

Grupo de Higiene y Seguridad Alimentaria de la Universidad de Extremadura

JUAN JOSÉ CÓRDOBA RAMOS, FÉLIX NÚÑEZ BREÑA, MAR RODRÍGUEZ JOVITA, M^ª 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

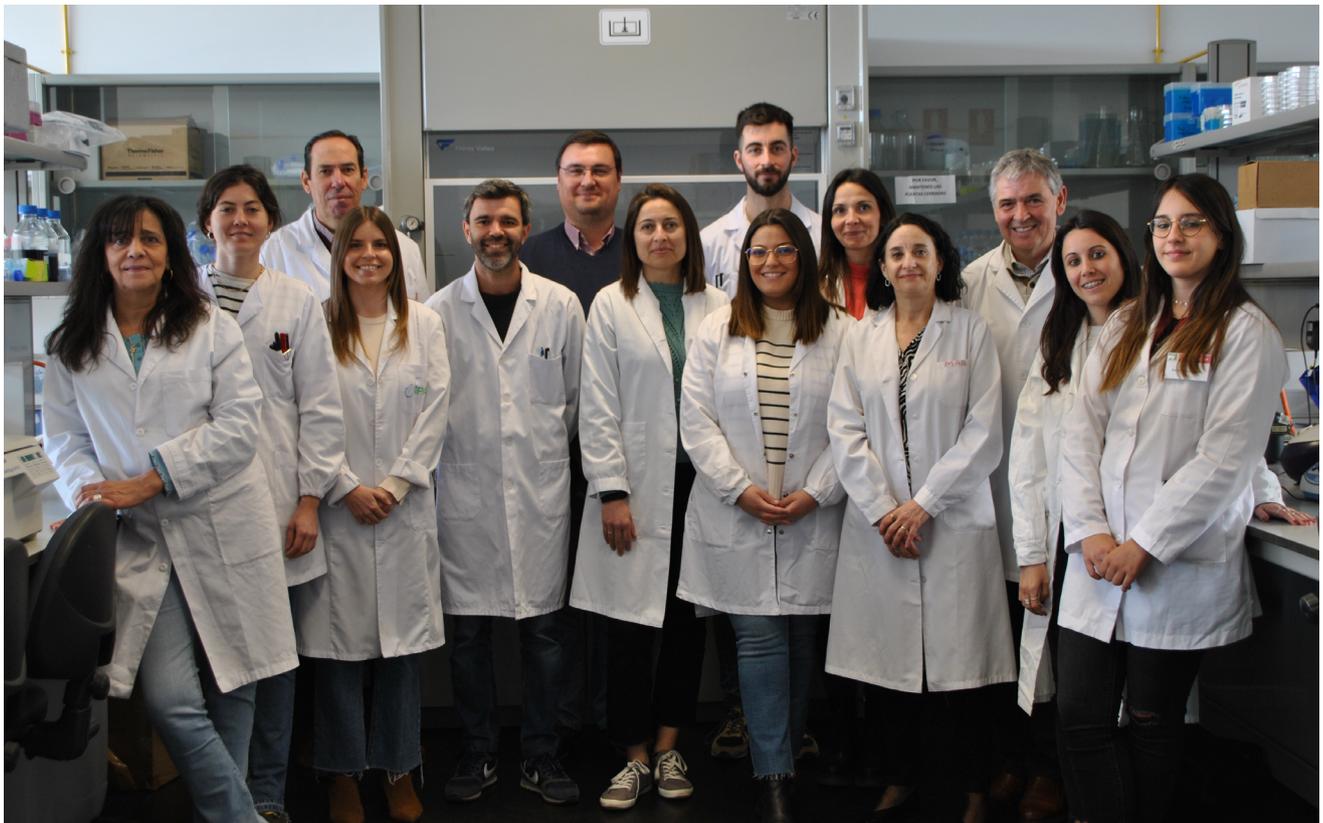


Foto de grupo.

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 *otapks* implicado en la producción de OTA o *afIP* 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 Rodrigues 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 ochratoxigenic *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>

.....