtenidos en base al MLSA, constituyendo cada uno de ellos una especie diferente. Con estos resultados hemos propuesto una correlación entre los valores de MLSA y DDH, considerando un 97 % de semejanza entre la secuencia concatenada de los cuatro genes empleados como valor de corte para la delimitación de especies del género *Salinivibrio*. Para completar el estudio hemos secuenciado los genomas de 33 de estas cepas pertenecientes a distintos filogrupos y, según los diferentes índices de relación genómica (ANIb, ANIm, OrthoANI y DDH *in silico*) y tras un análisis filogenómico, se confirmaron nuevamente los filogrupos definidos anteriormente en base al MLSA. Estos estudios han llevado a la reclasificación de la especie *Salinivibrio costicola* subsp. *vallismortis*, como una sinonimia de la especie *S. proteolyticus*, y a la descripción de una nueva especie, *Salinivibrio kushneri*, constituida por 10 cepas representativas. De ellas, se seleccionó la cepa tipo para obtener la secuencia completa de su genoma, que resultó poseer dos cromosomas, al igual que ocurre en algunas, sino todas, las especies de *Vibrio*. El genoma completo de esta cepa tipo de *Salinivibrio kushneri* se ha utilizado como referencia para estudiar la con-

servación del orden de los genes entre representantes de cada filogrupo, observándose un elevado nivel de sintenia entre los miembros del género *Salinivibrio*.

## HALOARQUEAS: EL GÉNERO *HALORUBRUM* COMO MODELO

Con el objetivo de comprender mejor el proceso de especiación en haloarqueas y cómo podría beneficiarse la taxonomía de estudios de poblaciones, hemos examinado diferentes comunidades naturales pertenecientes al género *Halorubrum*. Para ello, partimos de cepas aisladas y cultivadas a partir de diversas salinas solares de España, Namibia e Irán, comparándolas con las cepas tipo de 30 especies descritas previamente de dicho género mediante cinco aproximaciones diferentes: i) análisis filogenético en base al gen ARNr 16S, que mostró una escasa capacidad de resolución para diferenciar adecuadamente los nuevos aislados; ii) MLSA en base a la concatenación de los genes *atpB*, *EF-2*, *glnA*, *ppsA* y *rpoB'*, que sí nos permitió agrupar las cepas en distintos clústeres; iii) perfil de lípidos polares (obtenidos mediante cromatografía en capa fina de alta resolución, HPTLC), que permitió observar pequeñas diferencias entre cepas pertenecientes al mismo filogrupo, posiblemente debidas a la adaptación al nicho ecológico; iv) identidad media de nucleótidos (ANI), que confirmó las clústeres obtenidos en base al estudio MLSA; v) estudios de hibridación ADN-ADN, mediante los que también se observó la heterogeneidad y divergencia de cepas aisladas en diferentes localizaciones geográficas a pesar de pertenecer al mismo filogrupo. Estos estudios nos han permitido delinear y describir nuevas especies del género *Halorubrum* y establecer diversas sinonimias entre especies previamente descritas. Actualmente estamos realizando el aislamiento de nuevas cepas pertenecientes al género *Halorubrum* para ampliar estos estudios mediante una aproximación genómica. Hemos secuenciado el genoma completo de un elevado número de cepas y nuestro objetivo es la secuenciación de los genomas de las 36 especies de *Halorubrum* y más de un centenar de cepas con la finalidad de determinar la organización genómica, divergencia y estructura de las poblaciones de los diferentes taxones de este género.

## NUEVOS ESTUDIOS EN SUELOS SALINOS

Aunque los ambientes hipersalinos acuáticos han sido nuestro principal objeto de estudio, en los últimos años hemos ampliado nuestra línea de investigación incluyendo el estudio de la diversidad procariota de suelos salinos, concretamente de suelos hipersalinos localizados en las Marismas del Odiel (Huelva). Con este objetivo, inicialmente obtuvimos dos metagenomas *shotgun* de estos suelos (con una conductividad eléctrica de ~24 y 55 dS/m, respectivamente). La comparación de estos resultados con los obtenidos de los ambientes acuáticos ha puesto de manifiesto que la diversidad procariota presente en los suelos salinos es mucho mayor, pudiendo identificarse hasta 29 phyla diferentes, en contraste con los 8-9 phyla generalmente encontrados en los ambientes acuáticos estudiados. Por otra parte, a partir de estos metagenomas hemos logrado reconstruir cuatro genomas de las especies más abundantes en estos suelos, las cuales están relacionadas con los phyla *Balneolaeota* y *Bacteroidetes* y con la clase *Halobacteria*, y cuyo metabolismo y estrategias de osmoadaptación están muy relacionados con las propiedades intrínsecas de este ecosistema. Por otro lado, hemos determinado la influencia de la salinidad y de otros parámetros fisicoquímicos en la estructura de la comunidad procariota de dichos suelos salinos. Actualmente estamos trabajando en el aislamiento y caracterización de nuevos grupos de arqueas y bacterias a partir de estos ambientes salinos, que constituyen representantes de nuevos taxones no descritos hasta la fecha.

## PUBLICACIONES RECIENTES SELECCIONADAS

- Amoozegar MA, Khansha J, Mehrshad M, Shahzadeh Fazeli SA, Ramezani M, de la Haba RR, Sánchez-Porro C y Ventosa A. (2017). *Soortia roseihalophila* gen. nov., sp. nov., a new taxon in the order *Balneolales* isolated from a travertine spring, and description of *Soortiaceae* fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 67: 113-120.
- Amoozegar MA, Siroosi M, Atashgahi S, Smidt H y Ventosa A. (2017). Systematics of haloarchaea and biotechnological potential of their hydrolytic enzymes. *Microbiology* 163: 623-645.
- Chun J, Oren A, Ventosa A, Christensen H, Arahal DR, da Costa MS, Rooney AP, Yi H, Xu XW, De Meyer S y Trujillo ME. (2018). Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *Int J Syst Evol Microbiol* 68: 461-466.
- León MJ, Aldeguer-Riquelme B, Antón J, Sánchez-Porro C y Ventosa A. (2017). *Spiribacter aquaticus* sp. nov.,

a novel member of the genus *Spiribacter* isolated from a saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 67: 2947-2952.

**León MJ, Fernández AB, Ghai R, Sánchez-Porro C, Rodríguez-Valera F y Ventosa A.** (2014). From metagenomics to pure culture: isolation and characterization of the moderately halophilic bacterium *Spiribacter salinus* gen. nov., sp. nov. *Appl Environ Microbiol* 80: 3850-3857.

**León MJ, Hoffmann T, Sánchez-Porro C, Heider J, Ventosa A y Bremer E.** (2018). Compatible solute synthesis and import by the moderate halophile *Spiribacter salinus*: physiology and genomics. *Front Microbiol* 9: 108.

**León MJ, Rodríguez-Olmos A, Sánchez-Porro C, López-Pérez M, Rodríguez-Valera F, Soliveri J, Ventosa A y Copa-Patiño JL.** (2015). *Spiribacter curvatus* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from a saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 65: 4638-4643.

**León MJ, Sánchez-Porro C y Ventosa A.** (2017). *Marinobacter aquaticus* sp. nov., a moderately halophilic bacterium from a solar saltern. *Int J Syst Evol Microbiol* 67: 2622-2627.

**León MJ, Vera-Gargallo B, Sánchez-Porro C y Ventosa A.** (2016). *Spiribacter roseus* sp. nov., a moderately halophilic species of the genus *Spiribacter* from salterns. *Int J Syst Evol Microbiol* 66: 4218-4224.

**López-Hermoso C, de la Haba RR, Sánchez-Porro C, Papke RT y Ventosa A.** (2017). Assessment of Multi-Locus Sequence Analysis as a valuable tool for the classification of the genus *Salinivibrio*. *Front Microbiol* 8: 1107.

**López-Hermoso C, de la Haba RR, Sánchez-Porro C y Ventosa A.** (2017). *Salinivibrio kushneri* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from salterns. *Syst Appl Microbiol* 41: 159-166.

**López-Hermoso C, de la Haba RR, Sánchez-Porro C y Ventosa A.** (2018). Emended description of *Salinivibrio proteolyticus*, including *Salinivibrio costicola* subsp. *vallismortis* and five new isolates. *Int J Syst Evol Microbiol* 68: 1599-1607.

**Moshtaghi Nikou M, Ramezani M, Harirchi S, Makzooz S, Amoozegar MA, Shahzadeh Fazeli SA, Schumann P y Ventosa A.** (2017). *Salinifilum* gen. nov.,

with description of *Salinifilum proteiniolyticum* sp. nov., an extremely halophilic actinomycete isolated from Meighan wetland, Iran, and reclassification of *Saccharopolyspora aidingensis* as *Salinifilum aidingensis* comb. nov. and *Saccharopolyspora ghardaiensis* as *Salinifilum ghardaiensis* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 67: 4221-4227.

**Ventosa A, de la Haba RR, Sánchez-Porro C y Papke RT.** (2015). Microbial diversity of hypersaline environments: a metagenomic approach. *Curr Opin Microbiol* 25: 80-87.

**Vera-Gargallo B, Navarro-Sampedro L, Carballo M y Ventosa A.** (2018). Metagenome sequencing of prokaryotic microbiota from two hypersaline soils of the Odiel Salt Marshes in Huelva, Southwestern Spain. *Genome Announc* 6: e00140-18.

**Vera-Gargallo B y Ventosa A.** (2018). Metagenomic insights into the phylogenetic and metabolic diversity of the prokaryotic community dwelling in hypersaline soils from the Odiel saltmarshes (SW Spain). *Genes (Basel)* 9: 152.

## Taxonomía y epidemiología de los géneros *Aeromonas* y *Arcobacter*

María José Figueras Salvat, Alba Pérez-Cataluña, Ana Fernández-Bravo y Nuria Salas-Massó

Unidad de Biología y Microbiología, Departamento de Ciencias Médicas Básicas, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, IISPV. Universidad Rovira i Virgili, Sant Llorenç 21, 43201 REUS.



[mariajose.figueras@urv.cat](mailto:mariajose.figueras@urv.cat)



De izquierda a derecha: María José Figueras, Ana Fernández-Bravo, Nuria Salas-Massó y Alba Pérez Cataluña

El papel del agua como vehículo de transmisión de enfermedades es conocido. En este ámbito hemos participado a lo largo de los años en los proyectos europeos AQUACHIP, EPIBATH, HEALTHY-WATER, AQUAVALENS y JPI-METAWATER y en el proyecto nacional NEWMICRORISK. Todos estos proyectos han permitido un significativo avance en el estudio de la calidad del agua, así como aislar numerosas cepas de los géneros *Aeromonas* y *Arcobacter* con los que venimos trabajando desde hace años.

### TAXONOMÍA Y EPIDEMIOLOGÍA DE AEROMONAS

*Aeromonas* es un microorganismo autóctono del medio acuático también aislado con frecuencia en alimentos destinados al consumo humano, peces y en diversos procesos infecciosos en humanos (Figueras y Beaz-Hidalgo, 2015). Nuestros objetivos desde 1996, cuando empezamos a trabajar con este género, han sido el estudio de la taxonomía y epidemiología. Desde entonces se han realizado

6 tesis doctorales, en las cuales se ha descrito un total de 13 nuevas especies, 4 de ellas pendientes de aceptación, representando un 36% del total de especies del género (n=36).

Los estudios de taxonomía y filogenia se han realizado con cepas clínicas y ambientales utilizando una identificación basada en la secuenciación de genes "housekeeping" tales como *rpoD* o *gyrB* entre otros (Martínez-Murcia et al., 2011). Nuestro grupo ha demostrado que estos genes tienen un gran poder discrimina-

tivo. Su utilización ha permitido caracterizar las distintas especies conocidas y descubrir las 13 especies mencionadas (Figueras et al., 2017; Latif-Eugenín et al., 2016a, 2016b). Así mismo, en colaboración con la Dr. Brigitte Lamy del *Centre Hospitalier Universitaire* de Niza, se ha revisado la taxonomía de especies crípticas, como *Aeromonas media*, y se ha demostrado que esta especie enmascaraba otras dos más (Talagrand-Reboul et al., 2017). En estos estudios y en otros realizados con el Dr. Mark Liles de la Universidad de Auburn (Alabama, USA), se ha utilizado ya la secuenciación de genomas para la descripción de nuevas especies (Figueras et al., 2014a, 2017; Rasmussen-Ivey et al., 2016). La comparación de estos genomas con otros ya depositados en las bases de datos ha permitido reconocer que más de un 30% de los genomas estaban mal etiquetados, por lo que se recomienda que una vez obtenidos los genomas se comparen con la cepa tipo de la especie a la que se supone que pertenece utilizando el *Average Nucleotide Identity (ANI)*, y la hibridación DNA-DNA *in silico (isDDH)*. Valores de ANI e *isDDH* superiores al 96% y 70%, respectivamente permiten confirmar la pertenencia a la especie, pero si estos valores son inferiores deberán extraerse los genes “housekeeping” del genoma y realizar un análisis filogenético con las cepas tipo para determinar si el genoma pertenece a una especie conocida o se trata de una nueva (Beaz-Hidalgo et al., 2015; Figueras et al., 2014a).

Respecto a la virulencia y epidemiología, el principal objetivo es demostrar la capacidad patógena de *Aeromonas* y que estas se pueden transferir del ambiente al hombre. En este sentido en la tesis de Fadua Latif-Eugenín se demostró que las mismas cepas de *Aeromonas caviae* y *Aeromonas saranelli* aisladas de tomate y perejil coincidían con las aisladas en el agua de riego (Latif-Eugenín et al., 2017). Ambas especies han sido aisladas en asociación con infecciones humanas (Figueras y Beaz-Hidalgo, 2015).

Los objetivos desarrollados en las tesis de Ana Fernández-Bravo van más dirigidos a determinar la virulencia y son i) Evaluar *in vitro* la respuesta inmunitaria frente a las infecciones producidas por *Aeromonas*, utilizando una línea celular de monocitos humanos; ii) Estudiar las complejas infecciones mixtas asociadas a la fascitis necrotizante causada por *Aeromonas*. Cabe destacar que

se ha puesto a punto un modelo *in vitro* con una línea celular monocítica humana (THP-1) para determinar la respuesta inmunitaria frente a infecciones realizadas con cepas de diferentes especies de *Aeromonas* de origen clínico y ambiental. Con este trabajo el grupo obtuvo el premio otorgado por el grupo especializado de patogenicidad de la SEM en el *Congress of European Microbiologist FEMS 2017* celebrado en Valencia. Por otro lado, Ana Fernández-Bravo ha realizado una estancia en la *University of Texas Medical Branch* con el grupo del Dr. Chopra. Durante la misma ha continuado estudiando las infecciones mixtas responsables de producir fascitis necrotizante en una paciente joven inmunocompetente (Ponnusamy et al., 2016).

Nuestro mayor reto es demostrar que *Aeromonas* es un patógeno con importancia en salud pública y que, como tal, sea considerado de declaración obligatoria. Con este objetivo seguimos publicando nuevos casos clínicos asociados a *Aeromonas* en colaboración con numerosos hospitales y realizando estudios que apoyan este mensaje (Teunis y Figueras, 2016). Así mismo, hemos sido los responsables del capítulo “*Aeromonas infections in humans*” en el libro *Aeromonas* (Figueras y Beaz-Hidalgo, 2015).

## TAXONOMÍA Y EPIDEMIOLOGÍA DE ARCOBACTER

El género *Arcobacter* incluye especies relacionadas con la producción de enfermedades entéricas y sistémicas en animales y humanos (Collado y Figueras, 2011; Salas-Massó et al., 2016). Nuestro grupo empezó a trabajar con este género en 2007 y desde entonces se han desarrollado 4 tesis doctorales a partir de las cuales se ha descrito un total de 12 especies, representando un 44% del total de especies del género (n=27). Además, también demostramos la asociación de *Arcobacter* con la contaminación fecal (Collado et al., 2008; Fisher et al., 2014; Levican et al., 2016) y una elevada prevalencia de este género en moluscos y productos cárnicos (Collado et al., 2009; Salas-Massó et al., 2016). Las últimas tesis realizadas por Nuria Salas-Massó y Alba Pérez-Cataluña se han centrado en esclarecer, la primera, la incidencia de *Arcobacter* en bivalvos y la segunda en realizar un análisis taxogenómico del género *Arcobacter*, para el

cual ha sido necesario secuenciar los genomas de la mayoría de las cepas tipo y otras cepas adicionales. En esta última tesis y en colaboración con diferentes hospitales Universitarios, como el Hospital San Joan de Reus, Hospital Juan XXIII de Tarragona y Hospital Miguel-Servet de Zaragoza, hemos caracterizado a nivel de especie sus aislados clínicos de *Campylobacter* y *Arcobacter* mediante secuenciación del gen *rpoB*, y hemos descrito un caso clínico producido por *Arcobacter cryaerophilus* enmascarado bajo un *Campylobacter* sp. (Figueras et al., 2014b). Sin embargo, los centros que cuentan con MALDI-TOF ya reconocen cepas como pertenecientes al género *Arcobacter*, siendo confirmadas posteriormente en nuestro laboratorio como *Arcobacter butzleri*. El genotipado de estos aislados mediante la tipificación multilocus de secuencias (MLST) reveló una elevada variabilidad, ya que las 28 cepas clínicas estudiadas resultaron pertenecer a 27 nuevas secuencias tipo o ST. Únicamente una de nuestras cepas presentó la misma ST que dos cepas aisladas también de heces ya depositada en las bases de datos (Pérez-Cataluña et al., 2017). Adicionalmente, este estudio evidenció que cepas no relacionadas epidemiológicamente presentaban el mismo ST lo que indica que el MLST no posee la suficiente resolución para el estudio epidemiológico de *Arcobacter* (Pérez-Cataluña et al., 2017).

La tesis doctoral de Alba Pérez-Cataluña ha sido financiada por el Instituto de Investigación Sanitaria Pere Virgili (IISPV) y la de Nuria Salas-Massó se encuadra dentro de las becas URV-IRTA-SANTANDER, estando codirigida por la Dra. Figueras y por la Dra. Dolors Furones y el Dr. Karl B Andree, estos últimos del IRTA-SCR. En esta tesis, por primera vez, se adicionó 2.5% de cloruro sódico al caldo de enriquecimiento y se usó Agar Marino en la recuperación de especies de *Arcobacter* de bivalvos y del agua que los rodea (Salas-Massó et al., 2016, 2018). El resultado fue el descubrimiento de 8 potenciales nuevas especies y el aislamiento por primera vez de las especies *Arcobacter marinus* y *Arcobacter halophilus* (Pérez-Cataluña et al., 2018a; Salas-Massó et al., 2016). Hemos desarrollado en conjunto con el Dr. Dang Duong Bang de la *Denmark Technical University (DTU)*, donde Nuria Salas-Massó realizó una estancia de tres meses, una viable-qPCR para la detección de células vivas de *Arcobacter*, la

cual utiliza Propidio Monoazida (PMA) para evitar la amplificación tanto del DNA libre como del DNA de células con las membranas afectadas. Se ha estudiado también, cómo *Arcobacter* se distribuye en los tejidos de los bivalvos y cómo dos especies frecuentes en moluscos (*Arcobacter butzleri* y *Arcobacter molluscorum*) son depuradas de estos animales. Además, gracias a la colaboración con el grupo de investigación del Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad del País Vasco, liderado por el Dr. Rodrigo Alonso y la Dra. Aurora Fernández; y con Francisco Javier García Peña del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente; hemos encontrado otras 3 nuevas especies pertenecientes a este género, que están en proceso de descripción.

Con relación al análisis genómico, tenemos secuenciados los genomas del 90% de las especies del género *Arcobacter*. En todas las descripciones de nuevas especies realizadas por el grupo hemos incluido sus genomas y el análisis basado en el ANI e *is*DDH (Pérez-Cataluña et al., 2018a). Además, los estudios genómicos también nos han permitido descubrir la existencia de 4 genomas dentro de la especie *A. cryaerophilus* (Pérez-Cataluña et al., 2018b). Actualmente, en colaboración con el equipo del Dr. Jesús Romalde de la Universidad de Santiago de Compostela estamos comprobando, utilizando un estudio taxonómico polifásico, la hipótesis de que el género *Arcobacter* está en realidad formado por 7 géneros diferentes. Recientemente el grupo ha participado en dos capítulos del *Handbook of Foodborne Diseases*. Edited by Dongyou Liu sobre *Aeromonas* en colaboración con el Dr. Ko (National Cheng Kung University, Taiwan) y otro realizado íntegramente por nuestro grupo sobre *Arcobacter* el cual saldrá publicado próximamente. Una participación similar es la realizada para el *Global Water Pathogen Project, Part III. Specific excreted pathogens: environmental and epidemiology aspects* (GWPP, <http://www.waterpathogens.org/toc>) con un capítulo dedicado a *Arcobacter* (Banting y Figueras, 2017) y otro de *Aeromonas* (Figueras y Ashbolt, 2017).

## REFERENCIAS

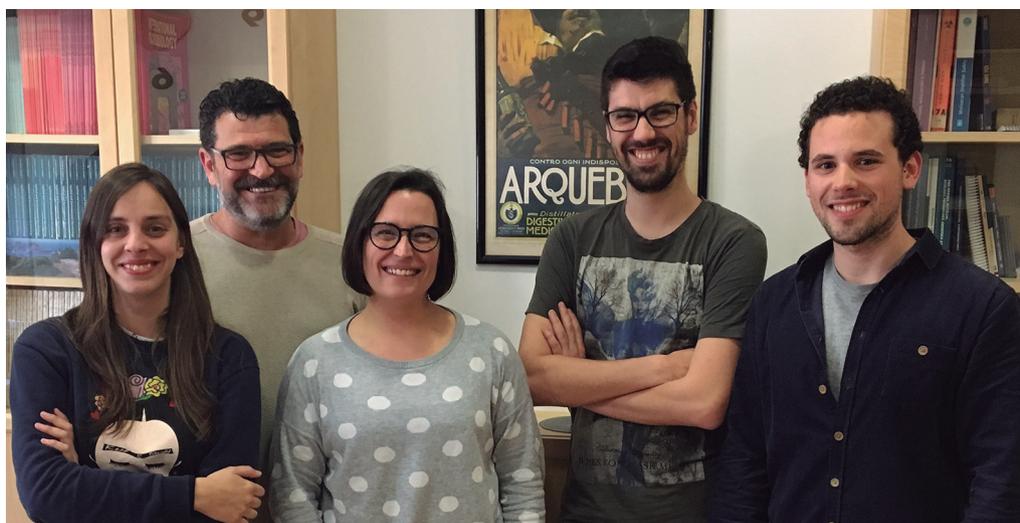
- Banting GS y Figueras MJ.** (2017). *Arcobacter*, in *Global Water Pathogens Project. Part 3 Bacteria*. Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO.
- Beaz-Hidalgo R, Hossain MJ, Liles MR y Figueras MJ.** (2015). Strategies to avoid wrongly labelled genomes using as example the detected wrong taxonomic affiliation for aeromonas genomes in the GenBank database. *PLoS One* 10, e0115813.
- Collado L y Figueras MJ.** (2011). Taxonomy, epidemiology, and clinical relevance of the genus *Arcobacter*. *Clin Microbiol Rev* 24: 174–192.
- Collado L, Guarro J y Figueras MJ.** (2009). Prevalence of *Arcobacter* in meat and shellfish. *J Food Prot* 72: 1102–6.
- Collado L, Inza I, Guarro J y Figueras MJ.** (2008). Presence of *Arcobacter* spp. in environmental waters correlates with high levels of fecal pollution. *Environ Microbiol* 10: 1635–1640.
- Figueras MJ y Beaz-Hidalgo R.** (2015). *Aeromonas* infections in humans, in *Aeromonas*. Caister Academic Press. UK.
- Figueras MJ, Beaz-Hidalgo R, Hossain MJ y Liles MR.** (2014a). Taxonomic affiliation of new genomes should be verified using average nucleotide identity and multilocus phylogenetic analysis. *Genome Announc* 2: e00927-14-e00927-14.
- Figueras MJ, Latif-Eugenin F, Ballester F, Pujol I, Tena D, Berg K, Hossain MJ, Beaz-Hidalgo R y Liles MR.** (2017). “*Aeromonas intestinalis*” and “*Aeromonas enterica*” isolated from human faeces, “*Aeromonas crassostreae*” from oyster and “*Aeromonas aquatilis*” isolated from lake water represent novel species. *New Microbes New Infect* 15: 74–76.
- Figueras MJ, Levican A, Pujol I, Ballester F, Rabada Quilez MJ y Gomez-Bertomeu F.** (2014b). A severe case of persistent diarrhoea associated with *Arcobacter cryaerophilus* but attributed to *Campylobacter* sp. and a review of the clinical incidence of *Arcobacter* spp. *New microbes new Infect* 2: 31–7.
- Fisher JC, Levican A, Figueras MJ y McLellan SL.** (2014). Population dynamics and ecology of *Arcobacter* in sewage. *Front Microbiol* 5: 525.
- Hossain MJ, Beaz-Hidalgo R, Figueras MJ y Liles MR.** (2014). Draft genome sequences of two novel *Aeromonas* species recovered in association with cyanobacterial blooms. *Genome Announc* 2: e01181-14-e01181-14.
- Latif-Eugenin F, Beaz-Hidalgo R y Figueras MJ.** (2016a). Evaluation of different conditions and culture media for the recovery of *Aeromonas* spp. from water and shellfish samples. *J. Appl Microbiol* 121: 883–91.
- Latif-Eugenin F, Beaz-Hidalgo R y Figueras MJ.** (2016b). First record of the rare species *Aeromonas schubertii* from mussels: phenotypic and genetic re-evaluation of the species and a review of the literature. *Arch Microbiol* 198: 333–45.
- Latif-Eugenin F, Beaz-Hidalgo R, Silvera-Simón C, Fernandez-Cassi X y Figueras MJ.** (2017). Chlorinated and ultraviolet radiation -treated reclaimed irrigation water is the source of *Aeromonas* found in vegetables used for human consumption. *Environ Res* 154: 190–195.
- Levican A, Collado L y Figueras MJ.** (2016). The use of two culturing methods in parallel reveals a high prevalence and diversity of *Arcobacter* spp. in a wastewater treatment plant. *Biomed Res Int* 2016: 1–9.
- Martínez-Murcia AJ, Monera A, Saavedra MJ, Oncina R, Lopez-Álvarez M, Lara E y Figueras MJ.** (2011). Multilocus phylogenetic analysis of the genus *Aeromonas*. *Syst Appl Microbiol* 34: 189–199.
- Pérez-Cataluña A, Salas-Massó N y Figueras MJ.** (2018a). *Arcobacter canalis* sp. nov., isolated from a water canal contaminated with urban sewage. *Int J Syst Evol Microbiol* 68: 1258–1264.
- Pérez-Cataluña A, Collado L, Salgado O, Lefriñanco V y Figueras MJ.** (2018b) A polyphasic and taxonomic evaluation uncovers *Arcobacter cryaerophilus* as a species complex that embraces four genomovars. *Front Microbiol* [Aceptado]
- Pérez-Cataluña A, Tapiol J, Benavent C, Sarvisse C, Gómez F, Martínez B, Terron-Puig M, Recio G, Vilanova A, Pujol I, Ballester F, Rezusta A y Figueras MJ.** (2017). Antimicrobial susceptibility, virulence potential and sequence types associated with *Arcobacter* strains recovered from human faeces. *J Med Microbiol* 66: 1736–1743.
- Ponnusamy D, Kozlova EV, Sha J, Erova TE, Azar SR, Fitts EC, Kirtley ML, Tiner BL, Andersson JA, Grim CJ, Isom RP, Hasan NA, Colwell RR y Chopra AK.** (2016). Cross-talk among flesh-eating *Aeromonas hydrophila* strains in mixed infection leading to necrotizing fasciitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 113: 722–7.
- Rasmussen-Ivey CR, Hossain MJ, Odom SE, Terhune JS, Hemstreet WG, Shoemaker CA, Zhang D, Xu DH, Griffin MJ, Liu YJ, Figueras MJ, Santos SR, Newton JC y Liles MR.** (2016). Classification of a hypervirulent *Aeromonas hydrophila* pathotype responsible for epidemic outbreaks in warm-water fishes. *Front Microbiol* 7: 1615.
- Salas-Massó N, Andree KB, Furonos MD y Figueras MJ.** (2016). Enhanced recovery of *Arcobacter* spp. using NaCl in culture media and re-assessment of the traits of *Arcobacter marinus* and *Arcobacter halophilus* isolated from marine water and shellfish. *Sci Total Environ* 566–567: 1355–1361.
- Salas-Massó N, Figueras MJ, Andree KB y Furonos MD.** (2018). Do the *Escherichia coli* European Union shellfish safety standards predict the presence of *Arcobacter* spp., a potential zoonotic pathogen? *Sci Total Environ* 624: 1171–1179.
- Talagrand-Reboul E, Roger F, Kimper JL, Colston SM, Graf J, Latif-Eugenin F, Figueras MJ, Petit F, Marchandin H, Jumas-Bilak E y Lamy B.** (2017). Delineation of taxonomic species within complex of species: *Aeromonas media* and related species as a test case. *Front Microbiol* 8: 621.
- Teunis P y Figueras MJ.** (2016). Reassessment of the enteropathogenicity of mesophilic *Aeromonas* species. *Front Microbiol* 7: 1395.

# Taxonomía y diversidad de microorganismos asociados a moluscos

Sabela Balboa, Ana L. Diéguez y Jesús L. Romalde



Dpto. Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia, Univ. de Santiago de Compostela



Algunos miembros del grupo de investigación. De izquierda a derecha: Ana L. Diéguez, Jesús L. Romalde, Sabela Balboa, Diego Gerpe y Rubén Barcia.

El Grupo de Ictiopatología de la Universidad de Santiago de Compostela comenzó sus investigaciones en microbiología del medio acuático con estudios de *Vibrios* patógenos para ostra y rodaballo en la década de los años 1980. Desde entonces, y con la incorporación de nuevos miembros, las investigaciones del grupo se han ido diversificando y, en concreto, la línea dedicada al estudio de la microbiota de moluscos ha crecido enormemente gracias a diferentes proyectos tanto del Plan Nacional, como Europeos y autonómicos.

Así, a lo largo de estos años, nuestro grupo ha participado en la descripción de más de 30 nuevas especies, más de la mitad pertenecientes al género *Vibrio* que incluye conocidos patógenos oportunistas de organismos acuáticos, y ha desarrollado estudios de diversidad microbiana en diferentes ambientes relacionados con la acuicultura proponiendo mejoras para optimizar el estatus sanitario de los cultivos.

## DIVERSIDAD MICROBIANA ASOCIADA A MOLUSCOS GALLEGOS

Una de las principales líneas de investigación de nuestro grupo ha sido el estudio de la microbiota asociada a moluscos cultivados en Galicia. El estudio más exhaustivo llevado a cabo hasta la fecha se centró en el análisis de la microbiota asociada a los cultivos de almeja japonesa (*Ruditapes philippinarum*) y almeja fina (*R. decussatus*) en diferentes zonas geográficas de nuestra costa. Fruto de estos muestreos recopilamos más de 3000 aislados, describiéndose diversas nuevas especies de los géneros *Vibrio*, *Alliivibrio*, *Marinomonas*, *Lacinutrix* y *Kiloniella*.

La aparición de las técnicas de secuenciación masiva (NGS) nos permitió realizar un estudio más completo de la microbiota asociada a estos moluscos. Así, mediante secuenciación masiva de la región V3-V4 del gen 16S rRNA analizamos la microbiota asociada a las mismas poblaciones de almeja en dos épocas

del año diferentes. Se detectaron más de 15 phyla bacterianos diferentes, además de numerosos taxones que no pudieron ser identificados, sugiriendo que las almejas, y todos los moluscos en general, constituyen un “almacén bacteriano” que es necesario estudiar.

La mayor parte de taxones pertenecieron a las Proteobacteria, Actinobacteria y Bacteroidetes. Cabe destacar que aquellos grupos que han sido clásicamente descritos asociados al cultivo de la almeja y otros moluscos como *Vibrio*, *Alliivibrio* o *Pseudoalteromonas* aparecieron como grupos minoritarios, o incluso estaban ausentes en alguno de los órganos estudiados.

Se estudió además la fracción de bacterias cultivables minoritarias utilizando el método de dilución a extinción usando medios oligotrofos. De los más de 130 aislados, la mayoría se identificaron como pertenecientes a los géneros *Pseudomonas* y *Shewanella*, y, en menor medida, *Rhanella* y *Micrococcus*. Actualmente estamos trabajando en la des-

cripción de nuevas especies de esta fracción de la microbiota.

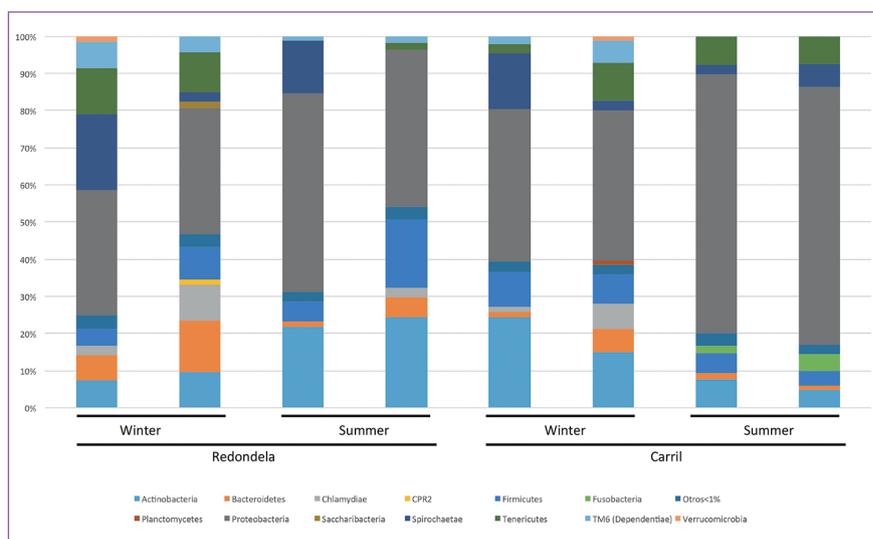
### APLICACIONES POTENCIALES EN ACUICULTURA Y BIOTECNOLOGÍA

En los últimos años y en el marco del proyecto europeo “Reproseed”, llevamos a cabo un estudio comparativo de la microbiota asociada a dos sistemas de producción diferentes en un criadero de vieira (*Pecten maximus*) en Noruega, un sistema de flujo continuo de agua y otro de recirculación.

Los resultados de este estudio pusieron de manifiesto la importancia de la interacción entre los nichos biológicos que suponen los distintos compartimentos del criadero para el correcto funcionamiento del mismo. Según los resultados obtenidos en nuestro estudio, las diferencias en la microbiota asociada a los distintos sistemas de producción no son importantes, por lo que el sistema de recirculación podría considerarse como una buena alternativa de cultivo para esta especie en aguas noruegas.

A nivel diversidad biológica, los géneros mayoritarios fueron *Vibrio*, *Pseudoalteromonas*, *Neptuniibacter* y *Shewanella* que aparecieron en casi todos los compartimentos. Se encontraron además algunos géneros exclusivos de reproductores, *Kordia*, *Microbulbifer* o *Sinobacterium*, mientras que otros como *Vibrio* y *Shewanella* presentaron un patrón de distribución desde los reproductores hasta agua y larvas, indicando una posible transmisión vertical. El estudio de la microbiota asociada a reproductores se realizó también aplicando técnicas de secuenciación masiva. Mediante esta técnica pudimos identificar un total de 13 filios incluyendo Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria o Spirochaetes, y hasta 110 géneros diferentes. A diferencia de la fracción cultivable, los géneros dominantes incluyeron *Delftia*, *Acinetobacter*, *Hydrotalea*, *Aquabacterium*, *Bacillus*, *Sediminibacterium* o *Shingomonas*.

Por otro lado, la caracterización polifásica de los diferentes aislados obtenidos en los distintos compartimentos del criadero permitió la descripción de cuatro nuevas especies: *Sinobacterium norvegicum*, *Neptuniibacter marinus*, *Neptuniibacter pectenicola* y *Arco-bacter lekithochrous*.



2.- Análisis metagenómico de las poblaciones microbianas asociadas a almeja cultivada.

La identificación y el análisis del genoma completo de cepas identificadas como *Neptunomonas phycophila* ha dado lugar, no solo a la ampliación del rango geográfico y de hospedador de esta especie, sino que ha revelado el potencial biotecnológico de estas bacterias para la degradación de compuestos aromáticos. Por otro lado, el análisis genómico de los aislados de *Neptuniibacter* mostró la capacidad de estas bacterias para la degradación de compuestos aromáticos y su uso potencial en biorremediación.

### VARIABILIDAD INTRAESPECÍFICA Y POTENCIAL PATOGENICO

Otra de las líneas de investigación actuales del grupo se centra en el estudio de la diversidad de una de las especies de *Vibrio* descritas por nuestro grupo, *V. toranzoniae*. Esta especie bacteriana se consideró parte de la microbiota habitual de la almeja, hasta que dos años después de su descripción, se detectó como el responsable de una mortalidad de congrio rojo chileno. Mediante un análisis polifásico se confirmó la afiliación de estos aislados a esta especie incluyendo estudios fenotípicos y filogenéticos. Decidimos además comparar los genomas de las diferentes cepas de la especie, incluyendo los aislados patógenos de congrio, las cepas aisladas de almeja y aislados ambientales obtenidos de agua de mar. Los diferentes aislados de la especie mostraron marcadas diferencias relacionadas con la capacidad patógena de estos aislados.

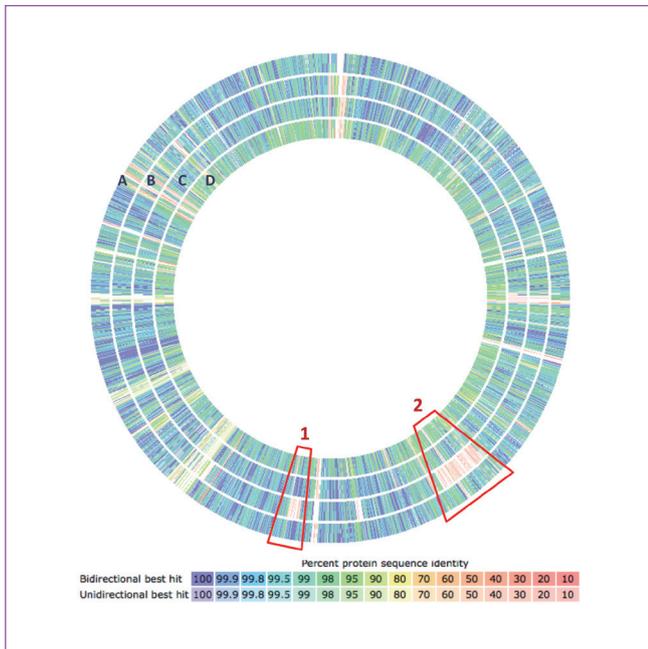
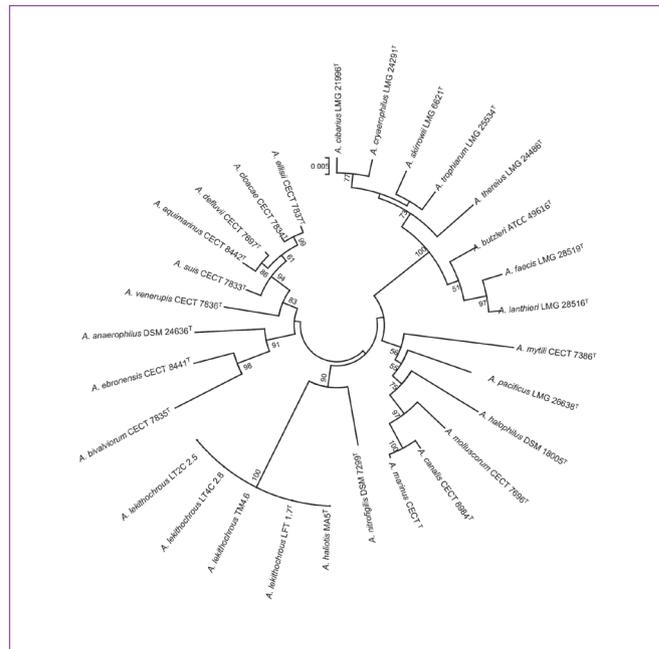
Así, algunos de los factores de virulencia diferenciales fueron la capacidad de síntesis de cápsula, los sistemas de adquisición de hierro mediante sideróforos y determinadas toxinas con actividad citotóxica. Pudimos determinar también diferencias en el estilo de vida de la bacteria, como su capacidad de sintetizar flagelo y, por lo tanto, de moverse.

Actualmente se está llevando a cabo un estudio de la importancia de estos factores de virulencia mediante la construcción de mutantes marcados con proteína verde fluorescente.

Por último se encontraron diferencias en la capacidad de adaptarse a condiciones adversas. Encontramos que la cepa aislada de almeja es capaz de alcanzar el estado viable no cultivable y resucitar cuando las condiciones son favorables mientras que la cepa aislada de congrio necesita períodos más largos. Observamos además un claro descenso en la transcripción de los genes necesarios para la generación del divisoma, *ftsZ* y para el mantenimiento de la forma bacilar, *mreB* mientras que el osmosensor *envZ* se encuentra sobreexpresado.

### OTROS PROYECTOS Y COLABORACIONES

Son numerosos los grupos con los que hemos establecido colaboraciones a lo largo de estos años y que han cristalizado en la publicación de artículos compartidos, intercambio

3.- Comparación de genomas de *Vibrio toranzoniae*.4.- Arbol filogenético de las especies del género *Arcobacter* mostrando la posición única de la nueva especie *A. lekithochrous*.

de estudiantes, etc. Entre ellas, destacar el estudio taxonómico completo de las especies de *Arcobacter* y la propuesta de reclasificación del género, en colaboración con el grupo de la Profa. María José Figueras de la Universidad Rovira i Virgili (ver contribución en este monográfico), o el estudio sobre biogeografía y comparativa genómica de *Polaribacter* spp. y *Kordia* spp. en colaboración con el grupo de la Dra. Silvia G. Acinas Del Instituto de Ciencias Marinas del CSIC. Entre las colaboraciones internacionales mencionar los trabajos taxonómicos en diferentes especies con los Drs. Bruno Gómez-Gil (México), James Oliver (USA), Duncan Colquhoun (Noruega) o Annelie Decostere (Bélgica).

## TESIS DOCTORALES Y PUBLICACIONES RECIENTES

- Bastardo, A.** 2012. Estudio polifásico de cepas de *Yersinia ruckeri* asociadas a brotes epidémicos en salmonidos. Dirección: J.L. Romalde.
- Lasa, A.** 2017. Descripción de nuevos taxones bacterianos asociados a almeja cultivada. Caracterización de la especie *Vibrio toranzoniae* sp. nov. Dirección: J.L. Romalde.
- Diéguez, A.L.** 2017. Estudio comparativo de la microbiota asociada a vieira (*Pecten maximus*) en diferentes sistemas de cultivo intensivo en criaderos. Dirección: S. Balboa y J.L. Romalde.
- Dubert, J., J.L. Romalde, S. Prado & J.L. Barja,** 2016. *Vibrio bivalvicida* sp. nov., a novel larval pathogen for

- bivalve molluscs reared in hatchery. Syst Appl Microbiol 39: 8-13.
- Gomez-Gil, B., A. Roque, G. Rotlant, J.L. Romalde, A. Doce, M. Eggermont & T. Defoirdt.** 2016. *Photobacterium sanguinancrri* sp. nov. isolated from marine animals. Ant Leeuwenhoek 109: 817-825.
- Lasa, A., P. Pichon, A.L. Diéguez, & J.L. Romalde.** 2016. *Marinomonas gallaica* sp. nov. and *Marinomonas atlantica* sp. nov., two novel species isolated in Galicia (NW Spain). Int J Syst Evol Microbiol 66: 3183-3188.
- González-Castillo, A., J. Enciso-Ibarra, J. Dubert, J.L. Romalde & B. Gómez-Gil.** 2016. *Vibrio sonorensis* sp. nov. isolated from a cultured oyster *Crassostrea gigas*. Ant Leeuwenhoek 109: 1447-1455.
- Dubert, J., S. Balboa, M. Regeueira, A. Goñzález-Castillo, B. Gómez-Gil, J.L. Romalde.** 2016. *Vibrio barjaei* sp. nov., a new species of the Mediterranean clade isolated in a shellfish hatchery. Syst Appl Microbiol 39: 553-556
- Dubert, J., J.L. Romalde, E.J. Spinard, D.R. Nelson, M. Gómez-Chiarri, & J.L. Barja.** 2016. Reclassification of the larval pathogen for marine bivalves *Vibrio tubiashii* subsp. *europaeus* as *Vibrio europaeus* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 66: 4791-4796.
- Lasa, A., A. Mira, A. Camelo-Castillo, P. Belda-Ferre & J.L. Romalde.** 2016. Characterization of the microbiota associated to *Pecten maximus* gonads using 454-pyrosequencing. Int Microbiol 19: 91-97.
- Diéguez, A.L., S. Balboa, T. Magnesen & J.L. Romalde.** 2017. *Neptuniibacter pectenicola* sp. nov. and *Neptuniibacter marinus* sp. nov., two novel species isolated from a great scallop (*Pecten maximus*) hatchery in Norway, and emended description of the genus *Neptuniibacter*. Syst Appl Microbiol 40: 80-85.
- Lasa, A., C.J. Gibas & J.L. Romalde.** 2017. Comparative genomic analysis of *Vibrio toranzoniae* strains reveals

- clues on its pathogenicity for fish. Front Microbiol 8: 86.
- Lasa, A., & J.L. Romalde.** 2017. Genome sequence of three *Psychrobacter* sp. strains with potential applications in bioremediation. Genomics Data 12: 7-10.
- Levican, A., A. Lasa, R. Irgang, J.L. Romalde, M. Poblote-Morales & R. Avendaño-Herrera.** 2017. Isolation of *Vibrio tapetis* from two native fish species (*Genypterus chilensis* and *Paralichthys adspersus*) reared in Chile and description of *Vibrio tapetis* subsp. *quintayensis* subsp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 67: 716-723.
- Diéguez, A.L., S. Balboa, T. Magnesen & J.L. Romalde.** 2017. *Arcobacter lekithochrous* sp. nov., a new species isolated from Great scallop (*Pecten maximus*). Int J Syst Evol Microbiol 67: 1327-1332.
- Dubert, J., J.L. Barja & J.L. Romalde.** 2017. New insights about pathogenic vibrios affecting hatcheries: present and future prospects. Front Microbiol 8: 762.
- Gerpe, D., N. Buján, A.L. Diéguez, A. Lasa & J.L. Romalde.** 2017. *Kiloniella majae* sp. nov. isolated from spider crab (*Maja brachydactyla*) and pullet carpet shell clam (*Venerupis pullastra*). Syst Appl Microbiol 40: 274-279.
- Gulla, S., A. Rønneseth, H. Sørum, Ø. Vågnes, S. Balboa, J.L. Romalde, & D. Colquhoun.** 2017. *Vibrio tapetis* from wrasse used for bio-control of ectoparasites in salmon farming: phylogenetic analysis and serotyping. Dis Aquat Org 125: 189-197.
- Diéguez, A.L., P. Pichon, S. Balboa, T. Magnesen, & J.L. Romalde.** 2017. Complete characterization of new isolates of *Neptunomonas phycophila* leads to emend its description and opens possibilities of biotechnological applications. MicrobiologyOpen 6: e519.
- Vercauteren, M., E. De Swaef, A. Declercq, L. Bosseleer, G. Snorre, J.L. Romalde, L. Devriese, H. Polet, F. Boyen, K. Chiers & A. Decostere.** 2018. First isolation of *Vibrio tapetis* and an atypical strain of *Aeromonas salmonicida* from skin ulcerations in common dab (*Limanda limanda*) in the North Sea. J Fish Dis 41: 329-335.

# Microbiología ambiental en Baleares

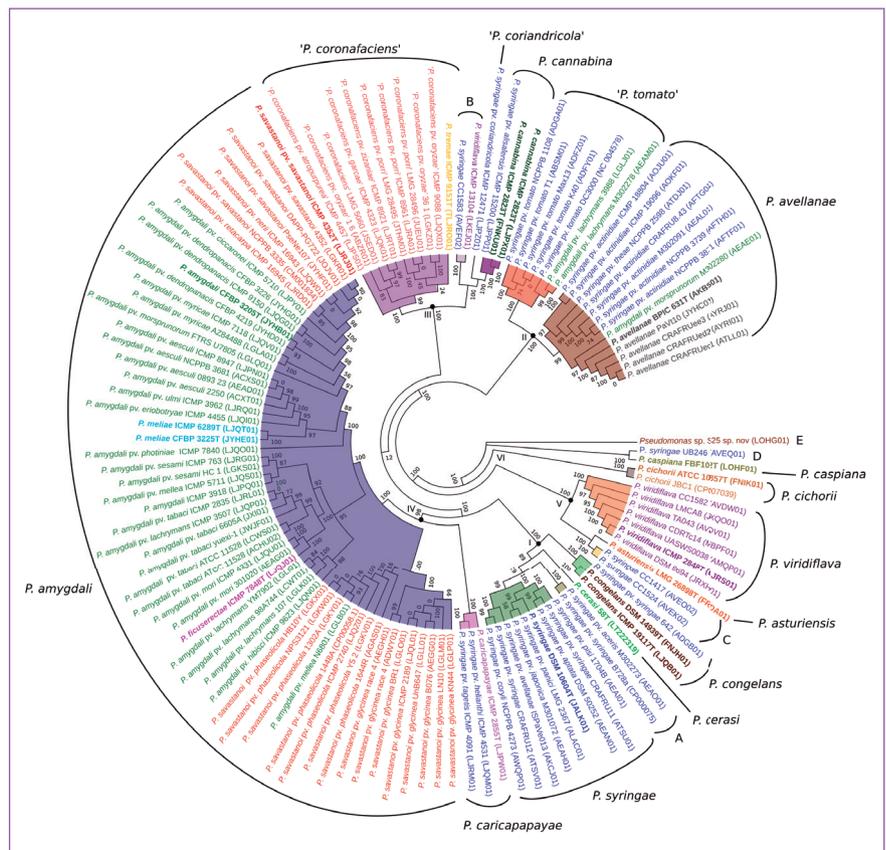
Carlota Alejandre, Josep Amengual, Antonio Busquets, Antonio Bennasar, Rafael Bosch, Sara Díaz, Francisca Font, Joan Francisco Gago, Elena García-Valdés, Margarita Gomila, Jorge Lalucat, Ana Menéndez, María Montaner, Magdalena Mulet, Raúl Muñoz, Balbina Nogales, Cristina Ramón, Ramon Rosselló-Móra, Guillermo Seguí, Mercedes Urdiain y Tomeu Viver



Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Campus UIB, Crtra. Valldemossa km 7.5, 07122 Palma de Mallorca IMEDEA (CSIC-UIB), c. Miquel Marqués 21, 07190 Esporles (Baleares)

El grupo de investigación “Microbiología” es uno de los grupos de excelencia reconocidos por la Dirección General de Innovación e Investigación del Gobierno de la Comunidad Autónoma de las Islas Baleares. Los miembros del grupo están integrados en las tres instituciones principales de Investigación en Baleares: la Universidad (Departamento de Biología), el Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA, CSIC-UIB) y el Instituto Universitario de investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS). Está constituido en estos momentos por todas las personas relacionadas como autores del artículo. Los miembros del grupo son responsables de la organización y docencia del Máster Universitario Microbiología Avanzada (<http://estudis.uib.es/es/master/MMAV/>) y del programa de Doctorado en Microbiología Ambiental y Biomédica (<http://estudis.uib.es/es/doctordat/TMAB/>) que se imparten en la UIB.

Desde el inicio del grupo a finales de los años 70, coincidente con la constitución de la universidad, el grupo ha focalizado sus investigaciones en el estudio de los microorganismos en su ambiente, lo que ha conducido a la especialización en Microbiología Ambiental, aunque se han hecho incursiones en otros ámbitos. La necesidad de disponer de buenas técnicas de identificación de los microorganismos ha sido una preocupación constante a lo largo de los años, lo que ha conducido en estos 40 años a la incorporación de las tecnologías que se iban desarrollando en cada momento para entender la clasificación y filogenia de los procariontas. Cuando ello no ha sido posible, se han establecido colaboraciones con otros



Impacto de los estudios genómicos en la taxonomía del género *Pseudomonas*. Representación de las relaciones genómicas entre cepas de las 15 especies reconocidas dentro del grupo filogenético representado por *Pseudomonas syringae*. El estudio, basado en el análisis de las secuencias de 219 genes monocopia, demuestra que existen por lo menos 7 especies filogenómicas no descritas como especies en taxonomía y que 4 consideradas actualmente como especies distintas deberían reagruparse en una sola (Gomila et al., 2017).

grupos nacionales e internacionales para mantener el nivel de competitividad exigido en la investigación. En estos momentos, se colabora con grupos de investigación en Suecia y Portugal para utilizar la técnica de “optical mapping” (mapeo óptico) para facilitar el ensamblaje de lecturas largas de DNA

o en la secuenciación de plásmidos (Bogas et al., 2017). También se colabora con USA y Alemania para conseguir que la diversidad microbiana no cultivable disponga de un reconocimiento en la taxonomía de procariontas mediante la clasificación de especies por metagenómica (Konstantinidis et al.,

2017). Los estudios de proteogenómica se realizan en colaboración con la Universidad de Warwick (Gran Bretaña). Consecuencia de las investigaciones realizadas es que los miembros del grupo han descubierto y descrito hasta este momento más de 50 especies bacterianas nuevas.

Las investigaciones realizadas a lo largo de los años acerca de la ecología de los procariontes en ambientes naturales, sobre todo acuáticos, marinos e hipersalinos, han conducido a la especialización del grupo en sistemática bacteriana y al estudio de la microbiota de ambientes contaminados y sus posibles aplicaciones en biorremediación. Para ello, se utilizan tanto técnicas dependientes de cultivo (aislamiento, genómica, espectrometría de masas, marcadores filogenéticos, metabolómica, etc.) como independientes de cultivo (metagenómica, secuenciación masiva de amplicones, microscopía de fluorescencia, etc.). Como en casi todos los laboratorios del mundo, también tenemos nuestros microorganismos predilectos que nos sirven de modelo para estudios autoecológicos: arqueas y bacterias halófilas, los miembros del clado *Roseobacter*, las especies del género *Pseudomonas*, o las de crecimiento rápido dentro del género *Mycobacterium*.

## HALÓFILOS/SALINIBACTER

La investigación en este campo se realiza tanto por el aislamiento en cultivo puro y estudios genómicos y metabolómicos de las distintas especies de *Salinibacter* para conocer su biogeografía, microdiversidad y evolución (Antón et al., 2013, Viver et al., 2017). También, los estudios en sistemas hipersalinos se realizan por medio de técnicas independientes del cultivo tanto por secuenciación masiva de amplicones (Mora-Ruiz et al., 2018) como por metagenómica y reclutamiento de "metagenome assembled genomes" (MAGs; Viver et al., 2017).

## LINAJE ROSEOBACTER

Los miembros del linaje *Roseobacter* son muy abundantes en aguas costeras, llegando a suponer hasta el 20% del total de las bacterias presentes en ellas. Estas aguas costeras están siendo crónicamente contaminadas por

hidrocarburos debido a la actividad humana. Por este motivo, nuestro grupo se ha centrado en los últimos años en analizar la presencia de *Roseobacters* en zonas portuarias y en caracterizar el potencial degradador de hidrocarburos de los miembros del linaje. Las aproximaciones llevadas a cabo han sido tanto independientes como dependientes de cultivo. En esta última estrategia se centra el trabajo que realizamos actualmente, principalmente por análisis genómico comparativo del potencial catabólico de todos los miembros secuenciados del linaje (Alejandro-Marín et al., 2014), así como por caracterización proteogenómica y fisiológica del potencial degradador de hidrocarburos de nuestro *Roseobacter* modelo: *Citricella aestuarii* 357 (Suárez-Suárez et al., 2012).

## MYCOBACTERIUM

Las especies de crecimiento rápido del género *Mycobacterium*, como *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. immunogenium* o *M. llutzerense*, son de origen ambiental y se comportan como patógenos oportunistas. Constituyen un buen modelo para buscar evidencias genómicas que expliquen la capacidad de estas especies para desencadenar una infección en determinadas situaciones. Se ha caracterizado por vías genómica y experimental un sistema toxina-antitoxina potencialmente relacionado con funciones de patogenicidad, como son la persistencia celular en un estado de latencia cuando las condiciones son adversas y luego volver a un estado de normalidad cuando desaparece la presión negativa y reproducir una infección (Jaén-Luchoro et al., 2017)

## PSEUDOMONAS

Los estudios filogenómicos aplicados a este género está permitiendo la diferenciación precisa entre especies, lo que conllevará un incremento importante en el número de especies descritas (Gomila et al., 2015). Además, demuestra que los linajes y grupos filogenéticos definidos dentro del género están claramente diferenciados. Los estudios filogenómicos están ayudando a la diferenciación entre cepas ambientales y otras de las mismas especies que pueden ser patógenas para humanos, animales y plantas (Mulet et

al., 2017; Gomila et al., 2017). El estudio taxonómico de *Pseudomonas* patógenas de plantas representa una línea de futuro que se ha iniciado gracias a colaboraciones internacionales.

## XYLELLA

La introducción reciente de este patógeno vegetal en Europa (Italia 2013, Baleares 2016, Alicante 2017, y recientemente en Madrid) ha promovido la creación de grupos de trabajo para su estudio. Las administraciones europeas, nacionales y regionales inician la financiación de proyectos de investigación para encontrar soluciones. Nuestro grupo participa en un proyecto nacional (INIA), un proyecto europeo (EFSA) y dos locales financiados por la Caixa y la consejería de Innovación, Investigación y Turismo del Gobierno Balear. Todos ellos se han puesto en marcha, o se iniciarán a lo largo de 2018.

## BASES DE DATOS

El disponer de bases de datos fiables es actualmente un punto crítico en taxonomía bacteriana. No solo han de contener datos contrastados, sino que además hay que intentar mantenerlas actualizadas con la mayor frecuencia posible. Miembros del grupo participan en JSpeciesWS o "The All-Species Living Tree Project" (LTP; [www.arb-silva.de/projects/living-tree/](http://www.arb-silva.de/projects/living-tree/)) muy útil en la diferenciación de especies bacterianas. Recientemente se ha propuesto el inicio de una base de datos que incluya la descripción de las nuevas especies bacterianas que se clasifiquen bajo el nombre de "Digital Protologue" (<http://imedea.uib-csic.es/dprotologue/>) (Rosselló-Móra et al., 2017) que está teniendo muy buena aceptación.

## ENLACES DE INTERÉS

- Información del grupo: <http://www.uib.es/es/receca/estructures/grups/grup/MICROBIO/>
- Microbiología del medio ambiente dentro del Departamento de Biodiversidad animal y microbiana: [http://imedea.uib-csic.es/research\\_ru.php?l=8](http://imedea.uib-csic.es/research_ru.php?l=8)

## AGRADECIMIENTOS

Los proyectos de investigación actualmente vigentes están financiados por el Plan Nacional de investigación (MINECO), el Instituto de Salud Carlos III, el INIA, la EFSA, la Dirección General de Investigación del Gobierno Balear y la Obra Social de la Fundación Bancaria “La Caixa”.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alejandro-Marín C.M., Bosch R., Nogales B. (2014). Comparative genomics of the protocatechuate branch of the beta-ketoadipate pathway in the *Roseobacter* lineage. *Marine Genomics*. 17: 25-33.
- Antón, J., Lucio, M., Peña, A., Cifuentes, A., Brito-Echeverría, J., Moritz, F., Tziotis, D., López, C., Urdiain, M., Schmitt-Kopplin, P., Rosselló-Móra, R. (2013). High metabolomic microdiversity within co-occurring isolates of the extremely halophilic bacterium *Salinibacter ruber*. *PLoS ONE* 8(5): e64701
- Bogas D., Nyberg L., Pacheco R., Azevedo N.F., Beech J.P., Gomila M., Lalucat J., Manaia C.M., Nunes O.C., Tegenfeldt J.O., Westerlund F. (2017). Applications of optical DNA mapping in microbiology. *Biotechniques*. Jun 1;62(6):255-267. doi: 10.2144/000114555.
- Gomila M., Peña A., Mulet M., Lalucat J. García-Valdés E. (2015) Phylogenomics and systematics in *Pseudomonas*. *Front. Microbiol.* doi: 10.3389/fmicb.2015.00214
- Gomila M., Busquets A., Mulet M., García-Valdés E., Lalucat J. Clarification of the taxonomic status within the *Pseudomonas syringae* species group based on a phylogenomic analysis. *Front. Microbiol.* (2017) doi: 10.3389/fmicb.2017.02422
- Jaén-Luchoro D., Aliaga-Lozano F., Gomila R.M., Gomila M., Salvá-Serra F., Lalucat J., Bennasar-Figueras A. (2017). First insights into a type II toxin-antitoxin system from the clinical isolate *Mycobacterium* sp. MHS3, similar to epsilon/zeta systems. *PLoS One*.12(12): e0189459. doi: 10.1371/journal.pone.0189459
- Konstantinidis, K.T., Rossello-Mora, R., Amann, R.I. (2017) Uncultivated microbes in need of their own taxonomy. *ISME J*. 11: 2399-2406. doi: 10.1038/ismej.2017.113.
- Mora-Ruiz, M. del R., Cifuentes, A., Font-Verdera, F., Pérez-Fernández, C., Fariás M.E., González B., Orfila A., Rossello-Mora, R. (2018). Biogeographical patterns of bacterial and archaeal communities from distant hypersaline environments. *Syst Appl Microbiol*. 41, 139-150
- Mulet, M., Gomila, M., Ramírez, A., Cardew S., Moore E.R.B., Lalucat J., García-Valdés E. (2017). Uncommonly isolated clinical *Pseudomonas*: identification and phylogenetic assignment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 36:351. doi:10.1007/s10096-016-2808-4.
- Rosselló-Móra R., Trujillo M., Sutcliffe I.C. (2017). Introducing a digital protologue: a timely move towards a database-driven systematics of archaea and bacteria *Antonie Van Leeuwenhoek*. 110(4):455-456. doi: 10.1007/s10482-017-0841-7.
- Suarez-Suarez L.Y., Brunet-Galmes I., Piña-Villalonga J.M., Christie-Oleza J.A., Peña A., Bennasar A., Armengaud J., Nogales B., Bosch R. (2012). Draft genome sequence of *Citricella aestuarii* strain 357, a member of the *Roseobacter* clade isolated without xenobiotic pressure from a petroleum-polluted beach. *J Bacteriol*. 194: 5464-5465.
- Viver, T., Orellana, L.H., Hatt, J.K., Urdiain, M., Díaz, M., Richter, M., Antón, J., Avian, M., Amann, R., Konstantinidis, K.T., Rosselló-Móra, R. (2017). The low diverse gastric microbiome of the jellyfish *Cotylorhiza tuberculata* is dominated by four novel taxa. *Environ. Microbiol*. 19: 3039-3058.
- Viver, T., Orellana, L.H., González-Torres, P., Díaz, M., Urdiain, M., Fariás M.E., Benes V., Kämpfer, P., Shahinpei A., Amoozegar M.A., Amann, R., Antón, J., Konstantinidis, K.T., Rosselló-Móra, R. (2018). Genomic comparison between members of the *Salinibacteraceae* family, and description of a new species of *Salinibacter* (*Salinibacter altiplanensis* sp. Nov.) isolated from high altitude hypersaline environments of the Argentinian altiplano. *Syst. Appl. Microbiol*. 41, 198-212.

 SEM XII Reunión del Grupo Microbiología Molecular


Comité Organizador: Jesús A. Gonzalo, Carlos Martín, María Fillat, Rosa Bolea y José A. Aínsa

Página web: <https://micromolecular2018.wordpress.com>

La XII Reunión Científica del Grupo especializado de Microbiología Molecular de la SEM tendrá lugar en Zaragoza, los días 5 al 7 de Septiembre. La Reunión está organizada por la Universidad de Zaragoza y el consorcio Campus Íberus.

Como en ocasiones anteriores, las sesiones científicas se centrarán en Biotecnología Microbiana, Patogenicidad, Antimicrobianos, Fisiología y Metabolismo, Regulación Génica, etc.

¡Esperamos vuestra participación!

## Fernando Baquero

### Consejos para jóvenes microbiólogos

Entrevista: Ignacio Belda  
Redacción: Samuel García  
Grabación y sonido: Álvaro Sanz Llopis



Fernando Baquero, en el Hospital Universitario Gregoria Marañón, durante su entrevista a JISEM

*Reseña resumen de la entrevista realizada al Dr. Fernando Baquero, expresidente de la SEM y actualmente Profesor de Investigación en el Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). En esta nueva serie temática que iniciamos desde JISEM, microbiólogos españoles de referencia mundial nos dan su opinión y consejos sobre la situación y perspectivas de la ciencia española para los jóvenes. Tiene la palabra el Dr. Baquero. La entrevista completa en vídeo está disponible escaneando el código QR de arriba o haciendo click en el enlace.*

#### ¿CÓMO FUERON LOS INICIOS DE SU CARRERA CIENTÍFICA?

Mi carrera científica, de alguna forma, es muy anterior a la universidad. Porque yo nací ya rodeado de microbios; no solamente de la forma en que todos nosotros lo estamos, sino yo también profesionalmente. Mi

padre trabajaba en el Hospital Nacional de Enfermedades Infecciosas y yo, desde que era niño, he jugado con microbios en vez de jugar con otras cosas. Así es que los conozco desde mi más tierna infancia. Claro que eran bacterias que mi padre consideraba 'no patógenas', como *Pseudomonas*, *E. coli*... Para mi padre sólo eran patógenas *Salmonella typhi*, *Neisseria meningitidis*, *Mycobacterium tuberculosis*... Y esas otras carecían de interés para la microbiología de la época.

#### TRAS ESTUDIAR MEDICINA, ¿POR QUÉ DECIDE CENTRARSE EN LA MICROBIOLOGÍA Y SE ALEJA DE LA PRÁCTICA MÉDICA?

Después me hice médico porque me interesaba la Medicina, pero nunca he sido un médico excesivamente volcado en el quehacer humanitario de los pacientes, sino más bien buscando razones biológicas, investigación...

**You**Tube

La entrevista a Fernando Baquero puede verse en este enlace:



<http://youtu.be/ZASloYJ4Cs>

Y mi interés por la microbiología fue porque me parecía que, además de su valor médico, tenía un valor biológico, explicativo de la naturaleza en general, que me atraía muchísimo.

De hecho, hasta un cierto momento de mi carrera, colaboraba con la cátedra del profesor López Ibor. Quería ser psiquiatra hasta que realmente me di cuenta de que, en aquel momento, aquello carecía de la base experimental que una mentalidad científica como la mía exigía. Me parecía que aquello era, digamos, dudosamente científico en el sentido de que no había la posibilidad de hacer experimentación y evaluación objetiva de las posibilidades de cambio, de intervención.

#### TRAS SU TESIS DOCTORAL, VIAJÓ AL INSTITUTO PASTEUR...

Fui allí a hacer allí realmente cursos de especialización, lo que ellos llamaban 'estudios

profundos', en Bioquímica, Ecología y Genética de la resistencia a antibióticos, que entonces empezaba. La herencia de Jacob y de Monod estaba muy presente en el Instituto Pasteur de aquellos años, en el que se veía cualquier problema biológico, incluyendo los problemas de carácter médico, como la resistencia a antibióticos, como una ocasión de entender la naturaleza en su conjunto.

### ¿QUÉ APRENDIÓ ALLÍ?

Que cualquier microbio, bien en alimentación, en la medicina humana, en la medicina veterinaria, en la producción de sustancias... Que cualquier microbio es capaz de darte una visión general de la Biología.

[...]

### ¿QUÉ RASGOS DEFINEN A UN JOVEN MICROBIÓLOGO?

El joven microbiólogo es una persona inteligente y sensible. [Se ríe] En el sentido de que es una persona curiosa. Yo creo que lo que caracteriza al microbiólogo, sobre todo, es la curiosidad. Y la curiosidad que se puede solucionar. Hay curiosidades insolubles, pero en la microbiología hay muchas cuestiones perfectamente experimentables, a las que se puede dar respuesta incluso con medios relativamente modestos.

Uno tiene que hacerse la pregunta, la pregunta nadie te la tiene que dar. El científico tiene que hacerse él la pregunta, esa es su dignidad como científico. Preguntarse. No adquirir la pregunta de prestado de otro, sino hacérsela él. Y buscar la respuesta. Tomar prestadas las preguntas y las respuestas de otros; eso degrada tu actividad y tu dignidad como científico.

[...]

### ¿QUÉ HA APRENDIDO DE LAS BACTERIAS?

Siempre me ha gustado jugar a 'si yo fuera un microbio ¿qué haría?' o 'si las bacterias fueran personas ¿qué harían?'. [Se ríe] Y esa especie de intento de comparación, francisca-

mente, con nuestras *hermanas* bacterias, me ha hecho comprender muchas de las cosas que hacen y también comprender, gracias a ellas, muchas de las cosas que hacemos nosotros. Y, de hecho, he llegado a la conclusión, a mi avanzada edad, de que no existe una diferencia esencial entre el hombre y la bacteria. Me refiero a los comportamientos, no ya a la parte bioquímica, ni siquiera en los comportamientos. De tal forma que nosotros creo que actuamos prácticamente como las bacterias y, eso sí, tapizamos de una aparente racionalidad lo que hacemos, pero no es evidente que la tengamos.

[...]

### USTED HA RECIBIDO VARIOS PREMIOS DE RELEVANCIA INTERNACIONAL, PERO ¿CUÁL ES LA MAYOR GRATIFICACIÓN QUE HA TENIDO COMO CIENTÍFICO?

Desde luego no los premios. Lo de los premios es una cuestión que jamás he buscado, jamás he aplicado directamente por un premio. Si me han dado un premio ha sido porque me lo han dado. Y tampoco me ha supuesto, digamos, una satisfacción inmensa. Quien diga que no le agrada que le den un premio simplemente miente, por supuesto que nos agrada. Pero no es una cuestión que me apasione.

La gratificación, realmente, consiste en cuando uno es capaz de publicar un buen artículo que es reconocido después como un conocimiento que ha proporcionado algún carácter seminal para otras investigaciones. Es decir, la repercusión en la ciencia de tu trabajo es lo que realmente más te gratifica con mucha diferencia.

[...]

### UN CONSEJO DE ACTITUD PARA LOS FUTUROS MICROBIÓLOGOS.

El consejo para el resto de su vida sería: no dejes de considerar todos los demás aspectos en los que tu tarea pueda tener repercusión. Es decir, amplificar el terreno de tu capacidad mental, de tu representación y de tu ambición, a todos los campos posibles. Hoy hay que saber de tu proceso,



Fernando Baquero, distinguido con el Premio André Lwoff de la FEMS por su trayectoria investigadora en Microbiología junto al profesor Jean-Claude Piffaretti

pero hay que saber también de Ecología, de Evolución, de la Biosfera en su conjunto... Hay que saber incardinar tu planteamiento en un planteamiento muy general. Y hay que formarse para eso desde el primer momento, no puede uno dejar de saber de esos asuntos en cualquier cosa que uno esté haciendo. Yo diría que esa 'inspiración global' es lo que recomendaría para cualquier científico que empezara.

### UNAS PREGUNTAS RÁPIDAS:

#### Su microorganismo favorito:

*E. coli*, claro.

#### Un país para investigar:

Estados Unidos.

#### Un sitio para visitar:

La Universidad de Utrech.

#### Un libro para leer:

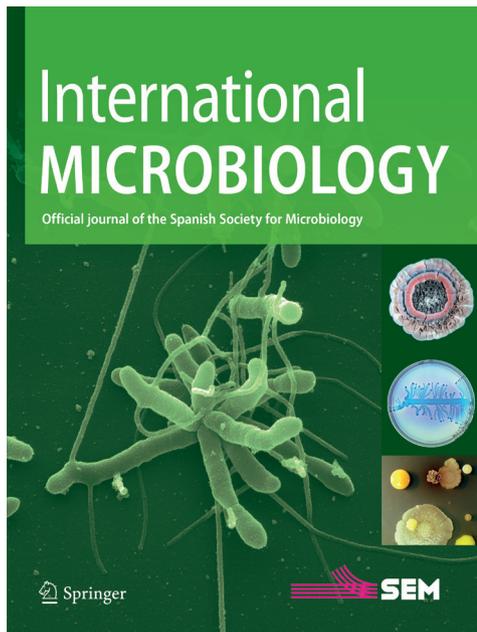
El mundo de los microbios.

#### Un científico referente:

R. Y. Stanier

## La nueva etapa de *International Microbiology*

José Berenguer



Nueva portada de *International Microbiology*. Imagen central: Micrografía electrónica de barrido de *Asticacaulis* spp (Miguel A. de Pedro, CSIC). Imagen superior derecha: Colonia de *Streptomyces coelicolor* (Ramón Santamaría, CSIC). Imagen central derecha: Estría en placa de *Paenibacillus* spp teñido con azul de metileno (Ramón Santamaría, CSIC). Imagen inferior derecha. Colonias generadas a partir de una muestra de suelo (Victor Jiménez, UCM)

Como probablemente sabréis, desde el 3 de Enero de 2018 la revista *International Microbiology* ha pasado a ser publicada por el grupo Springer Nature manteniendo su carácter de revista científica oficial de la Sociedad Española de Microbiología. En esta nueva etapa el objetivo para nuestra revista es otorgarle un carácter aún más internacional siguiendo el camino iniciado por el anterior editor jefe, Ricardo Guerrero al decidir en 1994 publicar exclusivamente en Inglés, y facilitando su visibilidad y acceso a través de un portal en línea mucho más directo y reconocido, otorgado por una editorial científica de gran prestigio (<https://www.springer.com/life+sciences/microbiology/journal/10123>). Adicionalmente, la revista ha adoptado el sistema de manejo en línea "Editorial Manager" muy sencillo de utilizar y de auditar, tal y como exigen las compañías de indexación científica, y ha modificado su portada haciéndola más moderna y atractiva.

En esta nueva etapa la publicación de artículos no conlleva costes para los autores, quedando en acceso libre tras un periodo de embargo que establece la editorial y siendo posible también la elección del acceso abierto inmediato con un coste económico. Adicionalmente, el acceso a la revista está incorporado en los paquetes de distribución que la editorial contrata con la mayor parte de las instituciones científicas y académicas del mundo, por lo que la accesibilidad es básicamente inmediata para la mayor parte de los investigadores. En todo caso, se ha acordado con la editorial el acceso gratuito directo a los contenidos de la revista para los socios de la SEM a través de sus claves en la página web de la Sociedad (<http://www.semicrobiologia.org> > [Publicaciones > International Microbiology](#)).

El sistema de acceso y envío de manuscritos a través de una gran editorial otorga a la revista un mayor atractivo para Microbiólogos de todo el mundo, constatado a través del incremento muy considerable del número de manuscritos que se han recibido este año. Así, desde el 2 de Enero hasta la fecha de escritura de esta reseña (21 de Mayo) hemos recibido 130 artículos frente a los 100 que recibimos a lo largo de todo el año 2017, por lo que estimamos en cerca de 300 los artículos que recibiremos a lo largo

de todo el año. Sin duda se trata de un comienzo prometedor que permitirá a la revista incrementar su calidad científica, toda vez que tras la correspondiente evaluación obligatoria por dos revisores solamente un 10-15% de ellos podrán ser aceptados durante esta primera etapa, en la que está prevista la publicación de 4 números por año. Esto conllevará lógicamente la colaboración desinteresada de un gran número de revisores expertos en la temática, amplia, que abarca *International Microbiology*, y en este sentido, me gustaría pedir vuestra colaboración y ayuda experta como posibles revisores de artículos de nuestra revista. Seguro que de vez en cuando os llegará desde la editorial a algunos de vosotros solicitudes de revisión de artículos de vuestra especialidad; os pido que en la medida de vuestras posibilidades aceptéis revisarlos mediante el link que os llegará de la editorial que os facilitará posteriormente las claves para acceder como revisores al sistema Editorial Manager. Desde *International Microbiology* y la SEM os lo agradecemos de antemano.

También considero muy deseable para la promoción de la revista y para la propia SEM la publicación de artículos de calidad de los excelentes grupos de investigación en Microbiología que tenemos en España, pues estoy seguro de que esto contribuirá de forma relevante a respaldarla y potenciar su visibilidad, y por extensión, la de la propia SEM. Como dato, a lo largo de este año solamente un 3% de los 130 artículos recibidos tienen una dirección de correspondencia en España. Como investigador que solicito proyectos, soy consciente del daño que a la Ciencia en general y a la Microbiología en particular le está haciendo la interpretación del significado del índice de impacto, y otros indicadores bibliométricos al uso, que hacen las autoridades responsables del reparto de fondos de investigación o de promociones profesionales, pero desde estas líneas consideramos factible potenciar también en este aspecto nuestra revista a través de vuestras aportaciones, como hacen otras sociedades científicas con las suyas. Por ello, desde Sem@Foro os animamos a considerar *International Microbiology* como una buena opción para enviar vuestros trabajos de investigación, pues sólo desde la calidad del conjunto se puede alcanzar relevancia y atractivo internacionales que deseamos.

## PREMIO “FLEMING 2018”

Humberto Martín

Presidente del Grupo Especializado de Hongos Filamentosos y Levaduras

El grupo especializado de Hongos Filamentosos y Levaduras concede bienalmente y coincidiendo con el congreso nacional de micología el “Premio Fleming” al mejor trabajo de investigación presentado a concurso, en el ámbito de la Micología y realizado en un laboratorio de España en los dos años previos. En la presente edición, una comisión compuesta por cuatro miembros de la Junta Directiva del grupo especializado ha otorgado el premio “Fleming 2018” al trabajo titulado “ORP-Mediated ER Contact with Endocytic Sites Facilitates Actin Polymerization”, publicado el año pasado en “Developmental Cell” y cuyos autores son Javier Encinar del Dedo, Fatima-Zahra Idrissi, Isabel María Fernández-Golbano, Patricia García, Elena Rebollo, Marek K. Krzyzanowski, Helga Grötsch y María Isabel Geli. Este trabajo será expuesto por Javier Encinar en la charla de clausura del XIV Congreso Nacional de Micología que tendrá lugar en Tarragona del 19 al 21 de septiembre de este año (<https://xivcongresonacionalmicologia2018.wordpress.com/>). A continuación tenéis un breve resumen del trabajo premiado y un anticipo de la charla que disfrutaremos en Tarragona.

¡Nuestra más sincera enhorabuena a los ganadores!

## CONEXIÓN RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO-ENDOCITOSIS: VIVIENDO AL LÍMITE

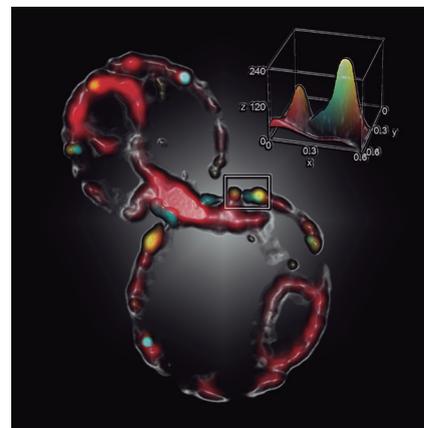
Javier Encinar del Dedo

La endocitosis es el proceso mediante el cual la célula internaliza parte de su membrana plasmática, junto con muestras del medio extracelular. El cargo internalizado es transportado a los compartimentos endosomales, desde donde puede reciclarse a la membrana plasmática, o ser transportado hasta los lisosomas para su degradación. La endocitosis controla la señalización celular y es necesaria para la internalización de nutrientes y la renovación de proteínas de membrana, estando su disfunción fuertemente relacionada con numerosas patologías humanas, incluidas el cáncer y la neurodegeneración. En nuestro laboratorio, utilizamos la levadura de gemación *S. cerevisiae* como sistema modelo para estudiar los mecanismos moleculares conservados en el tráfico endocítico.

Usando una metodología que incluye la dimensión temporal en el análisis ultraestructural de las invaginaciones endocíticas (Time-Resolved Electron Microscopy, TREM) y microscopía de fluorescencia “in vivo” hemos demostrado que las invaginaciones endocíticas se asocian con los bordes del retículo endoplasmático cortical a medida que maduran. Esta asociación tiene un papel doble, por un lado, facilita el inicio de la polimerización de actina en los sitios de endocitosis, y por otro lado, promueve la fisión de la invaginación para liberar la vesícula endocítica en el citoplasma celular. Esta conexión entre el retículo cortical y los sitios de endocitosis está mediada por las proteínas Scs2 y Scs22 (Vesicle-Associated membrane Protein-associated protein, VAP), las proteínas de unión a esteroides (OSBP) Osh2 y Osh3 y la miosina de tipo I Myo5. Finalmente, demostramos que el complejo miosina-I / OSBP / VAP permite la transferencia localizada de esteroides desde el retículo cortical hacia los sitios de endocitosis induciendo la polimerización de actina.

Nuestro trabajo abre una nueva vía de investigación de relevancia no solo para la endocitosis, sino también para todos aquellos procesos celulares que requieren la organización de micro-dominios enriquecidos en esteroides asociados a la polimerización de actina, incluida la migración celular o la formación de invadopodios.

Encinar del Dedo J. et al. ORP-Mediated ER Contact with Endocytic Sites Facilitates Actin Polymerization. Dev Cell. 2017 Dec 4;43(5):588-602.



La imagen muestra la colocalización entre las proteínas Sec61-mCherry (marcador de retículo endoplasmático), Osh2-YFP (marcador de las proteínas de unión a esteroides) y Abp1-CFP (marcador de actina en los sitios de endocitosis). El recuadro marca la zona analizada mediante un diagrama de superficie en 3D (gráfica). Toda la imagen ha sido tratada con los filtros adecuados para dar relieve y un toque “artístico” a la misma.

## ESTUDIO COMPARATIVO DE LA MICROBIOTA ASOCIADA A VIEIRA (*PECTEN MAXIMUS*) EN DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO INTENSIVO EN CRIADERO

**Autora:** Ana López Diéguez

**Directores:** Jesús L. Romalde / Sabela Balboa

**Centro de realización:** Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Biología, Universidade de Santiago de Compostela

La vieira, *Pecten maximus*, es un bivalvo de alto valor comercial y alto potencial en acuicultura. Uno de los principales factores limitantes de este cultivo es la obtención de una semilla de calidad. El diseño y experimentación de sistemas de producción de semilla son, consecuentemente, un punto fundamental en el desarrollo de una industria productora.

Los criaderos de moluscos bivalvos constituyen ecosistemas completos, en los que se producen numerosas interacciones físicas, químicas y microbiológicas entre sus distintos compartimentos. La mayoría de los estudios realizados en criaderos se han centrado en la detección y prevención de patógenos, a pesar de que un estudio microbiológico en profundidad no sólo proporciona información acerca del estatus sanitario del animal, sino que permite también optimizar los sistemas de cultivo mediante el control de su microbiota.

En esta tesis doctoral se estudió la microbiota asociada a un criadero de *P. maximus* en Noruega, utilizando dos sistemas de producción diferentes, un sistema de flujo continuo de agua (FTS: *Flow-Through System*) y otro de recirculación de agua (RAS: *Recirculation Aquaculture System*), que supone un ahorro en el gasto de agua y energía e implica un mayor control biológico en el cultivo.

Los resultados obtenidos mostraron que los géneros mayoritarios en el criadero en ambos sistemas eran *Vibrio*, *Pseudoalteromonas*, *Neptuniibacter* y *Shewanella*, con un comportamiento ubicuo. Las gónadas de los reproductores mostraron una gran diversidad bacteriana. Muchos de estos taxones fueron exclusivos de reproductores como *Kordia*, *Microbulbifer* o *Sinobacterium*, mientras que otros como *Vibrio* o *Shewanella* presentaron un patrón de distribución desde los reproductores hasta el agua y larvas, lo que nos lleva a pensar en una posible transmisión vertical de los mismos. Por su parte, y como era esperable por el carácter filtrador de los moluscos, la microbiota de las larvas está fuertemente vinculada a la del agua y las biopelículas de los tanques, siendo esta relación más evidente en el sistema FTS. Siguiendo este razonamiento, las comunidades bacterianas que encontramos en las muestras de microalgas deberían influir en la microbiota presente en las larvas, pero los únicos microorganismos comunes en ambos compartimentos perte-

necían a los géneros *Alteromonas* y *Vibrio*, mientras otros géneros fueron exclusivos del fitoplancton, como *Muricauda* y *Jejuia*.

Los resultados de este estudio pusieron de manifiesto que las interacciones entre los distintos nichos biológicos (compartimentos) de un criadero son esenciales para el buen funcionamiento del mismo. Las diferencias observadas en la microbiota asociada a los distintos sistemas de producción no son significativas, por lo que el sistema de recirculación podría considerarse como una buena alternativa de cultivo para esta especie.

Por otro lado, de los más de 200 aislados obtenidos en este ciclo de producción, se seleccionaron cuatro grupos que constituyeron tras su caracterización las nuevas especies: *Sinobacterium norvegicum* sp. nov., *Neptuniibacter pectenicola* sp. nov., *Neptuniibacter marinus* sp. nov. y *Arcobacter lekithochrous* sp. nov. La caracterización de un quinto grupo de aislados identificados como *Neptunomonas phycophila*, permitió ampliar el rango de hospedador, la distribución geográfica y la descripción de la especie. El análisis de los genomas completos de las cepas tipo, indicó el uso potencial de las nuevas especies de *Neptuniibacter* y de *Neptunomonas phycophila* en biorremediación, ya que presentan genes de degradación de compuestos aromáticos.

### 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 (m.sanchez@umh.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).

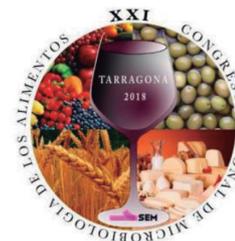
SEM@foro se reserva el derecho a no publicar la información si el resumen es excesivamente largo o el tema del trabajo no guarda suficiente relación con la Microbiología.

Los resúmenes de tesis dirigidas por miembros de la SEM no serán publicados en esta sección. Se recomienda enviar a la sección "Nuestra Ciencia" un resumen de alguno de los artículos producidos por la tesis.

## 2ª Circular, 17 abril 2018

- <http://wwwa.fundacio.urv.cat/congressos/xxi-congreso-nacional-sem-de-microbiologia-de-alimentos/inicio> •

En el XXI CMA2018, Congreso bianual del Grupo especializado de Microbiología de los Alimentos de la Sociedad Española de Microbiología (SEM), se revisarán las Nuevas Tendencias en Microbiología de Alimentos.



Otras **FECHAS IMPORTANTES** límites:

- 11 junio para la inscripción con cuota reducida
- 25 junio para las comunicaciones completas
- 9 julio para la designación de las comunicaciones escogidas para oral Hasta el 3 septiembre para las últimas inscripciones

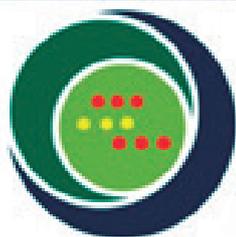
Hay una reducción del 33% en la cuota del XXI CMA2018 al inscribirse también en el XIV Congreso de Micología, a celebrar también en Tarragona del 19 al 21 de septiembre 2018.

**PREMIOS** relacionados con el XXI CMA2018:

- PREMIO Especial del Grupo SEM Microbiología de Alimentos para INVESTIGADORES JÓVENES
- PREMIO a la MEJOR TESIS DOCTORAL
- PREMIO al MEJOR PÓSTER del Congreso

Contacto e-mail: [semalimentos2018@urv.cat](mailto:semalimentos2018@urv.cat)

<http://wwwa.fundacio.urv.cat/congressos/xxi-congreso-nacional-sem-de-microbiologia-de-alimentos/inicio>



**Small World Initiative**  
**@Spain**  
crowdsourcing antibiotic discovery

# I SIMPOSIO de la Red SWI@SPAIN

18 de julio de 2018  
Campus Moncloa,  
Universidad Complutense de Madrid



Plan Nacional  
Resistencia  
Antibióticos



GOBIERNO DE ESPAÑA  
MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL Y CONSUMO



**D+Dm.**  
SEM  
Sociedad Española  
de Microbiología



GOBIERNO DE ESPAÑA

MINISTERIO DE ECONOMÍA Y COMPETITIVIDAD

**FECYT**



FUNDACIÓN ESPAÑOLA PARA LA CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA

PERIODISMO CIENTÍFICO • SEGURIDAD ALIMENTARIA • DIVULGACIÓN • RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS • MEDIO AMBIENTE • CULTURA CIENTÍFICA • VACUNAS • DIFUSIÓN • TRANSGÉNICOS • ECOLOGÍA

# RETOS

# MICROBIOLOGÍA Y SOCIEDAD

## IV Reunión de Docencia y Difusión de la Microbiología

Madrid  
19 y 20 de julio de 2018



Reserva la fecha  
en tu calendario



Sociedad Española de Microbiología

Apertura de inscripciones: Marzo 2018



[semicrobiologia.org](http://semicrobiologia.org)