

SEM@foro

Revista de la Sociedad Española de Microbiología



ESPECIAL MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



La polio en la España del siglo XX

Junta Directiva de la Sociedad Española de Microbiología

Presidente

RAFAEL GIRALDO SUÁREZ
Centro Nacional de Biotecnología
CSIC. C/Darwin, 3. 28049 Madrid
rgirald@cnb.csic.es

Vicepresidenta

INMACULADA LLAMAS COMPANY
Departamento de Microbiología.
Facultad de Farmacia.
Campus de Cartuja. 18071 Granada
illamas@ugr.es

Secretaria

ALICIA PRIETO ORZANCO
Centro de Investigaciones Biológicas
CSIC. C/Ramiro de Maeztu, 9.
28040 Madrid

Tesorero

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

Editores de publicaciones

International Microbiology

ASUNCIÓN DE LOS RÍOS
Museo Nacional Ciencias Naturales
Serrano 115 dpdo
Madrid-28006
arios@mnncn.csic.es

SEM@foro

MAGDALENA MARTÍNEZ CAÑAMERO
Departamento Ciencias de la Salud
Facultad Ciencias Experimentales
Paraje de las Lagunillas, s/n
Universidad de Jaén. 23071 Jaén.
canamero@ujaen.es

NoticiaSEM

JÉSSICA GIL SERNA
Departamento de Genética, Fisiología y
Microbiología
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Complutense de Madrid.
28040 Madrid
jgilsern@ucm.es

Directora de la Colección Española de Cultivos Tipo

ROSA AZNAR NOVELLA
Dpto. Microbiología y Ecología.
Facultat de Ciències Biològiques.
Univ. de Valencia.
C/ Dr. Moliner 50. 46100 Burjassot (València).
rosa.aznar@uv.es

Responsable Cursos de Formación Continua online

DIEGO A. MORENO
Departamento de Ingeniería y Ciencia
de los Materiales
ETS Ingenieros Industriales
Universidad Politécnica de Madrid
José Gutiérrez Abascal, 2.
28006 Madrid
diego.moreno@upm.es

Webmaster de la SEM

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

Vocales

SUSANA CAMPOY SÁNCHEZ
Facultad de Biociencias
Dpto. Genética y de Microbiología
Torre C3 - 4ª planta
Universidad Autónoma de Barcelona
08193 Bellaterra - Barcelona.
susana.campany@uab.cat

MARGARITA GOMILA RIBAS
Facultad Biología - Área de Microbiología
Universidad de las Islas Baleares
Ctra. Valldemossa, km. 7,5
07122 Palma de Mallorca
marga.gomila@uib.es

MONTERRAT 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 Genética, Fisiología y
Microbiología (Unidad de Microbiología)
Facultad de Biología
Universidad Complutense de Madrid
C/ José Antonio Novais 12, 28040-Madrid
ignaciobelda@ucm.es

Presidentes de Grupos

Biodeterioro, Biodegradación y Biorremediación

ANA M. GARCÍA RUIZ
Universidad Politécnica de Madrid. Escuela
Técnica Superior de Ingenieros Industriales.
C/ José Gutiérrez Abascal, 2 - 28006 Madrid.
ana.garcia.ruiz@upm.es

Hongos Filamentosos y Levaduras (Micología)

Mª ÁNGELES DE LA TORRE RUIZ
Departamento Ciencias Médicas Básicas.
Facultad de Medicina.
Institut de Recerca Biomèdica (IRBLLeida).
Biomedicina 1. Universidad de Lleida
Alcalde Rovira Roure nº80 - 25198-Lleida
mariaangeles.delatorre@udl.cat

Biología de Microorganismos Patógenos

ÓSCAR ZARAGOZA
Centro Nacional de Microbiología. Servicio
Micología. Ctra. Majadahonda-Pozuelo, km. 2.
28220 Majadahonda-Madrid.
ozaragoza@isci.es

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

JOSÉ ANTONIO GIL SANTOS
Dpto. Biología Molecular. Facultad Biología.
Universidad de León. 24004 León.
jose.a.gil@unileon.es

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

ALICIA MURO PASTOR
Instituto Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis
CSIC-Universidad de Sevilla
Avda. Américo Vespucio 49
41092 Sevilla
alicia@ibvf.csic.es

Microbiología del Medio Acuático

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

Microbiología de Plantas

EMILIA LÓPEZ SOLANILLA
Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas
(CBGP). Dpto Biotecnología-Biología Vegetal.
ETSIAAB. Campus Montegancedo
Universidad Politécnica de Madrid
28223 Pozuelo de Alarcón
emilia.lopez@upm.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

IGNACIO LÓPEZ GOÑI
Departamento de Microbiología y
Parasitología. Universidad de Navarra
Campus universitario – 31080 – Pamplona
ilgoni@unav.es

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

Directora: Magdalena Martínez Cañamero
E-mail: canamero@ujaen.es

Co-editor de la sección Microbiología
de los Alimentos: Gonzalo García de
Fernando Minguillón

La SEM y la Directora no comparten
necesariamente las opiniones que puedan
aparecer en artículos, informaciones
o cartas enviados por los socios, ni se
responsabilizan de su veracidad.

ISSN: 2254-4399
Depósito Legal: M-12838-2013

Maquetación e Impresión: Diseño y Control
Gráfico, S.L. Tel.: 91 731 05 13
E-mail: info.dcg@design2aa.com
www.design-2aa.com

<https://www.semicrobiologia.org/revista-semaforo>

Sumario



Pasteur y los microorganismos suministrados por algunos de los grupos autores de este número.

Visite la página web de la Sociedad Española de Microbiología:

www.sem microbiologia.org

Encontrará información actualizada sobre congresos, reuniones, cursos y becas.

Socios protectores de la SEM:

Fundación Medina



Para solicitar más información, inscripciones o publicidad, diríjase a la Secretaría de la Sociedad Española de Microbiología.

📍 CIB-CSIC. C/Ramiro de Maetzu, 9.
28040-Madrid
☎ Tel.: 683 71 65 08
✉ secretaria.sem@sem microbiologia.org

NOTA DEL PRESIDENTE

Rafael Giraldo 2

NUESTROS GRUPOS

Informe de los grupos especializados 4

ARTÍCULOS

La primavera... ¿las bacterias altera? 5
La epidemia de polio en la España del siglo pasado 8

CONGRESOS Y REUNIONES

XX workshop "Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria" memorial *DYCFung* 19
El legado de un gran microbiólogo y genetista 21
Celebrada la X reunión del Grupo Especializado SEM "Microbiología de Plantas" 24

ESPECIAL MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

MicroAli rinde homenaje a Louis Pasteur 26
Grupo de investigación Mikrolker: Microbial genomics and characterization 33
Unidad de Microbiología y Seguridad Alimentaria de la Universidad Politécnica de Cartagena 35
Las micotoxinas, o cuando los mohos son nuestros enemigos 38
Grupo de Cultivos Lácteos Funcionales (IPLA-CSIC) 40
Grupo Fermentos Lácticos y Bioconservación: DairySafe 43
Microbiología de fermentaciones vínicas y panaderas en Andalucía 45
Seguridad alimentaria, alimentación e higiene de los alimentos 47
Análisis microbiológico de los alimentos. Guía de aplicación de normas ISO 50
VISAFELab: Laboratorio de Virología Ambiental y Seguridad Alimentaria 52
Ecología e interacciones microbianas 54
@mycoorg, trabajando para conseguir alimentos libres de micotoxinas 56
SAMA: Seguridad Alimentaria y Microbiología de los Alimentos 60
Tecnología, calidad, seguridad y funcionalidad de alimentos 63
Grupo de Higiene y Seguridad Alimentaria de la Universidad de Extremadura 67
Grupo "Funcionalidad y Ecología de Microorganismos Beneficiosos" (Food-MicroHealth) 70
Nutrición, calidad y seguridad alimentaria (HIBRO) 73
Grupo de Investigación: Resistencia a los antibióticos desde el enfoque One Health de la Universidad de La Rioja (OneHealth-UR) 75
Grupo de investigación Tecnología, Ingeniería y Seguridad Alimentaria de la Universidad de la Rioja 77

LIBROS

Pero, ¿qué han hecho los microbios por nosotros? Autor: Manuel Sánchez Angulo 79

NUESTRA CIENCIA

Drug Repositioning as a Therapeutic Strategy against *Streptococcus pneumoniae*: Cell Membrane as Potential Target 81
Descubrimiento de la *streamlined* haloarquea *Halorutilus salinus*, que constituye un nuevo orden ampliamente distribuido en ambientes hipersalinos 82
El edulcorante artificial acesulfamo-K inhibe el crecimiento de patógenos multi-resistentes y potencia la actividad de antibióticos carbapenémicos 84



Nota del Presidente

RAFAEL GIRALDO

Presidente de la Sociedad Española de Microbiología

Querido socio/a de la SEM:

Cuando escribo estas líneas, encaramos la recta final de la preparación de nuestro tan esperado encuentro bienal, el **XXIX Congreso de la Sociedad Española de Microbiología**, que celebraremos en Burgos entre los días 25 y 28 de junio, fechas coincidentes con la publicación de este número del SEM@foro que ahora estás leyendo. Vaya por delante mi agradecimiento, y el de toda la SEM, a **David Rodríguez Lázaro** (Universidad de Burgos), Presidente del Comité Organizador, y a todo su equipo por haber sido capaces de coordinar un evento de esta naturaleza. El programa, en cuya elaboración ha participado toda la Junta Directiva de la SEM, incluye una sesión inaugural centrada en la contribución de los microorganismos a la Evolución a escala planetaria, por parte de **Carlos Briones** (CAB-INTA/CSIC, Madrid), y en la de nuestra propia especie, de la mano de **María Martín** (CENIEH, Burgos). El grueso del programa lo conforman 60 ponencias distribuidas en 15 simposios que cubren diversos aspectos transversales y/o emergentes en la Microbiología, con un foco especial en la Evolución, amén de sesiones de comunicaciones orales breves, coordinadas por nuestros Grupos Especializados, que serán una plataforma excelente desde la que nuestros investigadores más jóvenes nos presentarán su trabajo. Los pósteres serán la tercera forma de comunicación de la actividad científica de nuestros microbiólogos, incluidos algunos de ellos en un programa de mentorías organizado por el Grupo de Jóvenes Investigadores (JISEM). Entre las actividades sociales destacan visitas con hondo calado cultural a la catedral de Burgos y a las excavaciones de Atapuerca (porque tenemos claro

que, efectivamente, la Ciencia es Cultura) y una iniciativa de Ciencia Ciudadana en la que investigadores del Grupo de Docencia y Difusión de la Microbiología acercarán el congreso a los burgaleses en forma de charlas divulgativas. Esperamos encontrarnos todos en esa hermosa ciudad castellana para hacer, una vez más, de nuestro congreso el evento central de la vida científica de la SEM.

Sin dejar el congreso de la SEM, su conferencia de clausura la impartirá el investigador galardonado este año con el **Premio Jaime Ferrán de Microbiología** para investigadores de hasta 40 años, **Jerónimo Rodríguez Beltrán** (IRyCIS, Madrid), que es un investigador muy destacado en el campo del estudio de la transmisión y prevalencia de las resistencias a los antibióticos en bacterias, lo que tiene especial valor pues es este un campo en el que no pocos miembros de la SEM son actores y actrices principales en el panorama internacional. Por boca de su presidente, quede aquí constancia de las felicitaciones de toda la SEM al galardonado.

Tradicionalmente vinculado al congreso de la SEM, si bien en esta ocasión pospuesto hasta los días 11-14 de julio por razones de agenda, está el **Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología "Profesor J. R. Villanueva"** (CINIM), que celebrará su XXVI Edición en la ciudad de León. **Rosa Capita** y **Carlos Alonso** (U. de León) y sus colaboradores ha organizado, con la inestimable participación de JISEM, la edición de este año en la que participará un elenco de 14 profesores, encabezados por **Francis Mojica**, y 20 jóvenes alumnos procedentes de diversas titulaciones de Grado y Master y de todo el ámbito geográfico de nuestro país, seleccionados

entre casi un centenar de solicitudes. Es nuestra esperanza que en el CINIM descubran la impactante belleza del universo microbiano y buena parte de ellos decida orientar su carrera profesional hacia una actividad relacionada con la Microbiología. Agradecemos el fundamental apoyo que la **Fundación Ramón Areces** nos presta, sin el cual no sería posible que el CINIM haya llegado a ser un referente para los jóvenes universitarios españoles del área de las biociencias.

En este número del SEM@foro encontrarás un fiel reflejo de buena parte de la investigación que realizan nuestros socios pertenecientes al Grupo Especializado en Microbiología de los Alimentos, uno de los que cuentan con más miembros en la SEM. Un total de 18 grupos de investigación (no están todos los que son, pero son todos los que están) nos cuentan su trabajo en las distintas facetas de dicha disciplina. Agradecemos al presidente, **Gonzalo D. García de Fernando** (U. Politécnica de Madrid) y a Junta Directiva del Grupo la labor realizada para poder hacer realidad estas páginas, memoria valiosa de la SEM, junto con la Directora del SEM@foro, **Magdalena Martínez Cañamero** (U. de Jaén).

Durante los últimos meses, varios destacados microbiólogos socios de la SEM nos han dejado para ir a compartir tertulia científica con **Louis Pasteur**, del que celebramos desde finales del año pasado el bicentenario de su nacimiento y a quien nuestros compañeros del Grupo de Microbiología de los Alimentos dedican aquí una semblanza de las varias facetas de la trayectoria investigadora del genio francés y universal que guardan relación con su disciplina. Estas páginas de nuestro SEM@foro se hacen eco también del exce-

lente simposio que el Grupo Especializado de Microbiología Molecular de la SEM ha dedicado el pasado mes de febrero a la memoria de **Josep Casadesús**, primer presidente de ese Grupo y referente absoluto de la disciplina dentro y fuera de nuestras fronteras. Entre quienes nos han dejado recientemente mencionaré además a **César Nombela**, presidente de la SEM (1983-1991) y de la FEMS (1995-1998), promotor y aliento de muchas de las actividades que aún realizamos, pues lleva su nombre el nuevo programa de **Ayudas de la SEM para la Movilidad de Jóvenes Investigadores en España**. En esta primera convocatoria, dotada con un total de 6000 €, 5 microbiólogos procedentes de distintos laboratorios de nuestra geografía harán estancias de hasta 3 meses en otros laboratorios de socios de la SEM, iniciando así colaboraciones que pueden marcar un antes y un después en sus respectivas trayectorias investigadoras. Esperamos que este programa de ayudas se consolide en el tiempo como uno de los pilares del apoyo de la SEM a sus miembros más jóvenes.

Junto con las siempre atractivas secciones habituales en el SEM@foro (reseñas de libros y artículos destacados publicados por nuestros socios), no me resisto a destacar el extenso artículo que nuestro compañero **José A. Gil** (U. de León) dedica al devenir histórico de la poliomielitis, con especial foco en su incidencia en nuestro país, así como a las campañas de vacunación que en España se realizaron poco después del desarrollo en los Estados Unidos de la primera vacuna eficaz. El conoci-

miento de la Microbiología, como de toda Ciencia, es también Cultura (benéfica para todos, imprescindible para quienes han de tomar decisiones relevantes para el bien común) y este artículo es un excelente ejemplo de ello.

Aprovecho este espacio que me brinda el SEM@foro para comentaros brevemente las acciones que desde la Junta Directiva de la SEM, a propuesta y con la participación directa de muchos de nuestros socios, hemos realizado ante las diversas instancias implicadas (Ministerio de Universidades, ANECA y CRUE) para manifestar nuestra disconformidad con la ausencia de una mención explícita a la Microbiología en los listados de los nuevos ámbitos de conocimiento y campos de estudio que habrán de regir, respectivamente, la selección del profesorado universitario y los títulos de Grado y Máster, según recoge un proyecto de Real Decreto que se dio a conocer el pasado mes de marzo. Desde la SEM hemos presentado a finales de abril, en plazo y forma, un escrito con nuestras alegaciones al respecto en el que reclamamos el reconocimiento explícito que la Microbiología merece, por su gran transversalidad, en cualquier ordenamiento avanzado de las disciplinas académicas. Casi al mismo tiempo, una Orden Ministerial (BOE 101, 28/04/2023, disposición 10215) incluía explícitamente a la Microbiología en dos de las comisiones que la ANECA habrá de establecer para valorar las acreditaciones de los cuerpos docentes universitarios: Ciencias (A5, Biología Molecular y Celular) y Ciencias de la Salud (B6, Ciencias Biomédicas). Se trata de un

primer paso, pero hemos de permanecer atentos a la incardinación de nuestra disciplina en los planes académicos, pues la vinculación de la Microbiología con las Ciencias Ambientales y la Ecología sigue sin ser reconocida. Quiero agradecer aquí el apoyo decidido que hemos recibido en todas estas gestiones de la Confederación de Sociedades Científicas de España (COSCE), especialmente de su presidenta, **Perla Wahnnon**, de su vicepresidenta, **Alícia Alonso**, y de la vocal de nuestro área, **Isabel Fabregat**.

Nos veremos muy pronto en Burgos para disfrutar de “la gran Ciencia de los más pequeños” y de todos los atractivos científicos y culturales que esa histórica ciudad castellana y su entorno nos ofrecen. Os deseo salud... y buenos experimentos. Recibid un afectuoso saludo,

Rafael Giraldo

*Departamento de Biotecnología Microbiana
Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC)
Campus de Cantoblanco, Madrid
rgiraldo@cnb.csic.es*

.....

Nuestros Grupos

Microbiología del Medio Acuático



ALICIA ESTÉVEZ TORANZO

Presidenta del Grupo

Entre el 15 y el 30 de marzo de este año ha tenido lugar la votación para la renovación de la Junta Directiva del Grupo Especializado del Medio Acuático de la SEM. Renovaban sus cargos, la presidenta, secretario y tesorera. Han participado 69 miembros del Grupo lo que supone un 38% de participación. Después de la proclamación oficial de los resultados que tuvo lugar el 31 de marzo, la nueva Junta Directiva del grupo ha quedado compuesta por:

- **Presidenta:** Alicia Estévez Toranzo (Univ. de Santiago de Compostela)
- **Vicepresidenta:** Esther García Rosado (Univ. de Málaga)
- **Secretario:** Manuel L. Lemos Ramos (Univ. de Santiago de Compostela)
- **Tesorerera:** Consuelo Esteve Sánchez (Univ. de Valencia)
- **Vocales:**
 - Inés Arana Basabe (Univ. del País Vasco)
 - Manuel Martínez García (Univ. de Alicante)
 - María José Pérez Álvarez (Univ. de Vigo)
 - Inmaculada Solís Andrés (Empresa IPROMA, Comunidad Valenciana)

Felicitamos a todos los candidatos elegidos a los puestos a los que optaban y le damos la bienvenida a la Junta Directiva. Asimismo, expresamos nuestro más sincero agradecimiento a los miembros de

la Junta salientes, Rosa M^a Pintó, Teresa Pérez Nieto, Inmaculada Llamas y Rocío Pérez Recuerda, por la magnífica labor realizada durante estos años.

La nueva Junta Directiva del grupo ha aprobado otorgar un total de 4 Premios de 250 € cada uno, a las mejores comunicaciones presentadas en formato oral (2 premios) y en formato póster (2 premios) dentro del XXIX Congreso Nacional de Microbiología, en Burgos.

Microbiología Molecular



ALICIA MARÍA MUO PASTOR

Presidenta del Grupo

El pasado mes de noviembre se constituyó la nueva Junta Directiva del grupo, que tengo el honor de presidir, y que incluye a José Antonio Escudero (vicepresidente), Mari Trini Gallegos (tesorera), Francisco Ramos (secretario) y, como vocales, a Carmen Beuzón, Jesús Gonzalo, Bruno González, Álvaro San Millán, Alejandro Toledo y Eduard Torrents, a los que agradezco su disponibilidad para esta labor. Quisiera agradecer también la confianza depositada en nosotros por los socios del grupo y ponernos a su disposición para todo lo que puedan necesitar. Nuestro objetivo es seguir trabajando al servicio de un grupo transversal que cuenta con 462 socios en el momento de escribir estas líneas e incluye prácticamente todos los ámbitos de la microbiología. Aprovecho esta ocasión para agradecer su trabajo a la anterior Junta Directiva, presidida por Adela González de la Campa.

En septiembre de 2022 celebramos la XIII Reunión de Microbiología Molecular, que fue magníficamente organizada en Granada por un grupo de socios encabezado por Mari Trini Gallegos y que contó con 180 participantes. Siguiendo con nuestra tradicional alternancia geográfica, en junio de 2024 ce-

lebraremos la XIV Reunión de Microbiología Molecular en Santander. En esta ocasión la organización correrá a cargo de investigadores del Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTec), a los que agradecemos su disposición para asumir esta tarea. Como ya es tradicional, nuestras reuniones están abiertas a todos los microbiólogos interesados en acercamientos de microbiología molecular, sean o no socios del grupo, por lo que os animamos a todos a participar en las mismas y/o a asociaros al grupo.

Tras el inesperado fallecimiento en agosto de 2022 de Pepe Casadesús, miembro fundador y primer presidente de nuestro grupo, hemos organizado junto con la Universidad de Sevilla un simposio-homenaje titulado "Current Topics in Bacterial Genetics: lessons from Josep Casadesús' legacy", que se recoge más ampliamente en una reseña en este mismo número. Las presentaciones de los participantes nos dieron la oportunidad de reflexionar sobre la influencia que Pepe ha tenido en el desarrollo profesional de muchos microbiólogos españoles. Tal como recogía uno de sus estudiantes de doctorado, "Nosotros somos el legado de Pepe". Este es también el sentimiento de los miembros del grupo de Microbiología Molecular, que siempre le fue tan querido y a cuyo desarrollo contribuyó de manera muy especial.

Me gustaría aprovechar estas líneas para recordar los distintos canales de comunicación y difusión que tenemos a disposición de los socios. Para difundir noticias u ofertas de interés a todos los socios a través de nuestra lista de difusión (Tablón MicroMol), debéis enviarlas preferentemente a la dirección tablonmicromol@semicrobiologia.org o directamente al correo de nuestro secretario framos@us.es. Os animo también a enviar a través de nuestro secretario la información de vuestros grupos para incluirla o actualizarla en nuestra sección de la web de la SEM (<https://www.semicrobiologia.org/grupos-especializados/microbiologia-molecular>). Disponemos también de una cuenta de Twitter, [@MicroMolSEM](https://twitter.com/MicroMolSEM), que os animo a seguir. Por último, nos gustaría pedir a todos los socios que difundáis entre vuestros colegas la posibilidad de asociarse a nuestro grupo especializado, con el objetivo de llegar en un futuro próximo a la simbólica cifra de 500 socios. Una de nuestras señas de identidad ha sido siempre el fomento de la participación de nuestros socios más jóvenes en todas las actividades que organizamos, particularmente en las reuniones bianuales cuyo programa está fundamentalmente constituido por estudiantes de doctorado, por lo que os animo a promover la asociación de jóvenes microbiólogos interesados en la Microbiología Molecular.

La primavera... ¿las bacterias altera?

CARMONA-SALIDO, HÉCTOR & AMARO, CARMEN*

*Instituto Universitario de Biotecnología y Biomedicina (BIOTECMED), Universitat de València, València, España
Departamento de Microbiología y Ecología, Universitat de València, València, España

✉ carmen.amaro@uv.es

El cambio climático actual es un fenómeno sin precedentes; en apenas unos años, la temperatura media global ha aumentado drásticamente causando verdaderos desastres naturales. No sólo supone un aumento de temperatura de los ecosistemas, sino que también conlleva la pérdida de biodiversidad o el incremento de la incidencia de enfermedades consideradas tropicales.

A pesar de lo que se suele creer, la aparición de nuevos agentes dañinos para seres humanos y animales no viene únicamente de microorganismos congelados en el permafrost. La realidad es que los que ya hay, pueden adaptarse de forma rápida intercambiando material genético (Mora et al. 2022). Este proceso se ha descrito sobre todo en bacterias y se conoce como **transferencia genética horizontal (TGH)**.

A lo largo de la evolución, las bacterias han desarrollado numerosos mecanismos de TGH que favorecen la diversidad y la adaptación a los cambios (Figura 1).

Gracias a esta flexibilidad, las bacterias han podido sobrevivir desde hace más de 3.700 millones de años en un planeta en constante cambio. De hecho, hoy en día suman decenas de miles de especies conocidas (aunque hay quien estima que el

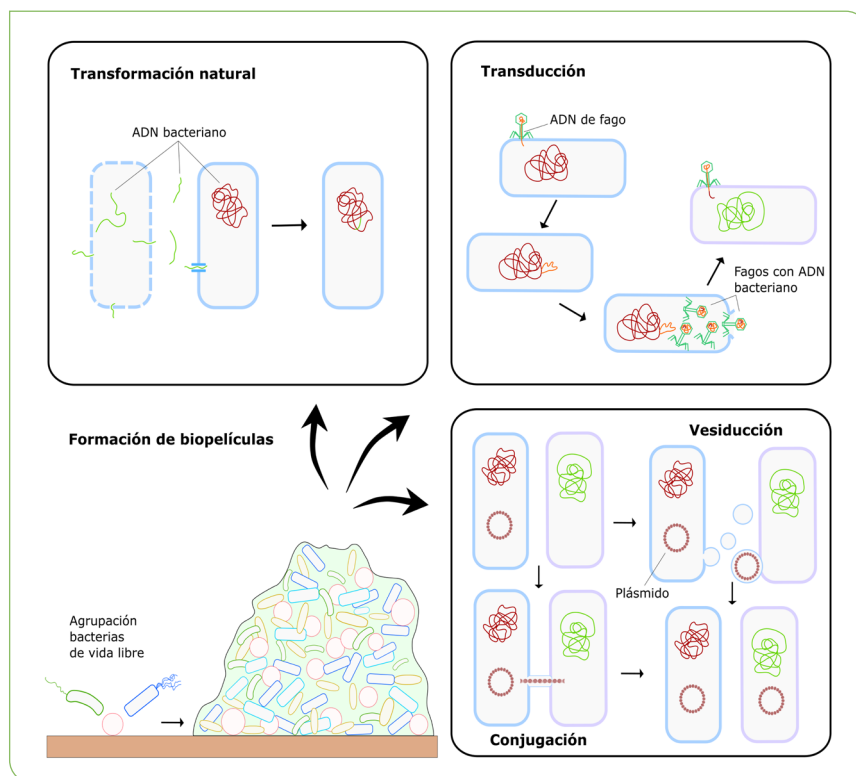


Figura 1. Cuando las bacterias en forma de vida libre se asocian, forman biopelículas donde se producen con mayor frecuencia los eventos de TGH. En la transformación natural, las bacterias captan ADN del entorno. En la transducción, los fagos captan ADN de la bacteria que luego pasan a otras bacterias a las que infectan. Los plásmidos y otros EGM se pasan mediante la formación de pelos (conjugación) o vesículas (vesiducción).

número real puede ser de cientos de miles o incluso millones) que están presentes en todos los ecosistemas del planeta.

Uno de los mecanismos de TGH es la **conjugación**. En la conjugación, replicas de ADN circular o lineal, como **plásmidos** y otros elementos genéticos móviles (**EGM**), pasan de unas bacterias a

otras a través de unas estructuras denominadas pelos sexuales. La conjugación ha sido ampliamente estudiada y es de especial importancia hoy en día, pues es la principal fuente de generación de **bacterias multirresistentes** a antibióticos/antimicrobianos (Rodríguez-Beltrán et al. 2021). Cuando una bacteria con genes de resistencia en un EGM contacta con otra

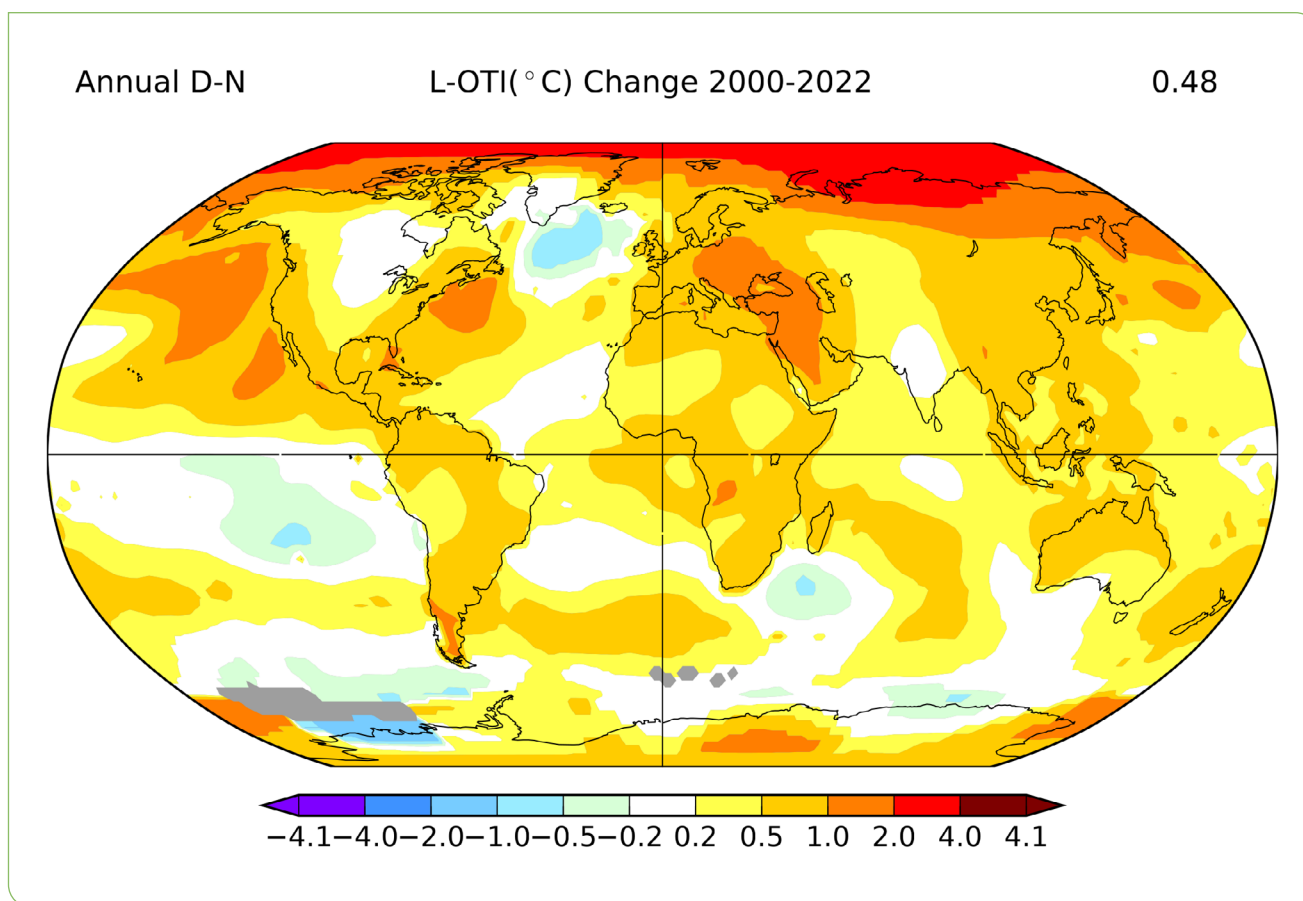


Figura 2. Cambios en la temperatura global desde el año 2000 hasta la actualidad. Los colores cálidos suponen un aumento de la temperatura media con respecto al año 2000 y los fríos una disminución de esta. Obtenida de: <https://data.giss.nasa.gov/gistemp/maps/>

que no los tiene, puede pasarle estos genes por conjugación y si estos genes le confieren una ventaja selectiva, el clon que los adquiere proliferará. Este proceso puede darse incluso entre especies distintas y repetirse. Recientemente se ha descrito un proceso relacionado con la conjugación a partir del estudio de unas bacterias de la Antártida (Erdmann et al. 2017). El proceso se denomina **vesiducción** y consiste en la transmisión de EGM dentro de unas estructuras que derivan de la/s membrana/s denominadas vesículas.

Los virus, o fagos, también ayudan a diseminar genes entre bacterias. El proceso se denomina **transducción** y es especialmente relevante en el caso de los **fagos lisogénicos**, virus que son capaces de integrarse en el genoma de la bacteria infectada en forma de **profagos** y quedar en estado de latencia. Los profagos pueden saltar del genoma en periodos de estrés, arrastrar

genes bacterianos, multiplicarse y dispersar estos genes a otras bacterias próximas (Chevallereau et al. 2022). Si los profagos introducidos por transducción dotan de alguna ventaja a la bacteria que los acepta, pueden establecerse tras sucesivas generaciones y experimentar cambios hasta transformarse en lo que se conoce como **islas genómicas**, dando lugar a una nueva variante bacteriana estable. A diferencia de la conjugación, la transducción se produce entre bacterias genéticamente cercanas debido a la especificidad de los fagos.

Las bacterias también han desarrollado mecanismos de captación activa de ADN libre presente en el entorno. El proceso se conoce como **transformación** y ha sido explotado por los científicos durante décadas para estudiar y comprender mejor la función de múltiples genes tanto bacterianos como eucariotas. La transformación es el mecanismo natural de generación

de variabilidad genética bacteriana que está más extendido en la naturaleza. No obstante, supone un gran coste energético por lo que las bacterias se vuelven **competentes** para captar ADN exógeno solo en determinadas condiciones (Metzger and Blokesch 2016).

Todos estos fenómenos de TGH se producen con mayor frecuencia en las **biopelículas**, comunidades microbianas adheridas a superficies sólidas. Recientemente se ha demostrado que los **microplásticos**, cada vez más abundantes en el agua de mar, favorecen la formación de tales biopelículas concentrando bacterias de especies patógenas de los géneros *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Tenacibaculum* o *Escherichia*, entre otros (Junaid et al. 2022).

Entre estas especies patógenas destaca **V. vulnificus** por ser la única con poten-

cial zoonótico, es decir, la única que causa enfermedad animal transmisible a seres humanos y por haber sido propuesta como barómetro biológico del cambio climático (Baker-Austin et al. 2017). La Figura 2 muestra los cambios en la temperatura global desde el año 2000 hasta la actualidad. Durante este tiempo *V. vulnificus* ha ido extendiéndose desde los trópicos y subtropicos hasta alcanzar zonas tan al norte como el mar Báltico donde causa un número de infecciones al año cada vez más alto.

V. vulnificus es una especie paradigmática por su elevada plasticidad genómica. A lo largo de su historia evolutiva ha sufrido varios eventos de TGH que le han dotado de un segundo cromosoma, característica que comparte con otros vibrios, y de un arsenal de genes para colonizar diferentes ambientes e infectar una amplia gama de hospedadores (Baker-Austin and Oliver 2018). Tanto es así, que se ha descubierto que 2 de los 5 linajes evolutivos de esta especie han emergido recientemente en ambientes acuáticos artificiales (piscifactorías) asociados a la transferencia de un plásmido de virulencia conteniendo genes que permiten evadir el sistema inmunitario de los peces (Carmona-Salido et al 2021). Se ha demostrado también que los genes para la formación de biopelículas, la colonización de superficies y la virulencia se sobreexpresan con el aumento de la temperatura del agua de mar (Hernández-Cabanyero et al. 2020).

En un ambiente de cambio debido al calentamiento global, las perspectivas no son buenas si no adoptamos medidas de prevención y vigilancia que eviten la emergencia de **nuevas variantes o especies peligrosas** en salud pública y animal junto con medidas de control de la contaminación, especialmente por microplásticos, y de desarrollo de sistemas de producción más respetuosos con los animales y el medio ambiente. Solo así podríamos lograr lo que la Organización Mundial de la Salud ha acuñado como “una sola salud” o **One Health** (en inglés).

Agradecimientos

Esta nota divulgativa es parte de los proyectos PID2020-120619RB-I00 (subvencionado por el Ministerio de Ciencia e Innovación [MICIN/AEI, DOI ID: 10.13039/501100011033], CIAI-CO/2021/293 (subvencionado por la Conselleria de Innovación, Universidades, Ciencia y Sociedad Digital de la Generalitat Valenciana [GV]) y THINKINAZUL/2021/027 (subvencionado por el MCIN, la Unión Europea, *European Union NextGeneration* (PRTR-C17.I1) y la GV). HCS recibió la ayuda RE-2018-083819 financiada por MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

Bibliografía

- Baker-Austin C, Oliver JD** (2018) *Vibrio vulnificus* : new insights into a deadly opportunistic pathogen. *Environ Microbiol* 20:423–430.
- Baker-Austin C, Trinanes J, Gonzalez-Escalona N, Martinez-Urtaza J** (2017) Non-Cholera Vibrios: the microbial barometer of climate change. *Trends Microbiol* 25:76–84.
- Carmona-Salido H, Fouz B, Sanjuán E, Carda M, Delannoy CMJ, García-González N, González-Candelas F, Amaro C** (2021) The widespread presence of a family of fish virulence plasmids in *Vibrio vulnificus* stresses its relevance as a zoonotic pathogen linked to fish farms. *Emerg Microbes Infect* 10:2128–2140.
- Chevallereau A, Pons BJ, van Houte S, Westra ER** (2022) Interactions between bacterial and phage communities in natural environments. *Nat Rev Microbiol* 20:49–62.
- Erdmann S, Tschitschko B, Zhong L, Raftery MJ, Cavicchioli R** (2017) A plasmid from an Antarctic haloarchaeon uses specialized membrane vesicles to disseminate and infect plasmid-free cells. *Nat Microbiol* 2:1446–1455.

Hernández-Cabanyero C, Sanjuán E, Fouz B, Pajuelo D, Vallejos-Vidal E, Reyes-López FE, Amaro C (2020) The effect of the environmental temperature on the adaptation to host in the zoonotic pathogen *Vibrio vulnificus*. *Front Microbiol* 11:489.

Junaid M, Siddiqui JA, Sadaf M, Liu S, Wang J (2022) Enrichment and dissemination of bacterial pathogens by microplastics in the aquatic environment. *Sci Total Environ* 830:154720.

Metzger LC, Blokesch M (2016) Regulation of competence-mediated horizontal gene transfer in the natural habitat of *Vibrio cholerae*. *Curr Opin Microbiol* 30:1–7.

Mora C, McKenzie T, Gaw IM, Dean JM, von Hammerstein H, Knudson TA, Setter RO, Smith CZ, Webster KM, Patz JA, Franklin EC (2022) Over half of known human pathogenic diseases can be aggravated by climate change. *Nat Clim Chang* 2022 12:869–875.

Rodríguez-Beltrán J, DelaFuente J, León-Sampedro R, MacLean RC, San Millán Á (2021) Beyond horizontal gene transfer: the role of plasmids in bacterial evolution. *Nat Rev Microbiol* 19:347–359.

.....

La epidemia de polio en la España del siglo pasado¹

DR. JOSÉ A. GIL

Catedrático de Microbiología. Departamento de Biología Molecular. Universidad de León.

✉ jagils@unileon.es

Introducción

Llama, a priori, la atención que la Ley de Memoria Democrática publicada en el Boletín Oficial del Estado el día 20 de octubre de 2022² incluya una Disposición adicional undécima que dice:

En reconocimiento del sufrimiento padecido por las personas que fueron afectadas por el poliovirus durante la pandemia que asoló a España a partir de los años cincuenta del siglo XX, el Gobierno promoverá investigaciones y estudios que esclarezcan la verdad de lo acaecido respecto de la expansión de la epidemia durante la dictadura franquista...

¿Qué pasó en España entre los años 1950 y 1963? ¿Qué medidas sanitarias se tomaron para combatir la epidemia de poliomiélitis?

Estas preguntas, unidas a la aparición en distintos países de casos de polio en el año 2022 me ha llevado a indagar cómo se vivió en la prensa de la época la epidemia de polio en la España de los 50, qué se sabía de la eficiencia de las vacunas antipoliomielíticas, si hubo o no negligencia por parte de las autoridades, por qué se esperó hasta 1963 para inmunizar masivamente a la población española, cómo se realizó la campaña de vacunación y otros temas que intentaremos abordar en este trabajo.

No me cabe la menor duda que es difícil abordar este tema con la profundidad deseada debido a la censura a la que estaba sometida la prensa española de la época. No obstante, en la Biblioteca Virtual de Prensa Histórica hay una sección

de “Prensa Clandestina” que he usado en algunas partes del artículo. Además, hay publicaciones españolas realizadas durante la democracia que ya pudieron tratar los retrasos en la vacunación masiva de la población (Rodríguez-Sánchez y Seco-Calvo, 2009) o las luchas de poder en la primera campaña de inmunización masiva en España (Tuells, 2019), entre otras. He encontrado también publicaciones donde se analizaba el impacto de la epidemia en la prensa local de Cantabria (Tuells et al, 2014) o de Salamanca (Muñoz Singi, 2007).

Es necesario señalar que la erradicación de la poliomiélitis a nivel mundial parecía estar muy cerca de ser otro gran éxito de la lucha contra las enfermedades infecciosas como lo fue la erradicación mundial de la viruela en mayo de 1980. Además, dado que el único reservorio mundial del poliovirus es el hombre, la polio debería ser una enfermedad erradicable³.

Sólo dos países, Pakistán y Afganistán, no habían logrado erradicar el poliovirus silvestre, pero en febrero de 2022 una niña de Malawi contrajo la enfermedad al infectarse con un virus que parecía proceder de Pakistán⁴. En septiembre de 2021 se detectó el primer caso de polio en España; se trataba de un niño de 6 años que llegó a Murcia procedente de Senegal y que estaba infectado por un poliovirus de tipo 2 derivado de la cepa vacunal⁵. En la primavera del año 2022 las autoridades de Pakistán reportaron 14 casos de polio e Israel notificó su primer caso desde 1988. En junio de 2022, las autoridades británicas detectaron virus de la polio en las aguas

residuales de Londres⁶ y lo mismo ocurrió en el mes de agosto en Nueva York⁷. Afortunadamente son casos esporádicos y la mayoría de la población en países desarrollados está protegida gracias a las campañas de vacunación en la infancia, pero en algunas comunidades con baja cobertura vacunal, dichas personas pueden estar en riesgo de contraer polio.

A pesar de que en España hay una gran cobertura vacunal, el Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias del Ministerio de Sanidad, con fecha 25 de octubre de 2022, emitió una alerta sanitaria⁸ sobre el riesgo de poliovirus en España y la conclusión final es que el riesgo asociado a poliovirus en nuestro país se considera, en la actualidad, muy bajo.

Primeros casos descritos de poliomiélitis

La imagen del sacerdote Remi con un bastón y una pierna deformada, que aparece en su estela funeraria egipcia de la XVIII dinastía (entre 1550 y 1295 a.C) y depositada en la Gliptoteca Ny Carlsberg de Copenhague, puede ser la primera imagen de una persona con poliomiélitis (Fig. 1). Sin embargo, la primera descripción clínica de la polio fue presentada por el médico inglés Michael Underwood⁹ en 1789 que la definió como una debilidad de las extremidades inferiores.

A finales del siglo XIX empiezan a describirse epidemias de polio en países fríos (Suecia, Noruega, Islandia, Inglaterra...)

¹ Dedicado a Toñi y a mis amigos afectados por la epidemia.

² <https://n9.cl/5j64m>

³ <https://n9.cl/ckqjd>

⁴ <https://n9.cl/qx3sk>

⁵ <https://n9.cl/bn5im>

⁶ <https://n9.cl/225q2>

⁷ <https://n9.cl/5f4la>

⁸ <https://n9.cl/c6e9f>

⁹ <https://n9.cl/hy9j0>

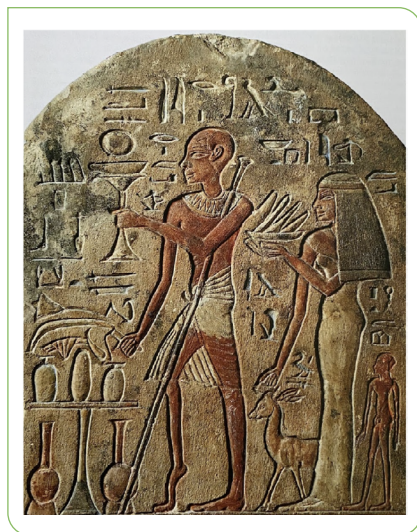


Figura 1. Estela funeraria del sacerdote Remi, esposa e hijo depositada en la Gliptoteca Ny Carlsberg de Copenhague.

y en los albores del siglo XX y después de la Segunda Guerra Mundial empiezan a extenderse a países templados. En los países de clima frío se da una mayor incidencia en los meses de julio, agosto y septiembre mientras que en los países de clima templado la máxima incidencia corresponde a los meses de verano y otoño (Uriarte, 1999).

En reconocimiento a los trabajos sobre la poliomielitis realizados por Jakob Heine¹⁰ en 1840 y por Karl Oskar Medin¹¹ en 1890, la polio fue denominada **enfermedad de Heine-Medin** y más tarde rebautizada como **parálisis infantil** por afectar mayoritariamente a los niños.

Es interesante resaltar que el agente causal de la poliomielitis¹² fue descubierto por Landsteiner¹³ y Popper que lo anunciaron en un congreso médico en Viena (18 de diciembre de 1908). Recordemos que Karl Landsteiner recibió el Premio Nobel en Fisiología y Medicina en 1930¹⁴ no por descubrir el virus de la poliomielitis sino por tipificar los grupos sanguíneos humanos A, B y O, así como el factor Rh. El descubrimiento del virus de la poliomielitis se publicó en una revista alemana en 1909

(Landsteiner y Popper, 1909) y desde esa fecha se sabía que la polio era causada por un virus (virus filtrable) y no por una bacteria. El hecho que el descubrimiento se publicase en una revista alemana pudo ser la causa de su escasa difusión y de los errores cometidos en el tratamiento posterior de la poliomielitis.

Así la primera vez que se habla, en la prensa española, de un virus filtrable como agente causal de la poliomielitis se recoge, veinte años más tarde, en la **La Voz de Aragón**¹⁵ de 26 de octubre de 1929:

Diremos pues de acuerdo con el estado actual de la ciencia que la enfermedad Heine-Medin es producida por la acción patológica de un virus filtrable de especificidad indudable pero de agente desconocido. La mortalidad en los ataques varía habiendo llegado algunas veces al 28,43%; el término medio de muerte es de unos 12 por cada 100 ataques. El momento fatal sobreviene generalmente del cuarto al sexto día. La morbilidad ha llegado hasta el 28 % de la población.

Pero volvamos a principios del siglo XX para encontrar referencias a la poliomielitis en la prensa española. En febrero de 1910, y en el periódico de Salamanca **El Adelanto**¹⁶ se anuncia una conferencia sobre poliomielitis en niños:

Hoy, a las seis de la tarde, dará una conferencia en la Facultad de Medicina el catedrático de Pediatría don Hipólito Rodríguez Pinilla sobre el tema poliomielitis anterior aguda del niño haciendo un estudio sintético de los casos presentados en el Dispensario.

Como en la mayoría de las epidemias que han tenido lugar en nuestro país, a la polio tampoco se le dió la importancia que tenía. Así en abril de 1917 y en el periódico madrileño **El Día**¹⁷ se comentaba lo siguiente:

Afortunadamente, en España, la enfermedad de Heine-Medin no adoptó forma epidémica; pero aún así la posibilidad de que esto ocurra justifica, más que sobradamente, el generoso empeño de divulgar todos los datos clínicos necesarios para que los primeros casos no pasasen desapercibidos.

En el **Diario de Reus**¹⁸ (15 de agosto de 1917) se comenta que han aparecido los primeros casos de polio y se hace una descripción exhaustiva de la enfermedad que contenía errores achacables a la falta de conocimiento de la enfermedad. Dichos errores fueron que el “virus” descubierto por Simon Flexner¹⁹ e Hideyo Noguchi²⁰ no era el virus de la polio sino una bacteria del género *Treponema* que producía una parálisis progresiva o neurosífilis; que el “virus” no entra por vía respiratoria ni se transmite por animales. Veámos cómo se describe la enfermedad en dicho periódico:

La parálisis infantil, o más propiamente, enfermedad de Heine-Medin, es una dolencia producida por un virus descubierto recientemente por Flexner y Noguchi (1913), que tiene una incubación que varía entre cinco a doce y aún hasta veinte días. Este virus radica en la mucosa nasal o en los linfáticos nasales del perro y del gato, así como en el aire, suelo y agua donde pasa el niño.

La experiencia demuestra que el virus de la poliomielitis penetra en el organismo sano por vía digestiva y respiratoria desde cuyas mucosas, el virus se dirige a los centros nerviosos siguiendo los filetes nerviosos.

Su transmisión a distancia se hace desde los puntos en que se encuentra, por el polvo, moscas y otros insectos como las pulgas.

El virus es sumamente pequeño, pues atraviesa los filtros (arcilla, tierras fósiles, porcelana) cosa que no sucede con los microbios visibles.

Comienza, generalmente, la enfermedad por escalofríos y altas fiebres quejándose el niño de dolores en la espalda y cabeza, algunas veces tiene convulsiones, temblores, y por fin, se presentan las paresias o parálisis que radican en un punto o en otro del cuerpo según las partes de los centros nerviosos atacadas.

En **La hormiga de oro**²¹, periódico de Barcelona, de fecha 8 de septiembre de 1917 se reproduce un aviso publicado en un diario de Montevideo y emitido por el Consejo Nacional de Higiene de Uruguay

¹⁰ <https://n9.cl/0p8q1>

¹¹ <https://n9.cl/c7o6f>

¹² <https://n9.cl/g3pv9>

¹³ <https://n9.cl/b6hmd>

¹⁴ <https://n9.cl/44q8t>

¹⁵ <https://n9.cl/u4wzm>

¹⁶ <https://n9.cl/ij1mj>

¹⁷ <https://n9.cl/rec91i>

¹⁸ <https://n9.cl/top48>

¹⁹ <https://n9.cl/9ij70>

²⁰ <https://n9.cl/gcf84>

²¹ <https://n9.cl/9e7do>

en el que se dan las indicaciones profilácticas de la parálisis infantil. Dichas indicaciones, aunque algunas erróneas, hubieran servido para evitar las epidemias posteriores de polio. Es un artículo extenso que consta de 25 medidas distribuidas en cuatro apartados: Generalidades, Modos de transmisión, Medidas para precaver (sic) el contagio y Desinfectantes.

Los errores, como en el caso anterior, son debidos a la falta de conocimiento del agente causal y de los medios de transmisión. Veamos algunas medidas propuestas para prevenir el contagio:

10. *Hospitalización del enfermo siempre que sea posible, y si no, aislamiento completo del mismo dentro de la casa, prohibiéndose la entrada a su habitación de personas ajenas a su cuidado.*

11. *Los encargados de cuidar al paciente quedarán sometidos al mismo aislamiento y observarán todas las prescripciones necesarias para no contraer o transmitir la enfermedad como por ejemplo: no comer ni beber en la habitación del paciente, lavarse y desinfectarse las manos antes de llevarla a la boca o a la nariz y antes de hacer uso del pañuelo; vestir un delantal o túnica y evitar que las secreciones o excreciones del enfermo puedan contaminar las ropas o cualquier objeto de uso personal.*

12. *La habitación del enfermo se mantendrá en perfecto estado de limpieza y se retirarán alfombras, camineros²² y cortinas, dejando únicamente los muebles y objetos que sean indispensables.*

14. *No se retirará de la habitación ningún objeto sin ser previamente desinfectado.*

15. *Las secreciones nasales bucales y bronquiales, así como también la orina y deyecciones, se recogerán en recipientes que contengan soluciones antisépticas.*

18. *Los niños que hayan estado enfermos no volverán a la escuela hasta los dos meses, y los que habitando el mismo domicilio hayan permanecido indemnes, demorarán 15 días después de la desinfección terminal.*

19. *En tiempos de epidemia se recomienda evitar la concurrencia de los niños a parajes o sitios públicos donde haya aglomeración de personas.*

El 14 de mayo de 1927 y en el periódico **El día**²³ de Palma de Mallorca, y ante los casos que se han producido de poliomieltis epidémica, se publica una Circular Sanitaria de la Inspección Provincial de Sanidad en la que se comunica a los médicos que la poliomieltis debe ser considerada como una **enfermedad de declaración obligatoria**, y se indican los mecanismos de contagio y las medidas profilácticas que coinciden con los descritos anteriormente por el Consejo Nacional de Higiene de Uruguay.

En el periódico madrileño **La libertad**²⁴ de 26 de octubre de 1929 se decreta el cierre de las escuelas de párvulos de Madrid y provincia:

Por fortuna la epidemia de parálisis infantil que no ha tenido ni tiene importancia que aconseje otras medidas que la de higiene e inspección que se vienen adoptando; pero como la casi totalidad de los casos se presentan en niños menores de seis años, el Ministerio de Instrucción Pública ha dado las órdenes oportunas para clausurar hasta nueva orden todas las escuelas nacionales de párvulos de Madrid y su provincia, y de acuerdo con la Alcaldía, se clausuran también las municipales de igual clase, ordenando que en ninguna escuela nacional ni municipal asistan niños menores de seis años.

Obviamente, el colectivo médico, como en todas las pandemias de nuestro país, estaba relativamente bien preparado para combatir la epidemia de polio y la enfermedad era parte de los temarios que se exigían para obtener plaza de Director de Hospitales. Así, en el **Boletín oficial de la provincia de Cáceres**²⁵ de 5 de febrero de 1934 se exigía el tema de enfermedad de Heine-Medin (Tema 14) para acceder a la plaza de Director del Hospital de Plasencia.

No sabemos si por el reducido número de casos de polio (menos de 500 casos anuales), la reducida mortalidad (Fig. 2), la Guerra Civil (1936-39) o los primeros años del gobierno de Franco, no se encuentran referencias a la polio en la prensa hasta la década de los cincuenta del pasado siglo.

La subida drástica del número de casos de polio a principios de 1950 hizo estallar

una protesta exterior que se recogía en los periódicos clandestinos que se publicaban fuera de España.

Así, en el órgano del movimiento libertario español en Francia, **Solidaridad Obrera**²⁶ de 17 de enero de 1953 se comentaban los diversos motivos que tenían los directores de periódicos para pedir el cambio del Director General de Prensa del Movimiento (ex-periodista y “muy camisa vieja”) y entre otros motivos se decía:

En Málaga el director de un periódico fue detenido y más tarde puesto en libertad, pero no sin que hubiese hecho efectiva la multa que se le había impuesto por haberse dicho en su periódico que en Andalucía se habían registrado casos de poliomieltis.

En **Solidaridad Obrera**²⁷ de 1 de diciembre de 1955 se traduce un artículo en el que se habla sobre la polio, y entre otras “lindezas” se dice:

La poliomieltis no es una enfermedad contagiosa. Al contrario de la creencia aceptada por la generalidad, nadie puede adquirir o contagiarse de la parálisis infantil.

Nadie ha probado todavía como un hecho fehaciente que el polio es una entidad, alguna cosa específica que puede ser transmitida de una persona a la otra.

El polio es una inflamación de la materia gris de la espina dorsal. A la inflamación sigue la irritación. Ningún bacteriólogo ha descubierto jamás un germen de la parálisis infantil.

El polio y otras enfermedades degenerativas ocurren en las mal informadas y mal aconsejadas familias quienes alimentan sus hijos con tales irritantes que causan inflamación interna, como productos de azúcar blanco, cacao, café, te, chocolate, confites pastas y otros alimentos putrefactos o malas combinaciones de alimentos, demasiada excitación, falta de descanso que tanto necesitan los niños...

El periódico “clandestino”, publicado en París, **Libertad Española**²⁸ de 2 de agosto de 1956 comenta la angustia de una familia carente de recursos y con un niño afectado

²³ <https://n9.cl/ggamm9>

²⁴ <https://n9.cl/zj60o>

²⁵ <https://n9.cl/7zc9z>

²⁶ <https://n9.cl/owxl7>

²⁷ <https://n9.cl/b6b9z6>

²⁸ <https://n9.cl/gvfvq>

²² <https://n9.cl/h4ee7>

Hombres, Mujeres y Total

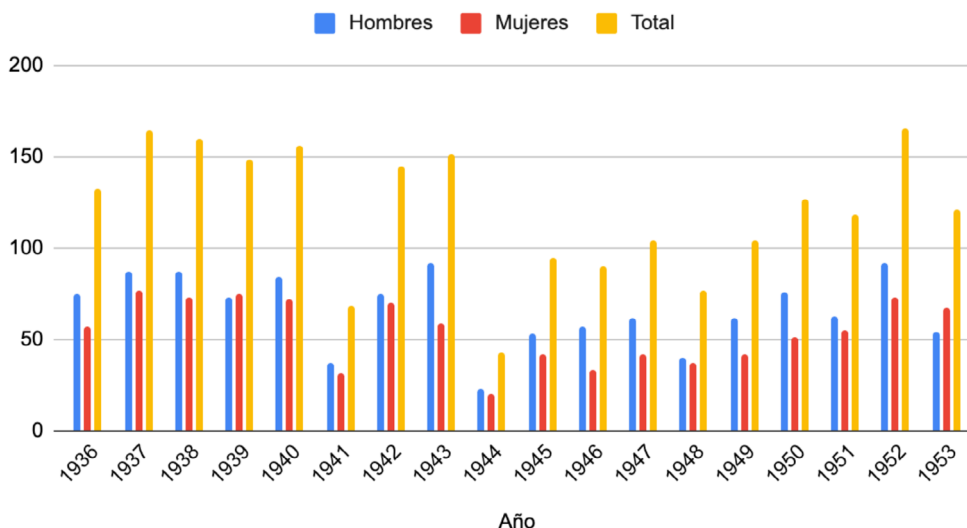


Figura 2. Muertes producidas por la polio. Datos tomados del Anuario Estadístico Español.

tado de polio consiguen llevarlo al Hospital Clínico con una carta de recomendación:

Fue durante el invierno pasado. Un niño de apenas más de dos años, cayó enfermo en un hogar obrero. "Se trata de un constipado" afirma tranquilizador el médico del Seguro. Un constipado que persiste. Hasta que al cabo de varios días, al sacar al niño de la cuna, la madre observa, consternada que las piernas de la criatura se mueven como desarticuladas. La angustia pone alas a la diligencia maternal. En el hogar no hay ni un céntimo, pero recurrir al Seguro todos saben que es ineficaz y lento. Y se trata de algo grave, algo que todos presienten como una catástrofe. Quién nos cuenta este hecho, el padre del niño, tiene un solo comentario final: ¡Hay que acabar con el franquismo!

La prensa clandestina también usó casos concretos de polio, con nombre y apellidos, para atacar al gobierno de Franco. Veamos un ejemplo en **Solidaridad obrera**²⁹ de 5 de enero de 1961:

Los Cruzados, cruzados de brazos. Estefanía Martínez es una mujer de pueblo con escasez de recursos. Hace poco su

marido murió agotado por el trabajo y la hija de ambos sufría parálisis infantil. Ahora ya no por haberse prendido fuego en el triste hogar determinando la muerte por asfixia de la infeliz criatura. Estefanía está desahuciada del piso por alquiler impagado. Llamó a la puerta de la parroquia inútilmente. Lejos de resolver nada, la Cruzada dejó los problemas peor de lo que estaban.

La llegada, aunque tardía, de las vacunas antipolio hizo cambiar el panorama.

Tratamientos iniciales contra la polio

Antes del desarrollo de las vacunas contra la polio se utilizaron una serie de tratamientos paliativos para los infectados que sobrevivían a la enfermedad: cirugía, ortopedia, sueroterapia, higiene y pulmón de acero. Veamos algunos ejemplos que aparecen en la prensa española.

Un ejemplo de cirugía se describe el 15 de enero de 1919 en el diario monárquico de Mahón **El bien público**³⁰:

El Dr. Valdés Guzmán ha llevado a cabo una operación de cirugía (sic) ortopédica consistente en trasplantar los músculos de la espalda para dar vigor a un brazo afecto de una parálisis infantil.

En **El bien público**³¹ de fecha 3 de mayo de 1926 se publicitan soluciones ortopédicas para corregir los defectos inherentes a la parálisis:

Aparatos del arte médico perfeccionados: sistemas especiales para corregir piernas y parálisis infantil.

En **El Adelanto**³² (3 de noviembre de 1929) se describe un suero realizado por el bacteriólogo Andrée Petit (Instituto Pasteur) procedente de carneros inmunizados con extractos de médula de mono muertos de poliomiелitis:

Esta acción terapéutica que se ha querido producir con el suero de Petit o antipoliomielítico y que hasta ahora no ha dado todo el resultado apetecido, se consigue en mucha mayor escala, con mucha mayor seguridad cuando se utiliza el suero de enfermos de enfermedad

²⁹ <https://n9.cl/icsqe>

³⁰ <https://n9.cl/t3k30>

³¹ <https://n9.cl/khr7k>

³² <https://n9.cl/7fqo3>

de Heine-Medin en el periodo de parálisis. ¿Qué es preciso hacer para la consecución de este suero? Una cosa bien sencilla: que estos enfermos antiguos tengan la generosidad de ceder unos centímetros cúbicos de su sangre.

En la sección de “Temas médicos” del periódico cordobés **La Voz**³³ de 8 de noviembre de 1929 el Dr. Royo Villanova, que era consciente de la vía de entrada del virus, propone una serie de recomendaciones higiénicas para evitar la infección:

Aconsejamos que al levantarse, al acostarse, al salir de casa apliquen en la nariz de los pequeños una pasta cualquiera de las múltiples que el comercio anuncia a base de menthol (sic) y pongan en la boca cualquiera de las pastillas y bombones que se anuncian como eficaces contra las anginas y faringitis. Una vez que el niño esté acatarrado, o presente anginas, o se encienden fiebre y por si acaso se trata de los comienzos de la parálisis infantil, ingerir una pequeña dosis de cualquier producto derivado de la urotropina³⁴, o mejor la urotropina misma, que tiene la rara propiedad de desprender “formaldehído” en el líquido cerebro espinal antes citado.

Por otra parte, la recomendación de gargarismos antisépticos a niños de seis meses y aún de tres años es como para mandar hacer gárgaras a los médicos que tales cosas prescriben.

La poliomiелitis ataca fundamentalmente los miembros inferiores pero en algunos casos se debilitaban los músculos de los pulmones y la única forma de sobrevivir era mediante los “pulmones de acero”³⁵ que eran, y son, **ventiladores de presión negativa**, que permitían a dichos enfermos respirar y sobrevivir introducidos en dichas máquinas. El pulmón de acero fue inventado por Philip Drinker³⁶ y Louis Agassiz Shaw³⁷, de la escuela de Salud Pública de Harvard y usado por primera vez para tratar un caso de polio en octubre de 1928 (Fig. 3).

Diez años más tarde de la utilización de los pulmones de acero en USA empiezan a darse noticias “curiosas” sobre personas

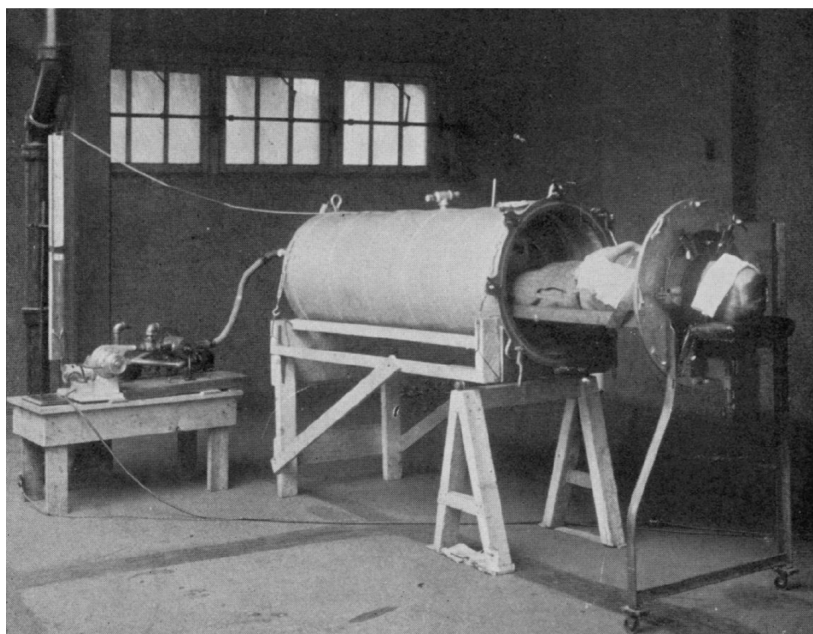


Figura 3. Primer pulmón de acero. Tomada del trabajo original de Drinker y Shaw (1929).

introducidas de por vida en dichas máquinas. Así, en varios periódicos españoles de 1939, se describe el caso de un enfermo de polio introducido en uno de dichos pulmones y que viajó desde USA en peregrinación a Lourdes.

En el **Diario Palentino**³⁸ del 27 de mayo de 1939 se describen detalladamente las peripecias que hubo que hacer para llevar a Fred B. Snite desde Nueva York en barco hasta el puerto de El Havre y desde allí hasta Lourdes. Se comenta una carta que Fred escribió a sus amigos y que en resumen dice:

No voy a pedir nada a la Virgen. Sé que Dios puede curarme pero yo me inclino desde ahora ante su decisión sea lo que sea. Si Él dispone que yo continúe en mi estado actual, el resto de mis días, me consideraré satisfecho. Mi salud es buena; me siento en plena forma. Hasta puedo respirar media hora al día sin necesidad de mi aparato.

Fred se casó con Teresa Larkin y tuvieron tres hijas³⁹. Murió en 1954 después de pasar 18 años en un pulmón de acero tal

como de describe en el periódico **Baleares**⁴⁰ de 17 de noviembre de 1954:

Su corazón dejó de latir cuando estaba jugando una partida de bridge en su casa de Palm Beach, en Florida. Fred, víctima de la parálisis infantil, no dejó jamás de sonreír ante el destino. Disfrutaba de buen humor a pesar de las 20 horas que tenía que pasar diariamente en el interior del pulmón de acero.

En el **Diario de Burgos**⁴¹ de 3 de agosto de 1949 se describe en la sección “noticias pintorescas” que:

Una mujer de 24 años de edad, atacada de parálisis infantil y que vive con un pulmón artificial de acero, ha dado a luz a una niña de cinco libras de peso. El motor del pulmón de acero fue paralizado durante quince segundos. Madre e hija se hallan en perfecto estado.

Es bastante significativa la débil situación de la España de los cincuenta cuando se compara con la de otros países desarrollados. Así en USA se habilitaron enormes salas en los hospitales para acoger dece-

³³ <https://n9.cl/7yzht>

³⁴ <https://n9.cl/09zet>

³⁵ <https://n9.cl/p4c2b>

³⁶ <https://n9.cl/ebdx6s>

³⁷ <https://n9.cl/ejzrm>

³⁸ <https://n9.cl/o9kne>

³⁹ <https://n9.cl/50auy>

⁴⁰ <https://n9.cl/bvtoe>

⁴¹ <https://n9.cl/dahr7>

nas de pulmones artificiales, mientras que en nuestro país se contaban como éxitos del régimen la instalación de un pulmón de acero en algunas capitales de provincia como Madrid (febrero de 1950⁴²) o Barcelona (abril de 1950⁴³).

No fue hasta 1956 cuando en el **Diario de Burgos**⁴⁴ se describe un respirador que puede acabar con los pulmones de acero. Se trataba de los **ventiladores de presión positiva**, que permiten la entrada del aire a los pulmones del paciente mediante una intubación de la vías respiratorias. Este tipo de respiradores han sido muy utilizados durante la reciente pandemia del coronavirus⁴⁵.

Uno de los pocos supervivientes de la epidemia en USA y que lleva viviendo en un pulmón de acero desde 1952 es Paul Alexander⁴⁶ cuya “hazaña” se describe en el reciente documental **The shot, vacunas para la historia**⁴⁷ en el que participan varios divulgadores científicos e investigadores muy conocidos.

Las vacunas: el único remedio eficaz contra la polio

El descubrimiento de las vacunas de la polio en los años 50-60 del siglo pasado determinó la desaparición de los brotes epidémicos y su casi erradicación en el mundo.

➤ Vacuna intramuscular con virus inactivados o vacuna Salk

La primera vacuna contra la polio, que contenía virus inactivados con formaldehído (VPI), fue desarrollada por Jonas Salk⁴⁸ en 1952 y se basó en los estudios iniciales de 1949 realizados por Enders, Weller, y Robbins. Estos recibieron en 1954 el Premio Nobel de Fisiología y Medicina⁴⁹ “por el descubrimiento de la capacidad del virus de la poliomiélitis para crecer en cultivos de varios tipos de tejidos animales”.

No obstante, Isabel M. Morgan⁵⁰ desarrolló en 1948 una vacuna experimental contra la polio para monos que pudo ser el predecesor de la vacuna para humanos de Salk.

En 1954, se realizó un gran ensayo clínico de la vacuna de Salk, en el que participaron alrededor de 1,8 millones de niños en EE.UU., Canadá y Finlandia. Los resultados fueron positivos y las autoridades estadounidenses anunciaron en abril de 1955 que la vacuna había mostrado una efectividad de entre 80 y 90% y se autorizó su uso.

A finales de marzo de 1955 los periódicos españoles ya estaban muy atentos a los resultados de los ensayos clínicos de la vacuna Salk en Estados Unidos. Así en el periódico zamorano **Imperio**⁵¹ de 31 de marzo y con el título “Los niños en el futuro nunca sufrirán la poliomiélitis” se comentaba lo siguiente:

Ni uno solo de los niños que la primavera pasada fueron vacunados contra la poliomiélitis con la vacuna “Salk”, en las pruebas efectuadas en todo el país, han contraído la mortífera enfermedad.

El 13 de abril de 1955 y en el periódico **La Rioja**⁵² se da cuenta del informe realizado por el doctor Thomas Francis Jr.⁵³ (que fue supervisor doctoral de Salk en la Universidad de Michigan y ser el primero en aislar el virus de la gripe) y a modo de resumen se dice:

La vacuna Salk contra la poliomiélitis es eficaz en un ochenta o noventa por ciento de los casos, informa el Dr. Thomas Francis al dar a conocer su esperado estudio sobre el ensayo en masa realizado la pasada primavera. El doctor Francis declara que la vacuna es segura, eficaz y potente y concreta que entre los pacientes de poliomiélitis bulbar, el tipo productor de invalidez y mortífero ha surtido un efecto que constituye un éxito. Sólo se ha producido una defunción entre los niños vacunados la pasada primavera.

La vacuna de Salk se autorizó en Estados Unidos en abril de 1955 y en el periódico **Solidaridad Obrera**⁵⁴ (Órgano del movimiento libertario español en Francia) se comentaba lo siguiente:

Comentando el descubrimiento de un remedio para curar la poliomiélitis el “Osservatore Romano” señala la intervención divina en la obtención de tan feliz resultado. Ciertamente. El doctor Salk ha inventado el remedio pero Dios había inventado la enfermedad.

El 29 de abril de 1955 y en el **Diario de Burgos**⁵⁵ se describe el fallecimiento de una niña de siete años después de ser vacunada con la vacuna Salk de los laboratorios Cutter y se mantiene la aprobación de la vacuna:

Los peritos sanitarios dicen que no hay pruebas de que la vacuna fabricada por los laboratorios Cutter hayan causado la dolencia y aconsejan a los padres norteamericanos que sigan adelante con los planes de vacunación de sus hijos. Se han tomado medidas de urgencia para determinar si la vacuna Cutter puede usarse sin peligro alguno.

En el diario **Pueblo**⁵⁶ de 3 de mayo de 1955 se hace un alegato de la validez de la vacuna Salk con el siguiente título “La vacuna Salk no ha fracasado”:

El joven médico neoyorquino no dijo en ningún momento que su vacuna fuera cien por cien efectiva. Algunos de los niños vacunados el año pasado contrajeron la “polio”; pero ésta fue más benigna y ninguno de los vacunados falleció. “Esperamos -dijo el doctor Salk- que con el curso del tiempo nuestra vacuna pueda ser eficaz cien por cien”.

Los laboratorios Cutter fueron uno de los seis laboratorios autorizados para fabricar la vacuna Salk y el mayor número de casos de polio entre los vacunados ocurrió con el “suero de Cutter”. Así se describe en la **Nueva Rioja**⁵⁷ de 8 de junio de 1955:

El director general de Sanidad manifestó ante la Asociación Médica Americana que las pruebas acumuladas por el servicio de sanidad pública de los Estados Unidos “apoyan la hipótesis de que la vacuna Salk producida por los laboratorios Cutter contenía virus infectados”. Hasta el 31 de mayo se registraron 11 casos de poliomiélitis, con cinco muertes, entre unos cinco millones y medio de personas inyectadas.

⁴² <https://n9.cl/aij1q>

⁴³ <https://n9.cl/jfbp6>

⁴⁴ <https://n9.cl/0wbqz>

⁴⁵ <https://n9.cl/86bdr>

⁴⁶ <https://n9.cl/wxsnb1>

⁴⁷ <https://n9.cl/qohuc>

⁴⁸ <https://n9.cl/gsfz8>

⁴⁹ <https://n9.cl/0dzew>

⁵⁰ <https://n9.cl/bp4by>

⁵¹ <https://n9.cl/e3syu>

⁵² <https://n9.cl/jzvq5>

⁵³ <https://n9.cl/0s2d9>

⁵⁴ <https://n9.cl/owxl7>

⁵⁵ <https://n9.cl/6jnk7>

⁵⁶ <https://n9.cl/q692e>

⁵⁷ <https://n9.cl/atf49>



Figura 4. Elvis Presley recibiendo la vacuna contra la polio en el programa de televisión: *El Show de Ed Sullivan*. De izquierda a derecha: Harold Fuerst, Elvis y Leona Baumgartner.

El “incidente Cutter” como se denominó al error en la fabricación de la vacuna de la polio por los Laboratorios Cutter⁵⁸ se materializó en que unos 40.000 niños vacunados presentaron dolores de cabeza, rigidez en el cuello, debilidad muscular y fiebre, 164 quedaron paráliticos y 10 murieron.

El alto coste de las tres dosis necesarias de la vacuna, su efectividad (80%) y el incidente Cutter hizo que la vacunación se frenara en Estados Unidos donde sólo el 10% de los niños habían recibido la vacuna hasta 1956.

Todo cambió el 28 de octubre del año 1956 cuando el “rey del rock and roll”, Elvis Presley, acudió a un programa de televisión de alta audiencia y se vacunó contra la polio en directo y frente a 60 millones de espectadores. La imagen de Elvis (Fig. 4) se convirtió en un arma clave contra la poliomielitis y de hecho, entre 1955 y 1957, el número de casos de polio en USA disminuyó un 81%, de 28.985 a 5.485 casos⁵⁹. Curiosamente, no he encontrado información de este evento en la prensa española.

Los padres de los niños afectados por el “Incidente Cutter” reclamaron ante los tribunales indemnizaciones y así se describe en el **Diario de Burgos**⁶⁰ de 1 de enero de 1958:

La declaración del doctor Salk fue leída ante el Tribunal Superior de Alameda donde los laboratorios Cutter de Berkeley comparecen demandados por los padres de dos niños que contrajeron la enfermedad después de ser vacunados con la vacuna elaborada por los mencionados laboratorios. Los padres reclaman 365.000 dólares de indemnización.

➤ Vacuna oral con virus vivos o vacuna Sabin

La segunda vacuna eficaz contra la polio fue desarrollada por el Dr. Albert Sabin⁶¹ y puesta en el mercado americano en 1961. Se trataba de una vacuna de uso oral que contiene una versión debilitada del virus obtenida por el paso del virus por células no humanas a temperatura no fisiológica lo que provoca mutaciones en el genoma viral.

Ya en 1955 y en el diario **Pueblo**⁶² de 4 de junio se comentaban los resultados preliminares de dicha vacuna:

El doctor Albert Sabin dice haber conseguido desarrollar una vacuna contra la poliomielitis usando virus “vivos”, la que, según él, alcanza una más duradera inmunidad que la vacuna Salk. Ha informado el doctor Sabin que, sin embargo, el desarrollo completo de su teoría se halla aún lejano.

El 7 de junio de 1959 y en el periódico **Imperio**⁶³ se describe la utilización de la vacuna Sabin en Checoslovaquia:

La nueva vacuna por vía oral contra la poliomielitis descubierta por el norteamericano doctor Albert Sabin ha sido utilizada en más de 143.000 niños, de 2 a 8 años, en Checoslovaquia, y ha abierto nuevos horizontes en la lucha contra esta enfermedad.

En el periódico coruñés **Hoja Oficial del Lunes**⁶⁴ de 10 de julio de 1961 se comenta que la vacuna Salk no ha sido efectiva en USA y se pide que se cambie por la del doctor Albert Sabin:

El Consejo Político de la Asociación Médica norteamericana ha dictaminado que la vacuna Salk para la poliomielitis no ha sido la efectiva que se esperaba en este país contra la enfermedad y, por lo tanto, se ha acordado solicitar de los médicos que la cambien por la oral del doctor Albert Sabin.

El **Diario de Burgos**⁶⁵ de 18 de septiembre de 1963 informa de una conferencia impartida por el Albert Sabin en el Centro Académico Oswaldo Cruz de Sao Paulo donde explican las diferencias entre ambas vacunas así como los problemas del uso de la vacuna Sabin en Estados Unidos:

La vacuna Salk inmuniza al paciente contra la poliomielitis, pero no mata el virus, por lo cual la persona perfectamente inmunizada, aún transmite el virus por vía bucal, a las personas con que convive. La vacuna Sabin, además de inmunizar impide la transmisión del virus.

Ante la pregunta de por qué la vacuna Sabin habiendo sido perfeccionada en

⁵⁸ <https://n9.cl/s3pbd>

⁵⁹ <https://n9.cl/0122g>

⁶⁰ <https://n9.cl/849bl>

⁶¹ <https://n9.cl/j79lv>

⁶² <https://n9.cl/xisqa>

⁶³ <https://n9.cl/j03py>

⁶⁴ <https://n9.cl/59rzk>

⁶⁵ <https://n9.cl/y7kni>

los Estados Unidos, fue experimentada en Rusia, explicó que no pudo ser experimentada en los Estados Unidos porque la vacuna Salk estaba siendo utilizada en gran escala. Además la poliomiélitis arrasaba Rusia con carácter epidémico; nada mejor y más justo para una experimentación. Cerca de 10 millones de personas fueron totalmente inmunizadas con triunfo absoluto para la aplicación de la vacuna. Actualmente unos 15 millones de personas han sido inmunizadas en el mundo entero y no se ha registrado ningún incidente del cual pueda culparse a la vacuna Sabin.

El reconocido **Premio Robert Koch**⁶⁶ del año 1962 fue concedido a los investigadores que hicieron posible el desarrollo de la vacuna contra la poliomiélitis: John Franklin Enders, Albert Sabin y Jonas Salk. Sus bustos también están en el **"Polio Hall of Fame"**⁶⁷ que reúne a los quince héroes que participaron en la lucha contra la poliomiélitis.

En la actualidad y en los países desarrollados, la inmunización contra la poliomiélitis se lleva a cabo por inyección intramuscular de poliovirus inactivados (vacuna Salk), que no puede eliminarse a través de las heces. Sin embargo, debido a que no protege a nivel de la mucosa del intestino, las personas que han recibido la vacuna Salk pueden ser portadoras de la enfermedad y contagiar a individuos no vacunados.

Algunos países del mundo confían en la vacuna oral de Sabin que contiene una versión viva y debilitada del virus. La vacuna Sabin es superior en cuanto a la facilidad de administración, protege a nivel del intestino y produce inmunidad a mayor plazo que la vacuna Salk. Las personas vacunadas con la vacuna Sabin pueden eliminar brevemente este virus en sus heces, que pueden aparecer en las aguas residuales y causar pequeños brotes en comunidades con baja cobertura de vacunación (polio iatrogénica o inducida por la vacuna).

Campañas de vacunación en España

Como indiqué anteriormente, en abril de 1955 se dio la autorización en USA para la

vacuna inyectable diseñada por Jonas Salk pero no fue hasta finales de 1956 cuando los niños estadounidenses se vacunaron masivamente.

Entre 1956 y 1964 la polio azotó a la población infantil española provocando graves discapacidades físicas en 12.000 niños y causando alrededor de 2.000 muertos.

El 27 de octubre de 1957, en **La Vanguardia**⁶⁸ se anuncia la llegada a España de la primera remesa de vacuna Salk:

Ha llegado a España, por intervención de la Dirección General de Sanidad cerca [sic] del Gobierno de los Estados Unidos, la primera partida de vacuna contra la poliomiélitis. La Dirección General de Sanidad dictará las normas oportunas sobre la forma de distribución de la vacuna.

Por tanto, la vacunación contra la poliomiélitis en España debería haberse iniciado a finales de 1957 cuando ya disponíamos de la vacuna Salk, se tenían resultados fiables en USA y se había descubierto el error de su fabricación por los laboratorios Cutter.

Y si, a finales de 1957 se inicia la primera campaña de "vacunación voluntaria" en Madrid como se describe en **La Vanguardia**⁶⁹ de 29 de diciembre de 1957:

En estos días se está iniciando en Madrid la vacunación voluntaria de los niños contra la poliomiélitis, por medio de la vacuna Salk en la Escuela Nacional de Puericultura. El director de este centro don Ciriaco Laguna, en unas declaraciones que hoy publica «Ya», ha declarado, con tal motivo, que este medicamento puede utilizarse sin ninguna clase de reservas por su completa inocuidad, ya que se trata de una vacuna elaborada con virus muertos.

Pero dicha "vacunación voluntaria", debido a su precio sólo estuvo disponible para "ricos" como se describe en el periódico clandestino **España Democrática**⁷⁰ de enero de 1958:

La vacunación de niños madrileños contra la poliomiélitis ha dado comienzo, según se informa, en la capital española. Nos

conmueve el desvelo de las autoridades franquistas por la salud de los niños. Lo malo es que hay un pequeño inconveniente: la vacuna norteamericana "Salk" que es administrada únicamente por prescripción médica, cuesta nada menos que 200 pesetas por persona. Lo que significa que esa vacuna es para los niños cuyos padres puedan desembolsar tal suma. Es decir, para los ricos, porque lo que es los pobres, ¿de dónde?

El primer intento de vacunación "masiva" Salk contra la polio aparece en **El Diario de Burgos**⁷¹ de 2 de octubre de 1958 que titula: *"Es aconsejable vacunar contra la polio a todos los niños menores de 15 años"* y en su interior reproduce las declaraciones del Dr. Bosh Marín⁷², vicepresidente de la Asociación europea contra la poliomiélitis y Jefe de Puericultura de la Sanidad Nacional:

Hasta el momento han sido vacunados unos doscientos mil niños, cantidad insuficiente pues en España existen siete millones de menores de 15 años. Por ello, se han proyectado campañas de vacunación masiva, al tiempo que han sido establecidos en toda España ciento veinte pulmones artificiales, repartidos entre 20 ciudades. Afirmó que la vacuna empleada la "Salk" es de duración corta e inofensiva por lo que se recomienda la revacunación anual, se administra en invierno para cuando llegue la época de más peligro, el verano, el niño esté ya defendido. Señaló además que la vacuna "Salk" es provisional y será desplazada por la de virus vivos.

El régimen franquista ocultaba los datos de polio y sus secuelas, ya que la presencia de niños paralíticos iba en contra del pueblo sano y fuerte que alentaba el gobierno (Rodríguez-Sánchez y Seco Calvo, 2009). Esto permitió a los movimientos antifranquistas criticar el modelo español haciendo hincapié en casos de polio ocurridos en España. Así, y a raíz de seis casos ocurridos en Tudela, el periódico **España republicana**⁷³ (portavoz del movimiento antifranquista, publicado en La Habana) de 15 de octubre de 1962 comenta lo siguiente:

Desgraciadamente la prensa española da cuenta de hechos similares con bastante

⁶⁶ <https://n9.cl/vnjnx>

⁶⁷ <https://n9.cl/32r79>

⁶⁸ <https://n9.cl/g5ol1>

⁶⁹ <https://n9.cl/1v7l2>

⁷⁰ <https://n9.cl/xi1p5>

⁷¹ <https://n9.cl/z8x3x>

⁷² <https://n9.cl/v62dpw>

⁷³ <https://n9.cl/3oqvs>

frecuencia. Contrasta esta triste realidad de la España de Franco con la hermosa de la Cuba revolucionaria en donde merced a la vacunación masiva de toda la población Infantil (con la vacuna soviética Sabin) ha sido totalmente erradicada la poliomielitis

Parece increíble hoy en día, pero Cuba fue el primer país en las Américas que en 1962 eliminó la poliomielitis⁷⁴.

El inicio de la vacunación masiva Salk contra la polio en Madrid se describe en el diario **Pueblo**⁷⁵ de 22 de enero de 1963:

Ayer dió comienzo en Madrid la que sin duda será la primera gran campaña de medicina preventiva que se lleva a cabo en nuestra patria. Se ha querido que fuera dirigida contra el azote de la poliomielitis que tantos estragos causa entre la población infantil; y así, de esta manera se ha iniciado la vacunación masiva de los niños madrileños y posteriormente se extenderá a los de toda España, calculándose en dos millones los beneficiados con esta medida.

La propaganda del gobierno se pone en marcha y se anuncian vacunaciones masivas en toda España realizadas por el Seguro Obligatorio de Enfermedad en enero de 1963. Así se describe en el periódico **Imperio**⁷⁶:

España se pone en línea con el resto de países europeos occidentales en la lucha antipolio. Esta causa, además de la primordial el cuidado y profilaxis de la salud pública, es la que ha motivado a una conjunción de esfuerzos de nuestra sanidad, al incorporarse ahora a la tenaz tarea la previsión social, merced a la campaña que va a emprender el Seguro de Enfermedad en todo el ámbito nacional. Con ello, prácticamente, todos los niños del país quedarán vacunados durante este año contra la poliomielitis.

Recordemos que la vacuna Salk se administraba en tres dosis a tres grupos de niños (beneficencia, débiles económicos y pudientes). La vacuna era gratuita para los niños de beneficencia, tres pesetas por dosis para los “débiles económicos” y nueve pesetas por dosis para los “pudientes”. En cada provincia se calculaba el número

de niños a vacunar, su nivel económico y las dosis necesarias. Lo que ocurría era que las dosis enviadas desde la Dirección General de Sanidad eran inferiores a las solicitadas, y sobre todo en el caso de las gratuitas (Rodríguez-Sánchez y Calvo-Seco, 2009).

En el **Diario de Burgos**⁷⁷ de 21 de marzo de 1962, se publicita por parte del laboratorio alemán Landerlan la disponibilidad de una vacuna contra la difteria, tosferina, tétanos y poliomielitis (DPT-polio) lo que parece sugerir que muchas familias, a pesar del alto coste, solicitaron a ese laboratorio vacunas para sus hijos:

Ante la imposibilidad material de comunicar con los miles de personas de toda España que lo han solicitado, Laboratorios Landerland se complace en informar a los médicos y farmacéuticos que ya ha sido normalizado el suministro de la vacuna de DPT-polio contra la difteria, tosferina, tétanos y poliomielitis.

En 1963 convive la vacuna inyectable Salk con la “campaña piloto” de vacuna oral Sabin que empezó en León el día 14 de mayo de 1963. La vacunación oral fue propuesta por Florencio Pérez Gallardo⁷⁸ y contó con la colaboración de un grupo de jóvenes colaboradores que se desplazaron por todas las provincias de León y Lugo llegando a los lugares más recónditos. Uno de dichos colaboradores fue el Dr. Rafael Najera que así lo describe en una reciente publicación⁷⁹:

Los recursos de que disponíamos parecerían hoy ridículos, pero con ellos se consiguió eliminar uno de los problemas sanitarios más terribles del momento. Desafortunadamente la falta del apoyo necesario hizo que lo que podría haberse completado en pocos años se demorara en el tiempo más de lo deseable.

Debido al éxito de la campaña piloto en León y Lugo, el 14 de noviembre de 1963 se anuncia la **Primera Campaña Nacional** contra la polio con vacuna Sabin quedando recogida en muchos periódicos de la época. Así, en **La Vanguardia**⁸⁰ de 15 de noviembre se describe:

El Ministro de la Gobernación hizo historia de las campañas realizadas, desde el año

1958, por la Dirección General de Sanidad y por el Seguro Obligatorio de Enfermedad en importantes sectores de la población infantil española. «En estas campañas —dijo el ministro— se ha empleado la vacuna tipo Salk, de virus muerto, en cerca de dos millones de niños. Sin embargo, es ya de fundamental interés aplicar la recomendación técnica que formula la Organización Mundial de la Salud. Ello aboga en favor del empleo de la nueva vacuna antipoliomielítica de virus atenuado, tipo «Sabin», por vía bucal y de mayor efecto inmunizante. Después de las numerosas experiencias realizadas, el Gobierno considera que ha llegado el momento de llevar a efecto la inmunización de toda la población infantil española, para evitar, cada año, doscientos muertos y dos mil inválidos».

Luego fueron presentados los médicos que constituyen el equipo del Centro Nacional del Virus. El director del mismo, doctor Pérez Gallardo, dijo que se había trabajado intensamente para conseguir que los equipos de vacunación alcancen a todos los municipios y lugares españoles. Iniciarán su labor el día 20 en toda España. Más de 150 médicos especializados, acompañados por dos o tres enfermeras cada uno, se dirigirán por todo el país para administrar la vacuna.

En la **Hoja Oficial del Lunes**⁸¹ de 18 de noviembre y con el título: “La vacuna es totalmente inofensiva y se aplicará de forma gratuita y sin más complicaciones que tomar un terroncito de azúcar” se describen las bondades de la vacuna Sabin, su facilidad de administración y la propaganda del régimen (Fig. 5). ¿Por qué siempre se hacen fotos de las vacunas llegando a bordo de los aviones? ¿Nos suena a algo muy reciente?

Pasado mañana, miércoles, se desarrollará en toda España una campaña de vacunación masiva contra la polio a base de la vacuna Sabin por vía oral y con virus atenuados, en lugar de muertos como la de tipo Salk. Esta campaña lanzada y dirigida por la Dirección General de Sanidad puede llevar a la desaparición total del mal en nuestro país.

El 14 de diciembre de 1963 se alcanzó la cifra de tres millones de niños vacunados y se describe a “bombo y platillo” en el

⁷⁴ <https://n9.cl/2oklo>

⁷⁵ <https://n9.cl/0hucg>

⁷⁶ <https://n9.cl/x1u6g>

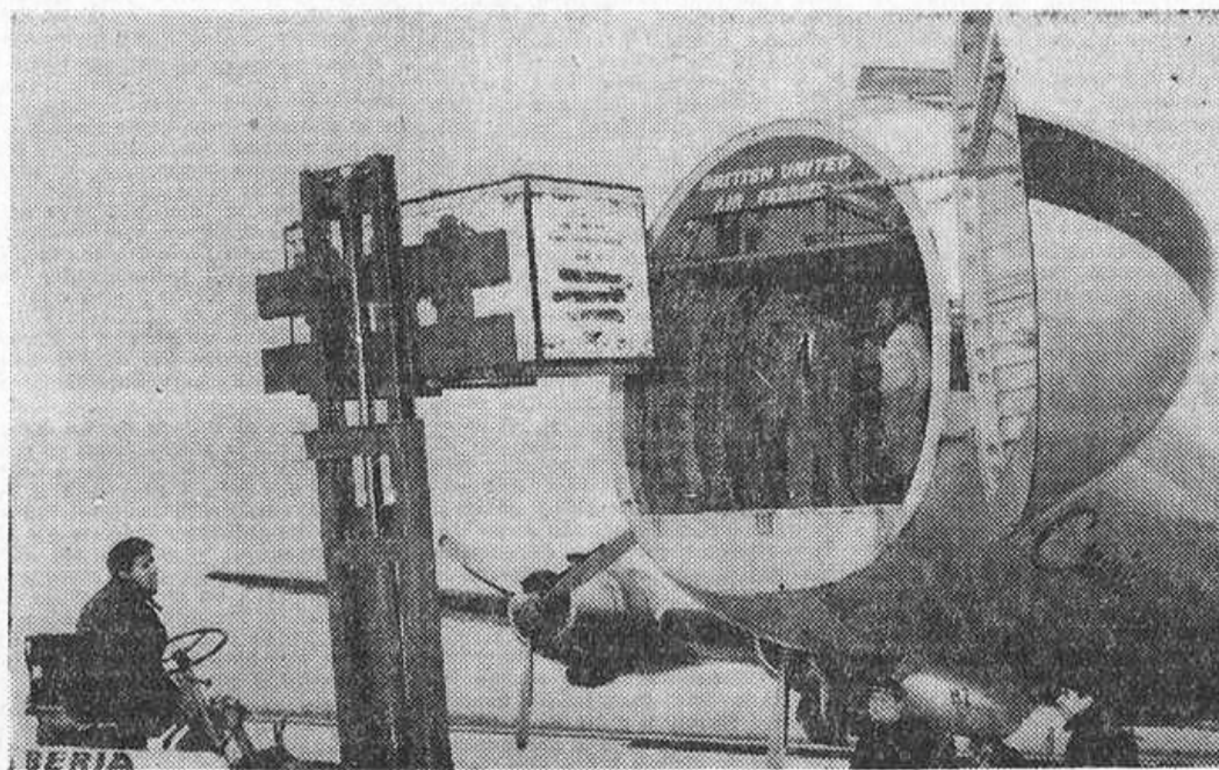
⁷⁷ <https://n9.cl/o5ljr>

⁷⁸ <https://n9.cl/3c0kz>

⁷⁹ <https://n9.cl/bu9rq>

⁸⁰ <https://n9.cl/7a9pp>

⁸¹ <https://n9.cl/v22er>



Las cajas de la vacuna antipolio llegaron a Barajas en aviones ingleses. En la fotografía puede apreciarse un momento del desembarco de tales cajas. Hoy y mañana, aviones de la Iberia y Aviaco las transportarán a Barcelona, Santiago de Compostela, Bilbao, Valencia, Vigo, Sevilla y Granada. (Foto Portillo.)

Figura 5. Llegada de la vacuna Sabin al aeropuerto de Barajas. Fotografía tomada de la Hoja del Lunes de 18 de noviembre de 1963.

periódico **Baleares**⁸² que me recuerda a la propaganda del gobierno con la primera mujer vacunada contra la COVID-19⁸³:

María Pilar Marqués Alonso, de cinco años de edad, ha sido vacunada esta tarde contra la polio en la Jefatura Provincial de Sanidad, haciendo el número tres millones de vacunados en toda España. Después de darle el terrón de azúcar con tres gotas de la vacuna "Sabin", la pequeña fue obsequiada con una preciosa muñeca. María del Pilar pertenece al colegio Palacio Valdés, es natural de Moraleja del Medio, provincia de Madrid, con residencia en el Paseo del Prado, 44.

La segunda fase de la vacunación contra la polio usando la vacuna oral Sabin se inició el 30 de marzo de 1964 tal como se

describe tanto en **La Vanguardia**⁸⁴ como en la **Hoja Oficial del Lunes**⁸⁵:

El éxito de la primera fase de vacunación se completará ahora con la segunda campaña que comenzará hoy. Ahora se administrará una vacuna trivalente que inmuniza contra el virus I (productor del 85% de los casos) y contra los virus II y III.

Todos los niños, entre los dos y los siete años de edad aunque ya estén vacunados, deben tomar ahora su terrón de azúcar con las tres gotas de vacuna Sabin.

Será un éxito total si se consigue vacunar a los cerca de cinco millones de niños españoles (más del 95 por 100 de la población infantil de España) que tomaron la vacuna correspondiente a la primera fase.

El éxito de la vacuna oral o Sabin fue total como lo demuestra el descenso del número de casos a partir de 1964 (Fig. 6). La vacuna oral se eligió por su facilidad de administración y, muy probablemente, por su bajo coste. Ha sido utilizada en nuestro país hasta el año 2004, en que fue sustituida por la vacuna inyectable Salk que se administra tres veces a los niños en el primer año de vida (2, 4 y 6 meses de edad) y una cuarta dosis a los 18 meses.

El 21 de junio de 2002, la Oficina Regional de Europa de la Organización Mundial de la Salud (OMS) concedió el certificado de erradicación de la poliomielitis a España y al resto de países que componen la región europea.

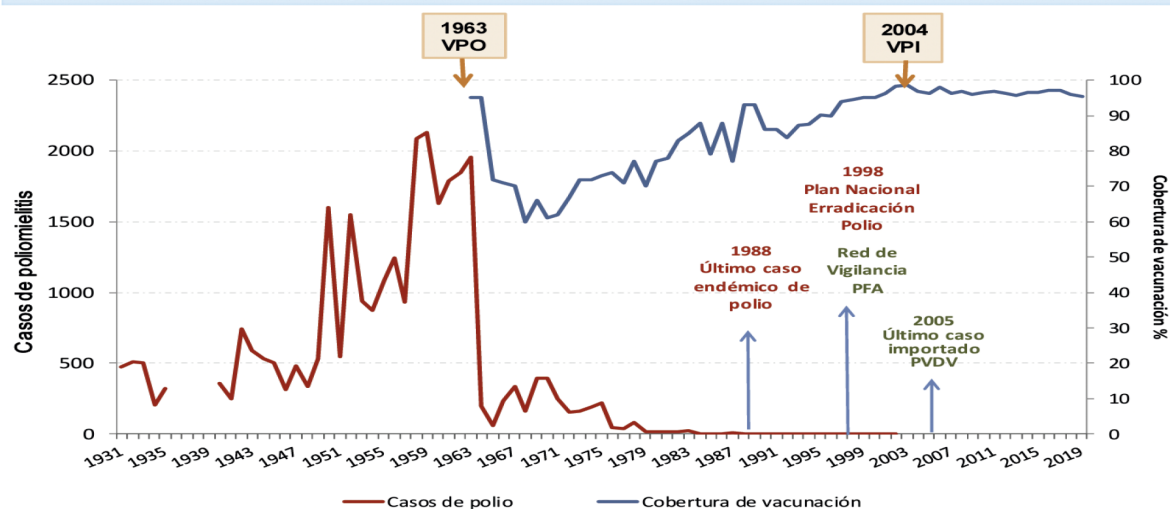
Es muy difícil que vuelva a producirse una epidemia de polio en España debido a la obligatoriedad de la vacuna, y en consecuencia a la alta tasa de vacunación de la población. No obstante, y como país, tene-

⁸² <https://n9.cl/auxt6>

⁸³ <https://n9.cl/nmw1d>

⁸⁴ <https://n9.cl/oz36b>

⁸⁵ <https://n9.cl/y97jr>

Figura 1. Casos de poliomiелitis y coberturas de vacunación. España, 1931-2019

Fuente: Centro Nacional de Epidemiología, ISCIII. Coberturas de vacunación: Ministerio de Sanidad

Figura 6. Casos de poliomiелitis y coberturas de vacunación. España, 1931-2019. Fuente: Centro Nacional de Epidemiología, ISCIII. Coberturas de vacunación: Ministerio de Sanidad. VPO: vacuna polio oral o Sabin. VPI: vacuna polio inyectable o Salk.

mos una deuda con los damnificados por la epidemia de los años sesenta del siglo pasado. ¿Podrá la Ley de Memoria Democrática solucionar dicho fracaso?

Bibliografía

- Drinker P, Shaw LA.** (1929). An apparatus for the prolonged administration of artificial respiration: I. A design for adults and children. *J Clin Invest.* **7**: 229-247.
- Landsteiner K, Popper E.** (1909). Übertragung der Poliomyelitis acuta auf Affen. *Z Immunitätsforsch* **2**: 377-390.
- Muñoz Singi G.** (2007). La poliomiелitis en la prensa salmantina (1954-1967). Tesis doctoral. Universidad de Salamanca.
- Rodríguez-Sánchez JA, Seco-Calvo J.** (2009) Las campañas de vacunación contra la poliomiелitis en España en 1963. *Asclepio Rev Hist la Med y la Cienc LXI*: 81-116.
- Tuells J, Tarruella-López L, Duro-Torrijos JL, Martínez-Martínez PJ, Mancebo-Salas N, Cobo-Sánchez JL.** (2014). El año de la primera campaña de vacunación oral contra la poliomiелitis según la prensa de Santander (1963). *Vacunas* **15**: 98-103.
- Tuells, J.** (2019) La batalla de Madrid por las vacunas antipoliomiелitis (1963): ciencia, ideología y poder en la primera campaña de inmunización masiva en España. *Gac Sanit* **33**: 480-484.



XX *workshop* “Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria” memorial *DYCFung*

MARTA CAPELLAS PUIG Y JOSEP YUSTE PUIGVERT

Universitat Autònoma de Barcelona

✉ marta.capellas@uab.cat | josep.yuste@uab.cat

 <https://webs.uab.cat/workshopmrama>



Foto de grupo.

Del 22 al 25 de noviembre de 2022, tuvo lugar el XX aniversario del *workshop* sobre Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria (MRAMA) – memorial *DYCFung*, en la Facultad de Veterinaria de la *Universitat Autònoma de Barcelona* (UAB; Bellaterra, Cerdanyola del Vallès), organizado por la Dra. Carol Ripó-

llés Ávila, la Dra. Marta Capellas Puig y el Dr. Josep Yuste Puigvert, profesores del 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, con-

tar, 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**, catedrático de nuestro Depar-

tamento, 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 catedrático 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. Eva Tolosa Muñoz**, de la *Subdirecció General de Seguretat Alimentària i Protecció de la Salut* del *Departament de Salut*, en Barcelona, explicó su experiencia en los programas de vigilancia microbiológica y la evaluación de los resultados, aportando también casos prácticos de gestión de alertas. El **Sr. Ricardo Fernández Casal**, de Centros Comerciales Carrefour, en Madrid, participó con una interesante ponencia acerca de la calidad y la seguridad alimentarias desde la perspectiva del sector distribución. Se abordó, en forma de **mesa redonda**, un tema de gran importancia como es la garantía de inocuidad y la minimización del deterioro, en el sector de los alimentos de IV gama, las comidas preparadas y la restauración colectiva, a cargo de: la **Sra. Clara Munilla Esparza** (Florette Ibérica Milagro), la **Sra. Erika Blašková** (Heura Foods, Barcelona), el **Sr. Roger Sellarés Pujol** (Audens Food, Balsareny), la **Sra. Anna Moliner Ràfols** (Càtering Cal Blay, Sant Sadurní d'Anoia) y la **Sra. Raquel Arrebola Fernández** (Establiments Viena, Terrassa). El debate y las intervenciones del público estuvieron relacionados con la sostenibilidad y la próxima modificación de la legislación sobre el envasado de alimentos. El **Dr. Ignacio López Goñi**, de la Universidad de Navarra, en Pamplona, transmitió magistralmente a los asistentes sus amplios conocimientos sobre nuestra microbiota y su papel en la medicina personalizada. Y el **Sr. David Tomás Fornés**, coordinador del Grupo de Trabajo español para la Normalización de métodos microbiológicos ISO/CEN, presentó las últimas novedades en métodos de referencia ISO.

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 XX *workshop* MRAMA, fueron: BC Aplicaciones Analíticas, bioMérieux España, Bioser, BioSystems, Bluephage, Bruker Española, Christeysn España, Comercial Hospitalaria Grupo-3, Condalab, Deltalab, IDEXX Laboratorios, Illumina Productos España, Interscience (Francia), IUL, Kersia Ibérica, LGC Standards, Macrogen Spain, Merck Life Science, Laboratorios Microkit, MicroPlanet Laboratorios, Sysmex España, Thermo Fisher Diagnostics y Werfen.

También colaboran con el *workshop* MRAMA: Asesoría y Consultoría Sanitaria (ACONSA), ainia, centro tecnológico, el Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria (CNTA), Eppendorf Ibérica, Productos Florida, PanReac AppliChem, Estrategias Alimentarias – Revista *eurocarne*, Publica – Revista *Técnicas de Laboratorio*, Sweet Press – Revista *Tecnifood*, la *Associació Catalana de Ciències de l'Alimentació* (ACCA), 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 *Associació Catalana de Científics i Tecnòlegs dels Aliments* (ACCTA), la *Agència de Salut Pública de Catalunya*, y la Sociedad Española de Químicos Cosméticos (SEQC).

El *workshop* reunió a 174 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, productos de la pesca, lácteo, comidas preparadas y restauración colectiva, conservero, salsas, caldos y sopas, cacao y chocolate, panificación, pastelería y otros postres, bebidas analcohólicas –aguas, zumos, licuados, bebidas refrescantes– y alcohólicas –vitivinícola, cava–, alimentación ecológica, ingredientes, aditivos y aromas), biotecnológico, material para laboratorio, etc.; (ii) Perso-

nal técnico, profesores y estudiantes de la UAB (grado en Ciencia y Tecnología de los alimentos; tercer ciclo), otras universidades (Universidad Católica de Ávila, Institución Universitaria Colmayor –Medellín, Colombia–, Universidad Católica de Córdoba –Argentina–) y centros docentes; (iii) Otros centros de investigación; (iv) Administración.

Durante tres días, se llevaron a cabo **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) *Auditorías en fábricas. Aspectos a revisar*, a cargo de SGS ICS Ibérica; (ii) *Confianza y transparencia, elementos claves en la inocuidad alimentaria y los esquemas GFSI*, a cargo de Intertek Ibérica Spain; (iii) *¿Peligros microbiológicos en los sistemas APPCC? ¿Por fin, identifícalos correctamente en tu empresa!*, a cargo del **Sr. Jon Basagoiti Azpitarte** (Imaging Management Systems, Ermua); (iv) *Uso de los recursos para microbiología predictiva disponibles en internet*, a cargo de la **Dra. Montse Vila Brugalla** (*Agència de Salut Pública de Barcelona*).

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 algunos de los temas tratados en ella fueron: la limitación que, a veces, suponen los métodos de referencia para confirmar los resultados obtenidos mediante métodos rápidos; el impacto del uso de la secuenciación masiva en la gestión de las alertas, considerando que cuanto más rápido es el resultado, más rápida debería ser la respuesta; y el efecto del cambio climático sobre el aumento de brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos.

.....



➤ El XXI *workshop* MRAMA-memorial DYCFung se celebrará del 21 al 24 de noviembre de 2023

El legado de un gran microbiólogo y genetista

FRANCISCO GARCÍA DEL PORTILLO^{1*}, RAFAEL GIRALDO¹, BRUNO GONZÁLEZ ZORN², ALICIA M. MURO PASTOR^{3}, FRANCISCO RAMOS MORALES⁴, ANTONIO VENTOSA⁵**

¹Departamento de Biotecnología Microbiana. Centro Nacional de Biotecnología (CNB)-CSIC, Madrid.

²Unidad de Resistencia Antimicrobiana. Universidad Complutense de Madrid (UCM), Madrid.

³Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (IBVF). CSIC-Universidad de Sevilla, Sevilla

⁴Departamento de Genética, Facultad de Biología. Universidad de Sevilla, Sevilla.

⁵Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla, Sevilla

✉ *fgportillo@cnb.csic.es | **alicia@ibvf.csic.es

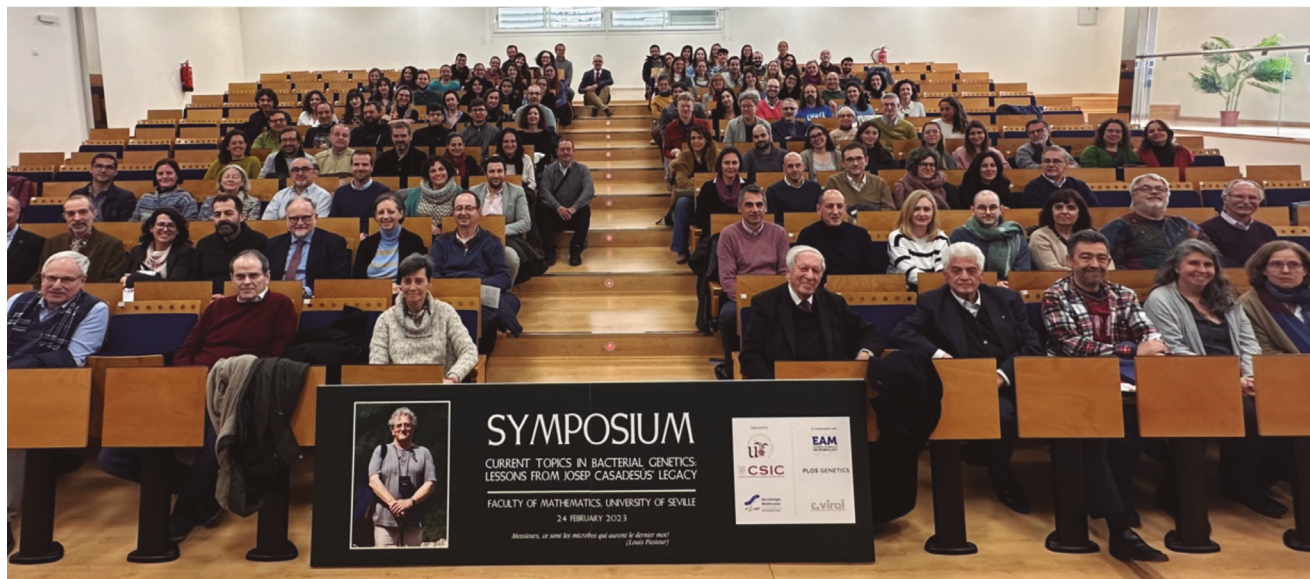


Foto de familia de los asistentes al simposio.

Una iniciativa promovida por varios miembros del grupo especializado de Microbiología Molecular de la SEM culminó el pasado 24 de febrero en la celebración de un simposio que llevó por título **“Current topics in bacterial genetics: lessons from Josep Casadesús’ legacy”** en recuerdo del fallecido profesor Josep Casadesús, “Pepe” para todos los que le conocíamos. El simposio se celebró en la Universidad de Sevilla y fue inaugurado por el Vicerrector de Investigación de la Universidad de Sevilla, el Dr. Julián Martínez Fernández, catedrático del área de Física de la Materia Condensada. Durante la presentación del acto, tomaron también la palabra la Vicerrectora de Proyección Institucional e Internacionalización

de la misma Universidad, la Dra. Carmen Vargas Macías, catedrática del área de Microbiología, y el Dr. Francisco Ramos Morales, catedrático de Genética y director del Departamento de Genética de la Facultad de Biología de la Universidad de Sevilla, ambos miembros del grupo especializado de Microbiología Molecular. Todos ellos elogiaron la figura de Pepe, en especial su labor en el ámbito universitario como extraordinario docente e investigador, destacando sus numerosas aportaciones en distintas áreas de la Microbiología y la Genética.

El simposio fue un gran éxito que excedió con creces las expectativas de los organizadores. Por un lado, supuso

para una gran mayoría de los asistentes -alrededor de 120- una ocasión para el reencuentro tras la pandemia de COVID-19. Para muchos de ellos significó una vuelta atrás en el tiempo y el recuerdo de reuniones presenciales de la era “pre-pandemia” en las que se discutía ciencia en persona y en las que se impulsaban y fortalecían colaboraciones científicas y académicas. Este arranque del simposio fue sin duda sumamente emotivo. A continuación, y como era esperable, la figura de Pepe y la importancia de su legado sobresalió de manera abrumadora a lo largo de todo el simposio. La totalidad de los catorce ponentes que intervinieron resaltaron vivencias con Pepe, anécdotas, logros científicos, o su extraordinario



Organizadores del simposio. De izquierda a derecha, junto al cartel anunciador, Antonio Ventosa, Rafael Giraldo (presidente de la SEM), Bruno González-Zorn, Francisco García del Portillo, Alicia M. Muro Pastor (presidenta del grupo especializado de Microbiología Molecular) y Francisco Ramos Morales.

trabajo editorial en la prestigiosa revista *PLoS Genetics*. En atención a las personas que no pudieron desplazarse, el simposio pudo seguirse online y las grabaciones de las ponencias están disponibles en el canal de YouTube de la SEM (<https://www.youtube.com/@sem-microbiologia/videos>).

Entre los ponentes se incluyeron investigadores extranjeros que de forma unánime pusieron de manifiesto la influencia de Pepe en sus trayectorias científicas. Cabe señalar la ponencia del Prof. Stanley Maloy, anterior presidente de la Sociedad Americana de Microbiología (ASM) y compañero en la etapa postdoctoral de Pepe en Salt Lake City (Utah), que viajó desde

Estados Unidos exclusivamente para este evento. Stan describió estudios que abordaron las bases genéticas responsables de la distinta especificidad de hospedador que muestran los serovares Typhi y Typhimurium de *Salmonella enterica*, el primero patógeno de humanos y el segundo con capacidad para infectar un amplio espectro de hospedadores. Otros investigadores extranjeros presentes en el acto fueron el Prof. Jay Hinton, de la Universidad de Liverpool y miembro de la Academia Europea de Microbiología (EAM), que mostró datos recientes de secuenciación de genomas de aislados de *Salmonella*, en la actualidad más de 400.000, lo cual da una idea de la dimensión y eficiencia de las

modernas tecnologías de secuenciación y la acumulación de "big-data" en el terreno de la biología. Supondrá sin duda un gran desafío el trasladar diferencias de contenido genómico a fenómenos o procesos biológicos concretos que expliquen el distinto comportamiento de distintos aislados de *Salmonella*. El Prof. Lionello Bossi, de la Universidad Paris-Saclay, impartió una ponencia sobre el último trabajo que había realizado en colaboración con Pepe y que publicaron en 2022 en la revista PNAS. En dicho trabajo se demuestra la importancia de la transcripción anti-sentido para liberar la regulación negativa que ejerce la proteína de unión a nucleóide H-NS sobre la expresión de algunos genes de virulencia de *Salmonella*. Esta transcripción anti-sentido ocurre de forma estocástica resultando en poblaciones positivas y negativas para la producción del factor de virulencia, generándose por tanto un claro patrón de expresión génica bimodal. Otras dos científicas extranjeras, la Prof. Mireille Ansaldi, del CNRS de Francia, y la Prof. Lotte Søgaard-Andersen del Max Planck Institute de Marburgo, en Alemania, presentaron respectivamente ponencias sobre nuevos métodos de identificación de *Salmonella* en aguas basados en el empleo de bacteriófagos y sobre la regulación espacio-temporal de la motilidad en *Myxococcus xanthus* mediada por GTPasas que ocurre de forma polarizada desde el extremo anterior al posterior de la célula. La Prof. Lotte Søgaard-Andersen recogió también algunos aspectos sobre el trabajo de Pepe como editor de *PLoS Genetics*.

Entre los ponentes nacionales destacaron discípulos de Pepe como Andrés Garzón, de la Universidad Pablo de Olavide; Carmen Beuzón, de la U. de Málaga; María Antonia Sánchez-Romero y Roberto Balbontín, de la U. de Sevilla; y Javier López Garrido, el cual dirige actualmente un grupo en el Max Planck Institute de Plön, en Alemania. Andrés Garzón, uno de los primeros discípulos de Pepe, describió estudios sobre la adquisición de secuencias CRISPR-Cas relacionada con la

presencia de determinadas proteínas de membrana que probablemente actúen de receptor de bacteriófagos. Carmen Beuzón describió su aportación en la patogénesis de *Salmonella* mediante la puesta a punto de un método de infección de animales con mezclas de aislados mutantes (estudio de “competición”) que permite identificar fenómenos de epistasia genética y por tanto de asociación de funciones que participan en el mismo proceso. Carmen también mencionó estudios de proteínas efectoras que patógenos de animales como *Salmonella* y de plantas como *Pseudomonas syringae* translocan a la célula infectada para alterar procesos básicos de homeostasis celular. María Antonia Sánchez-Romero describió varios ejemplos de los estudios realizados con Pepe en los que demostraba de forma inequívoca el fenómeno de heterogeneidad fenotípica en comunidades microbianas. Roberto Balbontín presentó una ponencia sobre mutaciones que pueden aumentar o reducir el coste biológico asociado a mutaciones causantes de resistencias a antibióticos que inhiben transcripción (rifampicina) o traducción (estreptomicina). Finalmente, Javier López Garrido disertó sobre los cambios fisiológicos que tienen lugar durante el proceso de esporulación en *Bacillus subtilis*, en concreto la comunicación entre la célula madre y la espora en procesos tan relevantes como la translocación de una copia del cromosoma o el intercambio de nutrientes y material de envuelta. Javier hizo además una

reflexión en el sentido de que el legado de Pepe seguirá vivo en la medida en que sus discípulos y colaboradores, muchos de ellos presentes en el simposio, continúen llevando a cabo su trabajo con el entusiasmo y la pasión que Pepe siempre transmitió. En palabras de Javier, “nosotros somos el legado de Pepe”.

La lista de ponentes nacionales también incluyó colaboradores de Pepe, como Francisco García del Portillo, del Centro Nacional de Biotecnología (CNB)-CSIC, y Bruno González-Zorn, de la Universidad Complutense, así como compañeros del Departamento de Genética de la Facultad de Biología en la U. de Sevilla como Francisco Ramos Morales. Todos ellos destacaron el gran impacto que tuvo Pepe en el desarrollo de sus proyectos científicos, en concreto en el descubrimiento de nuevas proteínas fijadoras de penicilina en *Salmonella* (F. García del Portillo), la diseminación de determinantes genéticos asociados a resistencia antibiótica mediada por fagos (B. González-Zorn), o el estudio de proteínas efectoras de virulencia de *Salmonella* (F. Ramos Morales).

Para concluir, el simposio incluyó unas palabras del actual presidente de la SEM, Rafael Giraldo, que elogió la contribución de Pepe al desarrollo de la Microbiología en España además de resaltar su importante papel como uno de los fundadores y primer presidente del grupo especializado de Microbiología Molecular. Sin excep-

ción, todos los ponentes destacaron las numerosas contribuciones de Pepe como microbiólogo y genetista, resaltando además el reconocimiento internacional a su obra en numerosas temáticas como la epigenética, la heterogeneidad fenotípica y, especialmente en *Salmonella*, su bacteria favorita, la resistencia a sales biliares, la regulación de expresión de factores de virulencia, los fenómenos de conjugación del plásmido de virulencia, métodos de tipificación genética y el papel de RNAs pequeños reguladores en la virulencia, entre otras muchas. Además de su enorme producción científica, Pepe siempre será recordado por su inestimable generosidad y sentido constructivo de la ciencia, aportando ideas, sugiriendo nuevas empresas ambiciosas, cediendo material biológico propio y promoviendo nuevas colaboraciones.

Pepe fue sin duda un maestro y así será siempre recordado. El simposio fue una clara manifestación de la admiración por este gran microbiólogo y genetista que deja un gran legado y una profunda huella en la comunidad científica nacional e internacional.

.....

Celebrada la X reunión del Grupo Especializado SEM “Microbiología de Plantas”

DOLORES FERNÁNDEZ-ORTUÑO*, EVA ARREBOLA, VÍCTOR CARRIÓN, LUIS RODRÍGUEZ-MORENO

Departamento de Microbiología y Protección de Cultivos. Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”-Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), 29071 Málaga, España

✉ dfernandez-ortuno@uma.es



Participantes de la reunión en una visita guiada a las Cuevas de Nerja.

Los días 25, 26 y 27 de enero tuvo lugar la X reunión de grupo especializado de Microbiología de Plantas (MIP´23) en el Centro Cultural Villa de Nerja (Nerja, Málaga). Este evento fue organizado por la Sociedad Española de Microbiología, la Universidad de Málaga y el Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”, con la colaboración del Ayuntamiento de Nerja; además del patrocinio de empresas como las Cuevas de Nerja, Grontal, Dicsa y TROPS.

La reunión quedó inaugurada por la presidenta del grupo MIP, Emilia López, los miembros del comité organizador (Dolores



Asistentes de la reunión durante una pausa café en el Centro Cultural Villa de Nerja.



Acto de cierre de la X reunión MIP '23 en el Parador de Nerja.



Acto de inauguración de la X reunión MIP '23 en el Centro Cultural Villa de Nerja. La presidenta del grupo, Emilia López Solanilla (en el centro de la imagen), acompañada por el comité organizador (de izquierda a derecha, Eva Arrebola, Víctor Carrión, Luis Rodríguez y Dolores Fernández); además de por el concejal de Medio Ambiente y Salud del Excelentísimo Ayuntamiento de Nerja, Javier Rodríguez, y la concejala de Cultura, Gema Laguna.



Acto de inauguración de la reunión. De izquierda a derecha: Dolores Fernández, Javier Rodríguez y Gema Laguna.



Sesiones científicas llevadas a cabo en el Centro Cultural Villa de Nerja.



Secretaría técnica de la reunión. De izquierda a derecha, Isabel Padilla, Alba López, Dolores Fernández, Laura Ruiz y Nisrine Bakhat.

Fernández, Luis Rodríguez, Eva Arrebola y Víctor Carrión), y los concejales del Ayuntamiento de Nerja Javier Rodríguez (Concejal de Medio Ambiente y Salud) y Gema Laguna (Concejala de Cultura). Todos ellos dieron la bienvenida a los más de cien expertos en microbiología procedentes de distintas Universidades y Centros de Investigación nacionales e internacionales.

Durante las 9 sesiones científicas pudimos disfrutar de un total de 65 presentaciones orales con temas relacionados con la genómica comparativa y microbioma, biocontrol, tolerancia a estrés abiótico, endófitos y factores de virulencia, entre otras, destacando el alto nivel de todos los trabajos presentados. Además, los asistentes pudieron disfrutar de una visita

guiada a las Cuevas de Nerja donde fueron presentados los trabajos de investigación destinados a su conservación, así como al control del impacto antrópico.

MicroAli rinde homenaje a Louis Pasteur

JUAN A. ORDÓÑEZ¹, GONZALO D. GARCÍA DE FERNANDO MINGUILLÓN²

¹Catedrático de Tecnología de los Alimentos de la UCM (jubilado), Académico de número de la RACVE, Presidente de MicroAli 1992-2000.

²Catedrático de Tecnología de los Alimentos de la UCM, Presidente de MicroAli 2016-continúa).

✉ ordonezpereda@hotmail.com | mingui@ucm.es

La science est l'âme de la prospérité des peuples et la source vive de tout progrès.

Louis Pasteur
En *Journal du Jura* (1876)

I. Introducción

El 22 de diciembre de 2021 se cumplieron dos siglos del nacimiento de Louis Pasteur (1822-1895)¹ y muchas revistas científicas y de divulgación, periódicos, sociedades científicas (entre ellas la SEM²) y otros organismos han conmemorado el bicentenario e incluso se ha creado una web³ y se ha publicado un libro⁴ con tal motivo. Además, mucho se ha escrito de la vida y obra del científico desde su muerte en 1895. Su biografía se ha recogido en enciclopedias, diccionarios, libros, monografías y en otras muchas publicaciones, incluida la divulgación en la Wikipedia, recomendándose la versión en lengua francesa. (https://fr.wikipedia.org/wiki/Louis_Pasteur). Con el presente artículo, no se pretende, pues, insistir sobre la figura humana y la obra de Pasteur. Sin embargo, dada la transcendía que muchas investigaciones de Pasteur han tenido en el desarrollo de la Ciencia y Tecnología de los Alimentos, el grupo de

Microbiología de los Alimentos (MicroAli) no puede ser ajeno al bicentenario; sería algo impropio e imperdonable. Por ello, los autores de este artículo, aprovechando el número extraordinario de SEM@foro dedicado a nuestro grupo, han redactado unas líneas narrando los trabajos del científico que más transcendencia han tenido en materia alimentaria, con el objetivo de rendir un homenaje al insigne científico en su bicentenario.

Aunque el presente artículo se refiera únicamente al ámbito alimentario, los autores desean, ante todo, dejar testimonio de los grandes avances que el gran químico y microbiólogo aportó al conocimiento científico de la época en otras ramas de la Ciencia; entre ellos, el destierro definitivo de la teoría de la generación espontánea (recuérdese los experimentos en los célebres matraces de cuello de cisne), la resolución del mal que sufrían los gusanos de seda, pebrina (agente etiológico *Nosema bombycis*) que le condujo a abordar trabajos sobre otras enfermedades que afectaban a los animales y humanos (cólera aviar, carbunco, tuberculosis, rabia, etc.) que culminaron con la emisión de la teoría germinal de las enfermedades infecciosas (la etiología de toda enfermedad infecciosa es un ente vivo microscópico) y finalmente, no se puede dejar de mencionar su trabajo en el desarrollo de vacunas (p. ej. frente al cólera aviar y la rabia).



Pasteur en 1885. Adaptación del óleo de A. Edelfelt (1854-1905). <https://es.dreamstime.com/louis-pasteur-un-retrato-de-dinero-clausura-image264954267> (consultado el 16/02/2023).

II. Descubrimiento de la quilaridad

El primer trabajo que dio a conocer el nombre de Pasteur estaba relacionado con un producto alimentario, el vino. Estudió los cristales del ácido tartárico, un componente bien conocido desde hacía siglos por los vitivinicultores, porque formaba un

¹ Nació el 27 de diciembre de 1822 en Dole, una ciudad del departamento de Jura (región Bourgogne-Franche-Comté) de 9.647 habitantes en 1821 (https://en.wikipedia.org/wiki/Dole,_Jura) (consultado el 05/02/2023).

² Villalobo Polo, E. 2022. *Pasteur, el padre de la Microbiología moderna*. SEM@foro, **74**, 8-12.

³ <https://n9.cl/f9t2b> (consultado el 22-01-2023)

⁴ Perrot, A. y Schwartz, M. 2022. *Pasteur: L'homme et le savant*. Ed. Editions Tallandier. París.

precipitado en los vinos. No obstante, su caracterización química no comenzó hasta 1818, cuando el farmacéutico sueco Scheele (1742-1786)⁵ aisló la forma libre del ácido a partir de unas lías de vino y Kestner, un fabricante de ácido tartárico, separó, en 1819, un compuesto de los precipitados vínicos que creyó era ácido oxálico⁶, pero más tarde se demostró que no lo era, sino un compuesto que tenía la misma composición que el tartárico, pero no se comportaba de la misma manera. Gay-Lussac (1778-1850)⁷ le denominó en 1828 ácido racémico (del latín *racemus*, de “racimo” de uvas)⁸ y Berzelius (1779-1848) en 1830 llamó a ambos “*isomeriska kropar*” (cuerpos isómeros) al tener la misma composición química⁹. Biot (1774-1862) describió en 1838 la actividad óptica dextrógira del ácido tartárico en solución, observando que, por el contrario, el racémico (llamado también paratartrato en aquella época), también disuelto, era ópticamente inactivo¹⁰.

En la década de 1840 el ilustre Dumas (1800-1884), quien fuera más tarde mentor de Pasteur, enseñaba Química en la prestigiosa *École Normale Supérieure* (ENS); sus clases despertaron un gran interés en el joven Pasteur que, entusiasmado, pasaba las horas en la biblioteca y en el laboratorio de Balard (1802-1876). Conoció allí a Delafosse (1796-1879), alumno y antiguo colaborador del que se le considera padre de la cristalografía Haüy (1745-1822), quien adoctrinó al joven Pasteur de los preceptos de su maestro acerca de la disposición de los átomos y su relación con las formas cristalinas. En aquellos años, el distinguido mineralogista alemán Mitscherlich (1794-1863) envió una nota a la *Académie des*

Sciences (AdS), en la que exponía el enigma así: “*El paratartrato y el tartrato de sodio y amoníaco tienen la misma composición química, la misma forma cristalina con los mismos ángulos, el mismo peso específico, la misma doble refracción y, por lo tanto, el mismo ángulo de los ejes ópticos. Disueltos en agua, su refracción es la misma. Pero el tartrato desvía el plano de la luz polarizada y el paratartrato es (ópticamente) indiferente, como Monsieur Biot ha observado en toda la serie de estos dos tipos de sales; pero la naturaleza y el número de los átomos, su disposición y sus distancias, son los mismos en los dos cuerpos que se comparan*”¹¹.

Esta nota causó mucho asombro en Pasteur porque, basándose en los conocimientos de cristalografía que había adquirido de los trabajos de Haüy y Delafosse, no alcanzaba a comprender cómo dos sustancias idénticas podían tener efectos tan diferentes sobre la luz. Decidió estudiar meticulosamente los cristales y sabía, refiriéndose a la nota de Mitscherlich, que M. Biot había realizado el experimento del científico de Berlín con una muestra de ácido racémico con los mismos resultados. Sin embargo, al repetir Pasteur el trabajo del Mitscherlich advirtió un pequeño detalle que se les había escapado, tanto al químico alemán como a Biot. Después de un examen microscópico de cristales, observó que superficies faciales menores de los cristales de ácido tartárico y sus sales estaban orientadas en el mismo sentido, hacia la derecha, y en solución desviaban la luz polarizada hacia la derecha (dextrógiros). Pasteur pensó que el ácido racémico (paratartrato), al no tener acción sobre la luz, debía proporcionar cristales simétricos. Se apresuró a examinar sus cristales y se llevó una gran sorpresa al encontrar que el racémico ópticamente inactivo, preparado según las indicaciones de Mitscherlich, contenía dos tipos de cristales, unos idénticos a los del ácido activo y otros que presentaban caras asimétricas (disimétricas en los escritos de Pasteur) en sentido opuesto. Pasteur separó manual y escrupulosamente las dos variedades de cristales para estudiar la acción de sus soluciones sobre la luz polarizada, que ya sospechaba que estaba relacionada con la asimetría molecular observada en los cristales. Las predicciones del joven científico se cumplieron con claridad manifiesta. Una

solución desviaba la luz polarizada hacia la derecha y la otra en sentido contrario y ambas con el mismo valor absoluto de su rotación específica. En una disolución conjunta de ambos tipos, en cantidades iguales, se anulaban los dos efectos. Había descubierto la quiralidad de las moléculas orgánicas. Sus estudios sobre la disimetría fueron anunciados en varias sesiones de la AdS, y publicados en 1848¹².

Sin embargo, su descubrimiento no fue fácilmente asimilado por los científicos contemporáneos. Así, Mitscherlich, a quien le fue presentado Pasteur, le dijo: «*Vous avez été guidé par une idée préconçue*”¹³. Biot fue más allá; le pidió a Pasteur que demostrara su hallazgo entregándole cristales de paratartrato de sodio y amoníaco que él mismo había preparado y había observado que eran ópticamente inactivos, rogándole que los separara, como ya lo había hecho anteriormente. Permítasenos que el propio Pasteur narre el desenlace del suceso: “*Biot preparó las soluciones en las proporciones adecuadas y, cuando llegó el momento de observarlas en el aparato de polarización, me invitó a su despacho; primero colocó en el aparato la solución más interesante, la que debía desviarse hacia la izquierda. Sin ni siquiera tomar una lectura, solo por el color de las dos imágenes del campo, vio que había una fuerte desviación hacia la izquierda. Entonces, muy visiblemente emocionado, el ilustre anciano me cogió la mano y me dijo: “Mi querido joven-cito, he amado tanto la ciencia en mi vida que esto me hace latir el corazón*”¹⁴.

Pasteur continuó durante un tiempo investigando la asimetría de un buen número de compuestos, observando que la mayoría de las sustancias orgánicas eran asimétricas, mientras que las del mundo inorgánico tenían una imagen superponible incluso, generalizando, dijo: “*El universo es un todo asimétrico. Me inclino a creer que la vida, tal como se nos manifiesta, debe ser función de la asimetría del universo, o de las consecuencias de la misma*”¹⁵.

⁵ Kauffman, G.B. y Myers, R.D. 1998. Pasteur's Resolution of Racemic Acid: A Sesquicentennial Retrospect and a New Translation. *The Chemical Educator*, **3**, 1-4.

⁶ Viquipèdia (en francés). https://ca.wikipedia.org/wiki/%C3%80cid_rac%C3%A8mic (consultado el 29-01-2023).

⁷ Su nombre está grabado en la Torre Eiffel junto a dos científicos que se citan más adelante: Dumas y Haüy.

⁸ Racemic acid. 1854. Anónimo. *Pharmaceutical Journal*. Pharmaceutical Society of G.B. **XIII**, 110-113.

⁹ Berzelius, J. J. 1830. Om sammansattningen... egenskaper. *Kongl. Svenska Vetensk. Akad. Handl.* **49**, 49-80.

¹⁰ Biot, J.B. 1838. Sur l'emploi de la lumière polarisée pour manifester les différences des combinaisons isomériques. *Annales de Chimie et Physique*, **T 69**, 22-32.

¹¹ Mitscherlich, M. (note de). 1844. *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences* (en adelante CRsAS). **T 19**, pág. 720. (Traducción propia del original).

¹² Pasteur M.L. 1848. Sur les relations qui peuvent exister entre la forme cristalline, la composition chimique et le sens de la polarisation rotatoire. *Annales de Chimie et de Physique*, 3^a série, **T 24**, 442-454.

¹³ Cochin, D. 1884, Les travaux de M. Pasteur. *Revue des Deux Mondes* 3^{er} période, **66**, 841-871.

¹⁴ *Ibidem*. (Traducción propia del original).

¹⁵ Marchal, E., D., 1897. Louis Pasteur 1822-1895. *Annales de la Société Belge de Microscopie*. **T 21**, 159-188. (Traducción propia del original).

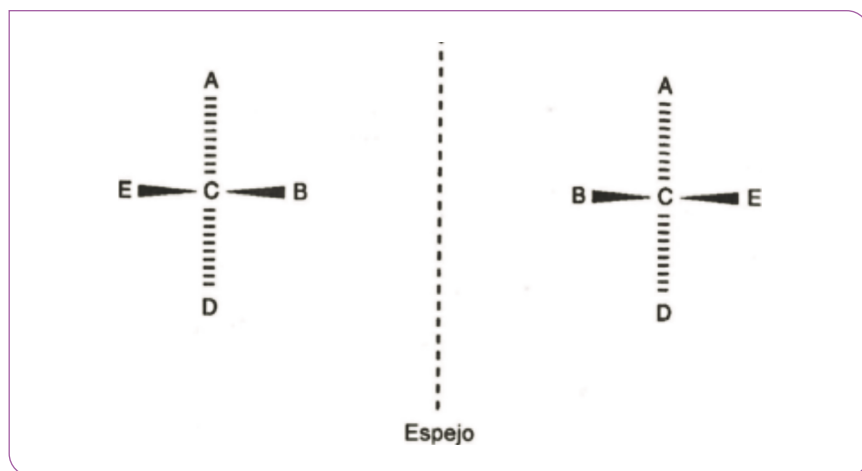


Figura 1. Átomo de carbono quiral. A, B, D y E representan distintos átomos o grupos funcionales ligados al carbono C. Los triángulos alargados indican enlaces químicos que se proyectan hacia fuera del plano y las líneas discontinuas son enlaces que se localizan en el plano de la página o hacia abajo del mismo.

La relevancia de la quiralidad en el ámbito alimentario es de una importancia extraordinaria porque todo compuesto que contenga un átomo de carbono asimétrico (ACA) (Figura 1)¹⁶ presenta actividad óptica pudiendo tener, teóricamente, 2ⁿ estereoisómeros donde *n* es el número de ACAs. Por ejemplo, todos los aminoácidos, excepto la glicina (no tiene ACA), tienen un ACA y la treonina e isoleucina poseen dos. Los aminoácidos de las proteínas tienen conformación L-. Similares consideraciones pueden hacerse para los azúcares. Por ejemplo, la glucosa tiene 4 ACAs y la fructosa 3. En la naturaleza, la forma habitual de la glucosa es dextrorrotatoria mientras que la de la fructosa es levorrotatoria. La isomería tiene una gran trascendencia en los procesos bioquímicos porque muchas de las enzimas tienen una actividad específica muy rígida. Estos comentarios pueden aplicarse también a los microorganismos, incluidos los de interés tecnológico. Por ejemplo, el isómero del ácido láctico producido por las bacterias lácticas (BAL) depende de la naturaleza de la lactato-deshidrogenasa (LDH) presente en el microorganismo. A modo de ejemplo se podría mencionar que se ha propuesto¹⁷ la determinación de ácido

D(-)láctico enzimáticamente, usando D(-)LDH, como indicador de la alteración de la carne y productos cárnicos envasados a vacío, en los que predominan las BAL claramente por encima de los microorganismos aerobios. Este método se basa en que el enantiómero D(-)LDH no existe en la carne fresca [sí hay, en cambio, el isómero (L-) derivado del metabolismo anaeróbico *post-mortem*], y su tasa aumenta con el tiempo de almacenamiento.

III. Fermentaciones¹⁸

➤ III.1. Fermentación láctica

Siguiendo sus estudios sobre los compuestos quirales, Pasteur dejó olvidada una solución diluida de paratartrato amónico con algunas sales; vio que se cubría de mohos, en particular de *Penicillium* (género descrito por JHP Link en 1809). Al mismo tiempo, notó que la solución, al principio inactiva, desviaba cada vez más la luz

polarizada hacia la izquierda. Con sagacidad (recuérdese su célebre frase "*dans les champs de l'observation le hasard ne favorise que les esprits préparés*"¹⁹) concluyó que el hongo consumía la forma dextrógira del ácido, dejando inalterado el levógiro. Así, por primera vez, el principio de asimetría molecular irrumpió en el campo biológico. Pasteur, al pensar cómo un ser microscópico, el moho, podía ejercer una acción tan destacada sobre la disimetría molecular, le hizo vislumbrar nuevos horizontes y derivó su carrera científica al estudio de las fermentaciones, cuyos fenómenos intrínsecos estaban entonces muy oscuros. Se dijo a sí mismo que la acción de un ente infinitamente pequeño no podía ser un caso aislado, único, y debería ajustarse a alguna ley general insospechada. Acorde con su máxima "*Si je ne sais pas quelque chose, je vais enquêter*" se puso a investigar el mecanismo íntimo del fenómeno que de forma espontánea o dirigida venía produciéndose y aprovechándose desde el Paleolítico.

En aquella época dominaba la teoría catalítica de Liebig (1803-1873); parecía la única que podía explicar las acciones ininteligibles que se adjudicaban a los "fermentos"²⁰ (descomposición de cadáveres de animales y vegetales, el agriado de la leche, el burbujeo del zumo de uva en las cubas, la panificación). Para este científico el oxígeno era la primera causa de descomposición de los materiales nitrogenados, cuya modificación molecular se transmitía después a la masa en fermentación rindiendo nuevos productos. Hacia 1836, Schwann (1810-1882), convencido de que la generación espontánea era falsa, llevó a cabo un experimento hirviendo caldo, y después de algún tiempo fue incapaz de detectar microorganismos ni tampoco cambios químicos (alteración) del caldo. También observó que las levaduras que se depositaban en el fondo de las cubas de vino se multiplicaban por gemación y bien podrían intervenir en la descomposición de los azú-

¹⁶ Damodaran, S. y Parkin, K.L. 2019. Fennema Química de los Alimentos 4ª ed. Pág. 95. Ed. Acirbia. Zaragoza.

¹⁷ De Pablo, B., Asensio, M.A., Sanz, B., Ordóñez, J.A. 1989. The D(-)lactic acid and acetoin/diacetyl as potential indicators of the microbial quality of vacuum-packed pork and meat products. *Journal of Applied Bacteriology*, **66**, 185-190.

¹⁸ Los autores desean expresar su reconocimiento a los científicos del siglo XIX que se mencionan en este artículo, incluidos los químicos que criticaron los trabajos de Pasteur (Mitscherlich, Berzelius, Liebig, Wholer entre otros). Las referencias a éstos se han realizado solamente para manifestar la discrepancia, a veces en términos agrios, de los defensores de la corriente catalítica (oxidación) frente a la fermentativa (agentes biológicos). Desgraciadamente, no hubo sinergia entre químicos y biólogos. Si hubiera existido, se habría adelantado el nacimiento oficial de la Bioquímica.

¹⁹ Frase pronunciada en 1854 en el discurso de la inauguración de las Facultades de Letras de Douai y Ciencias de Lille.

²⁰ La palabra "fermentación" deriva del verbo latino *fervere* (hervir, espumar) y del sufijo -*mentum* (medio) más el sufijo -*ción* (acción y efecto). Aparece en francés en 1539 (<https://diccionmed.usal.es/palabra/fermentacion>) (consultado el 09/02/2023). Se cree que se utilizó por primera vez por los alquimistas del siglo XIV aunque no en sentido científico sino de forma general (<https://en.wikipedia.org/wiki/Fermentation>) (consultado el 09/02/2023).

cares, pero estas observaciones, limitadas a un caso particular, no lograron socavar las ideas reinantes²¹. Fue el estudio de la fermentación láctica lo que le permitió a Pasteur objetar la teoría catalítica de Liebig. Pasteur había observado en el coágulo de leche el depósito de un material grisáceo y, bajo el microscopio, vio que contenía, además de restos lácteos, innumerables células dispuestas en cadenas²², mucho más pequeñas que las levaduras de la cerveza. Cabe suponer que recordó su propia frase “*Si je ne sais pas quelque chose, je vais enquêter*” y decidió estudiar el fenómeno. Para ello, formuló un medio químicamente definido consistente en un extracto soluble de levadura de cerveza que sometió a ebullición, luego le añadió azúcar y tiza²³ y lo sembró con una pizca del material grisáceo y al día siguiente observó lo sucedido. Así comunicó su hallazgo a la AdS: “*Al día siguiente, la fermentación era vigorosa y regular. El líquido netamente claro en origen se tornó turbio, la tiza fue desapareciendo poco a poco y, al mismo tiempo, se originó un depósito que fue creciendo continua y progresivamente a medida que desaparecía la tiza. Además, se observaron todas las características típicas y todos los sucesos bien conocidos de la fermentación láctica*”²⁴. No había duda alguna. Pasteur había encontrado el agente de acidificación: el fermento láctico.

Sin embargo, los defensores de la teoría catalítica seguían obcecados en que la fermentación se debía, no al depósito del fermento vivo, sino a las células muertas en vías de descomposición o a la materia nitrogenada surgida durante la ebullición. Para disipar dudas, Pasteur llevó a cabo un experimento concluyente: añadió pequeñas cantidades de fosfatos alcalino-terreos y una sal amoniacal a una solución de azúcar desprovista de materia orgánica nitrogenada y sembró este licor con una alícuota de fermento láctico vivo. La fermentación se produjo de forma normal. Aún más, remató su teoría de forma no menos concluyente al lograr una fermentación alcohólica típica inoculando una

porción ínfima de levadura en una solución azucarada añadida de sales nutritivas²⁵. La hipótesis de que la fermentación era un fenómeno catalítico quedó definitivamente abandonada.

Nació así una línea de investigación sobre las BAL. Microbiólogos, bioquímicos, higienistas y tecnólogos de los alimentos desarrollaron proyectos destinados al estudio de estas bacterias. Sería un olvido no mencionar al microbiólogo sueco S. Orla-Jensen (1870-1949), el primer científico que las estudió a fondo y puso orden en la clasificación; sus investigaciones culminaron con la publicación de libro “*The Lactic Acid Bacteria*”²⁶. Poco a poco fue descubriéndose la naturaleza de estos microorganismos y sus importantes funciones, bien deletéreas (descomposición de las plantas, “agriado” de la leche, alteración de vinos, alteración de alimentos proteicos envasados a vacío) y bien tecnológicas [fermentaciones tanto de productos de origen vegetal (p.ej., col ácida, aceitunas, ensilado) como de origen animal (leches fermentadas, quesos, embutidos, etc.)]. Desde Pasteur, se ha publicado una infinidad de artículos sobre las BAL donde se han ido anunciando los avances de su estatus taxonómico, hábitat, genética, fisiología, metabolismo, aplicaciones, etc. Se recomienda el libro de Vinderola y col. (2019)²⁷, un compendio de 42 capítulos del estado actual de las propiedades y funciones de las BAL.

➤ III.2. Fermentación butírica

Durante los estudios de la fermentación láctica, Pasteur había notado que cuando en la leche, después de la acidificación y precipitación de la caseína, se producía una fermentación butírica, aparecía un “vibrión” muy “ágil” redondeado en los extremos. Decidió estudiar el suceso y el resultado lo comunicó en 1861 a la AdS mediante un informe²⁸ en el que, tras manifestar que se

sabe bien que la fermentación láctica conduce a la generación de ácido láctico, una sustancia gomosa, manita [probablemente se refería a la manosa, (epímero de la glucosa en el C-2)], ácido butírico, alcohol, ácido carbónico e hidrógeno y que, textualmente, “*el fermento que transforma el azúcar en ácido láctico es diferente al que determina la formación del material gomoso...*”, hipotetiza “*...que los diversos fermentos vegetales no pueden en ningún caso, aún siendo puros, generar ácido butírico. Por tanto, debe existir un fermento butírico propio...*” Después, notifica que ha realizado múltiples experimentos llegando a la conclusión de que, ciertamente, la transformación del ácido láctico en butírico se debe a un verdadero fermento butírico que lo identifica como un “infusorio”. Más tarde describe este agente: “*Son bastoncitos cilíndricos redondeados en sus extremos, generalmente rectos, aislados o asociados en cadenas de dos, tres, cuatro o a veces más unidades...*”, ofreciendo más datos del “animácullo”, sus medidas, cómo se multiplican, cómo avanza con movimientos ondulatorios, etc. y luego indica que “*... estos infusorios viven y pululan en miríadas en medios absolutamente exentos de oxígeno y no solamente viven sin aire, sino que el aire les mata*” Concluye el informe con las siguientes propuestas:

“1° El fermento butírico es un infusorio”

“2° Este infusorio vive sin gas oxígeno libre”

“Este es, creo, el primer ejemplo conocido de fermentos animales, y también de animales que viven sin gas oxígeno libre”

Dos años más tarde, en 1863, Pasteur, en una sesión de la AdS propuso “*... ces mots nouveaux aérobies et anaérobies...*” para indicar la existencia de dos clases de entes inferiores, unos incapaces de vivir sin la presencia de oxígeno y los otros que pueden multiplicarse sin este gas. Al tiempo, a los anaerobios “les llamó “*zymiques* (ζύμη, levain, ferment), *c'est-à-dire des ferments*”²⁹. Con ello, había intuido la existencia de las enzimas que, más tarde, en 1878, el fisiólogo alemán Kühne usaría este término para acuñar la palabra “enzima”. Los términos *aérobies* y *anaérobies* se incluyeron en 1875 en el *Dictionnaire de la langue française* de Émile Littré (1801-1881).

Hoy se sabe que el “vibrión” descubierto por Pasteur corresponde a la especie *Clostridium*

²¹ Marchal, E., D., 1897. Louis Pasteur 1822-1895. *Annales de la Société Belge de Microscopie*. T 21, 159-188.

²² Más tarde se identificarían como bacterias pertenecientes al género *Lactobacillus*.

²³ La tiza era fuente de calcio y, al tiempo, se comportaba como agente amortiguador del pH.

²⁴ Pasteur, L. 1857 *Memoire sur la fermentation appelée lactique*. (1857) *CRsAS* T 45, pág. 914. (Traducción propia del original).

²⁵ Marchal, E., D., 1897. Louis Pasteur 1822-1895. *Annales de la Société Belge de Microscopie*. T 21, 159-188.

²⁶ Orla-Jensen, S. 1919. *The Lactic Acid Bacteria*. Ed. Andr. Fred. Høst and Son, Copenhagen.

²⁷ Vinderola, G., Ouwehand, A., Salminen, S. y von Wright, A. 2019. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 5th ed. CRC Press. Boca Raton.

²⁸ Pasteur, L. 1861. *Animalcules infusoires vivants sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations*. *CRsAS*, T 52, 344-347. (El texto en cursiva, traducción propia del original).

²⁹ Pasteur, L. 1863. *Recherches sur la putréfaction*. *CRsAS*, T 56, 344-1189-1194.

tridium butyricum, una bacteria gram-positiva formadora de esporas que habita en los suelos donde juega un papel esencial en la descomposición del material vegetal y es muy común en leches ácidas y quesos, fuentes que utilizó Pasteur para su aislamiento y estudio. En Asia, particularmente en Japón, Corea y China se utiliza como probiótico³⁰.

► III.3. Fermentación alcohólica

Los humanos vienen utilizando la fermentación alcohólica desde tiempos inmemoriales para producir vino y cerveza. Un registro en Armenia de hace 5.500 años contiene restos de la primera bodega de la historia³¹ y en el “Himno a Ninkasi” (~1500 a.e.c.) se describe cómo fabricar cerveza. Obviamente, la producción era artesanal y hubo que esperar al desarrollo del microscopio (Van Leeuwenhoek, 1674) y, sobre todo, a los estudios preliminares de Cagniard de Latour (1777-1859), Schwann y Kützing (1807-1892) y definitivos de Pasteur para comprender las fermentaciones. Antes de que Pasteur iniciara sus investigaciones sobre las fermentaciones, los tres científicos anteriores indicaron en 1837, separada, pero simultáneamente, que las levaduras eran organismos vivos, de forma esférica, que se multiplicaban por gemación y podían observarse con el microscopio, sugiriendo que podían ejercer un importante papel en la fermentación alcohólica. Schwann incluso las llamó “hongo del azúcar” y Kützing apostilló que la levadura no era un compuesto, sino un ente organizado³². Estos resultados, confirmados por el botánico francés Turpin (1775-1840), deberían haber preparado el escenario para que los químicos se unieran a la exploración de la actividad celular y unieran sus recursos con las aportacio-



Figura 2. Estudios de Pasteur sobre el vino y la cerveza.

nes de los biólogos. Desafortunadamente, se desaprovechó esta oportunidad e incluso fue obstaculizada por algunos de los químicos más destacados de la época³³. Entre ellos, Berzelius, acuñador del término “catálisis”. Este gigante de la Química no aplicó el nuevo concepto de la fermentación para explicar la actividad de la levadura, y en 1839 censuró tan dura como injustamente los resultados de los biólogos celulares sin ofrecer ninguna explicación alternativa plausible al fenómeno fermentador (ref.32). Del mismo modo, Liebig (un líder de la Química Orgánica) y Wöhler (1800-1882) (acreditado por haber sintetizado la urea), se opusieron frontalmente a los cuatro biólogos mencionados, expresándolo Schlenk de esta forma “*had no experimental evidence to disprove the cellular basis of fermentation; instead, they resorted to polemic mockery of the worst kind*” (ref. 33). Se recomienda al lector la lectura del artículo de Schlenk (ref. 33) donde percibirá la obstinación y la agria crítica de los químicos opositores a los biólogos.

Pasteur entró en la disputa a partir de 1854 y, tras demostrar el origen bacteriano de la fermentación láctica, puso de manifiesto que la levadura tenía la capacidad de originar un proceso fermentativo en un medio sintético, demostrando también que la masa de levadura procedía mayoritariamente de la depleción de azúcar. Estos hallazgos invalidaban la teoría de sus

competidores, quienes mantenían que los productos de la fermentación surgían por la acción del oxígeno sobre las partículas nitrogenadas del líquido fermentable. Pasteur comunicó en 1857 a la AdS el resultado de sus investigaciones, ofreciendo detalles pormenorizados de sus experimentos que rebatían la teoría de sus adversarios químicos, citando expresamente a Liebig, y concluyendo al final de la memoria lo siguiente: “*El desdoblamiento del azúcar en alcohol y ácido carbónico es una acción correlativa de un fenómeno vital y de una organización de glóbulos (levaduras) en la que el azúcar participa directamente, proporcionando una parte de los elementos de la materia de dichos glóbulos*”³⁴. Tras esta comunicación a la AdS, fue sucesivamente aportando nuevos datos sobre esta fermentación, como la presencia también de ácido succínico³⁵ y glicerol³⁶ en el medio fermentado. Igualmente comunicó que, al contrario de la opinión de Liebig, no se formaba amoníaco durante la fermentación, sino que aparecía accidentalmente procedente de los licores del medio y las pequeñas porciones originadas desaparecían durante el proceso³⁷. Los estudios sobre la fermentación alcohólica y su correlación con el vino y cerveza los plasmó Pasteur en dos libros publicados en 1866 y 1867, respectivamente (figura 2).

³⁰ Seki, H., Shiohara, M., Matsumura, T. Miyagawa, N. Tanaka, M. Komiya, A. Kurata, S. 2003. Prevention of antibiotic associated diarrhea in children by *Clostridium butyricum* MIYAIRI. *Pediatrics International*. doi:10.1046/j.1442-200x.2003.01671.x.

³¹ Owen, J. (2011). Earliest known winery found in Armenian cave. National Geographic. <https://www.nationalgeographic.com/culture/article/110111-oldest-wine-pressmaking-winery-armenia-science-ucla> (consultado 12/03/2023).

³² Manchester, K.L. 1995. Louis Pasteur (1822-1895) — Chance and the prepared mind. *Trends in Biotechnology*, **13**, 511-515.

³³ Schlenk, F. 1985. Early research on fermentation — a story of missed opportunities. *Trends in Biochemical Sciences*, **10**, 252-254.

³⁴ Pasteur, L. 1857. Mémoire sur la fermentation alcoolique. *CRAS*, **T 45**, 1032-1035. (El texto en cursiva, traducción propia del original).

³⁵ *Ibidem* 1958. **T 45**, 179-181.

³⁶ *Ibidem* 1958. **T 46**, 857.

³⁷ *Ibidem* 1958. **T 47**, 1011-1013.

No se va a discutir la transcendencia de los estudios de Pasteur sobre la fermentación alcohólica, son obvios: la fabricación de cerveza y vino y otras bebidas alcohólicas que se venía practicando desde el Neolítico pasó de la artesanía y el empirismo a una fabricación apoyada por la ciencia, con el consiguiente impacto, sin precedentes, en las industrias correspondientes.

➤ III.4. Fermentación (oxidación) acética

Parece obvio que el origen del vinagre esté directamente relacionado con las bebidas alcohólicas, particularmente con el vino, ya que el alcohol se oxida espontáneamente en presencia de aire merced a las bacterias acéticas que fortuitamente alcanzan el producto. De hecho, los primeros datos que se tienen del vinagre proceden de los babilonios y de los egipcios, habiéndose utilizado como conservante (acidificación), en medicina (p. ej., limpiar/desinfectar heridas) y en cocina (ingrediente culinario). Los primeros registros escritos que han llegado a nuestros días proceden de los romanos; Apicio (25 a.e.c.-37 d.e.c.) ofrece una serie de recetas con vinagre en su tratado *De re coquinaria* y Columella (4 a.e.c.-70 d.e.c.) describe en su obra *Res Rustica* los ingredientes y el proceso para la preparación de varios tipos de vinagre. Durante siglos, sin apenas mejoras, se fue fabricando vinagre al albur de la naturaleza hasta finales del siglo XVI, cuando se introdujeron diferentes técnicas, todas empíricas, siendo el procedimiento de Orléans el que alcanzó más fama, debido a la normalización de los procesos de fermentación y envejecimiento.

Los primeros avances científicos se produjeron en la segunda mitad del siglo XVII cuando el holandés Boerhaave (1669-1738) descubrió la necesidad de la presencia de aire para la fabricación de vinagre e ideó la adición de virutas de madera (*madre del vinagre* o *flor del vinagre*) para ensanchar la superficie de oxidación³⁸, el micólogo sudafricano (afincado en Francia) Persoon (1761-1836) acuñó el nombre de *Mycoderma* (*myco*: hongo; *derma*: piel) para añadir a la lista fúngica de Linneo asumiendo que la película que se formaba en la superficie

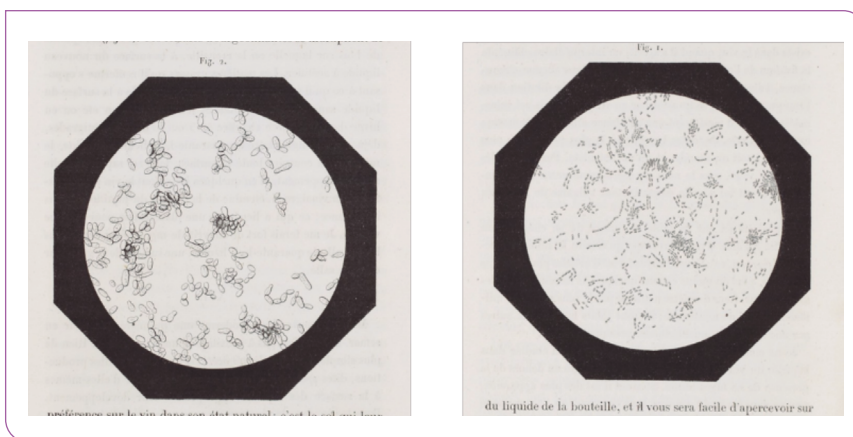


Figura 3. *Mycoderma* de la “flor del vino” (izquierda) y de la “flor del vinagre” (derecha). Ref 42. Obsérvese la diferencia del tamaño: levadura y bacteria, respectivamente.

del vinagre era un moho³⁹ y Döbereiner (1780-1849), quien, según Pasteur, escribió la ecuación $C_2H_5OH + O_2 = CH_3COOH + H_2O$ ⁴⁰.

Pasteur, partiendo de estos conocimientos, se dispuso a estudiar la “flor del vinagre” y en 1861 anunció a la AdS que se producía merced a la acción de un diminuto “vegetal” que pertenecía al grupo *Mycoderma*, Explicó así su investigación en la AdS⁴¹ al referirse a los métodos químicos existentes para fabricar vinagre “no hay nada más oscuro, nada más misterioso, que este antiguo proceso de elaboración del vinagre, que se deja enteramente en manos del empirismo y la rutina” y a continuación hipotetiza que había dos tipos de micodermos, el de la “flor del vino” (*Mycoderma vini* o *cerevisiae*) y el de la “flor del vinagre” (figura 3)⁴² al que le puso el “apellido” de *aceti*. Después, tras mencionar varios experimentos con resultados inconsistentes decía: “Al cultivar esta nueva especie, pura y sin mezclar, en la superficie de diver-

sos líquidos alcohólicos, identifiqué, esta vez, la presencia de la flor del vinagre...el alcohol se acetificaba siempre, con la formación de pequeñas cantidades de aldehído”. Luego, para demostrar que eran especies distintas decía: “...repetamos las pruebas precedentes relativas a nuestros dos micodermos en dos vasos cerrados donde podamos depositar, además de líquido (líquido alcohólico) y la semilla de las plantas... un volumen determinado de aire...el micoderma del vinagre capta el oxígeno del aire y lo fija en el alcohol para rendir ácido acético mientras que el micoderma del vino toma igualmente el oxígeno del aire y lo fija igualmente en el alcohol pero para rendir vapor de agua y ácido carbónico”⁴³ Anuncia también que la flor del vinagre no actúa si se sumerge, y necesita ubicarse en la superficie del líquido.

Liebig seguía en sus treces y no aceptó, como ocurrió con las otras fermentaciones, los resultados de Pasteur, y en 1870 publicó una memoria sobre las fermentaciones en los *Annales de Chimie et de Physique* abundando en su teoría, criticando al tiempo los estudios de Pasteur. A raíz de dicho artículo, Pasteur se dirigió a la AdS y después de relatar sus descubrimientos intentó acabar con la polémica invitando a Liebig a realizar un experimento bajo la supervisión de los miembros de la AdS que él eligiera⁴⁴. Liebig no se dignó responder y en un viaje de Pasteur a Munich, Liebig

³⁹ *Ibidem*.

⁴⁰ Pasteur L. 1868. Études sur le vinaigre, sa fabrication, ses maladies, moyens de les prévenir; nouvelles observations sur la conservation des vins par la chaleur, pág. 45. Gauthier-Villars & Victor Masson et fils, Paris.

⁴¹ Pasteur, 1862. Études sur les mycodermes. Rôle de ces plantes dans la fermentation acétique. *CRsAS*, 54, 265-270. (El texto en cursiva, traducción propia del original).

⁴² Pasteur L. 1868. Études sur le vinaigre, sa fabrication, ses maladies, moyens de les prévenir; nouvelles observations sur la conservation des vins par la chaleur, págs. 12 y 17. Gauthier-Villars & Victor Masson et fils, Paris.

⁴³ Pasteur, 1862. Études sur les mycodermes. Rôle de ces plantes dans la fermentation acétique. *CRsAS*, 54, 265-270. (El texto en cursiva, traducción propia del original).

⁴⁴ Pasteur, L. 1857. *CRsAS* Note sur une Mémoire de M. Liebig, relatif aux fermentations *CRsAS*, T 73, 1419-1428.

³⁸ Bourgeois, J.F. y Barja, F. 2009. The history of vinegar and its acetification systems. *Archives des Sciences*, 62, 147-160.

le recibió de pie, no le ofreció asiento a su visitante y se negó a cualquier discusión alegando que no se encontraba bien.⁴⁵ En cualquier caso, Pasteur lo dejó muy claro en el apartado II de la 2ª parte de su libro publicado en 1868 *“Études sur le vinaigre”* que tituló *“Pas de mycoderme, pas d’acétification”*.

IV. Unas notas sobre la Pasteurización

Aunque el calor se ha utilizado desde los tiempos más remotos para cocinar y ampliar la vida útil de los alimentos, fue el clérigo italiano Spallanzani (1729-1799) quien intencionadamente estudió en 1768 la acción letal del calor al someter a ebullición un caldo de carne durante 60 minutos y sellar después el envase, observando que no se alteraba⁴⁶. Unos años después, hacia 1796, el confitero francés Appert (1749-1841) comenzó a ensayar la forma de conservar los alimentos y tuvo éxito al calentar en agua hirviendo durante varias horas productos (sopas, hortalizas, mermeladas, lácteos, carnes, etc.) incluidos en botellas de vidrio de boca ancha cerrados herméticamente y publicó un libro describiendo el proceso⁴⁷.

Pasteur debió conocer estos avances y los aplicó al vino, aunque a temperaturas menos agresivas. La tercera parte de su libro *Étude sur le vin*⁴⁸, titulada *“Nouveau procédé de conservation des vins”*, explica su trabajo. Comienza diciendo que *“las enfermedades del vino son correlativas de la multiplicación de vegetaciones parásitas...y que en su ausencia... el vino envejece sin alteración, si se somete lenta y progresivamente a la acción del oxígeno del aire”*. Tras hacer luego un breve recorrido histórico de la alteración y mencionar los métodos empíricos ideados para controlar la

alteración y afirmar su falta de eficacia, manifiesta *“Todo el problema se reduce a evitar el desarrollo de los parásitos”*. Indica que ha ensayado varias sustancias sin mucho éxito y finalmente dice *“Para destruir la vitalidad de los gérmenes del vino basta con someterlo durante unos instantes a la temperatura de 50 o 60 (grados) y he observado, además, que el vino no se altera nunca aplicando esta operación previa”*. La AdS organizó una comisión para comprobar la eficacia del tratamiento térmico que aplicaron a dos docenas de vinos a temperaturas comprendidas entre 50 y 75 grados. La Comisión concluyó: *“... esta operación previene sobre todo las enfermedades que causan la alteración de los vinos e incluso pueden atajarla”*. No obstante, apunta alguna crítica sobre las notas de la degustación. Finalmente, la AdS remató: *“(el método) parece práctico para su aplicación a vinos embotellados, ya que no es muy costoso, y lo sería aún más si se aplicara a cantidades mayores”*. Realmente, el método no fue muy utilizado en la práctica, probablemente porque se aplicaría a vinos en estado avanzado de alteración o, quizás, debido a la “nebulosa” y “secretismo” que siempre ha existido en el entorno vitivinícola. Sin embargo, había nacido lo que más tarde, en honor a Pasteur, se denominó “pasteurización”.

Este apartado quedaría incompleto si no se hiciera alguna referencia al autoclave, ya que su invención corrió a cargo de Chamberland (1851-1908), discípulo y colaborador de Pasteur. Chamberland ingresó en la ENS, como asistente de Pasteur pero con el tiempo se convirtió en uno de sus más cercanos colaboradores. En 1879 defendió su tesis doctoral titulada *“Recherches sur l’origine et le développement des organismes microscopiques”*; esta investigación fue el punto de partida de sus trabajos sobre la esterilización, que le llevaron a diseñar una estufa a presión para esterilizar medios de cultivo, el autoclave. Repárese la importancia del autoclave en laboratorios, clínicas, hospitales etc. y en el sector alimentario en la industria conservera.

IV. Corolario

Pasteur, el científico que de químico transmutó en microbiólogo. Difícilmente pueden unos pocos párrafos relatar los múltiples avances que Pasteur aportó a la Ciencia. Puede decirse que fue un científico que estudió fenómenos que se creía se conocían perfectamente en su época, pero

sus perspicaces investigaciones demostraron que eran erróneos. Así, además de descubrir la quiralidad de sustancias químicas, demostró que la fermentación es un fenómeno químico esencialmente subordinado a unos entes microscópicos vitales, en sus palabras *“infusoires”* y varias especies de *“mycodermas”*. *“Voilà comment le savant que s’est occupé de cristallographie, de physique et de chimie entre dans le domaine de la physiologie. Voilà comment il aborde aujourd’hui la question si controversée de générations spontanées avec le concours de sciences mathématiques, physiques et chimiques, et comment des expériences précises jettent déjà une si vive lumière sur différents points de l’histoire des corps vivants.”* Es así como se expresaba el portavoz Chvereul (1786-1889) en su informe sobre Pasteur, cuando ante los comisarios de la AdS le otorgaron en 1861 el premio Jecker⁴⁹.

Sirvan estas páginas para honrar la memoria de un Científico, con mayúscula, quien, movido por su curiosidad, una virtud que cualquier investigador debería cultivar con mimo, ponía en duda certezas consuetudinarias, diseñaba experimentos para demostrar sus hipótesis y, finalmente, obtuvo resultados que sentaron las bases de la microbiología moderna. Gracias, Pasteur.

⁴⁵ Zarka, Y. Une fermentation en cache une autre <https://www.meer.com/fr/66089-une-fermentation-en-cache-une-autre> (consultado 14/03/2023).

⁴⁶ Pasteurization. <https://en.wikipedia.org/wiki/Pasteurization#History> (consultado 20/03/2023).

⁴⁷ Appert, N. 1810. L’art de conserver, pendant plusieurs années, toutes les substances animales et végétales. Chez Patris et Cie. Paris.

⁴⁸ Pasteur, L. 1866, Étude sur le vin. Ses maladies, causes que les provoquent. Procédés nouveaux pour le conserver et pour le vieillir, 3ª parte. Victor Masson et Fils. Paris. (El texto en cursiva, traducción propia del original).

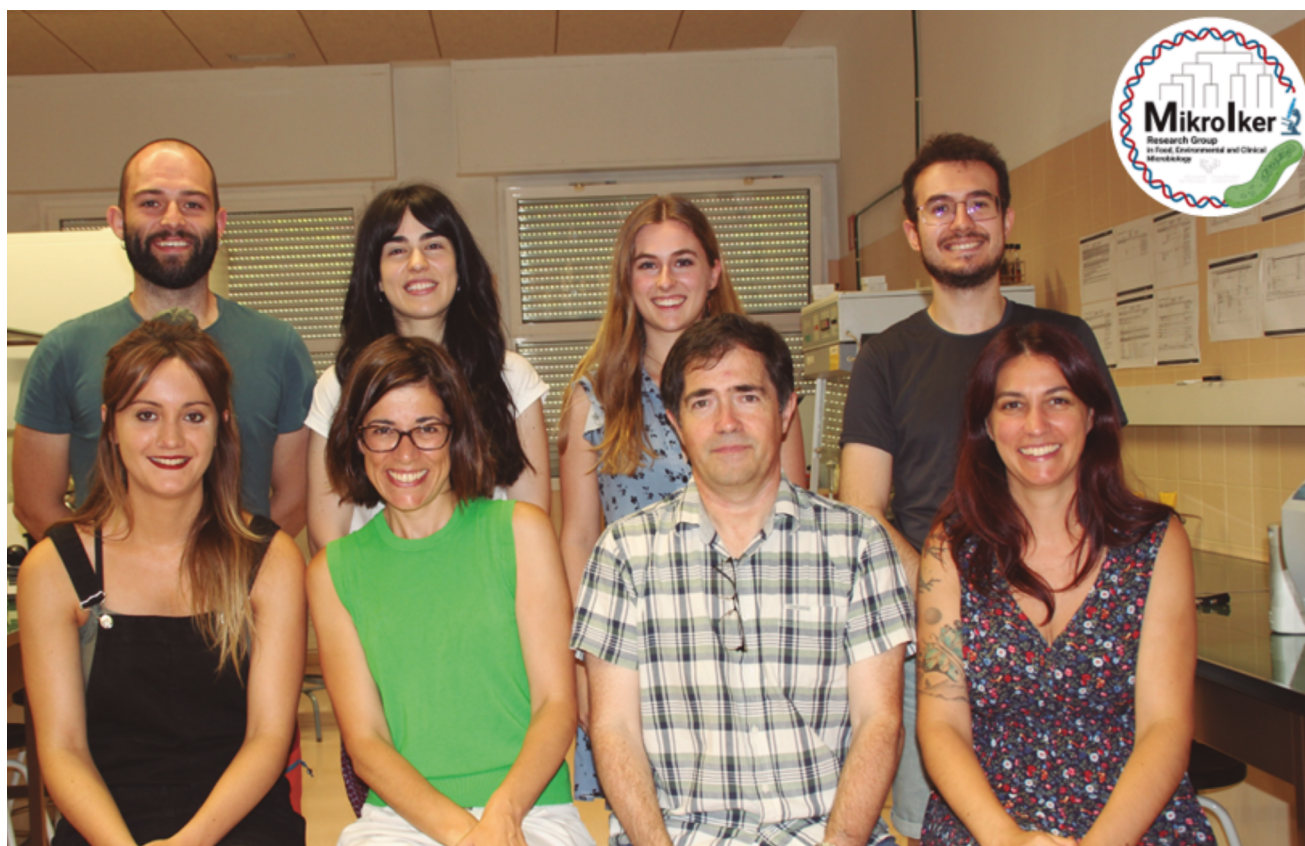
⁴⁹ Rapport sur le Prix Jecker, année 1861. La Section de Chimie, à l’unanimité, décerne le prix Jecker, pour l’année 1861, à M. Pasteur. CRAS, T 73, 1419-1428.

Grupo de investigación Mikrolker: Microbial genomics and characterization

ADRIÁN SALAZAR SÁNCHEZ, ILARGI MARTÍNEZ, LORENA LAORDEN, IRATI MARTINEZ

Grupo de Investigación Mikrolker – Dpto de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU). Paseo de la Universidad 7, 01006, Vitoria-Gasteiz (País Vasco).

✉ adrian.salazar@ehu.eus | ilargi.martinez@ehu.eus | lorena.laorden@ehu.eus | irati.martinez@ehu.eus



Integrantes actuales del grupo Mikrolker. Arriba de izquierda a derecha: Aitor Atxaerandio, Maia Azpiazu, Ainhoa Arrieta y Adrián Salazar. Abajo de izquierda a derecha: Itsaso Baztarrika, Irati Martínez, Joseba Bikandi e Ilargi Martínez. Ausentes: Ohiana Rodríguez, Lorena Laorden y Rodrigo Alonso.

El grupo Mikrolker es un joven grupo de investigación de la Facultad de Farmacia de la UPV/EHU, creado en 2019 tras la fusión de los antiguos grupos de investigación “Epidemiología molecular de *Campylobacter* y *Arcobacter*”, dirigido por la Dra. Aurora Fernández, y “MicroBioMol” dirigido por el Dr. Javier Garaizar. Actualmente, el grupo se fundamenta en tres líneas de investigación principales: (i) epidemiología molecular de microorganismos, (ii) caracterización y control de microorganismos y (iii) diversidad microbiana. El nexo común que

comparten estas líneas y base de nuestro grupo de investigación, radica en el conjunto de técnicas y tecnologías que integran. Estas tecnologías se basan principalmente en la genómica microbiana, biología molecular, bioquímica y bioinformática; complementada siempre con técnicas de microbiología clásica. A la cabeza del grupo se encuentran las jóvenes Investigadoras Principales Irati Martínez Malax-etxebarria e Ilargi Martínez Ballesteros, que junto con Lorena Laorden Muñoz tomaron las riendas del mismo desde su generación.

Además de ellas, trabajando en las líneas de investigación que desarrollamos en ciencias sanitarias y del medioambiente, en la actualidad el grupo de investigación está compuesto por un equipo multidisciplinar de profesionales de ciencias experimentales y de la salud (biólogas, médicos, farmacéuticas, biotecnólogas y químicas).

En el desarrollo y ejecución de los diferentes proyectos de investigación, el grupo Mikrolker busca contribuir al enfoque *One Health* (una sola salud) para lograr

una salud óptima para las personas, los animales, las plantas y nuestro medio ambiente. En este sentido, como grupo de investigación dedicado a la microbiología, nuestro principal objetivo es el estudio y comprensión de las diferentes poblaciones y comunidades microbianas. Los microorganismos, muy diversos en forma y funciones, son parte fundamental e integral de los hábitats y nichos del planeta que sustentan la vida. Los avances en las técnicas de estudio de microorganismos, entre las que destacan las nuevas tecnologías de secuenciación masiva de ADN, permiten hoy profundizar en el conocimiento de los microorganismos, su distribución y relación con el entorno, conocer sus características genómicas, su potencial virulento e incluso su potencial biotecnológico y aplicaciones sanitarias.

Abogando por la visión de salud única, junto con nuestra especialización en tecnologías moleculares y de secuenciación, realizamos vigilancia epidemiológica y caracterización de patógenos de transmisión alimentaria como *Salmonella* 4,[5],12:i:-, *Arcobacter* spp. y *Staphylococcus aureus*, así como de otros patógenos de especial relevancia clínica como *Pseudomonas aeruginosa*, buscando aumentar el conocimiento sobre ellos y contribuir al desarrollo de herramientas y/o métodos para su control. A grandes rasgos realizamos tipificaciones feno- y genotípicas de los mismos para conocer la distribución de las poblaciones en nuestro entorno para proceder, de esta manera, a la realización de estudios evolutivos y epidemiológicos. Además, buscamos caracterizar la función de genes potencialmente implicados en su patogenicidad (p. ej. genes relacionados con adherencia, movilidad, comunicación bacteriana, adquisición de hierro y producción de toxinas); predecir fenotipos de interés basados en datos genómicos obtenidos por secuenciación de sus genomas (p. ej. resistencia antimicrobiana y a metales pesados, adquisición de elementos genéticos móviles y generación de nuevos elementos plasmídicos); e incluso obtener datos aplicables a la mejora de la antibioterapia que pueda ser requerida en el tratamiento de infecciones humanas. Pero no solo estudiamos microorganismos patógenos; sino que también en nuestras líneas de investigación caracterizamos microorganismos ambientales, especialmente halófilos, que resultan de gran interés por sus importantes adaptaciones fisiológicas e interacciones con otros organismos de su hábitat, así como por su capacidad de pro-

ducir compuestos o metabolitos de interés en la industria alimentaria y biotecnológica (p. ej. biosurfactantes, antimicrobianos, pigmentos, emulsificantes y exoenzimas).

Nuestros estudios sobre estos microorganismos de interés sanitario, alimentario y medioambiental aportan nuevos datos que contribuyen a lograr una salud óptima de las personas, los animales y el medio ambiente, tal y como se ha mencionado anteriormente. Fruto de ello son los proyectos, adicionales a nuestra labor cotidiana, que desempeñamos a petición de organismos públicos como ELIKA (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria) o el Instituto de Agrobiotecnología (IDAB-CSIC), con los que colaboramos para dar respuesta a las necesidades de los agentes que componen el entramado agroalimentario vasco y a los problemas habituales con los que se encuentran en su día a día. Así mismo, las investigaciones llevadas a cabo han dado lugar a numerosas publicaciones y participaciones en congresos (SEM, SEIMC, FEMS, IMMCM, etc.), dando a conocer el trabajo que realizamos y favoreciendo nuevos vínculos con redes y grupos multidisciplinares acordes a nuestras líneas de investigación. Entre las publicaciones realizadas, podemos destacar la descripción de la nueva especie bacteriana *Altererythrobacter muriae* (Azpiazu-Muniozguren et al., 2019), el nuevo género *Anianabacter* (Azpiazu-Muniozguren et al., 2022), la preparación de un flujo de trabajo (*workflow*) bioinformático pensado para ser utilizado en los análisis rutinarios partiendo de los datos de la secuenciación de genomas bacterianos (Atxaerandio-Landa et al., 2022), los avances en el estudio del género *Arcobacter* (Martínez-Malaxetxebarria et al., 2022; Salazar-Sánchez et al., 2022) y el estudio genotípico de variantes monofásicas 4,[5],12:i:- del serovar Typhimurium de *Salmonella* (Arrieta-Gisasola et al., 2020).

Bibliografía

Arrieta-Gisasola, A., Atxaerandio-Landa, A., Garrido, V., Grilló, M. J., Martínez-Ballesteros, I., Laorden, L., Garaizar, J., & Bikandi, J. (2020). Genotyping Study of *Salmonella* 4,[5],12:i:- Monophasic Variant of Serovar Typhimurium and Characterization of the Second-Phase Flagellar Deletion by Whole Genome Sequencing. *Microorganisms*, 8(12), 2049. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8122049>

Atxaerandio-Landa, A., Arrieta-Gisasola, A., Laorden, L., Bikandi, J., Garaizar, J., Martínez-Malaxetxebarria, I., & Martínez-Ballesteros, I. (2022). A Practical Bioinformatics Workflow for Routine Analysis of Bacterial WGS Data. *Microorganisms*, 10(12), 2364. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122364>

Azpiazu-Muniozguren, M., García, M., Laorden, L., Martínez-Malaxetxebarria, I., Seoane, S., Bikandi, J., Garaizar, J., & Martínez-Ballesteros, I. (2022). *Anianabacter salinae* gen. nov., sp. nov. ASV31T, a Facultative Alkaliphilic and Extremely Halotolerant Bacterium Isolated from Brine of a Millennial Continental Saltern. *Diversity*, 14(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/d14111009>

Azpiazu-Muniozguren, M., Martínez-Ballesteros, I., Gamboa, J., Seoane, S., Alonso, R., Laorden, L., Garaizar, J., & Bikandi, J. (2019). *Altererythrobacter muriae* sp. nov., isolated from hypersaline Añana Salt Valley spring water, a continental thalassohaline-type solar saltern. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(3). <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004734>

Martínez-Malaxetxebarria, I., Girbau, C., Salazar-Sánchez, A., Baztarrika, I., Martínez-Ballesteros, I., Laorden, L., Alonso, R., & Fernández-Astorga, A. (2022). Genetic characterization and biofilm formation of potentially pathogenic foodborne *Arcobacter* isolates. *International Journal of Food Microbiology*, 373, 109712. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109712>

Salazar-Sánchez, A., Baztarrika, I., Alonso, R., Fernández-Astorga, A., Martínez-Ballesteros, I., & Martínez-Malaxetxebarria, I. (2022). *Arcobacter butzleri* Biofilms: Insights into the Genes Beneath Their Formation. *Microorganisms*, 10(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071280>

.....

Unidad de Microbiología y Seguridad Alimentaria de la Universidad Politécnica de Cartagena

ALFREDO PALOP, JORGE BAIXAULI, ENRIQUETA GARCÍA, ALBERTO GARRE, SILVIA GUILLÉN, ANTONIO LUCIANO, PAULA M. PERIAGO, MARIEM SOMRANI, PABLO S. FERNÁNDEZ

Unidad de Microbiología y Seguridad Alimentaria. Instituto de Biotecnología Vegetal. Universidad Politécnica de Cartagena.

✉ alfredo.palop@upct.es | pablo.fernandez@upct.es



Foto de Grupo UPCT.

La Unidad de Microbiología y Seguridad Alimentaria surge en octubre de 1999, a raíz de la fundación de la Universidad Politécnica de Cartagena, con la incorporación de los profesores Pablo S. Fernández y Alfredo Palop. En años posteriores se fueron sumando los distintos miembros, que han aportado nuevas capacidades, hasta llegar a su composición actual, formada por catedráticos de universidad, contrata-

dos postdoctorales, doctorandos y estudiantes de máster.

El grupo tiene amplia experiencia en evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos, principalmente relacionada con (1) la resistencia e inactivación de microorganismos patógenos alimentarios y alterantes expuestos a procesos de conservación de alimentos, tales como los

tratamientos térmicos y los compuestos antimicrobianos naturales, y (2) la microbiología predictiva y el análisis cuantitativo de riesgos microbiológicos. Algunos miembros del grupo participan o han participado en el Panel de Riesgos Biológicos de EFSA o en el Comité Científico de la AESAN. El grupo también ha liderado la Red Española de Priorización y Evaluación de Riesgos Biológicos Cuantitativa (BIOQU-



Figura 1. Termorresistómetro Mastia.

RA) entre 2017 y 2019. Estos antecedentes le han permitido consolidarse como una unidad activa que ha establecido colaboraciones con otros equipos de investigación. Entre estas colaboraciones destacan especialmente las Unidades Asociadas *Conservación y Calidad de Alimentos*, en vigor desde 2004 con el IATA-CSIC, y *Calidad y Evaluación de Riesgos Alimentarios* en vigor desde 2016 con el CEBAS-CSIC, y las que se mantienen con centros de investigación en el extranjero.

Resistencia e inactivación de microorganismos patógenos alimentarios

En el ámbito del procesado térmico destaca el diseño, construcción y obtención de una patente de un equipo de laboratorio, el termorresistómetro Mastia, para la determinación de la resistencia al calor de microorganismos y otros compuestos de interés (tales como vitaminas, proteínas, etc.) presentes en alimentos y medicamentos. Una de las principales ventajas de este equipo es que permite estudiar inactivación por calor tanto en

condiciones isotérmicas como no isotérmicas, asemejándose a las condiciones reales de procesado en la industria alimentaria (Conesa et al., 2009). El equipo (figura 1; <http://tv.upct.es/?vim=389703637>) también se ha aplicado en otros ámbitos, tales como la industria farmacéutica. El termorresistómetro Mastia ha recibido recientemente el sello CE y ha sido adquirido por algunos laboratorios españoles, europeos e incluso del resto del mundo. Este equipo ha permitido a los miembros del grupo profundizar en aspectos relevantes que determinan la resistencia microbiana al calor, como la velocidad de calentamiento, que habían recibido escasa atención por parte de la comunidad científica, posiblemente por las dificultades que entrañaba su estudio.

Otra de las líneas de investigación más activas del grupo está relacionada con el estudio de la inactivación microbiana por compuestos antimicrobianos naturales y en su efecto sobre los biofilms (Somrani et al., 2020). Muchos de estos compuestos tienen carácter hidrofóbico, lo que dificulta su aplicación en medios acuosos, como la mayoría de alimentos. Nuestro grupo también se ha centrado, más recientemente, en la aplicación de esos compuestos en

forma de nanoemulsión, lo que mejora considerablemente su miscibilidad. La aplicación simultánea de limoneno y calor ha permitido a nuestro grupo observar una reducción de hasta 100 veces en la resistencia al calor de *Listeria monocytogenes* (Maté et al., 2016) y de 50 veces para *Salmonella* (Ros-Chumillas et al., 2017).

En la actualidad nuestro grupo está estudiando el uso de estos aceites esenciales nanoemulsionados en el agua de lavado de los vegetales, para conseguir su descontaminación, como alternativa a los desinfectantes actuales basados en compuestos de cloro.

Microbiología predictiva y análisis cuantitativo de riesgos microbiológicos

El grupo también está especializado en la aplicación de la microbiología predictiva para describir las cinéticas de inactivación y crecimiento microbiano, así como en la evaluación de los riesgos microbiológicos en alimentos. Apoyándose en el termorresistómetro Mastia, el grupo ha propuesto nuevos modelos matemáticos de inactivación que permiten considerar la adaptación al estrés que los microorganismos pueden desarrollar durante un tratamiento de inactivación dinámico (Garre et al., 2018). El grupo también está especializado en el desarrollo de metodologías estocásticas para analizar y cuantificar la variabilidad en la respuesta microbiana, separándola de la incertidumbre, un tema de gran importancia para el análisis cuantitativo de riesgos microbiológicos (Clemente-Carazo et al., 2020; Garre et al., 2020; 2022).

El grupo también desarrolla y mantiene varias herramientas de software *Open Access* que facilitan la aplicación de la microbiología predictiva y la evaluación

de riesgos (figura 2). Se han desarrollado las aplicaciones web *bioinactivation* (<https://foodlab-upct.shinyapps.io/bioinactivation4/>) y *biogrowth* (<https://foodlab-upct.shinyapps.io/biogrowth4/>) que facilitan el ajuste de modelos de inactivación y crecimiento microbiano a datos obtenidos en el laboratorio, así como el cálculo de predicciones. Las aplicaciones utilizan los principios de la microbiología predictiva, en base a sendos paquetes de R disponibles en libre acceso desde CRAN. También se ha creado *D database*, una base de datos de modelos de inactivación microbiana que incluye herramientas avanzadas para el análisis estadístico y el meta-análisis (<https://foodmicrowur.shinyapps.io/Ddatabase/>). Actualmente, el grupo se encuentra desarrollando el paquete *biorisk* que contiene funciones para la definición, simulación (2D Monte Carlo) y análisis de modelos cuantitativos del riesgo microbiológico (<https://github.com/albgarre/biorisk/>).

Para finalizar esta reseña de nuestro grupo, queremos señalar que se va a encargar de la organización del próximo congreso del grupo especializado en Microbiología de Alimentos de la Sociedad Española de Microbiología, que se celebrará en Cartagena en septiembre de 2024, y al cual tenemos el placer de invitarlos.

Bibliografía

- Clemente-Carazo M, Cebrián G, Garre A y Palop A.** (2020). Variability in the heat resistance of *Listeria monocytogenes* under dynamic conditions can be more relevant than that evidenced by isothermal treatments. *Food Res Int* 137, 109538.
- Conesa R, Andreu S, Fernández PS, Esnoz A y Palop A.** (2009). Non-isothermal heat resistance determinations with the thermoresistometer Mastia. *J Appl Microbiol* 107: 506-13.

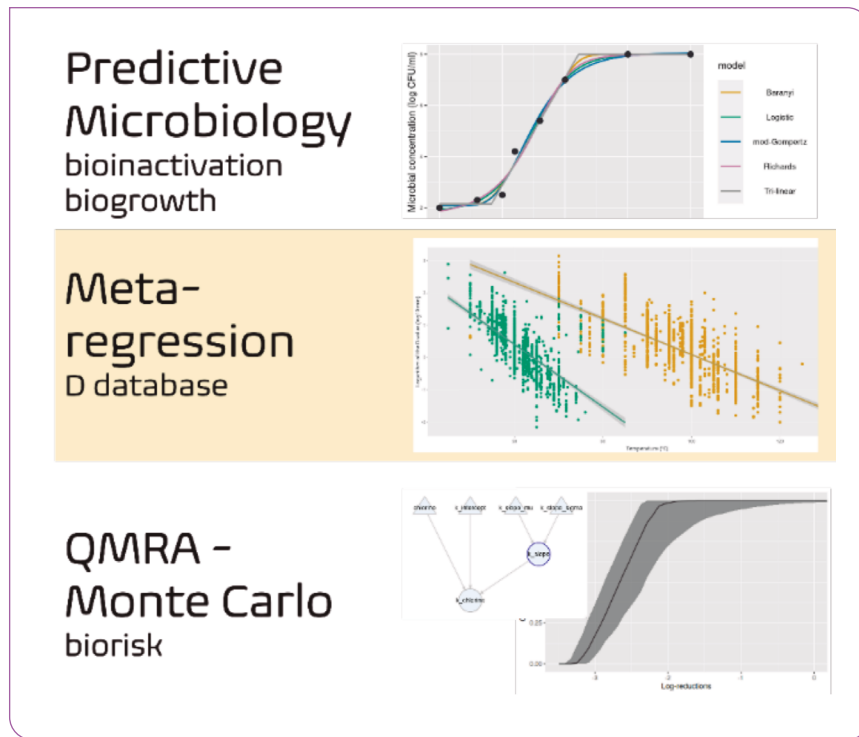


Figura 2. Herramientas de software Open Access.

Garre A, Fernández PS, Lindqvist R y Egea JA. (2017). Bioinactivation: software for modelling dynamic microbiological inactivation. *Food Res Int* 93: 66-74.

Garre A, Huertas JP, González-Tejedor GA, Fernández PS, Egea JA, Palop A y Esnoz A. (2018). Mathematical quantification of the induced stress resistance of microbial populations during non-isothermal stresses. *Int J Food Microbiol* 266, 133-141.

Garre A, Zwietering MH y den Besten HMW. (2020). Multilevel modelling as a tool to include variability and uncertainty in quantitative microbiology and risk assessment. Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* as proof of concept. *Food Res Int* 137, 109374.

Garre A, Zwietering MH y van Boekel MAJS. (2022). The Most Probable Curve method - A robust approach to estimate kinetic models from low plate count data resulting in reduced uncertainty. *Int J Food Microbiol* 380, 109871.

Maté J, Periago PM y Palop A. (2016). When nanoemulsified, D-limonene reduces *Listeria monocytogenes* heat resis-

tance about one hundred times. *Food Control* 59: 824-8.

Ros-Chumillas M, Garre A, Maté J, Palop A y Periago PM. (2017). Nanoemulsified D-Limonene reduces the heat resistance of *Salmonella* Senftenberg over 50 Times. *Nanomaterials* 7, 65.

Somrani M, Inglés MC, Debbabi H, Ferid A y Palop A. (2020). Garlic, onion and cinnamon essential oil anti-biofilm effect against *Listeria monocytogenes*. *Foods* 9, 567.

Las micotoxinas, o cuando los mohos son nuestros enemigos

ANTONIO J. RAMOS, SONIA MARÍN, FRANCISCO MOLINO Y VICENTE SANCHIS

Unidad de Micología Aplicada, Dpto. Tecnología, Ingeniería y Ciencia de Alimentos. AGROTECNIO-CERCA Center. Universitat de Lleida. Avda. Rovira Roure, 191. 25198 Lleida

✉ antonio.ramos@udl.cat | sonia.marin@udl.cat | francisco.molino@udl.cat | vicente.sanchis@udl.cat



Foto de grupo.

La Unidad de Micología Aplicada (UMA) de la Universidad de Lleida (www.uma.udl.cat) lleva investigando sobre los hongos filamentosos y las micotoxinas desde principios de los años 80. Actualmente está integrada por los catedráticos Vicente Sanchis, Antonio J. Ramos y Sonia Marín, el profesor lector Francisco Molino, la investigadora postdoctoral Xenia Pascari, cinco investigadores predoctorales (Bernat Borràs, José Gallardo, Irene Teixidó, Enric Llorens y Alex Vicens) y dos técnicos de laboratorio, Montserrat Prim y Jordi Vidal.

Las micotoxinas son metabolitos fúngicos secundarios que cuando son ingeri-

dos, inhalados o entran en contacto con la piel producen efectos tóxicos en el ser humano o los animales. Las micotoxinas más importantes son las aflatoxinas, las fumonisinas, la ocratoxina A, la patulina, la zearalenona, los tricotecenos, la citrinina y los alcaloides del ergot. Los efectos más frecuentes ocasionados por las micotoxinas van desde la producción de cáncer, hasta problemas reproductivos, gastrointestinales, hepatotóxicos, nefrotóxicos, o afectación del sistema inmunitario, dependiendo de la micotoxina considerada.

La UMA ha contemplado siempre como ejes principales de su investigación la

identificación, prevención y mitigación del problema de las micotoxinas en el ámbito alimentario. En la actualidad, nuestras principales líneas de investigación son:

1. Micología predictiva

La producción de micotoxinas depende de una serie de factores que determinan la ecofisiología fúngica. Entre ellos los que más influyen, y más ha estudiado la UMA, son la actividad de agua, la temperatura, la competencia entre especies, los conservantes, la atmósfera gaseosa o la exposición a radiación UV, entre otros. Estos

estudios han impulsado, por parte de nuestro grupo, el desarrollo de modelos matemáticos para predecir el comportamiento de los mohos, una herramienta útil para gestionar el riesgo en los procesos de producción, almacenamiento y distribución en la cadena alimentaria (Aldars-García 2018).

2. Presencia de micotoxinas en alimentos y evaluación de la exposición humana

La UMA, desde su inicio, ha realizado estudios sobre la presencia de micotoxinas en diferentes tipos de alimentos y, en algunos casos, los ha relacionado con los datos de consumo, a fin de poder realizar la evaluación de la exposición de la población a las micotoxinas, teniendo en cuenta factores como la edad, el sexo o los hábitos nutricionales o culturales. A este respecto, destaca nuestra reciente publicación de un informe sobre evaluación de la exposición dietética de la población a micotoxinas del género *Fusarium* (ACSA, 2022) y nuestra participación en la redacción del protocolo sobre “Medidas para la vigilancia y control de las aflatoxinas en la producción primaria, producción de piensos y producción de leche” publicado recientemente por la Generalitat de Catalunya (Generalitat de Catalunya, 2023).

3. Técnicas espectrométricas de análisis y selección de cereales.

Los cereales son una de las materias primas que más frecuentemente se ven contaminadas por micotoxinas, lo que ocasiona rechazo de lotes y graves pérdidas económicas. La UMA está evaluando el uso del análisis de imágenes hiperespectrales para la clasificación y selección en línea de los granos de cereal después de su recepción, pudiendo así retirar los granos contaminados mediante un método no destructivo y evitar su entrada en la cadena alimentaria. Se han desarrollado modelos prometedores para la detección de granos contaminados con deoxinivalenol en trigo y avena (Femenias et al., 2022).

4. Efecto del procesado de los alimentos sobre las micotoxinas

El conocimiento del efecto que tiene cada etapa del proceso de fabricación de un alimento en el nivel final de micotoxinas es básico para establecer los criterios y objetivos de rendimiento en la industria alimentaria. La UMA ha estudiado multitud de procesos, como la selección, el tostado, el horneado, el malteado, o la fermentación, y ha evaluado cómo cada uno afecta a la concentración de micotoxinas al final de cada etapa o del proceso entero (Pascari et al., 2019).

5. Desarrollo de adsorbentes de micotoxinas para alimentación animal

Los adsorbentes de micotoxinas son compuestos que se añaden a los piensos para que se unan a las micotoxinas, formando un complejo estable que no puede ser absorbido en el tracto gastrointestinal y que, por lo tanto, es excretado junto con las heces, protegiendo así al animal de la intoxicación. La UMA, en colaboración con empresas del sector, está llevando a cabo la caracterización, tanto *in vitro* como *in vivo*, de adsorbentes mejorados para su utilización en los piensos de aves, cerdos y peces (Vila-Donat et al., 2020).

Otras actividades

La UMA lleva a cabo una labor de divulgación científica sobre las micotoxinas, con la publicación de artículos de divulgación en revistas especializadas del sector y la edición de libros monográficos sobre el tema, como el reciente manual “Manejo de micotoxinas en producción animal” (Ramos y Marín, 2020). Además, la UMA pertenece a la “Red Nacional sobre las micotoxinas y hongos toxigénicos y de sus procesos de descontaminación (MICOFOOD)”, y ofrece sus servicios de análisis y asesoramiento sobre micotoxinas a través del Servicio Científico-Técnico “Calidad microbiológica en el sector agroalimentario” (<https://www.recercaitransferencia.udl.cat/ca/transferencia/serveis-cientificotecnics/>).

Bibliografía

ACSA (Agència Catalana de Seguretat Alimentària). (2022). Avaluació de l'exposició dietètica de la població catalana a micotoxines del gènere *Fusarium*. Disponible en: https://acsa.gencat.cat/ca/Publicacions/estudis/estudis_de_dieta_total/micotoxines-00001/

Aldars-García L, Berman M, Ortiz J, Ramos AJ y Marín S. (2018). Probability models for growth and aflatoxin B₁ production as affected by intraspecies variability in *Aspergillus flavus*. Food Microbiol 72: 166-175. DOI: doi.org/10.1016/j.fm.2017.11.015. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29407394/>

Femenias A, Gatiús F, Ramos AJ, Sanchis V y Marín, S. (2022). Hyperspectral imaging for the classification of individual cereal kernels according to fungal and mycotoxins contamination: A review. Food Res Int 155: 111102. DOI: doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111102. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35400475/>

Generalitat de Catalunya. (2023). Mesures per a la vigilància i control de les aflatoxines en la producció primària, producció de pinsos i producció de llet. Disponible en: https://agricultura.gencat.cat/web/.content/07-ramaderia/alimentacio-animal/documents/fitxers_binaris/protocol-aflatoxines.pdf

Pascari X, Gil-Samarra S, Marín S, Ramos AJ y Sanchis V. (2019). Fate of zearalenone, deoxynivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside during malting process. LWT-Food Sci. Technol. 99: 540-546. DOI: doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.030. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643818308764>

Ramos AJ y Marín S. (2020). Manejo de micotoxinas en producción animal. Ed. Servet, Zaragoza.

Vila-Donat P, Marín S, Sanchis V. y Ramos, AJ. (2020). Tri-octahedral bentonites as potential technological feed additive for *Fusarium* mycotoxin reduction. Food Addit. Contam. Part A 37: 1374-1387. DOI: doi.org/10.1080/19440049.2020.1766702. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19440049.2020.1766702>

Grupo de Cultivos Lácteos Funcionales (IPLA-CSIC)

BALTASAR MAYO Y ANA BELÉN FLÓREZ

IPLA-CSIC, Paseo Río Linares, s/n, 33300-Villaviciosa, Asturias

✉ baltasar.mayo@ipla.csic.es | abflores@ipla.csic.es



Grupo Cultivos Lácteos Funcionales (IPLA-CSIC). De izquierda a derecha: José Alejandro Valenzuela López (Predoctoral), Universidad Nacional del Noroeste (Argentina); Javier Rodríguez Álvarez (Predoctoral), contrato Severo Ochoa del Principado de Asturias; Lucía Vazquez Iglesias (Postdoctoral), contratada con cargo al ISPA; Ana Belén Flórez (Investigadora), Científica Titular OPIs; Baltasar Mayo (IP del grupo), Profesor de Investigación OPIs; Paula Rosa Suárez Vaquero (Titulada superior), contratada, programa "Yo investigo"; y Cristina Lobato Flecha (Titulada superior), contratada a proyecto.

Introducción

El grupo de investigación "Cultivos Lácteos Funcionales" (CLF), liderado por el Dr. Baltasar Mayo, se constituye en el IPLA-CSIC en el año 1996. La actividad investigadora del grupo CLF tiene como objetivo seleccionar microorganismos con propiedades relevantes para su utilización en productos lácteos. A lo largo de estos años, el grupo ha trabajado en dos líneas de investigación principales: **1) Tipificación microbiana de productos lácteos**

tradicionales y diseño de fermentos y 2) Microbiología del tracto gastrointestinal humano y selección de probióticos. Conceptualmente, estas líneas tan distintas están unidas por un objetivo común y una metodología similar. El objetivo de ambas es el aislamiento y la selección de microorganismos beneficiosos con propiedades tecnológicas o funcionales deseables para su empleo como fermentos acidificadores, fermentos de maduración o cultivos probióticos en productos lácteos. Estas líneas principales se complementan

con una tercera transversal que da apoyo a las dos anteriores: **3) Caracterización funcional de microorganismos de interés en matrices lácteas.** En esta línea estudiamos las bases bioquímicas y genéticas de las propiedades deseables e indeseables de los microorganismos, contribuyendo a un desarrollo racional y eficiente de los cultivos.

La actividad del grupo CLF se puede consultar en el enlace de la página web del IPLA: <http://www.ipla.csic.es/cultivos-lacteos>

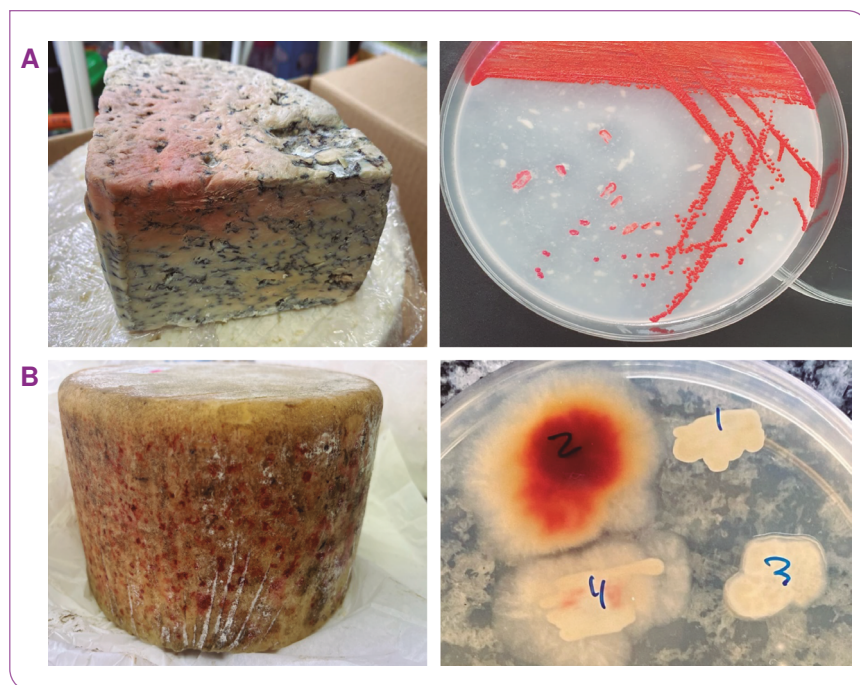


Figura 1. Quesos con defectos de coloración y microorganismos responsables. Panel A, queso azul con color rojo (izquierda) y cepa de *Serratia marcescens* productora de prodigiosina aislada del queso (derecha). Panel B, queso de oveja con manchas marrones en su superficie (izquierda) y cepa de *Epicoccum lauyense* que las produce (derecha, 2).

1. Tipificación microbiana de productos lácteos tradicionales y diseño de fermentos

Esta es la línea más tradicional del grupo. En ella la actividad investigadora se centra en la caracterización y tipificación microbiana de quesos tradicionales de Asturias (Peñamellera, Cabrales y Casín), de otros quesos extranjeros (Oscypek de Polonia y Lighvan y Koozeh de Irán) y de otros productos lácteos (yogures, leches fermentadas). El objetivo del trabajo es la identificación y selección de cepas que puedan ser empleadas en el diseño de fermentos específicos para esos quesos y útiles para la industria láctea en general. Entre los logros tecnológicos más importantes de esta línea podemos destacar la gran colección de bacterias de origen lácteo que hemos ido reuniendo a lo largo del tiempo, y principalmente de bacterias ácido-lácticas (BAL), muchas de las cuáles se encuentran bien caracterizadas en sus propiedades tecnológicas y de seguridad alimentaria. Hemos desarrollado también

fermentos específicos para los quesos de Peñamellera y Cabrales. El fermento para este último queso, CAB-00, incluye cepas seleccionadas de las especies *Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris*. Las cepas del fermento se han licenciado a la empresa Biogés Starters SA, quienes producen el fermento a petición del Consejo Regulador. CAB-00 se lleva utilizando de forma exitosa desde hace más de 12 años. Otras cepas de BAL caracterizadas se han licenciado a empresas de fermentos como Christian Hansen (Dinamarca) o CSK Food Enrichmen (Holanda).

La actividad investigadora actual del grupo en esta línea está siendo reorientada hacia un enfoque de Ecología Microbiana para el estudio de la diversidad y las relaciones entre los componentes de la microbiota de los productos lácteos. Para ello estamos utilizando diversas técnicas ómicas de última generación (genómica, metagenómica, transcriptómica, metabolómica, etc.) acopladas con técnicas convencionales de cultivo. En último término, las relaciones entre los microorganismos tienen una gran implicación en la calidad y seguridad higiénico-sanitaria de los productos lácteos. Así, de forma reciente,

hemos identificado, aislado y caracterizado cepas de *Serratia marcescens* productoras de prodigiosina como responsables de una coloración roja atípica en quesos azules, o cepas del hongo *Epicoccum lauyense* que causan una coloración marróncea en la superficie de quesos tipo Castellano de leche de oveja y elaborados con leche cruda (Figura 1).

2. Microbiología del tracto gastrointestinal humano y selección de probióticos

En esta línea, fuimos uno de los grupos pioneros —allá por el año 2000— en aproximarse a la microbiología gastrointestinal humana desde el Área de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Dada la influencia que la dieta tiene en la microbiota y la particular dieta saludable de los españoles (dieta mediterránea), el objetivo inicial del estudio contemplaba la posibilidad de identificar y seleccionar cepas que pudieran utilizarse como probióticos más robustos y/o más específicos que los comerciales. A lo largo de los años, hemos colaborado en la caracterización de la microbiota de algunas secciones del intestino humano como la mucosa colónica o el estómago. De estos estudios se han recuperado numerosas cepas con potencial probiótico. Así, procedente de las heces de un individuo sano, por ejemplo, se identificó una cepa de *Lactocaseibacillus rhamnosus* que posee resistencia no transmisible a eritromicina y otros macrólidos debido a una mutación puntual en el gen que codifica el ARNr 23S. La utilización de la cepa se patentó (ES2328651) y se transfirió a la empresa Biópolis SA. Procedente del estómago, por su parte, identificamos una cepa de *Limosilactobacillus reuteri* (CECT 8395) con una elevada actividad antimicrobiana contra *Helicobacter pylori*. La utilización de dicha cepa para paliar patologías intestinales se protegió también mediante patente (P201331271-PCT/ES2014/070666) y la

patente se transfirió a la empresa Protexin International (UK). Durante los últimos años, hemos estudiado también las relaciones bidireccionales entre la microbiota y las isoflavonas de la soja, con el fin de determinar si los beneficios atribuidos a estos compuestos de la dieta pudieran estar mediados por las poblaciones intestinales.

3 Caracterización funcional de microorganismos de interés en matrices lácteas

La caracterización de BAL y otros biotipos para su utilización como fermentos y/o probióticos implica el estudio de diversos aspectos de su fisiología y genética. En este sentido el grupo ha contribuido a la caracterización de numerosos plásmidos de BAL y bifidobacterias, algunos de los cuales se han empleado en el desarrollo de vectores de clonación y expresión que permiten abordar estudios moleculares en estos grupos bacterianos y facilitan su manipulación genética. En particular, resultó muy exitoso el vector bifuncional bifidobacterias-*Escherichia coli* pAM1 que se encuentra depositado en la Colección Belga de Microorganismos (BCCM) (Ref. LMBP-8058).

Con el objetivo de no extender la resistencia a antibióticos a través de la cadena alimentaria, hemos sido pioneros también en el estudio de la resistencia a antibióticos en cepas de BAL y bifidobacterias de origen lácteo e intestinal. La presencia de resistencias transmisibles se utiliza como criterio negativo en los procesos de selección de fermentos y probióticos. Este tema nos permitió colaborar en el desarrollo de la norma ISO10932 para el ensayo de resistencia a antibióticos en estos grupos bacterianos y nos ha dado gran visibilidad internacional. Además de la caracterización de numerosos genes de resistencia a antibióticos y los elementos sobre los que se asientan, hemos determinado también la evolución de las poblaciones resistentes y la carga de genes de resistencia en productos lácteos.

Publicaciones seleccionadas (últimos 10 años)

Delgado, S., Cabrera, R., Mira, A., Suárez, A., Mayo, B. 2013. Microbiological survey of the human gastric ecosystem by culturing and pyrosequencing approaches. *Microbial. Ecol.* 65: 763-772.

Delgado, D., Rachid, C. T. C. C., Fernández, E., Rychlik, T., Alegría, A., Peixoto, R. S., Mayo, B. 2013. Diversity of thermophilic bacteria in raw, pasteurized and selectively-cultured milk, as assessed by culturing, PCR-DGGE and pyrosequencing. *Food Microbiol.* 36: 103-111.

Delgado, S., Leite, A.M.O., Ruas-Madiedo, P., Mayo, B. 2015. Probiotic and technological properties of *Lactobacillus* spp. strains from the human stomach in the search for potential candidates against gastric microbial dysbiosis. *Front. Microbiol.* 5: 766.

Flórez, A. B., Mayo, B. 2015. The plasmid complement of the cheese isolate *Lactococcus garvieae* IPLA 31405 revealed adaptation to the dairy environment. *PLoS One* 10: e0126101

Flórez, A. B., I. Campedelli, S. Delgado, Á. Alegría, E. Salvetti, G. E. Felis, B. Mayo, S. Torriani. 2016. Antibiotic susceptibility profiles of dairy *Leuconostoc*, analysis of the genetic basis of atypical resistances and transfer of genes in vitro and in a food matrix. *PLoS One* 11: e0145203.

Delgado, S., Flórez, A. B., Guadamuro, L., Mayo, B. 2017. Genetic and biochemical characterization of an oligo- α -1,6-glucosidase from *Lactobacillus plantarum*. *Int. J. Food Microbiol.* 246: 32-39.

Flórez, A. B., Vázquez, L., Mayo, B. 2017. A functional metagenomic analysis of tetracycline resistance in cheese bacteria. *Front. Microbiol.* 8: 907.

Guadamuro, L., Flórez, A. B., Vázquez, L., Mayo, B. 2017. characterization of *Bifidobacterium pseudocatenulatum* β -glucosidases involved in the release of aglycones from isoflavone-glycosides. *Food Res. Int.* 100: 522-528.

Flórez, A. B., Mayo, B. 2018. Genome analysis of *Lactobacillus plantarum* LL441 and genetic characterisation of the locus for the lantibiotic plantaricin C. *Front. Microbiol.* 9: 1916.

Flórez, A. B., Vázquez, L., Rodríguez, J., Redruello, B., Mayo, B. 2019. Transcriptional regulation of the equol biosynthesis gene cluster in *Adlercreutzia equolifaciens* DSM19450^T. *Nutrients* 11: 993.

Sirichoat, A., Flórez, A. B., Vázquez, L., Buppasiri, P., Panya, M., Lulitand, V., Mayo, B. 2020. Antibiotic resistance-susceptibility profiles of *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus* spp. from the human vagina, and genome analysis of the genetic basis of intrinsic and acquired resistances. *Front. Microbiol.* 11: 1438.

Flórez, A.B., Vázquez, L., Rodríguez, J., Mayo, B. 2021. Direct recovery and molecular characterization of antibiotic resistance plasmids from cheese bacteria. *Int. J. Mol. Sci.* 22: 7801.

Rodríguez, J., Fernández-López, R., Vázquez, L., González-Guerra, A., Flórez, A.B., de la Cruz, F., and Mayo, B. 2022. Isolation and phenotypic and genomic characterization of *Tetragenococcus* spp. from two Spanish traditional blue-veined cheeses made of raw milk. *Int. J. Food Microbiol.* 371: 109670

Rodríguez, J., Vázquez, L., Flórez, A.B., Mayo, B. 2022. Phenotype testing, genome analysis, and metabolic interactions of three lactic acid bacteria strains existing as a consortium in a naturally fermented milk. *Front. Microbiol.* 13:1000683.

Flórez, A.B., Vázquez, L., Rodríguez, J., Mayo, B. 2023. Phenotypic and safety assessment of the cheese strain *Lactiplantibacillus plantarum* LL441, and sequence analysis of its complete genome and plasmidome. *Int. J. Mol. Sci.* 24: 605.

.....

Grupo Fermentos Lácticos y Bioconservación: DairySafe

ANA RODRÍGUEZ GONZÁLEZ, BEATRIZ MARTÍNEZ FERNÁNDEZ Y PILAR GARCÍA SUÁREZ

Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC). Villaviciosa. Asturias.

✉ anarguez@ipla.csic.es



Grupo DairySafe. De izquierda a derecha, frente: Seila Agún, Ana C. Leal, Lucía Fernández, Claudia Rendueles. Atrás: Pilar García, Susana Escobedo, Beatriz Martínez, Ana Rodríguez, Rosana Calvo.

La trayectoria del grupo DairySafe está unida al IPLA-CSIC desde su inauguración en 1990, siendo la impulsora del mismo la Dra. Ana Rodríguez, que actúa como coordinadora. Forman parte del grupo las investigadoras Dra. Beatriz Martínez y la Dra. Pilar García, junto con la Dras. Lucía Fernández y Susana Escobedo, ambas contratadas postdoctorales, tres estudiantes predoctorales: Ana Catarina Leal, Seila Agún y Claudia Rendueles, y Rosana Calvo como técnica de laboratorio (Foto del grupo).

Nuestro reto científico es generar conocimiento para contribuir al desarrollo de una cadena láctea sostenible, que proporcione productos de calidad diferenciada, seguros para el consumidor y respetuosos con el

entorno natural. Para ello abordamos dos líneas de investigación con las que perseguimos optimizar las fermentaciones lácteas y desarrollar nuevas tecnologías de bioconservación (Fig. 1).

Cultivos iniciadores: una vía hacia la identidad y la sostenibilidad

Los primeros proyectos del grupo se dirigieron a la caracterización y aislamiento de bacterias lácticas (BAL) silvestres presentes en los quesos de producción artesanal de nuestra región como el Gamoneu, Afuega'l pitu y Los Beyos. De este modo, se gestó la

creación de una colección de BAL constituida, mayoritariamente, por aislados de las especies *Lactococcus lactis*, *L. lactis* biovar *diacetylactis* y *Leuconostoc citreum*. La caracterización tecnológica de estos aislados permitió seleccionar las más adecuadas para diseñar un fermento autóctono para al queso Afuega'l pitu. Además, para este cultivo iniciador mixto se puso a punto su producción en biorreactores mediante técnicas de cultivo continuo.

Actualmente, nuestra investigación se centra en mejorar el rendimiento de las fermentaciones lácteas proporcionado a la industria cepas de *L. lactis* más robustas y con nuevas funcionalidades, haciendo especial hincapié en su resistencia a la

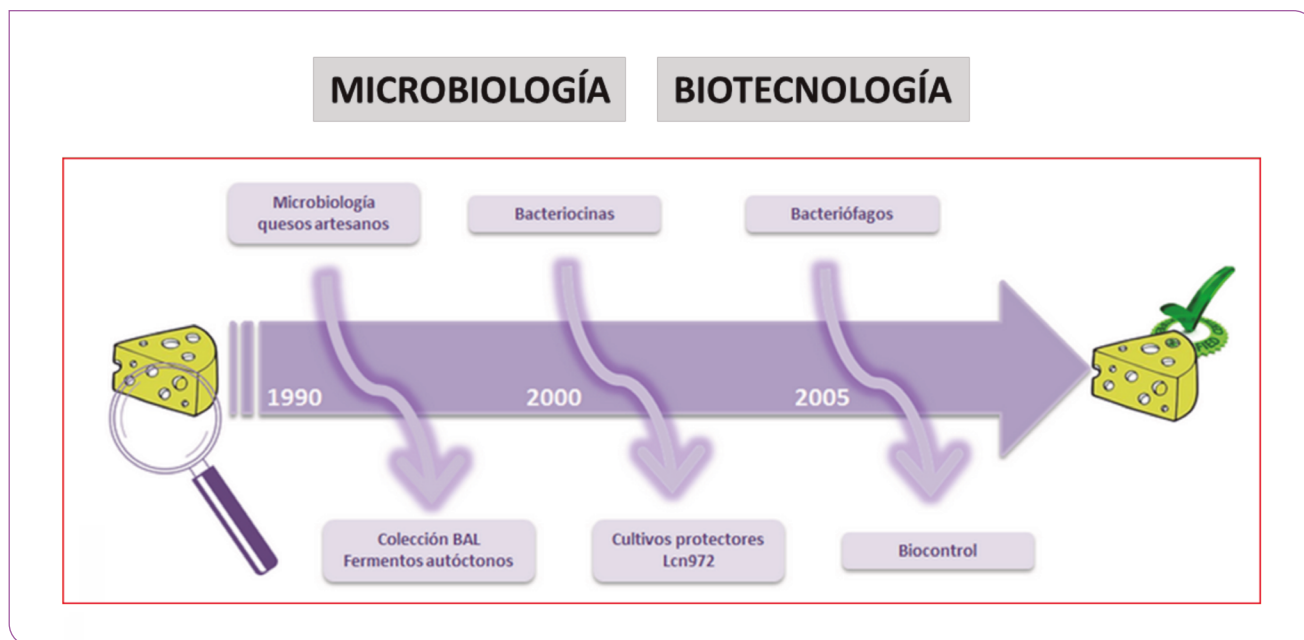


Figura 1. Líneas de investigación del grupo DairySafe.

infección por bacteriófagos, que son la causa principal de fermentaciones fallidas en la industria láctea. Para ello, hemos realizado experimentos de evolución adaptativa con *L. lactis* utilizando como agente selectivo el estrés sobre la pared celular, la estructura bacteriana esencial para la supervivencia. Mediante la comparación de genomas y estudios transcripcionales de los mutantes obtenidos, hemos determinado las rutas de señalización que operan en *L. lactis* y que participan en la activación de mecanismos de defensa cuyo modo de acción aún desconocemos. Sobre este conocimiento, se sentarán las bases que permitan la selección de cepas mejoradas. Las Dras. Beatriz Martínez y Susana Escobedo están implicadas en esta línea; también lo está Claudia Rendueles, que realiza su Tesis Doctoral sobre los mecanismos de respuesta de *L. lactis* al daño de la pared celular y su interferencia en la infección por bacteriófagos.

Bioconservación: menos aditivos, menos desinfectantes

En esta línea abordamos el desarrollo e implementación de estrategias sostenibles basadas en antimicrobianos de origen biológico, entre las que se incluyen bacteriocinas, bacteriófagos (fagos) y proteínas

líticas de síntesis fágica (enzimbióticos) para extender la vida útil de los alimentos sin comprometer su seguridad microbiológica.

Inicialmente estudiamos la actividad antagonista de los aislados de nuestra colección de BAL y nos centramos en la producción de bacteriocinas, péptidos con potente actividad antibacteriana. Hemos identificado productores de nisina con buenas aptitudes tecnológicas y evaluado su eficacia *in situ*. También hemos profundizado en el modo de acción de Lcn972, una bacteriocina que inhibe específicamente la síntesis de pared celular en *L. lactis*. Esta bacteriocina constituye, de hecho, nuestro modelo para el estudio de la respuesta al daño de la pared celular de esta bacteria.

El grupo ha sido pionero en el estudio del biocontrol de patógenos alimentarios mediante el uso de fagos y proteínas con actividad lítica (endolisinas), ambos aplicables a los distintos eslabones de la cadena alimentaria. Nuestros trabajos se centran fundamentalmente en el aislamiento y caracterización de fagos que infectan a *Staphylococcus aureus*, un patógeno implicado en la mastitis del ganado vacuno y responsable de la síntesis de toxinas termoresistentes en muchos alimentos. También estudiamos las endolisinas codificadas por estos fagos, que tienen la peculiaridad de ser enzimas con una

estructura modular que permite diseñar proteínas “a la carta” mediante la fusión de diferentes dominios. En lo que respecta a las aplicaciones tanto de fagos como de endolisinas, estamos realizando estudios sobre su potencial para la eliminación de biofilms formados por bacterias patógenas sobre superficies de la industria alimentaria, objetivo que está siendo abordado por la Dra. Pilar García y Lucía Fernández y la estudiante predoctoral Ana C. Leal. Relativo al desarrollo de bioconservantes basados en endolisinas, los resultados obtenidos hasta el momento muestran la eficacia de las mismas en la eliminación de la contaminación por *S. aureus* en leche y quesos, trabajo que forma parte de la Tesis Doctoral de Seila Agún.

Los miembros del grupo participan en dos Redes Temáticas: Red Española de Bacterias Lácticas y su relación con la salud y la calidad y seguridad de los alimentos (RedBAL) y Red Española de Bacteriófagos y Elementos Transductores (FAGOMA). La Dra. Pilar García es desde hace varios años la coordinadora de la Red FAGOMA y recientemente también lidera un grupo de trabajo sobre Terapia Fágica. Además, somos socios de la Sociedad Española de Microbiología (SEM) y la Dra. Beatriz Martínez forma parte de la Junta Directiva del grupo de Microbiología de los Alimentos.

Microbiología de fermentaciones vínicas y panaderas en Andalucía

BELÉN FLORIANO, ANDRÉS GARZÓN, JUAN QUINTERO Y JUAN JIMÉNEZ

Universidad Pablo de Olavide. Ctra de Utrera, Km 1. 4013-Sevilla

✉ agarvil@upo.es | jjimmar@upo.es | bflopar@upo.es

Los grupos de investigación que trabajan en estrecha colaboración en la Universidad Pablo de Olavide (UPO), de Sevilla en la caracterización microbiológica de fermentaciones vínicas y panaderas en Andalucía aglutinan personas con una amplia experiencia en levaduras (Andrés Garzón, Juan Quintero y Juan Jiménez, investigadores del Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, CSIC-UPO-Junta de Andalucía / UPO) y en bacterias (Belén Floriano, investigadora del Dpto. de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ciencias Experimentales, UPO).

En el campo de las fermentaciones vínicas el grupo cuenta con el liderazgo de Juan Jiménez, que presenta una extensa trayectoria de investigación sobre levaduras vínicas en los marcos de vinos de Jerez y Montilla Moriles y, especialmente, en la caracterización de levaduras de flor, habiendo identificado, por ejemplo, el gen responsable de la capacidad de colonizar la superficie del vino¹. Recientemente, hemos trabajado con varias bodegas andaluzas de la zona del Aljarafe sevillano y de la Sierra Norte de la provincia con el objetivo de identificar microorganismos autóctonos, levaduras y bacterias lácticas en los viñedos de las diferentes uvas utilizadas y mostos fermentados. Es conocido que la microbiota asociada a los viñedos de cada región contribuye al llamado *terroir* que deja una huella única en los vinos de cada bodega². Así, el aislamiento e identificación de los microorganismos autóctonos tanto



Figura 1. De izquierda a derecha, Andrés Garzón, Juan Jiménez y Belén Floriano. Completa la imagen D. Pedro Oliver, director de la Escuela Superior de Hostelería de Sevilla y coorganizador del curso.

de uvas como de fermentaciones vínicas naturales permite, no solo la conservación de la biodiversidad asociada a este ecosistema, sino su posible explotación y una mayor comprensión de su papel en las características propias y únicas de cada vino. La identificación se realiza combinando técnicas de microbiología clásica dependientes de cultivo en medios selectivos/indicadores y técnicas moleculares independientes de cultivo como la ampliación de secuencias ITS y su análisis mediante RFLP y secuenciación, así como mediante el análisis de microsatélites para la identificación y monitorización de las diferentes cepas de *S. cerevisiae*. En el caso de bacterias lácticas de la especie *Oenococcus oeni*, responsables de la fermentación maloláctica de vinos tintos, se utilizan otros marcadores genéticos para la detección de

diferentes cepas³. La disponibilidad de una planta piloto en la universidad permite llevar a cabo microvinificaciones controladas para el estudio de la contribución de cada microorganismo y/o combinaciones de los mismos al vino resultante.

Además, el grupo está particularmente interesado en el estudio del fenotipo *killer* de las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* identificadas⁴, tanto en el conocimiento

¹ Fidalgo M, Barrales RR, Ibeas JI, Jimenez J. Adaptive evolution by mutations in the FLO11 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Jul 25;103(30):11228-33. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0601713103>

² Knight, S., Klaere, S., Fedrizzi, B. et al. Regional microbial signatures positively correlate with differential wine phenotypes: evidence for a microbial aspect to *terroir*. *Sci Rep* 5, 14233 (2015). <https://doi.org/10.1038/srep14233>

³ Claisse, O.; Lonvaud-Funel, A. Development of a multilocus variable number of tandem repeats typing method for *Oenococcus oeni*. *Food Microbiology* **2012**, 30: 340-347. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.01.001>

⁴ Quintero-Blanco J, Jimenez J, Garzón A. A Simple Multiplex Reverse Transcription-PCR Method for the Diagnosis of L-A and M Totiviruses



Figura 2. Actividad fermentativa de bacterias y levaduras de masas madres panaderas medida en producción de gas capaz de inflar un globo y aumentar el volumen de la masa.

de su biología básica y su ecología⁵ como sus posibles usos biotecnológicos. Las cepas *killer* se caracterizan por portar en su citoplasma dos totivirus de ARNdc: M, que codifica una toxina capaz de matar a levaduras competidoras que no poseen el virus y L-A, que codifica las proteínas necesarias para la replicación y encapsidación de ambos virus. Aunque se podría presuponer que este fenotipo les confiriera a las cepas una ventaja selectiva en las fermentaciones vínicas, los datos obtenidos distan de demostrar esta hipótesis, lo que indica la necesidad de una mayor investigación sobre su significado biológico.

Otras aportaciones biotecnológicas del grupo han sido el desarrollo de sistemas de diagnóstico temprano de infección de los vinos por levaduras del género *Brettanomyces*⁶ y el desarrollo y comercialización de un vino naturalmente dulce sin sulfitos

in *Saccharomyces cerevisiae*. Appl Environ Microbiol. 2022 Feb 22;88(4):e0221321. <https://doi.org/10.1128/aem.02213-21>

⁵ Quintero-Blanco, J.; Delodi, E.; Garzón, A.; Jimenez, J. Sexually-Driven Combinatorial Diversity in Native *Saccharomyces* Wine Yeasts. *Fermentation* 2022, 8, 569. <https://doi.org/10.3390/fermentation8100569>

⁶ Ibeas JI, Lozano I, Perdignes F, Jimenez J. Detection of *Dekkera-Brettanomyces* strains in sherry by a nested PCR method. Appl Environ Microbiol. 1996 Mar;62(3):998-1003. <https://doi.org/10.1128/aem.62.3.998-1003.1996>

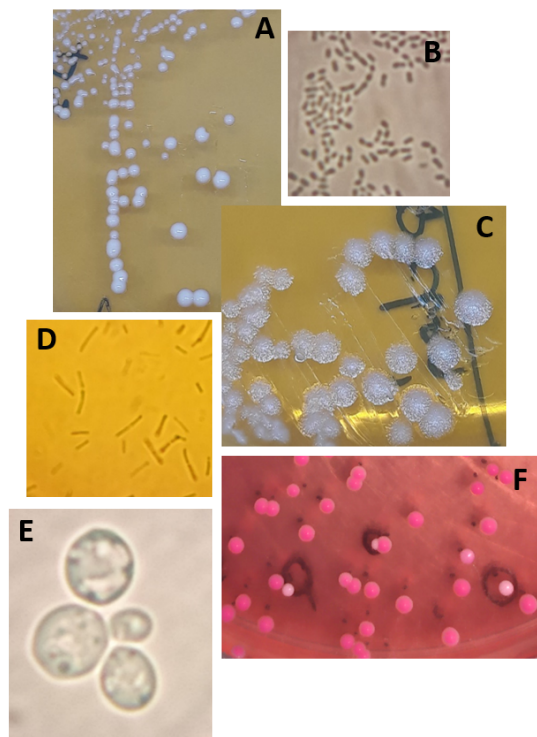


Figura 3. Microorganismos aislados de masas madre panaderas. A. Colonias de *Companilactobacillus paralimentarius* en medio MRS. B. Células de *Leuconostoc lactis*. C. Colonias de *Levilactobacillus spicheri* en medio MRS. D. Células de *Fructilactobacillus sanfranciscensis*. E. Células de *Saccharomyces cerevisiae*. F. Colonias de levaduras en medio rosa de Bengala (rosa pálido, *Saccharomyces cerevisiae* y rosa oscuro, *Kazachstania humilis*).

ni otros aditivos que se comercializa bajo la marca Olavidium y que se sirve a varios restaurantes de la ciudad⁷.

El estudio de las fermentaciones panaderas por parte del grupo es relativamente reciente⁸. Para ello, se colabora con empresas y panaderías artesanas de la provincia de Sevilla que utilizan masas madre propias para la elaboración de pan con el fin de caracterizar microbiológicamente dichas masas y dotar de fundamento científico a las cualidades de los panes elaborados. Los resultados obtenidos hasta el momento confirman la especificidad de los consorcios microbianos en cada obrador y la estabilidad de los mismos siempre y cuando las condiciones ambientales se mantengan constantes. Así, cada masa

madre se caracteriza por una proporción de levaduras, bacterias lácticas y bacterias acéticas concreta y una asociación específica de géneros y cepas de cada uno de estos microorganismos, lo que proporciona un *fingerprint* identificativo a cada masa. La caracterización de las propiedades biotecnológicas de los microorganismos aislados permitirá asociar algunas de las características saludables descritas en la literatura⁹ a los panes elaborados con estas masas madre. También trabajamos en identificar las condiciones que determinan la estabilidad microbiológica de las masas madre.

Una parte importante de la actividad del grupo es la participación en actividades de difusión de los resultados de investigación a la sociedad como la Noche Europea de I@S Investigador@s o la organización de cursos de verano en diferentes universidades.

⁷ www.olavidium.es

⁸ Identificación de la microbiota de masas madre panaderas mediante técnicas dependientes e independientes de cultivo y evaluación del impacto de su ingesta en el comportamiento de *Drosophila melanogaster*. Proyecto Programa Operativo FEDER andalucía 2014-2020.

⁹ Gobetti, M., Rizzello, C. G., Di Cagno, R. & De Angelis, M. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. *Food Microbiol.* 2014. 37, 30-40. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.012>

Seguridad alimentaria, alimentación e higiene de los alimentos

ROSA CAPITA GONZÁLEZ Y CARLOS ALONSO CALLEJA

Área de Nutrición y Bromatología, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de León.

✉ rosa.capita@unileon.es | carlos.alonso.calleja@unileon.es



Figura 1. Varios miembros del Grupo SEGURALI en EXPOCIENCIA UNILEÓN 2023. Parte inferior, de izquierda a derecha: Rosa Capita, Lucía Gómez, Cristina Rodríguez y Llano Serna. Parte superior, de izquierda a derecha: Camino González, Estefanía Rodríguez (alumna colaboradora), Ruselvine Cáceres y Sarah Panera.

El Grupo de Investigación Reconocido, de carácter consolidado, de la Universidad de León (ULE) "Seguridad Alimentaria, Alimentación e Higiene de los Alimentos"

(GIR 464; SEGURALI) está constituido por 12 miembros: dos Catedráticos de Universidad, un Profesor Titular de Universidad, un Profesor Ayudante Doctor, dos contra-

tados postdoctorales, cinco contratados predoctorales y un técnico de laboratorio. Este Grupo de Investigación tiene el reconocimiento de Unidad de Investigación



Figura 2. Carlos Alonso Calleja, Investigador Responsable del Grupo SEGURALI.

Consolidada de la Junta de Castilla y León (UIC 253). Su sede está en el Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos (Facultad de Veterinaria) y en el Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL) de la ULE.

La actividad del Grupo SEGURALI está enfocada a la mejora de la Seguridad Alimentaria, combinando la investigación con la oferta tecnológica que requiere el sector empresarial. Para ello, se están desarrollando cuatro líneas de trabajo principales.

La primera de ellas se refiere al **control de la resistencia a los antibióticos**, que es una de las principales amenazas para la Salud Pública en el siglo XXI. Con objeto de esclarecer la contribución del sistema alimentario a este problema, se está realizando la caracterización fenotípica y genotípica de la resistencia a antibióticos en bacterias aisladas a lo largo de la cadena de producción de alimentos, desde el sector primario hasta el consumidor. Además, se está evaluando el efecto de diferentes factores sobre dicha resistencia. Así, se ha observado que el daño subletal provocado por determinados agentes físi-

cos o químicos (por ejemplo, dosis bajas de aditivos o desinfectantes) reduce la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos. Los mecanismos involucrados en este incremento de la resistencia están siendo determinados mediante estudios de fisiología bacteriana y expresión génica, así como por técnicas de microscopía electrónica y proteómica.

Otra línea de investigación está orientada a la **eliminación de las biopelículas** o biofilms bacterianos. Estas estructuras, que se pueden formar en diferentes superficies, son una fuente importante de contaminación y, dada su elevada resistencia a los biocidas y a los antibióticos, suponen un desafío para la industria alimentaria y el sistema sanitario. Los miembros del Grupo de Investigación SEGURALI han desarrollado y puesto a punto varios programas informáticos (BioRCA 1.3, BioRCA 1.4, BioRCA 1.7 y BioRCA 1.8) para analizar las imágenes de los biofilms previamente adquiridas por microscopía láser confocal de barrido. De esta manera, además de generarse las reconstrucciones tridimensionales de las biopelículas, se obtienen datos numéricos de sus principales pará-

metros estructurales (volumen, porcentaje de superficie cubierta, altura y rugosidad), lo que posibilita un posterior análisis estadístico. La metodología desarrollada permite conocer y comparar la viabilidad y la arquitectura de las biopelículas expuestas a diferentes condiciones, etapa necesaria para el diseño de estrategias de higienización efectivas.

Una tercera línea de investigación está relacionada con la **determinación y la prolongación de la vida útil de los alimentos**. Los estudios de vida útil se basan en análisis microbiológicos (en ocasiones se hace uso de la microbiología predictiva, empleando diferentes modelos matemáticos y programas informáticos), determinaciones instrumentales del color y estudios sensoriales realizados con paneles de cata. Para conseguir alargar la vida útil de los alimentos se están ensayando distintos procedimientos de conservación, tanto físicos como químicos (actualmente se está valorando la utilidad de varios compuestos de origen vegetal, algunos de los cuales ofrecen resultados prometedores).

Por otro lado, el Grupo SEGURALI realiza investigaciones encaminadas al desarrollo y optimización de nuevos protocolos para la **detección, cuantificación, identificación y tipificación de microorganismos** presentes en la cadena alimentaria. Por lo que respecta concretamente a la detección y cuantificación de bacterias en alimentos, determinaciones imprescindibles para verificar el cumplimiento de la normativa, se han puesto a punto procedimientos de trabajo basados en métodos dependientes e independientes de cultivo que permiten acortar sustancialmente el tiempo necesario para la obtención de resultados, a la vez que mejorar la sensibilidad de las pruebas, aspectos clave para satisfacer las demandas de la industria alimentaria. Además, se han desarrollado metodologías que posibilitan la cuantificación, por separado, de las bacterias de diferentes estados fisiológicos (viables cultivables, viables no cultivables e inactivadas). Actualmente se están caracterizando las comunidades microbianas presentes en los entornos de procesamiento de alimentos utilizando técnicas de secuenciación masiva (metagenómica).

Bibliografía

- Capita R y Alonso-Calleja C.** (2013). Antibiotic-resistant bacteria: a challenge for the food industry. *Crit Rev Food Sci Nutr* 53: 11-48. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.519837>
- Capita R, Riesco-Peláez F, Alonso-Hernando A y Alonso-Calleja, C.** (2014). Exposure of *Escherichia coli* ATCC 12806 to sublethal concentrations of food-grade biocides influences its ability to form biofilm, resistance to antimicrobials, and ultrastructure. *Appl Environ Microbiol* 80: 1268-1280. <https://doi.org/10.1128/AEM.02283-13>
- Rodríguez-Melcón C, Alonso-Calleja C y Capita, R.** (2017). Lactic acid concentrations that reduce microbial load yet minimally impact colour and sensory characteristics of beef. *Meat Sci*, 129: 169-175. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2017.01.007>
- Alonso-Calleja C, Guerrero-Ramos E y Capita, R.** (2017). Hygienic status assessment of two lamb slaughterhouses in Spain. *J Food Prot* 80(7): 1152-1158. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-330>
- Buzón-Durán L, Alonso-Calleja C, Riesco-Peláez F. y Capita R.** (2017). Effect of sub-inhibitory concentrations of biocides on the architecture and viability of MRSA biofilms. *Food Microbiol* 65: 294-301. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2017.01.003>
- González-Machado C, Capita R, Riesco-Peláez F y Alonso-Calleja, C.** (2018a). Visualization and quantification of the cellular and extracellular components of *Salmonella* Agona biofilms at different stages of development. *PLoS ONE* 13(7): e0200011 <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0200011>
- Rodríguez-Melcón C, Riesco-Peláez F, Carballo J, García-Fernández C, Capita, R y Alonso-Calleja, C.** (2018b). Structure and viability of 24- and 72-h-old biofilms formed by four pathogenic bacteria on polystyrene and glass contact surfaces. *Food Microbiol* 76: 513-517. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2018.06.016>
- Rodríguez-Melcón C, Capita R, García-Fernández C y Alonso-Calleja, C.** (2018). Effects of bacteriophage P100 at different concentrations on the structural parameters of *Listeria monocytogenes* biofilms. *J Food Prot* 81(12): 2040-2044. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-177>
- Capita R, Álvarez-González T y Alonso-Calleja, C.** (2018). Effect of several packaging conditions on the microbiological, physicochemical and sensory properties of ostrich steaks during refrigerated storage. *Food Microbiol* 72: 146-156. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2017.10.007>
- Rodríguez-Melcón C, Riesco-Peláez F, García-Fernández C., Alonso-Calleja C. y Capita, R.** (2019). Susceptibility of *Listeria monocytogenes* planktonic cultures and biofilms to sodium hypochlorite and benzalkonium chloride. *Food Microbiol* 82: 533-540. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2019.03.020>
- Capita R, Cordero J, Molina-González D, Igrejas G, Poeta P y Alonso-Calleja, C.** (2019). Phylogenetic diversity, antimicrobial susceptibility and virulence characteristics of *Escherichia coli* isolates from pigeon meat. *Antibiotics* 8(4): 259. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS8040259>
- Rodríguez-Campos D, Rodríguez-Melcón C, Alonso-Calleja, C y Capita, R.** (2019). Persistent *Listeria monocytogenes* isolates from a poultry-processing facility form more biofilm but do not have a greater resistance to disinfectants than sporadic strains. *Pathogens* 8(4): 250. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS8040250>
- Capita R, Vicente-Velasco M, Rodríguez-Melcón C, García-Fernández C, Carballo J, y Alonso-Calleja, C.** (2019). Effect of low doses of biocides on the antimicrobial resistance and the biofilms of *Cronobacter sakazakii* and *Yersinia enterocolitica*. *Sci Rep* 9(1): 15905. <https://doi.org/10.1038/S41598-019-51907-1>
- Rodríguez-Melcón C, Alonso-Calleja C y Capita, R.** (2019). Architecture and viability of the biofilms formed by nine *Listeria* strains on various hydrophobic and hydrophilic materials. *Appl Sci (Switzerland)* 9(23): 5256. <https://doi.org/10.3390/APP9235256>
- Castaño-Arriba A, González-Machado C, Igrejas G, Poeta P, Alonso-Calleja C y Capita, R.** (2020). Antibiotic resistance and biofilm-forming ability in enterococcal isolates from red meat and poultry preparations. *Pathogens* 9(12): 1-12. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS9121021>
- Rodríguez-Melcón C, Alonso-Hernando A, Riesco-Peláez F, García-Fernández C, Alonso-Calleja C y Capita R.** (2021). Biovolume and spatial distribution of foodborne Gram-negative and Gram-positive pathogenic bacteria in mono- and dual-species biofilms. *Food Microbiol* 94: 103616. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2020.103616>
- Rodríguez-Melcón C, Esteves A, Panera-Martínez S, Capita R y Alonso-Calleja, C.** (2022). Quantification of total and viable cells and determination of serogroups and antibiotic resistance patterns of *Listeria monocytogenes* in chicken meat from the North-Western Iberian Peninsula. *Antibiotics* 11(12): 1828. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS11121828>
- Panera-Martínez S, Rodríguez-Melcón C, Serrano-Galán V, Alonso-Calleja C y Capita, R.** (2022). Prevalence, quantification and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in poultry preparations. *Food Control* 135: 108608. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.108608>
- Rodríguez-Melcón C, Serrano-Galán V, Capita, R y Alonso-Calleja, C.** (2023). Estimation by flow cytometry of percentages of survival of *Listeria monocytogenes* cells treated with tetracycline, with or without prior exposure to several biocides. *Food Microbiol* 112: 104210. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2022.104210>
- Rodríguez-Melcón C, Alonso-Calleja C y Capita, R.** (2023). Effect of low doses of biocides on the susceptibility of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* to various antibiotics of clinical importance. *Food Control* 149: 109602. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2023.109602>

Análisis microbiológico de los alimentos. Guía de aplicación de normas ISO

DAVID TOMÁS FORNÉS¹, NURIA LÓPEZ-MOLINA CANTERA², NATALIA PRADO MARRÓN³

¹bioMérieux

²Laboratorio Municipal de Vitoria-Gasteiz

³Natalia Prado Marrón: ASINCAR C.T.

✉ davidtomasfornes@gmail.com



Foto de grupo. De izquierda a derecha: David Tomás Fornés, Nuria López-Molina Cantera y Natalia Prado Marrón.

Nos parece oportuno empezar nuestra presentación explicando que nuestro “grupo” es un tanto peculiar. Somos un grupo de especialistas en microbiología de alimentos unidos por intereses comunes en torno a los métodos analíticos y la normalización en los análisis de alimentos y en esa línea hemos colaborado durante los últimos dos años en la publicación de un libro en el que hemos estado implicados como coautores: David Tomás Fornés, Nuria López-Molina Cantera y Natalia Prado Marrón. Así pues, no somos un equipo de investigación, no trabajamos en el mismo laboratorio, ni siquiera vivimos en la misma ciudad y pertenecemos tanto al sector público como privado: David trabaja como subdirector de asuntos científicos en bioMérieux, Nuria es la directora técnica de microbiología del Laboratorio Municipal

de Vitoria-Gasteiz y Natalia es responsable de microbiología en ASINCAR C.T.

El nexo en común de los autores fue la pertenencia al Grupo de Alimentos de la SEM, trabajar en áreas similares aplicadas a la microbiología de alimentos y, sobre todo, la voluntad y la energía de crear un libro que nos gustaría tener a nosotros en nuestra rutina. En su día, allá por 2021, AENOR planteó la posibilidad de escribir un libro a miembros de éste grupo de la SEM, y tras reuniones varias, surgió el proyecto, ya hecho realidad, entre los tres colaboradores.

Nos hemos sentido libres para desarrollar el libro que queríamos tener en nuestras manos, pensando siempre que fuese de gran utilidad tanto en el sector profe-

sional, como en el académico contribuyendo a la calidad y seguridad alimentaria mediante el empleo de métodos de análisis de referencia. Hemos intentado realizar una tarea de síntesis y simplificación de las Normas aplicables, sin obviar los aspectos fundamentales para la implantación de las guías generales y ejecución de los métodos de ensayo, aportando nuestra experiencia en el uso de los mismos.

Nuestro enfoque pretende alcanzar varios objetivos y abarcar un público diverso. Por un lado, se incluyen tanto conceptos e información relevante para las personas que se acercan por primera vez a los métodos de análisis microbiológicos, como referencias técnicas que permiten profundizar en los métodos y servir de guía, en el ámbito académico y en el

Análisis microbiológico de los alimentos. Guía de aplicación de normas ISO

David Tomás Fornés, Nuria López-Molina Cantera, Natalia Prado Marrón



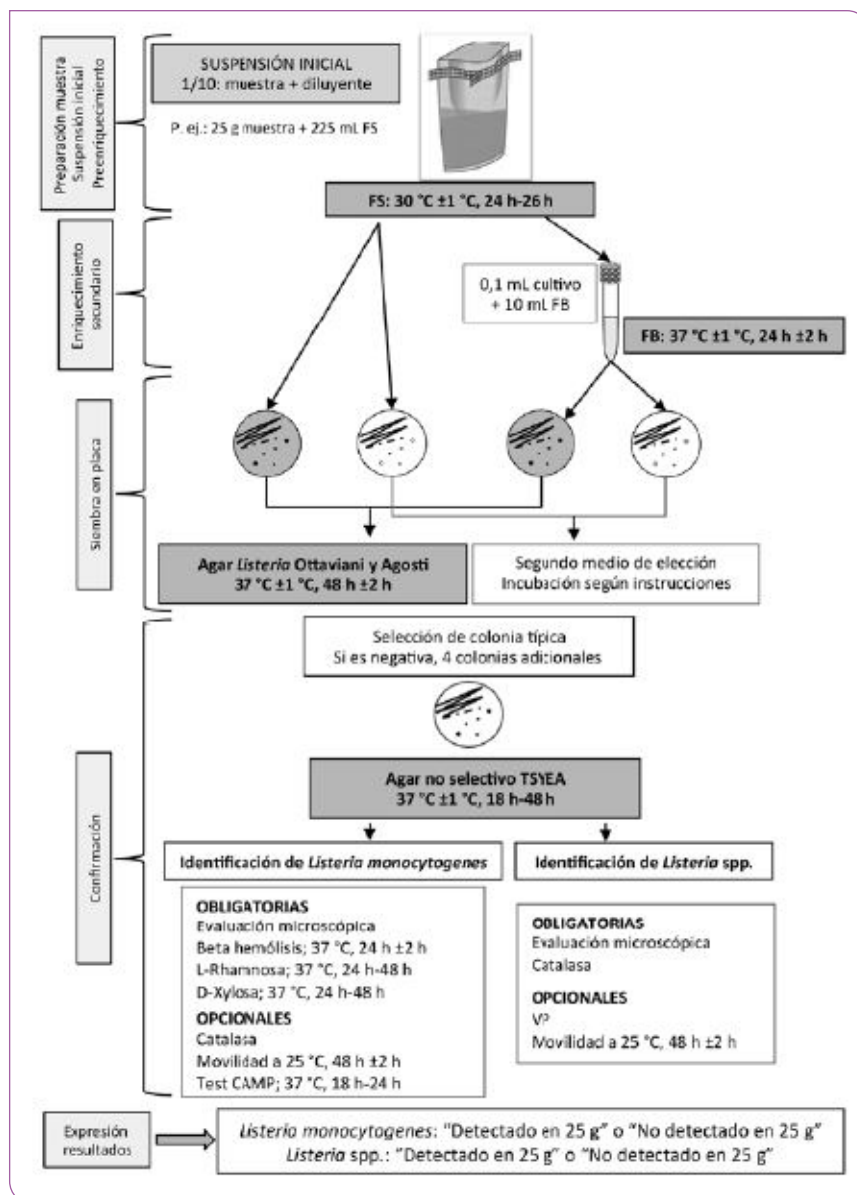
AENOR

Portada del libro publicado por AENOR

profesional. Por otra parte, en el caso de la aplicación de los métodos de ensayo microbiológicos en un laboratorio de análisis, el objetivo es facilitar la implantación de las Normas.

El libro contiene las principales guías y métodos de análisis microbiológico de uso habitual en el control de la seguridad y calidad de alimentos, incluyendo los contemplados en la legislación vigente. Se incluyen resúmenes simplificados y diagramas esquemáticos de las Normas de referencia ISO, así como los aspectos fundamentales para su implantación y ejecución, de modo que pueda ser empleado tanto para estudiantes que deseen una mayor especialización en esta área como para el uso práctico de los profesionales implicados en el control microbiológico de alimentos. Creemos que los diagramas que acompañan a cada método de análisis serán bienvenidos para facilitar su entendimiento y consulta. No obstante, los resúmenes y gráficos aportados no pretenden reemplazar las Normas de referencia en toda su extensión y detalle.

Respecto a las Normas recogidas en este libro, se incluyen 8 guías generales y 29 métodos analíticos. Indicar que son todas las que están, pero no están todas las que son. Hemos querido limitar el alcance del libro a las guías generales que deben ser de uso común para todos los labora-



Ejemplo de esquema del método de detección de *L. monocytogenes* ISO 11290-1:2017.

torios de microbiología, los métodos de ensayo que tienen su fundamento en técnicas de cultivo y a aquellos microorganismos de mayor relevancia para la industria alimentaria.

Creemos también importante destacar el arduo trabajo asociado al desarrollo, publicación y revisión de las Normas. Cada método lleva consigo un proceso preliminar de investigación y desarrollo, seguido del proceso de normalización, basado en el consenso y la armonización entre múltiples partes, como agencias de seguridad alimentaria, laboratorios de referencia, laboratorios públicos y privados, universi-

dades, centros tecnológicos, compañías de diagnóstico, de equipamiento, etc.

El libro fue publicado por AENOR en octubre de 2022, y está disponible en formatos papel o pdf a través de su página web. (<https://tienda.aenor.com/libro-analisis-microbiologico-de-los-alimentos-guia-de-aplicacion-de-normas-iso-20186>).

VISAFELab: Laboratorio de Virología Ambiental y Seguridad Alimentaria

IRENE FALCÓ, ENRIC CUEVAS FERRANDO, WALTER RANDAZZO, ALBA PÉREZ CATALUÑA, GLORIA SÁNCHEZ

Departamento de Tecnologías de Conservación y Seguridad Alimentaria, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), C/ Agustín Escardino 7, 4980, Paterna (Valencia).

✉ gloriasanchez@iata.csic.es

🌐 <https://visafelab.iata.csic.es/>

🐦 @VISAFELab



Foto 1: Miembros del Grupo VISAFELab. De pie, de izquierda a derecha: Azahara Díaz-Reolid, Inés Girón-Guzmán, Arianna Pérez, Sandra Ballesteros, Agustín Garrido, Alba Pérez-Cataluña, Gloria Sánchez, Andrea López de Mota, Walter Randazzo, Enric Cuevas-Ferrando, Irene Falcó. Fila inferior: Pablo Puchades

Las investigaciones del grupo de Virología Ambiental y Seguridad Alimentaria (VISAFELab) del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC) se centran principalmente en el estudio de patógenos humanos víricos que amenazan la seguridad de los alimentos viéndose comprometida la salud de los consumidores, constituyendo un serio problema sanitario. Para abordar estos riesgos, el grupo ha desarrollado y validado métodos rápidos basados en PCR a tiempo real para la detección y cuantificación de los principales virus de transmisión alimentaria (norovirus y virus de hepatitis A y E) en alimentos y agua. Dentro de esta línea de investigación

el grupo ha participado activamente en el desarrollo de métodos moleculares basados en la integridad de la cápside para la detección selectiva de virus infecciosos transmitidos por alimentos. Finalmente, en los últimos años el grupo ha implementado el uso de técnicas de secuenciación masiva para la caracterización del viroma en aguas de plantas depuradoras, potabilizadoras, aguas de riego y alimentos.

El grupo también investiga la eficacia de los tratamientos de conservación de alimentos (por ejemplo, tratamiento térmico, altas presiones, desinfectantes químicos y naturales, envases antivirales

y recubrimientos comestibles) frente a estos patógenos utilizando métodos basados en cultivo celular, y recientemente incorporando el uso de enteroides para la replicación de los norovirus humanos. Los estudios más recientes del grupo han permitido establecer criterios para el uso eficaz de desinfectantes en aguas de lavado de vegetales de IV gama para controlar la contaminación vírica cruzada en el marco de un proyecto americano en colaboración con el CEBAS-CSIC.

Desde el inicio de la pandemia el grupo ha desarrollado procedimientos de análisis molecular para alertar de la circulación



Foto 2: Visión general de las líneas principales de investigación del grupo VISAFELab

del SARS-CoV-2 contribuyendo activamente en la implementación nacional y global de la epidemiología basada en aguas residuales para monitorizar la propagación de la COVID-19, además de implementar métodos de detección del SARS-CoV-2 en diferentes tipos de aguas y superficies de contacto alimentario.

En los últimos años, el grupo ha centrado sus proyectos en el estudio de riesgos biológicos relacionados con la regeneración de las aguas residuales y biosólidos de uso agrícola. La aparición de enfermedades zoonóticas nuevas y altamente infecciosas causadas por patógenos como el SARS-CoV-2, plantea cuestiones que deben abordarse para orientar las políticas de salud pública, como es elucidar el riesgo de transmisión de estos patógenos por exposición a aguas y alimentos contaminados. En el contexto del proyecto coordinado IMAGE del plan Nacional (2021-2024), con participación del IDAEA-CSIC y la Universidad Autónoma de Barcelona, estamos evaluando la presencia y persistencia de virus emergentes y bacterias resistentes a antibióticos y genes de resistencia a antibióticos desde la entrada a plantas depuradoras, a través de efluentes, lodos, y aguas ambientales del Delta del Ebro y la Albufera.

En esta línea, en el marco del proyecto LAGOON del programa Prometeo de la GVA se está evaluando la incidencia y estabilidad de virus emergentes e indicadores virales (como fagos) en aguas de riego, aguas de consumo, lodos y moluscos bivalvos en la Comunidad Valenciana.

Perspectivas futuras

El objetivo global a largo plazo es generar conocimiento que contribuya a mejorar la seguridad de alimentos, mediante el uso de técnicas moleculares para la detección y caracterización de virus patógenos a lo largo de la cadena alimentaria y el ciclo del agua, y evaluar la eficacia de las nuevas tecnologías de conservación, desinfección y/o inactivación de virus en aguas, superficies de contacto alimentario y alimentos.

Publicaciones recientes seleccionadas

Falcó, Tudela, Hernández, Pérez-Cataluña, García, Truchado, Garrido, Allende, Sánchez, Gil, Antiviral capacity of sanitizers against infectious viruses in process water from the produce industry

under batch and continuous conditions, Food Control, 150, 2023, 109738, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109738>

Falcó, Randazzo, Pérez, Martínez, Rodrigo, Sánchez, High pressure treatment and green tea extract synergistically control enteric virus contamination in beverages, Food Control, 144, 2023, 109384, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109384>

Pérez-Cataluña, Randazzo, Martínez-Blanch, Codoñer, Sánchez, Sample and library preparation approaches for the analysis of the virome of irrigation water. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2023, <https://doi.org/10.1002/jsfa.12522>

Cuevas-Ferrando, Allende, Pérez-Cataluña, Truchado, Hernández, Gil, Sánchez, Occurrence and accumulation of human enteric viruses and phages in process water from the fresh produce industry, Foods, 10(8), 2021, 1853, <https://doi.org/10.3390/foods10081853>

Ecología e interacciones microbianas

JAVIER VICENTE, SERGIO IZQUIERDO, BELÉN BENÍTEZ-DOMÍNGUEZ, MIGUEL DE CELIS, JAVIER RUIZ, DOMINGO MARQUINA, IGNACIO BELDA, ANTONIO SANTOS

Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología (Unidad de Microbiología). Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. C/José Antonio Novais, 12. 28040. Madrid.

✉ ansantos@ucm.es

El laboratorio de ECOLOGÍA E INTERACCIONES MICROBIANAS (MINE Lab) forma parte del grupo de investigación de Ecología y Biotecnología Microbianas (Ref: 910672) de la Universidad Complutense de Madrid (<http://minelab.bioucm.es/>). En el grupo, bajo un mismo marco teórico de ecología de comunidades microbianas para la mejora de procesos biotecnológicos, coexisten dos líneas de investigación, (1) la fermentación vínica y (2) la depuración de aguas residuales. Está integrado por dos catedráticos, una profesora contratada doctora, dos profesores ayudantes doctores, una profesora asociada y una profesora honorífica. Actualmente, el grupo cuenta con dos investigadores predoctorales y dos investigadores en formación contratados por el Programa Investigo. El grupo, que también cuenta con una amplia red de colaboradores, tanto nacionales como internacionales, persigue el equilibrio entre ciencia fundamental y aplicada, por lo que continuamente participa en proyectos industriales con empresas del sector enológico y del tratamiento y gestión integral del agua. Asimismo, nuestro laboratorio tiene un fuerte compromiso con la formación de jóvenes investigadores, desde el nivel de pregrado hasta el de postdoctorado, por eso, siempre está abierto a recibir nuevas personas, especialmente investigadores interesados en la ecología y metabolismo microbianos, desde la genómica hasta la fenómica.

Los investigadores del MINE Lab (Figura 1), microbiólogos, bioinformáticos y ecólogos, estamos centrados en el estudio de los ecosistemas microbianos relacionados con las fermentaciones vínicas y trabajamos juntos para una comprensión integradora de los mecanismos ecológicos y moleculares que rigen el funcionamiento del microbioma del vino. En la actualidad, nuestro laboratorio cuenta con dos líneas de investigación relacionadas con la enología, financiadas con distintos proyectos



Integrantes del laboratorio de Ecología e Interacciones Microbianas (MINE Lab). De izquierda a derecha: (atrás) Antonio Santos, Javier Ruiz, Sergio Izquierdo, Ignacio Belda, (delante) Javier Vicente, Belén Benítez, Miguel de Celis, Domingo Marquina.

industriales y de generación de conocimiento fundamental.

Selección de cepas de levaduras para la mejora de la calidad del vino.

La microbiología asociada al proceso de fermentación espontánea de un mosto de uva consiste en una compleja sucesión de especies de levaduras que establecen una dinámica poblacional determinada, fundamentalmente, por la presión selectiva que ejercen la alta presión osmótica y la creciente concentración de etanol en el medio. En estas condiciones *Saccharomyces cerevisiae* logra dominar y llevar a término el proceso de fermentación. No obstante, durante este proceso, especialmente en las primeras etapas, *S. cerevisiae* coexiste con

una gran diversidad de especies de levaduras "no-*Saccharomyces*" involucradas en la fermentación vínica. Es precisamente en este aspecto en el que el equipo más ha trabajado, buscando levaduras que pudieran complementar la fermentación realizada por *S. cerevisiae* caracterizando sus propiedades metabólicas (Belda et al., 2016). En los últimos años, hemos estudiado la forma en que distintas especies de levadura (p. ej. *Torulaspora delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima* o *Lachancea thermotolerans*) contribuyen al perfil metabólico de los vinos, incidiendo en parámetros determinantes de su calidad tecnológica (Belda et al., 2016) o sensorial (Belda et al., 2017, Vicente et al., 2023a) para mejorar algunas características de interés enológico que se encuentran ausentes en la mayoría de cepas vínicas de *S. cerevisiae* (Ruiz et al., 2021). Además, el empleo de las tecnologías de secuenciación masiva ha mostrado una diversidad filoge-

nética mayor de lo esperado en las fermentaciones vínicas (de Celis et al., 2022), por lo que, para arrojar luz en el posible papel que juegan algunas de las especies difícilmente detectables en los vinos, estamos llevando a cabo la caracterización de la ecología y metabolismo de especies de levaduras minoritarias durante la fermentación (Ruiz et al., 2019, Vicente et al., 2023b).

Recientemente, y en el ámbito del proyecto LowpH-Wine “*Estudio de los mecanismos moleculares y procesos metabólicos en levaduras de origen enológico para el control de la acidez en vinos*” (CIEN-CDTI), cuyo objetivo global es el desarrollo de herramientas de control que palíen el efecto del cambio climático sobre el viñedo y el vino, junto con el proyecto “*Mejora de la seguridad alimentaria y la calidad de vinos españoles afectados por el cambio climático mediante el empleo de levaduras de géneros no-Saccharomyces*” (convocatoria de Generación de Conocimiento, AEI), nos hemos centrado en la búsqueda y estudio de levaduras con incidencia sobre el contenido final de ácidos orgánicos presentes en el vino (Vicente et al., 2022). Una de las levaduras con mayor influencia sobre la acidez es *L. thermotolerans*, una especie de la que aún se desconoce gran parte de su ecología y metabolismo y que produce elevadas concentraciones de ácido láctico a partir de glucosa, reduciendo el pH del vino e incrementando su estabilidad microbiológica (Vicente et al., 2021). Nuestro objetivo no es solo determinar la influencia de esta especie en la fermentación vínica, sino también conocer su ecología desde un punto de vista filo-funcional.

Ecología de comunidades y mecanismos de interacción en el microbioma del vino.

La microbiota del mosto de uva depende, en gran medida, de las comunidades microbianas que se establecen en los viñedos. Tras la observación empírica del papel de distintas especies de levaduras sobre la composición química de los vinos (Belda et al., 2017), decidimos estudiar los efectos de la co-inoculación de *S. cerevisiae* con otras especies de levaduras, a nivel de su perfil transcripcional y metabólico, observando que estas interacciones pueden variar en función de las condiciones fermentativas

(Ruiz et al., 2020). En este sentido, hemos estudiado los patrones de diversidad de las comunidades microbianas de los suelos de viñedos a escala global (Gobbi et al., 2022), así como el impacto de las prácticas agrícolas sobre la estructura de dichas comunidades (Ortiz-Álvarez et al., 2021). También hemos elaborado un catálogo de especies de hongos y levaduras detectables en mostos de uva y fermentaciones vínicas por técnicas moleculares, describiendo sus patrones de prevalencia y abundancia relativa (de Celis et al., 2022). Para entender la relación entre la composición de las comunidades microbianas del mosto de uva y la calidad final de los vinos, es necesario conocer los patrones de ensamblaje de las comunidades de levaduras vínicas y el impacto de factores bióticos (interacciones interespecíficas) y abióticos (composición físico-química del mosto, condiciones fermentativas, etc.) en su funcionamiento. Esta línea se encuentra financiada por el proyecto Wine-teractions “*A systems biology perspective on wine fermentation: from microbial ecology to wine ecosystem modelling*” (convocatoria de Generación de Conocimiento, AEI). En este proyecto, destacamos el desarrollo de un marco teórico que permite predecir el funcionamiento de distintos consorcios de levaduras vínicas, a partir de la información filogenética de las especies que lo componen (Ruiz et al., 2022). En esta línea, nuestro objetivo es continuar explorando el vino como un modelo de estudio para responder preguntas fundamentales en ecología, evolución e interacción entre microorganismos (Ruiz et al., 2020; Belda et al., 2021).

Bibliografía

- Belda, I., Conchillo LB, Ruiz J, Navascués E, Marquina D, Santos A. (2016) Selection and use of pectinolytic yeasts for improving clarification and phenolic extraction in winemaking. *Int J Food Microbiol.* 223:1-8.
- Belda, I., Ruiz J, Beisert B, Navascués E, Marquina D, Calderón F, Rauhut D, Benito S, Santos A. (2017) Influence of *Torulaspora delbrueckii* in varietal thiol (3-SH and 4-MSP) release in wine sequential fermentations. *Int J Food Microbiol.* 257:183-191.
- Belda, I., Williams, T., de Celis, M., Paulsen, IT., Pretorius, I. (2021) Seeding the idea of encapsulating a representative synthetic metagenome in a single yeast cell. *Nat Commun.* 12(1):1599.
- de Celis, M., Ruiz, J., Vicente, J., Acedo, A., Marquina, D., Santos, A., Belda, I. (2022) Expectable diversity patterns in wine yeast communities. *FEMS Yeast Res.* 22(1):foac034.
- Gobbi, A., Acedo, A., Imam, N., Santini, RG., Ortiz-Álvarez, R., Ellegaard-Jensen, L., Belda, I., Hansen, LH. (2022) A global microbiome survey of vineyard soils highlights the microbial dimension of viticultural terroirs. *Commun Biol.* 5:241.
- Ortiz-Álvarez, R., Ortega-Arranz, H., Ontiveros, VJ., de Celis, M., Ravarani, C., Acedo, A., Belda, I. (2021) Network properties of local fungal communities reveal the anthropogenic disturbance consequences of farming practices in vineyard soils. *mSystems.* 6(3):e00344-21.
- Ruiz, J., Ortega, N., Martín-Santamaría, M., Acedo, A., Marquina, D., Pascual, O., Rozès, N., Zamora, F., Santos, A., Belda, I. (2019) Occurrence and enological properties of two new non-conventional yeasts (*Nakazawaea ishiwadae* and *Lodderomyces elongisporus*) in wine fermentations. *Int J Food Microbiol.* 305:108255.
- Ruiz, J., de Celis, M., de Toro, M., Mendes-Ferreira, A., Rauhut, D., Santos, A., & Belda, I. (2020) Phenotypic and transcriptional analysis of *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation in response to nitrogen nutrition and co-inoculation with *Torulaspora delbrueckii*. *Food Res Int.* 137:109663.
- Ruiz, J., de Celis, M., Martín-Santamaría, M., Benito-Vázquez, I., Pontes, A., Lanza, VF., Sampaio, JP., Santos, A., Belda, I. (2021) Global distribution of IRC7 alleles in *Saccharomyces cerevisiae* populations: a genomic and phenotypic survey within the wine clade. *Environ Microbiol.* 23(6):3182-3195.
- Ruiz, J., de Celis, M., Diaz-Colunga, J., Vila, J. C. C., Benitez-Dominguez, B., Vicente, J., Santos, A., Sánchez, A., Belda, I. (2022) Predictability of the community-function landscape in wine yeast ecosystems. *bioRxiv.* 2022-12.
- Vicente, J., Navascués, E., Calderón, F., Santos, A., Marquina, D., & Benito, S. (2021) An integrative view of the role of *Lachancea thermotolerans* in wine technology. *Foods.* 10(11):2878.
- Vicente, J., Baran, Y., Navascués, E., Santos, A., Calderón, F., Marquina, D., Rauhut, D., Benito, S. (2022) Biological management of acidity in wine industry: A review. *Int J Food Microbiol.* 109726.
- Vicente, J.; Kelanne, N.; Rodrigo-Burgos, L.; Navascués, E.; Calderón, F.; Santos, A.; Marquina, D.; Yang, B.; Benito, S. (2022). Influence of different *Lachancea thermotolerans* strains in the wine profile in the era of climate challenge. *FEMS Yeast Research.* foac062. doi: [10.1093/femsyr/foac062](https://doi.org/10.1093/femsyr/foac062)

@mycoorg, trabajando para conseguir alimentos libres de micotoxinas

JÉSSICA GIL-SERNA, COVADONGA VÁZQUEZ Y BELÉN PATIÑO

Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid

✉ jgilsern@ucm.es



Figura 1. Foto del grupo. De izquierda a derecha. Arriba: Mariela Álvarez Rubio, Silvia Rodríguez Pires, Belén Patiño Álvarez, Jéssica Gil Serna y Marta Chaumel Matellanes. Abajo: Estela Poblete Alcobendas, Clara Melguizo Ávila, Nadia León Recio, Raquel Márquez Martín-Tesorero y Covadonga Vázquez Estévez.

Nuestro grupo de investigación forma parte del Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología de la Universidad Complutense de Madrid y lleva más de 20 años dedicado al estudio de las micotoxinas y sus hongos productores. Las micotoxinas son metabolitos secundarios fúngicos cuya presencia en los alimentos supone un grave riesgo para la seguridad alimentaria. La exposición crónica a micotoxinas puede llevar a la aparición de patologías que incluyen el desarrollo de tumores. Teniendo en cuenta su importancia, nuestro grupo de investigación está centrado en el estudio de las principales

micotoxinas incluyendo aflatoxinas, ocratoxina A, fumonisinas y tricotecenos.

El grupo ha publicado gran cantidad de trabajos que abarcan aspectos tanto genéticos como biológicos de los hongos toxígenos, pero realmente nuestra mayor aportación está relacionada con el desarrollo de técnicas moleculares para la detección precoz de los principales hongos productores de micotoxinas de los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*. La detección rápida y temprana de las especies más relevantes directamente en matrices alimentarias es esencial para poder esta-

blecer medidas de control efectivas para prevenir su desarrollo en las mismas y, por tanto, la presencia de micotoxinas en esos productos. Además, el desarrollo de estas técnicas rápidas de detección molecular nos ha permitido realizar estudios de incidencia de las principales especies toxígenas y así estudiar su distribución en productos alimentarios no explorados hasta el momento. Por ejemplo, en los últimos años, hemos comprobado que la presencia de estos hongos en campos de cereal y viñedos con prácticas agrícolas ecológicas es similar que en aquellos con manejo convencional.



Figura 2. Morfología de *Aspergillus flavus* creciendo en diferentes medios de cultivo. Se muestra el haz y el envés de cada placa. Foto de Sara Berguices.

Caracterización genética de la producción de micotoxinas

La regulación de la producción de micotoxinas en los hongos se realiza fundamentalmente a nivel transcripcional. Por tanto, es necesario conocer los genes implicados en su síntesis para así poder entender su regulación y establecer métodos de control efectivos. Los genes implicados en la producción de estos compuestos se encuentran agrupados en clústeres en el genoma fúngico y su estudio estaba muy avanzado en algunos casos como *A. flavus* productores de aflatoxinas o especies de *Fusarium* productoras de tricotecenos. Sin embargo, en el caso de la ocratoxina A solo se conocían, hasta hace pocos años, genes aislados. Nuestro grupo de investigación fue pionero en la caracterización del clúster biosintético de esta toxina demostrando que estaba formado por cinco genes y que aparecía en especies productoras filogenéticamente muy distantes (Gil-Serna et

al., 2018). Durante los últimos años, hemos caracterizado la presencia del clúster biosintético de ocratoxina A en numerosas especies de hongos del género *Aspergillus*, algunas de ellas no descritas previamente como productoras de OTA, demostrando su potencial para producir la toxina en determinadas condiciones. Esto supuso un importante avance al permitir señalar que hay que prestar más atención a especies que se detectan habitualmente en matrices alimentarias como *A. subramaninii* o *A. pulvericola* ya que pueden producir esta relevante toxina. Asimismo, hemos podido descartar la capacidad de sintetizar esta toxina en especies que tradicionalmente se habían considerado productoras como *A. ochraceus* (Gil-Serna et al., 2020) o *A. tubingensis* (Gil-Serna et al., 2019).

Métodos para un control sostenible

La mejor manera de prevenir la presencia de micotoxinas en alimentos es evitar

el desarrollo de sus hongos productores. Hasta el momento, los métodos más efectivos para lograrlo son los fungicidas químicos aplicados tanto en campo como durante el almacenamiento de los alimentos. Sin embargo, los residuos de estos compuestos pueden suponer graves riesgos para la salud humana y el medio ambiente, habiendo por ello regulado la Unión Europea los límites máximos de dichos residuos en los productos alimentarios. Por tanto, es imprescindible la búsqueda de nuevos métodos de control más sostenibles y seguros para evitar el desarrollo de los hongos y por ende, asegurar que los alimentos estén libres de micotoxinas. En este sentido, el uso de microorganismos inócuos como agentes de control biológico es una de las estrategias más prometedoras.

Nuestro grupo de investigación está centrado en el desarrollo de métodos de control biológico para evitar el crecimiento de los principales hongos toxígenos en campo utilizando dos abordajes: (1) eliminando el inóculo inicial del hongo en el suelo, y (2) evitando la colonización de los hongos en los frutos. Desde hace tiempo, se conoce que el suelo es el reservorio de los hongos toxígenos desde una campaña a la siguiente. Ahí permanecen latentes hasta que pueden volver a infectar la planta en la siguiente temporada de cosecha. Por tanto, si se ataca al hongo en el suelo, se puede prevenir la futura colonización y daño. En estudios recientemente publicados, hemos aislado y caracterizado microorganismos de suelo de viñedos y se ha comprobado su eficacia para el control de los principales hongos toxígenos. El mayor potencial en el control de estos hongos se ha observado en actinobacterias de los géneros *Arthrobacter* y *Pseudoarthrobacter* cuya presencia consigue no solo evitar el crecimiento del hongo sino disminuir drásticamente su capacidad para producir micotoxinas (De la Huerta et al., 2022). Por otro lado, la segunda estrategia va dirigida a evitar la colonización de la planta por los hongos toxígenos. En este sentido, es necesario seleccionar microorganismos autóctonos que estén muy bien adaptados a sobrevivir y colonizar ese producto. Hasta el momento, hemos caracterizado la levadura *Hanseniaspora uvarum* U1 como un potencial agente de control biológico frente a hongos toxígenos en uvas (Gómez-Albarrán et al., 2021).

Por otro lado, otra de las estrategias alternativas de control con mejores resul-



Figura 3. Viñedo ecológico muestreado para los estudios de incidencia de hongos toxígenos.

tados es la aplicación de compuestos naturales con propiedades antifúngicas. En nuestro grupo de investigación, hemos evaluado el potencial de aceites esenciales de plantas aromáticas para controlar el crecimiento y la producción de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* en maíz (García-Díaz et al., 2020). La efectividad *in vitro* de estos aceites esenciales es muy elevada pero su fácil volatilización e intenso olor suponen que se requiera el desarrollo de tecnologías avanzadas para su aplicación en alimentos. Por ello, hemos puesto a punto un método de encapsulación del aceite esencial de orégano utilizando niosomas que permiten una liberación prolongada de los compuestos. De esta manera, se ha conseguido retrasar el crecimiento y la producción de aflatoxinas de *A. flavus* hasta más de 60 días en granos de maíz almacenado (García-Díaz et al., 2019).

Detoxificación biológica

Una vez que un alimento está contaminado con micotoxinas por encima de los límites legales, no hay disponibles méto-

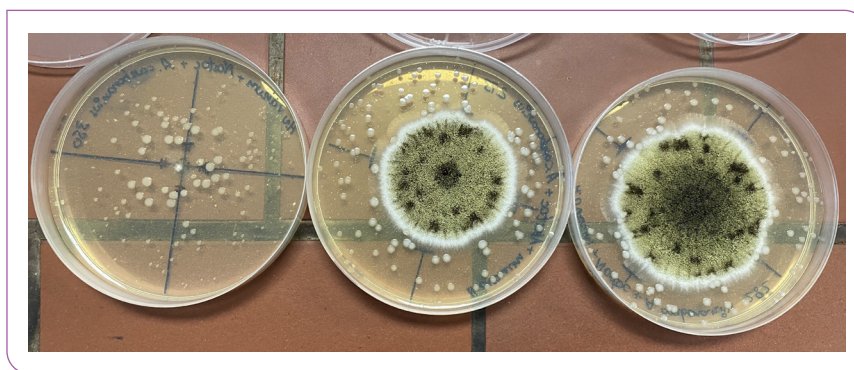


Figura 4. Crecimiento de *Aspergillus carbonarius* en presencia de distintas concentraciones de *Hanseniaspora uvarum* U1. Al aumentar la concentración de levadura el hongo reduce su diámetro de crecimiento. Foto de Clara Melguizo.

dos eficaces para su detoxificación efectiva y segura. Por tanto, los lotes contaminados se deben destruir lo que supone graves pérdidas económicas para el sector agroalimentario. Además, estudios recientes indican que la exposición crónica a dosis de micotoxinas por debajo de los límites legales podría igualmente suponer un riesgo para la población debido al aumento de la esperanza de vida. Por tanto, es imprescindible desarrollar métodos de detoxifi-

cación para eliminar completamente las micotoxinas en los alimentos. Nuestro grupo de investigación se ha centrado en el estudio del potencial detoxificador de microorganismos probióticos. Los beneficios que aporta a nuestra salud el suplementar los alimentos con probióticos es evidente y, pretendemos darles un valor añadido como detoxificadores de micotoxinas. Por ello, se han aislado microorganismos de productos ricos en probióticos



Figura 5. Perfil de Twitter del grupo @mycroorg.

como kéfir, yogurt, kombucha, etc., y se ha estudiado su potencial para eliminar aflatoxina B1, ocratoxina A y fumonisinas. Muchos de ellos son capaces de retener las micotoxinas mediante un proceso físico de adsorción. Sin embargo, la industria alimentaria demanda microorganismos que degraden activamente las micotoxinas y las transformen en compuestos no tóxicos. Actualmente, estamos caracterizando dos cepas de levaduras identificadas como *Kluyveromyces lactis* y *Kazachstania unispora* que han mostrado un gran potencial para degradar todas las micotoxinas ensayadas.

Metataxonomía para el estudio de hongos tóxicos

Teniendo en cuenta la importancia actual de las técnicas ómicas y su potencial en la realización de estudios ecológicos, estamos comenzando distintos proyectos para caracterizar la comunidad fúngica de cultivos de interés por su habitual contaminación por micotoxinas. El aumento de las temperaturas y la sequía producidas en el marco del cambio climático está suponiendo un cambio de distribución geográfica de las especies tóxicas. Por ejemplo, utilizando un abordaje metataxómico,

hemos podido caracterizar qué especies de hongos tóxicos podrían suponer un mayor riesgo en avena (Gil-Serna et al., 2022). Debido a la gran sensibilidad que aporta la técnica, hemos podido demostrar por primera vez la presencia de *F. langsethiae* en avena en España. Este hongo es un gran productor de tricotecenos tipo A, toxinas cuya importancia está aumentando drásticamente en los últimos años. Estas técnicas son primordiales para poder predecir el riesgo de contaminación por micotoxinas en productos alimentarios.

Teniendo en cuenta todas nuestras líneas de investigación, se abre un amplio abanico de posibilidades para futuros estudios que seguiremos contando en los próximos Congresos de la Sociedad Española de Microbiología y las reuniones del Grupo Especializado. La importancia de las micotoxinas para la seguridad alimentaria es un tema bastante desconocido por los consumidores así que también llevamos a cabo numerosas labores de divulgación de nuestro trabajo al público general. La labor divulgativa del grupo incluye tanto talleres para todas las edades, así como artículos en revistas generalistas. Además, disponemos de una cuenta de Twitter donde compartimos los aspectos más significativos de la investigación realizada, así como los últimos avances en el campo de las micotoxinas. ¡Podéis seguirnos en @mycroorg!

Referencias

De la Huerta-Bengoechea P, Gil-Serna J, Melguizo C, Vázquez C y Patiño B (2022). Biocontrol of mycotoxigenic fungi using bacteria isolated from ecological vineyard soils. *J Fungi* 8:1136.

García-Díaz M, Patiño B, Vázquez C y Gil-Serna J (2019). A novel niosome-encapsulated essential oil formulation to prevent *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin contamination of maize grains during storage. *Toxins* 11:646.

García-Díaz M, Gil-Serna J, Patiño B, García-Cela E, Magan N y Medina A (2020). Assessment of the effect of *Satureja montana* and *Origanum virens* essential oils on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production at different water activities. *Toxins* 12:142.

Gil-Serna J, García-Díaz M, González-Jaén MT, Vázquez C y Patiño B (2018). Description of an orthologous cluster of ochratoxin A biosynthetic genes in *Aspergillus* and *Penicillium* species. A comparative analysis. *Int J Food Microbiol* 268:35-43.

Gil-Serna J, García-Díaz M, González-Jaén MT, Vázquez C y Patiño B (2019). Significance of *Aspergillus niger* aggregate species as contaminants of food products in Spain regarding their occurrence and their ability to produce mycotoxins. *Food Microbiol* 82:240-248.

Gil-Serna J, Vázquez C y Patiño B (2020). The genomic regions that contain ochratoxin A biosynthetic genes widely differ in *Aspergillus* section Circumdati species. *Toxins* 12:754.

Gil-Serna J, Patiño B, Verheeecke-Vaesen C, Vázquez C y Medina A (2022). Searching for the *Fusarium* spp. which are responsible for trichothecene contamination in oats. Using metataxonomy to compare the distribution of toxigenic species in fields from the Spain and the UK. *Toxins* 14:592.

Gómez-Albarrán C, Melguizo C, Patiño B, Vázquez C y Gil-Serna J (2021). Diversity of Mycobiota in Spanish Grape Berries and Selection of *Hanseniaspora uvarum* U1 to Prevent Mycotoxin Contamination. *Toxins* 13:649.

SAMA: seguridad alimentaria y microbiología de los alimentos

JESÚS A. SANTOS, MARÍA-LUISA GARCÍA-LÓPEZ, ANDRÉS OTERO, TERESA M. LÓPEZ-DÍAZ, JOSÉ M. RODRÍGUEZ-CALLEJA, ÁNGEL ALEGRÍA, ALBERTO PINTOR-CORA

Área de Nutrición y Bromatología. Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Campus Universitario. Universidad de León

✉ j.santos@unileon.es

🌐 <https://www.unileon.es/grupos-investigacion/detalles-grupo.php?id=3&grp=425>



Foto de grupo.

El grupo de investigación en Seguridad Alimentaria y Microbiología de los Alimentos tiene una dilatada trayectoria de más de 45 años en el estudio y la caracterización de microorganismos de interés en alimentos. Está constituido por 6 profesores doctores (personal de la Universidad de León) y un número variable de personal investigador en formación. El grupo está ubicado en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León y por esta razón siempre tuvo una dedi-

cación principal hacia la Microbiología de los Alimentos de origen animal, prestando también atención a las aguas de consumo público y, en los últimos años, a los productos vegetales frescos de consumo directo.

Tiene la consideración de grupo de investigación consolidado de la Universidad de León y está integrado en la Unidad de Investigación Consolidada de la Junta de Castilla y León UIC 223.

Líneas de investigación

Las primeras investigaciones desarrolladas se centraron en *S. aureus* y otros estafilococos coagulasa positivos presentes en alimentos de origen animal y su significado en relación con la salud pública, dando lugar a varias tesis doctorales y diversas publicaciones en revistas internacionales. Posteriormente se fue ampliando el campo de estudio, incorporando nuevos microorganismos emergentes, como *L. monocytogenes*, el grupo de *Aeromonas* móviles o los patotipos de *E. coli* de transmisión alimentaria, abordando su detección y caracterización a partir de diferentes alimentos y nuevos métodos de análisis, basados principalmente en las técnicas de biología molecular (PCR y Q-PCR, PFGE, DGGE, MLST, WGS).

Asimismo, además de bacterias, el grupo ha llevado a cabo investigaciones sobre mohos y micotoxinas, con especial dedicación al género *Penicillium*, sobre el que se han utilizado diversas técnicas de identificación, desde las clásicas basadas en la morfología, hasta las más modernas basadas en la biología molecular y, últimamente, la espectrometría de masas MALDI-TOF.

Entre los productos de origen animal, la calidad microbiológica de la carne y los productos cárnicos, y de la leche y los productos lácteos han centrado muchos esfuerzos del grupo de investigación. En particular, varias líneas de investigación han abordado la importancia de estos alimentos como vehículos de diferentes tipos patógenos de *E. coli* causante de enfermedades en humanos. También su control microbiológico, mediante técnicas emergentes de conservación (envasado activo, lucha biológica con BAL o procesos combinados) ha sido objeto de la atención investigadora del grupo. De este modo, durante la última década la actividad principal del grupo se enmarcó en cuatro líneas de investigación: a) la evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos (identificación y control de bacterias patógenas tolerantes al frío, detección y control de tipos patógenos de *E. coli*, sistemas de garantía de la calidad sanitaria de los alimentos); b) el estudio de los microorganismos alterantes en alimentos; c) la identificación de mohos aislados de quesos y embutidos y la evaluación de la producción de micotoxinas en dichos productos; y d) la caracterización y tipificación de productos autóctonos. Actualmen-

te se están completando los trabajos para determinar la importancia de los productos vegetales frescos como vehículos de enterobacterias portadoras de resistencia antimicrobiana, así como la propuesta de medidas eficaces para su control, con el apoyo de la AEI (PID2019-107870RB-I00/ALI). Los resultados apuntan a que los productos vegetales frescos son una vía importante de miembros del complejo de *E. cloacae* con el fenotipo resistente AmpC y, entre ellos, algunas cepas acumulan otros mecanismos de resistencia, mediante la producción de BLEE o carbapenemasas. Como otros investigadores han apuntado previamente, todo parece indicar que las aguas de riego constituyen una vía destacada de contaminación de estas bacterias resistentes en la cadena alimentaria.

El grupo continúa trabajando en el aislamiento e identificación de mohos en quesos y productos cárnicos curados, la presencia de micotoxinas por *Penicillium* spp. y la evaluación de diversos métodos de control basados en el uso de bacteriocinas y compuestos bioactivos de origen vegetal (parte de estas investigaciones, en colaboración con otros grupos), y de películas para su aplicación a un sistema de envasado activo antifúngico en alimentos.

Publicaciones en los últimos 5 años

Martins, J. C. L., Pintor-Cora, A., Alegría, Á., Santos, J. A., & Herrera-Arias, F. (2023). Characterization of ESBL-producing *Escherichia* spp. and report of an *mcr-1* colistin-resistance *Escherichia fergusonii* strain from minced meat in Pamplona, Colombia. *International Journal of Food Microbiology*, 394, 110168. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110168>

Pintor-Cora, A., Tapia, O., Elempuru-Zabaleta, M., Alegría, C. R. de, Rodríguez-Calleja, J. M., Santos, J. A., & Ramos-Vivas, J. (2023). Cytotoxicity and Antimicrobial Resistance of *Aeromonas* Strains Isolated from Fresh Produce and Irrigation Water. *Antibiotics*, 12, 511. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030511>

Otero, V., Santos, J. A., Rodríguez-Calleja, J. M., & García-López, M.-L. (2022). Behavior of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* in ewe milk stored at

different temperatures and during the manufacture and ripening of a raw milk sheep cheese (Zamorano style). *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21613>

Mareze, J., Ramos-Pereira, J., Santos, J. A., Beloti, V., & López-Díaz, T. M. (2022). Identification and characterisation of lactobacilli isolated from an artisanal cheese with antifungal and antibacterial activity against cheese spoilage and mycotoxigenic *Penicillium* spp. *International Dairy Journal*, 130, 105367. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105367>

Pintor-Cora, A., Álvaro-Llorente, L., Otero, A., Rodríguez-Calleja, J. M., & Santos, J. A. (2021). Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Fresh Produce. *Foods*, 10(11), 2609. <https://doi.org/10.3390/foods10112609>

Ramos-Pereira, J., Mareze, J., Fernández, D., Ríos, E. A., Santos, J. A., & Díaz, T.-M. L. (2021). Antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from milk against *Penicillium commune*, *P. nordicum*, and *P. verrucosum*. *International Journal of Food Microbiology*, 355, 109331. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109331>

Muñoz-Tebar, N., González-Navarro, E. J., María López-Díaz, T., Santos, J. A., Ortiz De Elguea-Culebras, G., García-Martínez, M. M., Molina, A., Carmona, M., & Berruga, M. I. (2021). Biological Activity of Extracts from Aromatic Plants as Control Agents against Spoilage Molds Isolated from Sheep Cheese. *Foods*, 10(7), 1576. <https://doi.org/10.3390/foods10071576>

Ríos, E. A., Ramos-Pereira, J., Santos, J. A., López-Díaz, T. M., Otero, A., & Rodríguez-Calleja, J. M. (2020). Behaviour of non-O157 STEC and atypical EPEC during the manufacturing and ripening of raw milk cheese. *Foods*, 9(9), 1215. <https://doi.org/10.3390/foods9091215>

Alegría, Á., Arias-Temprano, M., Fernández-Natal, I., Rodríguez-Calleja, J. M., García-López, M.-L., & Santos, J. A. (2020). Molecular diversity of ESBL-producing *Escherichia coli* from foods of animal origin and human patients. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4), 1312. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041312>

Ramos-Pereira, J., Rios, E. A., Rodríguez-Calleja, J. M., Santos, J. A., & López-Díaz, T. M. (2019). Studies of the microbiological and physico-chemical composition of goat's milk from North-Western Spain. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 72(7), 39–44. <https://doi.org/10.25968/MSI.2019.7>

Ramos, J., Mareze, J., Patrinoú, E., Santos, J. A., & López-Díaz, T.-M. (2019). Polyphasic identification of *Penicillium* spp. isolated from Spanish semi-hard ripened cheeses. *Food Microbiology*, 84, 103253. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103253>

Rios, E. A., Santos, J. A., García-Meniño, I., Flament-Simon, S. C., Blanco, J., García-López, M.-L., Otero, A., & Rodríguez-Calleja, J. M. (2019). Characterisation, antimicrobial resistance and diversity of atypical EPEC and STEC isolated from cow's milk, cheese and dairy cattle farm environments. *LWT*, 108, 319–325. <https://doi.org/10.1016/j.LWT.2019.03.062>

Oniciuc, E. A., Likotrafiti, E., Alvarez-molina, A., Prieto, M., Santos, J. A., & Alvarez-Ordóñez, A. (2018). The Present and Future of Whole Genome Sequencing (WGS) and Whole Metagenome Sequencing (WMS) for Surveillance of

Antimicrobial Resistant Microorganisms and Antimicrobial Resistance Genes across the Food Chain. *Genes*, 9(5), 1–28. <https://doi.org/10.3390/genes9050268>

Rodríguez-Rodríguez, S., & Santos, J. A. (2018). Detection and characterization of the ferric uptake regulator (*fur*) gene in *Plesiomonas shigelloides*. *Letters in Applied Microbiology*, 66(4), 347–351. <https://doi.org/10.1111/lam.12858>

.....



Divulgación y transferencia de resultados

Además de las actividades de investigación, se llevan a cabo actividades de divulgación y transferencia de resultados, como la organización de cursos de verano, participación en el programa interuniversitario de la experiencia, organización y desarrollo del proyecto MicroMundo@ULE o la participación en el evento anual “Expociencia” de la Universidad de León.

El grupo mantiene una colaboración estrecha con numerosas empresas del sector agroalimentario, destacando las siguientes: Industrias Lácteas Manzano; Cooperativa Vegaesla; Lactiber; Consorcio De Promoción Del Ovino; Asociación De Productores De Queso De León; Asociación de Agricultores y Ganaderos Ecológicos de León (Agrele).

Tecnología, calidad, seguridad y funcionalidad de alimentos

JUAN L. ARQUÉS, MARTA ÁVILA, JAVIER CALZADA, JOSÉ A. CURIEL, SONIA GARDE, JOSÉ M^a LANDETE, SUSANA LANGA, PILAR LÓPEZ, JOAQUÍN V. MARTÍNEZ, RAQUEL MONTIEL, SAGRARIO ORTIZ, ANTONIA PICÓN, ÁNGELA PEIROTÉN, DAVID PÉREZ, EVA RODRÍGUEZ, SUSANA RODRÍGUEZ, ANA RUIZ, CARMEN SÁNCHEZ, F. JAVIER TOMILLO

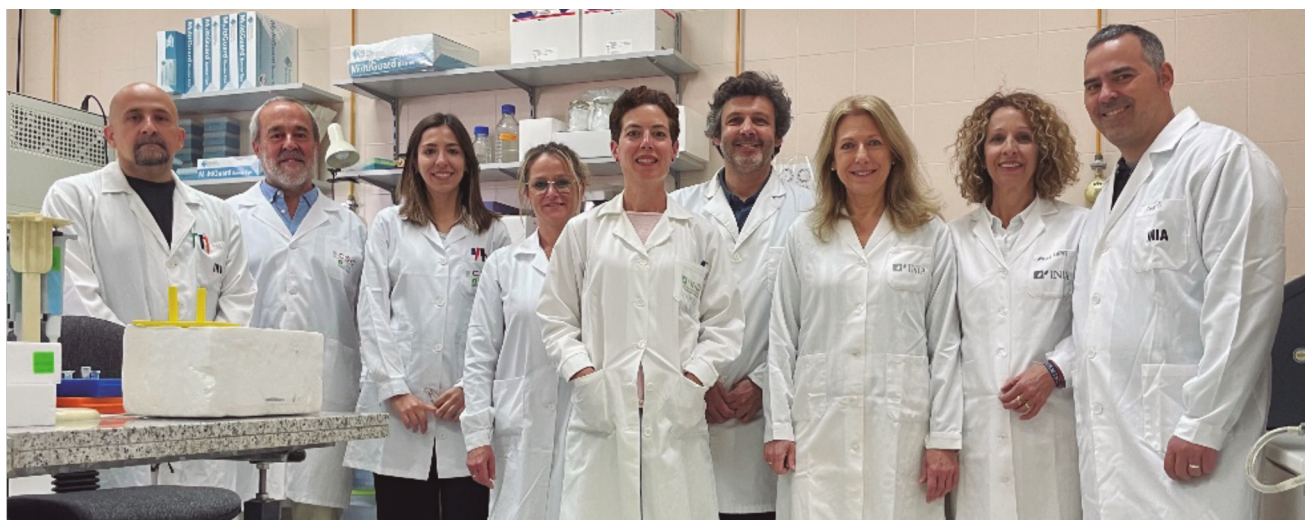
Departamento de Tecnología de Alimentos, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria INIA-CSIC, Ctra. de La Coruña km 7, 28040 Madrid

✉ arques@inia.csic.es | apicon@inia.csic.es | landete.josem@inia.csic.es

🌐 <https://www.inia.es/unidades/Departamentos/tecnologiaalimentos/Paginas/Home.aspx>



Los grupos de *Seguridad Microbiológica de Alimentos*, *Tecnología y Calidad de Productos Lácteos y Cárnicos* y *Alimentos Funcionales* del Departamento de Tecnología de Alimentos del INIA-CSIC centran su actividad en mejorar la seguridad y calidad microbiológica, sensorial, nutricional y funcional de productos lácteos, cárnicos y vegetales con el fin de desarrollar alimentos sanos, seguros, saludables y de calidad. Contamos con una Planta de Tecnología de Alimentos con el equipamiento necesario para trabajar en seguridad microbiológica y para la elaboración de productos lácteos y cárnicos, así como con un laboratorio de bioseguridad BSL-2. La colección de microorganismos de interés alimentario, compuesta principalmente por cepas de bacterias lácticas y bifidobacterias, es fruto de los trabajos de investigación realizados en el Departamento durante más de 40 años y contiene cepas de origen lácteo y humano seleccionadas por presentar especial interés tecnológico y/o probiótico.



Grupo Seguridad Microbiológica de Alimentos INIA-CSIC

Grupo Seguridad Microbiológica de Alimentos

Los objetivos del grupo *Seguridad Microbiológica de Alimentos* son: 1) Evaluar la efi-

cacia de estrategias de higienización (altas presiones hidrostáticas y bioconservantes) en la eliminación de patógenos en productos lácteos y cárnicos, analizando en estos últimos el efecto de la reducción de las sales de curado. 2) Evaluar el efecto de las estrategias de higienización en la expre-

sión de genes de virulencia y resistencia a antimicrobianos. 3) Caracterización genética de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos persistentes en industrias productoras de derivados cárnicos curado-madurados. 4) Estudiar la trazabilidad molecular de *L. monocytoge-*

nes, *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni* y *Cronobacter sakazakii* en el ambiente de la producción de alimentos empleando la secuenciación completa del genoma. 5) Estudiar el efecto de desinfectantes usados en la industria alimentaria sobre células planctónicas y biofilms de patógenos alimentarios, evaluando el efecto de diferentes concentraciones de desinfectantes tanto en la formación de biofilms como en la virulencia de los aislados. 6) Evaluar la actividad antibiofilm de nuevos materiales con recubrimientos bactericidas y nuevos compuestos biocidas naturales de origen microbiano, con un enfoque dirigido específicamente a combatir la resistencia cruzada a antibióticos y desinfectantes en los principales patógenos alimentarios. Además de investigar biopelículas de una sola especie, se investiga el efecto de las biopelículas mixtas (p. ej. *L. monocytogenes* – bacterias lácticas) en la actividad anti-*Listeria* de los desinfectantes. 7) Seleccionar y evaluar cepas de bacterias lácticas y bifidobacterias con características tecnológicas y/o probióticas orientadas al desarrollo de cultivos bioprotectores o con efecto protector frente a infecciones. La aplicación de cultivos bioprotectores productores de compuestos antimicrobianos, fundamentalmente para productos lácteos y embutidos ibéricos, puede proporcionar un parámetro adicional de procesado que mejore la seguridad y aumente la calidad de los alimentos, mejorando o manteniendo sus características sensoriales. En esta misma línea, determinados probióticos pueden combatir la infección por patógenos en el hospedador mediante la secreción de sustancias antimicrobianas, la exclusión competitiva y/o la estimulación de la respuesta inmunitaria.

Centramos nuestras investigaciones en los productos listos para el consumo (RTE), de mayor riesgo al no recibir ningún tratamiento previo a su ingestión, y cuyo consumo ha incrementado considerablemente en los últimos años. En muchos casos, colaboramos con empresas del sector con el fin de transferir resultados y conocimiento.



Grupo Tecnología y Calidad de Productos Lácteos y Cárnicos INIA-CSIC

Grupo Tecnología y Calidad de Productos Lácteos y Cárnicos

Los objetivos del grupo *Tecnología y Calidad de Productos Lácteos y Cárnicos* se centran en: 1) mejorar la calidad sensorial, nutricional y funcional de los productos lácteos, 2) desarrollar nuevos procesos y productos para la industria alimentaria y para el consumidor, y 3) prevenir la aparición de alteraciones de origen microbiológico en productos lácteos. Para ello, caracterizamos bacterias lácticas para su aplicación en la industria láctea, utilizamos microorganismos seleccionados por producir compuestos bioactivos o por sus actividades enzimáticas, incorporamos nuevos ingredientes, usamos antimicrobianos naturales y/o empleamos nuevas tecnologías.

Disponemos de una colección de bacterias lácticas aisladas de leche de cabra de razas autóctonas de Andalucía. Hemos evaluado las propiedades tecnológicas, características sensoriales y el perfil de compuestos volátiles en cuajadas elaboradas con estas cepas, lo que permitiría desarrollar fermentos específicos para quesos de cabra.

La suplementación de productos lácteos con ingredientes no lácteos para aumentar

la concentración de determinados nutrientes es una práctica habitual. Hemos estudiado la suplementación de yogur, queso quark y queso Ibérico semicurado con algas comestibles, ya que son muy ricas en ácidos grasos poliinsaturados, fibra, vitaminas, aminoácidos y minerales. Además, conseguimos mejorar la supervivencia de cepas probióticas al añadir extractos de algas a la leche.

También hemos desarrollado quesos funcionales suplementados con extractos vegetales ricos en polifenoles y bifidobacterias, que aumentan la biodisponibilidad de éstos. Los quesos experimentales presentaron diferencias de color, y mayores niveles de proteólisis, y de polifenoles totales que los quesos control, y un incremento notable de la actividad antioxidante.

Por otra parte, las alteraciones microbiológicas son una de las causas más frecuentes del deterioro de productos lácteos. Para prevenirlas, investigamos nuevas estrategias de biocontrol, frente a bacterias formadoras de esporas (*Clostridium* spp., responsables de hinchazón tardía) y bacterias psicrótrofas (*Pseudomonas* spp., productoras de enzimas termoestables) que persisten en la cadena láctea. Conseguimos retrasar o evitar la hinchazón tardía en queso empleando bacterias lácticas productoras de antimicrobianos (bacteriocinas o reuterina), manteniendo su calidad.



Grupo Alimentos Funcionales INIA-CSIC

También aislamos y caracterizamos nuevos fagos líticos de *Clostridium tyrobutyricum*, y evaluamos su actividad antimicrobiana en queso. Con investigadores del Quadram Institute of Bioscience modificamos *Lactococcus* para producir la endolisina fágica CTP1L, activa frente a *C. tyrobutyricum*, en queso, y logramos visualizar células de *Clostridium* utilizando el dominio de unión de CTP1L marcado con GFP. Recientemente, en colaboración con la UCLM, evaluamos la actividad inhibitoria de extractos de plantas aromáticas frente a *Clostridium* alterantes autóctonos. Actualmente estamos aislando y caracterizando *Pseudomonas* alterantes de productos lácteos, y pretendemos desarrollar nuevos conservantes naturales para estos productos.

Asimismo, tenemos experiencia en la aplicación de altas presiones para mejorar la calidad microbiológica de alimentos. Hemos patentado un método para prevenir la hinchazón tardía aplicando un ciclo corto en queso. Además, hemos estudiado el efecto de las altas presiones sobre la microbiota de jamones Serrano e Ibérico con diferente composición química. También mediante altas presiones, hemos prolongado la vida útil de algas comestibles refrigeradas.

Grupo Alimentos Funcionales

El grupo *Alimentos Funcionales* trabaja en el desarrollo de productos de origen vegetal enriquecidos en compuestos bioactivos, más biodisponibles y con mayor actividad antioxidante y/o estrogénica, y su poten-

cial utilidad en procesos relacionados con el envejecimiento.

➤ Las líneas de investigación del grupo son:

- Identificación de bacterias lácticas y bifidobacterias productoras de fitoestrógenos y otros compuestos bioactivos: esta línea de trabajo, iniciada en 2013, busca caracterizar la habilidad de las cepas de la colección del Departamento para metabolizar diversos precursores presentes en alimentos vegetales y su transformación en fitoestrógenos bioactivos y otros compuestos de interés. Además de contar con cepas productoras de genisteína y daidzeína, hemos identificado las primeras bacterias lácticas y bifidobacterias productoras de O-desmetilangolesina, tetrahidrodaidzeína, enterolignan y urolitinas. Actualmente, estamos caracterizando cepas productoras de flavonoides (quercetina y herbacetina), ácidos grasos de cadena corta, riboflavina, ácido fólico, cobalamina y ácido γ-aminobutírico (GABA).

- Desarrollo de bebidas vegetales funcionales y su aplicación en patologías relacionadas con el envejecimiento: una vez identificadas las cepas productoras de compuestos de interés, algunas de las cuales tienen además potencial probiótico, las hemos utilizado para la fermentación de bebidas vegetales, principalmente de soja, analizando su enriquecimiento en compuestos bioactivos (fitoestrógenos y flavonoides). Las bebidas enriquecidas seleccionadas han sido administradas a modelos murinos de obesidad, fertilidad y menopausia. Los siguientes pasos

incluirán su aplicación en otros modelos relacionados con el envejecimiento como enfermedad cardiovascular, cáncer de mama y síndrome metabólico.

- Estrategias alternativas para la producción de compuestos bioactivos: Inmovilización de enzimas y expresión heteróloga: la producción de compuestos de interés por parte de bacterias lácticas y bifidobacterias presenta ciertas limitaciones en cuanto a concentraciones obtenidas y compuestos no encontrados, tales como el equol. Planteamos dos alternativas para conseguir producir esos compuestos bioactivos en alimentos o como compuestos puros.

Mediante la producción recombinante e inmovilización en soportes de grado alimentario de enzimas de interés, procedentes de las cepas seleccionadas, buscamos la producción entre otros de fitoestrógenos bioactivos, vitaminas y nuevos oligosacáridos prebióticos de interés para la industria alimentaria. La expresión heteróloga de genes de *Slackia isoflavoniconvertentes* en bacterias lácticas, nos ha permitido producir equol y 5-hidroxi-equol en bebidas de soja fermentadas. Ahora mismo estamos trabajando en la producción de riboflavina con alta eficiencia mediante la expresión heteróloga de los genes de *Lactococcus lactis* en otras bacterias lácticas de interés. En una siguiente etapa, aplicaremos la misma estrategia para producir enterolignan, GABA y otros compuestos bioactivos.

- Relación fitoestrógenos-microbiota: paralelamente a la búsqueda de bacterias lácticas y bifidobacterias con capacidad para metabolizar los fitoestrógenos, desde

hace años hemos estudiado el metabolismo de fitoestrógenos por la microbiota intestinal. Ahora pretendemos comprobar como la dieta, probióticos y prebióticos afectan a la producción de fitoestrógenos por parte de la microbiota intestinal, así como la influencia de los fitoestrógenos en la misma. Planificamos realizar ensayos en un medio colónico desarrollado en nuestro departamento, que serán complementados con ensayos en SHIME.

Publicaciones seleccionadas de los últimos años

Ávila M, Calzada J, Muñoz-Tébar N, Sánchez C, Ortiz de Elguea-Culebras G, Carmona M, Molina A, Berruga MI y Garde S. (2023). Inhibitory activity of aromatic plant extracts against dairy-related *Clostridium* species and their use to prevent the late blowing defect of cheese. *Food Microbiol* 110: 104185.

Ávila M, Sánchez C, Calzada J, Mayer MJ, Berruga MI, López-Díaz TM, Narbad A y Garde S. (2023). Isolation and characterization of new bacteriophages active against *Clostridium tyrobutyricum* and their role in preventing the late blowing defect of cheese. *Food Res Int* 163: 112222.

Bonneville L, Maia V, Barroso I, Martínez-Suárez JV y Brito L. (2021). *Lactobacillus plantarum* in dual-species biofilms with *Listeria monocytogenes* enhanced the anti-*Listeria* activity of a commercial disinfectant based on hydrogen peroxide and peracetic acid. *Front Microbiol* 12: 631627.

Curiel JA, Peirotén A, Langa S, de Vega E, Blasco I y Landete JM. (2022). Characterization and stabilization of the α -L-fucosidase set from *Lactocaseibacillus rhamnosus* INIA P603. *Appl Microbiol Biotechnol* 106: 8067-77.

Díez-Echave P, Martín-Cabrejas I, Garrido-Mesa J, Langa S, Vezza T, Landete JM, Hidalgo-García L, Algieri F, Mayer MJ, Narbad A, García-Lafuente A, Medina M, Rodríguez-Nogales A, Rodríguez-Cabezas ME, Gálvez J y Arqués JL. (2021). Probiotic and Functional Properties of *Limosilactobacillus reuteri* INIA P572. *Nutrients* 13:1860.

Garde S, Calzada J, Sánchez C, Gaya P, Narbad A, Meijers R, Mayer MJ y

Ávila M. (2020). Effect of *Lactococcus lactis* expressing phage endolysin on the late blowing defect of cheese caused by *Clostridium tyrobutyricum*. *Int J Food Microbiol* 329: 108686.

Langa S, Peirotén A, Gaya P, Garde S, Arques JL, Nuñez M, Medina M y Rodríguez-Minguez E. (2020). Human *Bifidobacterium* strains as adjunct cultures in Spanish sheep milk cheese. *J Dairy Sci* 103: 7695-706.

Langa S, Peirotén A, Gaya P, Escudero C, Rodríguez-Minguez E, Landete JM y Arqués JL. (2021). Development of multi-strain probiotic cheese: nisin production in food and gut. *LWT* 148: 111706.

Langa S, Peirotén A, Curiel JA, Arques JL y Landete JM. (2022). Promoters for the expression of food-grade selectable markers in lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Appl Microbiol Biotechnol* 106: 7845-56.

Langa S, Ruiz de la Bastida A, Peirotén A, Curiel JA y Landete JM. (2022). Development of the first fermented soy beverages enriched in equol and 5-hydroxy-equol. *LWT* 168:113899.

López-Alonso V, Ortiz S, Corujo A y Martínez-Suárez JV. (2020). Analysis of benzalkonium chloride resistance and potential virulence of *Listeria monocytogenes* isolates obtained from different stages of a poultry production chain in Spain. *J Food Prot* 83: 443-451.

Martínez-Onandi N, Sánchez C, Nuñez M y Picon A. (2019). Microbiota of Iberian dry-cured ham as influenced by chemical composition, high-pressure processing and prolonged refrigerated storage. *Food Microbiol* 80: 62-9.

Pérez-Baltar A, Pérez-Boto D, Medina M y Montiel R. (2021). Genomic diversity and characterization of *Listeria monocytogenes* from dry-cured ham processing plants. *Food Microbiol* 99: 103779.

Pérez-Baltar A, Serrano A, Medina M y Montiel R. (2021). Effect of high pressure on the inactivation and the relative gene transcription patterns of *Listeria monocytogenes* in dry-cured ham. *LWT* 139: 11055.

Picon A, del Olmo A y Nuñez M. (2021). Bacterial diversity in six species of fresh edible seaweeds submitted to high pres-

sure processing and long-term refrigerated storage. *Food Microbiol* 94: 103646.

Picon A, Lopez-Perez O, Torres E, Garde S y Nuñez M. (2019). Contribution of autochthonous lactic acid bacteria to the typical flavour of raw goat milk cheeses. *Int J Food Microbiol* 299: 8-22.

Rodrigo-Torres L, Landete JM, Huedo P, Peirotén A, Langa S, Rodríguez-Minguez E, Medina M, Arahall DR, Aznar R y Arqués JL. (2022). Complete Genome Sequences of *Lactocaseibacillus paracasei* INIA P272 (CECT 8315) and *Lactocaseibacillus rhamnosus* INIA P344 (CECT 8316) isolated from breast-fed infants reveal probiotic determinants. *Gene* 840: 146743.

Ruiz de la Bastida A, Peirotén A, Langa S, Curiel JA, Arqués JL y Landete JM. (2022). Effect of storage and heat treatment on the levels of bioactive flavonoids produced in fermented soy beverages. *LWT* 154: 112872.

Ruiz de la Bastida A, Peirotén A, Langa S, Rodríguez-Minguez E, Curiel JA, Arqués JL y Landete JM. (2023). Fermented soy beverages as vehicle of probiotic lactobacilli strains and source of bioactive isoflavones: A potential double functional effect. *Heliyon* 9: e14991.

Ruiz de la Bastida A, Langa S, Peirotén A, Fernández-González R, Sánchez-Jiménez A, Maroto Oltra M, Curiel JA, Guíllamón E, Arqués JL, Gutierrez-Adan A y Landete JM. (2023). Effect of fermented soy beverage in aged female mice model. *Food Res Int* (aceptado).

Varsaki A, Ortiz S, Santorum P, López P, López-Alonso V, Hernández M, Abad D, Rodríguez-Grande J, Ocampo-Sosa AA y Martínez-Suárez JV. (2022). Prevalence and population diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy cattle farms in the Cantabria region of Spain. *Animals* 12: 2477.

Varsaki A, Ortiz S, Santorum P, López P, López-Alonso V y Martínez-Suárez, J.V. (2022). Genetic diversity, antimicrobial resistance and survival upon manure storage of *Campylobacter jejuni* isolated from dairy cattle farms in the Cantabric coast of Spain. *Zoonotic Dis* 2: 82-94.

Grupo de Higiene y Seguridad Alimentaria de la Universidad de Extremadura

JUAN JOSÉ CÓRDOBA RAMOS, FÉLIX NÚÑEZ BREÑA, MAR RODRÍGUEZ JOVITA, M^º JESÚS ANDRADE GRACIA, JOSUÉ DELGADO PERÓN, ANA BELÉN PEROMINGO ARÉVALO, MARIELA ÁLVAREZ RUBIO, IRENE MARTÍN TORNERO, EVA CEBRIÁN CABEZÓN, ELIA RONCERO BENAVENTE, CRISTINA CASTAÑO SÁNCHEZ, JOSÉ MARÍA MARTÍN MIGUÉLEZ, LIBRADA JIMÉNEZ DEL NERO, PAULA ROMERO JIMÉNEZ, FERNANDO LOBO CARTAGENA

Instituto Universitario de Investigación de Carne y Productos Cárnicos. Facultad de Veterinaria. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Extremadura. Campus Universitario, Cáceres

✉ marrodri@unex.es

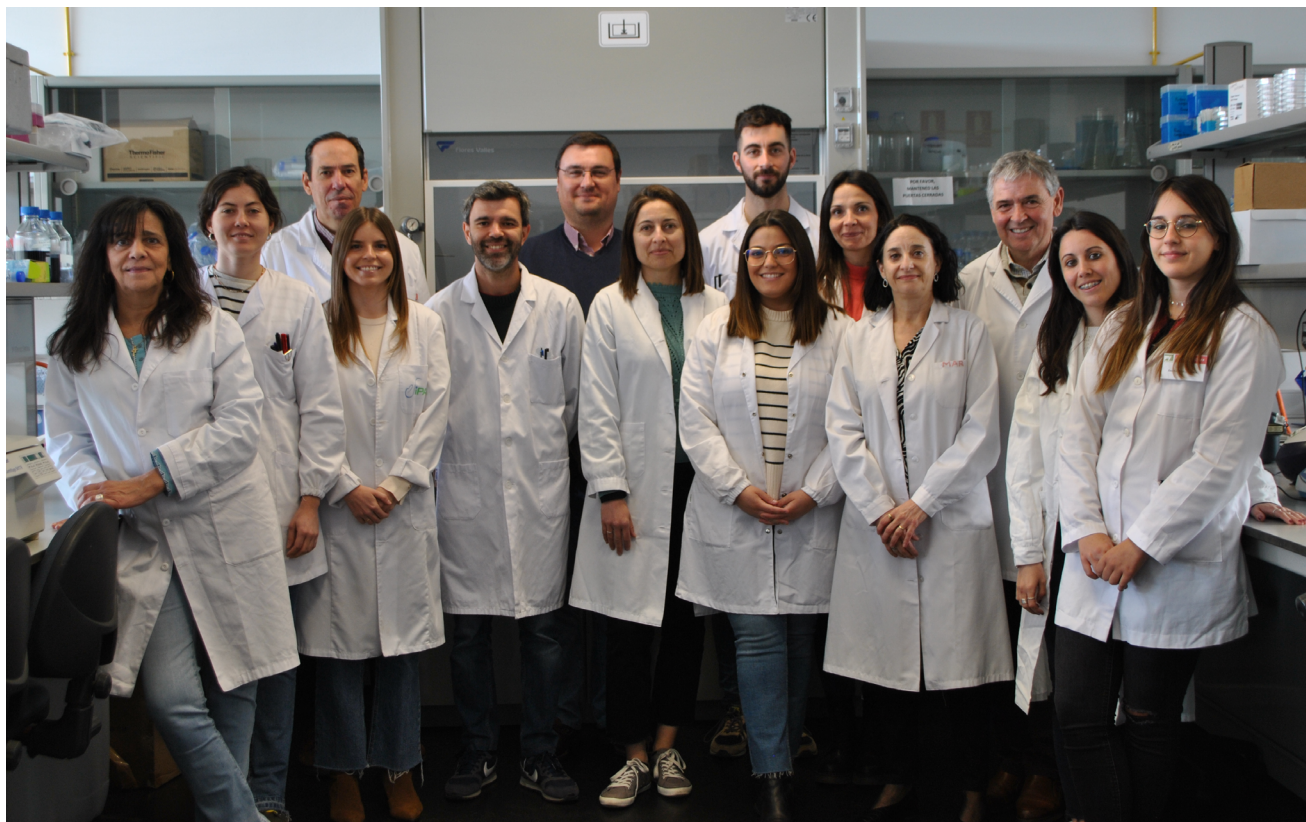


Foto de grupo.

El grupo de Higiene y Seguridad Alimentaria (HISEALI) de la Facultad de Veterinaria de Cáceres se creó a principios de los años 90 coordinado por el Dr. Miguel Ángel Asensio Pérez. En el año 2006 se inscribió en el catálogo de grupos de Investigación de Extremadura y desde junio de 2022, el grupo está coordinado por la Dra. Mar Rodríguez Jovita. En la actualidad el grupo HISEALI está formado por 15 miembros: 3 Catedráticos, 1 Titular, 2

Contratados doctores, 2 investigadores postdoctorales, 4 investigadores predoctorales, 2 técnicos de laboratorio y 1 técnico de administración.

El grupo está integrado en el Instituto Universitario de Investigación de la Carne y Productos Cárnicos (IProCar) de la Universidad de Extremadura. En la estructura de IProCar se integran investigadores de ocho grupos de investigación y seis Depar-

tamentos Universitarios con el objetivo de potenciar la producción científica en carne y productos cárnicos y la transferencia de resultados de investigación a empresas e instituciones, así como el de promover programas de formación de posgrado y doctorado de alto nivel.

La actividad investigadora del grupo se ha dirigido fundamentalmente al estudio de los microorganismos de interés en ali-

mentos, especialmente en productos cárnicos curado-madurados. Estos productos representan un ecosistema muy particular, en el que las condiciones ambientales y del sustrato condicionan el desarrollo microbiano, dirigiendo y seleccionando los microorganismos capaces de crecer en cada una de las fases del proceso de elaboración. Algunos de los microorganismos presentes en determinadas fases de la maduración contribuyen decisivamente a las características sensoriales deseables (color, sabor y aroma) de los diferentes productos curado-madurados. Sin embargo, otros pueden ser responsables de alteraciones en estos productos y hasta de provocar enfermedades en el consumidor.

Entre los microorganismos deseables, el grupo HISEALI ha caracterizado y seleccionado cepas de bacterias como *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus equorum* y diferentes bacterias ácido-lácticas, de levaduras como *Debaryomyces hansenii*, y de mohos como *Penicillium chrysogenum*. Se han estudiado las enzimas de mayor interés, los compuestos volátiles que se generan, se han desarrollado métodos moleculares basados en técnicas de ácidos nucleicos para su diferenciación y se han seleccionado cultivos iniciadores y protectores para su utilización en derivados cárnicos curado-madurados.

Por lo que se refiere a los microorganismos indeseables, determinadas bacterias y algunos mohos pueden alterar el aspecto de los productos madurados o incluso producir toxinas. La actividad del grupo HISEALI se ha orientado básicamente en dos vertientes: caracterizar los microorganismos responsables de los efectos indeseables y desarrollar herramientas para detectar y controlar su presencia en los productos madurados.

La caracterización de microorganismos indeseables incluye la identificación de bacterias de los géneros *Serratia* y *Proteus* responsables de la alteración profunda del jamón, así como de *Pseudomonas* y *Cladosporium* spp. responsables de manchas negras en productos cárnicos madurados. Además, se ha estudiado la producción de micotoxinas por distintas especies de *Penicillium* y *Aspergillus* mediante uHPLC-MS.

También se han desarrollado herramientas para detectar microorganismos patógenos en alimentos, para lo que se han optimizado métodos de extracción

de ADN a partir de mohos toxigénicos en alimentos, y especialmente métodos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar de forma sensible y rápida microorganismos toxigénicos como *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* O157:H7, así como protocolos de PCR en tiempo real (qPCR individual y múltiple) con diversas metodologías para detectar mohos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* productores de aflatoxinas, ocratoxina A (OTA), ácido ciclopiazónico, patulina, verrucosidina y esterigmatocistina.

Se han desarrollado nuevos métodos de qPCR de transcripción inversa (RT-qPCR) para evaluar la viabilidad de *Listeria monocytogenes* en alimentos madurados, como el jamón curado loncheado o el queso, conservados en refrigeración y sometidos a abuso de temperatura mediante el análisis de la expresión de genes de virulencia (*hly*, *iap* y *plca*) y de respuesta en situaciones de estrés (*sigB*). Estos avances se han utilizado para evaluar el efecto de diferentes tratamientos tecnológicos, así como la reducción de sal y nitrificantes sobre la expresión de genes de virulencia y de adaptación al estrés de este patógeno. Se ha desarrollado un método de qPCR múltiple para el serotipado de *L. monocytogenes* utilizado para detectar fuentes de contaminación de este patógeno en alimentos. Para el control de *L. monocytogenes* se han seleccionado como potenciales cultivos protectores bacterias ácido-lácticas procedentes de embutidos curado-madurados y quesos tradicionales, inocuas y sin resistencia a antibióticos capaces de reducir el crecimiento de este patógeno durante la maduración de estos productos. Además, se han caracterizado las bacteriocinas que producen las bacterias ácido-lácticas de mayor potencial antimicrobiano y se ha patentado una cepa de *Lactilactobacillus casei* especialmente activa frente a *L. monocytogenes*. Actualmente, se está estudiando el potencial probiótico de estas cepas como un valor añadido para su utilización en alimentos.

Para los mohos toxigénicos, se han optimizado protocolos de RT-qPCR basados en genes relacionados con la biosíntesis de micotoxinas, como *ota* y *afp* de aflatoxinas. Esto ha permitido analizar la producción de micotoxinas de los derivados cárnicos con distintos ingredientes y condiciones ambientales de maduración. Dado que la expresión de los genes es anterior a la pro-

ducción del metabolito tóxico, la detección de la expresión temprana de los genes relacionados con la síntesis de micotoxinas puede ser una herramienta útil para predecir el potencial toxigénico, lo cual permitiría tomar medidas dentro del programa de APPCC para evitar o minimizar la presencia de micotoxinas en alimentos madurados.

En lo que respecta al control del desarrollo de mohos indeseables, se ha analizado la interacción de las condiciones ambientales en el desarrollo de distintos mohos y la producción de micotoxinas, habiéndose diseñado medios de cultivo específicos para su estudio en productos cárnicos, y también se ha evaluado el efecto de diversos agentes de bioconservación en los microorganismos patógenos. En este sentido, se han seleccionado mohos productores de proteínas que inhiben a mohos toxigénicos y se ha caracterizado el efecto de la proteína PgAFP de *P. chrysogenum* en mohos, tanto sensibles como resistentes. Igualmente, se ha evaluado el efecto de diferentes agentes de biocontrol (ABCs), tanto microorganismos aislados de derivados cárnicos (*Enterococcus faecium*, *S. xylosum*, *D. hansenii* y *P. chrysogenum*) como productos de origen vegetal (orégano, tomillo, romero y extracto de bellota), sobre el crecimiento de los mohos y la producción de OTA, sus modos de acción y las posibles interferencias sobre la microbiota y los parámetros de calidad del producto. Por otra parte, se están desarrollando modelos predictivos cuya aplicación sea útil para reducir la presencia de OTA en productos cárnicos cuando se utilizan ABCs. Para la realización de estos estudios se están aplicando técnicas ómicas, incluyendo genómica, transcriptómica, proteómica, y metabolómica. Los resultados previstos deben permitir el diseño de estrategias que permitan controlar el peligro de la presencia de OTA en productos cárnicos curado-madurados sin renunciar a los efectos beneficiosos de la población fúngica en la maduración y el sabor de los productos cárnicos.

Publicaciones seleccionadas de los últimos años

Alía A, Andrade MJ, Córdoba JJ, Martín I y Rodríguez A. (2020). Development of a multiplex real-time PCR to differentiate the four major *Listeria monocytogenes*

- serotypes in isolates from meat processing plants. *Food Microbiol* 87: 103367. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103367>
- Álvarez M, Andrade MJ, Núñez F, Rodríguez M y Delgado J.** (2023). Proteomics as a new-generation tool for studying moulds related to food safety and quality. *Int J Mol Sci* 24: 4709. <https://doi.org/10.3390/ijms24054709>
- Álvarez M, Delgado J, Núñez F, Cebrián E y Andrade MJ.** (2021). Proteomic analyses reveal mechanisms of action of biocontrol agents on ochratoxin A repression in *Penicillium nordicum*. *Food Control* 129: 108232. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108232>
- Álvarez M, Delgado J, Núñez F, Roncero E y Andrade MJ.** (2022). Proteomic approach to unveil the ochratoxin A repression by *Debaryomyces hansenii* and rosemary on *Penicillium nordicum* during dry-cured fermented sausages ripening. *Food Control* 137: 108695. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108695>
- Álvarez M, Núñez F, Delgado J, Andrade MJ y Rodríguez P.** (2022). Proteomic evaluation of the effect of antifungal agents on *Aspergillus westerdijkiae* ochratoxin A production in a dry-cured fermented sausage-based medium. *Int J Food Microbiol* 379: 109858. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109858>
- Cebrián E, Núñez F, Álvarez A, Roncero E y Rodríguez M.** (2022). Biocontrol of ochratoxinogenic *Penicillium nordicum* in dry-cured fermented sausages by *Debaryomyces hansenii* and *Staphylococcus xylosus*. *Int J Food Microbiol* 375: 109744. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109744>
- Cebrián E, Núñez F, Gálvez FJ, Delgado J, Bermúdez E y Rodríguez M.** (2020). Selection and evaluation of *Staphylococcus xylosus* as a biocontrol agent against toxigenic moulds in a dry-cured ham model system. *Microorganisms* 8: 793. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060793>
- Cebrián E, Rodríguez M, Peromingo B, Bermúdez E y Núñez F.** (2019). Efficacy of the combined protective cultures of *Penicillium chrysogenum* and *Debaryomyces hansenii* for the control of Ochratoxin A hazard in dry-cured ham. *Toxins* 11: 710. <https://doi.org/10.3390/toxins11120710>
- Delgado J, Núñez F, Asensio MA y Owens RA.** (2019). Quantitative proteomic profiling of ochratoxin A repression in *Penicillium nordicum* by protective cultures. *Int J Food Microbiol* 305: 108243. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108243>
- Martín I, García C, Rodríguez A y Córdoba JJ.** (2023). Effect of a selected protective culture of *Lactilactobacillus sakei* on the evolution of volatile compounds and on the final sensorial characteristics of traditional dry-cured fermented "salchichón". *Biology* 12: 88. <https://doi.org/10.3390/biology12010088>
- Martín I, Barbosa J, Pereira, SIA, Rodríguez, A, Córdoba JJ y Texeira, P.** (2023). Study of lactic acid bacteria isolated from traditional ripened foods and partial characterization of their bacteriocins. *LWT-Food Sci Technol* 173: 114300. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114300>
- Martín I, Rodríguez A y Córdoba JJ.** (2022). Application of selected lactic-acid bacteria to control *Listeria monocytogenes* in soft-ripened "Torta del Casar" cheese. *LWT-Food Sci Technol* 168: 113873. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113873>
- Martín I, Rodríguez A, Alía A, Martínez R y Córdoba JJ.** (2022). Selection and characterization of lactic acid bacteria with activity against *Listeria monocytogenes* from traditional RTE ripened foods. *LWT-Food Sci Technol* 163: 113579. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113579>
- Martín, I, Rodríguez A, Sánchez-Montero L, Padilla P y Córdoba JJ.** (2021). Effect of the dry-cured fermented sausage "salchichón" processing with a selected *Lactobacillus sakei* in *Listeria monocytogenes* and microbial population. *Foods* 10: 856. <https://doi.org/10.3390/foods10040856>
- Peromingo B, Caballero D, Rodríguez A, Caro A y Rodríguez M.** (2020) Application of data mining techniques to predict the production of aflatoxin B1 in dry-cured ham. *Food Control* 108: 106884. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106884>

Grupo “Funcionalidad y Ecología de Microorganismos Beneficiosos” (Food-MicroHealth)

ABELARDO MARGOLLES, PATRICIA RUAS-MADIEDO, SUSANA DELGADO Y LORENA RUIZ

Departamento de Microbiología y Bioquímica, Instituto de Productos Lácteos de Asturias – Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC). Paseo Río Linares s/n, 33300 Villaviciosa, Asturias. Tel. 985892131.

✉ amargolles@ipla.csic.es | ruas-madiedo@ipla.csic.es | sdelgado@ipla.csic.es | lorena.ruiz@ipla.csic.es

🌐 <http://www.ipla.csic.es/microhealth>



Foto grupo. Componentes del grupo Food-MicroHealth en marzo de 2023.

El grupo Food-MicroHealth, acrónimo de “Funcionalidad y Ecología de Microorganismos Beneficiosos”, tiene como objetivo principal el estudio de la ecología y funcionalidad, así como las aplicaciones biotecnológicas, de microorganismos beneficiosos presentes en microbiomas de alimentos y humanos y su relación con la salud. Actualmente el grupo está constituido por cuatro científicos de plantilla del CSIC, cinco postdoctorales, cuatro predoctorales en formación, dos titulados superiores contratados y un contratado técnico. Nuestras actividades cubren diferentes aspectos relacionados con la microbiología de alimentos y la microbiota intestinal (Figura 1). Por un lado, el análisis bioinformático y estadístico

de los microbiomas nos permiten caracterizar la poblaciones microbianas presentes en estos nichos, así como su función tras la integración de los datos obtenidos del análisis de sus metabolitos, generando bases de datos depositadas en repositorios públicos. La disponibilidad de diversas muestras tanto de alimentos, ambientes de procesamiento y subproductos generados tras la transformación de las materias primas, como muestras de origen humano, nos han permitido generar una amplia colección de bacterias que constituye uno de nuestros principales recursos para la generación de conocimiento y para su transferencia al sector productivo y a la sociedad. Esta colección, principalmente constituida por

bacterias lácticas, bifidobacterias y algunos microorganismos anaerobios estrictos difíciles de cultivar, nos permiten estudiar su fisiología, así como su funcionalidad biológica y tecnológica, para proponer soluciones basadas en el uso de microorganismos beneficiosos para aplicaciones específicas relacionadas con la alimentación. En este sentido evaluamos el potencial probiótico de cepas para ejercer un efecto positivo en la salud humana gracias, entre otros aspectos, a su capacidad para producir bioactivos, como los que ejercen su función en el eje intestino-cerebro (por ejemplo, ácido gamma-aminobutírico o GABA) o micronutrientes para la biofortificación de alimentos (por ejemplo, riboflavina),

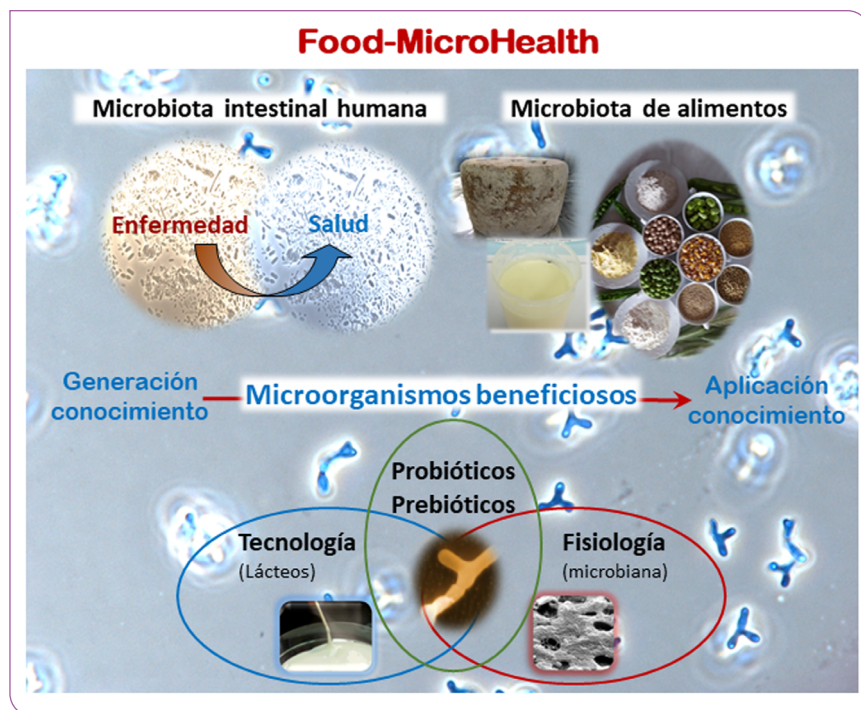


Figura 1. Descripción esquemática del grupo Food-MicroHealth. Fotografía de fondo: cepa de *Bifidobacterium longum subsp. infantis* obtenida en el IPLA-CSIC con un microscopio óptico Nikon.

y estudiamos actividades enzimáticas de bacterias de interés para modificar componentes de los alimentos (por ejemplo, sustratos con potencial prebiótico). En esta línea, desarrollamos modelos *in vitro* y *ex vivo* para estudiar la interacción de probióticos con el hospedador y su microbiota, así como para evaluar la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de bioactivos, nutrientes e ingredientes funcionales de alimentos para que puedan ejercer su función *in vivo*. Finalmente, la línea de investigación que hemos abordado más recientemente trata de estudiar el gran potencial biotecnológico de las bacterias beneficiosas para su aplicación en el ámbito de la economía circular, permitiendo la reutilización de subproductos agroalimentarios de origen animal (suero lácteo) o vegetal (residuos de manzana y cereales, entre otros) para generar ingredientes y/o alimentos fermentados funcionales. En conjunto, nuestras actividades van encaminadas a mejorar la salud de nuestro entorno, mediante una aproximación de salud global y un abordaje multidisciplinar, empleando para ello las capacidades de los microorganismos beneficiosos. Las principales líneas de trabajo que desarrollamos en el grupo Food-MicroHealth se describen a continuación.

Microbiomas en la cadena alimentaria

A lo largo de la cadena agroalimentaria, desde la producción primaria hasta el consumidor final, se da un constante flujo de microorganismos que se ve influenciado por factores como el tipo y origen de la materia prima, o la tecnología y el ambiente de procesamiento, que, en último término, tiene un impacto importante en la calidad nutricional, sensorial y funcional, así como en la seguridad de los alimentos que consumimos. El conocimiento detallado de los microbiomas asociados a distintos entornos de producción de alimentos y su flujo entorno-alimento-consumidor tiene numerosas aplicaciones prácticas incluyendo la detección temprana de posibles contaminaciones así como su origen, la comprensión de los mecanismos de persistencia de microorganismos contaminantes, la predicción de metodologías eficaces para la eliminación/prevenición de contaminaciones, el diseño de comunidades microbianas *ad-hoc* adaptadas para el desarrollo de nuevos alimentos fermentados que aúnen propiedades nutricionales, sensoriales y funcionales de interés, así como su uso para la trazabilidad de la autenticidad de alimentos con Denominación de origen

protegida (DOP), entre otras. Desde el grupo Food-MicroHealth hemos desarrollado y validado procedimientos de trabajo específicamente adaptados para monitorizar los microbiomas asociados a diferentes entornos de producción de alimentos a través de metodologías basadas en secuenciación *shotgun*, y trabajamos en el constante desarrollo de aplicaciones derivadas de los mismos que redunden en una mejora de la calidad y seguridad de los alimentos a diferentes niveles.

Microbiota intestinal y relación con la salud

Los estudios sobre la microbiota intestinal, y su relación con la dieta y la salud humana, constituyen una de las líneas de investigación del grupo. El conocimiento de los desequilibrios microbianos intestinales que están asociados a ciertas enfermedades no siempre se sustenta en sólidas evidencias científicas, ya que en muchos casos se desconocen las causas que generan la enfermedad. Tanto estudios en humanos como en animales han demostrado que cambios en las poblaciones microbianas intestinales pueden tener consecuencias en la fisiología de individuos sanos y en la patología de algunas enfermedades. Para llevar a cabo esta línea, hemos implementado una serie de técnicas que nos permiten abordar estudios tanto taxonómicos como funcionales, con especial énfasis en microorganismos anaerobios estrictos difíciles de propagar en el laboratorio (Figura 2). Actualmente, la actividad que estamos desarrollando dentro de esta línea de investigación está orientada a esclarecer la relación entre la microbiota intestinal y la alergia a proteínas de la dieta, como la proteína de la leche de vaca, determinar marcadores de inflamación intestinal microbianos, metabólicos e inmunitarios asociados a COVID-19, caracterizar bacterias con potencial probiótico para poblaciones de edad avanzada y buscar nuevos probióticos para aumentar el rendimiento deportivo.

Funcionalidad de bacterias beneficiosas

La selección de probióticos para una diana de acción beneficiosa dirigida a una población específica implica abordar una hoja de ruta que nos permita conocer en profundidad las características moleculares, fisiológicas

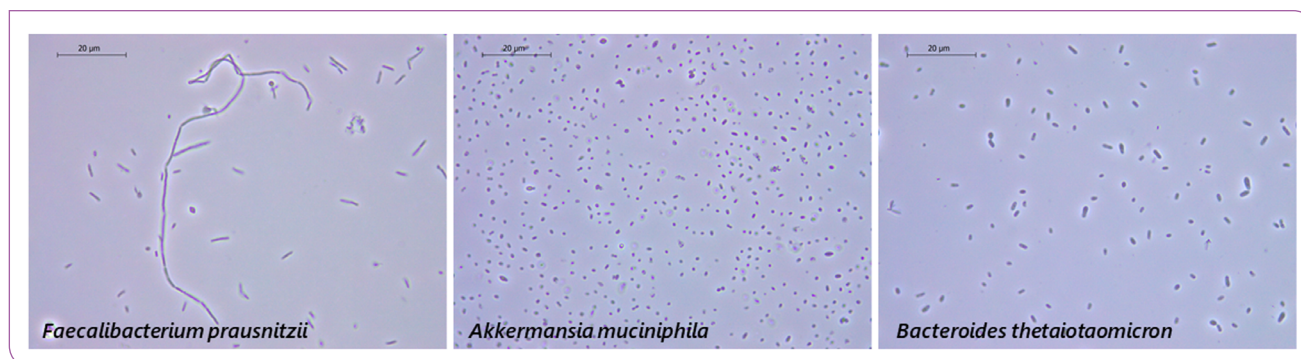


Figura 2. Imágenes de bacterias anaerobias estrictas obtenidas en el IPLA-CSIC con el microscopio óptico Leica. El cultivo se realizó en cabina anaeróbica (80% N_2 , 10% CO_2 , 10% H_2) en diferentes medios: *Faecalibacterium prausnitzii* y *Akkermansia muciniphila* en agar-BHI con diferentes suplementos, y *Bacteroides thetaiotaomicron* en agar-BHI+RCA suplementado.

gicas y funcionales de las cepas que forman parte de nuestra colección. El estudio de sus componentes estructurales (como exopolisacáridos), su maquinaria enzimática, los metabolitos que producen, o la respuesta que inducen sobre el hospedador y/o su microbiota, entre otros parámetros, permiten determinar la funcionalidad de las cepas y de sus moléculas. Este conocimiento, junto con la evaluación de su respuesta frente a condiciones de estrés, tanto a retos del tracto gastrointestinal como a los tecnológicos, nos permite dirigir su aplicación para el desarrollo de alimentos funcionales, fermentados y no fermentados, así como suplementos alimentarios probióticos u otros formatos en los que la viabilidad no es requerida para ejercer su función (postbióticos).

Soluciones microbiológicas para la sostenibilidad de la cadena alimentaria

Es necesario desarrollar procesos de producción de alimentos que minimicen la generación de residuos, contribuyendo al desarrollo de la bioeconomía y a la circularidad y sostenibilidad en los sistemas de producción de alimentos. Los microorganismos asociados a entornos alimentarios, así como a la microbiota intestinal humana, también tienen un enorme potencial en este sentido, a través de la conversión/biotransformación de sustratos de bajo valor, como algunos subproductos agroalimentarios, con el fin de obtener productos de alto valor añadido. A modo de ejemplo, en nuestro grupo estudiamos la fermentación de residuos o subproductos agroalimentarios vegetales

y lactosuero con consorcios microbianos específicamente adaptados a las características de la materia prima, así como a la aplicación final buscada en el producto, para favorecer la obtención de ingredientes bioactivos (péptidos de origen lácteo) o sustratos prebióticos, con capacidad para mejorar la salud humana y cuya demanda de mercado se encuentra en expansión.

Desarrollo de modelos de estudio

Para acometer los objetivos de investigación descritos anteriormente hemos desarrollado e implementado una serie de modelos de estudio que nos permiten llevar a cabo fermentaciones controladas, tanto de matrices alimentarias o subproductos como cultivos de microbiota fecal en condiciones anaeróbicas controladas, para evaluar la dinámica y funcionalidad de las poblaciones microbianas frente a diversas condiciones. Por otro lado, disponemos de una amplia colección de líneas celulares, principalmente humanas, con las que evaluamos la interacción probiótico-hospedador-microbiota, así como la toxicidad y la absorción de metabolitos, bioactivos o micronutrientes de origen microbiano lo cual constituye el primer paso para que estos puedan ejercer su función biológica en el órgano o tejido diana. Estos modelos *in vitro* nos permiten seleccionar aquellos probióticos, prebióticos o moléculas cuya funcionalidad es validada en modelos de intervención *in vivo* que acometemos gracias a colaboraciones con investigadores externos. Recientemente hemos generado organoides derivados de las células madre presentes en el tejido duodenal de cerdo, que estamos

validando como modelo *ex vivo* para estudiar la absorción intestinal. Con esta línea, complementamos el abordaje multidisciplinar que caracteriza la investigación que se realiza en el grupo Food-MicroHealth.

Revisiones recientes

Sabater C, Calvete-Torre I, Villamiel M, Moreno FJ, Margolles A, Ruiz L. (2021). Vegetable waste and by-products to feed a healthy gut microbiota: current evidence, machine learning and computational tools to design novel microbiome-targeted foods. *Trends Food Sci Technol* 118:399-417. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.002>

González-González F, Delgado S, Ruiz L, Margolles A, Ruas-Madiedo, P. (2022). Functional bacterial cultures for dairy applications: Towards improving safety, quality, nutritional and health benefit aspects. *J Appl Microbiol* 33:212-229. <https://doi.org/10.1111/jam.15510>

Marcos R, Sánchez B, Ruiz L, Margolles A. (2022). Convergence of flow cytometry and bacteriology. Current and future applications: a focus on food and clinical microbiology. *Cri Rev Microbiol* 24:1-22. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2022.2086035>

Molinero N, Sabater C, Calvete I, Delgado S, Ruas-Madiedo P, Ruiz L, Margolles A. (2022). Mechanisms of gut microbiota modulation by food, probiotics, prebiotics and more. IN: *Comprehensive Gut Microbiota*. Glibetic N (ed.), Elsevier Inc., Pp. 84-101 (ISBN: 978-0-12-822036-8) <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819265-8.00095-4>

Nutrición, calidad y seguridad alimentaria (HIBRO)

**GONZALO ZURERA COSANO¹, FRANCISCO RINCÓN LEÓN, ROSA MARÍA GARCÍA GIMENO²,
FERNANDO PÉREZ RODRÍGUEZ, ANTONIO VALERO DÍAZ, ELENA CARRASCO JIMÉNEZ, GUIOMAR DENISSE
POSADA IZQUIERDO**

Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario CeIA3, UIC ENZOEM, Universidad de Córdoba

✉ ¹gzurera@uco.es | ²rmgarcia@uco.es

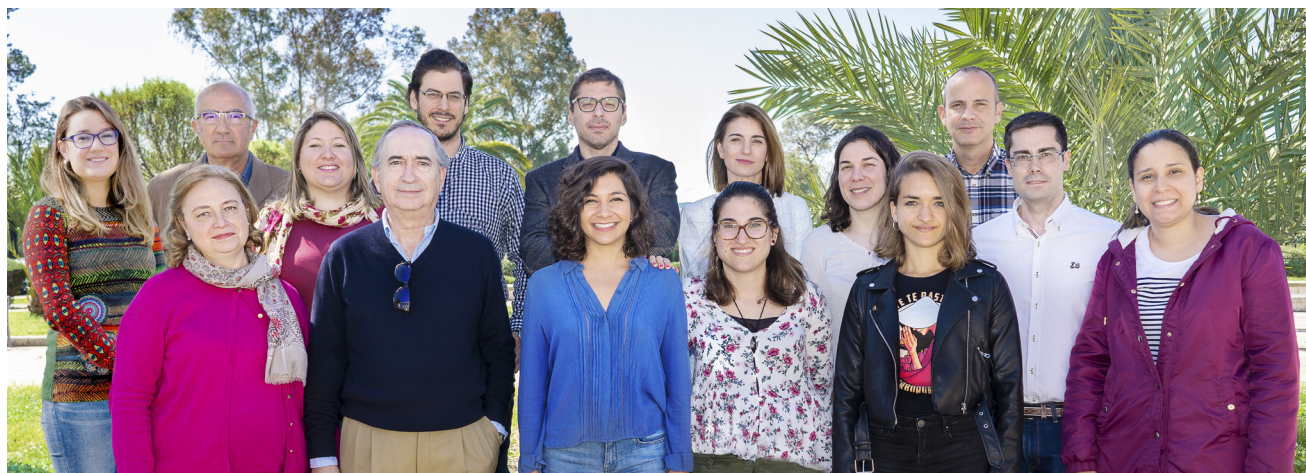


Figura 1. Foto de grupo Hibro.

El Grupo de Investigación HIBRO (AGR170) posee una dilatada experiencia en el control de calidad y seguridad microbiológica de los alimentos (aislamiento e identificación de patógenos, así como en la evaluación del riesgo microbiológico), realizando controles de calidad higiénica para la industria alimentaria. El Grupo se especializa en el desarrollo y aplicación de modelos de predicción del comportamiento de microorganismos patógenos y alterantes alimentarios para el establecimiento de la vida comercial de productos alimenticios, el desarrollo de estudios de Evaluación de Riesgos y diseño de sistemas de Análisis de Peligros y Puntos de Críticos de Control (APPCC). Asimismo, asesora a los agentes de Autoridades Sanitarias (AESAN, EFSA; USDA, FAO, FDA) en la Evaluación de Riesgos Microbiológicos. La relación existente entre la Evaluación de Riesgos Microbiológicos y la microbiología predictiva favorece nuestra misión de apoyo y asesoramiento, siendo el grupo pionero en España en el desarrollo y la aplicación de modelos predictivos en la Evaluación Cuantitativa del Riesgo Microbiano en alimentos.

Actualmente, este grupo está formado por 11 doctores, 2 personas posgraduadas y 7 graduados, algunos de ellos están en la Figura 1.

La actividad investigadora desarrollada desde la constitución del grupo en 1988 se puede resumir con los siguientes datos: defensa de 36 tesis doctorales, publicación de 77 libros y capítulos de libro, 427 artículos científicos internacionales y nacionales, 407 comunicaciones a congresos internacionales y nacionales, además de 100 proyectos de financiación pública y contratos con empresas, participación en redes, nacionales e internacionales. Además, el grupo participa habitualmente en eventos de transferencia a las empresas como Foro Transfiere, SmartFood, Murcia-Food, o Food4Life.

En los últimos cinco años (2018-2022), el grupo ha experimentado una creciente e importante actividad investigadora que se evidencia con el desarrollo de 20 proyectos de investigación con financiación europea, nacional, autonómica y con empresas. Esta actividad se ha plasmado en la publicación

de 62 artículos en revistas de impacto dentro del Q1 (>95%) del SCR (Food Science & Technology), 29 comunicaciones a congresos, 26 reuniones científicas, 9 capítulos de libros y 4 libros de prestigiosas editoriales del área.

Las líneas de investigación del Grupo han evolucionado en el tiempo. En un principio, la microbiología predictiva aplicada a alimentos se basaba en conocer el comportamiento de un patógeno en medio de cultivo, para luego predecir su comportamiento en el alimento, e integrar este conocimiento en la Evaluación Cuantitativa del Riesgo Microbiológico como herramienta para garantizar la seguridad alimentaria. En los últimos años se ha profundizado en la microbiología predictiva aplicada al estudio de la interacción entre poblaciones microbianas en el propio alimento. Las perspectivas de futuro que se abren, dados los avances tecnológicos, tendencias y necesidades, incluyen el desarrollo de técnicas avanzadas de biología molecular y metagenómica para la caracterización de la microbiota y microbioma presente en matrices alimentarias, y su

integración en evaluación de riesgos junto al uso de enfoques de big data, inteligencia artificial o algoritmos de machine learning.

Las líneas actuales de investigación que se están desarrollando en el seno de nuestro grupo son las siguientes:

1) Seguridad alimentaria:

- ❶ Estudio del comportamiento de patógenos de transmisión alimentaria
- ❷ Desarrollo y aplicación de modelos matemáticos de microbiología predictiva
- ❸ Evaluación Cuantitativa del Riesgo Microbiano en Alimentos
- ❹ Estudio de la transmisión de resistencias antibióticas en la cadena alimentaria
- ❺ Técnicas de bioconservación aplicada a alimentos
- ❻ Estudio de la interacción de poblaciones microbianas en alimentos

2) Convergencia biodigital en el sector alimentario:

- ❶ Desarrollo de “digital twins” de la granja a la mesa
- ❷ Software de predicción aplicado a microorganismos patógenos y alterantes alimentarios
- ❸ Sistemas digitales de trazabilidad alimentaria

3) Nutrición y calidad alimentaria:

- ❶ Determinación de vida útil de alimentos mediante integración de modelos predictivos.

Fruto de diversos proyectos se ha desarrollado una herramienta informática propia denominada microHibro (www.microhibro.com), que proporciona un entorno guiado para la estimación del riesgo microbiano y la determinación de vida útil comercial de los alimentos. La aplicación está dirigida tanto a las autoridades sanitarias como a la industria alimentaria. microHibro, tiene una fuerte demanda en el ámbito de la seguridad y calidad alimentaria, a nivel nacional e internacional, desarrollando colaboraciones con AESAN, EFSA y autoridades de seguridad alimentaria como BfR o ANSES y realizando servicios de consultoría a empresas alimentarias líderes en el sector. Como principal fortaleza, la aplicación se adapta a las necesidades de los usuarios, debido a su diseño dinámico y flexible y se enriquece continuamente con los resultados de los proyectos que se llevan a cabo.

Por último, cabe destacar que el grupo dispone de un reciente laboratorio de seguridad microbiológica de niveles de bioseguridad 2 y 3, una instalación puntera a nivel nacional que permite el estudio de todo tipo de patógenos alimentarios con las máximas garantías de seguridad y prevención de riesgos.

Actualmente el grupo se encuentra formando parte de la Unidad de Investigación Competitiva de Zoonosis y Enfermedades Emergentes (ENZOEM) de la Universidad de Córdoba, la cual está formada por un grupo multidisciplinar de 30 investigadores, que tiene el objetivo de abordar de forma integral y holística el conocimiento de las principales zoonosis y enfermedades emergentes de origen animal y de importancia en Salud pública y Sanidad animal, enfocado bajo el concepto “One health”.

Publicaciones relevantes en el último año

Sofía Griselda Cuggino, Guiomar Posada-Izquierdo, Isabel Bascón Villegas, Martín Gustavo Theumer, Fernando Pérez-Rodríguez. (2023). Food Research International, 167: 12451. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112451>

Silva, B.N.; Bonilla-Luque, O.M.; Possas, A.; Ezzaky, Y.; Elmoslih, A.; Teixeira, J.A.; Achemchem, F.; Valero, A.; Cadavez, V.; Gonzales-Barron, U. (2023). Meta-Analysis of In Vitro Antimicrobial Capacity of Extracts and Essential Oils of *Syzygium aromaticum*, *Citrus L.* and *Origanum L.*: Contrasting the Results of Different Antimicrobial Susceptibility Methods. Foods, 12: 1265. <https://doi.org/10.3390/foods12061265>

Bolívar, A., Saiz-Abajo, M. J., García-Gimeno, R., Petri-Ortega, E., Díez-Leturia, M., González, D., Vitas, A. I., y Pérez-Rodríguez, F. (2022). Cross contamination of *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-cut leafy vegetables: Derivation of a food safety objective and other risk management metrics. Food Control, 109599. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109599>

Posada-Izquierdo, G. D., Arroyo-López, F. N., Valero, A., Benítez-Cabello, A., Rodríguez-Gómez, F., Jiménez-Díaz, R., y García-Gimeno, R. M. (2022). Assessing *Listeria monocytogenes* growth during Spanish-style green table olive fermentation. Food Control,

145, 109489. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109489>

Dubovitskaya, O., Valero, A., Seinige, D., Bungenstock, L., Schill, F., Kehrenberg, K., y Reich, F. (2022). Comparative studies on the correlation of *Campylobacter* spp. at different stages in the broiler production chain. Food Control, 133, 108647. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108647>

Ezzaky, Y., Zanzan, M., Achemchem, F., Valero, A., y Hamadi, F. (2022). Microbiological profile and modeling the survival of *Escherichia coli* ATCC 25922 in Amlou: A traditional Moroccan spread food. Microbial Risk Analysis, 21, 100216. <https://doi.org/10.1016/j.mran.2022.100216>

Ortiz-Solà, J., Valero, A., Abadías, M., Nicolau-Lapeña, I., y Viñas, I. (2022). Evaluation of water-assisted UV-C light and its additive effect with peracetic acid for the inactivation of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and murine norovirus on whole and fresh-cut strawberries during shelf-life. Journal of the Science of Food and Agriculture, 102, 5660-5669. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11913>

Pasquali, F., Valero, A., Possas, A., Lucchi, A., Crippa, C., Gambi, L., Manfreda, G., y De Cesare, A. (2022). Occurrence of foodborne pathogens in Italian soft artisanal cheeses displaying different intra- and inter-batch variability of physicochemical and microbiological parameters. Frontiers in Microbiology, 13, 959648. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.959648>

Possas, A., Valero, A., y Pérez-Rodríguez, F. (2022). New software solutions for microbiological food safety assessment and management. Current Opinion in Food Science, 44, 100814. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100814>

Sánchez-Gutiérrez, M., Gómez-García, R., Carrasco, E., Bascón-Villegas, I., Rodríguez, A., Pintado, M. (2022). *Quercus ilex* leaf as a functional ingredient: Polyphenolic profile and antioxidant activity throughout simulated gastrointestinal digestion and antimicrobial activity. Journal of Functional Foods 91, 105025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105025>

Posada-Izquierdo, G. D., Mazón-Villegas, B., Redondo-Solano, M., Huete-Soto, A., Viquez-Barrantes, D., Valero, A., Fallas-Jiménez, P. y García-Gimeno, R. M. (2021). Modelling the Effect of Salt Concentration on the Fate of *Listeria monocytogenes* Isolated from Costa Rican Fresh Cheeses. Foods, 10(8), 1722. <https://doi.org/10.3390/foods10081722>

Grupo de Investigación: Resistencia a los antibióticos desde el enfoque One Health de la Universidad de La Rioja (OneHealth-UR)

CARMEN TORRES, MYRIAM ZARAZAGA, CARMEN LOZANO, SUSANA SANZ, CARMEN OLARTE, BEATRIZ ROBREDO, RINE C. REUBEN, SANDRA MARTÍNEZ, ROSA FERNÁNDEZ, IDRIS N. ABDULLAHI, SARA GARCÍA, PAULA EGUIZÁBAL, ALLELÉN CAMPAÑA, MARIO S. PINO, JAVIER LATORRE, CARMEN GONZÁLEZ, AGUSTÍ MARTÍNEZ, BEATRIZ MARTÍNEZ

Universidad de La Rioja, Facultad de Ciencia y Tecnología, Departamento de Agricultura y Alimentación, Madre de Dios 53, 26006 Logroño.

✉ carmen.torres@unirioja.es



Foto de los componentes del grupo OneHealth-UR.

El grupo de investigación, coordinado por la profesora Carmen Torres, lleva tres décadas investigando en la Universidad de La Rioja (UR) sobre la resistencia bacteriana a los antibióticos desde el enfoque holístico OneHealth basado en la conexión e interdependencia de la salud humana, animal y medioambiental. El grupo OneHealthUR, entendiendo la dimensión global de esta problemática, estudia también el papel que desempeña la cadena alimentaria en la epidemiología de la resistencia a los antibió-

ticos como vía de transmisión de bacterias resistentes y genes de resistencia.

Desde esta perspectiva, se analizan bacterias tanto comensales (consideradas "centinelas" de la resistencia) como patógenas, especialmente aquellas con la doble vertiente de ser comensales e importantes patógenos oportunistas como es *Escherichia coli* o *Klebsiella pneumoniae*, diferentes especies de *Enterococcus* (*E. faecalis* o *E. faecium*) o de *Staphylococcus* (tanto coagulasa

positivos, como *S. aureus* o *S. pseudintermedius*, o coagulasa negativos).

Las cepas se aíslan de muestras de muy diversos orígenes procedentes de personas y de animales sanos entre los que se encuentran animales de producción (ganado porcino, aviar, bovino, etc), de compañía (perros y gatos), de vida libre (mamíferos y aves, incluyendo aves migratorias), alimentos de origen animal y vegetal y también de muestras medioambientales (incluyen-

do aguas residuales y superficiales, aire del entorno ganadero, suelos agrícolas sometidos a distintos tipos de riegos etc).

Gracias a las múltiples colaboraciones con grupos de investigación de otros países y continentes (Europa, África [Magreb y África subsahariana] o América [tanto Norteamérica como Sudamérica]), se estudian bacterias procedentes de áreas geográficas con distintos hábitos alimentarios o diferente grado de contacto con animales, así como de países con distintas políticas de uso de antibióticos en medicina o en producción y sanidad animal. Estas características dispares pueden influir en la emergencia y diseminación de bacterias multirresistentes en los diferentes ecosistemas.

El trabajo se centra especialmente en el estudio de los mecanismos de resistencia a antibióticos de gran relevancia en salud pública, como es el caso de betalactamasas de espectro extendido BLEE] o carbapenemasas en Enterobacterias, la resistencia a linezolid o glicopéptidos en enterococos y estafilococos, o la resistencia a metilicina en *S. aureus*. Se analizan además otros mecanismos de resistencia, principalmente mecanismos emergentes, así como las estructuras genéticas que los portan. Se abordan asimismo estudios de epidemiología molecular en los que se analizan las estructuras poblacionales y la diseminación de clones bacterianos de gran interés en salud pública.

La trayectoria y estudios más destacados del grupo OneHealth-UR que han contribuido a un mejor conocimiento de la dimensión global del fenómeno de la resistencia a los antibióticos se resumen a continuación.

➤ A principios de los 90 se aislaron enterococos resistentes a vancomicina en muestras ambientales, en concreto en muestras de aguas residuales. Este importante hallazgo puso en evidencia la relación entre el uso de antibióticos (la avoparcina) como promotores del creci-

miento en animales de producción y la selección e incremento de la resistencia en bacterias de gran relevancia en medicina. Asimismo, se realizaron diversos trabajos en modelo animal en pollos que ponían en evidencia el efecto del uso de antibióticos como promotores del crecimiento en la microbiota intestinal de dichos animales. Estos estudios aportaron información en el debate abierto por entonces sobre el polémico uso de antibióticos con este fin.

➤ Durante la década de los 2000 el grupo se centró en el estudio de la resistencia a antibióticos en la microbiota intestinal de animales de abasto y alimentos de origen animal. Múltiples trabajos pusieron en evidencia que el tracto intestinal de los animales constituye un reservorio de bacterias comensales resistentes a antibióticos que pueden contaminar los alimentos. En este sentido, se publicaron las primeras detecciones de cepas *E. coli* productoras de BLEEs aisladas de alimentos y animales de producción pudiendo demostrar la presencia de las mismas estructuras genéticas portadoras de los genes implicados en cepas de la microbiota de personas y, en algunos casos, los mismos clones. Estos hallazgos reafirmaron el papel de la cadena alimentaria como vehículo de transmisión de bacterias resistentes y genes de resistencia.

➤ Desde mediados de los 2000, el grupo OneHealth-UR estudia la epidemiología de *S. aureus* resistente a metilicina (SARM). En 2005 se detectó en Holanda el linaje genético CC398 asociado a ganado (SARM-AG) porcino y personas en contacto con estos animales. El grupo de investigación ha estudiado en profundidad el linaje SARM-CC398, su prevalencia y sus características analizando muestras procedentes de ganado porcino a nivel de granjas y de matadero, de trabajadores de dichas granjas, de alimentos de origen porcino o aviar, de muestras ambientales de las granjas porcinas, etc. Asimismo se han llevado a cabo estudios multicéntricos en los

que han participado numerosos hospitales españoles en los que se ha podido demostrar la estrecha relación entre la frecuencia de detección de SARM del linaje CC398 a nivel hospitalario y la densidad de ganado porcino en la zona en la que se localizan los hospitales. En esta línea de investigación el grupo sigue trabajando mediante el análisis de la evolución de *S. aureus* y de otros estafilococos (tanto coagulasa-positivo como coagulasa-negativo) en la interfaz animal-hombre.

➤ En la última década el grupo está llevando asimismo una intensa investigación en la diseminación de la resistencia a los antibióticos en animales de vida libre y en el medioambiente. Ya en 2006 el grupo publicó el primer estudio en el que se detectaban cepas de *E. coli* productoras de BLEEs en animales salvajes, mecanismo de gran importancia clínica. A partir de esa fecha, otros grupos también han puesto en evidencia la diseminación de cepas portadoras de BLEEs en otros animales de vida libre o en muestras ambientales. En la actualidad, el grupo OneHealth-UR está realizando amplios estudios de epidemiología molecular en distintos animales de vida libre (pequeños y grandes mamíferos, aves migratorias, lagomorfos...) y muestras ambientales (fundamentalmente aguas superficiales y aguas residuales) para poder analizar la implicación del ecosistema ambiental en la diseminación y evolución de la resistencia desde un enfoque One Health.

➤ En los últimos años el grupo OneHealth-UR está involucrado en la búsqueda de nuevas alternativas a los antibióticos y en sus potenciales aplicaciones en sanidad humana y animal así como también en ganadería y en la producción y conservación de alimentos. En esta línea, está investigando en la caracterización de péptidos antimicrobianos (bacteriocinas) por bacterias de los géneros *Staphylococcus* y *Enterococcus* y su aplicación en biomedicina, veterinaria y producción y conservación de alimentos.



Para más información del grupo:

<https://investigacion.unirioja.es/grupos/39/detalle>

<http://investigacion.unirioja.es/investigadores/187/detalle>

Grupo de investigación Tecnología, Ingeniería y Seguridad Alimentaria de la Universidad de la Rioja

ELENA GONZÁLEZ FANDOS

Área de Tecnología de los Alimentos, Departamento de Agricultura y Alimentación, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad de La Rioja.

✉ elena.gonzalez@unirioja.es



Foto: Algunos de los miembros del grupo Tecnología, Ingeniería y Seguridad Alimentaria.

El grupo de investigación Tecnología, Ingeniería y Seguridad Alimentaria, liderado por Elena González Fandos, está formado por 9 investigadores: 1 catedrática, 1 profesor titular, 1 colaborador doctor, 1 contratada doctor y 5 investigadores predoctorales. Gran parte de la investigación desarrollada en el grupo está relacionada con la seguridad alimentaria.

En el grupo de investigación se ha abordado el estudio de la prevalencia y control de bacterias patógenas de transmisión alimentaria, principalmente *Listeria mono-*

cytogenes, *Campylobacter* spp y *Staphylococcus aureus*. Destacan los trabajos realizados para evaluar el efecto del procesado en la calidad y seguridad microbiológica de la carne de pollo, incluyendo en el estudio el seguimiento desde la granja a la sala de despiece. Dichos estudios han puesto de manifiesto las etapas más críticas en relación con la contaminación microbiana, así en el caso de *Campylobacter* spp. se observó la importancia de la etapa de transporte de la granja a matadero y el procesado en matadero, siendo necesario adoptar medidas de limpieza y

desinfección en las jaulas y vehículos de transporte, así como en el procesado en matadero para minimizar dicha contaminación.

En el grupo también se ha abordado el efecto de la descontaminación de carne de aves con ácidos orgánicos y sus sales (ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético, ácido málico, ácido propiónico, ácido fumárico, y sorbato potásico) en el control de *L. monocytogenes* y *Campylobacter jejuni*, así como el efecto del envasado en atmósferas modificadas.

La importancia de la calidad y seguridad microbiológica de productos tradicionales ha llevado al grupo a realizar estudios en chorizo riojano para su caracterización y para evaluar el control de *Salmonella* y *L. monocytogenes*. Destacan también los estudios realizados en champiñón con distintas condiciones de lavado (ácido cítrico, ascorbato sódico, hipoclorito sódico), envasado en atmósferas modificadas y temperatura de almacenamiento, lo que ha permitido establecer las condiciones más adecuadas para mantener la calidad y prolongar la vida útil.

Otra línea desarrollada por el grupo ha sido el efecto de la tecnología "sous vide" en la seguridad microbiológica, destacando los trabajos realizados en pescado, en concreto en salmón y trucha.

Otra de las líneas abordadas por el grupo es la resistencia a antibióticos. Actualmente nos enfrentamos a bacterias que son multirresistentes y que se han convertido en una amenaza para la salud pública a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) cataloga la resistencia a los antibióticos como uno de los tres grandes problemas a los que se enfrenta la humanidad. Si no se toman medidas de carácter urgente, se estima que en 2050 el número de muertes anuales atribuibles a las infecciones ocasionadas por bacteria multirresistentes alcanzará los 10 millones a nivel mundial, 390.000 en toda Europa y 40.000 en España, desbancando al cáncer como primera causa de muerte. La adquisición y transmisión de resistencia a antibióticos ha sido atribuida al mal uso de antibióticos en salud humana y sanidad animal. Además, existe una creciente preocupación por la posibilidad de transmisión de resistencia a antibióticos vía alimentos. Para luchar contra la amenaza de la resistencia a antibióticos se debe abordar el problema desde una perspectiva "One Health", ya que la salud humana, sanidad animal y ambiente están interconectados. Nuestro grupo de investigación ha trabajado en esta línea para abordar el papel que juegan los animales y la cadena alimentaria en la resistencia a antibióticos. En el grupo se ha analizado la presencia de antibióticos en un total de 1.250 muestras de carne de distintas especies (pollo, pato, pavo, codorniz, perdiz, cerdo, vacuno, ovino, caprino, conejo) obtenidas en punto de venta (supermercados, carnicerías, hipermercados...), detectándose la presencia de antibióticos en 7 muestras, lo que representa el 0.56% de las analizadas; sólo en 3 muestras se

detectaron concentraciones de antibióticos superiores a los límites máximos de residuos (LMR) permitidos, lo que representa el 0.24% de las muestras analizadas. Los antibióticos detectados fueron quinolonas, sulfamidas y tetraciclinas. Además, se ha procedido a evaluar si la presencia de antibióticos en la carne afecta a la microbiota presente, observándose que, efectivamente, afecta a la misma, y en algunos casos también aumenta su resistencia a antibióticos. Por otra parte, en animales en los que se han administrado antibióticos, se ha observado que, tras el tratamiento, la microbiota en mucosa rectal y genital se ve afectada porque los antibióticos ejercen una presión hacia la selección de bacterias resistentes; por tanto, se deben tomar medidas para evitar la contaminación fecal de las canales durante el sacrificio. En las muestras de carne analizadas, nuestro grupo ha detectado la presencia de *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs), así como *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA) y *Enterococcus* resistentes a vancomicina. Destaca también la detección de cepas de estafilococos coagulasa negativos multirresistentes.

Publicaciones seleccionadas de los últimos años

Da Silva-Guedes, J., Martínez-Laorden, A., González-Fandos, E. (2022). Effect of the presence of antibiotic residues on the microbiological quality and antimicrobial resistance in fresh goat meat. *Foods*, 11, 3030. <https://doi.org/10.3390/foods11193030>

González-Fandos, E., Martínez-Laorden, A. (2020). Sous vide technology in seafood processing technology. In "Technologies in seafood processing". Ed. Yesim Ozogul. CRC Press, Boca Raton, FL. ISSN 9780815366447

González-Fandos, E., Maya, N., Martínez-Laorden, A., Pérez-Arnedo, I. (2020). Efficacy of lactic acid and modified atmospheres packaging against *Campylobacter jejuni* on chicken during refrigerated storage. *Foods* 9 (1) 10; <https://doi.org/10.3390/foods9010109>

González-Fandos, E., Martínez-Laorden, A., Pérez-Arnedo, I. (2020). Combined effect of organic acids and modified

atmosphere packaging against *Listeria monocytogenes* in chicken legs. *Animals*, 10, 1818; <https://doi.org/10.3390/ani10101818>

González-Fandos, E., Martínez-Laorden, A., Pérez-Arnedo, I. (2020). Effect of decontamination treatments on *Campylobacter jejuni* in poultry. *Foods*. 9 (10), 1453; <https://doi.org/10.3390/foods9101453>

González-Fandos, E., Martínez-Laorden, A., Pérez-Arnedo, I. (2021). Efficacy of combinations of lactic acid and potassium sorbate against *Listeria monocytogenes* in chicken stored under modified atmospheres. *Food Microbiology*, 93, 103596; <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103596>

González-Fandos, E., Vázquez de Castro, M., Martínez-Laorden, A., Pérez-Arnedo, I. (2021). Behavior of *Listeria monocytogenes* and other microorganisms in sliced Riojano chorizo (Spanish Dry-Cured Sausage) during storage under modified atmosphere. *Microorganisms* 9 (7), 1384; <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071384>

González-Fandos, E., Vázquez de Castro, M., Martínez-Laorden, A. (2021). Behaviour of *Listeria monocytogenes* and natural microflora during the manufacture of Riojano chorizo (Spanish Dry-Cured Sausage). *Microorganisms* 9 (9), 1963; <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091963>

Martínez-Laorden, A., Arraíz-Fernández, C., González-Fandos, E. (2023). Microbiological quality and safety of fresh turkey meat at retail level including the presence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* and methicillin-resistant *S. aureus*. *Foods* 2023, 12, 1274; <https://doi.org/10.3390/foods12061274>

Pérez Arnedo, I., González-Fandos, E. (2019). Prevalence of *Campylobacter* spp. in Poultry in Three Spanish Farms, a Slaughterhouse and a Further Processing Plant. *Foods* 8 (3), 111; <https://doi.org/10.3390/foods8030111>

Pérez-Arnedo, I., Cantalejo, M.J., Martínez-Laorden, A., González-Fandos, E. (2021). Effect of processing on the microbiological quality and safety of chicken carcasses at slaughterhouse. *International Journal of Food Science and Technology* 56, 1855-1864; <https://doi.org/10.1111/ijfs.14815>

Libros

IGNACIO BELDA

Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Universidad Complutense de Madrid

✉ ignaciobelda@ucm.es



Título: Pero, ¿qué han hecho los microbios por nosotros? Fundamentos de biotecnología industrial (2ª edición)

Autor: Manuel Sánchez Angulo

Editorial: García Maroto Editores

Fecha Publicación: 2022

ISBN: 9788419299307

ISBN ebook: 9788419299314

276 pp.

«A mis alumnos. Este libro existe porque ellos lo han pedido». Con esta frase se presenta la 2ª edición del libro que el profesor Manuel Sánchez Angulo (Universidad Miguel Hernández, Elche) ha escrito para dar soporte bibliográfico a su asignatura de Microbiología Industrial. Ciertamente, no se me ocurre mayor aliciente para escribir un libro académico que la propia demanda de tus alumnos. Sin embargo, éramos muchos más los que estábamos demandando un libro así. Como profesor, también de Microbiología industrial (en mi caso en la Universidad Complutense de Madrid), entre compañeros siempre hemos lamentado la ausencia de un texto de referencia que aúne conceptos de disciplinas tan dispares como las que se integran en Microbiología industrial: metabolismo microbiano, aplicaciones industriales de microorganismos, ingeniería de biorreactores, economía y propiedad intelectual. El libro, titulado *«Pero, ¿qué han hecho los microbios por nosotros?»*, es una suerte de apuntes desarrollados por el profesor sobre un total de 34 temas organizados en 7 bloques:

➤ Bloque A: Fundamentos de la Microbiología Industrial (2 temas)

Se resume la historia de la microbiología industrial, desde su origen serendípico y empirista en la antigüedad, hasta los principales hitos en su desarrollo, desde el Siglo XIX hasta la actualidad. También se introducen conceptos de bioeconomía, patentes y emprendimiento.

➤ Bloque B: Crecimiento de microorganismos (6 temas)

Se desarrollan conceptos de cinética de crecimiento microbiano y su modelado matemático, así como las particularidades del crecimiento en cultivo en fermentadores cerrados y en continuo.

➤ Bloque C: Ingeniería de bioprocesos (4 temas)

Se desarrollan con claridad y sencillez conceptos nuevos para los estudiantes, como el escalado, balances de materia y energía, termobiología y esterilización, estructura de biorreactores, y procesos post-fermentativos para la obtención de bioproductos.

➤ Bloque D: Fermentaciones industriales (5 temas)

Se explican, con base en la biología y el metabolismo de los microorganismos implicados, los procesos de producción de ácidos orgánicos, aminoácidos, biopolímeros, enzimas y proteínas de gran valor industrial.

➤ Bloque E: Microbiología industrial alimentaria (6 temas)

Se presenta el concepto de cultivo iniciador y se explica en qué consiste el proceso de domesticación de microorganismos industriales, que se ejemplifica y desarrolla para el caso concreto de *Saccharomyces cerevisiae*. A continuación, se presentan los procesos de producción de cerveza, vino, vinagre, productos lácteos y proteína unicelular microbiana, cubriendo aspectos tanto microbiológicos como técnicos y operacionales propios de cada proceso productivo.

➤ Bloque F: Microbiología industrial medioambiental (7 temas)

Este bloque, que, en ocasiones, es muy minoritario en los temarios de asignaturas análogas, o incluso se escinde por completo dando lugar a asignaturas propias de Biotecnología ambiental, se entronca aquí perfectamente en el texto, desarrollando temas como: el tratamiento de aguas residuales y distintas alternativas biológicas para su optimización, la digestión de materia orgánica en biorreactores

anaerobios, el tratamiento de residuos sólidos urbanos y áreas emergentes como la producción de biocombustibles, la biominería y biorremediación, o el desarrollo de biofertilizantes y agentes de biocontrol para agricultura.

► **Bloque G: Microbiología industrial biosanitaria** (4 temas)

En este bloque final, se desarrolla con gran detalle los procesos de producción de antibióticos y vacunas, y se explica el proceso de desarrollo de fármacos, incluyendo los ensayos clínicos.

El texto se acompaña por infinidad de gráficas y esquemas (en castellano, como todo el texto), originales o adaptados de trabajos científicos, que simplifican la comprensión de conceptos y procesos.

Por aportar algo, más allá del agradecimiento de todos los que participamos en la docencia de la microbiología industrial, tan sólo mencionar algunos conceptos que podrían incluirse en futuras actualizaciones de este libro. En primer lugar, podría introducirse la importancia de los consorcios microbianos para la optimización de procesos industriales, lo que permite desarrollar conceptos de ecología e interacciones microbianas que amplían, más si cabe, la transversalidad de la asignatura. Para ello, en mis clases suelo utilizar el trabajo de Senne de Oliveira et al. (2021), que permite introducir conceptos como el de

propiedades emergentes, interacciones de orden superior, o *cross-feeding*, y su importancia en la optimización de fenotipos de interés industrial. Asimismo, en los temas iniciales, suelo destacar la importancia de incrementar exponencialmente la diversidad de microorganismos que somos capaces de cultivar y crecer a escala industrial, para poder, realmente, aprovechar la infinita diversidad funcional que ofrece el mundo microbiano. Para reflexionar sobre la complejidad de este reto, y discutir distintas aproximaciones para abordarlo, sugiero trabajar los artículos de Lewis et al. (2010), Cross et al. (2019) y, recientemente, el de Huang et al. (2023).

Finalizar diciendo el libro está escrito con el máximo rigor académico, pero con un estilo sencillo, cercano, y muy fácil y agradable de leer. El texto resume vocación y saber hacer docente y es sorprendentemente actual. Intercala la definición de conceptos muy asentados con la introducción de conceptos recientes, que se acompañan de las correspondientes referencias de los artículos. Recomiendo mucho su lectura a todos los profesores universitarios que impartan asignaturas de Microbiología industrial o Biotecnología microbiana. El libro puede adquirirse en formato físico y en formato digital, a través de la plataforma "*ingebook*", lo cual lo hace aún más interesante para su recomendación a estudiantes o bibliotecas de nuestras instituciones.

Referencias mencionadas en esta reseña

- Senne de Oliveira et al., 2021. Complex yeast-bacteria interactions affect the yield of industrial ethanol fermentation. *Nat Commun* 8;12(1):1498.
- Lewis et al., 2010. Uncultured microorganisms as a source of secondary metabolites. *J Antibiot* 63, 468–476.
- Cross et al., 2019. Targeted isolation and cultivation of uncultivated bacteria by reverse genomics. *Nat Biotechnol* 37, 1314–1321.
- Huang et al. (2023). High-throughput microbial culturomics using automation and machine learning. *Nat Biotechnol*, in press. <https://doi.org/10.1038/s41587-023-01674-2>

Coliloquio

—Víctor J. Cid—



Drug Repositioning as a Therapeutic Strategy against *Streptococcus pneumoniae*: Cell Membrane as Potential Target

LAURA ORTIZ-MIRAVALLÉS¹, MANUEL SÁNCHEZ-ANGULO², JESÚS M. SANZ¹, Y BEATRIZ MAESTRO^{1,3}

¹Protein Engineering against Antimicrobial Resistance Group, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), 28040 Madrid.

²Departamento de Producción Vegetal y Microbiología, Universidad Miguel Hernández, 03202 Elche.

³Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad Complutense de Madrid, 28040-Madrid.

✉ beatriz.maestro@ucm.es

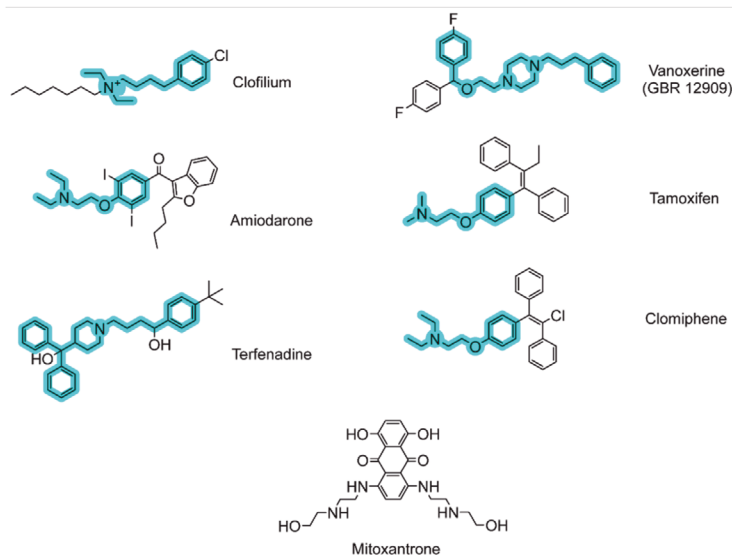
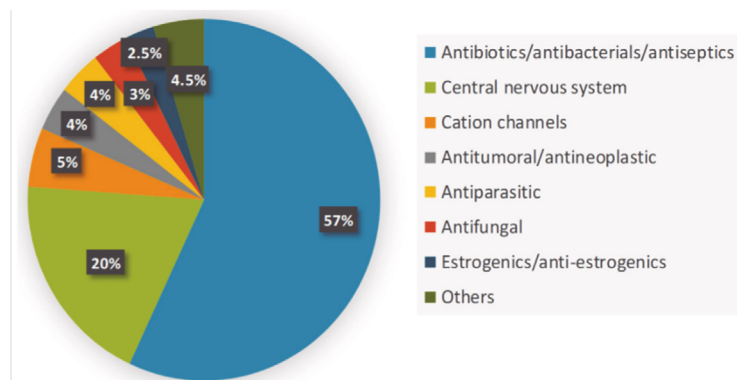


Figura 1. En la parte superior se muestra la clasificación basada en su actividad de los 152 compuestos seleccionados tras dos rondas de discriminación de la colección Prestwick de compuestos químicos. En la parte inferior se muestran los siete compuestos seleccionados tras las cuatro rondas. En azul se indica la similitud estructural entre ellos.

El reposicionamiento de fármacos consiste en utilizar un fármaco para tratar una enfermedad distinta para la que fue

originalmente desarrollado. Con objeto de encontrar nuevos antimicrobianos frente al patógeno *Streptococcus pneumoniae*

(neumococo) se examinó una colección de fármacos aprobados (Prestwick Chemical Library) que contenía 1.200 compuestos, analizando sus efectos frente a cultivos planctónicos. Tras cuatro rondas de discriminación, se seleccionó un conjunto de siete compuestos: (i) tosilato de clofilio; (ii) vanoxerina; (iii) dihidrocloruro de mitoxantrona; (iv) clorhidrato de amiodarona; (v) citrato de tamoxifeno; (vi) terfenadina; y (vii) citrato de clomifeno. Estas moléculas detuvieron el crecimiento del neumococo en un medio líquido e indujeron una disminución de la viabilidad bacteriana de entre el 90,0% y el 99,9% a una concentración de 25 μ M, con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) también en el intervalo micromolar.

Salvo la mitoxantrona, los otros seis compuestos son aminas terciarias/cuaternarias alifáticas con un anillo fenólico y un marcado carácter anfipático, presentan carga positiva a pH fisiológico, lo que unido a su hidrofobicidad en la otra parte de la molécula, podría indicar que su mecanismo de acción fuera a través de la perturbación de la membrana celular neumocócica por interacción iónica con la cabeza polar cargada negativamente de los fosfolípidos, junto con la interacción hidrofóbica con las cadenas de ácidos grasos. Mediante la realización de ensayos de permeabilización utilizando SYTOX Green se pudo comprobar dicha hipótesis.

Estos resultados abren nuevas posibilidades para abordar la enfermedad neumocócica mediante el reposicionamiento de fármacos y proporcionan pistas para el diseño de nuevos antimicrobianos dirigidos a la membrana con una estructura química afín.

Descubrimiento de la *streamlined* haloarquea *Halorutilus salinus*, que constituye un nuevo orden ampliamente distribuido en ambientes hipersalinos

ANA DURÁN VISERAS, CRISTINA SÁNCHEZ-PORRO Y ANTONIO VENTOSA

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

✉ anaduran@us.es

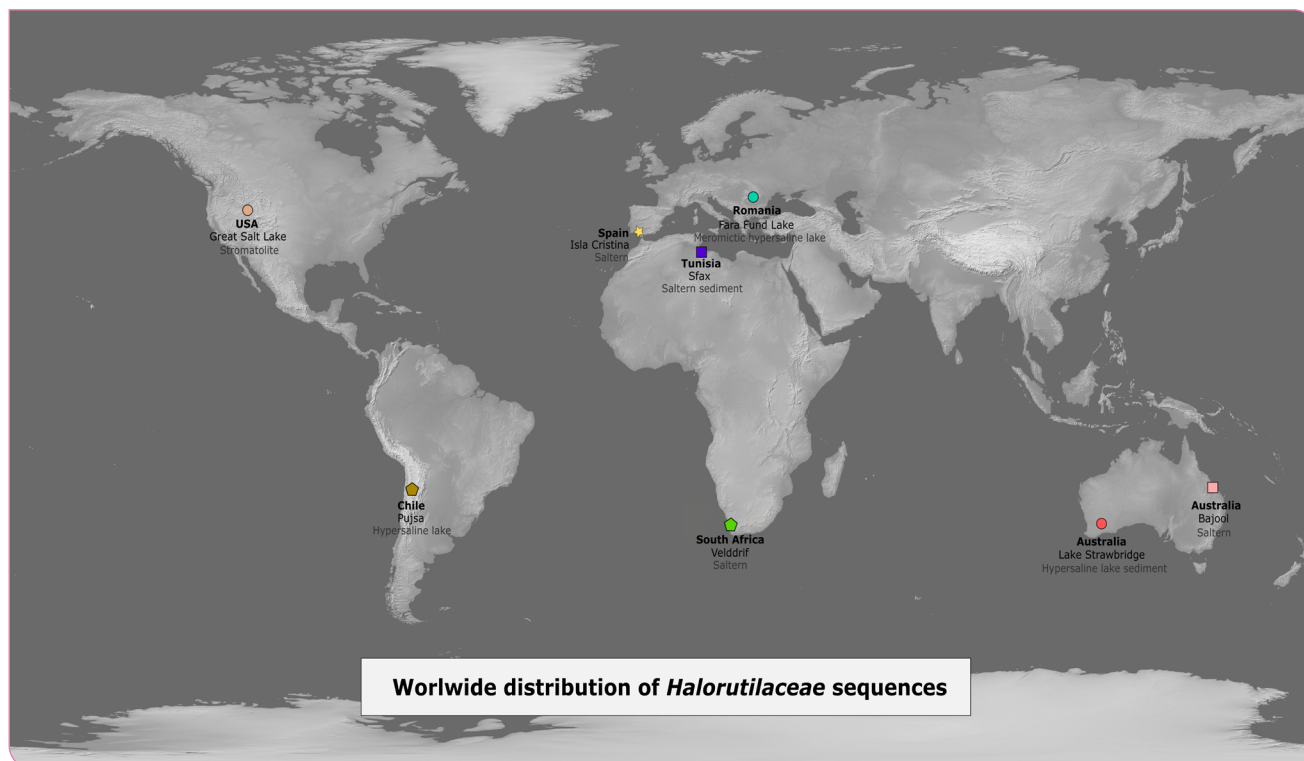


Figura 1. Distribución global de la familia Halorutilaceae fam. nov. en ambientes hipersalinos a partir de secuencias del gen ARNr 16S. Los círculos indican la ubicación geográfica de las secuencias identificadas en bases de datos de amplicones, mientras que los cuadrados reflejan las obtenidas a partir de librerías de clones. La estrella muestra el lugar de aislamiento de la cepa F3-133^T.

Las haloarqueas son organismos halófilos extremos, que se encuadran dentro de la clase *Halobacteria* y constituyen uno de los grupos microbianos más diversos dentro del filo *Euryarchaeota*, cuyos miembros se encuentran ampliamente distribuidos en ambientes hipersalinos donde constituyen con frecuencia la población mayoritaria en los mismos. Aunque las técnicas de cultivo tradicionales han permitido el aislamiento y la descripción de cientos de nuevos grupos de bacterias y arqueas halófilas hasta la fecha, los estudios metagenómicos llevados a cabo en este tipo de ambientes indican que la mayor parte de la diversidad microbiana presente en los

mismos se desconoce y aún no ha podido ser aislada en cultivo puro. Muchos de estos grupos, además, representan poblaciones dominantes en estos sistemas y se presume que tengan un crecimiento lento o requisitos nutricionales específicos que dificultan su aislamiento. En este trabajo, hemos empleado la culturómica como aproximación para el aislamiento de nuevos microorganismos extremófilos a partir de las salinas de Isla Cristina, localizadas en la provincia de Huelva. Siguiendo esta estrategia, hemos conseguido aislar la cepa F3-133^T la cual mostraba porcentajes de semejanza muy bajos (86,3 %) con cualquier otra arquea previamente cultiva-

da, en base a la comparación del gen ARNr 16S. Los análisis filogenéticos y filogenómicos de dicha cepa con respecto a los miembros ya descritos del filo *Euryarchaeota*, así como los índices genómicos ANI, AAI e hibridación ADN-ADN *in silico* han demostrado que ésta constituye un nuevo orden dentro de las haloarqueas, constituido a su vez por una nueva familia, género y especie, para los cuales proponemos los nombres de *Halorutilales* ord. nov., *Halorutilaceae* fam. nov., *Halorutilus* gen. nov. y *Halorutilus salinus* sp. nov. El porcentaje de secuencias de amplicones relacionadas con el gen ARNr 16S y los reclutamientos metagenómicos demuestran la amplia dis-

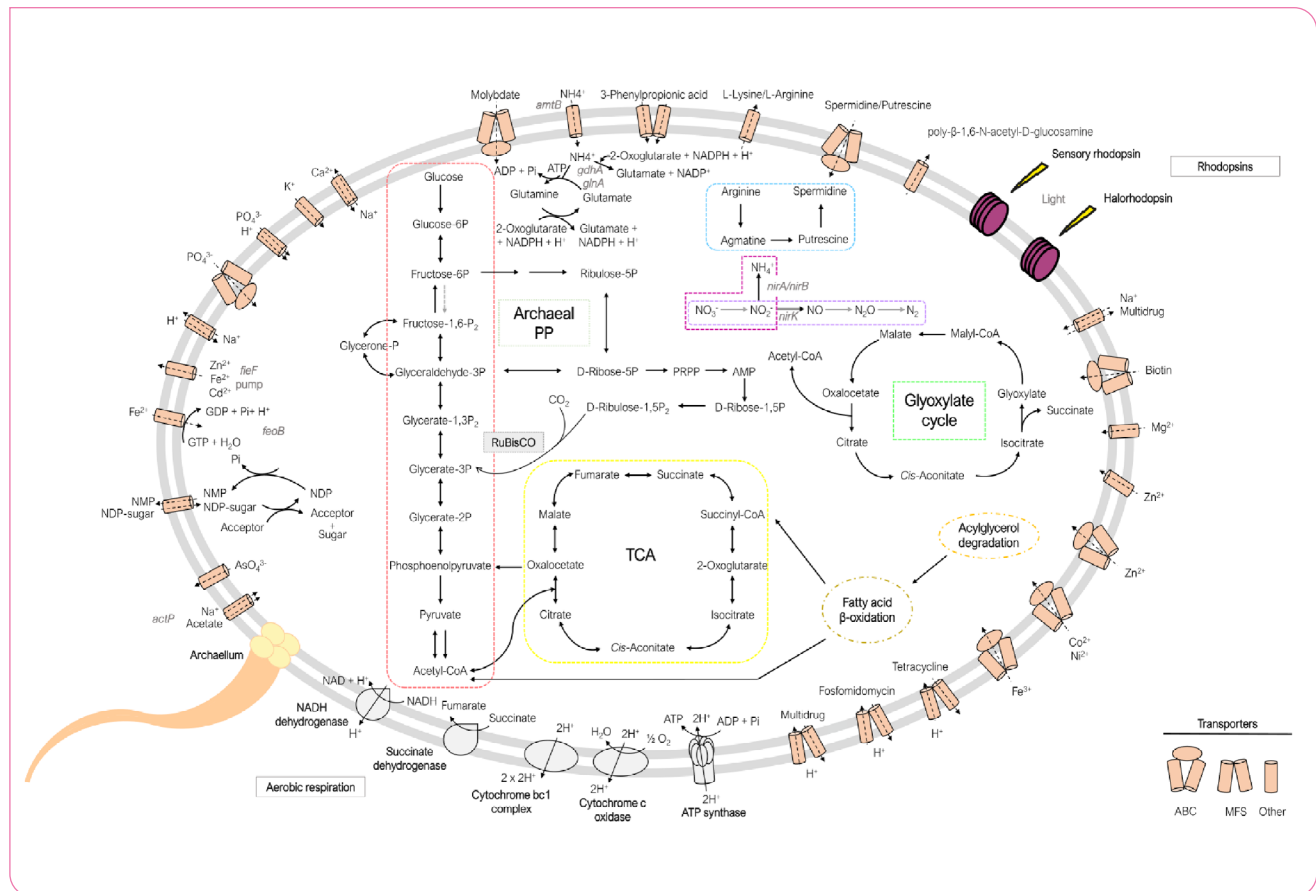


Figura 2. Reconstrucción metabólica de *Halorutilus salinus* sp. nov.

tribución global de este nuevo grupo en ambientes hipersalinos de distintas partes del mundo, así como, su abundancia significativa en ecosistemas con salinidades intermedias y altas. Por otro lado, esta cepa presenta un genoma de tipo *streamlined*, con un tamaño muy reducido, de tan solo 2,1 Mb, lo que probablemente contribuya a su éxito ecológico en la naturaleza y a la dificultad de su cultivo. La reconstrucción metabólica resultante del análisis genómico detallado de *Halorutilus salinus* indica que este nuevo género de haloarqueas presenta un estilo de vida aerobio y fotoheterótrofo, con un comportamiento

de tipo *salt-in*. Asimismo, se ha identificado el conjunto de genes codificante de la ruta de degradación de los nucleótidos monofosfato mediante la enzima RuBisCO de arqueas, siendo uno de los primeros ejemplos de arqueas halófilas en los que se ha demostrado la presencia de esta enzima. El descubrimiento de este nuevo microorganismo que constituye un nuevo orden, familia, género y especie dentro de la clase *Halobacteria* y del filo *Euryarchaeota* supone un gran avance en la denominada “materia oscura microbiana”, expandiendo significativamente el conocimiento que se tiene de este grupo de arqueas hasta la

fecha. Asimismo, este estudio aporta nuevas perspectivas en el conocimiento de la fisiología de los miembros de la clase *Halo-bacteria*, así como de su papel ecológico y su capacidad de adaptación a los ambientes hipersalinos.

El edulcorante artificial acesulfamo-K inhibe el crecimiento de patógenos multi-resistentes y potencia la actividad de antibióticos carbapenémicos

RUBÉN DE DIOS

Department of Life Sciences, College of Health, Medicine and Life Sciences, Brunel University London, Uxbridge, United Kingdom

✉ ruben.dediosbarranco@brunel.ac.uk

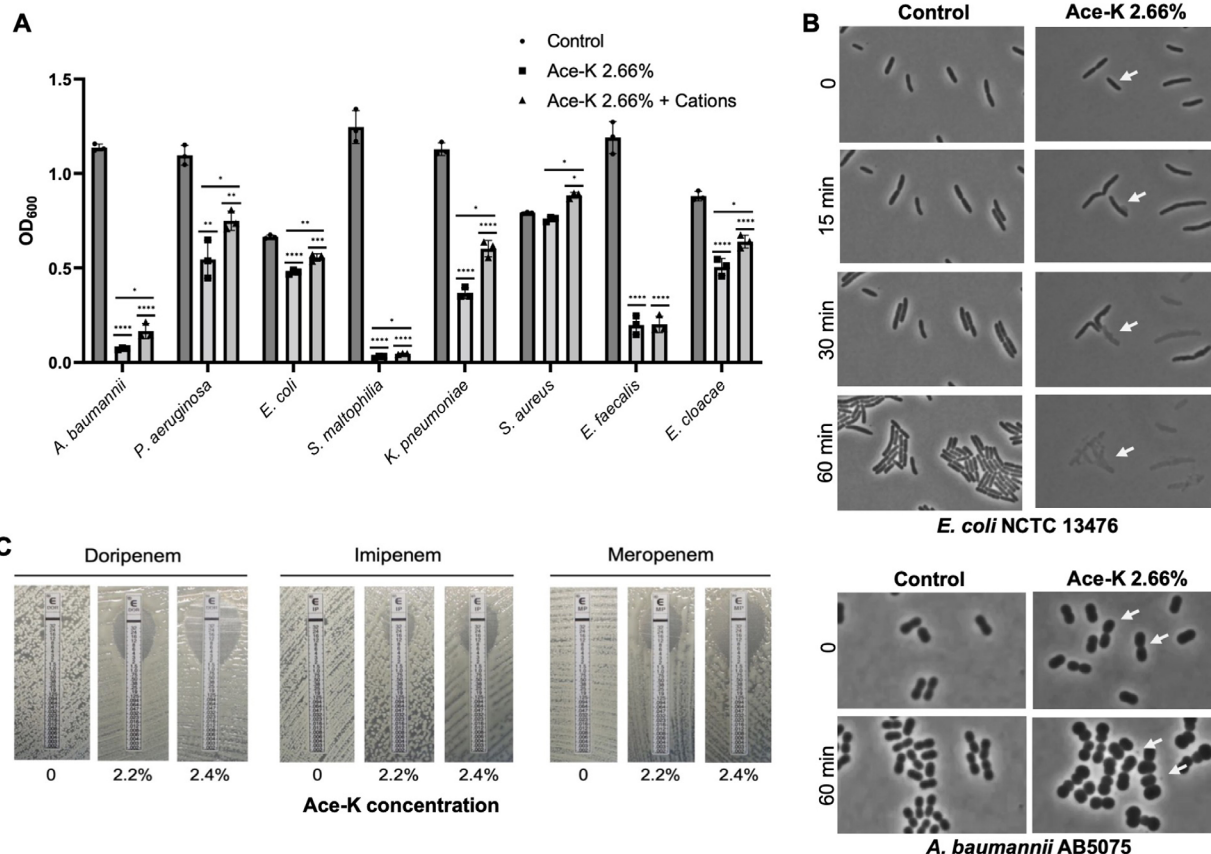


Figura 1. El edulcorante artificial acesulfamo-K (ace-K) es capaz de inhibir el crecimiento de diversos aislados de patógenos con relevancia clínica (A). Además, en la mayoría de los casos, la adición de cationes divalentes al medio (Mg^{2+} y Ca^{2+}) alivia parcialmente esa inhibición, apuntando a la membrana externa como la diana del ace-K. Mediante experimentos de microscopía (B), se confirmó que, efectivamente, el ace-K produce alteraciones morfológicas y lisis celular mediada por bulging (flechas) tras su adición a cultivos de *E. coli* NCTC 13476 y *A. baumannii* AB5075. Además, el ace-K es capaz de potenciar la actividad de los carbapenémicos doripenem, imipenem y meropenem (C) contra AB5075, reduciendo drásticamente su concentración mínima inhibitoria.

La ralentización en el desarrollo de nuevos antimicrobianos, junto con la aparición y transmisión cada vez más frecuente de genes de resistencia a antibióticos, ha llevado a una crisis sanitaria global. Una posible alternativa al desarrollo *de novo* consiste en evaluar las propiedades antimicrobianas de compuestos ya conocidos y considerados seguros. Ejemplo de ello son los aditivos usados en la industria alimentaria. Particularmente, los edulcoran-

tes artificiales (EA) se usan extensivamente en alimentación, pero su impacto sobre bacterias sigue siendo objeto de debate.

En este estudio, evaluamos la actividad antimicrobiana de una colección de EAs sobre *Pseudomonas aeruginosa* PA14 y *Acinetobacter baumannii* AB5075. Entre ellos, observamos que el acesulfamo-K (ace-K) era capaz de inhibir el crecimiento de ambas estirpes. Además, en concen-

traciones sub-inhedoras, podía reducir la producción de biofilm de AB5075.

A. baumannii ha sido reconocido como patógeno prioritario por la OMS, para el cual se necesitan nuevas terapias urgentemente. Por ello, continuamos estudiando el efecto del ace-K sobre esta especie. Experimentos de transcripción global revelaron que la presencia de ace-K regulaba negativamente la expresión de los genes

csu, esenciales para la formación de biofilm, y los genes *pil* y *com*, responsables de la movilidad tipo *twitching* y la transformación natural, lo cual se pudo validar a nivel fenotípico.

La actividad antimicrobiana del ace-K se pudo observar en una colección de aislados clínicos de distintas especies (Figura 1A). Además, de forma general, la adición de cationes divalentes alivió parcialmente esta inhibición. Dado que estos iones son capaces de estabilizar la membrana externa bacteriana, esto nos sugirió dicha estructura como posible diana del ace-K. Mediante microscopía, se pudo

observar, tanto para *Escherichia coli* como para AB5075, que el ace-K producía lisis celular mediada por *bulging* (Figura 1B). Además, concentraciones sub-inhibitorias de ace-K produjeron la potenciación de distintos antibióticos contra AB5075, incluidos varios carbapenémicos, a los cuales esta estirpe es resistente (Figura 1C).

Finalmente, se evaluó el potencial terapéutico del ace-K utilizando un modelo *ex vivo* de infección de heridas por quemadura sobre piel de cerdo. Como resultado, se observó que una solución de ace-K reducía el recuento bacteriano en heridas más eficientemente que un antiséptico

convencional basado en clorhexidina, y que su aplicación junto con polimixina B producía mejores resultados que el antibiótico por sí solo.

En resumen, este trabajo demuestra que los EAs, como el ace-K, pueden ser candidatos prometedores para terapias antimicrobianas o como adyuvantes contra patógenos resistentes a antibióticos.

de Dios R, Proctor CR, Maslova E, Dzalbe S, Rudolph CJ, McCarthy RR. 2023. Artificial sweeteners inhibit multidrug-resistant pathogen growth and potentiate antibiotic activity. EMBO Mol Med 15(1): e16397. DOI: doi.org/10.15252/emmm.202216397



Publicación de reseñas de artículos para la sección “Nuestra Ciencia”

La sección «**Nuestra Ciencia**» publica reseñas de artículos científicos producidos por nuestros socios. La extensión máxima del texto es de 400 palabras y puede incluirse una imagen. Deben incluir la siguiente información: Título de la reseña,

Autor, referencia bibliográfica completa del artículo que se reseña. Si el autor lo desea puede proporcionar su email de contacto.

Envía tus reseñas a la secretaría de la SEM (secretaria.sem@semicrobiologia.org) o a la directora editorial (Magdalena Martínez Cañamero, correo: canamero@ujaen.es)

Publicación de resúmenes de Tesis Doctorales

SEM@foro publica resúmenes de Tesis Doctorales realizadas por miembros de la SEM. Deben seguir el siguiente formato: Título, Autor, Director(es), Centro de rea-

lización, Centro de presentación (si es distinto) y Resumen (máximo, 250 palabras).

Envía tus reseñas a la secretaría de la SEM (secretaria.sem@semicrobiologia.org) o al director editorial (Manuel Sánchez, correo: m.sanchez@umh.es)

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.

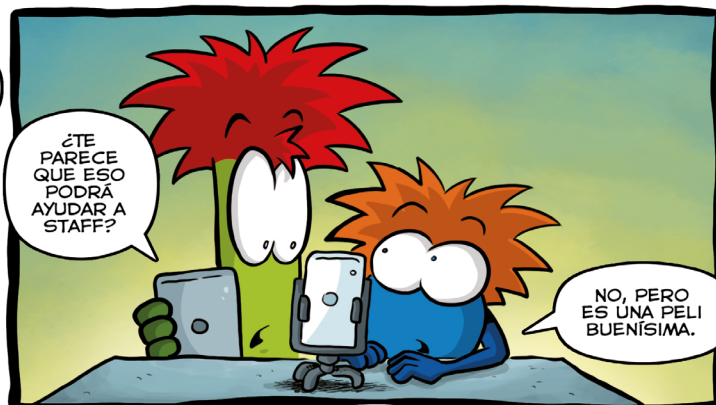
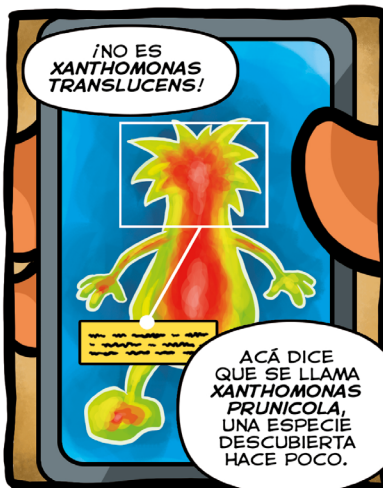


Nuevos socios de la SEM

Nuevas altas

Desde 25/10/2022 al 04/05/2023

- Aguilera Muñoz, Felipe
- Albareda Contreras, Marta
- Álvaro Llorente, Laura
- Álvaro Moya, Marina
- Andreu Andreu, Luis
- Andrés González, Víctor
- Anguiano Vara, Inés
- Araiz Gómez, Antonio
- Arévalo Lalanne, Alba
- Asensio López, Javier
- Avendaño Ortiz, José
- Ayala Garcia, Paula
- Azoque Palma, Carlos
- Baisón Olmo, Fernando
- Bakhat, Nisrine
- Belda Marco, Ana
- Borrego Piquer, Marta
- Calero Martínez, Silvia
- Campos López, Alicia
- Cancino Muñoz, Irving Norberto
- Cano Jiménez, Ibai
- Carruana Salas, Gloria
- Casado Martín, Lorena
- Castañera Estrada, Pablo
- Cebrián Cabezón, Eva
- Climent Soler, Óscar
- Costa Lacuesta, Marina
- Crespo Mazagatos, Alba
- Cusco Martí, Anna
- Chamizo Ampudia, Alejandro
- De Francisco de Polanco, Sofía
- de Salas de la Cuadra, Felipe
- de los Reyes Ramos, Cristina
- Díaz Ceballos, Carlos
- Díez Gutierrez, Lucía Camino
- Domínguez Quintero, Marina
- Dzunkova, María
- Eslava Carcel, Francisco
- Feliu Paradedá, Laura
- Fernandez de la Cruz, Eric
- Fernández Gómez, Andrea
- Fernández González, María del Rocío
- Ferrando Nuñez, Jordi
- Fuentes Romero, Francisco
- Fuster González, Candela
- Gallego Rodríguez, Violeta
- García Esteban, Sandra
- García López, Carla
- García López, Daniel
- García Poveda, Samuel
- García Rodríguez, Rosa María
- García Ruiz, Eva
- García Suárez, Pilar
- Garrido Chamorro, Sonia
- Getino Alonso, Luis
- Gómez Campo, Cristina Lucía
- Gómez Urbina, Raquel
- González Dominici, Lihúén Iraí
- Gonzalez Martinez, Alejandro
- González Torres, Cintya
- Guerrero González, Paula
- Guillén Martín, Paz
- Hernando Ospina, Natalia
- Jiménez Carretero, Mónica
- Jurado Romero, Paula
- Ladero Losada, Victor Manuel
- Lochuke, John Ekai
- López Laguna, Alba
- Lorenzo Sánchez, María
- Luciano, Antonio
- Luque Aguilera, Gracia
- Maestro García-Donas, Beatriz
- Martín María, Ana
- Martín Trueba, Jorge
- Martínez Álvarez, Sandra A.
- Martínez Bonilla, Adrián
- Matilla Serrano, Antonio
- Medina Méndez, Juan Manuel
- Medina Morillas, Carlos
- Mendaña Gómez, Alfonso
- Merino, Natalia
- Mesa Galán, Antonio
- Molina Pardines, Carmen
- Montero Calasanz, María del Carmen
- Morales Hidalgo, Mar
- Moreno de Castro, Natalia
- Morón García, Álvaro
- Navarro Nieva, María Azahara
- Navarro Sempere, Pablo
- Olmo López, Rocío
- Ortiz Miravalles, Laura
- Padilla Roji, Isabel
- Peñil Celis, Arancha
- Pérez Alonso, Daniel
- Pérez García, Covadonga
- Pérez González, Ana
- Pérez Muelas, Eduardo
- Pérez-Victoria Moreno de Barreda, Ignacio
- Picart Faiget, Pedro
- Poveda Arias, Jorge
- Pozo Gualda, Tamara
- Prior Blanco, Alicia
- Pulido Sanz, Verónica
- Quetglas Llobera, Sergi
- Quintana Berlanga, Álvaro Rafael
- Rey Velasco, Xavier
- Rodríguez Álvarez, Javier
- Rodríguez Olivera, Elías
- Rodríguez Puchades, Alejandro
- Roldán López, David
- Romero Márquez, Pedro Jesús
- Romero Rivera, Mario
- Roncero Benavente, Elia
- Rovira Carballido, Jordi
- Rubio Pérez, Andrea
- Ruipérez Prádanos, Violeta
- Saavedra Torres, María
- Sabsabi, Amara
- Sáez, David
- Sánchez Aranda, Patricia
- Sanz Asensio, Laura
- Sanz López, Carmen
- Sanz Morales, Jesús Miguel
- Sanz Puente, Irene
- Saturio López, Silvia
- Serna Alonso, María de Llano
- Serrano Pelejero, Cristina
- Silvestrini García, Sonia
- Soto Varela, Zamira Elena
- Suárez Sánchez, Paula Dolores
- Suescun Sepúlveda, Jhon Alexander
- Tartilán Choya, Beatriz
- Tejero Cordero, Paula
- Tena Sánchez, Elena Isidora
- Uruén García, Cristina
- Vasile, Alexandru Robert
- Vences Lorenzo, Ana
- Vidal Verdú, Cristina
- Villar de Pablo, Mar
- Vivar Quintana, Ana María
- Yeramian Hakim, Nadine





SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MICROBIOLOGÍA

XXVI CURSO DE INICIACIÓN A LA INVESTIGACIÓN EN MICROBIOLOGÍA PROFESOR J. R. VILLANUEVA

León, 11-14 de Julio 2023

Dirigido a estudiantes de los **dos últimos cursos de Grado**
en las áreas de **Ciencias de la Vida y de la Salud** y otras relacionadas con la **MICROBIOLOGÍA**



La inscripción se ha realizado online, mediante un formulario

<https://forms.gle/YEmkvKMgsKsEnwvd7>

En el momento de cumplimentar el formulario se ha solicitado:

- 1) Copia del certificado académico
- 2) Carta de aval de un miembro de la Sociedad Española de Microbiología

El plazo de inscripción ha sido del **4 al 19 de mayo de 2023**.

Para cualquier consulta en relación con la inscripción se ha escrito y consultado a:

jovenesinvestigadoressem@gmail.com

La selección ha sido de 20 alumnos/as. Se han enviado 97 solicitudes.



El curso se celebrará en la **Facultad de Veterinaria de la Universidad de León**
(Campus de Vegazana, s/n, 24071-León).

Los gastos de manutención completa, matrícula, actividades culturales organizadas y estancia de los alumnos seleccionados serán sufragados por la Organización.

ORGANIZADORES:

Rosa Capita González (rosa.capita@unileon.es)
Carlos Alonso Calleja (carlos.alonso.calleja@unileon.es)



universidad
de león

facultad
de veterinaria

Junta de
Castilla y León

MUSEO de
COLECCIONES
UNIVERSIDAD DE LEÓN



syva



DIPUTACIÓN
DE LEÓN



Ayuntamiento de León



FUNDACIÓN
RAMÓN ARECES

Docencia
y Difusión
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MICROBIOLOGÍA

JISEM
Jóvenes Investigadores
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MICROBIOLOGÍA

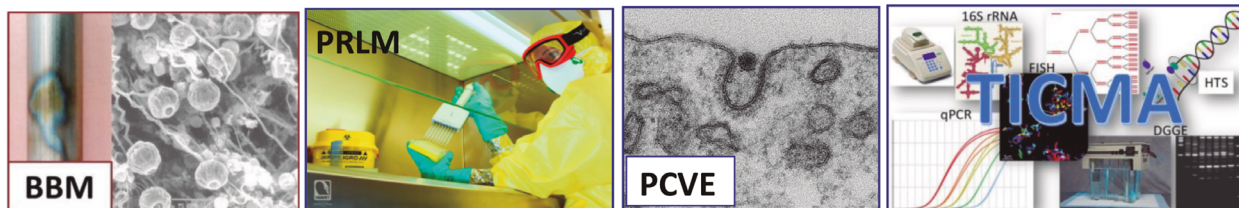




SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MICROBIOLOGÍA

CURSOS SEM FORMACIÓN ON-LINE

OFERTA CURSOS SEM ON-LINE OCTUBRE 2023



El próximo mes de octubre comienzan los Cursos de formación a distancia a través de la SEM sobre:

- Biodeterioro y Biodegradación de Materiales (BBM)
- Bioseguridad y Prevención de Riesgos Laborales en los Laboratorios de Microbiología (PRLM)
- Prevención y Control de Virus Emergentes (PCVE)
- Técnicas Independientes de Cultivo en Microbiología de los Alimentos (TICMA)

Los detalles de cada uno de estos cursos así como la información general del programa de formación continua de la SEM están disponibles en la pestaña de cursos de la página web de la sociedad

<https://www.semicrobiologia.org/cursos-online>

Los cursos se realizan "A DISTANCIA", a través de Internet, lo que permite al participante utilizar el horario más adecuado y que sea compatible con su vida laboral y familiar. La evaluación es continua mediante la realización on-line de exámenes tipo test. Los participantes recibirán al final del curso un CERTIFICADO DE APTITUD en formato de DIPLOMA de la SEM.

El precio de los cursos para los socios de la SEM es de **150 Euros**. Además, por cada curso se otorgan un 10% de becas (1 beca por cada 10 alumnos matriculados), consistentes en la devolución íntegra de la matrícula a aquellos participantes que mejores resultados hayan obtenido al finalizar el curso.

Como las plazas son limitadas, si estás interesado, deberás realizar la preinscripción cuanto antes. Para ello sólo tienes que enviar un correo electrónico a Ana M. García (ana.garcia.ruiz@upm.es).



XXIX Congreso
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
MICROBIOLOGÍA
BURGOS 2023

**Microorganismos:
Un Universo en
Continua Evolución.**

25 - 28 JUNIO 2023

