

STUDIES OF THE MOLECULAR FEATURES OF THREE SALMONELLA PHAGES FOR USE IN PHAGE THERAPY AND OF ENCAPSULATION METHODOLOGIES TO IMPROVE ORAL PHAGE ADMINISTRATION

Autor: Joan Colom Comas

Directores: Dra. Montserrat Llagostera Casas y Dra. M. Pilar Cortés Garmendia. Programa de Doctorado de Microbiología. Tesis con mención internacional.

Centro de realización: Grupo de Microbiología Molecular. Universitat Autònoma de Barcelona.

Fecha de defensa: 5 de febrero de 2015.

Salmonella no tifoidea, uno de los patógenos zoonóticos de mayor impacto, causa brotes en humanos debido al consumo de alimentos contaminados, siendo las aves de corral su principal reservorio. A raíz de la prohibición del uso de antibióticos como promotores del crecimiento en producción animal, se han aplicado diferentes medidas, como el uso de vacunas, probióticos, prebióticos y simbióticos, para el control de *Salmonella* en aves con una eficacia todavía limitada. Por ello, se ha planteado el uso de la terapia fágica como un medio alternativo de control de *Salmonella*.

Nuestro grupo demostró previamente que la terapia fágica oral, basada en un cóctel compuesto por los fagos UAB_Phi20, UAB_Phi78 y UAB_Phi87, reduce eficientemente la colonización de *Salmonella* en un modelo de pollo de engorde libre de patógenos específicos. Para completar la caracterización de estos fagos, en el presente trabajo se ha determinado que el inicio de la replicación del DNA del fago UAB_Phi78 se produce a los 10 min de la infección de *Salmonella*, siendo este tiempo de 20 min para los otros dos fagos. Se detectó DNA en células de *Salmonella* infectadas con los fagos UAB_Phi20 y UAB_Phi78 durante 40 min. Este tiempo fue de más de 120 min para el fago UAB_Phi87. Los extremos del cromosoma del bacteriófago UAB_Phi20 son permutaciones cíclicas y su mecanismo de empaquetamiento es el de llenado de cabeza de los fagos del género tipo P22. En cambio, los fagos UAB_Phi78 y UAB_Phi87 presentaron repeticiones terminales directas cortas en los extremos de sus cromosomas

similares a las de los fagos de los géneros tipo SP6 (UAB_Phi78) y tipo FelixO1 (UAB_Phi87), respectivamente.

Los retos inherentes a la terapia fágica oral están relacionados con la falta de estabilidad del fago en el estómago y su reducido período de residencia en el tracto gastrointestinal. En este trabajo se han desarrollado dos métodos de encapsulación de bacteriófagos (liposomas y alginato-CaCO₃) y se ha estudiado si la terapia fágica con fagos encapsulados supera los inconvenientes indicados. Para este estudio, se ha desarrollado un modelo animal de experimentación (pollos de engorde/*Salmonella*) que mimetiza las condiciones de las granjas de producción.

La encapsulación en lípidos catiónicos permitió obtener fagos encapsulados con un diámetro de 308,6 a 325,8 nm, una carga positiva entre 31,6 y 35,1 mV (pH 6,1) y una eficiencia de encapsulación cercana al 50%. El diámetro medio de los fagos encapsulados en alginato-CaCO₃ varió entre 123,7 y 149,3 μm, con eficiencias de encapsulación superiores al 90%. Además, ambas formulaciones son estables a 4°C como mínimo 6 meses. En fluido gástrico simulado (pH2,8), el título de los fagos sin encapsular disminuyó entre 5,7 y 8 log₁₀ tras 60 min, mientras que el de los fagos encapsulados en liposomas y alginato-CaCO₃ sólo disminuyó entre 3,7 y 5,4 log₁₀ y ≤3,5 log₁₀, respectivamente. Los fagos encapsulados en liposomas o alginato-CaCO₃ se detectaron, respectivamente, en el 38,1% y el 71,4% de los animales a las 72 h y sólo en un 9,5% de los animales tratados con fagos no encapsulados. Además, el contenido cecal y el fluido intestinal simulado promueven la liberación de los fagos de las cápsulas lipídicas y de alginato-CaCO₃, respectivamente. Finalmente, en experimentos de terapia fágica, la disminución de la concentración de *Salmonella* se prolongó como mínimo 7 días más en los animales tratados con fagos encapsulados que en los tratados con fagos no encapsulados tras la interrupción del tratamiento.

La metodología utilizada permite la encapsulación de bacteriófagos de diferentes morfologías en liposomas y alginato-CaCO₃ y muestra que la encapsulación mejora significativamente la terapia fágica oral.

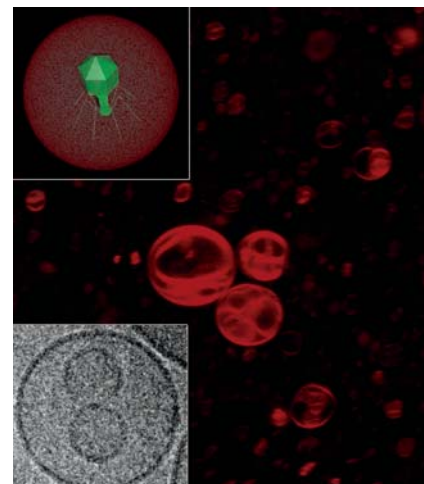


Figura 1.

La imagen muestra un esquema de un bacteriófago en el interior de un liposoma (arriba a la izquierda) y una microfotografía de Crio-TEM de dos bacteriófagos encapsulados en un liposoma (abajo a la izquierda). El fondo es una imagen de microscopía confocal de liposomas marcados (rojo) conteniendo bacteriófagos.

DE LA METAGENÓMICA AL CULTIVO PURO: SPIRIBACTER SALINUS

Autora: María José León León

Directores: Dr. Antonio Ventosa Ucero y Dra. Cristina Sánchez-Porro Álvarez

Centro de realización: Dpto. Microbiología y Parasitología, Universidad de Sevilla.

Estudios recientes han puesto de manifiesto que la biodiversidad microbiana presente en ambientes hipersalinos con salinidades intermedias es muy superior a lo que se pensó en un principio. En un estudio realizado en 2011 por Ghai y colaboradores, se describió la población procariota presente en estanques con diferentes salinidades de las salinas de Santa Pola (Alicante) basándose en el análisis del ADN metagenómico, poniendo de manifiesto la presencia de nuevos grupos de bacterias y arqueas predominantes en dichos ambientes. Concretamente, una *Gammaproteobacteria* relacionada con los géneros *Alkalilimnicola* y *Nitrococcus* ha sido el objetivo de la presente Tesis Doctoral. Este y otros estudios metagenómicos realizados con posterioridad han sido clave para diseñar los medios y las condiciones de cultivo que han posibilitado el aislamiento de siete cepas relacionadas filogenéticamente con dichos géneros, las cuales, sabemos actual-

mente, constituyen especies predominantes en ambientes hipersalinos. La caracterización taxonómica de estos aislados ha permitido su descripción como especies de un nuevo género dentro de la familia *Ectothiorhodospiraceae*, el género *Spiribacter*.

Las especies del género *Spiribacter* se caracterizan por presentar una morfología muy peculiar. Al inicio de la fase exponencial las células poseen principalmente una morfología de bacilo curvado mientras que al final de la fase exponencial adoptan forma de espirales superenrolladas, con numerosas inclusiones de polihidroxialcanoatos. Por otro lado, las especies de *Spiribacter* poseen los genomas más pequeños descritos hasta el momento para miembros de la familia *Ectothiorhodospiraceae* (1,7-1,9 Mb), presentan un único operón ribosómico y un contenido en G+C del ADN relativamente alto, comprendido entre 62,7-66,5 %, lo cual está en concordancia con el porcentaje descrito para miembros de la familia *Ectothiorhodospiraceae*. Sus genomas se caracterizan por ser «streamlined», con una gran simplicidad metabólica, con la ausencia de las vías de fijación de carbono y quimiolitotrófica, un reducido número de secuencias de inserción y otros elementos genéticos móviles y la ausencia del sistema CRISPR y de flagelos. Por otro lado destaca la presencia en todas las cepas de genes codificantes de xantorrodopsinas. Todas estas características son frecuentes en microorganismos oligotróficos con genomas reducidos (*streamlined*) que han demostrado alcanzar altas densidades de población en ambientes acuáticos y poseer un modo de vida muy eficiente, como es el caso de *Pelagibacter* en los océanos de todo el mundo.

A pesar del reducido tamaño de sus genomas las cepas pertenecientes al género *Spiribacter* presentan los mecanismos de osmorregulación típicos de microorganismos que utilizan la estrategia *salt-out*. Un estudio llevado a cabo a nivel fisiológico en la especie tipo del género, *Spiribacter salinus*, combinado con un estudio detallado a nivel genómico, nos ha permitido conocer en detalle los mecanismos de osmorregulación utilizados por dicha bacteria. En este sentido, el análisis genómico de las especies de este género nos ha permitido identificar la

maquinaria enzimática implicada en la síntesis de ectoína. Destacar que, en contraste con la organización de dichos genes en otras bacterias, dichas especies presentan una deslocalización de los genes implicados en la síntesis de ectoína en sus genomas. No obstante, a pesar de dicha desviación, *S. salinus* M19-40 sintetiza el soluto compatible ectoína, observándose una relación lineal entre la síntesis de ectoína y el estrés osmótico. Adicionalmente poseen numerosos transportadores relacionados con el estrés osmótico, como el transportador ABC OpuA, el transportador OpuD de la familia de transportadores betaina-colina-carnitina y el transportador TeaABC de la familia de transportadores TRAP. Existen otros solutos compatibles que pueden ser captados del medio externo y utilizados por *S. salinus* M19-40 como agentes osmoprotectores para hacer frente a las altas concentraciones salinas, como es el caso de la glicina betaína, el dimetilsulfoniopropionato y en menor medida, la colina-o-sulfato.

Con el objetivo de determinar si las especies del género *Spiribacter* se corresponden con la *Gammaproteobacteria* asociada a los géneros *Nitrococcus* y *Alkalilimnicola* que por estudios metagenómicos había revelado ser una parte dominante de la comunidad microbiana presente a salinidades intermedias, se llevaron a cabo los reclutamientos de los genomas de las cepas aisladas frente a diversas bases de datos metagenómicas de ambientes hipersalinos. Los resultados así obtenidos, junto con el análisis de componentes principales de la frecuencia de tetranucleótidos (PCA) normalizada de los *contigs* de diversas bases de datos metagenómicas, muestran que las especies del género *Spiribacter* son muy abundantes en estanques con salinidades intermedias, disminuyendo bruscamente su presencia a bajas y a elevadas salinidades. Esto pone de manifiesto que constituyen auténticas bacterias halófilas moderadas, definidas desde un punto de vista «ecológico», que se encuentran de forma abundante y posiblemente muy bien adaptadas a las condiciones de salinidad intermedia de los estanques de las salinas y posiblemente en otros ambientes hipersalinos, pero ausente en ambientes con bajas salinidades (5‰ o ambientes marinos), así como en los cristalizadores de las salinas.

NUEVOS GRUPOS DE ARQUEAS Y BACTERIAS HALÓFILAS. FILOGENÓMICA Y TAXONOMÍA MOLECULAR

Autora: Carmen Infante Domínguez

Directores: Dr. Antonio Ventosa Ucero y Dra. Cristina Sánchez-Porro Álvarez

Centro de realización: Dpto. Microbiología y Parasitología, Universidad de Sevilla.

Las salinas son ambientes hipersalinos muy estudiados desde el punto de vista microbiológico. Los recientes estudios moleculares independientes de cultivo derivados de éstas han puesto de manifiesto que una gran parte de la microbiota presente en las mismas no se corresponde con las especies aisladas y caracterizadas hasta la fecha. Los análisis de diversos metagenomas obtenidos de distintos estanques de salinas han permitido determinar que existe una mayor diversidad microbiana de la descrita mediante estudios dependientes de cultivo y que la misma disminuye a lo largo del gradiente de salinidad. Por ello, el objetivo principal de esta Tesis Doctoral ha sido aislar y caracterizar los grupos de arqueas y bacterias que han puesto de manifiesto los estudios metagenómicos y que todavía no han sido aislados hasta la fecha. Para ello se han realizado muestreos en diferentes hábitats: en las salinas de Santa Pola (Alicante), Isla Bacuta, Aragonesas e Isla Cristina (Huelva), en una salina del desierto de Namibia y en Cabo Rojo (Puerto Rico).

Durante el desarrollo de esta tesis se han aislado 1238 cepas, los resultados filogenéticos revelaron que 816 cepas eran bacterias y 422 cepas eran haloarqueas. Estos resultados se compararon con los obtenidos mediante los análisis metagenómicos y se observó que los géneros predominantes eran diferentes entre dichos estudios y los aislados en el laboratorio, excepto el género *Halorubrum* (clase *Halobacteria*), que si coincidía en ambos casos.

En esta Tesis Doctoral hemos abordado un estudio polifásico detallado de los microorganismos aislados que presentaban bajos valores de semejanza (ARNr 16S) con respecto a las especies descritas previamente. Estos estudios han permitido la descripción de cuatro nuevas especies, de las cuales dos son bacterias: *Fodinicurvata halophila* sp. nov. y *Aquisalimonas lutea* sp. nov. y otras dos son

arqueas: *Halovenus salina* sp. nov. y *Halorubrum grantii* sp. nov.

Para completar el estudio polifásico y poder analizar con más profundidad estos microorganismos se seleccionaron algunas de estas nuevas cepas para proceder a la secuenciación de sus genomas y el posterior análisis comparativo de los mismos. Por un lado, se secuenció el genoma completo de las cepas tipo de *Aquisalimonas lutea* y de las otras dos especies pertenecientes al género *Aquisalimonas*. De esta forma pudimos completar los estudios taxonómicos moleculares mediante la determinación de parámetros como son el ANI y GGDC. También se realizó un estudio de genómica comparada entre las tres especies de este género, así como con otras especies relacionadas. Por otro lado, el estudio del genoma de *Halorubrum grantii* y otras cepas de *Halorubrum* nos ha permitido determinar mediante técnicas de reclutamiento frente a los metagenomas de referencia, que estas cepas son abundantes especialmente en la base de datos metagenómica IC21, correspondiente a una muestra de agua de un estanque con un 21 % de sales de las salinas de Isla Cristina (Huelva). También se han estudiado con detalle los genes que se encuentran implicados en la producción de bacteriorrodopsinas, genes fotosintéticos y genes implicados en los ciclos del nitrógeno y del fósforo y en la degradación del glicerol.

Debido a que los representantes del género *Halorubrum* son muy abundantes en los estanques intermedios de las salinas, resultó interesante llevar a cabo un estudio más detallado de este género. En este estudio se incluyeron 15 genomas de cepas del género *Halorubrum* disponibles en las bases de datos NCBI y 4 genomas obtenidos en este estudio que correspondían a cepas de *Halorubrum* aisladas de diferentes ambientes hipersalinos y que estaban relacionadas con la especie *Halorubrum chaoviator*. Para la clasificación filogenética de estos microorganismos se utilizó un análisis por secuenciación multilocus (MLSA). El resultado de este estudio ha permitido clasificar las nuevas cepas de *Halorubrum* estudiadas en dos grupos. El grupo 1 lo comprendían cepas relacionadas con *Halorubrum chaoviator* y *Halorubrum ezzemoulense* y el grupo 2 lo formaban cepas que podrían representar un nuevo taxón. Los resultados filogenéticos estuvieron en concordancia con los valores calculados de ANI, GGDC e hibridación ADN-ADN.

Por otro lado, este análisis detallado de especies del género *Halorubrum* permitió determinar la existencia de dos sinonimias entre especies ya descritas: por una parte, entre las especies *Hrr. chaoviator* y *Hrr. ezzemoulense* y por otra entre las especies *Halorubrum arcis*, *Halorubrum litoreum*, *Halorubrum distributum* y *Halorubrum terrestre*. En ambos casos los valores de ANI y GGDC fueron superiores a los aceptados para la delimitación de especies diferentes, por lo que indican que estas especies constituyen en realidad una misma especie; además, en el caso de *Hrr. chaoviator* y *Hrr. ezzemoulense* se obtuvieron porcentajes de hibridación ADN-ADN muy elevados (superiores al 70 %), que corroboran estos resultados. Para demostrar estas sinonimias se realizaron estudios aplicando diferentes técnicas genómicas: diagrama de Venn, sintenias y alineamientos. En todos los casos estos resultados mostraron que los genomas compartían más del 80 % de los genes totales anotados; además, la sintenia estaba muy conservada entre los genomas. Por lo tanto, estos estudios genómicos apoyan la propuesta de una reclasificación de especies del género *Halorubrum*.

DISEÑO Y EVALUACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO ON-LINE PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE AGUAS RADIATIVAS EN CENTRALES NUCLEARES

Autor: Julio A. Belinchón Vergara

Directores: Diego A. Moreno y Ana M. García

Centro de Realización: Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales-Universidad Politécnica de Madrid

Resumen: Recientemente se ha demostrado la existencia de microorganismos en las piscinas de almacenamiento de combustible nuclear gastado en las centrales nucleares utilizando técnicas convencionales de cultivo en el laboratorio. Estudios posteriores han puesto de manifiesto que los microorganismos presentes eran capaces de colonizar las paredes de acero inoxidable de las piscinas formando biopelículas. Adicionalmente se ha observado la capacidad de estas biopelículas de retener radionúclidos, lo que hace pensar en la posibilidad de utilizarlas en la descontaminación de las aguas radiactivas de las piscinas. En la presente tesis se plantea conocer

más profundamente la biodiversidad microbiana de las biopelículas utilizando técnicas de biología molecular como la clonación, además de desarrollar un sistema de descontaminación a escala piloto con el objetivo de valorar si el proceso podría resultar escalable a nivel industrial. Para ello se diseñaron y fabricaron dos biorreactores en acero inoxidable compatibles con las condiciones específicas de seguridad sísmica y protección frente a la radiación en la zona controlada de una central nuclear. Los biorreactores se instalaron en la Central Nuclear de Cofrentes (Valencia) en las proximidades de las piscinas de almacenamiento de combustible nuclear gastado y precediendo a las resinas de intercambio iónico, de forma que reciben el agua de las piscinas permitiendo el análisis *in situ* de la radiación eliminada del agua de las mismas. Se conectó una lámpara de luz ultravioleta a uno de los biorreactores para poder comparar el desarrollo de biopelículas y la retención de radiactividad en ambas condiciones. En estos biorreactores se introdujeron ovillos de acero inoxidable y de titanio que se extrajeron a diversos tiempos, hasta 635 días para los ovillos de acero inoxidable y hasta 309 días para los ovillos de titanio. Se analizaron las biopelículas desarrolladas sobre los ovillos por microscopía electrónica de barrido y por microscopía de epifluorescencia. Se extrajo el ADN de las biopelículas y, tras su clonación, se identificaron los microorganismos por técnicas independientes de cultivo. Asimismo se determinó por espectrometría gamma la capacidad de las biopelículas para retener radionúclidos. Los microorganismos radiorresistentes identificados pertenecen a los grupos filogenéticos *Alpha-proteobacteria*, *Gamma-proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Deinococcus-Thermus* y *Bacteroidetes*. Las secuencias de estos microorganismos se han depositado en el GenBank con los números de acceso KR817260-KR817405. Se ha observado una distribución porcentual ligeramente diferente en relación con el tipo de biorreactor. Las biopelículas han retenido fundamentalmente radionúclidos de activación. La suma de Co-60 y Mn-54 ha llegado en ocasiones al 97%. Otros radionúclidos retenidos han sido Cr-51, Co-58, Fe-59, Zn-65 y Zr-95. Se sugiere un mecanismo del proceso de retención de radionúclidos relacionado con el tiempo de formación y desaparición de las biopelículas. Se ha valorado que el proceso escalable puede ser económicamente rentable.

Agradecimientos: al Proyecto MICRO-RRAD «Biorremediación de aguas radiactivas en centrales nucleares», financiado por la CICYT (CTM2004-05579) e IBERDROLA S.A.

HAEMOPHILUS PARASUIS HOST-PATHOGEN INTERACTIONS IN THE RESPIRATORY TRACT

Autor: Bernardo Bello Ortí

Directora: Dra. Virginia Aragón

Centro de realización: Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA)-IRTA

Centro de defensa: Universitat Autònoma de Barcelona.

En el sector veterinario, la enfermedad de Glässer es un proceso patogénico frecuente que conduce a pérdidas económicas considerables. Esta enfermedad es causada por *Haemophilus parasuis*. Aunque se ha llevado a cabo un esfuerzo importante hacia la comprensión de los factores que intervienen en el desarrollo y la evolución de la enfermedad, las medidas de control efectivas actuales se limitan al uso de antibióticos. La falta de protección completa de las vacunas comerciales apoya la realización de más investigación del estudio de este proceso patogénico con el fin de diseñar una vacuna eficaz universal.

Para aumentar el conocimiento en patogénesis desarrollamos una serie de experimentos. Es bien sabido que existen diferentes cepas de *H. parasuis*, desde no virulentas a altamente virulentas. Ciertos mecanismos patogénicos se atribuyen a la virulencia de algunas cepas, mientras que las cepas no virulentas solamente colonizan el tracto respiratorio superior y no son capaces de causar enfermedad. Estos diferentes grados de virulencia podrían ser apreciados durante los primeros pasos de la infección. De este modo, usando muestras secuenciales de las vías respiratorias de lechones infectados con dos cepas virulentas (Nagasaki y IT29755) y dos cepas no virulentas (SW114 y F9), se desarrollaron métodos de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia, así como una doble tinción de *H. parasuis* y macrófagos/neutrófilos. Nuestros resultados revelaron que las cepas virulentas de *H. parasuis* estaban

presentes en cornete nasal, tráquea y pulmón. Detalles adicionales mostraron que las cepas virulentas de *H. parasuis* no sólo se asociaron a macrófagos y neutrófilos del pulmón, sino también a células tipo neumocitos. La localización de las cepas virulentas dentro de los neumocitos podría considerarse un mecanismo nuevo de virulencia de esta bacteria. Por lo tanto, las cepas virulentas de *H. parasuis* fueron capaces de adherirse al epitelio de las vías respiratorias, invadir y diseminarse en el huésped. Por el contrario, las cepas no virulentas apenas se detectan en el tracto respiratorio. La cepa virulenta Nagasaki mostró patrones de biofilm en tráquea, que nos hizo cuestionar el papel de la formación de biofilm en la infección. Dado que la literatura publicada anteriormente indicaba que la formación de biofilm se presentaba principalmente en cepas no virulentas, se realizó una investigación adicional en esta dirección para comparar la formación de biofilm en cepas virulentas y no virulentas de *H. parasuis*. Nuestros resultados confirmaron que la capacidad de formar biofilm *in vitro* se presenta principalmente en cepas no virulentas. Por tanto, se secuenció el transcriptoma de la cepa no virulenta F9 durante su crecimiento en biofilm utilizando un modelo *in vitro*. Los resultados sugieren que bajo condiciones de biofilm, *H. parasuis* muestra un metabolismo reducido, demostrado por el perfil de expresión génica. Además, algunos de los genes inducidos en condiciones de biofilm eran específicos de las cepas no virulentas, como la hemaglutinina filamentosa *fhaB*, previamente asociada a la formación de biofilm en otras bacterias.

Finalmente, la observación de cepas virulentas de *H. parasuis* en pulmón durante la infección motivó la secuenciación del transcriptoma de una cepa patógena en esta ubicación. Se determinó la expresión génica después de una infección corta *in vivo* y tras la inoculación de pulmón *ex vivo*. Los resultados mostraron tendencias comunes en la expresión génica de *H. parasuis* durante la infección pulmonar *in vivo* y *ex vivo*, como la reducción del metabolismo y la expresión de genes implicados en la adquisición de nutrientes, lo que podría indicar una estrategia de supervivencia en estas condiciones. Durante la infección pulmonar también se detectaron genes únicos de cepas virulentas de *H. parasuis* que codifican para pro-

teínas de membrana externa. Estos genes requerirán una mayor caracterización como factores de virulencia, pudiendo ser también útiles para desarrollar nuevas vacunas. Nuestros resultados también apoyan el uso de explantes de pulmón como modelo para estudios de patogenicidad de otras bacterias respiratorias.

USO DEL PROBIÓTICO SHEWANELLA PUTREFACIENS PDP11 EN EL CULTIVO DE SOLEA SENEGALENSIS: IMPLICACIONES SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL

Autor: Silvana Teresa Tapia Paniagua

Directores: Dr. Miguel Ángel Morifigo y Dra. María del Carmen Balebona

Centro de realización: Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias.

Centro de presentación: Universidad de Málaga.

Resumen: Actualmente, la acuicultura es una industria en expansión. Entre las especies que se están introduciendo destaca el lenguado, *Solea senegalensis*, cuyo cultivo en cautividad no acaba de ser económicamente rentable debido fundamentalmente a las mortalidades producidas por infecciones bacterianas. Los antibióticos presentan una serie de limitaciones ya conocidas, siendo los probióticos una de las opciones más consideradas. Estudios previos en nuestro laboratorio han mostrado que la cepa *Shewanella putrefaciens* Pdp11 (Pdp11) es capaz de inhibir el crecimiento de bacterias patógenas de peces, por lo que se planteó su uso como probiótico y el estudio de los efectos sobre la fisiología de *S. senegalensis* así como la potencialidad en la prevención de infecciones. La incorporación de Pdp11 a la dieta de *S. senegalensis* induce una modulación de la microbiota intestinal y siendo capaz de colonizar el intestino del animal y presentando mayor diversidad en la microbiota, menor susceptibilidad a infecciones y mejor composición corporal, sobre todo relativo a la cantidad de ácidos grasos beneficiosos. El estudio de la forma más adecuada de administración del probiótico mostró que las células no liofilizadas tienen un tiempo de permanencia superior en el intestino y su

administración aumenta la diversidad de la microbiota intestinal al tiempo que reduce la presencia de patógenos oportunistas en la misma. Por este motivo, se consideró la forma no liofilizada como la más idónea para los estudios posteriores. La administración de Pdp11 a ejemplares de *S. senegalensis* sometidos a estrés por alta densidad o tratamiento con oxitetraciclina (OTC) permitió determinar la presencia de una microbiota intestinal y expresión génica diferencial en dichos ejemplares, con sobreexpresión de genes relacionados con el sistema inmune, mejoría de la histología intestinal y protección

frente a infecciones por *V. harveyi* y *V. parahaemolyticus*. Por otro lado, la administración de OTC produce cambios radicales en la microbiota, pero éstos son menos acusados cuando va junto con Pdp11 apareciendo en la microbiota especies beneficiosas y desapareciendo otras patógenas. Además, el aumento de la expresión de genes relacionados con el estrés oxidativo observado tras la administración de OTC no ocurre cuando se aplica simultáneamente con Pdp11. Por último, se ha estudiado el efecto de la administración del probiótico durante la fase larvaria, fase muy susceptible a infecciones.

La aplicación de forma continuada durante esta fase supone una modulación de la microbiota la cual se enriquece en especies de *Vibrio*. Del mismo modo, la aplicación sólo durante la fase de metamorfosis (desde el día 10 al 30 después de la eclosión) produce una modulación de la microbiota desde el inicio y a la ausencia de patógenos como *P. damselae subsp piscicida*. Por tanto, Pdp11 se puede considerar como un probiótico adecuado para *S. senegalensis*, que limita la presencia de patógenos en el intestino, atenúa los efectos del estrés y protege en estadios larvarios.

Nuevos socios de la SEM

- Aguilar Pérez, Clara
- Aguilera Herce, Julia
- Alarcón Cavedo, Teresa
- Álvarez Escribano, Isidro
- Álvarez González, Beatriz
- Álvarez Losada, Armando
- Aragón Aranda, Beatriz
- Ardizzone Jiménez, Beatriz
- Arrazuria, Rakel
- Baquedano Mozos, Ignacio
- Barroso García, Rocío
- Bautista Gallego, Joaquín
- Benaiges Fernández, Robert
- Boixadera Duran, Gisela
- Bosch Reñé, Sandra
- Brenes Álvarez, Manuel
- Cabello Yeves, Pedro José
- Calamita Gabaldon, Miguel
- Cámara Almirón, Jesús
- Cerdá Lentijo, Irene
- Creus Jornet, Anna
- de Alba Ortega, María
- de Dios Barranco, Rubén
- de la Pinta Aresti, Iker
- Dzidic, Majda
- Fernández Calvet, Ariadna
- Fernández Márquez, Araceli
- Ferreiro García, M^a Dolores
- Fontelo Piñango, Jaineli
- Gago Vega, Juan Francisco
- García Díaz, Marta
- García Martínez, Daniel Jesús
- García Romero, Inmaculada
- García Sánchez, Lourdes
- García-Quintáns, María de las Nieves
- Gutiérrez Barranquero, Jose Antonio
- Gutiérrez Poz, María
- Heredia Ponce, Zahira
- Hernández de Rojas, Alma
- Jiménez Gutiérrez, Elena
- Lama López, Raquel
- Leal Morales, Antonio
- Leiva Rebollo, Rocío
- León Sampedro, Ricardo
- Linares Díaz, Eloisa
- Mañas Torres, Carmen
- Mariscal Romero, Vicente
- Martín Pérez, Tania
- Martínez Rodríguez, Pablo
- Mencía Caballero, Mario
- Moreno Garcia, Patricia
- Navarro Gómez, Pilar
- Ogayar Sandoval, Elixabet
- Papaspyrou, Sokratis
- Pedrero Vega, Elena
- Pérez Etayo, Lara
- Pinel Cabello, María
- Portillo Guisado, Maria del Carmen
- Prado Marrón, Natalia
- Prieto Mariscal, Juana María
- Ramos Moreno, Laura
- Ramos Roper, Sandra
- Rodríguez Arce, Irene
- Rodríguez Galán, Olga
- Rodríguez Olivenza, David
- Ruiz Ruiz, Javier
- Salvà Serra, Francisco
- Sánchez Castro, Iván
- Sánchez Osuna, Miquel
- Santano, Patricia
- Suárez Benjumea, Alicia
- Tapia Paniagua, Silvana Teresa
- Tedim Pedrosa, Ana Sofía
- Tomi Andriano, Claudio
- Torres Martínez, María
- Verdú Expósito, Cristina
- Villagrana Ramírez, Eduard
- Zurita González, María Jesús

Altas desde el 12/11/2015 hasta 27/04/2016