

## BÚSQUEDA DE GENES IMPLICADOS EN LA INTERRUPCIÓN DE LA COMUNICACIÓN BACTERIANA EN UN AMBIENTE HIPERSALINO MEDIANTE UN ESTUDIO METAGENÓMICO

Marta Torres<sup>a</sup>, Inmaculada Llamas<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). <sup>b</sup>Universidad de Granada



La expresión de muchos factores de virulencia está regulada por sistemas de comunicación dependientes de la densidad celular o *quorum sensing* (QS). Se basan en la producción, acumulación y reconocimiento de moléculas señas o autoinductores, siendo las *N*-acilhomoserín lactonas (AHLs) las principales moléculas señal de las bacterias Gram negativas. Debido a ello, muchos de los organismos competidores han desarrollado diversas estrategias para defenderse, tales como la inactivación enzimática de los autoinductores, conocida como *quorum quenching* (QQ).

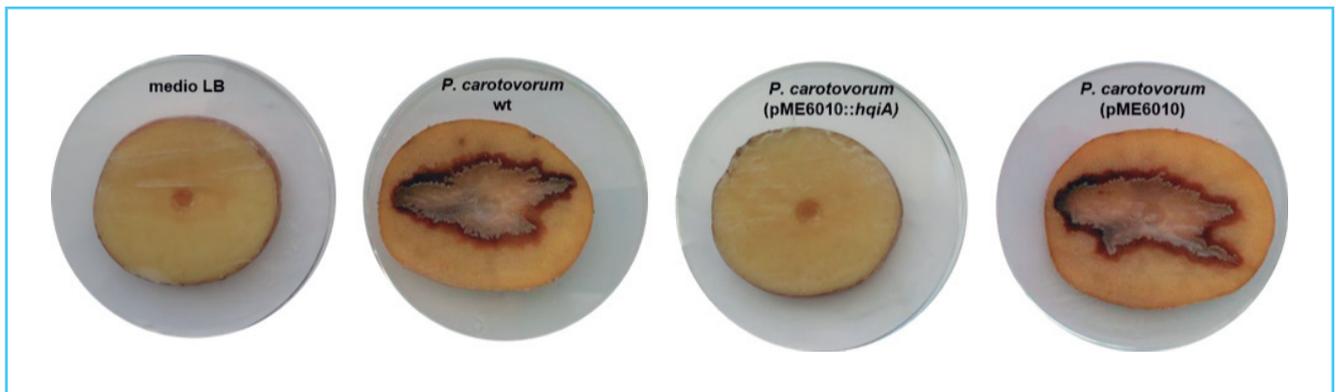
En las últimas décadas, los sistemas QS y QQ se han descrito en bacterias procedentes de diferentes ecosistemas, pero son muy escasos los estudios relativos a las bacterias extremófilas, y especialmente a los halófilos, microorganismos caracterizados por vivir en ambientes con una elevada salinidad, niveles bajos de oxígeno y a veces alta alcalinidad.

En este trabajo hemos construido una librería metagenómica generada a partir de un suelo hipersalino de Rambla Salada (Murcia), en la que se seleccionó un único clon con actividad QQ tras el ensayo de 250.000 clones. El cribado de la librería metagenómica y su posterior análisis *in silico* permitió identificar un único gen (*hqiA*, de *hypersaline quorum-quenching isochorismatase*) capaz de conferir a *Escherichia coli* la capacidad de degradar AHLs. La caracterización química mediante HPLC/MS de la actividad enzimática codificada en el gen *hqiA* puso de manifiesto una actividad de tipo lactonasa, que se caracteriza por degradar un amplio rango de moléculas AHLs con y sin sustituciones químicas. Hasta la fecha se habían descrito varios tipos de lactonasas (la mayoría identificadas mediante estrategias dependientes de cultivo), las cuales se agrupan en dos familias, las metalohidrolasas de zinc y las  $\alpha/\beta$ -hidrolasas. El análisis *in silico* reveló que HqiA no tiene homología con ninguna de las enzimas lactonasas ya descritas, sino que posee homología con las enzimas de tipo isocorismatasas y *N*-carbamoilsarcosina amidasas del grupo de las cisteína-hidrolasas.

Aunque el papel fisiológico de las enzimas QQ aún permanece indeterminado, éstas representan una alternativa prometedora al uso de productos químicos y antibióticos para el tratamiento de enfermedades reguladas por QS en sectores como la acuicultura y en agricultura. De hecho, nuestros ensayos muestran que la enzima HqiA interfiere la producción de AHLs en bacterias patógenas cuya virulencia está regulada por QS. En la Figura se observa cómo la expresión de *hqiA* en el fitopatógeno *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* CECT 225<sup>T</sup> evita la aparición de síntomas de podredumbre, mientras que la cepa silvestre y el control con el plásmido vacío pME6010 causan una maceración importante.

Este estudio constituye la primera descripción de una enzima degradadora de AHLs en un ambiente hipersalino, probablemente perteneciente a una bacteria halófila. La caracterización genética y química de este clon ha permitido la identificación de una nueva clase de enzima degradadora de AHLs (isocorismatasa HqiA) no relacionada con otros tipos de enzimas descritos previamente. Los resultados obtenidos reivindican la interferencia de la comunicación intercelular bacteriana como una estrategia eficaz para combatir las enfermedades infecciosas en la agricultura.

Torres, M., Uroz, S., Salto, R., Fauchery, L., Quesada, E., Llamas, I. 2017. HqiA, a novel quorum-quenching enzyme expanding the family of AHL lactonases. *Scientific Reports* 7: 943.



Efecto de la expresión de *hqiA* en la podredumbre producida por *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* en un ensayo en patata.

**LA “REVOLUCIÓN DE LA EVOLUCIÓN”: CLAVES GENÓMICAS DE LA EVOLUCIÓN ADAPTATIVA DE BACTERIAS PATÓGENAS EN EL PULMÓN DE LOS PACIENTES QUE SUFREN ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA (EPOC)**

Ariadna Fernández-Calvet<sup>1</sup> y Junkal Garmendia<sup>1,2</sup>

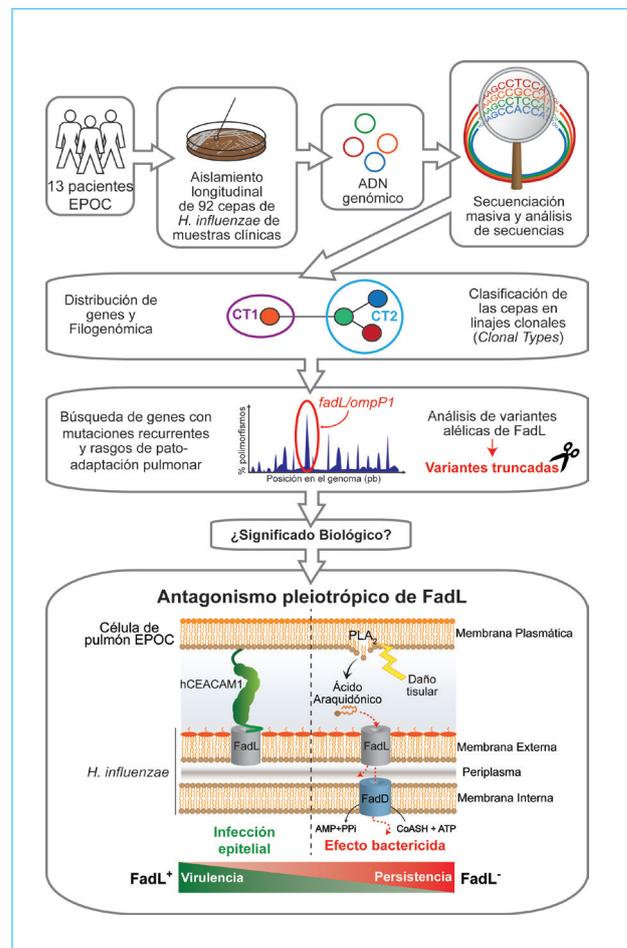
<sup>1</sup>Instituto de Agrobiotecnología, CSIC-Gobierno Navarra, Mutilva, Spain. <sup>2</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Madrid, Spain

Los pulmones se consideraron “estériles” hasta principios de esta década, cuando la utilización de técnicas de secuenciación masiva de ADN mostró la existencia de un microbioma pulmonar humano. Este avance tecnológico abrió paso al estudio de las claves genómicas de pato-adaptación. Así, la evidencia de rasgos genómicos de la evolución adaptativa de patógenos oportunistas procedentes de reservorios naturales como son *Pseudomonas aeruginosa* y *Burkholderia dolosa* durante la infección pulmonar crónica de pacientes que sufren fibrosis quística es paradigmática en este campo de estudio.

El trabajo liderado por la Dra. Junkal Garmendia, miembro del grupo especializado de Microbiología Molecular de la SEM, realizado en colaboración con investigadores del Hospital Universitario de Bellvitge (HUB), Universidad de Drexel (USA) y Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC), va un paso más allá y determina las claves genómicas de pato-adaptación de la bacteria *Haemophilus influenzae*. *H. influenzae* forma parte del microbioma respiratorio humano, y es también un patógeno oportunista causante de infección pulmonar persistente en pacientes que sufren enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Según la Organización Mundial de la Salud, la EPOC es la tercera causa de muerte más frecuente a nivel mundial, por lo que entender las bases biológicas de su infección crónica concomitante es clave para dirigir nuevos desarrollos terapéuticos.

Para identificar la variación genómica bacteriana asociada a la infección del pulmón EPOC, los investigadores secuenciaron el genoma de 92 cepas de *H. influenzae* aisladas de muestras de esputo recogidas de 13 pacientes EPOC durante visitas médicas sucesivas entre los años 2000 y 2014. Establecieron linajes clonales de *H. influenzae*, la relación filogenómica de los mismos, y buscaron genes con mutaciones recurrentes en cepas de varios linajes clonales y aisladas de varios pacientes, indicadoras de pato-adaptación. Encontraron que un tercio de los linajes clonales establecidos contienen cepas con polimorfismos en el gen *fadL/ompP1*. Un alto porcentaje de estos polimorfismos genera variantes no-funcionales del gen. *fadL/ompP1* codifica una proteína bifuncional: por una parte, FadL es un ligando del receptor hCEACAM1, facilitando la infección del epitelio respiratorio por *H. influenzae*; por otra, FadL importa moléculas de ácido graso del medio externo que provocan la muerte bacteriana porque *H. influenzae* no procesa estas moléculas, que a su vez tienen efecto detergente. La inactivación de FadL es un caso de antagonismo pleiotrópico, al reducir la capacidad de *H. influenzae* para infectar el epitelio respiratorio, y al mismo tiempo aumentar su supervivencia frente al efecto letal de los ácidos grasos. La inactivación natural de *fadL* ocurre principalmente en aislados de *H. influenzae* de vías respiratorias bajas, es por tanto un rasgo genómico de pato-adaptación pulmonar.

La relevancia clínica de esta observación es muy notable porque los ácidos grasos de cadena larga son biomarcadores inflamatorios en el pulmón EPOC. Por tanto, el aumento de resistencia a este tipo de moléculas por parte de patógenos persistentes en este nicho pulmonar es un rasgo pato-adaptativo con gran significado biológico, que servirá como guía en futuros desarrollos terapéuticos frente a la EPOC.



Resumen del trabajo. En la parte inferior, se muestra un modelo que ilustra el antagonismo pleiotrópico de FadL durante la infección persistente de *H. influenzae* en el pulmón de pacientes que sufren EPOC. Modificado de Moleres et al., mBio 2018.

Moleres, Fernández-Calvet et al., mBio. 2018 Sep 25;9(5). pii: e011176-18. doi: 10.1128/mBio.01176-1.

**REGULACIÓN POR PEQUEÑOS ARNS EN BACTERIAS. IMPLICACIÓN DE UNO DE ELLOS EN LA REPRESIÓN CATABÓLICA DE UNA RUTA DE DEGRADACIÓN ADQUIRIDA**

Inmaculada García-Romero

La represión catabólica es un mecanismo de regulación global por el que la presencia de una fuente de carbono preferencial impide la expresión de los sistemas catabólicos implicados en la utilización de sustratos secundarios. Este mecanismo de regulación se ha estudiado ampliamente en bacterias modelo, tales como *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*, pero muy poco en otras que son de interés medioambiental como las pertenecientes a la familia *Sphingomonadaceae*. *Sphingopyxis granuli* estirpe TFA es una bacteria oligotrofa perteneciente a la familia anterior cuyo genoma se ha secuenciado recientemente (García-Romero *et al.*, 2016). Una de las principales características metabólicas de esta bacteria es su capacidad para mineralizar la tetralina al utilizarla como única fuente de carbono y energía. La tetralina es un solvente tóxico debido tanto a su carácter lipofílico, lo que permite la interacción con las membranas biológicas, como a la formación de hidroperóxidos en el interior celular.

Tanto la ruta de degradación de la tetralina como la regulación específica de los genes estructurales (genes *thn*) han sido completamente caracterizadas previamente en TFA por miembros de nuestro laboratorio. El análisis genómico indica que esta ruta fue adquirida por TFA por transferencia horizontal. Además de la inducción específica por tetralina, se ha demostrado que la expresión de estos genes es menor en presencia de una fuente de carbono preferencial, aún estando presente la tetralina en el medio, lo que supone que están sujetos a represión catabólica.

En nuestro trabajo más reciente realizamos un análisis global de la expresión génica en TFA en distintas fuentes de carbono junto con la detección de los inicios de la transcripción a través de dRNA-seq. La información obtenida combinada con la anotación a través del software Infernal revela la expresión de 91 posibles pequeños ARNs en las condiciones analizadas. Entre ellos se detecta un pequeño ARN perteneciente a la familia Rfam SuhB (RF00519) el cual se expresa en condiciones de crecimiento rápido para TFA (Figura 1A) y que se codifica por un gen no asociado a los de la ruta de degradación de tetralina. El análisis de la expresión de los genes *thn* en un mutante carente de SuhB revela que estos se desreprimen en condiciones de represión catabólica (Figura 1B) y que, además, el regulador específico de la ruta, ThnR, se encuentra en mayor cantidad en dicho mutante. Se confirma que SuhB interacciona con el ARN mensajero de *thnR* en la región de unión del ribosoma, lo cual podría bloquear la traducción del regulador, siendo este uno de los mecanismos de acción más descrito para los pequeños ARNs reguladores. Además, experimentos de co-inmunoprecipitación junto con ensayos de fluorescencia y el análisis de expresión de los genes *thn* en un mutante carente de la proteína Hfq sugieren la participación de esta chaperona de ARN en la unión entre SuhB y el 5'UTR de *thnR*.

Estos resultados demuestran que SuhB, con la intervención de Hfq, afecta negativamente a la expresión del regulador *thnR*, lo cual se traduce en una falta de expresión de los genes *thn* en condiciones en las que se expresa el pequeño ARN, como son las de represión catabólica de los genes *thn*.

García-Romero, I., Förstner, K. U., Santero, E. and Floriano, B. (2018), SuhB, a small non-coding RNA involved in catabolite repression of tetralin degradation genes in *Sphingopyxis granuli* strain TFA. *Environ Microbiol.* doi:10.1111/1462-2920.14360

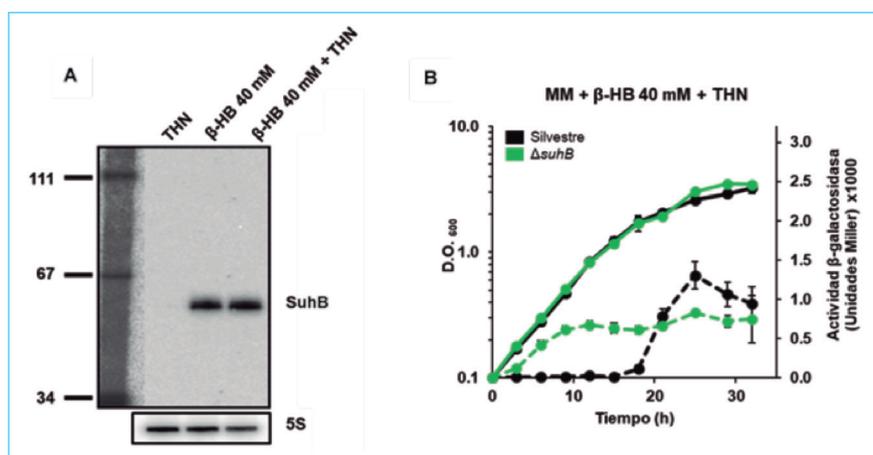


Figura 1: (A) Northern blot para la detección de SuhB en células de TFA crecidas en tetralina (THN),  $\beta$ -hidroxibutirato 40 mM ( $\beta$ -HB 40 mM) y en condiciones de represión catabólica ( $\beta$ -HB 40 mM + THN). (B) Crecimiento (línea continua) y expresión de los genes *thn* (línea punteada) en la estirpe silvestre de TFA y el mutante carente de SuhB en condiciones de represión catabólica.

## REDUCCIÓN ANAERÓBICA DEL NITRITO Y LA EXPANSIÓN POBLACIONAL DE *VIBRIO CHOLERAE*



Felipe Cava (Lecturer, Associate Professor) y Emilio Bueno (postdoctoral fellow)

Laboratory for Molecular Infection Medicine Sweden, Department of Molecular Biology, Umeå Centre for Microbial Research, Umeå University, Umeå, Sweden

Para sobrevivir y proliferar en ausencia de oxígeno, muchos patógenos intestinales llevan a cabo un tipo de respiración anaeróbica en la cual usan nitrato en vez de oxígeno. Las proteínas llamadas nitrato reductasas reducen el nitrato a nitrito – un compuesto nocivo – que normalmente es detoxificado por enzimas especializadas. Sin embargo *Vibrio cholerae*, la bacteria causante del cólera acumula el nitrito y detiene su crecimiento. Este hecho llevó a pensar por muchos años que la reducción de nitrato, carecía de importancia biológica para *V. cholerae*.

El laboratorio de Felipe Cava (MIMS/Umeå University, Suecia) observó algo completamente inesperado: aunque *V. cholerae* crecía claramente menos en presencia de nitrato, esta condición le permitía sobrevivir mucho mejor que sin nitrato. Pero, ¿de qué modo sucedía esto?

El equipo identificó un mutante que era capaz de crecer en ausencia de nitrato. El mutante en cuestión tenía afectada su capacidad fermentativa, una ruta metabólica que genera energía para crecer en la ausencia de oxígeno pero que a cambio acidifica el medio en esta bacteria. Este resultado sugería que la acidificación era en realidad el factor que afectaba la viabilidad de *V. cholerae*, mientras que la acumulación de nitrito actuaba como un “freno metabólico” que prevenía la sobre-acidificación del medio y como consecuencia la muerte celular.

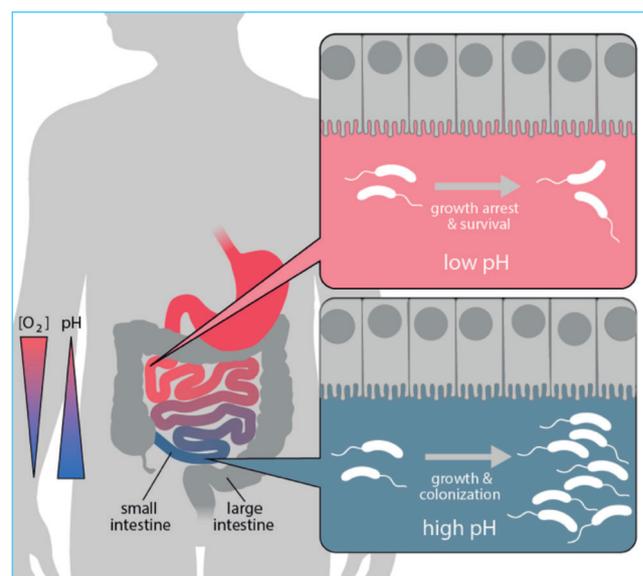
Tirando del hilo, los autores observaron que cuando el pH del medio era alcalino *V. cholerae* era capaz de crecer anaeróticamente con nitrato, siendo así capaz de ganar la carrera a las bacterias comensales del intestino. Este hecho es particularmente relevante a la hora de comprender mejor como sucede el proceso infeccioso. De hecho, este novedoso sistema de regulación del crecimiento/viabilidad por anoxia, nitrito y pH no es exclusivo de *V. cholerae*. Los autores han observado resultados similares en patógenos entéricos como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* (EHEC) y *Citrobacter rodentium* lo que anima a pensar que este trabajo pueda inspirar nuevas estrategias que permitan el control de infecciones intestinales.

Emilio Bueno, Brandon Sit, Matthew K. Waldor, and Felipe Cava (2018): Anaerobic nitrate reduction divergently governs population expansion of the enteropathogen *Vibrio cholerae*. *Nature Microbiology* (1st October 2018) 10.1038/s41564-018-0253-0

Contacto: [www.cavalab.site](http://www.cavalab.site) • <http://www.mims.umu.se/groups/felipe-cava.html> • Phone: +46 (0) 90 785 6755



Emilio Bueno presenta su proyecto de investigación en la conferencia Nordic EMBL Partnership for Molecular Medicine en Oslo, 13-14 de septiembre de 2018.



Funciones respiratorias dependiente de pH en *V. cholerae*: Cuando el pH es bajo (región proximal del intestino delgado), *V. cholerae* usa la reducción de nitrato para parar el crecimiento y sobrevivir. Por el contrario, cuando el pH es alto (región distal del intestino delgado), la reducción de nitrato es usada para crecer masivamente y colonizar el huésped causando cólera.

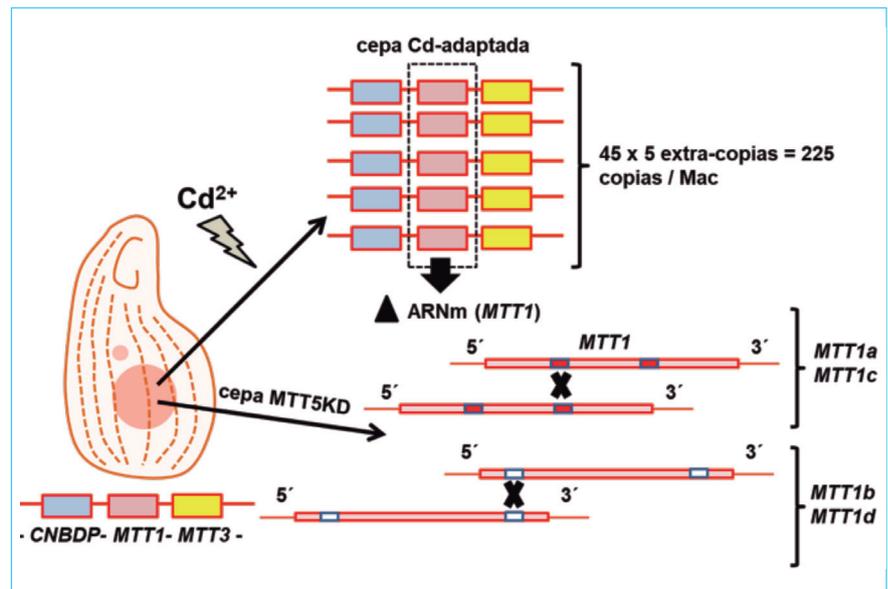
**ESTRATEGIAS DE ADAPTACIÓN AL ESTRÉS POR METALES: AMPLIFICACIÓN CROMOSÓMICA REVERSIBLE Y CREACIÓN DE NUEVOS GENES PARÁLOGOS**



Juan Carlos Gutiérrez

Dpto. Genética, Fisiología y Microbiología. Facultad de Biología. Universidad Complutense (UCM). 28040 Madrid. Spain. Dept. Molecular Genetics and Cell Biology. University of Chicago. Chicago. IL. 60637. USA

Los contaminantes pueden ejercer un estrés selectivo sobre los seres vivos, y estos pueden experimentar cambios genéticos para adaptarse a dichas condiciones de estrés. Los protozoos ciliados, como el modelo *Tetrahymena thermophila*, debido a su elevada ploidía en el macronúcleo constituyen un magnífico modelo microbiano-eucariota para estudios de adaptación genómica al estrés ambiental. Durante un extenso periodo (~2 años) de adaptación a concentraciones crecientes de metal (Cd, Cu o Pb), se han aislado cepas resistentes a concentraciones extremas de los mismos. Igualmente, se han obtenido y analizado tres cepas knockout (KO) y/o knockdown (KD) para los genes *MTT1* y/o *MTT5*, codificantes de metalotioneínas (MTs), que son proteínas queladoras de metal. El *MTT5* es un gen esencial (de Francisco *et al.*, 2017), por lo que solo se puede obtener una cepa KD para este gen.



Esquema de las estrategias genéticas de adaptación.

Dos tipos diferentes de estrategias genéticas se han detectado y analizado; una de ellas como respuesta celular frente a la adaptación al Cd exclusivamente (cepa Cd-adap) y la otra frente a la disminución (~98%) del número de copias del gen esencial *MTT5* (cepa MTT5KD). En la cepa Cd-adap hemos detectado el incremento (5 veces) del número de copias de tres genes localizados en el mismo fragmento sub-cromosómico macronuclear. Dos de los cuales codifican MTs (*MTT1* y *MTT3*), mientras que el resto de los genes MT (*MTT5*, *MTT2* y *MTT4*), localizados en otros fragmentos sub-cromosómicos del macronúcleo de este ciliado, mantienen el número de copias de la cepa silvestre (45C). La amplificación exclusiva de este sub-cromosoma es reversible, y reproducible, dependiendo de la presencia o ausencia del metal (Cd) en el medio. En unos 7 meses (sin Cd) esta cepa pasa de 225C a 45C, mientras que en una sola semana (bajo una nueva exposición al Cd) vuelve a amplificar este fragmento sub-cromosómico de 45C a 165C. La amplificación del gen *MTT1* en la cepa Cd-adap contribuye a su mayor expresión basal (28x) respecto de la cepa silvestre, a diferencia de lo que ocurre con el gen *MTT3*, cuya expresión no se ve incrementada. Esto se podría deber a la existencia de una regulación negativa de su expresión, basada en un mecanismo similar al de compensación de la dosis génica descrito en los cromosomas sexuales de algunos organismos. No conocemos aún el mecanismo molecular por el que la ADN polimerasa amplifica específicamente, bajo estrés por Cd, este sub-cromosoma frente al resto del genoma, aunque una posibilidad podría ser un reconocimiento epigenético del mismo.

La segunda estrategia, exclusiva de la cepa MTT5KD, implica la creación de 4 nuevos genes parálogos a partir del gen *MTT1*. Este gen presenta dos pares de motivos idénticos y repetidos de 12 pb (5'GGATGTTGCIGC3' y 5'GGATGCAAATGT3'), que corresponden a dos dominios ricos en cisteína (Cys); Gly-Cys-Cys-Cys y Gly-Cys-Lys-Cys, respectivamente, y conservados entre las Cd-MTs de *Tetrahymena* (Gutiérrez *et al.*, 2009). Estas dos secuencias intervienen, por recombinación homóloga entre ellas, en la creación de los cuatro nuevos genes parálogos (*MTT1a*, *MTT1b*, *MTT1c* y *MTT1d*) derivados del *MTT1*. Estos nuevos genes han sido aislados como ADNc en la cepa MTT5KD tratada con Cd, y nuestra hipótesis es que estas nuevas especies génicas ayudan a compensar la reducción drástica del número de copias del gen esencial *MTT5* en esta cepa.

En resumen, al menos dos diferentes mecanismos avalan la existencia de una gran plasticidad genómica macronuclear en respuesta directa o indirecta al estrés inducido por metales. La segunda estrategia, que compensa la drástica reducción de un gen esencial, representa, por lo que conocemos, un nuevo mecanismo en microbiología eucariota.

De Francisco P, Martín-González A, Turkewitz AP, Gutiérrez JC. Genome plasticity in response to stress in *Tetrahymena thermophila*: selective and reversible chromosome amplification and paralogous expansion of metallothionein genes. Environmental Microbiology. (2018). doi: 10.1111/1462-2920.14251.

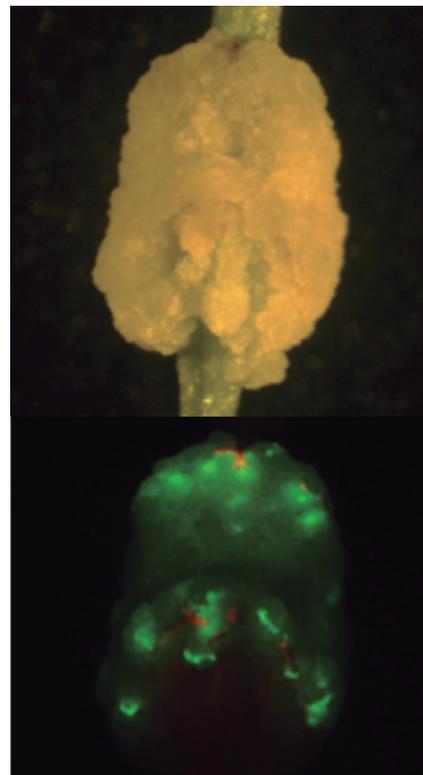
## CONVERSACIONES BACTERIANAS DENTRO DE LAS VERRUGAS DEL OLIVO

Cayo Ramos

Tradicionalmente el estudio de enfermedades de plantas se ha centrado en la caracterización de su agente causal (virus, bacterias y hongos) y de los efectos que éstos generan en las plantas que infectan; sin embargo, existen cada vez más evidencias de que los patógenos se integran en complejas comunidades microbianas. En este sentido, la tuberculosis del olivo, en cuyo microbioma se han identificado 29 géneros bacterianos diferentes, es un modelo para la caracterización de las interacciones microbianas en enfermedades de plantas leñosas. Este artículo analiza en profundidad la influencia en la sintomatología de la enfermedad (tumores o “verrugas” generados en las ramas de olivo) del mecanismo de comunicación intercelular *quorum sensing*, entre el agente causal de la tuberculosis (la bacteria *Pseudomonas savastanoi*) y otra de las especies integrantes del microbioma de esta enfermedad (*Erwinia toletana*). El artículo, publicado en la revista *Applied and Environmental Microbiology*, de la *American Society for Microbiology*, es fruto de una colaboración entre investigadores de la Universidad de Málaga (UMA) integrados en el Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea (IHSM-UMA-CSIC) “La Mayora” (Eloy Caballo Ponce y Cayo Ramos), el *International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology* (Trieste, Italia: Xianfa Meng, Gordana Uzelac, Daniel Passos da Silva y Vittorio Venturi.), el CBM S.c.r.l. (Trieste: Danilo Licastro) y la Universidad de Nottingham (Nigel Halliday y Miguel Cámara).

*Quorum sensing in Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi and Erwinia toletana: role in virulence and interspecies interactions in the olive knot. Appl. Environ. Microbiol. 84 (18): e00950-18. doi: 10.1128/AEM.00950-18*

En la foto superior se muestra un tumor generado en una planta de olivo cultivada *in vitro*; en la inferior, el agente causal y la bacteria cooperante se visualizan mediante fluorescencia verde y roja, respectivamente.



## EFFECTO DEL TIPO DE EXPLOTACIÓN AGRARIA EN *VITIS VINIFERA* SOBRE EL CENOFENORRESISTOMA Y PERFIL METABÓLICO DE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS EDÁFICAS

Marina Robas Mora

El suelo es un microcosmos dominado por bacterias que desempeñan funciones de enorme importancia en su productividad, pero que son, sin embargo, muy sensibles a las perturbaciones, pudiendo alterarse su diversidad y actividad (Ouni *et al.* 2013). Por ello, estudiamos las posibles influencias que los distintos tipos de manejos agrarios pueden tener sobre el microbioma rizosférico de la especie *Vitis vinifera*. Buscamos, así, responder a la cuestión subyacente de hasta qué punto y de qué modo el uso del suelo puede afectar a la funcionalidad y actividades de los microorganismos edáficos.

Para estudiar la estructura funcional microbiana edáfica (diversidad metabólica), hemos evaluado el perfil metabólico (CLPP: *community level physiological profile*) mediante el empleo de placas Biolog ECO®. Los resultados permiten afirmar que el perfil metabólico (diversidad, cinética de crecimiento y CLPP) de suelos no explotados agrariamente difiere de aquellos que han sido sometidos a presión antrópica.

Por otro lado, entre todas las actividades microbianas que pueden verse afectadas por el uso de los suelos, se encuentra la posible influencia sobre los mecanismos de resistencia a antibióticos, sus niveles de expresión y perfiles fenotípicos de resistencia.

Recordemos que la microbiota del suelo es uno de los más importantes reservorios de genes de resistencia (Aminov, 2009). El evidente incremento de microorganismos ambientales resistentes a distintos antibióticos supone un riesgo de que sean transferidos a patógenos. Esto

nos hace plantearnos el efecto que pueden tener los distintos manejos agrarios, especialmente la irrigación con aguas de distintos orígenes, sobre la potencial aparición de resistencia a antibióticos de uso clínico en animales y personas a través de la cadena trófica. Para responder a esta cuestión, entre otras, es necesario alcanzar un mayor conocimiento de los genes responsables de dicha resistencia, cómo se seleccionan, movilizan hacia bacterias patógenas (Wright, 2010) y su propagación por el entorno (Petrovic *et al.*, 2003). Esto genera la necesidad de encontrar criterios de interpretación de la resistencia a antibióticos en comunidades microbianas ambientales.

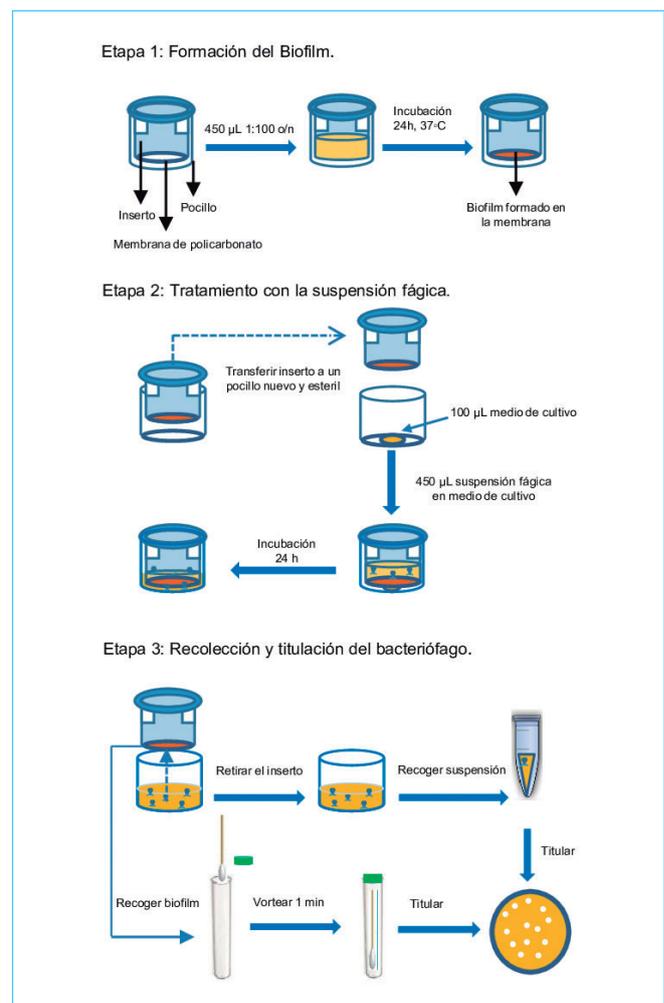
Así surge el concepto *Cenofenoresistoma*, como una aproximación metodológica para evaluar la resistencia antimicrobiana global de comunidades bacterianas complejas, ajustando técnicas tradicionalmente empleadas para la evaluación del antibiograma en poblaciones mono-específicas. Los resultados del estudio demuestran que el *Cenofenoresistoma* se postula como un buen bioindicador de la respuesta del suelo a las perturbaciones ambientales.

Robas Mora, M., Probanza Lobo, A., Jiménez Gómez, P.A. (2017). Effect of the Type of *Vitis vinifera* Cultivation in the Cenophenoresistome and Metabolic Profiling (CLPP) of Edaphic Bacterial Communities. *J. Agr. Sci. Tech.* 7:522-536. doi: 10.17265/2161-6256/2017.08.002

### ¿DIFUNDEN LOS BACTERIÓFAGOS A TRAVÉS DE LOS BIOFILMS BACTERIANOS?

Silvia González, Lucía Fernández y Ana Rodríguez

Los biofilms son estructuras complejas en los que las células microbianas se encuentran protegidas de la acción de agentes externos (deshidratación, luz UV, calor, antimicrobianos, etc). Cuando los biofilms están formados por bacterias patógenas, su eliminación constituye un serio problema, siendo la causa de infecciones recurrentes. Una posible alternativa a los antibióticos y desinfectantes convencionales es la utilización de bacteriófagos (o fagos), que son los virus que infectan a las bacterias. Durante el proceso de infección, los bacteriófagos se unen a la bacteria y se replican dentro de ella para, finalmente, destruirla y liberar nuevos fagos. El desarrollo de una estrategia de eliminación de biofilms exitosa basada en fagos requiere un conocimiento adecuado de parámetros tales como la difusión, la propagación y la viabilidad de los bacteriófagos a través de los biofilms bacterianos. Con este fin, el grupo DairySafe del Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC) ha desarrollado recientemente una técnica que permite estudiar en mayor profundidad dichas características. Así, se ha establecido un protocolo sencillo (Figura 1) basado en la formación de biofilms bacterianos sobre una membrana de policarbonato, la cual separa una cámara superior (a la que se añade la suspensión fágica) de una cámara inferior (en la que posteriormente se recoge el fago que haya atravesado el biofilm). En este estudio, se obtuvieron biofilms de distintas especies bacterianas (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Lactobacillus plantarum*) y se añadieron dos bacteriófagos que infectan a las dos especies de *Staphylococcus*. Los resultados obtenidos confirmaron que ambos bacteriófagos son capaces de difundir a través de los biofilms de las tres especies y además de propagarse en el interior de la estructura cuando en ella hay bacterias susceptibles. La utilización de esta técnica permite evaluar y comparar bacteriófagos cuyas características apoyen su utilización como agentes antibiofilm.



Esquema representativo del protocolo de difusión de bacteriófagos a través de un biofilm bacteriano. Tomada y modificada de: *Front. Microbiol.*, 28 de septiembre de 2018.

González, S., Fernández, L., Campelo A.B., Rodríguez, A., and García, P. (2018). Analysis of Different Parameters Affecting Diffusion, Propagation and Survival of Staphylophages in Bacterial Biofilms. *Front. Microbiol.*, 28 September 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02348>