

MATERIAL DE REFERENCIA MICROBIOLÓGICO

Para facilitar el control de calidad en el laboratorio.

Fácil de usar, rápido, seguro, trazable y cuantitativo.

BAControl

MATERIAL DE REFERENCIA BACTERIOLÓGICO
CUANTITATIVO DE USO DIARIO

Cada pastilla contiene un número determinado de células viables y cultivables.

Es el material apropiado para la realización de controles de calidad rutinarios, como controles de proceso, creación de gráficos de control o controles de calidad de medios de cultivo.

CARACTERÍSTICAS

Homogéneo
Estable a largo plazo
Cuantitativo
Fácil conservación
Preparación sencilla

VENTAJAS

Fácil de usar
Rápido
Seguro
Trazable
Cómodo y práctico

Y SI LO QUE BUSCAS ES UN VALOR CERTIFICADO,

BACuanti

el material de referencia bacteriológico cuantitativo y certificado (cultivo, PCR y DNA).



C/ Dracma 16
Pol. Ind. Las Atalayas
03114 Alicante (España)

T. +34 966 10 55 01
F. +34 966 10 55 03

www.ielab.es
ielab@ielab.es



Microbiología de los alimentos

Presidente

Ricard Guerrero Moreno

Dpto. Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Avda. Diagonal, 645. 08028 Barcelona. rguerrero@iec.cat

Vice-Presidente

Francisco García del Portillo

Centro Nacional de Biotecnología. CSIC. C/Darwin, 3. Campus Universidad Autónoma. 28049 Madrid. fgportillo@cnb.csic.es

Secretario

Humberto Martín Brieva

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. 28040 Madrid. humberto@farm.ucm.es

Secretario electo

Juan Alfonso Ayala Serrano

Centro Biología Molecular Severo Ochoa. CSIC. C/ Nicolás Cabrera, 1. Campus Universidad Autónoma. 28049 Madrid. jayala@cbm.uam.es

Tesorera

Irma Marín Palma

Departamento de Biología Molecular Universidad Autónoma de Madrid Cantoblanco, 28049 Madrid. imarin@cbm.uam.es

Editores de publicaciones

INTERNATIONAL MICROBIOLOGY

Carlos Pedrós-Alió

Centre Mediterrani d'Investigacions Marines i Ambientals (CMIMA). CSIC. Passeig Marítim de la Barceloneta, 37-49. E-08003 Barcelona.

Actualidad SEM

Víctor Jiménez Cid

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. 28040 Madrid. vicjid@farm.ucm.es

NoticiaSEM:

Rafael Giraldo Suárez

Dpto. Microbiología Molecular Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC. C/Ramiro de Maeztu, 9. 28040 Madrid. rgiraldo@cib.csic.es

Directora de la Colección Española de Cultivos Tipo

Esperanza Garay Auban

Dpto. Microbiología y Ecología. Edificio de Investigación. C/ Doctor Moliner, 50. 46100 Burjassot (Valencia). esperanza.garay@uv.es

Responsable Cursos de Formación Continua on-line

Diego Alejandro Moreno Gómez

Dpto. de Ingeniería y Ciencia de los Materiales. ETS Ingenieros Industriales. Universidad Politécnica de Madrid. José Gutiérrez Abascal, 2. E-28006 Madrid.

Docencia y difusión de la Microbiología

Montserrat Llagostera Casas

Dpto. de Genética i de Microbiología. Universitat Autònoma de Barcelona. E-08193 Cerdanyola del Vallès (Barcelona). Montserrat.llagostera@uab.es

Vocales

Jordi Barbé García

Dpto. Genética y Microbiología. Facultad de Biociencias. Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra, 08290 - Barcelona. Jordi.Barbe@uab.cat

Jesús López Romalde

Dpto. Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. 15706 Santiago de Compostela. (A Coruña). mpromald@usc.es

Emilia Quesada Arroquia

Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Campus de Cartuja, 18071 Granada. equesada@ugr.es

Joaquín Moreno Casco

Dpto. Biología Aplicada. E.P.S. Universidad de Almería. 04120 La Cañada de San Urbano. Almería. jcasco@ual.es

Diego A. Moreno Gómez

Dpto. Ing. CC. Materiales. E.T.S. Ingenieros Industriales. UPM. C/ José Gutiérrez Abascal, 2. 28006 Madrid. diego.moreno@upm.es

David Rodríguez Lázaro

Grupo Tecnología y Seguridad Alimentaria. ITACyL. Carretera de Burgos, Km.119 47071 Valladolid. ita-rodrazda@itacyl.es

Presidentes de Grupos

Biodeterioro y Biodegradación

Asunción de los Ríos Murillo

Instituto de Recursos Naturales. Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC. Serrano 115 dpdo. 28006 Madrid. arios@ccma.csic.es

Hongos Filamentosos y Levaduras (Micología)

Amparo Querol Simón

Departamento de Biotecnología de los Alimentos Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. -46100 Burjassot, Valencia aquerol@iata.csic.es

Biología de Microorganismos Patógenos

Ángel Domínguez Olavarri

Departamento de Microbiología y Genética. Universidad de Salamanca. E-37007 Salamanca. ado@usal.es

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

Tomás González Villa

Dpto. Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. 15782 Santiago de Compostela. tomas.gonzalez@usc.es

Microbiología de los Alimentos

Francisco Javier Carballo García

Área de Tecnología de los Alimentos. Facultad de Ciencias de Ourense. Campus Universitario, s/n. Universidad de Vigo. 32004 Vigo. carbatec@uvigo.es

Microbiología Molecular

María Molina Martín

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza de Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid. molmifa@farm.ucm.es

Microbiología del Medio Acuático

Juan José Borrego García

Dpto. Microbiología. Facultad de Ciencias. Campus Universitario Teatinos. 29071 Málaga. jborrego@uma.es

Microbiología de Plantas

Antonio de Vicente Moreno

Dpto. de Microbiología. Facultad de Ciencias. IHSM-UMA-CSIC. Campus de Teatinos. Universidad de Málaga. 28071 Málaga. adevicente@uma.es

Protistología

Ana Martín-González

Dpto. Microbiología-III, Facultad de Biología. Universidad Complutense (UCM). C/ José Antonio Novais, 2. 28040 Madrid (Spain). anamarti@bio.ucm.es

Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad

Jorge Lalucat Jo

Dpto. Biología. Área de Microbiología. Universidad de les Illes Balears. Crta. Valldemosa, Km. 7,5. 07071 Palma de Mallorca. jlalucat@uib.es

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

Director: **Victor Jiménez Cid**. E-mail: vicjid@farm.ucm.es
Departamento de Microbiología II. Facultad de Farmacia. Plaza de Ramón y Cajal, s/n. Universidad Complutense. 28040 Madrid.

Editor del Especial Microbiología de los Alimentos: **Francisco Javier Carballo García**. E-mail: carbatec@uvigo.es
Webmaster de la SEM: **Jordi Urmeneta Masó**. E-mail: jurmeneta@ub.edu
Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Avda. Diagonal, 645. E-08028 Barcelona.

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

ISSN: 1888-5500
Depósito Legal: 36180-1986

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

www.semicrobiologia.org/sec/ActualidadSEM.php

Bruno González-Zorn: semblanza

Fernando Baquero

Director Científico del Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria

Este año el Premio Jaime Ferrán de la Sociedad Española de Microbiología ha sido concedido a Bruno González-Zorn. Es una noticia espléndida que los Premios que expresan reconocimiento científico se otorguen a investigadores jóvenes como Bruno. Por supuesto, los Premios son sobre todo una señal pública de localización de la excelencia con el propósito de proponer una trayectoria ejemplar, esto es, digna de ser imitada. Este ejercicio de ejemplaridad se dirige sobre todo a los investigadores más jóvenes, aquellos que aún pueden elegir trayectorias y modelar sus propias aspiraciones y capacidades. Esta breve reseña pretende, más que volver a publicitar las indudables aportaciones científicas de Bruno González-Zorn, que pueden encontrarse con sólo pulsar un par de teclas en las bases bibliográficas, el señalar tres de sus actitudes personales dominantes, que sin duda están en la base generativa de su éxito como microbiólogo.

Bruno es ambicioso. La ambición es una cualidad, o, mejor, una calidad, con poca estimación pública en nuestro mundo modelado por el culto a la mediocridad, y por eso quisiera defenderla en este momento. La ambición es de hecho una especie de "hambripción", hambre de saber, de hacer progresar, de arrastrar a otros a tu propio camino, de conseguir, de competir. La ambición tiene sin embargo, para no convertirse en una actitud ridícula y miserable, que ser proporcional a las capacidades personales. Los imbéciles ambiciosos se sitúan ellos mismos en los más horribles de los círculos infernales, porque tarde o temprano se darán cuenta de su propia estupidez. No es en absoluto el caso de Bruno.

Bruno es un líder. La capacidad de construcción de grupos es en nuestros días una condición del éxito científico. No es una tarea fácil, porque hay que conjugar la excelencia personal frente a los demás (y nadie te juzga mas severamente que los más cercanos) y la humildad para poder expresar nuestra absoluta necesidad de los que nos rodean, no sólo para ejecutar proyectos, sino para plantear sus propias iniciativas y desarrollar sus propias legítimas ambiciones, aunque puedan ocasionalmente competir aparentemente con las del líder. Sin duda este proceso se



facilita enormemente si se crea un marco paralelo de interacción entre los componentes del grupo, estableciendo relaciones de amistad y afecto. Bruno lo ha hecho, y por eso es un líder.

Bruno es inocente y apasionado. La investigación científica requiere inocencia y pasión. Temblar, casi físicamente, ante una nueva idea, o frente a una observación inesperada y clarificadora, al calor entrañable de la estufa de cultivo recién abierta. Poseer la inocencia de creer que podemos saber, hacer, enfrentarnos a la oscuridad con nuestra inteligencia y nuestra experiencia. Y sobre todo sentir la pulsión interna de que nada ni nadie conseguirá apartarnos de investigar ese hecho nuevo; si no hay dinero, habrá que conseguirlo, en España o en el mundo; si no hay aparatos, hablaremos con amigos que nos los dejen, si no hay personal, lo haré yo mismo. Eso es la pasión de investigar, y Bruno la tiene.

Conozco a Bruno hace muchísimos años, y lo que digo es cierto y publicable. Sin duda necesitamos en España mucha gente como él. Esto es lo que el Premio Jaime Ferrán nos está diciendo, y lo que yo quiero decir hoy.



Visite la página web de la SEM:
www.semicrobiologia.org
Encontrará información actualizada sobre congresos, reuniones, cursos y becas

Socios protectores de la SEM:
Francisco Soria Melguizo, S.A.

Fundación Medina

VIAJES El Corte Inglés

Para solicitar más información, inscripciones o publicidad, diríjase a la Secretaría de la

Sociedad Española de Microbiología

Vitruvio, 8 - 28006 Madrid
Tel.: 915 613 381
Fax: 915 613 299

secretaria.sem@semicrobiologia.org

Fotografía central. Selección de productos fermentados artesanalmente (embutidos, quesos, bebidas alcohólicas) en cuya elaboración son esenciales las bacterias del ácido láctico. Las placas y tubos que se muestran representan (de arriba abajo y de izquierda a derecha): efecto inhibitorio de *Lactobacillus plantarum* LI441, productor de plantaricina C (un lantibiótico) sobre listeria; aislamiento de bacterias lácticas (queso Afuega'l Pitu) en placa de medio agar láctico con púrpura de bromocresol para diferenciar las cepas fermentadoras de lactosa; placa de medio MRS con lactobacilos aislados de queso Gamoneu; actividad DNasa de diversas cepas de *L. plantarum*; viraje de medio líquido por producción de ácido; placas de lisis del fago A2 sobre *Lactobacillus casei*; demostración de actividad β -galactosidasa de una cepa de *Lactococcus lactis*. Autor Evaristo Suárez (Universidad de Oviedo).

Fotografía 1 (arriba, izquierda). Bacteriófago de morfología Myoviridae, aislado con *Escherichia coli* cepa WG5 a partir de agua residual. Autor Maite Muniesa (Universidad de Barcelona).

Fotografía 2 (arriba, derecha). Desarrollo de poblaciones de *Listeria innocua* a partir de células individualizadas en Tryptic soy agar a 30 °C. Imagen captada con Microscopio time-lapse (Olympus BX-UCB) durante el estudio de la variabilidad de los límites de crecimiento microbiano. Autores Juan A. Aguirre (Universidad Complutense de Madrid) y Kostas Koutsoumanis (Aristotle University of Thessaloniki, Greece).

Fotografía 3 (abajo, izquierda). Fotografía de *Listeria monocytogenes* serotipo 1/2a en Tryptic soy agar al 8.5% de cloruro sódico a 30 °C realizada con Microscopio time-lapse (Olympus BX-UCB) durante el estudio de los límites de crecimiento. Autores Juan A. Aguirre (Universidad Complutense de Madrid) y Kostas Koutsoumanis (Aristotle University of Thessaloniki, Greece).

Fotografía 4 (abajo, derecha). Bacteriófago de morfología Siphoviridae, aislado con *Staphylococcus aureus* a partir de agua residual. Autor Maite Muniesa (Universidad de Barcelona).

Despedida y cierre. Federico García Navarro 2
Más abiertos que nunca. Víctor J. Cid 2

Editorial: "Microbiología: no a los gérmenes, sí a los microbios" 3
Ricardo Guerrero

Informes de los grupos 4

Nuevos socios de la SEM 6

Tesis doctorales 7
Almudena Fernández Villadangos, Gonzalo Palomo, José Alfredo Guevara Franco, Raquel Moya Lobo

Socios que deberían actualizar datos 8

Premios
Un miembro de la SEM galardonado con el Premio Bergey 9
David Ruiz Arahal, Rafael Ruiz de la Haba

Cursos
15.ª edición del Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología. Universidad de Oviedo 11
Juan Evaristo Suárez Fernández

La ciliatología en la Universidad de Sevilla: Pasado y Presente 13
Eduardo Villalobo Polo

Congresos
Crónicas del XXIII Congreso Nacional de la SEM 15
Ángel Domínguez, Víctor J. Cid

Brote de Alemania causado por *Escherichia coli* enteroagregativa y enterohemorrágica O104:H4 Stx2a. Se pudo y se debió evitar la llamada crisis del pepino 17
Jorge Blanco

Especial «Microbiología de los alimentos»
El Grupo Especializado de Microbiología de los Alimentos 20
Francisco Javier Carballo García

Cultivos Lácteos Funcionales 22
Susana Delgado, Ana Belén Flórez, Ángel Alegría, Elena Rodríguez y Baltasar Mayo

LIBROS: MICOTOXINAS Y MICOTOXICOSIS 23
Coordinador: Dr. Antonio J. Ramos (Varios autores).

Transferencia genética horizontal en *Escherichia coli* patógenos 24
Maite Muniesa

Los hongos filamentosos: oportunidades y amenazas 26
Unidad de Micología Aplicada de la Universidad de Lleida

Enfoque multiestratégico para incrementar la seguridad alimentaria en productos cárnicos 28
Margarita Garriga, Teresa Aymerich, Sara Bover-Cid, Anna Jofré, Belén Martín, Nicoletta Belletti

Grupo de investigación en Seguridad Alimentaria y Microbiología de los Alimentos 29
Área de Nutrición y Bromatología. Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos

Grupo Probióticos, Prebióticos y Exopolisacáridos 31
Clara G. de los Reyes-Cavilán, Abelardo Margolles, Patricia Ruas-Madiedo, Miguel Gueimonde

Evaluación y control de microorganismos toxigénicos en productos cárnicos madurados 33
Miguel Ángel Asensio

Actividad del Grupo de Bacterias Lácticas de Oviedo 35
Juan Evaristo Suárez Fernández

Nuevas tecnologías de conservación e higienización de los alimentos 37
Santiago Condón

Grupo Fermentos Lácticos y Bioconservación (DairySafe) 39
Ana Rodríguez González, Beatriz Martínez Fernández y Pilar García Suárez

Desarrollo y evaluación de métodos de detección, caracterización y eliminación de microorganismos en la industria alimentaria 41
David Tomás, Amparo de Benito, Alejandro Rodrigo, Sonia Marco, Sonia Porta, Laura Verdú, Irene Llorca y Rafael Soro

Grupo de Tecnología de Alimentos de Origen Animal 43
Grupo 920276 de la UCM (equipos 1, 3 y 4)

Aplicación de nuevas tecnologías para la empresa alimentaria 45
Josep Yuste, Marta Capellas, Bibiana Juan

Seguridad, tecnología y calidad de alimentos 47
Margarita Medina y Antonia Picón



Despedida y cierre

Estimados socios de la SEM y lectores de *Actualidad SEM*, estas líneas son para despedirme de ustedes, tras 4 años como Director-Editor de esta revista, aunque en su día no me presentara. Simplemente quiero agradecer a varias personas que durante este tiempo me han ayudado en la confección de este boletín y han permitido que la revista llegara a sus manos de una manera atractiva.

En primer lugar, a la persona que me propuso, el anterior Director Prof. Rafael Rotger, que mantuvo viva esta revista durante muchos años. Él ha sido consejero en la cercanía durante los primeros momentos, en los que se toma el timón con un carné de patrón novel. En segundo lugar, a la Junta Directiva de la SEM, que nombra al Director, y que me ha apoyado durante estos años, incluso en momentos difíciles. En tercer lugar, a todos los autores que han tenido la deferencia de escribir para esta vuestra revista. En cuarto lugar, a Rafael y a Ana, de *Diseño y Control Gráfico*, la imprenta que durante tantos años ha hecho que la revista se imprimiera con la calidad y eficacia óptima. Por último, a mi familia, a la que no he dedicado el tiempo libre que he dedicado a maquetar y revisar artículos y contactar autores y editores.

El mérito de comenzar una serie en la que se detallan las actividades de nuestros Grupos Especializados no recuerdo de quién es. Lo que sí tengo claro es que el primero que acogió la idea fue Jesús Murillo, anterior presidente del Grupo de Microbiología de Plantas. Su amabilidad y ayuda han sido esenciales para que echara a andar esta serie de números. ¡Gracias, Jesús! Los siguientes números han sido tan extensos que, en ocasiones, ha habido que incrementar el número de páginas (espero que para deleite de los lectores) y los encargados de recopilar los artículos y convencer a los autores han trabajado enormemente. Quiero agradecer a Ana González, Aurelio Serrano, Juan José Borrego, Albert Bosch y Juan Iriberry su trabajo en los números especiales de *Protistología* y *Microbiología de Aguas*. Deberían haber aparecido de forma más patente todos ellos como Editores de dichos números. *Mea culpa*. Sirvan estas palabras como reconocimiento a este hecho.

En cualquier caso, y para finalizar esta perorata, sólo tengo palabras de agradecimiento para todos los colaboradores y personas que me han apoyado durante este periodo de mi vida, que me ha marcado profundamente, no solo por los amigos que he hecho si no por todo lo que he aprendido de lo diversa que es la SEM.

Muchas gracias, SEM. Suerte a Víctor y a la SEM.

Federico Navarro-García
exDirector-Editor de *Actualidad SEM*
Departamento de Microbiología II,
Facultad de Farmacia,
Universidad Complutense de Madrid



Más abiertos que nunca

El pasado mes de junio, el Prof. Federico Navarro me propuso cederme el relevo de la edición y coordinación de *Actualidad SEM*. Esta confianza es un honor que agradezco personalmente de manera sincera y a la vez una enorme responsabilidad, consciente del esfuerzo y la devoción que tanto Federico como su predecesor, el Prof. Rafael Rotger, han dedicado a esta publicación. Hágase extensivo este agradecimiento, por supuesto, a los miembros de la Junta Directiva de la SEM, quienes validaron una confianza que espero no defraudar. Sin embargo, quiero transmitir en estas líneas el mensaje de que *Actualidad SEM* no está realmente en mis manos, sino en las de todos vosotros, los socios de la SEM, desde el Presidente hasta ese último investigador predoctoral que se acaba de inscribir. Esta publicación no es otra cosa que vuestra voz, un vehículo para promocionar vuestra ciencia, para anunciar o reseñar vuestras actividades y también para opinar. Por desgracia, esto último es quizás lo más infrautilizado de *Actualidad SEM*, porque la opinión invita al debate y una publicación semestral no aporta suficiente dinamismo para dar réplica. Y mucho menos en la era del Facebook y el Twitter, en que el debate se retroalimenta en cuestión de minutos o segundos. No obstante, *Actualidad SEM* está abierta a artículos de opinión de esos que se redactan despacio y se leen saboreando las palabras, los que no esperan una réplica inmediata, sino proporcionar al lector un análisis libre y personal, pero a la vez serio y riguroso de temas de actualidad microbiológica siempre a través del prisma del experto. En pocas palabras, artículos de los del siglo pasado, de los que merece la pena sentir el tacto del papel para que el disfrute sea completo. Espero vuestras contribuciones y vuestras sugerencias para que *Actualidad SEM* sea una publicación a vuestra medida. También convoco desde aquí a los grupos para seguir trabajando en la iniciativa de los “números especiales”, como el presente dedicado a Microbiología de los Alimentos, coordinado y co-editado por el Prof. Javier Carballo, Presidente del Grupo. Federico llama “Despedida y Cierre” a sus líneas de agradecimiento para clausurar su etapa al frente de *Actualidad SEM*. Sin duda él siente que se cierra una etapa en su vida profesional, pero me gustaría convencerle con estas líneas de que el cierre no está echado. Al contrario. Gracias a su trabajo y al de todos los que habéis colaborado, seguidis colaborando y colaboraréis en la revista, estamos más abiertos que nunca.

Víctor J. Cid
Actualidad SEM

Microbiología: no a los gérmenes, sí a los microbios

Ricardo Guerrero
Presidente de la SEM

A caba de aparecer una obra que marcará un antes y un después dentro de la lexicografía médica en español. Se trata del *Diccionario de términos médicos*, de la Real Academia Nacional de Medicina (Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2012, ISBN 9788498351835). La obra comprende cerca de 52.000 entradas, que irán aumentando en sucesivas ediciones. Necesitamos algunas semanas para leer los principales términos relacionados con la microbiología, y más adelante pensamos hacer un amplio comentario en estas mismas páginas. Hasta ahora, contábamos con la gran ayuda que suponían las sucesivas ediciones del *Vocabulario Científico y Técnico*, de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (Madrid: Editorial Espasa, 3ª edición, 1996, ISBN 8423994074). Según el *Vocabulario*, hay dos conceptos que pueden confundirse y que, de hecho, todavía se confunden: *germen* (el *Vocabulario*, añade “patógeno”, aunque podría considerarse una redundancia, como “virus filtrable”) y *microorganismo*. Cuando leemos la definición de cada uno, la confusión, y el error, aumentan. Según el *Vocabulario*: germen patógeno es un “Organismo pequeño, p.ej., bacterias, hongos, virus, protozoos, rickettsias [sic], etc., productor de enfermedades” (pág. 484); en cambio, microorganismo es un “Organismo de tamaño microscópico. P. ej., bacterias, levaduras, virus, protozoos y determinados tipos de algas” (pág. 659). Está claro que la palabra “germen”, aplicada a todos los microorganismos, conduce a error. Esa fue la primera cuestión que se plantearon los traductores del libro *Historias de microbios*. El libro original, del cual se hablará más adelante, se llama en inglés *Germ Stories*. ¿Por qué este “cambio” de título?

Retrocedamos algo más de un siglo. Estamos en 1905, en Madrid. El entonces ya famoso Santiago Ramón y Cajal (1852-1934), quien ganará el año siguiente el Premio Nobel de Fisiología o Medicina, publica el libro *Cuentos de vacaciones* con el pseudónimo de Dr. Bacteria. En realidad, el libro original era más extenso y antiguo; lo había escrito veinte años antes, en 1885-1886, cuando Cajal empezaba su carrera científica. *Cuentos de vacaciones* contiene cinco de las doce “narracionesseudocientíficas” originales, relatos cortos que hoy denominaríamos “ciencia ficción” [Otis, L. *Int. Microbiol.* 4:175-178, 2001; www.im.microbios.org]. En estos cuentos, humildemente autodenominados “seudocientíficos”, el Dr. Bacteria incluye conceptos pioneros sobre microscopía, simbiosis, metabolismo, etc., que muchos años después se revelarían totalmente “científicos”.

La idea que tiene el ciudadano de los microorganismos, o microbios, suele ser negativa: son unos seres invisibles, arteros, sigilosos y nocivos que aprovechan cualquier ocasión para hacernos enfermar, incluso para matarnos. De los microbios se recuerdan las grandes plagas históricas, las pandemias actuales, las diarreas estivales y los vómitos que nos vinieron cuando ingerimos un alimento en mal estado. Pero los microbios también realizan el reciclado de los elementos, producen el oxígeno que respiramos, nos permiten digerir los alimentos y nos defien-

den de muchas enfermedades. Los microorganismos aportan a la biosfera muchos más beneficios que inconvenientes. Hace dos años, Roberto Kolter, que estuvo en nuestro congreso de Almería (2009) en su calidad de presidente de la ASM, escribió en el prólogo del libro de John L. Ingraham, *March of the Microbes*, mencionado en *Actualidad SEM*, núm. 49 (junio 2010), p. 3: “Cada rincón de la biosfera está repleto de microbios. Cuando miramos una playa idílica, sólo vemos grandes extensiones de blanca arena y agua azul. Pero cada grano de arena y cada gota de agua están henchidos de vida microbiana. Una vida tan rica y tan misteriosa que apenas comenzamos ahora a intuir la extensión de su diversidad. ¡Hay tanto que explorar en el mundo microbiano!”

Roberto Kolter es también quien aportó muchas de las fotografías de un interesante libro para niños, llamado *Germ Stories*. ¿Y cuál es la historia de esas stories? En 2007, Arthur Kornberg (1918-2007), también Premio Nobel de Fisiología o Medicina (en 1959, junto con Severo Ochoa), publicó un librito de versos sencillos, ricamente ilustrado, dedicado a los niños... y a los microbios. Su origen está en los relatos que, al principio de la década de 1950, el autor solía contar a sus hijos, Rog (Premio Nobel de Química en 2006), Tom y Ken, cuando se iban a la cama. La situación se repitió cuarenta años más tarde cuando, en la década de 1990, Kornberg (abuelo) “se vio obligado” a contar cuentos a sus ocho nietos. Inventó entonces una serie de versos instructivos e incluyó en los poemas el nombre de uno de los nietos, o el de alguno de sus primos. Esta colección de cuentos fue circulando entre amigos y familiares hasta que la editorial University Science Books lo publicó en 2007 [*NoticiaSEM* núm. 37, noviembre 2010, pp. 11-12].

En el mes de mayo pasado se publicó su traducción al español, que, como hemos visto, se llama *Cuentos de microbios* (Barcelona: Editorial Reverté, 2011, ISBN 9788429118476); el libro ha tenido una gran difusión e impacto, como lo muestra el hecho de que se está agotando la primera edición. Ya en la portada, vemos que el público hispanohablante lee “microbios”, y no “gérmenes” (que era el título original). La palabra germen es anticuada e induce a pensar sólo en los microorganismos patógenos, especialmente en los que atacan a los humanos. Debemos eliminarla de nuestro vocabulario habitual al dar clases o escribir y traducir libros, como debemos eliminar los “gérmenes” nocivos de nuestro ambiente por todos los medios de que dispongamos. Los “gérmenes patógenos” nos amenazan con el aumento de sus resistencias [*NoticiaSEM* núm. 37, noviembre 2010, pp. 9-10], que la ciencia microbiológica y la inteligencia humana pueden controlar y vencer. *Cuentos de microbios* es un libro especial, fruto del amor a la familia y a la microbiología (amor que compartimos) del autor y de dos generaciones de su familia. Es seguro que sus nietos continuarán la tradición y unos niños y niñas aún no nacidos rimirán palabras que escribió su bisabuelo. Es la continuidad ininterrumpida de la replicación del DNA, a cuyo conocimiento tanto contribuyó el propio Kornberg.

Grupo de Docencia y Difusión de la Microbiología

Presidenta: **Montserrat Llagostera**

El grupo D+D SEM cuenta con más de 150 miembros y con una Junta Directiva de once miembros, cuya composición podéis consultarla en la web de nuestro grupo (<http://www.semicrobiologia.org/ddm/index.php>). Las elecciones a la Junta Directiva se realizaron durante el mes de junio, mediante votación vía web con una participación del 50,6%.

Desde nuestra última reseña a Actualidad SEM, el hito más destacado de nuestro grupo ha sido nuestra participación en el XXIII Congreso Nacional de Microbiología ya que ha significado un gran empuje a D+D SEM. Brevemente os comento que el Simposio del grupo contó con una significativa asistencia y con un elevado número de intervenciones, lo cual muestra el interés que existe por los diferentes aspectos que se expusieron en las ponencias, así como la necesidad de intercambio de experiencias. Del mismo modo, la sesión de comunicaciones orales despertó un gran interés en la audiencia. En la sesión de pósteres se presentaron 26 trabajos, los cuales fueron muy visitados durante los tres días que estuvieron expuestos y fomentaron la discusión entre los participantes del congreso. Podéis acceder al contenido de los pósteres a través de nuestra web. El premio de nuestro grupo fue concedido a Alfonso V. Carrascosa y colaboradores por su trabajo "Microbiología y cultura científica para discapacitados intelectuales" y tuvimos el honor de que el segundo premio de la SEM recayera en un miembro de nuestro grupo, en concreto, Fernando Martínez-Checa y colaboradores por su trabajo en la cadena televisiva TG7 "La Vida de los Microbios en Paraninfo".

En la asamblea del grupo participaron 34 colegas y, además de constituirnos de forma oficial como grupo, se propusieron nuevas iniciativas para formar grupos de trabajo y se realizaron los primeros tanteos para organizar la I Reunión del Grupo que tendrá lugar el próximo año. Una de las iniciativas fue la creación de espacios Facebook y Twitter de la SEM a los cuales podéis acceder a través de nuestra web.

Desde Salamanca estamos trabajando en la dinamización de los grupos de

trabajo existentes y en la definición de los objetivos de los nuevos grupos de trabajo. Asimismo, hemos comenzado a revisar nuestra web para dar cabida de forma ordenada a todos los materiales y recursos que nos ceden nuestros socios y también para conseguir una mayor visualización de las actividades de los distintos grupos de trabajo. Esperamos que en breve todo ello sea ya una realidad. Asimismo, informamos que la I Reunión de Docencia y Difusión de la Microbiología que tendrá lugar los días 12 y 13 de julio de 2012 en el campus de la Universidad Complutense de Madrid. Para poder realizar este evento disponemos ya de un comité organizador formado por más de 15 de nuestros socios, los cuales, según me consta, están trabajando arduamente y con excelentes resultados. Os ruego que toméis nota de las fechas y os animo a participar, ya que esta primera reunión deberá significar la consolidación de este grupo.

Grupo de Microbiología Molecular

Presidenta: **María Molina**

En el XXIII Congreso Nacional de la SEM recientemente celebrado en Salamanca, el grupo de Microbiología Molecular organizó el simposio *Metagenómica, Metabólica y Marcadores Moleculares para el Microbioma Humano*, moderado por Juan Ayala y Alex Mira, que contó con unos excelentes ponentes y una numerosa audiencia. La participación de los miembros del grupo en el resto de actividades del congreso fue también relevante y de elevada calidad, tanto en la sección de pósteres, en la que se presentaron 62, como en la Mesa Redonda del grupo en la que se expusieron 6 comunicaciones orales. Cristina Vilellas mereció el Primer Premio de la SEM al mejor póster por su trabajo "Transcripción de las DNA topoisomerasas y estado del superenrollamiento del DNA en respuesta a relajación por novobiocina en *Streptococcus pneumoniae*" y Felipe Cava recibió el correspondiente Premio del grupo por el trabajo "D-amino Acids Governing Stationary Phase Cell Wall Re-Modeling in Bacteria". El Congreso se clausuró con una excelente conferencia impartida por otro de los miembros del grupo, nuestro Vicepresidente Bruno González-Zorn, galardonado con

el Premio Jaime Ferrán. Durante la reunión ordinaria del grupo se informó de que la próxima reunión científica del grupo, organizada por José Antonio Bengoechea, se celebrará los días 14, 15 y 16 de noviembre de 2012 en el Auditorium de Palma de Mallorca.

Grupo especializado de Protistología

Presidenta: **Ana M.ª Martín González**

Como en Congresos anteriores, el Grupo Especializado de Protistología de la SEM tuvo una interesante participación en el XXIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Microbiología, que tuvo lugar el pasado mes de julio, en la bonita ciudad de Salamanca. El incremento notable y la variedad de las comunicaciones presentadas, son el reflejo del desarrollo creciente de este campo en España. Conmemorando que el año 2010 fue declarado como año de la Biodiversidad por la ONU, ésta fue la temática global conductora de las ponencias incluidas en el Simposio de nuestro Grupo Especializado. Rosa Araujo, de la Facultat de Biología de la Universitat de Barcelona, nos habló de "Las amebas como huéspedes de microorganismos patógenos en el agua", tema de gran importancia sanitaria y tradicionalmente olvidado en los protocolos de Sanidad Ambiental. Genoveva F. Esteban, de la Queen Mary University de Londres, realizó interesantes reflexiones sobre el concepto de "Biodiversidad críptica" y su incidencia en los ecosistemas acuáticos. Eloy Bécarres, de la Universidad de León nos explicó detalladamente la "Biodiversidad de protistas en lagos y humedales mediterráneos" y sus diferencias en comparación con los sistemas leníticos europeos. Por último, Eduardo Villalobo, de la Universidad de Sevilla, se centró en algunos aspectos de la biodiversidad molecular y más concretamente en la "Biodiversidad de los sistemas de detección de codones de parada prematuros en protistas". Al Congreso, también se presentaron seis comunicaciones orales y veinte comunicaciones en panel. El premio a la mejor comunicación, lo obtuvo Liliana Cubas, de la Universidad Complutense de Madrid, con el trabajo titulado "La familia de las glutathionperoxidases (GPx) de *Tetrahymena ther-*

mophila: un análisis de los niveles de expresión bajo diferentes condiciones de estrés". Durante la reunión del Grupo Especializado, se acordó que la próxima reunión (2012) del mismo tendría lugar en A Coruña y sería organizado por la Dra. Angeles Cid.

Por último, me es muy grato anunciar que nuestro anterior Presidente, Aurelio Serrano, ha sido nombrado Secretario General de la Federación Europea de Sociedades de Protistología, durante el VI European Congress of Protistology, que tuvo lugar del 25 al 29 de julio en Berlín. El programa completo de este congreso, incluidos los resúmenes de todas las comunicaciones y ponencias, está disponible en la dirección www.ecop.2011.org. Aurelio Serrano, junto con algunos miembros del grupo especializado, se encargarán de la organización del VII European Congress of Protistology, que tendrá lugar en Sevilla, en 2015.

Grupo de Biodeterioro, Biodegradación y Biorremediación

Presidenta: **Asunción de los Ríos Murillo**

El Grupo ha organizado durante el XXIII Congreso Nacional de Microbiología, el miércoles 13 de Julio del 2011, un simposio de título "Nuevos avances en la degradación medioambiental" organizado por la Dra. C. Abrusci (UAM), que ha contado con financiación de la empresa Thor Especialidades, S.A. y las siguientes ponencias:

- Los líquidos iónicos como alternativa a los disolventes industriales: Posible impacto ambiental y tratamientos de eliminación (José Palomar, UAM).
- Las bacterias hidrocarbonoclasticas en la degradación de vertidos de petróleo en el mar (Fernando Rojo CNB-CSIC).
- Biodegradación de polímeros oxo-biodegradables. Empleo de aditivos pro-degradantes (Fernando Catalina, ICTP-CSIC).
- Tratamiento biológico de residuos generados en el proceso de obtención del aceite de oliva (Clementina Pozo,UG).

Durante el citado congreso se ha realizado la entrega del premio THOR

al mejor póster sobre Biodeterioro, Biodegradación y Biorremediación, a Fernando Morcillo de Amuedo de la Universidad de Granada, por el trabajo "Estudio de la sorción de metales pesados por la biomasa presente en un compost generado a partir de lodos de depuradoras". A. de los Ríos fue la encargada de dar el diploma acreditativo y los 300 euros del premio durante la conferencia de clausura. El premio SEM al mejor póster en el área de Biodeterioro, Biodegradación y Bioremediación de los 27 presentados fue concedido a M.J. López de la Universidad de Almería por el trabajo "Biodeterioro y biodegradación de nuevos materiales poliméricos verdes".

Grupo especializado Biología de Microorganismos Patógenos

Presidente: **Ángel Domínguez**

El grupo especializado de Biología de Microorganismos Patógenos celebró su reunión correspondiente. Se renovó parcialmente la junta directiva que quedó constituida por Ángel Domínguez, Presidente, Universidad de Salamanca; Miguel Viñas, Vicepresidente, Universidad de Barcelona; Elisa Muñoz Secretaria, Universidad de Salamanca; Vocales, Adela González de la Campa, Instituto de Salud Carlos III y José Pedro Martínez, Universidad de Valencia. Quedó pendiente el nombramiento de dos vocales más. Se decidió eliminar a la figura del tesorero debido a la eficiente labor de la Secretaría y Tesorería de la SEM. Hubo unanimidad sobre la conveniencia de potenciar el grupo y sobre la conveniencia de mejorar la página web.

Se decidió realizar la reunión anual del grupo en Badajoz, en el año 2012, aceptando el Profesor Germán Larriba encargarse de su organización. Las fechas previstas son 5 al 7 de Julio. La página web se está elaborando y próximamente se enviara su dirección.

Además el grupo organizará el SMYTE30 "Small Meeting on Yeast Transport and Energetics", congreso internacional que tendrá lugar en Salamanca del 11 al 14 de Julio de 2012. La página web aparecerá en antes del 30 de Noviembre.

Grupo especializado de Microbiología del Medio Acuático

Presidente: **Juan José Borrego García**

VIII Reunión del Grupo

Del 14 al 16 de Septiembre de 2010 se ha celebrado en Vigo con un total éxito la VIII Reunión Microbiología del Medio Acuático. La organización la realizó la Prof. Teresa Pérez Nieto con los miembros de su equipo, a los que quiero hacer constar el agradecimiento del Grupo Especializado.

El número de inscritos a la Reunión fue de 86, de los cuales casi el 45% fueron jóvenes investigadores. Se presentaron 57 comunicaciones orales, que como es costumbre en nuestra Reunión, fueron defendidas exclusivamente por los jóvenes investigadores.

La Conferencia inaugural fue realizada por la Prof. Dra. Debra Milton del Department of Molecular Biology, Umeå University, Suecia, titulada: "Mechanisms of Virulence and Quorum Sensing in *Vibrio anguillarum*".

Se realizó un segundo homenaje (previamente se le realizó en la VII Reunión celebrada en Bilbao en 2008) al Prof. D Francisco Ruiz Berraquero por su esfuerzo en la creación de este Grupo cuando ocupaba el cargo de Presidente de la SEM.

Se concedieron 7 premios a las mejores comunicaciones, consistentes en una beca que cubría los gastos de inscripción al congreso y un diploma acreditativo.

Así mismo, se reconoció el agradecimiento a las Entidades Colaboradoras del Grupo con un homenaje y un diploma acreditativo:

- EMASA
- EMASESA
- GAMASER (Aguas de Valencia)
- AGBAR (Aguas de Barcelona)
- IPROMA
- MILLIPORE IBERICA
- VWR INTERNATIONAL EUROLAB
- ASOCIACIÓN GRUPO BIOINDICACIÓN
- FRINSA

Por ultimo, se ha realizado un enlace donde se recoge fotográficamente los eventos de la Reunión: [http:// webs.uvigo.es/microbiologiamedioacuatico](http://webs.uvigo.es/microbiologiamedioacuatico).

Actualidad SEM

Otra noticia de interés es que en el número 50 de Actualidad SEM se ha publicado un monográfico dedicado a nuestro Grupo. Desde aquí quiero agradecer y manifestar el gran trabajo y dedicación del Dr. Federico Navarro, no solo por su labor en este número (en el que hemos trabajado en colaboración), sino a lo largo de su dirección de Actualidad SEM. Esperamos que próximamente, y debido al gran número de equipos de investigación de nuestro Grupo podamos tener la posibilidad de editar otro número monográfico.

Mesa Redonda Congreso Nacional

En el XXIII Congreso Nacional de Microbiología que se celebrará en Salamanca en Julio de 2011, el Grupo

organizará un Symposium, siendo las moderadoras las Dras. Elena Alcaide (Universidad de Valencia) y Rosa Pintó (Universidad de Barcelona). Contando con los siguientes ponentes y conferencias:

- Antonio Alcamí. CBM. Madrid. "Metagenomic analysis of the viral community from extreme ecosystems in Antarctica".
- José Agustín Guijarro. Universidad de Oviedo. "Yersinia ruckeri: tecnología de expresión *in vivo* como modelo para el estudio de genes asociados a la virulencia en bacterias patógenas de peces".
- Consuelo Esteve. Universidad de Valencia. "Distribución temporal, reservorios y supervivencia de *Edwardsiella tarda* en anguilas y agua del lago de l'Albufera de Valencia".
- Gary Toranzos. Universidad de Puerto Rico en Ríos Piedra. Puerto Rico.

"Ecología de indicadores alternos de contaminación de aguas recreacionales".

IX Reunión del Grupo 2012

La próxima IX Reunión del Grupo se celebrará en 2012 en Barcelona, siendo el Presidente del Comité Organizador el Dr. Albert Bosch. En breve podremos concretar las fechas y el lugar del evento.

Página web del Grupo

La Dra. M^a Carmen Macián y el Dr. David Arahal, ambos de la Universidad de Valencia, están haciendo una magnífica labor en la confección y actualización de la página web del Grupo. Por ello, quiero manifestar en la Asamblea mi más profunda gratitud por su desinteresado trabajo y esfuerzo.

Nuevos socios de la SEM

Altas del 14/4/2011 hasta 26/10/2011

- Antillés Silva, Noelia
- Arrebola Diez, Eva
- Bejarano Ramos, Ana
- Calvo de Pablo, Pilar
- Calzado Funes, Javier
- Carrilero Aguado, Laura
- Castanera Andrés, Raúl
- Cava Valenciano, Felipe
- Cortina Burgueño, Ángela
- Cubas Gaona, Liliana Lilibeth
- Domínguez Acuña, Lorena
- Esteban, Genoveva
- Fernández Álvarez, Andrea
- Flores Félix, José David
- Galotti, Andrea
- García Heredia, Inmaculada
- García Lozano, Tomás
- Gonzaga Moltó, Aitor
- Grande Burgos, María José
- Hernández Arranz, Noemi
- Lasserrot Cuadrado, Agustín
- Lavilla Lerma, Leire
- Lobato Márquez, Damián,
- López Aguayo, María del Carmen
- López Oreja, Ana María
- Marqués Martín, Silvia
- Martí Serrano, Elisabet
- Mayo Prieto, Sara
- Merlos Gil, Alexandra
- Montero Ordóñez, Ignacio
- Nacimiento Da Fonseca, Nuno Alexandre
- Nieto Gutiérrez, Joaquín José
- Olmo Rísquez, José Luis
- Padrós Sánchez, Carolina
- Pajuelo Gámez, David
- Pérez Lago, Estela
- Pilares Ortega, Lilian Olga
- Prado Lodeiro, Raquel
- Raho, Nicolás
- Ramos Vecino, Mariona
- Rioboo Blanco, Carmen
- Rubio Coque, Juan José
- Sánchez Contreras, María
- Soria Soria, Elena
- Valderrey Barreal, Andrea Diana
- Velasco Ayuso, Sergio
- Vidal Roig, M^a Dolors
- Villar Tajadur, María Antonia

Socios colaboradores de los Grupos Especializados de la SEM:

- **AGBAR, S.A.**
- **BIOETANOL GALICIA**
- **EMASA**
- **EMASESA**
- **Gamaser, S.L.**
- **Iberdrola, S.A.**
- **Instituto Tecnológico Agroalimentario**
- **Iproma, S.L.**
- **Laboratorio Municipal de Vigo**
- **Millipore Ibérica, S.A.**
- **THOR Especialidades, S.A.**
- **VWR International Eurolab, S.L.**
- **Asociación Grupo Bioindicación**

Implicación de las arsenito permeasas y arseniato reductasas de *Corynebacterium glutamicum* en los procesos biológicos de desintoxicación de arsénico

Almudena Fernández Villadangos

Directores: **Luís M. Mateos y José A. Gil**

Área de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad de León

El arsénico es un elemento de origen natural, íntimamente ligado a la actividad humana a lo largo de la historia y ampliamente distribuido en la naturaleza. Este hecho, unido a su elevada toxicidad lo convierte en un problema de salud de primer orden a nivel mundial.

La actinobacteria *Corynebacterium glutamicum* es un microorganismo saprófito que exhibe una elevada resistencia a arsénico en comparación con el resto de microorganismos analizados. El arsenito es incorporado en *C. glutamicum* por un sistema aún desconocido; el arseniato, al igual que ocurre en otros microorganismos, entra en las células a través de los sistemas de entrada de fosfato. *C. glutamicum* utiliza un sistema de desintoxicación de arsénico basado en la presencia de dos operones *ars* en su cromosoma que contienen genes para arsenito permeasas, arseniato reductasas y los reguladores transcripcionales.

C. glutamicum tiene tres genes que codifican para las arsenito permeasas: CgAcr3-1, CgAcr3-2 y CgAcr3-3. Mediante estudios *in vivo* se ha identificado que las proteínas CgAcr3-1 y CgAcr3-2 son funcionales con un grado de participación diferente, siendo CgAcr3-1 la permeasa más importante. Los estudios *in vitro* usando membranas invertidas junto con análisis *in vivo* han revelado que la proteína CgAcr3-1 está exclusivamente ligada al transporte de arsenito utilizando el motivo de fuerza protónica como mecanismo energético. La salida de arsenito va acompañada de una entrada de protones, es decir CgAcr3-1, actúa como una proteína antiportadora de arsenito y protones. Los análisis topológicos de la proteína CgAcr3-1 han mostrado que CgAcr3-1 tiene diez segmentos transmembrana y dos aminoácidos transmembranales (cisteína 129 y glutámico 305) implicados en el proceso de translocación de arsenito.

La reducción de arseniato citoplasmático en *C. glutamicum* es un proceso realizado principalmente por las arseniato reductasas CgArsC1 y CgArsC2 dependientes del sistema redox micotiol/micorredoxina 1. Otros dos genes que codifican para las enzimas arseniato reductasas CgArsC1' y CgArsC4 han sido identificados en el genoma de *C. glutamicum*. Análisis *in vivo* e *in vitro* han permitido estudiar y clasificar a la proteína CgArsC1' dentro de la familia de arseniato reductasas dependientes del par redox tiorredoxina/tiorredoxina reductasa. Sin embargo, no hemos podido demostrar la presencia de la proteína CgArsC4 en *C. glutamicum*; la sobreexpresión y purificación de CgArsC4 a partir de *Escherichia coli* tampoco ha permitido su acoplamiento

in vitro a ninguno de los sistemas redox presentes en *C. glutamicum* ni al sistema glutatión/glutarredoxina de *E. coli*.

Finalmente, como aplicación práctica de los resultados obtenidos se han utilizado diferentes mutantes afectados en los genes de resistencia a arsénico de *C. glutamicum* como bioacumuladores de arsenito y arseniato, con objeto de usar dichos mutantes en procesos de eliminación de arsénico de ambientes contaminados.

Resistencia a los antimicrobianos en cepas de *Salmonella enterica* de origen animal

Gonzalo Palomo

Directores: **Segundo Píriz Durán, Anselmo Perea Remujo y Alberto Quesada Molina**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Genética de la Universidad de Extremadura

La salmonelosis es la toxiinfección alimentaria de mayor relevancia para la salud pública en los países del Hemisferio Norte. Debido a su trascendencia clínica se han iniciado sendos planes de control de *Salmonella enterica* en Europa que, comenzando en avicultura, se espera pronto se extiendan a las explotaciones de porcino españolas. De manera paralela, las resistencias a los medicamentos se han convertido en uno de los principales retos sanitarios del siglo XXI. El conocimiento y control de este fenómeno en las enterobacterias, entre las que destacan las salmonelas, podría ser clave para atajar la preocupante pérdida de efectividad de los antimicrobianos.

Mediante la caracterización fenotípica y genotípica de los principales mecanismos de resistencia a los antimicrobianos de uso más extendido en medicina humana y veterinaria —especialmente a quinolonas y cefalosporinas— de bacterias aisladas de las más diversas especies animales de distintos regímenes de manejo se ha valorado la relevancia de las distintas serovariedades, fagotipos y estirpes de “*S. enterica*” estudiados para la generación y dispersión de las antibiorresistencias.

Las relaciones clonales (PFGE) entre las distintas cepas han confirmado el consabido contraste entre la gran diversidad genética de ciertas serovariedades como Typhimurium frente a la homogeneidad de otras como Enteritidis. Las primeras bacterias, asociadas mayormente al ganado porcino, se mostraron especialmente resistentes (CMI) a los antimicrobianos ensayados más antiguos entre los que se incluyen la ampicilina, la estreptomina, la tetraciclina y las sulfamidas que, junto al cloranfenicol, son indicadores de la presencia de elementos genéticos mobilizables como los muy prevalentes y diversos integrones de tipo 1. Dichos integrones, al igual que ciertos serotipos y fagotipos, se presentan asociados al ganado porcino, tanto blanco/intensivo como ibérico/extensivo, pero raramente encontramos semejanzas a estos niveles entre ambos troncos raciales o sistemas de producción. La fauna silvestre desempeña un im-

portante papel en la diseminación entre los distintos hospedadores tanto de estos como de otros mecanismos de resistencia típicos de las salmonelas.

La resistencia frente a las quinolonas se ha limitado básicamente a estirpes de origen avícola y a aquellas cepas de *S. Typhimurium* más multi-resistentes —no así las provenientes de porcino ibérico— que además mostraron cierta pérdida de sensibilidad a las cefalosporinas. Tanto en un caso como en otro se han detectado unos pocos mecanismos responsables en distinta medida de los niveles de antibiorresistencia. Tan sólo se han hallado, gracias a la PCR y posterior secuenciación, variantes alélicas asociadas indudablemente a la resistencia, tanto a ácido nalidíxico como a fluoroquinolonas, en las QRDR de *gyrA*: D87Y, S83F, D87N y, sobre todo, S83Y. Sin embargo, no se puede decir lo mismo de las únicas beta-lactamasas detectadas —más allá de la PSE codificada en un perfil de integración concreto—: TEM y OXA. Pues, aunque se observan relaciones estadísticamente significativas de ambas enzimas en cuanto a su influencia en la pérdida de sensibilidad a algunas cefalosporinas, la literatura consultada nos hace pensar que esta resistencia se pudiera deber a otros mecanismos subyacentes por lo que harían falta ensayos más concluyentes.

Evolución de la microbiota y de las características sensoriales de carne de ave expuesta a varios compuestos antimicrobianos bajo diferentes condiciones de aplicación. Utilidad de la prueba de la p-nitroanilina

José Alfredo Guevara Franco

Directores: **Carlos Alonso Calleja y Rosa Capita González.**
Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

A diferencia de lo que ocurre en otras áreas geográficas, los tratamientos descontaminantes o antimicrobianos de la carne no están autorizados en la Unión Europea. Ello ha sido en base al Principio de Precaución, por considerar las autoridades sanitarias que los datos disponibles son insuficientes para realizar una correcta evaluación científica de su efectividad y seguridad para el consumidor. Para obtener nuevos datos se ha realizado esta Tesis Doctoral, cuyos objetivos principales han sido determinar el grado de contaminación microbiana de la carne de pollo en el momento de su obtención en el matadero y durante el almacenamiento en refrigeración, así como evaluar el efecto de varios tratamientos químicos, aplicados a diferentes temperaturas, sobre los niveles de 10 grupos microbianos y sobre las características sensoriales de este alimento. Asimismo, se ha estudiado el efecto de la aplicación de “barreras múltiples” (envasado a vacío o en atmósferas modificadas y adición de aceite esencial de orégano) sobre ambos grupos de parámetros. Finalmente, se ha pretendido

conocer la utilidad de la prueba de la *p*-nitroanilina para evaluar la calidad (microbiológica y sensorial) y la vida útil de la carne de pollo.

La carne de pollo recién obtenida presentó un elevado grado de contaminación microbiana superficial. Además, a pesar del mantenimiento de las muestras en refrigeración se observaron, a partir del tercer día de almacenamiento, incrementos significativos en los recuentos de todos los grupos microbianos estudiados. Ambos hechos aconsejan la aplicación de tratamientos descontaminantes que permitan reducir la carga microbiana de este alimento y contribuyan así a mejorar su calidad higiénico-sanitaria. Los compuestos que ejercieron un mayor efecto antimicrobiano, prolongando en dos días la vida útil de la carne de pollo respecto a las muestras control (no tratadas), fueron el fosfato trisódico, el clorito sódico acidificado y el ácido cítrico, seguidos por los peroxiacidos. Los tratamientos con dióxido de cloro y con agua no permitieron reducir los recuentos microbianos en relación con las muestras control. La efectividad de los tratamientos estuvo relacionada con la temperatura de aplicación, por lo que este es un aspecto que debería ser tenido en cuenta al diseñar procedimientos de descontaminación. El tipo de tratamiento influyó no solo en los niveles, sino también en las sucesiones de microorganismos psicrotrofos presentes en la carne durante el almacenamiento. Es de destacar el hecho de que los tratamientos usados no afectaron negativamente a las características sensoriales del alimento, e incluso las mejoraron al cabo de varios días de almacenamiento.

En las condiciones ensayadas, el tratamiento combinado de envasado a vacío o en atmósferas modificadas junto con la adición de aceite esencial de orégano ejerció un escaso efecto antimicrobiano sobre los niveles de microorganismos patógenos y alterantes presentes en carne picada de pollo. Finalmente, se comprobó que la determinación de la actividad aminopeptidasa (prueba de la *p*-nitroanilina) es una prueba rápida (2,5 a 3 horas), exacta, sencilla y poco costosa económicamente, que permite la estimación de la calidad microbiológica y sensorial de la carne

de pollo sin envasar durante el almacenamiento en refrigeración.

Caracterización de la lacasa de *Streptomyces cyaneus* CECT 3335 y aproximación al estudio de su potencial oxidativo y función biológica

Raquel Moya Lobo

Directores: M^a Enriqueta Arias Fernández y Manuel Hernández Cutuli

Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad de Alcalá

Las lacasas son metaloproteínas con actividad L-fenoloxidasas que se incluyen en el grupo de las oxidasas multicobre. Catalizan la oxidación de un amplio rango de compuestos aromáticos en un proceso acoplado a la reducción del oxígeno molecular a agua. Su presencia ha sido descrita en plantas, hongos, insectos, bacterias y arqueas, habiendo sido implicadas en multitud de procesos biológicos diferentes. El hecho de que estas enzimas posean una gran versatilidad catalítica, potenciada por la participación de compuestos mediadores de oxidación, ha suscitado entre los investigadores un gran interés debido a su potencial aplicación en numerosas industrias tecnológicas así como en otros procesos de interés medioambiental.

En este trabajo se ha abordado el estudio del potencial oxidativo de la cepa *Streptomyces cyaneus* CECT 3335, productor de una lacasa denominada SclA, tanto a través de la puesta a punto de sistemas lacasa-mediador, como mediante la inducción de radicales hidroxilo a través de un ciclo redox de quinonas, considerado este último como un proceso microbiano de oxidación avanzada. Para este fin se eligieron como compuestos

modelo colorantes textiles de tipo azo. Ambas estrategias demostraron ser altamente eficaces en la degradación de los colorantes textiles. Además, el proceso microbiano de oxidación avanzada permitió la completa destoxificación de los colorantes seleccionados.

El interés biotecnológico y medioambiental suscitado por la lacasa SclA, nos condujo a su posterior caracterización molecular y sobreexpresión heteróloga. Una vez obtenida la secuencia del gen codificante para esta enzima, se realizó un análisis comparativo con otras lacasas mediante el empleo de diversas herramientas informáticas, lo que reveló la presencia de motivos característicos de las oxidasas multicobre, es decir, las cuatro regiones de unión al cobre y tres dominios de tipo cupredoxina. Además, la ausencia de un péptido señal en la secuencia, confirmó el carácter intracelular de esta enzima.

A continuación, el gen *sclA* se sobreexpresó de forma heteróloga en *Escherichia coli* utilizando un sistema de tipo pET. De esta forma se pudo disponer de una pequeña cantidad de la enzima recombinante en forma soluble, lo que permitió su posterior purificación y caracterización físico-química y cinética. Esta caracterización puso de manifiesto la estabilidad de la enzima en un amplio rango de pH y temperatura, destacando asimismo el incremento de afinidad por el sustrato ABTS respecto a la enzima nativa. Por otro lado, la enzima recombinante mostró capacidad oxidativa frente a compuestos de tipo no fenólico, a través de un mediador como la acetosiringona.

Por último, la obtención de un mutante no productor de lacasa (SclA-) mediante la técnica de disrupción génica, permitió abordar el estudio de la posible implicación de la lacasa en procesos de morfogénesis, en la pigmentación de esporas, en procesos de resistencia al cobre y en la degradación de la lignina. Los resultados obtenidos en este estudio, no revelaron diferencias significativas entre la cepa silvestre y mutante en ninguno de los ensayos realizados con este fin, lo que impidió atribuir de manera concluyente una función biológica a esta enzima en ninguno de los procesos estudiados.

Publicación de resúmenes de Tesis Doctorales

Actualidad SEM publica resúmenes de Tesis Doctorales realizadas o dirigidas por miembros de la SEM. Deben enviarse a la Secretaría de la SEM o al Director por correo electrónico, siguiendo el formato: *Título, Autor, Director(es), Centro de realización, Centro de presentación* (si es distinto) y *Resumen* (máximo, unas 500 palabras). El resumen que se envía a la base de datos Teseo es apropiado también.

Actualidad SEM 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.

Socios que deben actualizar datos

- Bordes Benítez, Ana
- Fernández Orts, Eva María
- Jorge Blanco, José Carmelo
- Lafarga Capuz, Bernardo
- López Ponce, Francisco José
- Rubio Vallejo, Manuel Francisco
- Sesma Bea, Begoña
- Yáñez Ruiz, David Rafael
- Vázquez Domínguez, Evaristo

Los datos correspondientes a cambios de dirección o de la domiciliación bancaria deben enviarse a la Secretaría de la SEM por correo electrónico, normal o fax (ver www.semicrobiologia.org).

Un miembro de la SEM galardonado con el Premio Bergey

David Ruiz Arahall

Departamento de Microbiología y Ecología, Universidad de Valencia (CECT)

Rafael Ruiz de la Haba

Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad de Sevilla.

La primera edición de un Manual Bergey (bajo el nombre *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*) fue publicada en 1923 por la Sociedad Americana de Bacteriólogos (actualmente la Sociedad Americana de Microbiología, ASM), siendo David H. Bergey el presidente del comité editorial. Más adelante, en 1936, estando en preparación la cuarta edición de dicho manual, se creó la Fundación del Manual Bergey (*Bergey's Manual Trust*), designándose a David H. Bergey, Robert S. Breed y Everitt G. D. Murray como socios fundadores y propietarios de los derechos del Manual. Esta organización sin ánimo de lucro tiene como objetivo fundamental la preparación, edición y publicación de las revisiones y sucesivas ediciones del Manual. Hasta 1994 la Fundación había publicado nueve ediciones del Manual de Determinativa, que se convirtió en un libro clave para el diagnóstico, la identificación y la clasificación de las especies bacterianas. Paralelamente, a finales de la década de los 70, se decidió ampliar la cobertura del Manual, de manera que incluyese una gran cantidad de información relativa a la sistemática, biología, cultivo y nomenclatura bacteriana. Esta expansión demandaba un título más descriptivo, y así surgió el Manual de Sistemática Bacteriana (*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*), cuya primera edición se publicó entre 1984 y 1989. Actualmente, y desde el año 2001, la Fundación está publicando la segunda edición del *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, y en la que las especies bacterianas se clasifican desde el punto de vista filogenético en base a la secuencia del gen 16S rRNA. Esta última edición se ha convertido en el libro de referencia más ampliamente utilizado a nivel internacional para el estudio taxonómico de arqueas y bacterias.

Además de la publicación de libros, la Fundación del Manual Bergey tiene como misión el promover y apoyar la investigación en taxonomía de bacterias. Una de las formas en las que lleva a cabo este objetivo es mediante el reconocimiento a aquellos científicos que han hecho con-



El Prof. Antonio Ventosa, tras recibir el prestigioso galardón en Pekín, durante el Congreso de la BISMis (*Bergey's International Society for Microbial Systematics*).

tribuciones destacadas al campo de la sistemática bacteriana. Con este fin, en 1978 se instituyó el Premio Bergey (*Bergey Award*), fruto del esfuerzo conjunto de la Fundación y de la editorial Williams & Wilkins (actualmente Springer-Verlag). Este premio se otorga anualmente y consiste en una gratificación económica junto con el pago de los gastos para asistir a un congreso a elección del galardonado en donde se le hará entrega del premio. El primer condecorado fue Roger Y. Stanier y, a lo largo de sus más de 30 años de existencia, el Premio Bergey ha recaído en científicos tan destacados como Otto Kandler o Carl R. Woese. A pesar del buen nivel de la taxonomía bacteriana en nuestro país ningún investigador español había recibido tal distinción. Afortunadamente esta tendencia se rompió el año 2010 cuando el Dr. Antonio Ventosa fue propuesto para este galardón.

Para muchos de nosotros Antonio Ventosa no necesita presentación. Es Doctor en Farmacia por la Universidad

de Granada y Farmacéutico Especialista en Microbiología y Parasitología. En 1996 obtuvo su plaza como Catedrático de Microbiología en la Universidad de Sevilla su lugar de trabajo desde 1982. Miembro de la SEM y de los grupos especializados de Taxonomía, Filogenia y Diversidad, Microbiología del Medio Acuático y Docencia y Difusión de la Microbiología, es Vocal de la Junta Directiva de nuestra Sociedad desde marzo de 2003 hasta la actualidad. Además, es Académico de la Academia Iberoamericana de Farmacia, miembro de la *American Academy of Microbiology*, Académico de Mérito de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Cádiz y Miembro de la *European Academy of Microbiology*. Pertenece al Comité Internacional de Sistemática de Procariotas (ICSP) y es presidente de los Subcomités de Taxonomía de *Halobacteriaceae* y *Halomonadaceae*. Ha recibido, entre otras menciones, el Premio Jaime Ferrán de la SEM en 1991 y el Premio FAMA de Investigación de la Universidad de Sevilla en 2008. Actualmente es Editor Asociado de la revista *Internacional Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* y miembro del Consejo Editorial de las revistas *Systematic and Applied Microbiology*, *Extremophiles*, *International Microbiology* y *Archaea*. Su interés científico se centra en la sistemática de procariotas y en el estudio de microorganismos extremófilos, especialmente arqueas y bacterias halófilas. Su investigación en ambientes hipersalinos ha contribuido enormemente al conocimiento de la diversidad microbiana de estos hábitats y a la descripción de más de 120 nuevos taxones, entre ellos la especie *Halomonas titanicae*, aislada a partir del casco del famoso barco e incluida en la lista de los diez nuevos seres más espectaculares identificados en el año 2010 del Instituto Internacional para la Exploración de Especies de la Universidad de Arizona (Estados Unidos).

Antonio Ventosa eligió para recibir su premio el primer congreso de la *Bergey's International Society for Microbial Systematics* (BISMIS), que tuvo lugar en Beijing (China) los días 19 a 23 del pasado mes de mayo. Sin duda una magnífica elección. En el congreso estuvieron presentes todos los miembros del *Bergey's Manual Trust*, y muchos otros prestigiosos taxónomos de procariotas. La conferencia inaugural, que corrió a cargo de Karl Barry Sharpless, Premio Nobel de Química en el año 2001, dio paso a la magnífica conferencia de Antonio titulada "*Halophilic microorganisms and hypersaline environments*". La audiencia disfrutó conociendo detalles de su trayectoria investigadora desde los trabajos iniciales en taxonomía numérica hasta los estudios metagenómicos más recientes. Al concluir, Michael Goodfellow, presidente del *Bergey's Manual Trust* se despedía como miembro de la Fundación con unas palabras muy emotivas y entregando a Antonio Ventosa el *Bergey Award* de 2010. A partir de ahí, llovieron las felici-

citaciones, los flashes de las cámaras de fotos y la búsqueda de momentos para hablar con el galardonado. Enhora buena, Antonio.

CIENTÍFICOS GALARDONADOS CON EL PREMIO BERGEY

Además del año de concesión se indica el país en que desarrollan o desarrollaron su carrera investigadora

1979 - Roger Y. Stanier	EEUU/Francia
1980 - John L. Johnson	EEUU
1981 - Morrison Rogosa	EEUU
1982 - Otto Kandler	Alemania
1983 - Carl R. Woese	EEUU
1984 - W. E. C. Moore	EEUU
1985 - Jozef De Ley	Bélgica
1986 - William H. Ewing	EEUU
1987 - Patrick A. D. Grimont	Francia
1988 - Lawrence G. Wayne	EEUU
1989 - Hubert A. Lechevalier	EEUU
1990 - M. David Collins	Reino Unido
1991 - Erko Stackebrandt	Alemania
1992 - Wolfgang Ludwig	Alemania
1993 - Wesley E. Kloos	EEUU
1994 - Friedrich Widdel	Alemania
1995 - Michael Goodfellow	Reino Unido
1996 - Karel Kersters	Bélgica
1997 - Rosmarie Rippka	Francia
1998 - Barry Holmes	Reino Unido
1999 - David A. Stahl	EEUU
2000 - William B. Whitman	EEUU
2001 - Lindsay I. Sly	Australia
2002 - Peter Vandamme	Bélgica
2003 - Peter Kämpfer	Alemania
2004 - Rudolf Amann	Alemania
2005 - Jean Paul Euzéby	Francia
2006 - David P. Labeda	EEUU
2007 - Jürgen Wiegel	Alemania/EEUU
2008 - Hans-Jürgen Busse	Austria
2010 - Antonio Ventosa	España

15.^a edición del Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología

Universidad de Oviedo, del 6 al 10 de junio de 2011

Juan Evaristo Suárez Fernández
Universidad de Oviedo



El grupo en la ría de Navia después haber dado buena cuenta a las viandas con que el Rector tuvo a bien proveernos.

¡Qué gozada!

Confieso que cuando la Montse, muy puesta en su papel de matrona jefa del recién nacido grupo de D + D SEM, me propuso organizar el curso, no tenía ningún interés, pero ahora ya se lo persuasiva que puede llegar a ser esa mujer. ¿O será que yo soy un tipo fácil?

La cosa mejoró cuando empezamos la selección de los profesores del curso; buscábamos titulares lechales, Ramones y Cajales (sí, de los dos) y gente así para asegurarnos de que aún recordaban el significado de la palabra poyata y de que, si hubieran de dar alguna práctica fuera del horario lectivo sobre fermentaciones de mostos, serían capaces de predicar con el ejemplo.

La selección fue bien aunque algo accidentada, ¿Qué diríais cuando alguna elegida, después de esperar por su

respuesta durante días te dice “nos fuimos de la base de Corea a acampar por unos días, después pasamos un par de días en el rompehielos chileno y de ahí fuimos a Punta Arenas en avión”?, pues imagino que lo que yo ¿de dónde saqué el mail de Lara Croft? Por aquello de la paridad, os contaré de otro que resulta que no contestaba porque estaba en el 1^{er} cursillo acelerado de cambio de pañales de la Rioja.

Al final miraba la lista (sí, esa que tenéis en la tabla) y me sentía del Bosque; si hasta creí que me estaba quedando calvo y que me salía bigote!

Lo de los chavales merece capítulo aparte; en primer lugar, tenemos que agradeceros vuestra labor de divulgación del curso, tuvimos 73 solicitudes para 20 plazas y un montón de ellas de chicos con expedientes dignos del yerno/nuera ideal. ¡Qué enrollados resultaron! Se fueron a tomar sidra y chipirones el primer día y, a partir de ahí, se

convirtieron en inseparables. ¡Pobrecicos! Menuda caña les metimos, me recordaban a Arnold Schwarzenegger cuando decía “si a la salida del gimnasio no te juras a ti mismo que no volverás nunca, es que no has trabajado bien”, ¡y los nuestros volvían!

Pero no penséis que estamos desprovistos de toda compasión ¡Un día los llevamos de excursión! (Véase el impresionante documento gráfico que acompaña a esta saga). Lástima que algunos, en el éxtasis del gozo, no vieran venir aquella ola...

¿Y qué diríais de mi Rector que puso las perras para el autobús y para los bollos preñaos, las empanadas y los pasteles con que alimentamos aquel día a la microbiota de ocupación?

Hablando de eso, fuimos a las fábricas de Danone y de Reny-Picot, ellos para recordar su infancia, vi más de una lágrima al paso de los ejércitos de danoninos, y yo para anticipar mi senectud con todos aquellos esteroides vegetales. ¿Me servirán para engañar al Cantoral y poder matricularme en el curso del año que viene?

Nombre	Título de la charla	Procedencia
Mira Obrador, Alejandro	La Microbiología en la Era Genómica	Centro Superior de Investigación en Salud Pública, Valencia
Juan E. Suárez	Las bacterias lácticas: tontas pero resultonas	Universidad de Oviedo
Susana Campoy Sánchez	El paradigma del sistema SOS a lo largo de la filogenia bacteriana	Universidad Autónoma de Barcelona
Elena González Toril	Diversidad microbiana en ambientes ácidos extremos	Centro de Astrobiología. Madrid
Cristina Sánchez-Porro	Los halófilos: ¡son más salados!	Universidad de Sevilla
J. Evaristo Suárez	A2, el bacteriófago tartamudo y sus congéneres	Universidad de Oviedo
Miriam Moscoso Naya	Factores de patogenicidad de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Centro de Investigaciones Biológicas. Madrid
Susana Delgado Palacio	La microbiota del cuerpo humano y el papel de los probióticos en la salud	Instituto de Productos Lácteos de Asturias. Villaviciosa
Rosario Gil García	Bacterias e insectos: historia evolutiva de una intensa vida en común	Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Universidad de Valencia
Manuel Espinosa Urgel	La relación mutualista entre microorganismos y plantas	Estación Experimental del Zaidín. Granada
Manuel Quirós	Usos aplicados de las levaduras	Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino. Logroño
Carlos Olano Álvarez	Moléculas bioactivas producidas por actinomicetos: Diversidad natural y a la carta	Universidad de Oviedo

Los sabios ordenados por orden de intervención, los temas tratados y los laboratorios de procedencia.

La ciliatología en la Universidad de Sevilla: Pasado y Presente

Eduardo Villalobo Polo

Departamento de Microbiología, Facultad de Biología. Universidad de Sevilla

evpolo@us.es



“Ciliatología” en blanco y negro: asistentes a la reunion anual del GPLF (*Groupement des Protistologues de Langue Française*) en 1980.

Gracias al catedrático de genética Enrique Cerdá Olmedo leí, no hace tanto, las palabras que escribió Alfred Whitehead (1861-1947): “A science which hesitates to forget its founders is lost”. Está claro que los científicos no son supersticiosos pero consideran esa frase profética, así que inicio aquí un recordatorio en voz alta sobre la historia, que me contaron, del grupo de ciliatología de la Universidad de Sevilla. Mi objetivo no es otro que hacer caso a Whitehead... no vaya a ser que se cumpla otra célebre frase, muy usada en los laboratorios, la ley de Murphy: “Anything that can go wrong, will go wrong”. Quizá algunas de las cosas que cuente no sean exactas, ya se sabe lo que ocurre con la transmisión oral de la cultura... “la batallita la cuenta cada uno como le viene bien”. Muchos investigadores no aparecen con nombre y apellidos, a todos mis disculpas de antemano.

La ciliatología en el Departamento de Microbiología de la Universidad de Sevilla, tal y como lo conocemos hoy en día, se remonta a la fundación de la Facultad de Biología en 1975. Allí nacieron, científicamente hablando claro, y se hacen un gran número de ciliatólogos. Se trata de gente rara, interesada por unos microorganismos eucariotas unicelulares no menos raros, pero fascinantes, a los que solemnemente llaman ciliados y familiarmente bichos. Por si alguien estuviera perdido o desmemoriado... los ciliados tienen, entre otras rarezas, dos núcleos estructural

y funcionalmente diferentes: el micronúcleo, dedicado al proceso sexual, y el macronúcleo, encargado de dirigir las tareas celulares habituales y donde el código genético no es siempre el universal, depende de la especie.

El catedrático y posterior profesor emérito, Julio Pérez Silva, llega de Madrid, donde era investigador del CSIC, trayendo consigo los bichos y un sorprendente descubrimiento publicado en 1965 en la revista *Nature* (1): los cromosomas politénicos no son exclusivos de las glándulas salivares de los dípteros pues los ha observado en ciliados. Pérez-Silva es, por tanto, el fundador del grupo. En Sevilla se rodea de un grupo de jóvenes investigadores, entre otros, Concepción Fedriani Iriso, José Arroyo López, Fernando Pérez Paniagua, Jesús Martín Sánchez, Joaquín Nieto Gutiérrez y Antonio Torres Rueda. Con ellos aborda aspectos importantes de la morfogénesis tanto nuclear como cortical de diversos grupos de ciliados.

En este grupo de jóvenes raros y revolucionarios, y no únicamente en el aspecto científico, hay un investigador aventajado, Antonio Torres, actualmente catedrático del Departamento de Microbiología y decano de la Facultad de Biología, que pronto comienza a liderar el grupo y a dirigir tesis doctorales. Entre todas esas tesis destacan las de Juan Carlos Gutiérrez Fernández, actualmente catedrático de la Universidad Complutense de Madrid en donde continúa investigando en ciliados, y la de Eduardo Villalobo



“Ciliatología” en color y formato digital: asistentes a la reunion anual del GPLF en 2008.

Polo, profesor en el Departamento de Microbiología de la Universidad de Sevilla, actualmente líder del grupo.

La etapa de Antonio Torres se caracteriza principalmente por conocer la importancia del citoesqueleto en procesos de desarrollo; para ello se rodea de varias investigadoras, Rosa M^a Ríos, Pilar Delgado, M^a Rosario Romero y Purificación Calvo, quien continua en el Departamento como profesora titular. Es una etapa bastante fructífera en publicaciones pero dos artículos publicados en la revista *Development* destacan por su relevancia. El primero, publicado en 1987 (2) en colaboración con el laboratorio dirigido por la Dra. Janine Beison (Francia), sobre el desarrollo cortical durante la división en *Paramecium tetraurelia*. El segundo, publicado en 1993 (3), sobre el desarrollo cortical durante la conjugación en *Paramecium tetraurelia*. En esta etapa, la colaboración con los ciliatólogos franceses, especialmente con el grupo del profesor André Adoutte fallecido prematuramente en 2002, se hace patente y supone un cambio gradual en el grupo; se incorporan las tecnologías del ADN recombinante y se utiliza el citoesqueleto no sólo para entender el desarrollo sino para comprender la evolución en ciliados. Desde entonces el sentido evolutivo de las investigaciones estará presente en el grupo. Sirvan como ejemplo las múltiples publicaciones del grupo en ese campo, de entre las cuales resalta la de 2003 en la revista *Current Biology* (4), en la que se describe que los codones UAR codifican en ciliados peritricos ácido glutámico, en vez de glutamina como lo hacen *Paramecium*, *Tetrahymena*, *Oxytricha*. A nadie se le escapa que esta contribución trasciende el ámbito de la ciliatología.

Desde 2007 el grupo lo lidera Eduardo Villalobo. Para no faltar a la verdad, Eduardo pisa por primera vez un laboratorio en Madrid, gracias a un científico del CSIC del mismo apellido, Antonio Villalobo. No hace su tesis doctoral en ciliados sino en la detección de patógenos en mayonesa, eso sí, bajo la dirección de Antonio Torres. Desde 2007 no sólo se cambia la cabeza visible del grupo sino también la temática; se abandona el citoesqueleto para dar relevancia al código genético. La razón del cambio de temática es hacer un grupo más atractivo tanto para los estudiantes, que deben ser el alma de la investigación, como para las administraciones y la empresa, que deben ser las principales fuentes de financiación. Todo se traduce, pues de código genético hablamos, en la transición del carácter eminentemente básico, investigar por el placer de saber, a la aplicabilidad. No obstante seguiremos disfrutando de la investigación... y de paso producir algún bien para la sociedad... en el futuro.

La actual línea de investigación del grupo se encuadra dentro de la biogénesis del ARNm, concretamente del sistema de control de calidad del mensajero encargado de detectar codones de parada prematuros (sistema NMD, del inglés *nonsense-mediated decay*). El objetivo es comprender cuál ha sido el papel del NMD en el proceso evolutivo que ocurrió para que un código genético canónico diera lugar a otro no canónico. Dicho de una forma simple, cómo el NMD de algunas especies de ciliados ha

tolerado la aparición de codones de terminación en la secuencia codificante de los genes, fenómeno conocido como *translational readthrough*. Y, ¿dónde está la aplicabilidad?

El sistema NMD en humanos está íntimamente relacionado con numerosas enfermedades, la más conocida la β -talasemia aunque muchas otras son raras, como la de Niemann-Pick. Muchas de estas enfermedades no tienen tratamiento aunque la severidad de los síntomas se alivia en parte con drogas que inducen el *translational readthrough*. Los problemas de estas drogas son su alta toxicidad y variabilidad en la eficacia. Es por tanto necesario explorar otras vías terapéuticas. Es posible que si llegamos a entender cómo se ha fijado en ciliados el *translational readthrough* conseguiremos una información valiosa para diseñar terapias en humanos. ¡Voilà la aplicabilidad!

Para finalizar, decir que el grupo ha sido siempre muy activo en la promoción de la ciliatología en España. Ya en 1980 asumí la organización de la reunión anual del GPLF (*Groupement des Protistologues de Langue Française*), véase la Figura 1 pues muchos os encontraréis en la foto. La experiencia se repitió una vez más en 2008, véase la Figura 2 pues muchos de los jóvenes de los 80 están también en esta última. Pero el grupo también ha sido muy activo en el periodo transcurrido entre una y otra Reunión. Por ejemplo, colaboré en la publicación del libro “Microbiología 1990” editado por Josep Casadesús Pursals y Francisco Ruiz Berraquero (Torres y Delgado, 1990) y promoví la fundación de lo que hoy conocemos como Grupo Especializado de Protistología, cuya primera reunión se celebró en Córdoba (gracias a Jesús Martín que organizó un encuentro inolvidable) y de la que salió elegido Antonio Torres como presidente. La intención de incluir una foto en blanco y negro, hecha con una cámara semiautomática, y otra en color, hecha con una cámara digital, trata de ser un metáfora del tremendo salto científico producido en España en los últimos 25 años y a los que formamos parte del Grupo Especializado de Protistología sirvan para reflexionar si la Protistología actual en España se parece más a una foto u otra. Así que no olvidemos al “profeta” Whitehead... por si Murphy anduviera cerca.

BIBLIOGRAFÍA

- Alonso P, Pérez-Silva J. (1965). Giant chromosomes in protozoa. *Nature* **205**: 313-314.
- Iftode F, Cohen J, Ruiz F, Torres Rueda A, Chen-Shan L, Adoutte A, Beison J. (1989). Development of surface pattern during division in *Paramecium*. I. Mapping of duplication and reorganization of cortical cytoskeletal structures in the wild type. *Development* **105**: 191-211.
- Romero MR, Torres A. (1993). Cortical Development Associated with Conjugation of *Paramecium*. *Development* **117**: 1099-1112.
- Sanchez Silva R, Villalobo E, Morin L, Torres A. (2003). A New Noncanonical Nuclear Genetic Code: Translation of UAA into Glutamate. *Current Biology* **13**: 442-447.
- Torres A, Delgado P. (1991). El Citoesqueleto de *Paramecium*. Microbiología 1990. Casadesús J y Ruiz-Berraquero F (Eds). Pag. 255-262.

Crónicas del XXIII Congreso Nacional de la SEM



El XXIII Congreso de la Sociedad Española de Microbiología se celebró en Salamanca del 11 al 14 de julio de 2011. Al Congreso asistieron más de 500 científicos procedentes de todos los ámbitos de la Microbiología del estado español y diversos participantes extranjeros. Se impartieron tres conferencias plenarias; la de apertura, por el profesor **Milton da Costa** (ex-presidente de FEMS), la de clausura, por **Bruno González-Zorn** (**premio Jaime Ferrán**), y una conferencia especial sobre el reciente brote de *Escherichia coli* O104, por **Jorge Blanco** (director del laboratorio de referencia para dicho microorganismo, ubicado en Lugo). Se realizaron 16 Simposios (incluyendo los organizados por cada grupo especializado) que abarcaron los temas más actuales de la Microbiología; p.ej.,

Metagenómica, metabolómica y marcadores moleculares para el microbioma humano, Biopelículas microbianas, Microorganismos y energía, etc. Como novedad, el grupo recién creado de **Docencia y Difusión de la Microbiología** abordó el problema de la impartición de las diferentes asignaturas de nuestra área en el contexto de Bolonia. Se reservaron 12 sesiones para la exposición de trabajos por investigadores jóvenes (72 charlas de 10 minutos cada una). Se expusieron 452 pósters durante todo el congreso y en las sesiones dedicadas a la presentación de los mismos tuvieron lugar fructíferas discusiones. Se realizaron contactos entre investigadores para el intercambio de estudiantes pre y postdoctorales (estancias cortas) y para la realización de proyectos conjuntos entre diferentes labo-

atorios. De cada sesión específica se seleccionaron uno o dos pósters para ser premiados. Además, se concedió el premio al mejor póster patrocinado por la Asociación Americana de Microbiología (ASM). Se celebraron las asambleas de los grupos especializados y la Asamblea General de la Sociedad. El aspecto lúdico incluyó un cóctel de apertura, un concierto, una bonita visita guiada a la ciudad y la cena de clausura. En resumen, se puede decir que el Congreso fue fructífero cien-

tíficamente y favoreció una interesante y agradable convivencia entre todos los asistentes.

Por último no quisiera dejar pasar esta ocasión sin agradecer de corazón, en mi nombre y el del comité organizador, toda la ayuda recibida que no voy a detallar, pero sí expresar un recuerdo maravilloso para todos aquellos participantes que soportasteis con infinita paciencia y amabilidad nuestras deficiencias. Gracias miles.

Ángel Domínguez

Presidente del Comité organizador del XXIII Congreso Nacional de Microbiología

¡No, no es un error! En lugar de bolígrafos hay dos piezas de embutido ibérico en la documentación del Congreso... Bienvenidos a Salamanca, el siempre encantador escenario de nuestra cita bienal en su vigésimo tercera edición. Nuestros anfitriones, el Prof. **Ángel Domínguez** y su equipo, asumieron la responsabilidad de cargar a sus espaldas con la organización de un Congreso Nacional en tiempos de crisis. Nos consta que Ángel puso el alma en la organización. No en vano, le notamos emocionado y liberado al pronunciar un *alea jacta est* como pistoletazo de salida en el mismo salón de la Universidad en que el propio Unamuno hiciese gala de su oratoria muchas décadas antes. La inauguración prosiguió con una conferencia de apertura a cargo del Prof. Milton da Costa sobre solutos compatibles en extremófilos impartida... ¡en portugués!, hecho inédito propuesto por nuestro Presidente, el Prof. **Ricardo Guerrero**, en aras de un hermanamiento hispanoluso y una Microbiología ibérica sin fronteras.

De toda la buena Ciencia que allí compartimos deja testimonio el libro de resúmenes, así como la nota de Ángel Domínguez que precede a esta líneas, de modo que nos quedaremos con ciertos “minutos de oro”. El primer momento que deseamos resaltar es el emotivo homenaje que nuestros compañeros del Grupo de Microbiología de los Alimentos rindieron en la sesión de “Estrategias en Seguridad Alimentaria” a nuestro querido y prematuramente fallecido compañero, el Prof. **Juan Ignacio Reguera**. Las muestras de cariño que su familia recogió de manos de sus compañeros dejaron una huella imborrable en todos los asistentes, una lección de humanidad que va mucho más allá de la experiencia y excelencia científicas.

Pero, sin duda, algunos de los grandes momentos para el recuerdo se concentran en las últimas dos horas del Con-

greso: la entrega del Premio Jaime Ferrán a nuestro polifacético compañero Bruno González-Zorn y del Premio de Honor de la SEM a la Fundación Ramón Areces. Bruno, antes de entrar en materia con la genética íntima de las bacterias de sus “cerditos”, aprovechó el inicio de su conferencia de clausura para revelarnos los resultados de su propia investigación sobre —ni más ni menos— **Jaime Ferrán**, rescatando del olvido datos biográficos y mostrando a la audiencia fotografías inéditas cedidas en exclusiva por la propia familia Ferrán. No le faltó tiempo para instarnos a participar en labores humanitarias, predicando con el ejemplo de su experiencia de cooperación en África.

Tras la brillante perspectiva histórico-científico-humanitaria ofrecida por Bruno, el emotivo broche para este Congreso fue la entrega del **Premio de Honor de la SEM**, de enorme carga simbólica. En nombre de la **Fundación Ramón Areces**, recogió el premio el Vicepresidente de su Consejo Científico, el Prof. **D. Julio Rodríguez Villanueva**, quien fue Rector de la Universidad de Salamanca en una época tan significativa como la transición (1972-1979), a la par que microbiólogo ilustre cuya estirpe perdura hasta el punto de ser el “padre” (como le llamó nuestro Presidente **Ricardo Guerrero**), “abuelo” o “bisabuelo” científico de muchos de nosotros. Este acto fue el justo reconocimiento de la SEM a la figura de D. Julio y a la de su esposa, la Dra. **Isabel García Acha**, que han resultado tan significativos para el desarrollo científico de nuestra disciplina en España. Como sabrán, el Premio de Honor SEM es creación escultórica del Prof. **Miguel Vicente**, quien participó personalmente en la ceremonia de entrega del premio, sumando si cabe aún más simbolismo y emotividad al evento. Una página memorable para la historia de la Microbiología en España. Gracias, Salamanca.

Víctor J. Cid
Actualidad SEM

Brote de Alemania causado por *Escherichia coli* enteroagregativa y enterohemorrágica O104:H4 Stx2a

Se pudo y se debió evitar la llamada crisis del pepino

Jorge Blanco

Catedrático de Microbiología
Director Laboratorio de Referencia de *E.coli* (LREC)
Departamento de Microbiología e Parasitología
Facultade de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela (USC)
Calle Carballo Calero s/n, 27002 LUGO, España
Teléfono: 982822108 E-mail: Jorge.blanco@usc.es

EL 26 DE JULIO DE 2011 EL INSTITUTO ROBERT KOCH DE BERLÍN

daba por finalizado el brote con más casos del síndrome urémico hemolítico (HUS) en el mundo, produciéndose 50 fallecimientos. A pesar de que Alemania tiene un sistema muy avanzado de control enfermedades infecciosas y varios laboratorios de referencia de *E.coli* de gran prestigio a nivel mundial, debido a una falta de coordinación y comunicación entre los estados federales y el central tardó demasiado en ponerse en evidencia el aumento significativo de casos graves de HUS, lo que facilitó la propagación del brote y retrasó la identificación del alimento implicado en el mismo. Pero también debemos reconocer que fueron los microbiólogos alemanes, contando con la colaboración de toda la comunidad científica internacional, quienes en cuestión de unas pocas semanas consiguieron caracterizar totalmente la cepa de *E.coli* causante del brote. Y todo este proceso retransmitido en directo a través de los medios de comunicación convencionales y especialmente por medio de las páginas web de los principales centros alemanes y europeos implicados: Instituto Robert Koch de Berlín, European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) y Eurosurveillance.



El profesor Blanco hubo de responder frecuentemente a la demanda mediática durante la “crisis del pepino”.

Una de las lecciones del brote es que la enorme plasticidad del genoma de *E. coli* conduce a la emergencia de cepas muy virulentas que además pueden ser multirresistentes. Están surgiendo nuevos clones que por primera vez compatibilizan un gran arsenal de genes de virulencia con los que codifican para la resistencia a antibióticos. Además, los alimentos pueden servir de vehículos de transmisión, lo que representa un enorme desafío en salud pública.

La cepa hipervirulenta causante del brote de Alemania es una cepa atípica por muchas razones: (a) se trata de una cepa que es a la vez enteroagregativa y productora de la toxina Shiga del subtipo Stx2a (STEAEC); b) pertenece a un serotipo (O104:H4) muy raramente aislado en humanos y nunca detectado en animales ni de alimentos; c) carece de la isla de patogenicidad LEE que lleva el gen *eae* que está presente en las cepas STEC altamente virulentas del serotipo O157:H7; d) y además se diferencia de la mayoría de las cepas de STEC, en que es multirresistente, siendo productora de la beta-lactamasa de espectro extendido CTX-M-15.

Se cree que es una cepa nueva probablemente de origen humano que se ha originado a partir de una cepa enteroagregativa (EAEC) del serotipo O104:H4, el grupo filogenético B1 y la secuencia tipo ST-678 con la fimbria AAF/I que ha adquirido un fago portador del gen *stx2a* a partir de una cepa STEC. A partir de otra cepa adquiriría el plásmido que codifica para el enzima CTX-M-15. Esto se ha deducido después de secuenciar e interpretar el genoma completo de la cepa en un tiempo record con las nuevas tecnologías.

Investigaciones epidemiológicas apoyan la hipótesis de que brotes obtenidos a partir de semillas de fenogreco importadas de Egipto fueron los responsables del brote de Alemania. El vehículo más habitual en brotes por STEC es la carne de vacuno que se consume sin calentar suficientemente, pero cada vez son más frecuentes los brotes causados

por vegetales, especialmente por ensaladas y brotes de diferentes semillas. Lo que es evidente es que las condiciones de producción de los brotes (humedad y temperatura), favorecen el crecimiento de los microorganismos. Se desconoce cómo ha podido llegar la bacteria a las semillas, pero se supone que puede haberse debido al uso de agua de riego contaminada con aguas residuales de origen humano.

El hecho de que el número de mujeres afectadas en Alemania sea mucho mayor de lo normal con respecto a previos brotes por STEC, donde los niños eran los más afectados, es debido seguramente a que las mujeres consumieron muchas más ensaladas con brotes que los niños, y no a que posean diferentes receptores a nivel intestinal como inicialmente se había sugerido.

Las autoridades alemanas con muy buen criterio insistieron muchísimo en extremar las medidas higiénicas ya que los contagios persona-persona vía fecal oral son mucho más frecuentes que en otros tipos de infecciones intestinales, debido a que la dosis infectiva de las cepas STEC es muy baja (tan solo 100 a 200 bacterias).

Aunque la cepa O104:H4 puede provocar patologías severas, como colitis hemorrágica y el HUS, en muchos casos únicamente provoca diarreas que remiten después de unos pocos días, siendo frecuentes los portadores asintomáticos. En este sentido, es muy importante el control de los manipuladores de alimentos.

Seguramente, los microbiólogos españoles se están planteando la necesidad de realizar la detección de la cepa O104:H4 y de otros tipos de cepas enterohemorrágicas altamente virulentas (como la O157:H7) en muestras clínicas y alimentos. Entiendo que los laboratorios de los hospitales, centros de salud pública e industrias alimentarias deberían prepararse para realizar este diagnóstico.

Inmediatamente que se conocieron las características de la cepa del brote varios centros (Instituto Robert Koch de Berlín, German National Consulting Laboratory for HUS of Münster University, European reference Laboratory for *E. coli* de Roma), desarrollaron métodos basados en PCR convencional y en tiempo real para su detección en muestras clínicas y alimentos. En el LREC-USC también desarrollamos una PCR convencional para detectar los genes que codifican los antígenos O104 y H4 que validamos internamente en menos de una semana con cepas pertenecientes a los antígenos O (O1 a O181) y H (H1 a H56) reconocidos, y que empleamos para demostrar la ausencia de la cepa STEAEC O104:H4 Stx2a en las muestras de pepinos producidos en Andalucía señalados erróneamente como sospechosos. Además, comprobamos que tenían una calidad higiénico-sanitaria excelente (menos de 10 ufc de *E. coli* por gramo).

Se cometió un grave error por parte de las autoridades alemanas al acusar precipitadamente a los pepinos españoles. Se basaban en que los resultados de las encuestas epidemio-

Micrografía electrónica de una célula de *E.coli*.



lógicas implicaban a tomates, pepinos y brotes, y en el hecho de haber aislado una cepa STEC de un pepino procedente de Andalucía del mercado de Hamburgo. Posteriormente se comprobaría que dicha cepa pertenecía a otro serotipo (O8:H19) y que era de baja virulencia. Con haber esperado tan solo 48 horas para saber si su serotipo y patrón de bandas por electroforesis en campos pulsantes (PFGE) era el mismo que el de la cepa O104:H4 responsable del brote, se podría haber evitado la falsa alarma que tantas consecuencias negativas supuso al sector de hortalizas en España. Llama la atención que la UE lanzó la alerta antes de que el Laboratorio de Referencia de *E. coli* para alimentos alemán (German National Reference Center for *E. coli*, Federal Institute for Risk Assessment, BfR, Berlin) determinase el serotipo de la cepa aislada de los pepinos españoles. Otra lección de este brote es que en el futuro este tipo de actuaciones precipitadas e injustificadas es evidente que no pueden volver a repetirse.

Como hasta la fecha se habían realizado muy pocos estudios sobre la presencia de cepas patógenas de *E. coli* en vegetales producidos en España, realizamos un amplio muestreo en hortalizas puestas a la venta en grandes superficies y pequeños establecimientos comerciales para saber cómo estaba la situación. Se procesaron 200 muestras (junio y julio 2011), resultando todas negativas para la cepa hipervirulenta del serotipo O104:H4 y únicamente una (0,5%) de verdura positiva para una cepa del serotipo O146:H21 (con los genes *stx1* y *stx2*) considerado de moderada virulencia. A pesar del caso positivo detectado la calidad higiénico sanitaria de las hortalizas resultó ser muy buena, ya que 195 (98%) de las muestras presentaron menos de 10 ufc de *E. coli* por gramo. No obstante, es evidente que debe seguir recomendándose que se laven bien los vegetales antes de su consumo en fresco. Algo que nos preocupaba mucho eran las ensaladas que vienen en bolsas listas para consumir sin lavar, pero afortunadamente las 41 muestreadas resultaron todas negativas.

AGRADECIMIENTOS

Las investigaciones realizadas en el LREC-USC están siendo subvencionadas por el FEDER, Xunta de Galicia, Fondo de Investigación Sanitaria, y por el Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España.

REFERENCIAS

- Mora A, Herrera A, López C, Dahbi G, Mamani R, Pita JM, et al. Characteristics of the Shiga-toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* O104:H4 German outbreak strain and STEC isolated in Spain. *Int Microbiol.* 2011; 14 (3) (in press).
- European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority. Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU/EEA, with special reference to the German outbreak strain STEC O104. Stockholm: ECDC; 2011. doi:10.2900/55055



El Grupo Especializado de Microbiología de los Alimentos

Francisco Javier Carballo García. Catedrático de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Vigo
Presidente del Grupo de Microbiología de los Alimentos de la SEM. E-mail: carbatec@uvigo.es

Desde los albores de la microbiología como ciencia, microbiología y alimentos han tenido una relación natural y permanente. Una buena parte de la historia de la microbiología es la historia de la lucha del hombre contra el deterioro de los alimentos por la acción microbiana y contra las enfermedades de transmisión alimentaria y sus agentes etiológicos, y del esclarecimiento de las condiciones en las que tenían lugar ciertas transformaciones deseables que se operaban en los alimentos y de sus causas.

En los contextos científico y social actuales, en general, y haciendo una concepción simplista, podríamos decir que son objeto de la Microbiología de los Alimentos:

1. El estudio de los microorganismos patógenos de transmisión alimentaria, sus mecanismos de patogenicidad, su ecología (condiciones de supervivencia y multiplicación en los alimentos, reservorios y portadores) y la prevención de las enfermedades derivadas de su presencia y multiplicación en los alimentos.
2. El control de la multiplicación microbiana (tanto de gérmenes patógenos como alterantes) en los alimentos a través del establecimiento de condiciones disgenéticas.
3. La destrucción de los microorganismos presentes en los alimentos con la finalidad de higienizarlos o de prolongar su vida útil. En este sentido, los modernos avances tecnológicos han puesto a disposición de la tecnología alimentaria otros medios de destrucción microbiana distintos a los tratamientos térmicos clásicos; tales son las radiaciones ionizantes, altas presiones hidrostáticas, ultrasonidos, pulsos eléctricos, pulsos de luz, campos magnéticos, etc. Corresponde a la Microbiología de los Alimentos investigar los mecanismos de la destrucción microbiana por estos agentes, los daños celulares causados por los mismos y la reparación de tales daños por parte de las propias células bacterianas.
4. Los usos “beneficiosos” de los microorganismos en los alimentos. El empleo de los microorganismos como cultivos iniciadores en alimentos fermentados/madurados, y como agentes probióticos. Supone, en este sentido, un reto presente y futuro de la Microbiología de los Alimentos la identificación de nuevos microorganismos y de sus potencialidades.
5. El empleo de microorganismos para la producción de ingredientes y aditivos de uso alimentario.

UN POCO DE HISTORIA DEL GRUPO Y DE SUS REUNIONES Y CONGRESOS

A partir del año 1971 se inician en la Sociedad Española de Microbiología distintos contactos e iniciativas que darían lugar sucesivamente a la formación de los primeros Grupos Especializados (Virus, Micología, Fitopatología, Microorganismos Patógenos e Inmunología, y Microbiología Industrial) en los años 1971-1973.

Los investigadores en el campo de la Microbiología de los Alimentos comenzaron sus primeros contactos en el año 1973 y, con la finalidad de constituirse en Grupo Especializado, propu-



sieron celebrar una reunión en León en 1974 que permitiese sentar las bases de un funcionamiento que facilitase una futura consolidación. Esta reunión, organizada por los profesores Justino Burgos González, Benito Moreno García, Santos Ovejero del Agua y Francisco Javier Sala Trepát (todos ellos a la sazón profesores de la Facultad de Veterinaria, dependiente por entonces de la Universidad de Oviedo), fue finalmente celebrada con el nombre de II Reunión Científica del Noroeste, con la temática de “Intoxicaciones y Toxiinfecciones Alimentarias de Origen Bacteriano”.

Tras distintos esfuerzos y trabajos, que incluyeron el nombramiento de una Junta Directiva, la I Reunión Científica del Grupo de Microbiología de los Alimentos se celebró en Madrid, en el año 1977, organizada por la profesora Doña Cándida González Jiménez y presidida por el profesor D. Bernabé Sanz Pérez. La II Reunión Científica del Grupo de Microbiología de los Alimentos tuvo lugar en Valencia, en el año 1980, organizada por el profesor D. Enrique Hernández Giménez. Desde entonces las Reuniones Científicas del Grupo de Microbiología de los Alimentos se sucedieron con regularidad, bianualmente: III Reunión (León, 1982), IV (Pamplona, 1984), V (Zaragoza, 1986, coincidiendo con el XII Simposio Internacional de Microbiología de los Alimentos), VI (Madrid, 1988), VII (Barcelona, 1990) y VIII (Cáceres, 1992). En el año 1994, con motivo de la IX Reunión celebrada en Lérida, se decide cambiar el nombre de “Reunión Científica de Microbiología de los Alimentos” por el de “Congreso de Microbiología de los Alimentos”, denominación que se ha mantenido en las siguientes ediciones: X (Valencia, 1996), XI (Pamplona, 1998), XII (Oviedo, 2000), XIII (Bilbao, 2002), XIV (Girona, 2004), XV (Ourense, 2006), XVI (Córdoba, 2008) y XVII (Valladolid, 2010).

El Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos es en la actualidad un evento absolutamente consolidado y de reconocido prestigio en el ámbito científico. En sus últimas ediciones ha contado con una media de alrededor de 250 inscritos y de en torno a las 150 Comunicaciones orales y en forma de póster presentadas. En su última edición, a los ya tradicionales premios al mejor póster y a la mejor comunicación oral, se han unido dos premios nuevos (el premio OXOID a la mejor Tesis Doctoral y el premio especial del Grupo al mejor joven investigador en materia de Microbiología de los Alimentos) que nos proponemos mantener en futuras ediciones.

En la última década, el Grupo ha organizado también de un modo ininterrumpido un Simposio con temática específica de Microbiología de los Alimentos en los Congresos de la Sociedad Española de Microbiología.

LOS PRESIDENTES

Fueron Presidentes del Grupo, sucesivamente, los Profesores Carmen Cándida González Jiménez (1977-1980), Bernabé Sanz Pérez (1980-1984), Benito Moreno García (1984-1992), Juan Antonio Ordóñez Pereda (1992-2000) y Miguel Ángel Asensio Pérez (2000-2008). A su dedicación, y a la eficacia de su labor y de la de los miembros de las Juntas Directivas que presidieron, debe el Grupo su expansión y consolidación, y la vitalidad y dinamismo que siempre ha mostrado y muestra en la actualidad.

EL GRUPO ACTUAL

El Grupo cuenta en la actualidad con un número de socios cercano a los 300. Aunque no faltan profesionales que ejercen su actividad en la empresa privada (consultorías, laboratorios de análisis, industrias alimentarias, etc.) y que aportan experiencias y puntos de vista siempre interesantes y enriquecedores, los socios se encuentran fundamentalmente integrados en Grupos de Investigación que desarrollan su actividad en las Universidades (Autónoma de Barcelona, de Barcelona, Burgos, Complutense de Madrid, Córdoba, Extremadura, Girona, Granada, Jaén, León, Lleida, Oviedo, País Vasco, Politécnica de Cartagena, Pública de Navarra, Ramón Llull, Salamanca, Valencia, Vigo, Zaragoza), Centros del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), Centro de Investigación y Desarrollo (CID), Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (IATA), Instituto de Fermentaciones Industriales (IFI), Instituto del Frío (IF), Instituto de la Grasa, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA)), Institutos de Investigación dependientes de la Administración Central y de las Comunidades Autónomas (Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (IRTA), Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA), Instituto de Salud Pública de Navarra, Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACYL)), Laboratorios de Salud Pública (Laboratorio Normativo de Salud Pública del Gobierno Vasco), Hospitales Universitarios (Hospital Universitario Ramón y Cajal), Fundaciones (Fundación AZTI), Centros Tecnológicos (AINIA, CNTA Laboratorio del Ebro) y Empresas de I+D (ZEU-Inmunotec).

Los Grupos de Investigación, que son el motor indudable de este Grupo Especializado, desarrollan una brillante y destacada actividad científica, con abundante financiación recabada en convocatorias competitivas nacionales e internacionales, y mantienen un vínculo constante de colaboración, asesoría y apoyo con la industria alimentaria. Mantienen también una estrecha relación con los Grupos internacionales más destacados en esta parcela del conocimiento, y sus trabajos aparecen regularmente en las mejores publicaciones científicas internacionales y son presentados en los más importantes eventos y reuniones científicas de celebración periódica.

A través del Grupo de Microbiología de los Alimentos, la Sociedad Española de Microbiología está representada de modo permanente en el ICFMH (International Committee on Food Microbiology and Hygiene) y son numerosos los socios del Grupo que, a título personal, integran comités, órganos consultivos, comisiones y grupos de trabajo, relacionados con la calidad y seguridad alimentaria, en las más importantes organizaciones nacionales e internacionales (AESAN, EFSA, OMS, etc.).

En el presente número especial de Actualidad SEM se recoge la descripción de la actividad de 14 Grupos de Investigación cuyos miembros se encuentran integrados en el Grupo Especializado de Microbiología de los Alimentos. La limitación del espacio disponible ha hecho que otros muchos Grupos, con trayectorias también relevantes y meritorias, no hayan podido participar; agradecemos sinceramente su comprensión.

NUESTRA GRATITUD

Vaya nuestro agradecimiento al Prof. Víctor Jiménez Cid, editor de Actualidad SEM, por su trabajo, dedicación y entusiasmo en la edición de este número especial de la revista. Al Prof. Ricardo Guerrero Moreno, presidente actual de la Sociedad Española de Microbiología, y a todos los antiguos Presidentes de la SEM, por haber mimado, fomentado y protegido todas las iniciativas y actividades del Grupo. A nuestras entidades colaboradoras, Laboratorio Municipal de Vigo y AINIA Centro Tecnológico de Paterna, por la ayuda incondicional que nos han prestado durante todos estos años. Finalmente, a todos los socios del Grupo Especializado de Microbiología de los Alimentos, a los que están y a los que nos dejaron pero viven en nuestra memoria, porque la historia y la labor de un colectivo no es más que la suma de las historias y de las labores de sus individualidades.

SEM
UCA
Universidad de Cádiz

XVI Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología

Cádiz, 10 - 14 de Abril de 2012

Más información en
www.uca.es/dpto/C125/XVI-curso-iniciacion-sem-2012/curso-sem-2012.pdf

Cádiz 2012

Interesados, enviar a jesusmanuel.cantoral@uca.es solicitud motivada, CV y carta de aval por un profesor antes del 29 de febrero de 2012.

Cádiz 1812

"En todos los pueblos se establecerán escuelas de primeras letras, en las que se enseñará a los niños a leer, escribir y contar, ...".
(Art. 366, Constitución de 1812)

Cultivos Lácteos Funcionales

Susana Delgado, Ana Belén Flórez, Ángel Alegría, Elena Rodríguez y Baltasar Mayo

Departamento de Microbiología y Bioquímica, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), CSIC, Carretera de Infiesto, s/n, 33300-Villaviciosa, Asturias

De forma histórica, nuestro grupo se ha centrado en la Microbiología de los productos lácteos tradicionales (en particular quesos) con una especial dedicación a la identificación, selección y caracterización de microorganismos tecnológicamente relevantes que puedan utilizarse como fermentos y/o como cultivos adjuntos, centrándonos principalmente en las bacterias ácido-lácticas (BAL). De manera más reciente hemos abierto una línea de trabajo en Microbiología gastrointestinal con el objetivo de identificar y seleccionar cepas de BAL y de bifidobacterias con utilidad probiótica.

MICROBIOLOGÍA DE QUESOS TRADICIONALES Y DISEÑO DE FERMENTOS

Las propiedades aromáticas y gustativas de los productos lácteos tradicionales dependen de una larga serie de factores entre los que podemos destacar la alimentación de los animales, las prácticas y tecnologías de elaboración y la composición cualitativa y cuantitativa de los microorganismos responsables de la acidificación y maduración. La composición, actividad y evolución de los distintos tipos microbianos juega también un papel crucial en el desarrollo de las cualidades higiénicas y de conservación de estos productos. Resulta, pues, esencial la identificación y caracterización de los microorganismos que participan en la elaboración de los productos artesanales para reproducir de manera controlada las fermentaciones tradicionales o para emprender otras nuevas (Alegría et al., 2010; Delgado y Mayo, 2004). Junto a las técnicas convencionales de cultivo, en los últimos años hemos implementado técnicas microbiológicas independientes de cultivo como la DGGE, la construcción y análisis de genotecas de secuencias conservadas y, últimamente, técnicas de secuenciación masiva como la pirosecuenciación. Las técnicas cultivoindependientes se consideran hoy indispensables para estudiar la diversidad microbiana de ecosistemas complejos, incluyendo los de las fermentaciones alimentarias.

En esta línea, el grupo ha trabajado en la caracterización y tipificación microbiana de diversos quesos tradicionales de Asturias y hemos colaborado en la tipificación de otros quesos extranjeros. Así, hemos llevado a cabo la tipificación del queso de Penamellera (Estepar et al., 1999), para el que propusimos una mezcla de cepas bien caracterizadas de *Lactococcus lactis* como fermento específico. De forma más reciente, abordamos una nueva caracterización microbiológica del queso de Cabrales (Flórez et al., 2006; Flórez y Mayo, 2006); uno de los productos estrella de los quesos tradicionales españoles. Como resultado del estudio propusimos una mezcla de cepas de *L. lactis* como fermento específico y seleccionamos dos cepas de *Penicillium roqueforti* con buenas aptitudes tecnológicas (Flórez et al., 2007). El fermento se ensayó ampliamente durante más de dos años en condiciones reales de elaboración y, en la actualidad, la mezcla bacteriana se ha licenciado a la empresa Bioges Starters SA que la produce a petición de los productores agrupados en torno al Consejo Regulador de la Denominación de Origen "Queso de Cabrales". En los últimos tiempos hemos estudiado también el queso Casín (Alegría et al., 2009), uno de los quesos tradicionales españoles más original. En el Casín apareció como población microbiana dominante la especie *Lactococcus garvieae*, la cual parece ser responsable de la acidificación (Fernández et al., 2010); durante la maduración,

las cepas de *L. garvieae* se ven reemplazadas por cepas de *L. lactis*. Entre otros hitos, destacamos la identificación y caracterización de una serie de cepas con genotipo *L. lactis* subsp. *cremoris*, escasas y muy apreciadas como fermentos, que se analizaron en comparación con cepas de la misma procedencia de genotipo *L. lactis* subsp. *lactis* (Fernández et al., 2011). Cepas de BAL de todas estas colecciones se han transferido de forma reciente a empresas de cultivos como Chr. Hansen, Biópolis SL, o Proquiga SA.

MICROBIOLOGÍA GASTROINTESTINAL Y SELECCIÓN DE PROBIÓTICOS

La microbiota normal del tracto gastrointestinal tiene un papel reconocido en preservar y mantener el estado de salud. Los objetivos de nuestros trabajos pretenden contribuir a la caracterización microbiológica de los distintos tramos de este ecosistema complejo y, al mismo tiempo, identificar y seleccionar cepas que puedan utilizarse como probióticos. En un primer momento trabajamos sobre la microbiología de heces y mucosa colónica y recientemente hemos terminado la caracterización microbiana del estómago. Al igual que en los quesos, en estos hábitats hemos utilizado también técnicas convencionales de cultivo y técnicas cultivoindependientes (Delgado et al., 2006). Uno de los logros más importantes de estos trabajos ha consistido en construir amplias colecciones de lactobacilos y bifidobacterias procedentes del intestino humano con gran potencialidad probiótica (Delgado et al., 2007; Delgado et al., 2008). Estas constituyen el material biológico del trabajo actual del grupo y se han cedido también a otros grupos del IPLA. Además, las colecciones constituyen uno de nuestros mejores activos para participar en proyectos transnacionales, como la participación que tuvimos en el proyecto europeo ACEART (CT506214) dedicado al estudio de resistencia a antibióticos en BAL y bifidobacterias. En el proyecto se detectaron diversas cepas con resistencias atípicas de las que analizamos sus bases moleculares (Flórez et al., 2006a; Flórez et al., 2006b)). Entre otras, se identificó una cepa de *Lactobacillus rhamnosus* con resistencia a eritromicina debida a una mutación puntual en el gen que codifica el ARNr 23S (Flórez et al., 2007); sus buenas propiedades probióticas, su fácil reconocimiento y la posibilidad de utilizarla para restaurar la microbiota intestinal tras el tratamiento prolongado con macrólidos, permitió su protección bajo patente (nº de publicación ES2328651). La patente de la cepa se ha licenciado de forma reciente a la empresa Biópolis SL. Otras cepas intestinales seleccionadas se han licenciado de forma más reciente a la empresa Bioges Starters SA.

En muchos casos, a la caracterización fenotípica y funcional le ha seguido una caracterización genética. Así, se han caracterizado plásmidos de BAL (Sánchez y Mayo, 2004) y bifidobacterias (Álvarez-Martín et al., 2008) para la posterior construcción de vectores de clonación y expresión para estos grupos bacterianos; vectores indispensables en los estudios moleculares y con vistas a su futura modificación genética.

PUBLICACIONES REPRESENTATIVAS DEL GRUPO

Alegría A, Álvarez-Martín P, Sacristán N, Fernández E, Delgado S y Mayo B (2009). Diversity and evolution of majority microbial populations during manufacturing and ripening of Casín, a Spanish traditional, starter-free cheese made of raw cow's milk. *Int J Food Microbiol.* 136:44-51.

Grupo de Cultivos Lácteos Funcionales. De izquierda a derecha, Ana Belén Flórez (Juan de la Cierva), Lara Rodríguez (Proyecto Fin de Máster), Estefanía González (Proyecto Fin de Máster), Alicia Noriega (auxiliar contratada), Susana Delgado (Juan de la Cierva), Ángel Alegría (doctorando), Anely Leite (doctoranda invitada, Universidad de Rio de Janeiro, Brasil), Baltasar Mayo (Investigador Científico CSIC), Luca Losurdo (doctorando invitado, Universidad de Bari, Italia).



- Alegría A, Rocés C, López B, Delgado S y Mayo B (2010). Bacteriocins produced by wild *Lactococcus lactis* strains isolated from starter-free cheeses made of raw milk. *Int J Food Microbiol* 143:61-66.
- Álvarez-Martín P, Flórez AB, Margolles A, del Solar G y Mayo B (2008). Improved cloning vectors for bifidobacteria based on the *Bifidobacterium catenulatum* pBC1 replicon. *Appl Environ Microbiol*. 74:465-466.
- Delgado S y Mayo B (2004). Phenotypic and genetic diversity of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus* spp. strains isolated from Northern Spain starter-free farmhouse cheeses. *Int J Food Microbiol*. 90:309-319.
- Delgado S, Suárez y Mayo B (2006). Identification of dominant bacteria in faeces and colonic mucosa from healthy Spanish adults by culturing and by 16S rDNA sequence analysis. *Digest Dis Sci*. 51:744-751.
- Delgado S, O'Sullivan E, Fitzgerald G y Mayo B (2007). Subtractive screening for probiotic properties of *Lactobacillus* species from the human gastrointestinal tract in the search for new probiotics. *J Food Sci*. 72:310-315.
- Delgado S, O'Sullivan E, Fitzgerald G y Mayo B (2008). In vitro evaluation of the probiotic properties of human intestinal *Bifidobacterium* species and selection of new probiotic candidates. *J Appl Microbiol*. 104:1119-1127.
- Estepar J, Sánchez MM, Alonso L y Mayo B (1999). Biochemical and microbiological characterization of artisanal "Peñamellera" cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *Int Dairy J* 9: 737-746.
- Fernández E, Alegría A, Delgado S y Mayo B (2010). Phenotypic, genetic and technological characterisation of *Lactococcus garvieae* strains isolated from a raw milk cheese. *Int Dairy J*. 20:142-148.
- Fernández E, Alegría A, Delgado S y Mayo B (2011). Comparative phenotypic and molecular genetic profiling of wild *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* strains of the *lactis* and *cremoris* genotypes isolated from starter-free cheeses made of raw milk. *Appl Environ Microbiol*. 77:5324-5335.
- Flórez AB, Álvarez-Martín P, López-Díaz TM y Mayo B (2006). Microbiological characterization of the traditional Spanish blue-veined Cabrales cheese: identification of dominant lactic acid bacteria. *Eur Food Res Technol*. 223:503-508.
- Flórez AB y Mayo B (2006). Microbial diversity and succession during the manufacture and ripening of traditional, Spanish, blue-veined Cabrales cheese, as determined by PCR-DGGE. *Int J Food Microbiol*. 110:165-171.
- Flórez AB, Ammor MS, Álvarez-Martín P, Margolles A y Mayo B (2006a). Molecular analysis of *tet(W)* gene-mediated tetracycline resistance in dominant intestinal *Bifidobacterium* species from healthy humans. *Appl Environ Microbiol*. 72:7377-7379.
- Flórez AB, Ammor MS, Delgado S y Mayo B (2006b). Molecular analysis of a chromosome-carried *erm(B)* gene and its flanking insertion points in *Lactobacillus johnsonii* G41. *Antimicrob Agents Chemother*. 50:4189-4190.
- Flórez AB, Álvarez-Martín P, López-Díaz TM y Mayo B (2007). Morphotypic and molecular identification of filamentous fungi from Spanish blue-veined Cabrales cheese and technological characterisation of *Penicillium roqueforti* and *Geotrichum candidum* strains. *Int Dairy J*. 17:350-357.
- Flórez AB, Álvarez-Martín P, Ladero V, Ammor MS, Álvarez MA y Mayo B (2007). Acquired macrolide resistance in *Lactobacillus rhamnosus* E41 associated with a transition mutation in the 23S rRNA gene. *Int J Antimicrob Agents*. 30:341-344.
- Sánchez S y Mayo B (2004). General and specialized vectors derived from pBM02, a new rolling circle replicating plasmid of *Lactococcus lactis*. *Plasmid*. 51:265-271.

Libros

Título: MICOTOXINAS Y MICOTOXICOSIS

Coordinador: Dr. Antonio J. Ramos (Varios autores).

486 Páginas, 18 capítulos 180 Ilustraciones (fotografías, dibujos, cuadros y tablas)

Tamaño: 24 x 17 cms.

AMV Ediciones, Madrid.

Año: 2011 (1ª Edición). ISBN: 9788496709706.

El libro aborda los principios básicos de la micotoxicología, describiendo no sólo los principales grupos de micotoxinas descubiertos hasta la fecha, sino también los principales mohos productores, su ecofisiología y los métodos de detección más habituales. Por otra parte, y de gran interés para las empresas productoras de alimentos, incluye información relevante sobre el sistema HACCP en relación con las micotoxinas, y hace un recorrido exhaustivo sobre el efecto tóxico, la denominada micotoxicosis, que este tipo de compuestos ejerce sobre los diferentes grupos de animales. Por último, esta obra hace una

detallada descripción de las normas legales que regulan la presencia de estos tóxicos en el mundo, centrándose especialmente en la Unión Europea, así como en los principales países productores de alimentos de Iberoamérica.

Micotoxinas y Micotoxicosis pretende ser una obra de utilidad para todos aquellos que quieran profundizar en este aspecto de la Seguridad Alimentaria, siendo útil tanto para los estudiantes universitarios como para los profesionales de la industria, los investigadores y docentes. El libro reúne las aportaciones de más de una treintena de científicos y docentes de seis países iberoamericanos diferentes, todos ellos miembros de una red internacional dedicada al estudio de las micotoxinas financiada por el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), y que lleva por título "Cooperación científica orientada a la búsqueda de estrategias de prevención y control de las micotoxicosis para mejorar las condiciones sanitarias en la producción pecuaria (Acción 109AC0371)".

Transferencia genética horizontal en *Escherichia coli* patógenas

Grupo MARS (Microbiología de aguas relacionada con la salud)

Maite Muniesa. Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona
Diagonal 6453 Anexo, planta o. 08028 Barcelona • Tel: 934039386; Fax: 934039047
(mmuniesa@ub.edu). <http://www.ub.edu/mars/>

El grupo que estudia la transferencia genética horizontal en *Escherichia coli* patógenas forma parte de un Grupo Consolidado de la Generalitat de Cataluña (MARS: Microbiología de aguas relacionada con la salud), que en los últimos años ha extendido el campo de su investigación a la Microbiología de los alimentos. En este grupo se iniciaron los estudios en transferencia horizontal mediada por bacteriófagos del gen de la toxina Shiga en *E. coli* con la tesis doctoral de Maite Muniesa (1998), y continúan en la actualidad.

E. coli productoras de toxina Shiga (STEC) son patógenos alimentarios emergentes que se transmiten principalmente por consumo de alimentos y agua contaminados, siendo el ganado bovino uno de los mayores reservorios de STEC. El serotipo de *E. coli* O157:H7 es el principal causante de infecciones en humanos, aunque otros serotipos, el O26, O103, O111, o más recientemente el O104:H4, también han demostrado ser altamente virulentos. La toxina Shiga (Stx) es uno de los principales factores de patogenicidad de STEC, aunque no el único, ya que las cepas patógenas de *E. coli* presentan una amplia batería de factores de virulencia con los que causan diversas patologías, desde diarreas acuosas, colitis hemorrágicas o complicaciones severas, como el síndrome urémico hemolítico (HUS).

Recientes secuenciaciones de genomas de diversas cepas de *E. coli* indican que una parte importante de su cromosoma son bacteriófagos. Los bacteriófagos aparecen como un importante mecanismo en la evolución de *E. coli* mediante transferencia horizontal de genes, incluidos genes relacionados con virulencia. El ejemplo más conocido es el de los genes de la Stx, insertos en el genoma de bacteriófagos atemperados del tipo lambda (fagos Stx) que lisogenizan las cepas de STEC.

Nuestro grupo de investigación ha enfocado sus estudios en el aislamiento de cepas STEC (Muniesa et al., 2011) y en el estudio de fagos Stx, sobre todo del medio ambiente (Imamovic et al. 2010a, 2010b, Imamovic and Muniesa, 2011; Muniesa et al., 2006a, 2011). Estos estudios han demostrado que los fagos Stx se encuentran presentes en el medio extraintestinal, tanto en forma de partículas víricas libres como dentro de un grupo de cepas productoras de Stx y que, bajo las condiciones adecuadas, pueden infectar e integrarse en cepas no productoras de Stx y convertirlas en productoras de toxina. Confirma esta afirmación la detección de fagos Stx infecciosos en alimentos aptos para el consumo (Imamovic and Muniesa, 2011) y la demostración de que la transducción del gen *stx* a cepas no patógenas puede suceder bajo ciertas condiciones dentro de matrices alimentarias (Imamovic et al. 2009). El trabajo del grupo en los últimos años incluye también la caracterización de diversos fagos *stx*, algunos de nueva descripción (García-Aljaro et al., 2006; 2009) y fagos-Stx de cepas causantes de brotes alimentarios en otros países (Sekse et al., 2008). Otros estudios del grupo con fagos Stx han evaluado los mecanismos de

inserción del genoma del fago en la bacteria receptora mediante la selección de loci preferentes (Serra-Moreno et al., 2006; 2007). Se ha observado además que puede existir más de un fago Stx idéntico coexistiendo en el cromosoma de la misma bacteria, contrariamente a lo que indica la teoría de inmunidad fágica descrita para el fago λ (Serra-Moreno et al. 2008). Cuando dos fagos Stx se encuentran una bacteria, se genera una interferencia, disminuye la inducción de ambos fagos, disminuye por tanto la producción de Stx y como consecuencia la cepa resulta menos virulenta. Nuestros estudios indican que los fagos intervienen en la producción de Stx, que sirven como reservorio del gen *stx* y que la movilidad de genes mediada por fagos puede ser un mecanismo de evolución bacteriana altamente complejo.

Recientemente, la investigación del grupo se ha extendido a fagos portadores de otros genes relacionados con la virulencia de *E. coli*. El genoma de *E. coli* presenta otros loci intercambiables a lo largo de todo el cromosoma y situados mayoritariamente dentro del genoma de profagos lambda. Este es el caso de ciertas proteínas efectoras de tipo III, el factor de inhibición del ciclo celular (Cif) o la toxina *cytolethal distending* (Cdt). Así, más allá de los estudios sobre fagos Stx, la transferencia de factores de virulencia en *E. coli* ha sido un tema de interés en el grupo. Se ha trabajado en la posible movilidad de la isla de patogenicidad LEE en *E. coli* O26 (Muniesa et al., 2006b). Más recientemente, hemos descrito y caracterizado un nuevo fago, portador de una variante de la *cytolethal distending toxin* (Cdt-V). Este estudio describe además la transferencia simultánea del gen *stx* y del gen *cdt* por dos fagos diferentes, generando una bacteria portadora de las dos toxinas (Allué-Guardia et al. 2011). En otra línea de investigación, se han detectado grandes cantidades de fagos portadores de genes de resistencia a antibióticos en muestras con contaminación fecal humana y animal (Colomer-Lluch 2011a, 2011b). Hemos detectado fagos que transportan genes de β -lactamasas (CTX-M y TEM) y fagos con el gen *mecA*, responsable de la resistencia a metacilina en *Staphylococcus aureus*. Los genes de β -lactamasas detectados en fagos son activos, y su transferencia genera resistencia a antibióticos β -lactámicos en *E. coli*.

La diversidad de formación y la experiencia de los componentes del grupo dentro de los diferentes ámbitos de la Microbiología, le confieren al equipo de investigación un carácter interdisciplinar, abarcando desde estudios de campo, métodos tradicionales, cultivo celular hasta técnicas moleculares, incluyendo estudios en Virología y Bacteriología. El grupo lo componen la Dra. Maite Muniesa, Lejla Imamovic, Anna Allué, Marta Colomer, Marta Gómez, Alexandre Martínez y Andreu García (Figura). Otros miembros del grupo MARS con aportaciones en este área son el Dr. Francisco Lucena (coordinador de MARS), el Dr. Joan Jofre, el Dr. Anicet Blanch y la Dra. Cristina García-Aljaro, así como sus respectivos colaboradores.

Miembros del grupo transferencia genética horizontal en *Escherichia coli* patógenas. De arriba abajo y de izquierda a derecha: Andreu García, Marta Colomer, Lejla Imamovic, Anna Allué, Maitte Muniesa, Alexandre Martínez y Marta Gómez.



REFERENCIAS DE LOS ÚLTIMOS CINCO AÑOS

- Allué-Guardia A, García-Aljaro C, Muniesa M (2011). Bacteriophage-encoding cytolethal distending toxin type-V gene induced from non-clinical *E. coli* isolates. *Infect Immun*. 79:3262-3272.
- Colomer-Lluch M, Jofre J, Muniesa M (2011a). Bacteriophages carrying antibiotic resistance genes in fecal wastes from cattle, pigs and poultry. *Antimicrob Agents Chemother*. 55:4908-4911.
- Colomer-Lluch M, Jofre J, Muniesa M (2011b). Antibiotic resistance genes in the bacteriophage DNA fraction of environmental samples. *PLoS One*. 6(3):e17549.
- Imamovic L, Muniesa M (2011). Quantification and evaluation of infectivity of shiga toxin-encoding bacteriophages in beef and salad. *Appl Environ Microbiol*. 77:3536-3540.
- Muniesa M, Imamovic L, Jofre J (2011). Bacteriophages and genetic mobilization in sewage and faecally polluted environments. *Microb Biotechnol*. In press.
- Imamovic L, Ballesté E, Jofre J, Muniesa M (2010a). Quantification of Shiga toxin-converting bacteriophages in wastewater and in fecal samples by real-time quantitative PCR. *Appl Environ Microbiol*. 76:5693-5701.
- Imamovic L, Serra-Moreno R, Jofre J, Muniesa M (2010b). Quantification of Shiga toxin 2-encoding bacteriophages, by real-time PCR and correlation with phage infectivity. *J Appl Microbiol*. 108:1105-1114.
- Imamovic L, Jofre J, Schmidt H, Serra-Moreno R, Muniesa M (2009). Phage-mediated Shiga toxin 2 gene transfer in food and water. *Appl Environ Microbiol*. 75:1764-1768.
- García-Aljaro C, Muniesa M, Jofre J, Blanch AR (2009). Genotypic and phenotypic diversity among induced, stx2-carrying bacteriophages from environmental *E. coli* strains. *Appl Environ Microbiol*. 75:329-336.
- Sekse C, Muniesa M, Wasteson Y. (2008). Conserved Stx2 phages from *E. coli* O103:H25 isolated from patients suffering from hemolytic uremic syndrome. *Foodborne Pathog Dis*. 5:801-810.
- Serra-Moreno R, Jofre J, Muniesa M. (2008). The CI repressors of Shiga toxin-converting prophages are involved in coinfection of *E. coli* strains, which causes a down regulation in the production of Shiga toxin 2. *J Bacteriol*. 190:4722-4735.
- Serra-Moreno R, Jofre J, Muniesa M (2007). Insertion site occupancy by stx2 bacteriophages depends on the locus availability of the host strain chromosome. *J Bacteriol*. 189:6645-6654.
- Muniesa M, Jofre J, García-Aljaro C, Blanch AR (2006a). Occurrence of *E. coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli* in the environment. *Environ Sci Technol*. 40:7141-7149.
- Serra-Moreno R, Acosta S, Hernalsteens JP, Jofre J, Muniesa M (2006). Use of the lambda Red recombinase system to produce recombinant prophages carrying antibiotic resistance genes. *BMC Mol Biol*. 7:31.
- Muniesa M, Schembri MA, Hauf N, Chakraborty T (2006b). Active genetic elements present in the locus of enterocyte effacement in *E. coli* O26 and their role in mobility. *Infect Immun*. 74:4190-4199.
- García-Aljaro C, Muniesa M, Jofre J, Blanch AR. (2006). Newly identified bacteriophages carrying the stx2g Shiga toxin gene isolated from *E. coli* strains in polluted waters. *FEMS Microbiol Lett*. 258:127-135.

D+D



SEM

Madrid

12-13 de julio de 2012

I Reunión de Docencia y Difusión de la Microbiología

El Grupo Especializado en Difusión y Docencia de la Microbiología (**D+D SEM**) anuncia su primera reunión a nivel nacional. Si eres un profesional de la enseñanza o un amante de la divulgación de nuestra ciencia, esta es tu cita.

Más información en www.ucm.es/info/mfar/ddm

Los hongos filamentosos: oportunidades y amenazas

Unidad de Micología Aplicada de la Universidad de Lleida

La Unidad de Micología Aplicada (UMA) de la Universidad de Lleida (UdL) está formada por los doctores Vicente Sanchis Almenar (Catedrático de Universidad), Antonio J. Ramos Girona (Catedrático de Universidad), Sonia Marín Sillué (Prof. Contratada Doctor), Mercè Torres Grifo y Nuria Sala Martí (Prof. Titulares de Universidad), investigadores adscritos al Departamento de Tecnología de Alimentos de la UdL y a la Red de Referencia en Tecnología de Alimentos (XaRTA) de la Generalitat de Catalunya. En la actualidad, forman parte también de la UMA una investigadora contratada doctor (Ana Crespo Sempere), una Técnico Auxiliar de Laboratorio (Montse Prim Latorre) y 5 becarios predoctorales.

La UMA lleva estudiando desde hace más de 30 años los mohos filamentosos, tanto desde un aspecto positivo, como biocatalizadores de reacciones bioquímicas de interés industrial como, principalmente, desde su vertiente más negativa, la de organismos productores del deterioro de los alimentos y de la síntesis de compuestos de carácter tóxico, las micotoxinas.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por mohos filamentosos cuya ingestión, inhalación o absorción cutánea puede llegar a producir diferentes enfermedades, o incluso llegar a causar la muerte, a personas y animales.

Aunque ya se han descubierto varios cientos de micotoxinas, si se considera el número de micotoxinas que se encuentran con cierta frecuencia en los alimentos, en cantidades que puedan suponer un riesgo para la salud, el número de compuestos de interés se reduce notablemente, y con ello el de las especies fúngicas potencialmente preocupantes, generalmente centradas en los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Fusarium*. En la actualidad, las micotoxinas sujetas a control legislativo a nivel internacional son las aflatoxinas, las fumonisinas, la ocratoxina A (OTA), la patulina, los tricotecenos y la zearalenona, toxinas en las que se centran los estudios desarrollados por la UMA.

En estos momentos la UMA está llevando a cabo investigaciones sobre diferentes aspectos novedosos en el campo de la micotoxicología.

EL CAMBIO CLIMÁTICO Y SU INFLUENCIA SOBRE LA MICBIOTA Y EL PATRÓN DE PREVALENCIA DE LAS MICOTOXINAS

El cambio climático se reconoce ya como un hecho cierto con un impacto aún desconocido en multitud de sectores, afectando a la agricultura y a la seguridad alimentaria, incluyendo las micotoxinas, con diferencias regionales. La distribución y predominancia de los hongos micotoxigénicos depende del hospedador, de las interacciones complejas dentro de la comunidad biótica, de la localización geográfica y, especialmente, de diversos factores ambientales, todos ellos con un impacto diferencial sobre cada especie micotoxigénica. En la actualidad se está estudiando, en campo, la evolución de la biodiversidad de la micobiota de la uva, relacionándola con variables meteorológicas y con los perfiles finales de producción de micotoxinas en diferentes zonas agroclimáticas españolas. Por otra parte se está evaluando la ecofisiología

de las especies micotoxigénicas aisladas para determinar sus perfiles de crecimiento y biosíntesis de micotoxinas en condiciones de temperatura, estrés hídrico y radiación UV elevada, considerando la variabilidad intraespecífica, para predecir su potencial en los nuevos escenarios esperables. Además, se están llevando a cabo estudios sobre la eficacia de diversos fungicidas en el crecimiento fúngico y la biosíntesis de toxinas en las condiciones previstas por el cambio climático. Todos estos trabajos se encuentran enmarcados en el proyecto “Cambio climático y nuevos hábitos alimentarios: nuevos escenarios con impacto potencial sobre el riesgo de micotoxinas en España” (AGL2010-22182-C04-04) en el que también participan investigadores de las universidades de Valencia, Complutense de Madrid y Autónoma de Barcelona.

EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN HUMANA A MICOTOXINAS. BIOACCESIBILIDAD, EXPOSICIÓN Y EFECTO DEL PROCESADO DE ALIMENTOS

Se han realizado escasos estudios sobre presencia simultánea de micotoxinas en alimentos, pero los realizados hasta la fecha demuestran que es muy frecuente que un mismo alimento pueda presentar contaminación por más de una micotoxina. Por ello, la UMA está llevando en estos momentos a cabo un estudio integrado sobre la exposición humana simultánea a dos micotoxinas frecuentemente encontradas en la dieta humana, la OTA y el deoxinivalenol. Por otra parte, los estudios de toxicología existentes realizados con las micotoxinas no han tenido presente, en la mayoría de los casos, el efecto matriz, esto es, que algunos de los componentes de los alimentos puedan tener efecto protector o potenciador sobre la acción tóxica de estas toxinas afectando a su bioaccesibilidad, por lo que éste es un aspecto que se está abordando en los estudios en curso.

El análisis de riesgo, y más concretamente la evaluación de riesgos para el caso de las micotoxinas, necesita de herramientas robustas que permitan conocer la exposición de los consumidores a estas toxinas. Los biomarcadores existentes y los estudios de hábitos de consumo no permiten por sí solos evaluar de forma precisa esta exposición. Por ello, la UMA está llevando a cabo estudios sobre nuevos biomarcadores en fluidos biológicos, basados en los compuestos derivados de la acción del organismo sobre las toxinas ingeridas.

Por último, se conoce muy poco acerca del efecto del procesamiento de los alimentos en la reducción de las micotoxinas presentes en los mismos cuando éstos se presentan de forma simultánea, aspecto que la UMA está estudiando principalmente en derivados de los cereales.

Todos estos estudios se enmarcan dentro de diversos proyectos de investigación, entre los que destacan: “Evaluación de la exposición de la población española a las toxinas de *Fusarium*” (AGL2008-05030-C02-01), “Estudio sobre la ingesta de aflatoxinas y patulina en Cataluña” (financiado por la Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria) y el recientemente concedido “Aproximación integrada a la exposición humana simultánea a ocratoxina A y deoxinivalenol” (AGL2011-24862).



Miembros del grupo de Micología Aplicada de la Universidad de Lleida. De arriba abajo, y de izquierda a derecha: (1.ª fila): Germán Cano, Daiana García y Antonio J. Ramos. (2.ª fila): Esther García, Cyndia González, Vicente Sanchis y Mercè Torres. (3.ª fila): Bernarda Coronel, Ana Crespo, Nuria Sala, Montse Prim y Sonia Marín.

LOS MOHOS FILAMENTOSOS COMO BIOCATALIZADORES DE INTERÉS INDUSTRIAL

Desde el punto de vista de la aplicación industrial de los metabolitos fúngicos, la UMA está llevando a cabo estudios sobre la utilización de mohos con capacidad lipásica, previamente aislados de sustratos con elevado contenido en grasas y aceites, para la obtención de derivados del glicerol.

El glicerol se puede transformar mediante biocatálisis en ésteres de clorohidrinás, que son precursores de ésteres de alil y glicidol. Éstos pueden transformarse también mediante biocatálisis en ésteres de aminoalcoholes, precursores de sustancias como el atenolol o los derivados del imidazol, posibles candidatos a nuevos líquidos iónicos o nitrilos, precursores de sustancias tales como la carnitina.

Por otra parte se está estudiando la transformación de los polialcoholes y los ácidos grasos en moléculas polifuncionales, objetivo que se centra en la búsqueda y aplicación de biocatalizadores tipo “resting-cell”, como por ejemplo:

- Mohos con capacidad de hidrolizar ésteres alílicos para producir alcoholes arílicos.
- Mohos con capacidad de oxidar posiciones ω -1, ω -2 y ω -3 de ácidos grasos.

PROYECTOS EUROPEOS

La UMA está participando actualmente en dos proyectos con financiación europea, en concreto el primero sobre la mejora de los métodos de muestreo para el análisis de micotoxinas en alimentos (Selection and improving of fit-for-purpose sampling procedures for specific foods and risks, KBBE 2007- 222738) y el segundo sobre el control de la entrada de las micotoxinas en la cadena alimentaria, especialmente centrado en el caso del maíz y de la uva (Novel, multidisciplinary and integrated strategies to reduce mycotoxin contamination in the food and feed chains worldwide, KBBE-2007-2-5-05).

PUBLICACIONES RECIENTES

Bellí N, Marín S, Coronas I, Sanchis V y Ramos AJ (2007) Skin damage, high temperature and relative humidity as detrimental factors for *Aspergillus carbonarius* infection and ochratoxin A production in grapes. *Food Control*. 18:1343-1349.

Morales H, Marín S, Rovira A, Ramos AJ y Sanchis V (2007). Patulin accumulation in apple by *Penicillium expansum* during postharvest stages. *Lett Appl Microbiol*. 44:30-35.

Valero A, Begum M, Leong S-L, Hocking AD, Sanchis V, Ramos AJ y Marín S (2007). Effect of germicidal UVC light on fungi isolated from grapes and raisins. *Lett Appl Microbiol*. 45:238-243.

Morales H, Marín S, Obea L, Patiño B, Doménech M, Ramos AJ y Sanchis V (2008). Ecophysiological characterization of *Penicillium expansum* population in Lleida (Spain). *Int J Food Microbiol*. 122:243-252.

Castells M, Marín S, Sanchis V y Ramos AJ (2008). Distribution of fumonisins and aflatoxins in corn fractions during industrial cornflake processing. *Int J Food Microbiol*. 123:81-87.

Marín S, Hodžić I, Ramos AJ y Sanchis V (2008). Predicting the growth/nogrowth boundary and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* in pistachio nuts. *Food Microbiol*. 25:683-689.

Oromí-Farrús M, Eras J, Villorbina G, Torres M, Llopis-Mestre V, Welton T y Canela R (2008). [BMIM][PF6] promotes the synthesis of halohydrin esters from diols using potassium halides. *Analyt Sci*. 24: 1341-1345.

Eras J, Oro R, Torres M y Canela R (2008). Direct quantitation of fatty acids present in bacteria and fungi: Stability of the cyclopropane ring to chlorotrimethylsilane. *J Agric Food Chem*. 56:4923-4927.

Coronel MB, Sanchis V, Ramos AJ y Marín S (2009). Assessment of the exposure to ochratoxin A in the province of Lleida, Spain. *Food Chem Toxicol*. 47:2847-2852.

Oromí-Farrús M, Eras J, Sala N, Torres M y Canela R (2009). Preparation of (S)-1-halo-2-octanols using ionic liquids and biocatalysts. *Molecules*. 14:4275-4283.

Oromí-Farrús M, Villorbina G, Eras J, Gatiús F, Torres M y Canela R (2010). Determination of the iodine value of biodiesel using ¹H NMR with 1,4-dioxane as an internal standard. *Fuel*. 89:3489-3492.

Santos L, Marín S, Sanchis V y Ramos AJ (2010). Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in *Capsicum* powder samples available on the Spanish market. *Food Chem*. 122:826-830.

García D, Ramos AJ, Sanchis V y Marín S (2010). Modelling mould growth under suboptimal environmental conditions and inoculum size. *Food Microbiol*. 27:909-917.

García D, Ramos AJ, Sanchis V y Marín S (2011). Is intraspecific variability of growth and mycotoxin production dependent on environmental conditions? A study with *Aspergillus carbonarius* isolates. *Int J Food Microbiol*. 144:432-439.

Cano-Sancho G, Valle-Algarra FM, Jiménez M, Burdaspal P, Legarda TM, Ramos AJ, Sanchis V y Marín S (2011). Presence of trichothecenes and co-occurrence in cereal-based food from Catalonia. *Food Control*. 22:490-495.

Coronel MB, Sanchis V, Ramos AJ, Marín S (2011). Ochratoxin A in adult populations of Lleida, Spain: presence in blood plasma and consumption in different regions and seasons. *Food Chem Toxicol*. 49: 2697-2705.

Cano-Sancho G, Marín S, Sanchis V, Colom C, Coronel B y Ramos AJ (2011). Sphinganine and sphingosine levels and ratio in urine and blood samples from a Catalan population (Spain). *Food Addit Contam-Part A*. 28:1055-1065.

Cano-Sancho G, Gauchi J-L, Sanchis V, Marín S y Ramos AJ (2011). Quantitative dietary exposure assessment of the Catalan Population (Spain) to the mycotoxin deoxynivalenol. *Food Addit Contam-Part A*. 28:1098-1109.

Enfoque multiestratégico para incrementar la seguridad alimentaria en productos cárnicos

Margarita Garriga, Teresa Aymerich, Sara Bover-Cid, Anna Jofré, Belén Martín, Nicoletta Belletti
IRTA-Industrias Alimentarias. Finca Camps i Armet s/n. 17121 Monells. Tel. 972630052
margarita.garriga@irta.cat

MICRAL, grupo de Microbiología de los Alimentos en el IRTA-Monells es un Grupo de Investigación Consolidado reconocido por la Generalitat de Catalunya (2009SGR-1323). En el marco del Programa de Seguridad Alimentaria del IRTA, se están desarrollando desde hace más de dos décadas actividades de investigación financiadas con fondos nacionales y europeos con el objetivo genérico de contribuir al aumento de la calidad y seguridad alimentaria de productos cárnicos, principalmente.

A continuación se describen brevemente las líneas de investigación del grupo.

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE PRODUCTOS CÁRNICOS TRADICIONALES

El consumidor actual prefiere el consumo de embutidos crudo-curados menos ácidos (pH >5,3). Ello ha potenciado el interés por conocer las particularidades de la microbiota tecnológica de este tipo de productos que definen sus características sensoriales finales. En este contexto, se han aislado más de 1.500 cepas bacterianas de interés tecnológico, incluyendo lactobacilos, estafilococos y enterococos, observándose que la predominancia de la especie no depende sólo del producto sino también del país de origen y la planta productora. Además la evaluación higiénica de los embutidos, así como la del equipamiento de las fábricas, identificó diferentes puntos críticos que permitieron mejorar los planes APPCC de las industrias cárnicas estudiadas. Se editó una *guía de buenas prácticas* y un *tríptico* sobre los hábitos de los consumidores europeos en relación al consumo de embutidos fermentados tradicionales (<http://www1.clermont.inra.fr/tradisausage/>).

DESARROLLO DE CULTIVOS INICIADORES/BIOPROTECTORES/PROBIÓTICOS

La caracterización de la microbiota tecnológica de embutidos fermentado-curados, tipo salchichón, permitió seleccionar varias cepas de bacterias del ácido láctico (*L. sakei* CTC 494 y *Ent. faecium* CTC492) idóneas como cultivos iniciadores bioprotectores por las cualidades sensoriales conferidas al producto y por su capacidad antagonista frente a *Listeria monocytogenes*. Bien como cultivos iniciadores para la producción de embutidos fermentados, bien utilizando las bacteriocinas producidas para su aplicación en masa, en superficie o mediante envasado activo en productos cárnicos loncheados, se han obtenido resultados muy interesantes que ponen de manifiesto el potencial aplicativo de determinadas cepas para el incremento de la seguridad alimentaria en productos alimentarios.

En el campo de los probióticos, el grupo patentó y licenció hace unos años un cultivo anti-*salmonella* (*L. salivarius* CTC2197) de eficacia probada en aves de corral. Actualmente se está trabajando en la caracterización de cepas lácticas aisladas de neonatos para su utilización como cultivos probióticos en embutidos fermentado-curados nutricionalmente mejorados.

LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS EN SEGURIDAD ALIMENTARIA

La combinación de antimicrobianos naturales y las tecnologías emergentes de conservación como las altas presiones hidrostáticas (AP) han sido investigadas mediante *challenge tests* (*L. monocytogenes*, *Salmonella* y *S. aureus*) en diferentes productos cárnicos. Se ha comprobado que la eficacia de la AP así como de la mencionada combinación de barreras para el control/eliminación de patógenos alimentarios es altamente dependiente del tipo de producto, observándose notables diferencias entre cárnicos cocidos, fermentados o curados. En general, la aplicación de antimicrobianos inhibe, limita o disminuye el crecimiento de los patógenos, pero es la aplicación combinada (antimicrobianos y AP) la que permite la consecución de los Objetivos de Seguridad Alimentaria (FSO) de los productos listos para el consumo (RTE=*ready to eat*) durante su vida útil.

La respuesta bacteriana al estrés causado por las nuevas tecnologías de conservación ha sido estudiada mediante proteómica y transcriptómica. *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*, *E. faecium* y *L. sakei* evidencian respuestas a la AP, específicas de especie, que afectan a un amplio rango de funciones celulares, lo que condiciona su cultivabilidad. La intensidad de la respuesta depende tanto del nivel de presión como de los factores ambientales previos al tratamiento, solapándose con la respuesta observada frente a otros factores de estrés, como la sal o el frío, lo que explicaría la protección cruzada observada entre diferentes estreses.

Fruto de la actividad de investigación de los últimos años en el campo de la modelización-microbiología predictiva, se han desarrollado modelos predictivos de la inactivación inmediata inducida por altas presiones de *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp. en jamón curado. Se pretende construir y validar modelos matemáticos que permitan cuantificar y predecir el grado de inactivación bacteriana en función de la intensidad (presión/tiempo) y temperatura del tratamiento en otros tipos de productos (e.g. cárnicos cocidos) así como la influencia de otros factores relevantes (e.g. a_w). La modelización de la potencial recuperación de los microorganismos presentes durante el almacenamiento permitirá predecir el período de vida útil segura de los alimentos listos para el consumo sometidos a tratamientos de presurización.

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.

Grupo Probióticos, Prebióticos y Exopolisacáridos

Clara G. de los Reyes-Gavilán (greyes_gavilan@ipla.csic.es), Abelardo Margolles (amargolles@ipla.csic.es), Patricia Ruas-Madiedo (ruas-madiedo@ipla.csic.es), Miguel Gueimonde (mgueimonde@ipla.csic.es)

Departamento de Microbiología y Bioquímica, Instituto de Productos Lácteos de Asturias – Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC). Carretera de Infiesto s/n, 33300 Villaviciosa, Asturias

A lo largo del siglo XX se ha documentado científicamente la relación existente entre nutrición y salud y en los últimos años han cobrado relevancia los alimentos que promueven el estado de bienestar y/o reducen el riesgo de padecer enfermedades. Surge de este modo el concepto de **Alimentos Funcionales**, campo de investigación de gran interés científico que también supone una oportunidad para el desarrollo de la industria alimentaria. Los alimentos que contienen microorganismos probióticos han sido pioneros en este sector, siendo los productos lácteos el vehículo de administración más ampliamente aceptado por los consumidores. Los **probióticos** se han definido como “microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud del hospedador” (FAO/WHO, 2006). Nuestro grupo centra su actividad investigadora actual en el estudio de diferentes aspectos relacionados con los probióticos y su influencia en la salud humana. Ésta constituye una de las Líneas Estratégicas de Investigación actual del IPLA, como se recoge en el Plan Estratégico de Actuación 2010-2013 de la Agencia Estatal CSIC.

Nuestro grupo de investigación se inició como tal hace algunos años con el estudio de microorganismos patógenos (principalmente *Listeria*) y psicrotrofos alterantes presentes en productos lácteos. La actividad científica relacionada con los alimentos funcionales comenzó en el año 1997 con la caracterización de la diversidad y viabilidad de probióticos en leches fermentadas comerciales y actualmente nuestro principal interés científico en este campo se centra en cuatro objetivos:

ESTUDIO DE LA ECOLOGÍA, FISIOLÓGIA Y FUNCIONALIDAD DE PROBIÓTICOS

Según la definición recogida anteriormente, para que un probiótico pueda ejercer su acción beneficiosa ha de mantener su viabilidad durante la elaboración y la vida útil del alimento funcional y, tras su ingesta, también debe tolerar el estrés gastrointestinal, principalmente el pH ácido del estómago y las sales biliares del intestino. En este campo, nuestro grupo ha sido pionero y ha contribuido activamente en el estudio de repuesta y adaptación a factores de estrés ambientales y tecnológicos en el género *Bifidobacterium*. Una vez en el colón, los probióticos se encuentran en el ecosistema más densamente poblado de la tierra en el que habita la microbiota intestinal y donde la falta de nutrientes es uno de los agentes que ejerce mayor presión selectiva. En este ambiente, los probióticos obtienen su energía de la fermentación de compuestos de la dieta, generalmente carbohidratos, que no son digeridos ni adsorbidos por el hospedador en el intestino delgado y que se denominan **prebióticos**. Un grupo de expertos de la FAO (2007) ha definidos los prebióticos como “componentes alimentarios no viables que confieren un efecto beneficioso en el hospedador asociado a la modulación de la microbiota intestinal”. En esta área estamos estudiado el

potencial prebiótico de nuevos substratos de origen bacteriano, los **exopolisacáridos** (EPS), que son *polímeros extracelulares de gran tamaño presentes en la superficie de muchas bacterias*. Hemos descrito por primera vez cepas de bifidobacterias y lactobacilos del ambiente intestinal capaces de producir EPS y hemos comprobado, empleando diversos modelos *in vitro* e *in vivo*, que éstos son metabolizados por la microbiota intestinal y que ejercen un efecto bifidogénico. Actualmente, estamos estudiando la dinámica de distintas poblaciones microbianas intestinales en presencia de estos polímeros bacterianos, así como su perfil metabólico mediante el análisis de producción de ácidos grasos de cadena corta. Finalmente, pretendemos evaluar la interacción entre probióticos y patógenos entéricos y asociados con la ingesta de alimentos, con el doble objetivo de conocer los mecanismos de capacidad antimicrobiana de los probióticos así como proponer el uso de probióticos seleccionados capaces de ejercer un efecto antagonístico frente a patógenos frecuentemente asociados a poblaciones humanas de riesgo (neonatos pre-término, ancianos, etc.)

ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE DISTINTAS POBLACIONES HUMANAS

Estos estudios nos permiten, por un lado, identificar posibles desviaciones (disbiosis) en la diversidad y dinámica de la comunidad microbiana intestinal en grupos específicos de individuos (neonatos prematuros, ancianos, alérgicos, enfermedades autoinmunes) con el objetivo de diseñar estrategias de intervención encaminadas a paliar y/o corregir estas anomalías mediante el uso de probióticos específicos. Por otro lado, la necesidad de utilizar individuos sanos para comparar con las poblaciones anteriormente indicadas, nos ha permitido aislar, identificar y caracterizar cepas con potencial probiótico para ser empleadas en las poblaciones diana específicas. Por ello en nuestro grupo disponemos de una colección de cepas de diversos orígenes (leche materna, microbiota de niños y adultos sanos, cepas adaptadas a sales biliares, etc.) siendo las mejor caracterizadas, hasta el momento, las que pertenecen a los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. En este punto, es necesario señalar que para que una cepa pueda ser considerada probiótica su funcionalidad, es decir su efecto beneficioso, debe de ser demostrada en la población diana en la que se pretende aplicar mediante estudios de intervención con un diseño adecuado. Nuestro grupo también ha estado implicado en la ejecución de estudios clínicos con cepas pertenecientes a la industria.

INTERACCIÓN PROBIÓTICOS – HOSPEDADOR Y MECANISMOS DE ACCIÓN

Cuando los probióticos son ingeridos entran en contacto con la mucosa intestinal en la cual, además de las células epite-



Foto 1. Grupo Probióticos, Prebióticos y Exopolisacáridos en octubre de 2011: Borja Sánchez, Claudio Hidalgo, David Ríos, Silvia Arbolea, Miguel Gueimonde, Patricia Ruas-Madiedo (fila de atrás), Nuria Salazar, María Fernández, Clara G. de los Reyes-Gavilán, Abelardo Margolles, Lorena Valdés, Irene Ordoñez (fila delantera) e Irene Rodríguez (en recuadro).

liales que mantienen la estructura y realizan funciones de adsorción y defensa, se localiza el tejido linfóide asociado al intestino (GALT) en el que se encuentran el mayor número de células inmunes de nuestro cuerpo. La mucosa intestinal es por tanto el primer punto en el que los probióticos interactúan con el sistema inmune. Estamos pues interesados en conocer la respuesta que los probióticos inducen en el hospedador y cómo éste modifica las propiedades de las bacterias. Por ello recientemente hemos puesto en marcha un laboratorio de trabajo con células eucariotas humanas, fundamentalmente líneas celulares inmortales y cultivos primarios de células inmunes sanas aisladas de sangre o de intestino, y hemos implementado técnicas que nos permiten estudiar la respuesta inducida por los probióticos o sus componentes (proteínas de superficie, EPS, metabolitos, etc.). De este modo, pretendemos avanzar en el conocimiento de los mecanismos de acción de los probióticos y, además, podemos caracterizar y seleccionar cepas probióticas en función del tipo de respuesta que inducen con el objetivo de ser aplicadas en las poblaciones diana adecuadas.

DESARROLLO DE ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA FUNCIONALIDAD DE PROBIÓTICOS

Para que un probiótico pueda ser empleado en la industria alimentaria debe ser capaz de sobrevivir a los diversos estreses tecnológicos a los que son sometidas las cepas, desde su preparación como “starter” funcional para ser añadido en la formulación del alimento, hasta el procesado y almacenamiento del producto final. En este sentido, el oxígeno, temperatura y actividad de agua son los principales retos a los que las cepas probióticas, generalmente muy sensibles, deben responder. Por ello consideramos que es especialmente interesante, desde un punto de vista aplicado, la caracterización de la aptitud tecnológica de las nuevas cepas con potencial probiótico, así como la obtención de cepas adaptadas a estos factores de estrés. También estamos interesados, como estrategia futura, en la implementación de nuevas tecnologías para incrementar la supervivencia y viabilidad de aquellas cepas que hayan mostrado un potencial probiótico elevado, científicamente demostrado.

Para llevar a cabo este trabajo, aplicamos diversas metodologías que van desde la microbiología clásica y molecular, a las técnicas “ómicas” más recientes, así como diversas técnicas de química analítica, tecnología de alimentos y más recientemente, protocolos de biología celular. Dado el carácter multidisciplinar de nuestra investigación actual, colaboramos activamente con científicos nacionales e internacionales de otras áreas de conocimiento, como inmunología, fisiología animal,

química y medicina. Sin embargo, ninguno de nuestros logros pasados, presentes y, esperemos futuros, se habría conseguido sin el capital humano que ha formado y forma parte de nuestro grupo de investigación. A todos ellos, colaboradores y miembros del grupo, queremos expresar nuestro más profundo agradecimiento.

SELECCIÓN DE 20 PUBLICACIONES EN LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS

- Gueimonde *et al.* (2007). Competitive exclusion of enteropathogens form human intestinal mucus by *Bifidobacterium* strains with acquired resistance to bile - A preliminary study. *Int J Food Microbiol.* 113:228-232.
- Ruas-Madiedo *et al.* (2007). Screening of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains isolated from the human intestinal microbiota. *Appl Environ Microbiol.* 73:4385-4388.
- Ruiz *et al.* (2007). Cell envelope changes in *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* as a response to bile. *FEMS Microbiol Lett.* 274:316-322.
- Sánchez *et al.* (2007). Low-pH adaptation and the acid tolerance response of *Bifidobacterium longum* biotype *longum*. *Appl Environ Microbiol.* 73:6450-6459.
- Ruas-Madiedo *et al.* (2008). Mucin degradation by *Bifidobacterium* strains isolated from the human intestinal microbiota. *Appl Environ Microbiol.* 74:1936-1940.
- Salazar *et al.* (2008). Exopolysaccharides produced by intestinal *Bifidobacterium* strains act as fermentable substrates for human intestinal bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 74:4737-4745.
- Sánchez *et al.* (2008). Proteomics of stress response in *Bifidobacterium*. *Frontiers Biosci.* 13:6905-6919.
- Ruas-Madiedo *et al.* (2009). Bile affects the synthesis of exopolysaccharides by *Bifidobacterium animalis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 1204-1207.
- Salazar *et al.* (2009). Production of exopolysaccharides by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains of human origin, and metabolic activity of the producing bacteria in milk. *J Dairy Sci.* 92:4158-4168.
- Turroni *et al.* (2009). Microbiomic analysis of the bifidobacterial population in the human distal gut. *ISME J.* 3:745-751.
- Gueimonde *et al.* (2010). Genetic basis of tetracycline resistance in *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. *Appl Environ Microbiol.* 76: 3664-3669.
- Ruas-Madiedo *et al.* (2010). Exopolysaccharides produced by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains abrogate *in vitro* the cytotoxic effect of bacterial toxins on eukaryotic cells. *J Appl Microbiol.* 109:2079-2086.
- Sánchez *et al.* (2010). Technological and probiotic selection criteria of a bile-adapted *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* strain. *Int Dairy J.* 20:800-805.
- Solis *et al.* (2010). Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut. *Anaerobe.* 16:307-310.

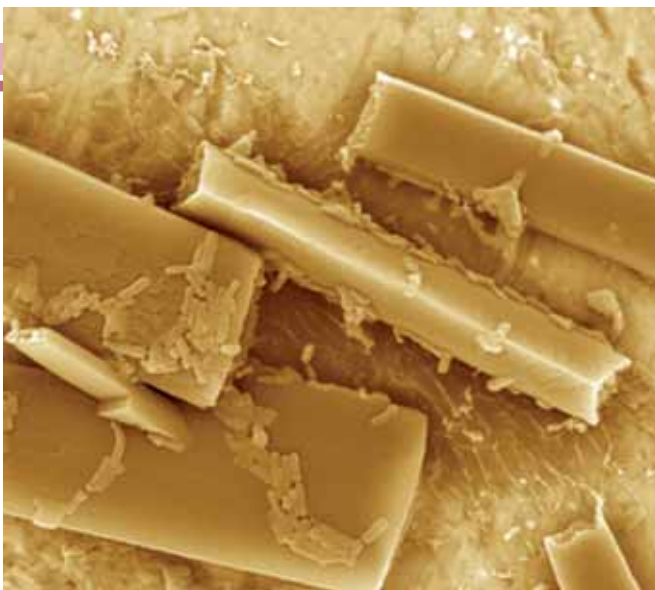


Foto 2. *Bifidobacterium longum* sobre cristales de bilis (A, barra 20 mm) y *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (B, barra 5 mm) visualizados mediante cryo-SEM.



Foto 3. Dr. Probiota, ¿quién estudia a quién? (María Fernández y Toni Colom).

Turróni et al. (2010). Genome analysis of *Bifidobacterium bifidum* PRL2010 reveals metabolic pathways for host-derived glycan foraging. Proc Nat Acad Sci USA. 107:19514-19519.

Arboleña et al. (2011). Characterization and in vitro properties of potentially probiotic *Bifidobacterium* strains isolated from breast-milk. Int J Food Microbiol. 149:28-36.

De los Reyes-Gavilán et al. (2011). Adhesion of bile-adapted *Bifidobacterium* strains to the HT29-MTX cell line is modified after sequential gastrointestinal challenge simulated in vitro using human gastric and duodenal juices. Res Microbiol. 162:514-519.

López et al. (2011). Immune response to *Bifidobacterium bifidum* strains support Treg/Th17 plasticity. PLoS One 6(9):e24776.

Ruiz et al. (2011). Evaluation of the ability of *Bifidobacterium longum* to metabolize human intestinal mucus. FEMS Microbiol Lett. 314: 125-130.

Salazar et al. (2011). Safety and intestinal microbiota modulation by the exopolysaccharide-producing strains *Bifidobacterium animalis* IPLA-R1 and *Bifidobacterium longum* IPLA-E44 orally administered to Wistar rats. Int J Food Microbiol. 144:342-351.

Evaluación y control de microorganismos toxigénicos en productos cárnicos madurados

Miguel Ángel Asensio

Higiene y Seguridad Alimentaria. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura. Apto 643. 10003-Cáceres

Los productos cárnicos de larga maduración se mantienen en refrigeración hasta que se logra una reducción de la humedad que impide el desarrollo de la microbiota alterante y de las bacterias toxigénicas. A medida que disminuye la humedad del producto va limitándose el desarrollo de las bacterias, mientras que la población fúngica puede desarrollarse a lo largo de todo el procesado durante meses. Los primeros estudios del grupo de Higiene y Seguridad Alimentaria demostraron la presencia de mohos productores de toxinas en el jamón. Paralelamente se estudió la posible contribución de los microorganismos a la maduración del jamón, concluyéndose que tanto las microcócicas como las levaduras y los mohos poseen una alta actividad proteolítica sobre proteínas miofibrilares y se demostró la

contribución de *P. chrysogenum* y *Debaryomyces hansenii* tanto a la proteólisis como a la formación de compuestos volátiles en lomos y jamones madurados (Martín y col., 2006; Benito y col., 2005; Andrade y col., 2009a).

Uno de los principales problemas que plantea el control de los microorganismos toxigénicos en el jamón curado radica en la presencia de una gran diversidad de especies que incluyen cepas productoras y no productoras de toxinas, junto a la dificultad de demostrar la producción de las toxinas dado el papel decisivo que desempeñan las condiciones ambientales en la producción de estos metabolitos secundarios. La actividad reciente del grupo de Higiene y Seguridad Alimentaria se ha centrado en controlar el desarrollo de microorganismos inde-



Componentes del Grupo de Higiene y Seguridad Alimentaria en la Universidad de Extremadura en la actualidad.

seables en los productos cárnicos madurados, asegurando la presencia de los microorganismos que contribuyen a las características deseables. Se han desarrollado tres objetivos: a) la diferenciación de levaduras de productos cárnicos madurados mediante técnicas de ácidos nucleicos para seleccionar cepas como cultivos iniciadores, b) la selección de mohos y levaduras capaces de inhibir a los mohos toxigénicos para utilizarlos como cultivos protectores y c) el desarrollo de métodos basados en el estudio de ácidos nucleicos para determinar el potencial toxigénico de los mohos.

Para la diferenciación de las cepas de levaduras se han evaluado distintos métodos de tipificación del DNA. El análisis mediante RFLP de los ITS del rDNA del 5.8S y del 18S no permitió diferenciar las levaduras a nivel de especie, mientras que el análisis mediante RFLP del ADN mitocondrial en combinación con el análisis mediante RAPD con los cebadores para microsatélites (GTG)₅, (GAC)₅ y especialmente con (GACA)₄, permitieron la diferenciación tanto a nivel de especie como de cepas implicadas en el desarrollo del sabor (Andrade y col., 2006; 2009b).

Respecto a la selección de hongos con actividad antifúngica, se han seleccionado cepas de *P. chrysogenum* productores de proteínas antifúngicas (Acosta y col., 2009), habiéndose caracterizado una nueva proteína catiónica de bajo peso molecular (Rodríguez-Martín y col., 2010a) y una quitosanasa (Rodríguez-Martín y col., 2010b) que pueden ser de utilidad para evitar el desarrollo fúngico. Actualmente se trabaja en la detección de proteínas con actividad antifúngica en las levaduras presentes en el jamón curado.

Para detectar mohos toxigénicos entre una gran diversidad de mohos que incluyen cepas no toxigénicas se han desarrollado métodos basados en el estudio de ácidos nucleicos, inicialmente mediante sondas de DNA (Aranda y col., 2002) y RAPD (Martín y col., 2004). Los primeros estudios no ofrecían resultados plenamente satisfactorios, por lo que se desarrolló un método de extracción utilizando proteinasa K y liticasa seguido por una extracción con un sistema semiautomático a vacío que permitió la obtención de ADN fúngico de alta calidad (Sánchez y col. 2008). Posteriormente se han desarrollado otros procedimientos de extracción de ADN fúngico específicos para mohos productores de patulina (Luque y col., 2011a) y de Ocratoxina A (Rodríguez y col., 2011a) que permiten aumentar la sensibilidad de la detección mediante PCR. Por otra parte, distintas especies e incluso géneros pueden elaborar la misma micotoxina, y en una especie puede haber tanto cepas productoras como no productoras de esa toxina. Para determinar de forma específica y sensible el potencial toxigénico se han desarrollado métodos de PCR basando el diseño de los cebadores en genes implicados en la síntesis de las principales micotoxinas. Así, se han desarrollado métodos para detectar en distintas especies de *Aspergillus/Emericella* y de *Penicillium* la producción de patulina con cebadores basados en el gen de la isoeoxydon deshidrogenasa por PCR convencional (Luque y col., 2011b) y PCR en

tiempo real (qPCR) (Rodríguez y col., 2011b), así como de Ocratoxina A con cebadores basados en el gen de una péptido sintetasa no ribosómica mediante qPCR (Rodríguez y col., 2011c). También se han podido detectar los productores de Aflatoxinas en distintas especies de *Aspergillus*, *Rhizopus* y *Penicillium* con cebadores basados en el gen de la O-metil-transferasa mediante PCR convencional (Luque y col. 2011c) y mediante qPCR (Rodríguez y col., 2011d). Estas técnicas resultan de gran utilidad para el control de alimentos, ya que detectan o cuantifican niveles de contaminación de 1 a 100 esporas por gramo de alimento y se han validado no sólo en productos cárnicos madurados, sino también para otros alimentos en los que los mohos toxigénicos representan un problema, como cereales, frutos secos o especias. Actualmente ya se han desarrollado métodos mediante PCR múltiple que permiten la detección simultánea de mohos productores de tres micotoxinas distintas (aflatoxina, ocratoxina A y patulina) en un solo análisis, así como para la detección de verrucosidina con un control de amplificación interno, que se publicarán en breve.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta R, Rodríguez-Martín A, Martín A, Núñez F y Asensio MA (2009). Selection of antifungal protein-producing molds from dry-cured meat products. *Int J Food Microbiol.* 135:39-46.
- Andrade MJ, Rodríguez M, Sánchez EM, Aranda E y Córdoba JJ (2006). DNA typing methods for differentiation of yeasts related to dry-cured meat products. *Int J Food Microbiol.* 107:48-58.
- Andrade MJ, Córdoba JJ, Sánchez B, Casado EM y Rodríguez M (2009a). Evaluation and selection of yeasts isolated from dry-cured Iberian ham by their volatile compound production. *Food Chem.* 113:457-463.
- Andrade MJ, Rodríguez M, Casado EM, Bermúdez E y Córdoba JJ (2009b). Differentiation of yeasts growing on dry-cured Iberian ham by mitochondrial DNA restriction analysis, RAPD-PCR and their volatile compounds production. *Food Microbiol.* 26:578-586.
- Aranda E, Rodríguez M, Benito MJ, Asensio MA y Córdoba JJ (2002). Molecular cloning of verrucosidin-producing *Penicillium polonicum* genes by differential screening to obtain a DNA probe. *Int J Food Microbiol.* 76:55-61.
- Benito MJ, Núñez F, Córdoba Mg, Martín A y Córdoba JJ (2005). Generation of non-protein nitrogen and volatile compounds by *Penicillium chrysogenum* Pg222 activity on pork myofibrillar proteins. *Food Microbiol.* 22:513-519.
- Luque MI, Andrade MJ, Rodríguez A, Rodríguez M y Córdoba JJ (2011a). Development of a Protocol for Efficient DNA Extraction of Patulin-Producing Molds from Food for Sensitive Detection by PCR. *Food Anal Methods* (en prensa).
- Luque MI, Rodríguez A, Andrade MJ, Gordillo M, Rodríguez M y Córdoba JJ (2011b). Development of a PCR protocol to detect patulin producing moulds in food products. *Food Control.* 22:1831-1838.
- Luque MI, Rodríguez A, Andrade MJ, Martín A y Córdoba JJ (2011c). Development of a PCR Protocol To Detect Aflatoxigenic Molds in Food Products. *J Food Protect* (en prensa).
- Martín A, Jurado M, Rodríguez M, Núñez F y Córdoba JJ (2004). Characterization of Molds from Dry-Cured Meat Products and Their Metabo-

- lites by Micellar Electrokinetic Capillary Electrophoresis and Random Amplified Polymorphic DNA PCR. *J Food Protect.* 10:2234-2239.
- Martín A, Córdoba JJ, Aranda E, Córdoba MG y Asensio MA (2006). Contribution of a selected fungal population to the volatile compounds on dry-cured ham. *Int J Food Microbiol.* 110: 8-18.
- Rodríguez A, Rodríguez M, Luque MI, Justesen AF y Córdoba JJ (2011a) A comparative study of DNA extraction methods to be used in real-time PCR based quantification of ochratoxin A-producing molds in food products. *Food Control* (enviado).
- Rodríguez A, Luque MI, Andrade MJ, Rodríguez M, Asensio MA y Córdoba JJ (2011b). Development of real-time PCR methods to quantify patulin-producing molds in food products. *Food Microbiol.* 28:1190-1199.
- Rodríguez A, Luque MI, Justesen AF y Córdoba JJ (2011c) Quantification of ochratoxin A-producing molds in food products by SYBR Green and TaqMan real-time PCR methods. *Int J Food Microbiol.* 149:226-235.
- Rodríguez A, Rodríguez M, Luque MI, Martín A y Córdoba JJ (2011d) Real-time PCR assays for detection and quantification of aflatoxin producing molds in foods. *Food Microbiology* (enviado).
- Rodríguez-Martín A, Acosta R, Liddell S, Núñez F, Benito MJ y Asensio MA (2010a). Characterization of the novel antifungal protein PgAFP and the encoding gene of *Penicillium chrysogenum*. *Pep-tides.* 31:541-547.
- Rodríguez-Martín A, Acosta R, Liddell S, Núñez F, Benito MJ y Asensio MA (2010b). Characterization of the novel antifungal chitosanase PgChP and the encoding gene from *Penicillium chrysogenum*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 88:519-528.
- Sánchez B, Rodríguez M, Casado EM, Martín A y Córdoba JJ (2008). Development of an Efficient fungal DNA extraction method to be used in Random Amplified Polymorphic DNA-PCR analysis to differentiate cyclopiazonic acid mold producers. *J Food Protect.* 12: 2497-2503.

Actividad del Grupo de Bacterias Lácticas de Oviedo

Juan Evaristo Suárez Fernández,
en nombre de todos los integrantes, pasados y presentes, del grupo
Universidad de Oviedo

El grupo de bacterias lácticas del Área de Microbiología de la Universidad de Oviedo se formó en 1992, por dos razones: a) la importancia de las fermentaciones alimentarias y especialmente las lácteas, en Asturias y b) el papel de ciertas cepas del género *Lactobacillus* en la protección frente al asentamiento de patógenos sobre las mucosas intestinal y vaginal y la posibilidad de utilizarlas como organismos probióticos, fundamentalmente como parte de alimentos funcionales. En 1996 se constituyó como Unidad Asociada al C.S.I.C a través del Instituto de Productos Lácteos de Asturias, asociación que ha sido renovada recientemente por novena vez.

Estudios preliminares mostraron que los lactobacilos mesófilos eran predominantes en muchas de las fermentaciones de vegetales y quesos llevadas a cabo en Asturias. Debido a ello, nuestro trabajo se centró inicialmente sobre cepas del género *Lactobacillus* y posteriormente se extendió a *Lactococcus*, habiéndose enfocado en la transformación de las materias primas dirigido por las BAL, en el análisis de sistemas naturales de conservación de los productos y en el estudio de los fagos responsables de alteraciones de la fermentación. De modo paralelo, hemos venido trabajando con lactobacilos aislados de vagina, centrándonos en la identificación de las especies más frecuentes, los mecanismos de reconocimiento entre las bacterias y las células epiteliales sobre las que se asientan y los sistemas de antagonismo microbiano que protegen a la mucosa de la invasión por microorganismos patógenos.

Dentro de los resultados obtenidos en estos años podríamos destacar los siguientes:

- Selección de cepas útiles en el desarrollo de iniciadores definidos para quesos artesanales. Para ello se analizaron diferentes propiedades biotecnológicas en 125 cepas de *Lactobacillus* y 600 de *Lactococcus*, aisladas a partir de fermentaciones espontáneas (Herrero *et al.*, 1996).
- Los genes de la α - y β -galactosidasa de *Lb. plantarum* han sido secuenciados y se ha estudiado su expresión (Mayo *et al.*, 1994).

- Se han identificado dos genes de estrés por frío en *Lb. plantarum* y se ha analizado su expresión (Mayo *et al.*, 1997).
- Se han caracterizado dos bacteriocinas producidas por *Lb. plantarum* y *Lc. lactis* respectivamente. La primera es un antibiótico que posee un amplio rango de cepas susceptibles y que ha sido producida en cultivo continuo para utilizarla como preservante natural de quesos. Se ha determinado su secuencia de aminoácidos, su estructura y su modo de acción: abre poros en las membranas biológicas (Turner *et al.*, 1999). La segunda es plasmídica y su gen estructural forma parte de un operón inducible formado por tres proteínas. Inhibe la formación de septos de división y es bactericida (Martínez *et al.*, 2000).
- Se han aislado fagos de *Lb. plantarum* y *Lb. casei*, habiéndose estudiado su morfología, rango de hospedador, estructura del genoma, ciclo de desarrollo, etc. Se ha determinado que la fuente principal de fagos en la industria láctea es la leche de partida, que la pasteurización actúa como agente selector principal sobre el tipo de fagos que se instalarán en la factoría y que ello determina que haya gran variabilidad entre los fagos que se convierten en endémicos (Madera *et al.*, 2004). El fago A2 (Fig. 1) de *Lb. Casei* se ha estudiado con mayor profundidad (Brüssow y Suárez, 2006). La secuenciación del genoma (García *et al.*, 2003), nos permitió conocer sus módulos funcionales. Entre ellos tenemos el conmutador genético que gobierna que el fago siga un ciclo lisogénico o lítico (García *et al.*, 1999). Utilizando el represor, se han diseñado cepas resistentes al virus que fermentan la leche en presencia del fago (Álvarez *et al.*, 1999). Igualmente se ha diseñado un sistema de cuantificación de compuestos genotóxicos muy sensible, que ha sido patentado (Soberón *et al.*, 2007). Adyacente al interruptor está el sistema de integración del genoma fágico, que se ha usado para desarrollar vectores de integración conteniendo el módulo integrasa-*attP*.

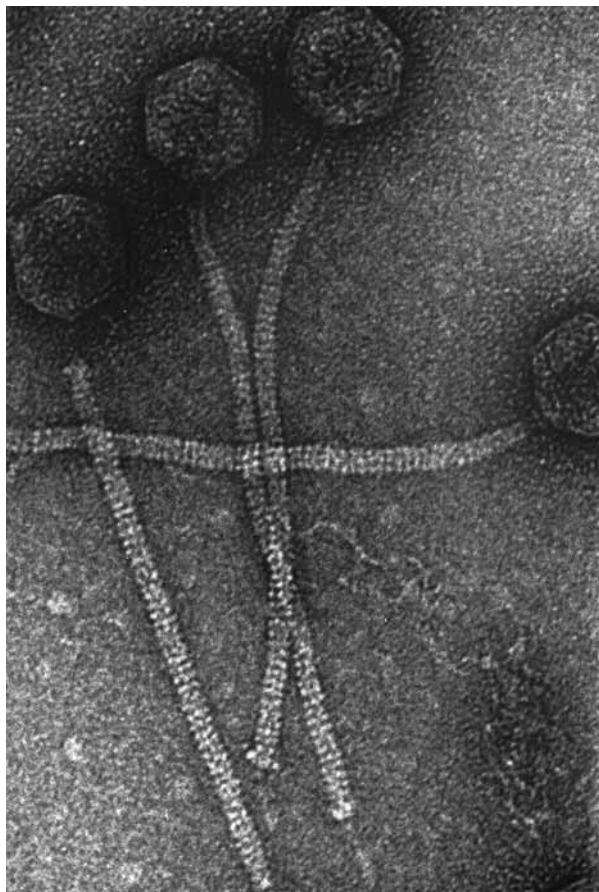


Figura 1. El fago A2. Pertenece a la familia *Siphoviridae* porque tiene cola larga no contráctil. Nótese la espina al final de la cola. El tamaño de los viriones es de unos 300 nm.

Tanto los vectores como las cepas resistentes a virus están protegidos por patente (Álvarez *et al.*, 1998). A partir del estudio del bloque de replicación del ADN viral, localizamos el origen, *oriC*, que utilizamos para obtener cepas resistentes a la infección fágica durante la fermentación de leche (Moscoso y Suárez, 2000). En el bloque morfogenético viral hay dos operones de expresión tardía, el primero de los cuáles media la biosíntesis de las proteínas estructurales y de las terminasas, mientras el otro comprende el conjunto holina-lisina (García *et al.*, 2003; Ribelles *et al.*, 2011). Las dos proteínas mayoritarias de la cápsida y las dos de la cola son el producto de sendos genes, debido a una “secuencia deslizante” en los ARN mensajeros que provoca el retroceso de parte de los ribosomas a la pauta -1 (Rodríguez *et al.*, 2005).

- Se han aislado *Lactobacillus spp.* de vagina e intestino y se ha determinado su capacidad de colonización y adherencia a las mucosas, así como su efecto protector frente a patógenos prevalentes en dichas cavidades. Así, se ha demostrado que los proteoglicanos de la superficie celular eucariótica median la adherencia y se han identificado adhesinas bacterianas con las que establecen interacción específica. El estudio de la producción de agua oxigenada nos llevó a descubrir que actúa sobre los lisógenos, induciendo sus profagos. Esto selecciona bacterias que albergan únicamente profagos defectivos, en su mayoría no

inducibles por el tratamiento con agentes quimioterápicos que activan la respuesta SOS. Por tanto, los lactobacilos vaginales son excepcionales en dos aspectos: producen agua oxigenada y no generan fagos activos aislables de los exudados obtenidos de dicha cavidad (Martín *et al.*, 2010; Martín y Suárez, 2010).

REFERENCIAS

- Álvarez MA, Herrero M y Suárez JE (1998). The site-specific recombination system of the *Lactobacillus* species bacteriophage A2 integrates into gram positive and gram negative bacteria. *Virology*. 250:185-193.
- Álvarez MA, Rodríguez A y Suárez JE (1999). Stable expression of the *Lactobacillus casei* bacteriophage A2 repressor blocks phage propagation during milk fermentation. *J Appl Microbiol*. 86:812-816.
- Brüssow H, Suárez JE (2006) *Lactobacillus* phages. In: Calendar R (ed) *The bacteriophages*, 2nd ed. Oxford University Press, New York. pp. 653-666.
- García P, Ladero V, Alonso JC, Suárez JE (1999) Cooperative interaction of C1 protein regulates lysogeny of *Lactobacillus casei* by bacteriophage A2. *J Virol*. 73:3920-3929.
- García P, Ladero V y Suárez JE (2003). Analysis of the morphogenetic cluster and genome of the temperate *Lactobacillus casei* bacteriophage A2. *Arch Virol*. 148:1051-1070.
- Herrero M, Mayo B, Gonzalez B y Suárez JE (1996). Evaluation of technologically important traits in lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentations. *J Appl Bacteriol*. 81:565-570.
- Madera C, Monjardín C y Suárez JE (2004). Milk contamination and resistance to processing conditions determine the fate of *Lactococcus lactis* strains bacteriophages in dairies. *Appl Environ Microbiol*. 70:7365-7371.
- Martín R, Escobedo S y Suárez JE (2010). Induction, structural characterization, and genome sequence of Lv1, a prophage from a human vaginal *Lactobacillus jensenii* strain. *Int Microbiol*. 13:113-121.
- Martín R, Soberon N, Escobedo S, Suárez JE (2009) Bacteriophage induction versus vaginal homeostasis: role of H₂O₂ in the selection of *Lactobacillus* defective prophages. *Int Microbiol*. 12:131-136.
- Martín R, Soberon N, Vanechoutte M, Florez AB, Vázquez F y Suárez JE (2008). Evaluation of newly isolated human vaginal lactobacilli and selection of probiotic candidates. *Int Microbiol*. 11:261-266.
- Martín R, Suárez JE (2010). Biosynthesis and degradation of H₂O₂ by vaginal lactobacilli. *Appl Environ Microbiol*. 76:400-405.
- Martínez B, Rodríguez A y Suárez JE (2000). Lactococcin 972, a bacteriocin that inhibits septum formation in lactococci. *Microbiology*. 146:949-955.
- Mayo B, Arca P, González B y Suárez JE (1994). Cloning and expression of the plasmid encoded β -d-galactosidase gene from a *Lactobacillus plantarum* strain of dairy origin. *FEMS Microbiol Lett*. 122:145-152.
- Mayo B, Derzelle S, Fernández M, Leonard C, Ferain T, Hols P, Suárez JE y Delcour J (1997). Cloning and characterization of *cspL* and *cspP*, two cold inducible genes from *Lactobacillus plantarum*. *J Bacteriol*. 179:3039-3042.
- Moscoso M y Suárez JE (2000). Characterization of the DNA replication module of bacteriophage A2 and use of its origin of replication as a defense against infection during milk fermentation by *Lactobacillus casei*. *Virology*. 273:101-111.
- Ribelles P, Rodríguez I y Suárez JE (2011). LysA2, the *Lactobacillus casei* bacteriophage A2 lysin is an endopeptidase active on a wide spectrum of lactic acid bacteria. *Appl Microbiol Biotech*. 92: (en prensa).
- Rodríguez I, García P y Suárez JE. (2005). A second case of -1 ribosomal frameshifting affecting a major virion protein of the *Lactobacillus* bacteriophage A2. *J Bacteriol*. 187:8201-8204.
- Soberon N, Martín R y Suárez JE (2007). New method for evaluation of genotoxicity, based on the use of real-time PCR and lysogenic Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 73: 2815-2819.
- Turner DL, Brennan L, Meyer HE, Lohaus C, Siethoff C, Costa H, González B, Santos H y Suárez JE (1999). Solution structure of plantaricin C, a novel lantibiotic. *Eur J Biochem*. 264:833-839.

Nuevas tecnologías de conservación e higienización de los alimentos

Santiago Condón

Dept P.A.C.A.-Tecnología de los alimentos. Fd. Veterinaria. Univ. Zaragoza.
C/ Miguel Servet, 177; 50013-Zaragoza. scondon@unizar.es

Nuestro grupo de investigación fue clasificado como “grupo de excelencia de Aragón” (DGA-A20) en el año 2005, el único por aquellas fechas con esta categoría en la macroárea “Agroalimentaria”. En la actualidad está compuesto por tres catedráticos (S. Condón, J. Raso y R. Pagán), dos profesores titulares (P. Mañas y I. Álvarez), un contratado doctor (D. García) y siete becarios predoctorales (G. Saldaña, S. Monfort, E. Gayán, M^a J. Serrano, L. Espina, E. Luengo y A. Ait Ouazzou), todos adscritos al área de Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Zaragoza.

OBJETIVO GENERAL DEL GRUPO

El objetivo general del grupo es el estudio de las bases biológicas de los nuevos métodos de inactivación microbiana para, a través del conocimiento adquirido, diseñar nuevos procesos de conservación de los alimentos, sanitariamente más seguros y tecnológicamente más adecuados.

Las toxiinfecciones alimentarias constituyen en la actualidad un enorme problema sanitario, incluso en los países desarrollados. En Estados Unidos se producen al año cerca de 76 millones de casos de enfermedades de origen alimentario (1 de cada 4 personas). Si consideramos que este país elabora las estadísticas más fiables del mundo en este campo, y que los expertos asumen que solamente una mínima parte de los casos son denunciados, podremos obtener una imagen aproximada de la magnitud del problema. En la actualidad el único método de conservación de los alimentos que simultáneamente garantiza su seguridad sanitaria es el calor; sin embargo, se ha demostrado que diversas especies microbianas patógenas son capaces de sobrevivir a los actuales tratamientos térmicos; además, alimentos aparentemente correctamente pasterizados han sido responsables de graves toxiinfecciones alimentarias. El principal problema de los tratamientos térmicos radica en su inespecificidad, dado que, al tiempo que inactivan microorganismos y enzimas, producen una serie de cambios químicos en los componentes de los alimentos cuyas consecuencias son la pérdida de su calidad nutritiva, sensorial y funcional. Esta circunstancia impide, en muchas ocasiones, aumentar la intensidad de los tratamientos actualmente utilizados y, por tanto, su seguridad sanitaria.

Por otra parte, los cambios en los hábitos de consumo y la mayor preocupación del ciudadano medio por la calidad de los alimentos que consume han inducido a la industria alimentaria al desarrollo de nuevos productos mínimamente procesados. Una de las principales limitaciones para la expansión industrial en este campo es la inexistencia de métodos de conservación e higienización adecuados que, asegurando la conservación y salubridad de estos alimentos, afecten mínimamente a su calidad. Por todas estas razones la Tecnología de los Alimentos está realizando en la actualidad un enorme esfuerzo para el desarrollo de nuevos métodos de conservación e higienización de los alimentos. Algunas de las tecnolo-

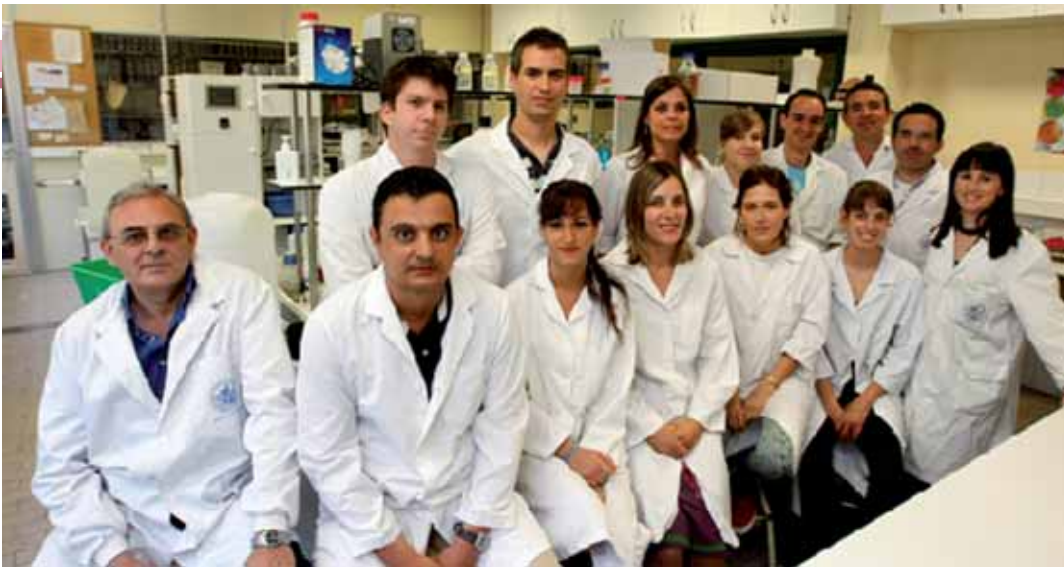
gías propuestas, como las altas presiones, están empezando a utilizarse; en tanto que otras, como los ultrasonidos y los campos eléctricos pulsantes, se encuentran en una fase incipiente de desarrollo. El principal problema para el estudio sistemático de estas nuevas tecnologías es la diversidad de aspectos a investigar: mecanismos de inactivación, mecanismos de daño y recuperación, cinética de inactivación/modelización, factores que afectan a la resistencia, influencia de diversos parámetros en la eficacia letal de los tratamientos, etc.; y sus interacciones, lo que dificulta enormemente la comparación de los resultados.

Nuestro grupo fue pionero en el estudio de estos nuevos métodos de inactivación microbiana en Europa, ha diseñado y patentado un nuevo proceso de conservación/higienización basado en la aplicación de ultrasonidos, colabora con distintos grupos de investigación radicados en Europa y Estados Unidos, y ha formado a sus miembros, en los aspectos que se consideran más importantes, en algunos de los centros más prestigiosos en este campo. Por el momento nuestros esfuerzos están centrados en el estudio de la conservación por altas presiones, ultrasonidos, campos eléctricos pulsantes, radiaciones ultravioleta, y por procesos combinados basados en estas tecnologías. Nuestro método de trabajo consiste en estudiar las bases biológicas en las que se basan estas tecnologías, el diseño de nuevos procesos y, como último paso, la realización de investigaciones de demostración tecnológica para su transferencia al sector industrial.

IMPACTO (CIENTÍFICO, TECNOLÓGICO, SOCIAL) DE LA ACTIVIDAD DEL GRUPO

Línea 1: Conservación de los alimentos por calor

Nuestro grupo es uno de los de más sólida y prolongada trayectoria del mundo en este campo: nuestras primeras investigaciones se remontan a hace más de 25 años. Hemos contribuido de forma relevante tanto en el campo metodológico como en el científico. En el campo metodológico, hemos diseñado un instrumento para las determinaciones de termorresistencia microbianas y enzimáticas y un nuevo método de recuento de supervivientes. Nuestro termorresistómetro, patentado por la Universidad de Zaragoza (Pat. 87/00948), se usa actualmente en diversos laboratorios extranjeros y nacionales (Univ. Quimper, Francia; Unilever Res. Lab., UK; Univ. León, Univ. Cartagena). En el campo científico hemos contribuido con más de 30 publicaciones internacionales. Estas contribuciones prácticamente incluyen todos los temas de interés, desde el efecto de diversos factores ambientales en la resistencia, hasta los mecanismos de resistencia o la cinética de inactivación. Nuestros datos, ampliamente citados en la bibliografía, han sido utilizados por otros autores para el desarrollo de modelos predictivos, tal es el caso del Prof. Mafart de la Univ. de Quimper.



Grupo de "Nuevas Tecnologías de Conservación e Higiene de los Alimentos" en uno de sus laboratorios de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza. Junio, 2011.

Línea 2: Nuevas tecnologías

Nuestras investigaciones en este campo se iniciaron hace 15 años aproximadamente. El grupo ha colaborado en la puesta a punto y evaluación de un nuevo equipo para la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje, diseñado en la Universidad Tecnológica de Berlín (Prof. D. Knorr). Este equipo ha sido instalado de forma permanente en nuestro laboratorio y en la actualidad es, a escala mundial, el que permite un mejor control de los parámetros de tratamiento. Se ha explorado la resistencia frente a esta tecnología de distintas especies microbianas, su cinética de inactivación y la influencia de distintos parámetros en la eficacia del proceso. Estas investigaciones han dado lugar a más de 30 publicaciones internacionales. Hemos explorado también la aplicación de esta tecnología para el diseño de procesos de extracción asistida, campo en el que hemos colaborado con una de las mayores multinacionales españolas del sector, y hemos obtenido ya una primera patente. Dentro de este campo hemos recibido los premios a la mejor comunicación del XV y XVI Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos, a la mejor comunicación en la reunión científica internacional TCD training NOVELQ, y, recientemente, a la mejor Tesis Doctoral del Consejo Económico y Social de Aragón.

Línea 3: Conservación de Alimentos por Procesos Combinados

Nuestro grupo ha diseñado un nuevo proceso de conservación de los alimentos basado en la aplicación simultánea de ultrasonidos bajo presión y calor, al que hemos denominado manotermosonificación. En el aspecto científico hemos realizado a lo largo de los últimos diez años un estudio sistemático sobre la resistencia de especies microbianas de referencia frente al proceso, hemos establecido los parámetros determinantes de su eficacia, su mecanismo de acción y la cinética de inactivación. Estas investigaciones han dado lugar a más de 20 publicaciones internacionales de prestigio. En la actualidad esta tecnología aparece descrita en las obras más destacadas en el campo de las nuevas tecnologías de conservación de los alimentos. El proceso fue patentado por la Univ. de Zaragoza (Pat. 92-00686; PCT/93/00021), y los derechos de explotación adquiridos por una de las cinco mayores empresas del mundo del sector agroalimentario. Por otra parte, una de nuestras investigaciones en este campo obtuvo el 1^{er} premio a la Innovación en el Área de Salud, de la Fundación 3M. En la actualidad hemos abierto una línea para el estudio de procesos combinados con antimicrobianos naturales, y otra para el estudio de la adaptación microbiana al estrés.

Otras aportaciones de interés

Los últimos 10 años hemos trabajado en una línea colateral enfocada al diseño de test de cribado de base biológica para la detección de antibióticos en alimentos. Fruto de estos años de trabajo ha sido el desarrollo de una serie de test, bajo la denominación genérica de "Eclipse", que comercializa la empresa ZEU-Inmunotec. Estos test son líderes en el mercado nacional para el análisis de leche de oveja, uno de ellos fue autorizado como método oficial de análisis en Francia, y se exporta a más de 20 países. Actualmente se están lanzando al mercado dos nuevos test, "Explorer" y "Gold", específicos para el análisis de carne que han sido evaluados positivamente por el laboratorio europeo de referencia. Obtuvimos en esta línea el 1^{er} premio de la Fundación Coris Grouart a las investigaciones en campos relacionados con las Ciencias Veterinarias. Este mismo año el test "Eclipse" ha sido seleccionado en concurso público como el método oficial de análisis por la asociación francesa de productores de leche de oveja, que lo usarán de forma rutinaria durante los próximos tres años.

ALGUNAS PUBLICACIONES RECIENTES

- Cebrián G, Sagarzazu N, Pagán R, Condón S and Mañas P (2010). Development of stress resistance in *Staphylococcus aureus* after exposure to sublethal environmental conditions. *Int J Food Microbiol.* 140:26-33.
- Cebrián G, Michiels C, Mañas P and Condón S (2010). Biological approach to modeling of *Staphylococcus aureus* high hydrostatic pressure inactivation kinetics. *Appl Environ Microbiol.* 76:6982-6990.
- Monfort S, Gayán E, Raso J, Condón S and Álvarez I (2010). Evaluation of pulsed electric fields technology for liquid whole egg pasteurization. *Food Microbiol.* 27:845-852.
- Puertolas E, López N, Condón S, Álvarez I and Raso J (2010). Potential applications of PEF to improve red wine quality. *Trends Food Sci and Technol.* 21:247-255.
- Sagarzazu N, Cebrián G, Condón S, Mackey B and Mañas P (2010). High hydrostatic pressure resistance of *Campylobacter jejuni* after different sublethal stresses. *J Appl Microbiol.* 109:146-155.
- Sagarzazu N, Cebrián G, Pagán R, Condón S and Mañas P (2010). Resistance of *Campylobacter jejuni* to heat and to Pulsed Electric Fields. *Inn Food Sci Emerg Technol.* 11:283-289.
- Saldaña G, Puertolas E, Condón S, Álvarez I and Raso J (2010). Modeling inactivation kinetics and occurrence of sublethal injury of a pulsed electric fields-resistant strain of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium* in media of different pH. *Inn Food Sci Emerg. Technol.* 11:290-298.
- Saldaña G, Puertolas E, Álvarez I, Meneses N, Knorr D and Raso J (2010). Evaluation of a static treatment chamber to investigate kinetics of

microbial inactivation by pulsed electric fields at different temperatures at quasi-isothermal conditions. *J Food Eng.* 100:349-356.

Somolinos M, García D, Mañas P, Condón S, Pagán R (2010). Organic acids make *Escherichia coli* more resistant to Pulsed Electric Fields at acid pH. *Int J Food Microbiol.* 136:381-384.

Arroyo C, Cebrián G, Pagán R and Condón S (2011). Inactivation of *Cronobacter sakazakii* by ultrasonic waves under pressure in buffer and foods. *Int J Food Microbiol.* 144:446-454.

Arroyo C, Cebrián G, Mackey BM, Condón S and Pagán R (2011). Environmental factors influencing the inactivation of *Cronobacter sakazakii* by high hydrostatic pressure. *Int J Food Microbiol.* 147: 134-143.

Gayán E, Monfort S, Álvarez I and Condón S (2011). UV-C inactivation of *E. coli* at different temperatures. *Inn Food Sci Emerg Technol.* 12:531-541.

Grupo Fermentos Lácticos y Bioconservación (DairySafe)

Ana Rodríguez González, Beatriz Martínez Fernández y Pilar García Suárez
Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC). 33300-Villaviciosa, Asturias, España

El grupo de investigación inició su andadura con la inauguración del IPLA-CSIC en 1990 promovido por la Dra. Ana Rodríguez González (Investigador Científico del CSIC) quien, junto a la Dra. Beatriz Martínez (Científico Titular del CSIC) y la Dra. Pilar García Suárez (Científico Titular del CSIC), forma actualmente el núcleo científico del mismo. Asimismo, forman parte del grupo el personal técnico (1 Titulado Superior, 2 Titulados Técnicos y 1 JAE-Tec CSIC) y 4 becarias predoctorales.

La actividad investigadora se enmarca en la línea estratégica del IPLA-CSIC denominada: "Calidad y Seguridad de Productos Lácteos", y se articula en 2 líneas de trabajo: *Fermentos específicos de nuevo diseño para la industria láctea* y *Antimicrobianos naturales con potencial biotecnológico*.

FERMENTOS ESPECÍFICOS DE NUEVO DISEÑO PARA LA INDUSTRIA LÁCTEA

La gran producción quesera artesanal de Asturias fue determinante para iniciar la primera línea de trabajo, orientada a proporcionar a cada queso su "seña de identidad" mediante la selección de aquellas bacterias lácticas silvestres, aisladas de los propios

quesos, que contribuyen a potenciar sus características particulares. Nuestra colección de bacterias lácticas es fruto de la caracterización microbiológica de quesos artesanales asturianos (*Gamoneu*, *Afuega'l Pitu*, *Los Beyos*) y refleja la biodiversidad presente en los quesos artesanales de nuestra región (Figura 1). Las características tecnológicas estudiadas tales como capacidad de acidificación, actividad proteolítica, lisogenia, producción de compuestos aromáticos, de exopolisacáridos, actividad antimicrobiana y resistencia a bacteriófagos, han permitido seleccionar las más adecuadas para formar parte de cultivos iniciadores (fermentos autóctonos). Entre los logros de esta línea de trabajo cabe destacar el diseño de un fermento mixto autóctono para el queso *Afuega'l Pitu*, queso de coagulación ácida producido en Asturias, que está siendo comercializado (IPLA 001 500) por la empresa BIO-GES Starters. Además, el grupo ha definido las condiciones de conservación de este queso en atmósfera protectora, en colaboración con la Quesería La Figar (La Foz, Morcín, Asturias), lo que se ha traducido en un notable aumento de su vida útil.

Actualmente colaboramos con el Profesor José Antonio Otero (Universidad de Cantabria) en la selección de bacterias lácticas



Miembros del Grupo DairyDafe en 2011. De izquierda a derecha y en fila trasera: Beatriz Martínez Fernández, Pilar García Suárez, Roxana Calvo Méndez (Técnico Superior), Diana Gutiérrez Fernández (Becaria FPI), Lorena Rodríguez Rubio (Becaria Programa Severo Ochoa, Principado de Asturias) y Ana Rodríguez González; en fila delantera: Silvia Portilla Vázquez (Becaria CONACIT, México), Diana Lueces Quesada (JAE-Tec CSIC), Pablo González Pérez (Técnico Superior), Clara Rocés Rodríguez (Becaria JAE-Pre CSIC) y Ana Belén Campelo Diez (Titulado Superior).

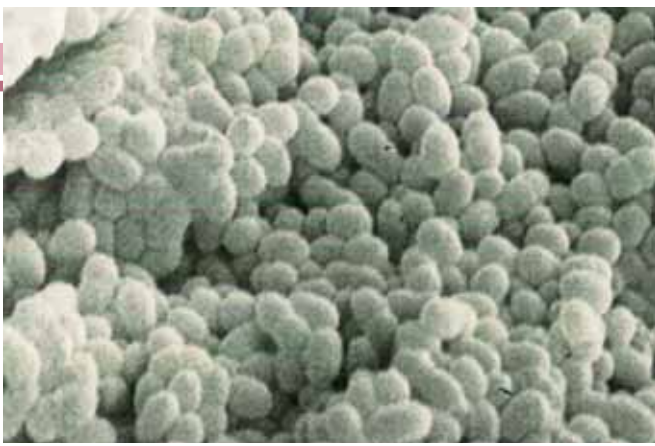


Fig. 1. Micrografía de la cepa *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IPLA1029 aislada de queso.

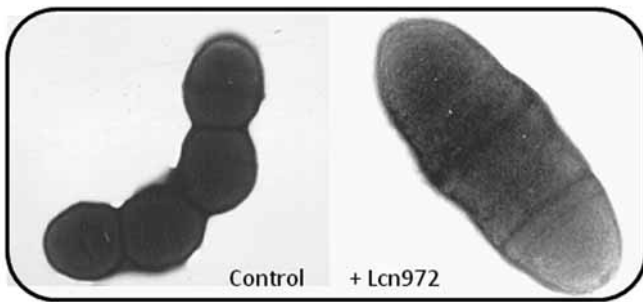


Fig. 2. Visualización (microscopio electrónico de transmisión) de los cambios estructurales provocados por la bacteriocina Lcn972 en *Lactococcus lactis* (en Martínez et al. (2000). Microbiology 146: 949-955).

silvestres, capaces de producir altas cantidades de ácido láctico utilizando como sustrato subproductos de la industria láctea.

ANTIMICROBIANOS NATURALES CON POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Esta línea de trabajo plantea el uso de antimicrobianos naturales (bacteriocinas producidas por bacterias lácticas, bacteriófagos y sus enzimas líticos) con objeto de inhibir los microorganismos indeseables que puedan comprometer la seguridad y la calidad de los productos lácteos. Hemos aislado cepas de *Lactococcus lactis* productoras de nisina Z, lacticina 481 y lactococina 972 (Lcn972), y de *Lactobacillus paraplantarum* productoras de coagulina A, una variante natural de la pediocina PA-1, y se ha optimizado su producción en biorreactor. La incorporación de una cepa productora de nisina Z a una mezcla de cepas mesófilas acidificantes y aromáticas ha permitido el diseño de un cultivo iniciador protector eficaz en el control del desarrollo de bacterias alterantes (*Clostridium tyrobutyricum*) y patógenas (*Staphylococcus aureus*) en quesos de pasta lavada y coagulación ácida. Cabe señalar además que la bacteriocina Lcn972 inhibe la formación del septo durante la división celular en lactococos, un modo de acción único que utilizamos como herramienta para el diseño de nuevos antimicrobianos (Figura 2).

Más recientemente, hemos incorporado a esta línea de trabajo el uso de bacteriófagos y de sus enzimas líticos (endolisinas y peptidoglicano hidrolasas) como nuevos agentes de biocontrol en la cadena alimentaria. Disponemos de una colección de bacteriófagos que infectan a distintas cepas de *S. aureus* aisladas del ambiente lácteo (Figura 3). La especificidad de los bacteriófagos permite destruir selectivamente bacterias patógenas o

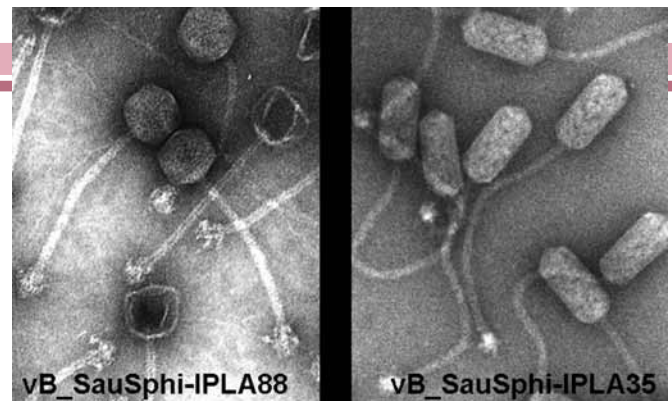


Fig. 3. Bacteriófagos que infectan *Staphylococcus aureus* de origen lácteo.

alterantes sin afectar a la microbiota endógena de un determinado hábitat. De este modo, hemos sido pioneros en el control de *S. aureus* en leche y queso con bacteriófagos y sus enzimas líticos así como su uso combinado con bacteriocinas.

A lo largo de su trayectoria, este grupo ha mantenido numerosas colaboraciones con distintos investigadores españoles entre las que tiene un papel destacado el Profesor Juan Evaristo Suárez Fernández (Área de Microbiología, Universidad de Oviedo), cuyo grupo de investigación (Bacterias del Ácido Láctico) es Unidad Asociada al CSIC a través de nuestro Instituto desde 1996. Las colaboraciones con la Dra. Covadonga Barbés Miguel (Área de Microbiología, Universidad de Oviedo), el Dr. Rufino Jiménez Díaz y el Dr. Antonio Garrido Fernández (Instituto de la Grasa, CSIC. Sevilla) han dado lugar a artículos conjuntos. Asimismo, hemos colaborado con la Dra. Eva Valdivia Martínez y el Dr. Manuel Martínez-Bueno (Departamento de Microbiología, Universidad de Granada).

La colaboración con investigadores argentinos (Dra. Font, Dra. Savoy, Dra. Pesce y Dr. Siñeriz) de los centros CERELA y PROIMI (San Miguel de Tucumán, Argentina) ha sido muy intensa en los primeros años de actividad del grupo. Desde época más reciente colaboramos con el Dr. Kuipers (Universidad de Goningen, Holanda), el Dr. Sahl (Universidad de Bonn, Alemania), el Dr. Turner y la Dra. Rute (ITQB, Oeiras, Portugal), el Dr. Donovan (ARS-USDA, Maryland, USA), el Dr. Lavigne (Universidad de Leuven, Bélgica) y el Dr. Hudson (Microbiology and Molecular Biology Christchurch Science Centre, Nueva Zelanda).

En los últimos 5 años nuestra actividad investigadora ha estado financiada por proyectos del Plan Nacional de I+D+i (MICIIN), del Plan de Ciencia, Tecnología e Innovación (PCTI) del Principado de Asturias y de la UE (FP7). Hemos establecido también convenios con las administraciones públicas (Universidad de Cantabria, Mancomunidad del Oriente del Principado de Asturias) y con empresas (Quesería Artesana La Figar, Nestlé-NRC). La actividad investigadora se ha traducido en la presentación de 30 comunicaciones a congresos nacionales e internacionales, y en la publicación de 32 artículos SCI, 9 no SCI y 5 capítulos de libro. Asimismo, se han defendido 2 Tesis Doctorales, 2 Diplomas de Estudios Avanzados (DEA), 2 Tesinas y 3 Proyectos de Master.

Los miembros del grupo participan en Redes Temáticas (Bacterias lácticas en la salud humana y calidad alimentaria, y Genómica Bacteriana) y en actividades formativas: cursos dirigidos al sector lácteo, Programas de Doctorado y Masters en distintas Universidades (Oviedo, Pablo de Olavide-Sevilla, Autónoma de Madrid, La Rioja) y cursos de Extensión Universitaria (Universidad de Oviedo).

Finalmente, queremos destacar la experiencia en actividades I+D del grupo, al haber asumido la Presidencia del Comité Organizador del XII Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos (SEM), celebrado en Oviedo en el año 2000.

ALGUNAS PUBLICACIONES REPRESENTATIVAS:

- Rilla N, Martínez B, Delgado T y Rodríguez A (2003). Inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* in Vidiago cheese by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* IPLA 729, a nisin Z producer. *Int J Food Microbiol.* 85:23-33.
- Sánchez JI, Martínez B y Rodríguez A (2005). Rational selection of *Leuconostoc* strains for mixed starters based on the physiological biodiversity found in raw milk fermentations. *Int J Food Microbiol.* 105:377-387.
- Sánchez JI, Martínez B, Guillén R, Jiménez-Díaz R and Rodríguez A (2006). Culture conditions determine the balance between two different exopolysaccharides produced by *Lactobacillus pentosus* LPS26. *Appl Environ Microbiol.* 72:7495-7502.

- Martínez B, Zomer A, Rodríguez A, Kok J y Kuipers OP (2007). Cell envelope stress induced by the bacteriocin Lcn972 is sensed by the lactococcal two component system CesSR. *Mol Microbiol.* 64:473-486.
- García P, Madera C, Martínez B y Rodríguez A (2007). Biocontrol of *Staphylococcus aureus* in curd manufacturing processes using bacteriophages. *International Dairy J.* 17:1232-1239.
- García P, Rodríguez L, Rodríguez A and Martínez B (2010). Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. *Trends in Food Sci Technol.* 21:373-382.
- Rodríguez L, Martínez B, Zhou Y, Rodríguez A, Donovan DM y García P (2011). Lytic activity of the virion-associated peptidoglycan hydrolase HydH5 of *Staphylococcus aureus* bacteriophage vB_SauS-phi-PLA88. *BMC Microbiol.* 11:138.

Desarrollo y evaluación de métodos de detección, caracterización y eliminación de microorganismos en la industria alimentaria

ainia

centro tecnológico

David Tomás, Amparo de Benito, Alejandro Rodrigo, Sonia Marco, Sonia Porta, Laura Verdú, Irene Llorca y Rafael Soro.

Ainia. Centro tecnológico. Parque Tecnológico de Valencia.
C/Benjamin Franklin 5-11 46980 Paterna (Valencia)

www.ainia.es

El grupo de microbiología de alimentos de ainia cuenta con más de 25 técnicos e investigadores procedentes de diferentes disciplinas académicas y que trabajan en un amplio rango de tecnologías, que implican desde las técnicas analíticas propias de laboratorio hasta aspectos relacionados con la ingeniería de procesos o equipamiento e higiene industrial.

En este sentido y con el principal objetivo de contribuir a la innovación y desarrollo tecnológico de las industrias alimentarias, se trabajan en diferentes líneas de una forma multidisciplinar, entre las que podemos destacar:

- Desarrollo de métodos rápidos para detección de microorganismos de riesgo.
- Estudios de conservación y modelización de técnicas de inactivación de microorganismos.
- Higiene y diseño higiénico en la industria alimentaria. Evaluación de biofilms.
- Normalización y validación de métodos analíticos convencionales y alternativos.

El grupo cuenta con el reconocimiento como Agente Investigador en riesgos biológicos en la Plataforma de Investigación de Seguridad Alimentaria (PISA N°-23) de la D. G. de Salud Pública de la Generalitat Valenciana, así como participa en el Grupo de Seguridad Alimentaria de la Plataforma Food for Life Spain.

DESARROLLO DE MÉTODOS RÁPIDOS PARA DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS

La detección y caracterización rápida y automatizada de microorganismos de interés en la industria alimentaria

suponen una herramienta clave para garantizar la seguridad de los mismos, reducir costes y conocer en mayor profundidad los microorganismos implicados en los procesos de producción de alimentos.

Las principales tecnologías que se emplean para esta aplicación son técnicas moleculares basadas tanto en PCR convencional, como en PCR a Tiempo Real PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) y DGGE (Denaturalization Gradient Gel Electrophoresis) para la detección y caracterización de bacterias, virus entéricos y hongos. También se han puesto a punto técnicas de Rep-PCR, habiendo tipificado más de 500 cepas de *Salmonella* de más de 180 serotipos diferentes así como la tipificación de levaduras implicadas en el proceso de fermentación de la aceituna.

Así mismo cuenta entre sus infraestructuras con un laboratorio de contención biológica de nivel P-3.

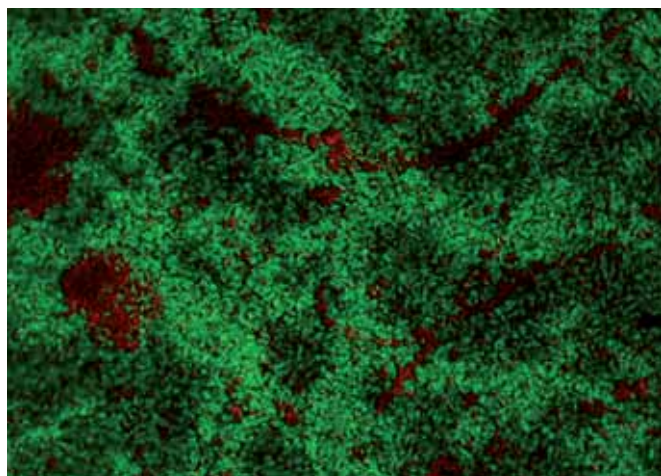
ESTUDIOS DE CONSERVACIÓN Y MODELIZACIÓN DE TÉCNICAS DE INACTIVACIÓN DE MICROORGANISMOS

El aseguramiento de la calidad microbiológica de los alimentos, depende en muchos casos de la aplicación de tratamientos de inactivación de microorganismos, que pueden darse tanto en el alimento como en los envases que los contienen.

Los tratamientos que comúnmente se aplican en la industria, tienen diversas limitaciones, por lo que se han desarrollado estudios para evaluar diferentes tecnologías convencionales (tratamientos térmicos, aditivos...) así como soluciones alternativas (ozono, UV pulsado, CO₂ supercrítico, envases activos, extractos naturales...) y tratamientos combinados de las mis-



Vista general del laboratorio de microbiología. Parque tecnológico. Valencia.



Biofilm de *P. aeruginosa* (63x); en verde: células viables; en rojo: células dañadas.

mas tanto sobre los alimentos (lácteos, bollería, encurtidos, especias, cárnicos...) como en material de envasado, incluyendo la realización de "challenge test" así como de modelos predictivos entre los que destaca el modelo para predecir a lo largo de la vida útil de productos cárnicos cocidos la evolución de *Listeria monocytogenes*, que se ha desarrollado a medida para una empresa de conservantes.

HIGIENE Y DISEÑO HIGIÉNICO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y EVALUACIÓN DE BIOFILMS

Uno de los elementos clave para garantizar la inocuidad de los alimentos, es la higiene industrial y el diseño higiénico de los equipos incluyendo su aptitud para ser limpiados y desinfectados con facilidad o "limpiabilidad".

En esta línea a día ha puesto a punto y acreditado un método internacional que consiste en someter al equipo a evaluar a un ensuciamiento controlado con leche agria y esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, limpiando posteriormente el equipo de una manera controlada y evaluando el residuo mediante el recubrimiento e incubación de las superficies del equipo con un medio de crecimiento selectivo. La validez de los resultados ha permitido que a día sea uno de los cinco centros en el mundo autorizados en los procesos de certificación EHEDG (European Hygienic Equipment Design Group)

Asimismo, uno de los principales problemas relacionados con la higiene industrial es la capacidad de los microorganismos de agregarse y adherirse a las superficies produciendo biofilms. Entre las líneas de investigación en este campo, se dispone de un sistema experimental con reactores de flujo continuo y régimen turbulento (CDC Reactor, *Biosurface Technologies*, USA), para desarrollar biofilms a escala de labora-

torio así como los métodos analíticos para monitorizar su formación y destrucción con técnicas de recuento de la biomasa, así como microscopía óptica, epifluorescencia y microscopía láser confocal.

Esta tecnología también se emplea para el desarrollo de técnicas rápidas y automatizadas para la detección de biofilms formados por *Listeria monocytogenes* en la industria, mediante sistemas que integran el sistema de toma de muestra en superficies con la detección del microorganismo con biosensores e iluminación láser y medida de fluorescencia.

NORMALIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE REFERENCIA Y ALTERNATIVOS

La implantación de métodos normalizados y alternativos tanto en los laboratorios de autocontrol como en los laboratorios públicos y privados son piezas clave tanto desde un punto de vista legal como económico y comercial. En este área, a día desarrolla una intensa actividad, mediante la participación de sus técnicos como expertos en diferentes entidades como AENOR, CEN, ISO, ENAC y la propia SEM a través de la Comisión de Normalización y Validación.

Dentro de este campo se realiza la tarea de coordinación del Grupo Técnico de Contaminación Microbiana de AENOR (Ref. AEN/CTN 34/SC 4/GT6) y así como la representación española en el Comité Europeo de Normalización (Ref.: CEN/TC 275/WG 6) y la Organización Internacional de Normalización (Ref. ISO/TC34/SC09)

Desde el punto de vista de investigación en aspectos normativos, se lidera el proyecto para la futura norma ISO para detección de *Alicyclobacillus* en zumos (ISO/TC34/SC/09/WG12) así como se participa como expertos en la revisión y desarrollo de normas para validación de métodos microbiológicos (ISO/TC34/SC/09/WG03). En este último campo, se han realizado diversos proyectos de validación de métodos alternativos basados en diversas técnicas (impedancia, PCR, ELISA, citometría...) según la Norma ISO 16140:2003.

BIBLIOGRAFÍA

- De Benito A, Roa Y y Tomás D (2009). Desarrollo de modelos predictivos para la evaluación de un conservante frente a *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos cocidos loncheados. *Eurocarne*. 178:66-72.
- De Benito A, Padula NL, Setlow B y Setlow P (2008). Sensitization of *Bacillus subtilis* spores to dry heat and desiccation by pre-treatment with oxidizing agents. *Lett Appl Microbiol*. 46:492-497.
- Tomás D, Rodrigo A, Hernandez M, Ferrús MA (2009). Validation of Real-Time PCR and Enzyme-Linked Fluorescent Assay-Based Methods for Detection of *Salmonella* spp. in Chicken Feces Samples. *Food Anal Meth*. 2:180-189.
- Miñambres R, Rodrigo A, Villa-Carvajal M, García-Reverter J, Tomás D (2007). Molecular characterization and recuperation of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from dry cured meat products. *J Biotechnol*. 131:51:235.

Grupo de Tecnología de Alimentos de Origen Animal

Grupo 920276 de la UCM (equipos 1, 3 y 4)

Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos.
Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense. 28040. Madrid.

ANTECEDENTES Y COMPOSICIÓN DE LOS EQUIPOS DEL GRUPO 920276 DE LA UCM

En 1978 empezó a gestarse un grupo de investigación que desarrollaba líneas incluidas en la disciplina de Tecnología de los Alimentos. Entre ellas, había algunas donde los microorganismos eran los protagonistas (conservación de alimentos, seguridad alimentaria y microorganismos tecnológicos). El grupo se fue consolidando con científicos que accedían a profesores numerarios (catedráticos y titulares) y temporalmente se integraban, becarios, doctorandos, ayudantes y asociados. Al constituirse el grupo 920276 UCM de la Comunidad de Madrid en 2004, se organizaron varios equipos con arreglo a las líneas de investigación que cultivan en ese momento. Unos trabajan en el enriquecimiento de carnes con ácidos grasos poliinsaturados n-3, algunos en sustancias bioactivas y alimentos funcionales, otros en líneas relacionadas con microorganismos (aspectos bioquímicos y microbiológicos de la maduración de embutidos, seguridad alimentaria y variabilidad microbiana) y, recientemente, el equipo 1 ha conseguido un nuevo proyecto (I.P. M.I Cambero) orientado al estudio de ensayos de tensión y adhesión de alimentos RTE con el objetivo de mejorar su envasado.

Tres miembros del equipo 1 del grupo 920276 vienen trabajando conjuntamente bajo la dirección de Ordóñez desde que de la Hoz primero (1983) y Cambero después (1987) alcanzaron el grado de doctor. Más tarde se agregó Cabeza (2000). Con la muerte de L. de la Hoz el 31/03/2011 quedó menguado el equipo a tres investigadores permanentes aunque actualmente también forman parte del mismo una ayudante (Manzano), dos contratadas (Escudero y Velasco) y una becaria FPI (García-Márquez). El equipo 2, coordinado por las profesoras M.D. Selgas (catedrática) y M.L García, (Prof. Titular) desarrolla el tema de sustancias bioactivas y diseño de alimentos funcionales, ajeno al mundo microbiano. El equipo 3, coordinado por el catedrático García de Fernando, está constituido por los contratados Aguirre y Rodríguez y el equipo 4 está constituido por las profesoras Titulares Fernández y Hierro que se encargan de los estudios acerca de la aptitud de pulsos de luz para higienizar alimentos RTE.

ACELERACIÓN DEL PERIODO DE MADURACIÓN DE EMBUTIDOS Y/O POTENCIACIÓN DE SABOR Y AROMA DE LOS MISMOS (EQUIPOS 1 Y 4)

Ordóñez, de la Hoz y Cambero han venido trabajando en los últimos lustros, junto a otros investigadores actualmente en otros destinos, en el acortamiento del periodo madurativo y/o potenciación del sabor y aroma de embutidos crudos curados mediante la adición de proteinasas y lipasas de origen microbiano o no. Concluyeron que son muy útiles para fragmentar

las proteínas o liberar ácidos grasos libres, respectivamente, pero no se traduce en un aumento de las propiedades sensoriales (sabor y olor) del producto final. Concluyeron también que era necesario potenciar la transformación de aminoácidos libres mediante desaminaciones oxidativas y descarboxilaciones y la degradación oxidativa de ácidos grasos libres para la generación de sustancias volátiles (aldehídos, metilcetonas, alcoholes, ácidos de cadena corta, etc.). En la actualidad puede considerarse el proyecto como finalizado. Se citan los dos últimos artículos a modo de ejemplo.

BIBLIOGRAFÍA

- Herranz B, Fernández M, Bruna JM, Ordóñez JA and Hoz L (2003). Use of *Lactococcus lactis*, subsp. *cremoris* NCDO-763 and α -ketoglutarate to improve the sensory quality of dry fermented sausages. *Meat Sci.* 66:151-163.
- Herranz B, Fernández M, Hoz L y Ordóñez JA (2006). Use of bacterial extracts to enhance amino acid breakdown in dry fermented sausages. *Meat Sci.* 72:318-325.

HIGIENIZACIÓN DE ALIMENTOS MEDIANTE TECNOLOGÍAS NO TÉRMICAS

a) Higienización de huevos enteros mediante termoultrasonificación (equipo 1)

Es bien conocido el problema de salud pública que representa la presencia de salmonelas en la cáscara de huevo. Las salmonelas son bacterias termolábiles por lo que se pueden destruir mediante tratamientos térmicos muy suaves (p.e.: 54 °C, 10 – 20 minutos). Sin embargo, muchos componentes de la clara y yema son también muy sensibles al calor. Por ello, la pasteurización de huevos enteros no se ha aplicado industrialmente ya que puede provocar una pérdida de algunas de las propiedades funcionales de los componentes del huevo (formación de espuma, estabilidad de la misma, actividad emulsionante, capacidad de gelificación, etc.). El equipo había demostrado antes que la aplicación simultánea de ultrasonidos y tratamientos térmicos (termoultrasonificación) sensibiliza a algunos microorganismos (p.e. *S. aureus*) frente a la acción letal del calor. Se inició un estudio para saber si *S. enterica* serovar Enteritidis (la más frecuente en la cáscara del huevo) y *S. Senftenberg* (la más termorresistente) respondían de la misma forma que *S. aureus* al someterlas a termoultrasonificación. Se observó un mismo efecto, con la posibilidad de reducir las salmonelas presentes potencialmente en la cáscara a niveles estadísticamente despreciables y lograr el objetivo de seguridad alimentaria. Se hizo un estudio adicional para saber qué consecuencias tenía el tratamiento en las propiedades funcionales del huevo, llegando a la conclusión que eran imperceptibles. Se citan algunos artículos sobre el tema.

BIBLIOGRAFÍA

- Cabeza MC, Ordóñez JA, Cambero I, de la Hoz L and García ML. 2004. Elimination of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis from the intact shell eggs by termoultrasonic treatment. *J Food Protection*. 67:1886-1891.
- Cabeza MC, García ML, de la Hoz L, Cambero I and Ordóñez JA. 2005. Destruction of *Salmonella* Senftenberg on the shells of intact eggs by termoultrasonication. *J Food Protection*. 68:841-844.
- Cabeza MC, García ML, de la Hoz L, Cambero I y Ordóñez JA. 2005. Termoultrasonication eliminates *Salmonellae* from intact egg shells without changing the functional properties of their components. *J Food Sci*. 70:292-295.
- Cabeza MC, Cárcel JA, Ordóñez JA, Cambero I, de la Hoz L, García ML y Benedito J. 2010. Relationships among selected variables affecting the resistance of *Salmonella enterica*, serovar Enteritidis to thermosonication. *J Food Engineering*. 98:71-75. 153.
- Cabeza MC, Cambero MI, de la Hoz L, García ML and Ordóñez JA. 2011. Effect of the termoultrasonic treatment on the eggshell integrity and their impact on the microbial quality. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 12:111-117.

b) Uso de electrones acelerados para la higienización de alimentos listos para su consumo (equipo 1)

La elaboración de alimentos listos para su consumo (RTE) se ha convertido en una práctica muy común para la comercialización de distintos productos en raciones individuales o familiares. Basta echar un vistazo a cualquier supermercado y se comprobará la ingente cantidad de productos RTE que se exponen, tanto de origen vegetal (p.e. hortalizas y frutas) como animal (p.e. lonchas, “virutas” “cubos” de productos cárnicos y de pescado). Sin embargo, la transformación de productos procesados en alimentos RTE ha creado problemas de diversa índole. Desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, uno de los de mayor trascendencia es la potencial contaminación con patógenos durante su elaboración (p.e. el jamón cocido, con un historial sanitario excelente, al ser transformadas en lonchas RTE), ya que cualquier operación de troceado, loncheado, dosificación o envasado incrementa los riesgos de contaminación por la microbiota del entorno, equipos de loncheado y envasado, manipuladores, etc. donde potencialmente pueden existir patógenos. En los productos RTE ya envasados no se pueden aplicar tratamientos higienizantes convencionales y es necesario recurrir a otras tecnologías. El equipo propuso un estudio para resolver el problema mencionado basado en el poder letal de electrones acelerados. Se han llevado a cabo estudios con jamón cocido y mortadela, como ejemplo de productos nitrificados con una actividad de agua (a_w) $>0,92$ (puede crecer *L. monocytogenes*); jamón serrano, embutidos madurados (salchichón y chorizo), y cecina, los tres productos con una $a_w < 0,92$ (no puede multiplicarse *L. monocytogenes*); carne fresca de pollo, lomo fresco y adobado de cerdo, hamburguesas, carpaccio, todos ellos con $a_w > 0,92$ y salmón ($a_w > 0,92$) y atún ($a_w < 0,92$) ahumados. Se han optimizado los tratamientos para los mencionados productos. Se ha concluido:

1. La aplicación de electrones acelerados a dosis muy bajas ($<1,5$ kGy para productos con $a_w < 0,92$ y menos de 2,5 kGy para los de $a_w > 0,92$) reduce hasta niveles seguros los patógenos potencialmente presentes en el producto. Este testimonio es válido para *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes* y *S. aureus*.
2. El tratamiento necesario para garantizar la seguridad no ocasiona cambios perceptibles en la calidad senso-

rial, ni en las propiedades reológicas de los productos RTE.

3. Las conclusiones anteriores son aplicables a todos los productos arriba mencionados, con la excepción de algunos productos frescos (carpaccios y hamburguesas) donde el tratamiento provoca modificaciones del color (cambios químicos en la mioglobina) no deseables.

BIBLIOGRAFÍA

- Cabeza M, Cambero I, de la Hoz L y Ordóñez JA (2007). Optimization of the E-beam irradiation treatment to eliminate *Listeria monocytogenes* from ready-to-eat cooked ham. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8:299-305.
- Hoz L, Cambero I, Cabeza ML, Herrero AM and Ordóñez JA (2008). Elimination of *Listeria monocytogenes* from vacuum-packed dry-cured ham by E-beam irradiation. *J Food Protection*. 71:2001-2006.
- Cabeza MC, de la Hoz L, Ordóñez JA y Cambero MI (2009). Safety and quality of ready-to-eat dry fermented sausages subjected to E-beam radiation. *Meat Sci*. 83:320-327.
- Medina M, Cabeza MC, Bravo DA, Cambero I, Montiel R, Ordóñez JA, Núñez M y de la Hoz L (2009). A comparison between E-beam irradiation and high pressure treatment for cold-smoked salmon sanitation: microbiological aspects. *Food Microbiol*. 26:224-227.
- Cabeza MC, de la Hoz L, Velasco R, Cambero I and Ordóñez JA (2009). Safety and quality of ready-to-eat dry fermented sausages subjected to E-beam radiation. *Meat Sci*. 83:320-327.
- Cabeza MC, Cambero MI, Núñez M, Medina M, de la Hoz L y Ordóñez JA (2010). Lack of growth of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in temperature abuse of E-beam treated ready-to-eat (RTE) cooked ham. *Food Microbiol*. 27:777-782.
- Velasco R, Ordóñez JA, Cabeza MC, de la Hoz L and Cambero MI (2010). Use of the E-beam radiation to diminish the late blowing of cheese. *Int Dairy J*. 21:493-500.
- Cambero MI, Cabeza MC, Ordóñez JA and Hoz L (2010). Effect of E-Beam Treatment on the Safety and Shelf Life of Mayonnaise Potato Salad. *Foodborne Pathogens Disease*. 8:221-229.
- Benedito J, Cambero MI, Ortuño C, Cabeza MC, Ordóñez JA and Hoz L (2011). Modeling and optimization of sensory changes and shelf-life in vacuum packaged cooked ham treated by E-beam irradiation. *Radiation Phys Chem*. 80:505-513.

c) Uso de pulsos de luz para la higienización de alimentos RTE (equipo 4)

Entre las nuevas tecnologías no térmicas de conservación de los alimentos se encuentran los pulsos de luz blanca de amplio espectro (200-1000 nm) y corta duración (10-300 ms). En esencia, son una versión mejorada de la tecnología UV-C. La radiación UV-C (200-290 nm) emitida en cada pulso es la principal responsable del efecto antimicrobiano, que se debe fundamentalmente a la formación de dímeros de pirimidina en el ADN, lo que impide la replicación celular. Se ha ensayado higienizar alimentos RTE, tomando como modelo lonchas de jamón cocido contaminadas con *L. monocytogenes*. Se ha concluido que puede ser una alternativa para la higienización de productos cárnicos RTE, al ocasionar una reducción aceptable del número de patógenos. Se pueden tratar productos envasados en plásticos de espesor 40-60 μm . Además, se puede ampliar la vida útil significativamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Hierro E, Manzano S, Ordóñez JA, de la Hoz L y Fernández M (2009). Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on shell eggs by pulsed light technology. *Int J Food Microbiol*. 135:125-130.

Fernández M, Manzano S, Ordóñez JA, de la Hoz L y Hierro E (2010). Pulsed light inactivation of *Listeria monocytogenes* through different plastic films. *Foodborne Pathogens Disease*. 6:1265-1267.

VARIABILIDAD MICROBIANA (EQUIPO 3)

En esta línea de investigación se estudia la variabilidad de la inactivación microbiana y la de la fase de latencia de microorganismos supervivientes a tratamientos letales que se utilizan en la conservación de alimentos, como los térmicos o las radiaciones ionizantes. Se ha observado que al aumentar la intensidad de un tratamiento, el número de viables disminuye, pero se incrementa la variabilidad de los supervivientes. Cuanto más intensos son los tratamientos conservantes, más larga es la fase de latencia de los microorganismos supervivientes y también más variable. La acidificación conlleva una mayor variabilidad que los tratamientos térmicos y la irradiación con electrones acelerados, aunque las diferencias no suelen ser significativas.

BIBLIOGRAFÍA

- D'Arrigo M, García de Fernando GD, Velasco R, Ordóñez JA, George SM and Pin C (2006). Indirect measurement of the distribution of the lag time of single cells of *Listeria innocua* in food. *Appl Environm Microbiol*. 72:2533-2538.
- Aguirre J, Rodríguez MR and García de Fernando GD (2011). Analysis of the Variability in the Number of Viable Bacteria after Mild Heat Treatment of Food. *Appl Environm Microbiol*. 75: 6992-6997.
- Aguirre J, Pin C, Rodríguez MR and García de Fernando GD (2009). Effects of electron beam irradiation on variability of the number of survivors and on duration of lag phase of four food-borne organisms. *Int J Food Microbiol* (en prensa).

Nota: Las investigaciones del apartado a) han sido financiadas por el proyecto CICYT-AGL2001-1470 y las de los apartados b), c) y d) por la subvención de la CAM-UCM (2007 y 2008) y BS-UCM (2009 y 2010) para el grupo 920276, por el proyecto AGL2007-65235-CO2-O2/ALI, el CAM-S-0505/AGR-0314 y el CSD2007-00016 del programa Consolider-Ingenio 2010.

Aplicación de nuevas tecnologías para la empresa alimentaria

Josep Yuste, Marta Capellas, Bibiana Juan

Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA). Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

El Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia d'Aliments (CERPTA), es un centro de investigación de la Universidad Autònoma de Barcelona, cuya línea de investigación fundamental es la aplicación de nuevas tecnologías para la mejora de la seguridad alimentaria y el valor nutritivo de los alimentos, el diseño y producción de alimentos funcionales, nanotecnología y tecnofuncionalidad.

Sus líneas de trabajo se clasifican en función de la familia alimentaria: productos lácteos, avícolas y derivados, licuados vegetales, pescado y productos de la pesca, panificación, vinificación, alimentos funcionales y alimentos de IV y V gama, y según los procesos o tratamientos a los que son sometidos: reconstitución, congelación, envasado, tratamientos térmicos, homogenización, presurización y demás.

El CERPTA está formado por unos treinta investigadores, con un currículum de más de 130 publicaciones internacionales, la participación en más de 200 contratos de I+D+i con empresas privadas y más de 30 proyectos competitivos de investigación.

Aparte de las tecnologías convencionales, el grupo trabaja con nuevas tecnologías que permiten conservar los alimentos sin alterar las propiedades nutricionales y sensoriales del producto. El CERPTA fue el primer grupo de nuestro país en trabajar con un equipo de alta presión hidrostática (HHP) y actualmente es el único en España que trabaja con equipos de Ultra Alta Pre-

sión Homogenización (UHPH). El grupo ha estado implicado en dos proyectos europeos sobre la aplicación de HHP en alimentos y en otros dos proyectos europeos sobre la aplicación de UHPH. Las líneas más recientes son la de nanoencapsulación para la conservación de los componentes bioactivos en el diseño de alimentos funcionales y la de pulsos electromagnéticos de alta intensidad.

La tecnología emergente de ultra **alta presión homogenización** es capaz de producir alimentos seguros, y de características organolépticas y nutricionales mejoradas en referencia a sus homólogos tratados por calor. Esta tecnología actúa sobre los microorganismos del alimento destruyéndolos, pero también sobre sus componentes principales modificándolos por diferentes mecanismos (disgregación y/o desnaturalización) según la naturaleza coloidal del alimento, confiriéndole capacidad de conservación, una alta estabilidad física tras su procesado debido a la disminución obtenida en el tamaño de partícula y nuevas características funcionales derivadas de las modificaciones estructurales producidas por el tratamiento. Su mecanismo de acción basado principalmente en componentes mecánicos, a la vez que también es posible utilizar una componente térmica de intensidad y tiempo regulables durante el proceso, hace que esta tecnología sea muy versátil en la búsqueda de condiciones de procesado óptimas para la producción de ali-

mentos seguros, física y químicamente estables con un mínimo impacto térmico conservando así las características nutricionales de los alimentos tratados. Los estudios realizados hasta el momento con esta tecnología se han realizado en leche de vaca y cabra, licuados vegetales y más actualmente en zumos de frutas. En nuestros laboratorios se ha evaluado la calidad microbológica de leches inoculadas o crudas de vaca y cabra tratadas por UHPH en un intervalo de presión de 200 - 300 MPa en etapa simple o etapa doble (30 MPa) con temperaturas de entrada del producto de 2-40°C. En el caso de la utilización de estas condiciones se pueden alcanzar altas tasas de inactivación microbiana semejante a un producto de pasteurización alta minimizando el efecto térmico y así salvaguardando las características nutricionales del producto (Pereda y col., 2007, 2009). Por otra parte, esta tecnología permite tratar leche de vaca o cabra como tratamiento higienizante previo a la elaboración de queso fresco o curado, mejorando los geles enzimáticos producidos (menor tiempo de coagulación y mayor firmeza), los rendimientos queseros obtenidos, tiempo de conservación en el caso del queso fresco, presentando unas características sensoriales semejantes a las obtenidas en un queso de leche pasteurizada (Zamora y col., 2007). En cuanto a resultados más específicos, la UHPH ha mostrado que con un efecto térmico instantáneo de <0,5 s puede reducir la carga microbiana de leches, zumos y licuados vegetales con diferentes niveles de contaminación (10^5 - 8×10^6 ufc/ml) del orden de 3 a 6 log UFC/ml (Briñez y col., 2006a, 2006b, 2006c, 2007; Cruz y col., 2007; Pereda y col., 2007, 2009; Roig-Sagués y col., 2008; Suarez-Jacobo y col., 2009a, 2009b, 2010; Velázquez-Estrada y col., 2011).

Otra línea de investigación en activo del grupo es el estudio de metodologías de detección de bacterias patógenas lesionadas en alimentos. El objetivo de este proyecto es desarrollar una metodología eficaz para enumerar e identificar microorganismos lesionados subletalmente en alimentos. Para ello, se estudia la supervivencia de *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes* inoculadas en solución tampón y en comidas preparadas refrigeradas sometidas a distintos tratamientos (conservantes, acidificación, calor o alta presión) y condiciones de almacenamiento posteriores (refrigeración, congelación, envasado al vacío) con el fin de conocer en qué medida estresan subletalmente a los microorganismos.

Por un lado, se utiliza el método del *thin agar layer* (TAL), que combina el uso de medio no selectivo y selectivo permitiendo un tiempo para la reparación de las células antes de que actúen los componentes del medio selectivo sobre ellas y ha demostrado su eficacia en distintas situaciones de estrés y con distintas bacterias patógenas, aunque tiene algunas limitaciones. Esta técnica, combinada con el uso del sistema de filtro en membrana hidrofóbica, permite disminuir el límite de detección de células lesionadas.

Por otro lado, se utiliza la citometría de flujo para evaluar el daño causado a los microorganismos. Esta técnica utiliza diversos marcadores fluorescentes de actividad metabólica para analizar características fisiológicas de las células, como la integridad de la membrana, actividad enzimática, potencial de membrana, pH intracelular, o respiración. Además, permite analizar y distinguir poblaciones heterogéneas y, utilizando anticuerpos, detectar bacterias específicas. La utilización de microscopía de epifluorescencia, combinada con la citometría de flujo, permite validar los resultados referentes a la integridad de la membrana obtenidos con ésta.

Actualmente, el CERPTA ha creado la Unidad de Innovación en Tecnología Alimentaria (UITA) en Uruguay, que brinda servicios de innovación a empresas de la industria alimentaria en temas de desarrollo de productos, mejora de procesos, inocuidad alimentaria e incorporación de tecnologías consolidadas y emergentes. También ha creado el primer centro tecnológico de investigación alimentaria en África, contribuyendo a la formación de técnicos especialistas en alimentación y a la transferencia de tecnología a micro, pequeñas y medianas empresas africanas.

Gracias a sus líneas de investigación el CERPTA ha desarrollado tres empresas spin-offs: ABiotics, empresa especializada en el desarrollo de probióticos y componentes bioactivos, FELNUTI, empresa para la elaboración de alimentos para intolerancias y alergias y YPSICON, empresa de base tecnológica dedicada al desarrollo y comercialización de maquinaria para nuevas tecnologías (alimentaria, farmacéutica, química y cosmética).

BIBLIOGRAFÍA

- Briñez WJ, Roig-Sagués AX, Hernández-Herrero MM y Guamis B (2006a). Inactivation by ultrahigh-pressure homogenization of *Escherichia coli* strains inoculated into orange juice. *J Food Protection*. 69:984-989.
- Briñez WJ, Roig-Sagués AX, Hernández-Herrero MM y Guamis B (2006b). Inactivation of *Listeria innocua* in milk and orange juice by ultrahigh-pressure homogenization. *J Food Protection*. 69: 86-92.
- Briñez WJ, Roig-Sagués AX, Hernández-Herrero MM y Guamis B (2006c). Inactivation of two strains of *Escherichia coli* inoculated into whole and skim milk by ultrahigh-pressure homogenisation. *Le Lait*. 86: 241-249.
- Briñez WJ, Roig-Sagués AX, Hernández-Herrero MM y Guamis B (2007). Inactivation of *Staphylococcus spp.* strains in whole milk and orange juice using ultra high pressure homogenisation at inlet temperatures of 6 and 20°C. *Food Control*. 18:1282-1288.
- Cruz N, Capellas M, Hernández M, Trujillo AJ, Guamis B y Ferragut V (2007). Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. *Food Res Int*. 40:725-732.
- Pereda J, Ferragut V, Quevedo JM, Guamis B y Trujillo AJ (2007). Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf life of milk. *J Dairy Sci*. 90: 1081-1093.
- Pereda J, Ferragut V, Quevedo JM., Guamis B y Trujillo AJ (2009). Heat damage evaluation in ultra-high pressure homogenized milk. *Food Chem*. 23:1974-1979.
- Roig-Sagués AX, Velázquez RM, Montealegre-Agramont P, López-Pedemonte TJ, Briñez-Zambrano WJ, Guamis-López B y Hernández-Herrero MM (2009). Fat content increases the lethality of *Listeria monocytogenes* in milk treated by Ultra-High Pressure Homogenisation. *J Dairy Sci*. 92:5396-5402.
- Suárez-Jacobo Á, Gervilla R, Guamis B, Roig-Sagués AX y Saldo J (2009). Microbial inactivation by ultra high-pressure homogenization on fresh apple juice. *High Pressure Res*. 29:46-51.
- Suarez-Jacobo A, Gervilla R, Guamis B, Roig-Sagués AX y Saldo J (2010). Effect of UHPH on indigenous microbiota of apple juice. A preliminary study of microbial shelf life. *Int J Food Microbiol*. 136:261-267.
- Velázquez-Estrada RM, Hernández-Herrero MM, López-Pedemonte TJ, Briñez-Zambrano WJ, Guamis-López B y Roig-Sagués AX (2011). Inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar Senftenberg 775W inoculated into fruit juice by means of ultra high pressure homogenisation. *Food Control*. 22:313-317.
- Zamora A, Ferragut V, Jaramillo P, Guamis B y Trujillo AJ (2007). Effects of ultra-high pressure homogenization on the cheese-making properties of milk. *J Dairy Sci*. 90:13-23.

Seguridad, tecnología y calidad de alimentos

Margarita Medina y Antonia Picón

Departamento de Tecnología de Alimentos, INIA, Ctra. de La Coruña km 7, 28040 Madrid

Los grupos de “Seguridad Microbiológica de Alimentos” y “Tecnología y Calidad de Productos Lácteos y Cárnicos” del Departamento de Tecnología de Alimentos del INIA centran su actividad en la mejora de la seguridad y la calidad de alimentos de origen animal. El Departamento cuenta con una Planta de Tecnología de Alimentos equipada para trabajar en productos lácteos y cárnicos y en seguridad microbiológica. Dispone asimismo de una colección de microorganismos de interés alimentario.

En el grupo de “Seguridad Microbiológica de Alimentos” se abordan estrategias de procesado mínimo, tecnologías de altas presiones, sistemas inhibitorios biológicos y tratamientos combinados para eliminar microorganismos patógenos en alimentos. Se desarrollan técnicas moleculares para la detección y trazabilidad de estos microorganismos a lo largo de la cadena alimentaria, se investigan medidas de control de contaminaciones persistentes en la industria y se estudia la virulencia de patógenos alimentarios. Los microorganismos patógenos de mayor riesgo en alimentos son fundamentalmente *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella* spp. *L. monocytogenes* es el patógeno que más preocupa, ya que se multiplica incluso en condiciones de refrigeración estricta. El crecimiento de *E. coli* O157:H7 y *Salmonella* spp. suele quedar condicionado a un abuso o aumento incontrolado de la temperatura de almacenamiento.

Se ha comprobado que las altas presiones en combinación con bacteriocinas de bacterias lácticas o con el sistema lactoperoxidasa presentan efectos letales sinérgicos frente a *L. monocytogenes*, *Salmonella* Enteritidis y *E. coli* O157:H7 en alimentos listos para el consumo. La lactoferrina y sus derivados, muestran una considerable actividad bactericida *in vitro* frente a distintos patógenos y alterantes, aunque se ha observado que disminuye en alimentos. En cuanto a la reuterina, se han aislado y seleccionado cepas de *Lactobacillus reuteri* productoras que sobreviven y sintetizan el antimicrobiano en queso y yogur. Con el fin de obtener quesos probióticos con doble efecto protector alimento-intestino frente a patógenos alimentarios, se están investigando cepas productoras de bacteriocinas y reuterina con buenas propiedades tecnológicas y resistentes a las condiciones gastrointestinales.

L. monocytogenes contiene diferentes subpoblaciones que pueden tener distintos grados de virulencia. La mayoría de los brotes de listeriosis asociados a alimentos listos para su consumo se deben a determinados grupos de cepas epidémicas. Se ha investigado la presencia de subtipos moleculares específicos de *L. monocytogenes* en diferentes cadenas de producción de alimentos. En los subtipos identificados previamente mediante PFGE se están secuenciando diversos genes de virulencia, con el objetivo final de construir un microarray de DNA que permita su identificación rápida. Se analiza la expresión de genes relevantes para la seguridad alimentaria, como los de virulencia y respuesta al estrés. Los resultados permitirán identificar nuevas



Grupo de Seguridad Microbiológica de Alimentos. De arriba a abajo y de izquierda a derecha: Joaquín V. Martínez (Investigador), Juan Arqués (Investigador), Izaskun Martín (Becaria), Pilar López (Contratada), Jose M^a Landete (Investigador Ramón y Cajal), Susana Langa (Investigadora), Margarita Medina (Investigadora), Sagrario Ortiz (Técnico), Daniel Bravo (Contratado Dr.), María de Alba (Becaria) y Ana del Olmo (Contratada).



Grupo de Tecnología y Calidad de Productos Lácteos y Cárnicos. De arriba a abajo y de izquierda a derecha: Javier Tomillo (Técnico), Máximo de Paz (Técnico), Marta Ávila (Investigadora), Pilar Gaya (Investigadora), Javier Calzada (Becario), Lucía Robles (Ayudante), Angela Peirotén (Ayudante), Raquel Montiel (Contratada Dr.), Antonia Picón (Investigadora), Eva Rodríguez (Investigadora), Sonia Garde (Investigadora), Natalia Torres (contratada empresa) y Nerea Martínez (Becaria).

opciones para reducir la prevalencia de las cepas epidémicas de *L. monocytogenes* en alimentos.

Los objetivos del grupo de “Tecnología y Calidad de Productos Lácteos y Cárnicos” se centran en los efectos de las altas presiones sobre la maduración de quesos, para intensificar el sabor o prevenir la sobremaduración, y eliminar defectos o alteraciones como la presencia de aminos biógenos o la hinchazón tardía. Se investiga la influencia de esta tecnología en las propiedades químicas y sensoriales de los productos cárnicos y en la microbiota del jamón curado. Se caracterizan bacterias lácticas y bifidobacterias para el desarrollo de nuevos productos lácteos.

Los quesos azules experimentan una intensa proteólisis y lipólisis, causada principalmente por las enzimas extracelulares de *Penicillium roqueforti*, que generan los compuestos sápidos que confieren a esta variedad sus características sensoriales. Una excesiva proteólisis y/o lipólisis puede originar un desequilibrio de los compuestos responsables del sabor y aroma que disminuya la aceptación del producto durante su vida comercial. Con el fin de controlar estos procesos, se han aplicado tratamientos de altas presiones en diferentes momentos de la maduración. Todos los quesos tratados mostraron niveles significativamente inferiores de microorganismos totales, bacterias lácticas y mohos y levaduras que los quesos control. Asimismo, se observaron niveles inferiores de actividad aminopeptidasa y esterasa, y una menor proteólisis. Al ser evaluados por un panel de cata, no se detectaron diferencias significativas respecto al control, a excepción de los quesos presurizados con el tratamiento más intenso.

La hinchazón tardía es una de las principales alteraciones de quesos duros y semiduros que causa importantes pérdidas económicas. La aparición del defecto se atribuye a varias especies de *Clostridium*. Se ha llevado a cabo un estudio estacional de esta problemática en leche y queso Manchego, siendo el recuento de esporas en leche más elevado en verano, coincidiendo con una mayor incidencia de hinchazón en los quesos elaborados en esta estación. La mayoría de los aislados procedentes de quesos con hinchazón fueron identificados como *C. sporogenes*, seguido de *C. beijerinckii*, *C. tyrobutyricum* y *C. butyricum*. El empleo de una cepa de *Lactococcus lactis* productora de nisina Z como fermento previno la aparición de hinchazón en el queso. Se están estudiando otras estrategias de prevención, como las altas presiones y su combinación con antimicrobianos.

En cuanto a los recursos microbianos de interés alimentario, con la finalidad de evitar la pérdida progresiva de diversidad biológica se aborda un proyecto orientado a la obtención de una colección de bacterias lácticas aisladas de quesos de cabra andaluces que permitan desarrollar cultivos iniciadores para mejorar sus características organolépticas. Asimismo, en otro proyecto se pretende ampliar la información de las características tecnológicas de interés de una colección de bacterias lácticas y bifidobacterias de origen humano.

Una de las misiones del Departamento es proporcionar colaboración y asesoramiento científico mediante convenios y contratos con la administración y con empresas. Participamos en un proyecto Consolider que aúna a numerosos grupos de investigación españoles y a una importante representación de la industria cárnica.

PUBLICACIONES SELECCIONADAS DE LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS

- Alonso R, Picon A, Rodríguez B, Gaya P, Fernández-García E, Nuñez M (2011). Microbiological, chemical and sensory characteristics of Hispánico cheese manufactured using frozen high pressure treated curds made from raw ovine milk. *Int Dairy J.* 21:484-492.
- Arqués JL, Rodríguez E, Nuñez M, Medina M (2008). Antimicrobial activity of nisin, reuterin, and the lactoperoxidase system on *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in cuajada, a semisolid dairy product manufactured in Spain. *J Dairy Sci.* 91:70-75.
- Arqués JL, Rodríguez E, Nuñez M, Medina M (2011). Combined effect of reuterin and lactic acid bacteria bacteriocins on the inactivation of food-borne pathogens in milk. *Food Control.* 22:457-461.
- Bravo D, Rodríguez E, Medina M (2009). Nisin and lacticin 481 coproduction by *Lactococcus lactis* strains isolated from raw ewes' milk. *J Dairy Sci.* 92:4805-4811.
- Campos G, Robles L, Alonso R, Nuñez M, Picon A (2011). Microbial dynamics during the ripening of a mixed cow and goat milk cheese manufactured using frozen goat milk curd. *J Dairy Sci.* 94:4766-4776.
- Del Olmo A, Calzada J, Nuñez M (2010). Antimicrobial effect of lactoferrin and its amidated and pepsin-digested derivatives against *Salmonella enteritidis* and *Pseudomonas fluorescens*. *J Dairy Sci.* 93:3965-3969.
- Garde S, Arias R, Gaya P, Nuñez M (2011). Occurrence of *Clostridium* spp. in ovine milk and Manchego cheese with late blowing defect: identification and characterization of isolates. *Int Dairy J.* 21:272-278.
- Garde S, Ávila M, Arias R, Gaya P, Nuñez M (2011). Outgrowth inhibition of *Clostridium beijerinckii* spores by a bacteriocin-producing lactic culture in ovine milk cheese. *Int J Food Microbiol.* 150: 59-65.
- López V, Ortiz S, Corujo A, López P, Poza D, Navas J, Moreno R, Martínez-Suárez JV (2008). Different contamination patterns of lineage I and II strains of *Listeria monocytogenes* in a Spanish broiler abattoir. *Poultry Sci.* 87:1-9.
- Medina M, Cabeza MC, Bravo DA, Cambero I, Montiel R, Ordóñez JA, Nuñez M, Hoz L (2009). A comparison between E-beam irradiation and high pressure treatment for cold-smoked salmon sanitation: microbiological aspects. *Food Microbiol.* 26:224-227.
- Navas J, Ortiz S, López P, López V, Martínez-Suárez JV (2007). Different enrichment procedures for recovery of *Listeria monocytogenes* from raw chicken samples can affect the results of detection (by chromogenic plating or real-time PCR) and lineage or strain identification. *J Food Protection.* 70:2851-2854.
- Ortiz S, López V, Villatoro D, López P, Dávila JC, Martínez-Suárez JV (2010). A 3-year surveillance of the genetic diversity and persistence of *Listeria monocytogenes* in an Iberian pig slaughterhouse and processing plant. *Foodborne Pathogens and Disease* 7: 1177-1184.
- Picon A, Alonso R, Gaya P, Fernández-García E, Rodríguez B, de Paz M, Nuñez M (2010). Microbiological, chemical, textural and sensory characteristics of Hispánico cheese manufactured using frozen ovine milk curds scalded at different temperatures. *Int Dairy J.* 20:344-351.
- Picon A, Fernández-García E, Gaya P, Nuñez M (2008). Modification of the volatile compound profile of cheese, by a *Lactococcus lactis* strain expressing a mutant oligopeptide binding protein. *J Dairy Res.* 75:30-36.
- Picon A, García Casado MA, Nuñez M (2010). Proteolytic activities, peptide utilization and oligopeptide transport systems of wild *Lactococcus lactis* strains. *Int Dairy J.* 20:156-162.
- Picon A, Gaya P, Nuñez M (2007). Lowering hydrophobic peptides and increasing free amino acids in cheese made with a *Lactococcus lactis* strain expressing a mutant oligopeptide binding protein. *Int Dairy J.* 17:218-225.