

TÉCNICAS MOLECULARES RÁPIDAS PARA DETECTAR Y TRAZAR MICROORGANISMOS PATÓGENOS O TECNOLÓGICOS

Con el objetivo de mejorar y agilizar los procedimientos de detección, tipificación e identificación de patógenos alimentarios (*L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, *S. aureus* y *Campylobacter* termotolerante) el grupo ha desarrollado y validado técnicas moleculares basadas en PCR, altamente sensibles, tanto en uniplex como multiplex en diferentes matrices alimentarias, valorándose diferentes pre-tratamientos para obtener una máxima eficacia en cuanto a sensibilidad-tiempo del ensayo. La detección rápida de células viables mediante métodos de PCR combinados con fluoróforos diferenciales es otro de los puntos de interés en la investigación de nuestro grupo. Paralelamente los métodos de tipificación basados en PCR y secuenciación nos han permitido la identificación y monitorización rápida de los cultivos iniciadores bioprotectores en embutidos fermentados, así como la trazabilidad de los puntos críticos de contaminación bacteriana.

BIBLIOGRAFÍA RELEVANTE

- Talon R, Lebert I, Lebert A, Leroy S, Garriga M, Aymerich T, Drosinos EH, Zanardi E, Ianieri A, Fraqueza MJ, Patarata L y Lauková A (2007). Traditional dry fermented sausages produced in small-scale processing units in Mediterranean countries and Slovakia. 1. Microbial ecosystems of processing environments. *Meat Sci.* 77:570-579.
- Marcos B, Aymerich T, Guàrdia MD y Garriga M (2007). Assessment of high hydrostatic pressure and starter culture on the quality properties of low-acid fermented sausages. *Meat Sci.* 76(1):46-53
- Jofré A, Champomier-Verges M, Anglade P, Baraige F, Martin B, Garriga M, Zagorec M y Aymerich T (2007). Protein synthesis in lactic acid and pathogenic bacteria during recovery from a high pressure treatment. *Res Microbiol.* 158:512-520.
- Jofré A, Aymerich T y Garriga M (2008). Assessment of the effectiveness of antimicrobial packaging combined with high pressure to control *Salmonella* sp. in cooked ham. *Food Control.* 19:634-638.
- Jofré A, Aymerich T, Grèbol N y Garriga M (2009). Efficiency of high hydrostatic pressure at 600 MPa against food-borne microorganisms by challenge tests on convenience meat products. *LWT-Food Sci Technol.* 42:924-928.
- Martín B, Corominas L, Garriga M y Aymerich T (2009). Identification and tracing of *Enterococcus* spp. by RAPD-PCR in traditional fermented sausages and meat environment. *J Appl Microbiol.* 106: 66-77.
- Ananou S, Garriga M, Jofré A, Aymerich T, Galvez A, Maqueda M, Martínez-Bueno M y Valdivia E (2010). Combined effect of enterocin AS-48 and high hydrostatic pressure to control food-borne pathogens inoculated in low acid-fermented sausages. *Meat Sci.* 84:594-600.
- Bover-Cid S, Belletti N, Garriga M y Aymerich T (2011). Model for *Listeria monocytogenes* inactivation on dry-cured ham by high hydrostatic pressure processing. *Food Microbiol.* 28:804-809.
- Martín B, Garriga M y Aymerich T (2011). Prevalence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* at small-scale Spanish factories producing traditional fermented sausages. *J Food Protect.* 74(5): 812-815.
- Jofré A, Aymerich T, Bover-Cid S y Garriga M (2010). Inactivation and recovery of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Staphylococcus aureus* after high hydrostatic pressure treatments up to 900 MPa. *Int Microbiol.* 13(3):105-112
- Hereu A, Bover-Cid S, Garriga M y Aymerich T (2011). High hydrostatic pressure and biopreservation of dry-cured ham to meet the Food Safety Objectives for *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol.* In press. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.027.

Grupo de investigación en Seguridad Alimentaria y Microbiología de los Alimentos

Área de Nutrición y Bromatología. Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Campus Universitario. Universidad de León. E-mail: mlgarl@unileon.es

El grupo de investigación en Seguridad Alimentaria y Microbiología de los Alimentos tiene una dilatada trayectoria de más de 35 años en el estudio y la caracterización de microorganismos de interés en alimentos. Está constituido por 5 profesores doctores (personal de la Universidad de León) y un número variable de personal investigador en formación (7 en el momento presente) bajo la dirección de la Doctora M^a Luisa García López. El grupo está ubicado en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León y por esta razón siempre tuvo una dedicación principal hacia la Microbiología de los Alimentos de origen animal.

Las primeras investigaciones desarrolladas se centraron en *Staphylococcus 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 *Listeria monocytogenes* o el grupo de *Aeromonas* móviles, abordando su detección y caracterización a partir de diferentes alimentos y nuevos métodos de análisis, basadas principalmente en las técnicas de biología molecular (PCR y Q-PCR, PFGE, DGGE).

En el momento presente, la actividad principal del grupo se enmarca en tres líneas de investigación: a) la evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos (identificación y control de bacterias patógenas tolerantes al frío, detección y control



Algunos de los componentes del grupo de investigación, con la doctora García López en segundo lugar a la derecha de la foto.

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; y c) la caracterización y tipificación de productos autóctonos.

Además de las actividades de investigación, el interés por las nuevas técnicas de análisis microbiológico de los alimentos ha impulsado la impartición de un curso de verano sobre este tema ("Técnicas rápidas y automatizadas en microbiología de los alimentos - TRAMA), que se desarrolló durante 7 ediciones (1997-2003) en la Universidad de León, con un notable éxito de público y ponentes.

El grupo cuenta con el reconocimiento de Grupo de Excelencia Investigadora de la Junta de Castilla y León (GR155) desde la primera convocatoria de este programa (Noviembre de 2007) y ha sido designado como una de las organizaciones nacionales competentes para asistir a la EFSA en su misión.

En los últimos 5 años se han venido desarrollando 6 proyectos de investigación financiados en convocatorias competitivas (CICYT, Plan Nacional, Programa Consolider-Ingenio y Junta de Castilla y León), se han defendido dos tesis doctorales, se están desarrollando otras 7 más y se han publicado 13 artículos en revistas de impacto y varios capítulos de libros.

A título individual, algunos de los miembros del grupo forman o han formado parte de reconocidos comités científicos (AESAN, Elika) y de sociedades nacionales (además de la SEM) e internacionales (ACTA/CL, SFAM, ASM, IFT, IAFP, SGM) y han realizado estancias de investigación en diversos laboratorios (Food Research Institute de la Universidad de Wisconsin-Madison, USA, Institute of Food Research del Reino Unido, Universidad Heriot-Watt de Edimburgo, Universidad de Cork, etc.).

PUBLICACIONES RECIENTES

De Garnica ML, Santos JA, Gonzalo C, 2011. Influence of storage and preservation on microbiological quality of silo ovine milk. *J Dairy Sci.* 94:1922-1927.

Pablos M, Huys G, Cnockaert M, Rodríguez-Calleja JM, Otero A, Santos JA, García-López ML, 2011. Identification and epidemiological relationships of *Aeromonas* isolates from patients with diarrhea, drinking water and foods. *Int J Food Microbiol.* 147:203-210.

Pablos M, Remacha MA, Rodríguez-Calleja JM, Santos JA, Otero A, García-López ML, 2010. Identity, virulence genes, and clonal relatedness of *Aeromonas* isolates from patients with diarrhea and drinking water. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 29:1163-1172.

Rodríguez-Calleja JM, Santos JA, Otero A, García-López ML, 2010. Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the shelf life of rabbit meat. *Cyta-J Food.* 8:109-116.

Martínez O, Rodríguez-Calleja JM, Santos JA, Otero A, García-López ML, 2009. Foodborne and Indicator Bacteria in Farmed Molluscan Shellfish before and after Depuration. *J Food Protection.* 72:1443-1449.

Pablos M, Rodríguez-Calleja JM, Santos JA, Otero A, García-López ML, 2009. Occurrence of motile *Aeromonas* in municipal drinking water and distribution of genes encoding virulence factors. *International J Food Microbiol.* 135:158-164.

Barrera O, Rodríguez-Calleja JM, Santos JA, Otero A, García-López ML, 2007. Effect of different storage conditions on *E. coli* O157:H7 and the indigenous bacterial microflora on lamb meat. *International J Food Microbiol.* 115:244-251.

González-Rodríguez N, Santos JA, Otero A, García-López ML, 2007. Cell-associated hemolytic activity in environmental strains of *Plesiomonas shigelloides* expressing cell-free, iron-influenced extracellular hemolysin. *J Food Protection.* 70:885-890.

Herrera FC, Santos JA, Otero A, García-López ML, 2006. Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackaged portions of marine fish in Spain. *J Appl Microbiol.* 100: 527-536.

Herrera FC, Santos JA, Otero A, García-López ML, 2006. Occurrence of *Plesiomonas shigelloides* in displayed portions of saltwater fish determined by a PCR assay based on the *hugA* gene. *Int J Food Microbiol.* 108:233-238.

Rodríguez-Calleja JM, García-López I, García-López ML, Santos JA, Otero A, 2006. Rabbit meat as a source of bacterial foodborne pathogens. *J Food Protection.* 69:1106-1112.

Rodríguez-Calleja JM, García-López I, Santos JA, Otero A, García-López ML, 2006. Molecular and phenotypic typing of *Staphylococcus aureus* isolates from rabbit meat. *Res Microbiol.* 157: 496-502.