

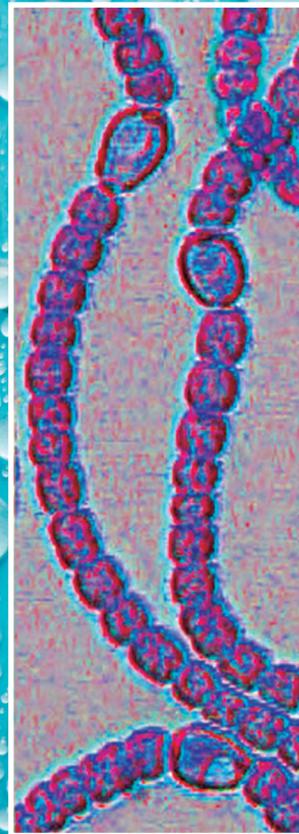
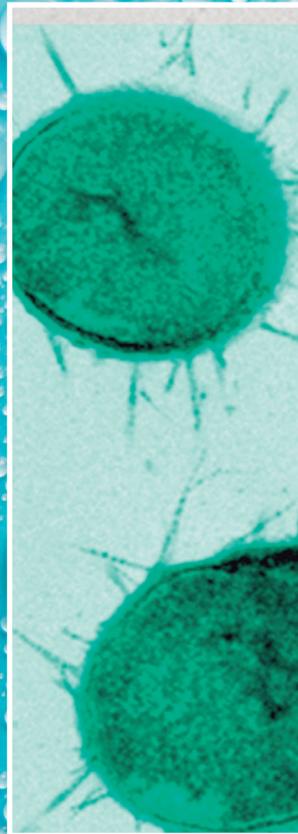
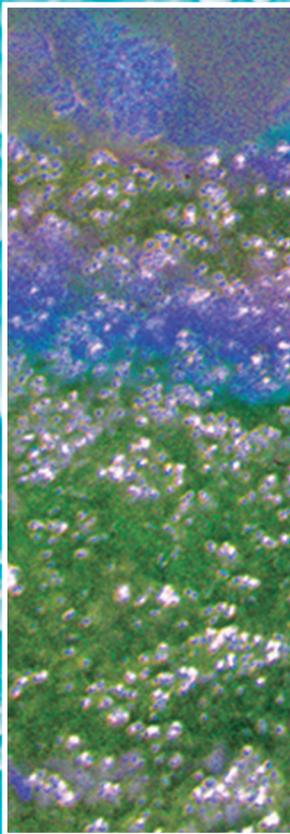
SEM@foro

Revista de la Sociedad Española de Microbiología

JUNIO 2016

N.º 61

Microbiología del Medio Acuático



www.sem microbiologia.org



Presidente

Antonio Ventosa Uchero

Dpto. Microbiología. Facultad de Farmacia.
Universidad de Sevilla.
C/ Prof. García González, s/n. 41012 Sevilla.
ventosa@us.es

Vice-Presidente

Rafael Giraldo Suárez

Centro de Investigaciones Biológicas. CIB-CSIC.
C/ Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid.
rgiraldo@cib.csic.es

Secretario

Juan Alfonso Ayala Serrano

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 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

José Berenguer (Codirector - Madrid)

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.
Departamento de Biología Molecular.
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 Madrid.
jberenguer@cbm.uam.es

Ricardo Guerrero (Codirector - Barcelona)

Institut d'Estudis Catalans.
C/ Carmen, 47. 08001 Barcelona.
rguerrero@iec.cat

SEM@foro

Victor Jiménez Cid

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

NoticiaSEM

Emilia Quesada Arroquia

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

Directora de la Colección Española de Cultivos Tipo

Rosa Aznar Novella

Dpto. Microbiología y Ecología.
Facultat de Ciències Biològiques. Univ. de València.
C/ Dr. Moliner 50. 46100 Burjassot, València.
rosa.aznar@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.
diego.moreno@upm.es

Vocales

M^a José Figueras Salvat

Unitat de Biologia i Microbiologia. Facultat de Medicina i
Ciències de la Salut. Universitat Rovira i Virgili.
C/ Sant Llorenç, 21. E-43201 Reus
mariajose.figueras@urv.cat

Inés Arana Basabe

Dpto. de Inmunología, Microbiología y Parasitología.
Facultad de Ciencias y Tecnología.
Universidad del País Vasco (UPV/EHU).
C/Barrio Sarriena s/n. E-48940 Leioa, Bizkaia
ines.arana@ehu.es

Emilia Quesada Arroquia

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

Jesús López Romalde

Dpto. Microbiología y Parasitología.
Facultad de Farmacia, Univ. de Santiago de Compostela.
15706 Santiago de Compostela. (A Coruña).
jesus.romalde@usc.es

Diego A. Moreno Gómez

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

David Rodríguez Lázaro

Grupo Tecnología y Seguridad Alimentaria.
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.
Carretera de Burgos, Km.119. 47071 Valladolid.
ita-rodrlazda@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)

Humberto Martín Brieva

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

Biología de Microorganismos Patógenos

Ángel Domínguez Olavarrí

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

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

Francisco Javier Pastor Blasco

Dpto. Microbiología.
Facultad de Biología. Univ. de Barcelona.
Avda. Diagonal 645. 08028 Barcelona.
fpastor@ub.edu

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.
carbateg@uvigo.es

Microbiología Molecular

Bruno González Zorn

Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET).
Universidad Complutense.
Av. Puerta de Hierro, s/n. 28040 Madrid.
bgzorn@ucm.es

Microbiología del Medio Acuático

Juan José Borrego García

Dpto. Microbiología. Facultad de Ciencias.
Campus de Teatinos. Universidad de Málaga.
29071 Málaga.
jjborrego@uma.es

Microbiología de Plantas

Antonio de Vicente Moreno

Dpto. de Microbiología. Facultad de Ciencias.
IHSM-UMA-CSIC.
Campus de Teatinos. Universidad de Málaga.
29071 Málaga.
adevicente@uma.es

Protistología

Ana Martín González

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

Taxonomía, Filogenia y Biodiversidad

Jesús López Romalde

Dpto. Microbiología y Parasitología.
Facultad de Farmacia, Univ. de Santiago de Compostela.
15706 Santiago de Compostela. (A Coruña).
jesus.romalde@usc.es

Docencia y Difusión de la Microbiología

Montserrat Llagostera Casas

Dpto. de Genètica i de Microbiologia.
Universitat Autònoma de Barcelona.
Cerdanyola del Vallès. 08193 Barcelona.
Montserrat.llagostera@uab.cat

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

Director: **Victor Jiménez Cid**. E-mail: vicjid@ucm.es.

Co-editor de la Sección Microbiología del Medio Acuático: **Juan José Borrego**

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: 2254-4399

Depósito Legal: M-12838-2013

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/SEM@FORO



Visite la página web de la SEM:

www.sem microbiologia.org

Encontrará información actualizada sobre congresos, reuniones, cursos y becas

Socios protectores de la SEM:

Francisco Soria Melguizo, S.A.



Fundación Medina



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

Sociedad Española de Microbiología

C/ Rodríguez San Pedro, 2
Planta 2ª – despacho 210
28015 Madrid

Tel. 91 561 33 81

secretaria.sem@sem microbiologia.org

EDITORIAL	
Cuatro años de SEM@foro. Víctor J. Cid.....	2
NOTA DEL PRESIDENTE	
Antonio Ventosa.....	3
NUESTROS GRUPOS	
Informes de los grupos especializados.....	4
LIBROS	
Virus y Pandemias.....	8
¿Qué sabemos de... Las enzimas?.....	8
MICROBIOLOGÍA, FEMENINO SINGULAR	
Ruth Patrick (1907-2013), la señora de las diatomeas.....	9
MICRORREPORTAJES	
¡La que está montando la SEM en Twitter!.....	13
ENTREVISTA	
Entrevista a Francisco Mojica.....	16
CURSOS	
XIV WORKSHOP. «Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria».....	20
NOTA	
Evaluación rápida, por el Método del Doble Tubo de Fung de la contaminación fecal de aguas de baño en playas.....	22
ESPECIAL MICROBIOLOGÍA DEL MEDIO ACUÁTICO	23
Respuesta bacteriana al estrés.....	24
Patología de organismos acuáticos y biotecnología acuícola.....	26
Patología Microbiana y Diagnóstico en Acuicultura.....	28
Ecología Microbiana y Biogeoquímica: La vida secreta del sedimento.....	30
<i>Lactococcus garvieae</i> , un patógeno de peces con posible implicación en Salud Pública..	33
Estudio integrado de virus, bacterias y protozoos de interés en salud pública, agua y alimentos (VirBaP).....	35
Biocontrol y Prevención de Enfermedades en Acuicultura.....	37
Asimilación de hierro mediante sideróforos en patógenos bacterianos de peces.....	40
Taxonomía de bacterias del medio acuático: diversidad, recursos genéticos y aspectos aplicados.....	43
Diagnóstico, Prevención y Control de enfermedades bacterianas en Acuicultura.....	45
Ecogenética y Diversidad Microbianas.....	47
NUESTRA CIENCIA	50
TESIS	
Resúmenes de tesis doctorales.....	52
BECAS FEMS	
Españolas por el mundo: Becas FEMS 2015.....	57

Cuatro años de SEM@foro

Víctor J. Cid.

Director Editorial (2011-2016)



Estimados/-as socios/-as de la SEM,

Este número 61 es ya el noveno de la etapa **SEM@foro** de nuestra revista, que comenzó su andadura en 2012 continuando la línea editorial del título anterior, **Actualidad SEM**. A pesar de que estos años no han sido buenos para la ciencia española, quien hojee en el futuro nuestra revista en busca del testimonio de una desaceleración de la Microbiología en España no encontrará pistas más allá de los suspiros que dejaron entre líneas algunos de nuestros articulistas. La única evidencia de la crisis que encontrarán los historiadores en SEM@foro es la reducción de la tirada de 1800 a 250 ejemplares, una buena noticia sin duda para los bosques y los carteros, pero acaso mala para la visibilidad «no virtual» de nuestras actividades. Lejos de evidenciar pesimismo, por nuestras páginas han pasado reseñas de equipos de investigación con líneas vivas y sólidas en las que prevalece la vocación y la emoción por la ciencia sobre el desaliento generado por las escasas expectativas a la financiación de becas y proyectos e incluso, en ocasiones, de los propios Institutos de Investigación y Universidades. La crisis no se ha evaporado del todo y sus efectos han causado heridas en nuestra actividad investigadora que tardarán mucho tiempo en cicatrizar, pero de alguna manera ya hemos comenzado a pensar que hay vida detrás de la crisis... Y, si hay vida, esa vida comenzará siempre siendo microbiana. La Microbiología sigue.

Se me ocurren dos razones por las cuales el motor SEM se ha seguido moviendo, cuesta arriba y contra el viento, al menos en el ámbito editorial. La primera es una apuesta concreta: en medio de esta tormenta, el espíritu renovador de las revistas y boletines SEM que impulsó la Junta Directiva en 2011, presidida entonces por Ricardo Guerrero, fue decisivo para un cambio de imagen y una inyección de calidad que hemos intentado mantener, a

pesar de las vacas flacas, a veces a costa de las arcas de los grupos. La segunda razón y la verdadera causa del milagro es lo que en realidad mueve a la sociedad (a la nuestra y a todas la que emprenden una labor creativa común): la ilusión.

Es precisamente a esta «comunidad SEM de la ilusión» a la que quiero mostrar mi agradecimiento en estas líneas de despedida como director editorial: en primer lugar a los Presidentes y colaboradores de los Grupos Especializados que han co-editado con enorme eficacia los «Especiales», con énfasis en el joven y transversal Grupo de Docencia y Difusión de la Microbiología que, por sus características y empuje, ha aportado continuamente a SEM@foro material e inspiración; en segundo lugar a los organizadores de Congresos SEM y de Grupos, así como de los Cursos de Iniciación a la Investigación, que se han visto convertidos en reporteros *amateur* de la noche a la mañana y siempre han respondido a mi insistente llamada; por último (pero no menos importante, que se dice), a nuestros articulistas habituales o espontáneos, desde los propios Presidentes SEM, las directoras de la CECT, los responsables de los cursos on-line, la incombustible defensora de las científicas olvidadas en la sombra, Mercè Piqueras, hasta los «Españoles por el Mundo» y viceversa, pasando por los autores de todo tipo de excelentes artículos y «Microrreportajes». Si la experiencia personal que me ha brindado dirigir la revista ha sido enormemente enriquecedora, ha sido gracias a la oportunidad de participar de esa complejísima y diversa «comunidad microbiana» que se integra en la SEM. Con franqueza, me gustaría que fuese ese espíritu integrador y universalista el que definiera a la SEM en el futuro. Me emociona que bajo la nueva Presidencia se planteen iniciativas conjuntas con la FEMS o con SEV, SEBIOT, SEIMC y otras «sociedades hermanas», que han tenido también

cabida en nuestras páginas. Integrar y convivir sin perder la individualidad, sobrevivir compartiendo, optimizar recursos, buscar la simbiosis: un ejemplo de las comunidades microbianas del que las sociedades humanas deberíamos tomar nota. Al menos las democráticas, es decir, las no estrictamente parasíticas por naturaleza.

Si la transferencia horizontal es un motor esencial para la evolución de los seres vivos, ha de serlo también para la evolución de los «entes» que constituyen nuestra Sociedad, incluidas sus revistas. Creo que SEM@foro debe seguir evolucionando y, por eso, haciéndome el sordo a los ruegos de muchos de vosotros para que siguiera al frente de la publicación y atendiendo al más puro instinto evolutivo, he creído necesario transferir horizontalmente SEM@foro a otras manos. Además, tengo el pleno convencimiento de que se trata de las mejores manos en las que puedo dejar esta herencia. Quienes ya conocéis a **Manuel Sánchez Angulo** sabréis por qué lo digo y, si sois lectores habituales de nuestras publicaciones, especialmente del Biofilm del Mes en NoticiaSEM, coincidiréis conmigo sin duda en este juicio. Dejo el volante, pero no me apeo en esta, señoras y señores. Me quedará, como pasajero, unos cuántos SEM@foros más, espero, animando a subirse a los/las jóvenes y ayudando a bajarse a los/las venerables ancianos/-as hasta que llegue mi parada.

En este punto sólo me resta disculparme por todo lo que ha salido mal, desde esas erratas obviamente imperdonables a las decisiones editoriales que se tomaron precipitadamente, sin pensar en posibles agravios o efectos secundarios. Durante esta etapa nos hemos esforzado en que SEM@foro fuese la voz plural de una Sociedad diversa, como lo es la Microbiología por naturaleza. En lo poco que hayamos logrado este objetivo se fundamenta nuestra satisfacción personal.

Nota del Presidente

Antonio Ventosa

Presidente de la SEM



De una forma breve me gustaría informar acerca de las principales iniciativas y actividades de nuestra sociedad a lo largo de este año. En primer lugar, los socios tendremos la oportunidad de participar en las distintas reuniones de los grupos especializados de la SEM, que se celebrarán entre los meses de junio a septiembre en distintas ciudades de nuestra geografía. Como sabéis los grupos especializados mantienen una altísima actividad, que se pone de manifiesto en las diversas iniciativas que desarrollan y fundamentalmente en las reuniones que celebran cada dos años. En una mayoría de dichas reuniones, dado su carácter reducido en cuanto a su tamaño, los más jóvenes tienen una magnífica oportunidad de presentar sus trabajos de forma oral, así como de participar de forma muy activa en las mismas. Desde aquí animo a todos los socios de la SEM y de manera muy especial a los más jóvenes, a que participen y se beneficien de las posibilidades y excelente ambiente científico que brindan dichas reuniones de los grupos especializados.

Otra actividad que está en marcha y que tendrá lugar en el mes de julio, es la celebración del XX Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología. En esta ocasión la sede será la Universidad de Jaén y los responsables de dicha organización los profesores Magdalena Martínez Cañamero y Antonio Cobo Molinos a los que agradecemos su iniciativa y labor desinteresada. Como novedad en esta edición se realizarán unas sesiones prácticas que complementarán a las conferencias impartidas por profesores de diversas áreas y la visita a una industria. Como en ocasiones anteriores esta actividad será subvencionada por la Fundación Ramón Areces, a la que una vez más debemos agradecerle su apoyo a nuestra sociedad.

En otro ámbito, la SEM está llevando a cabo la renovación de sus Estatutos, para adaptarlos a la situación actual y para ello desde la Junta Directiva se está trabajando, a través

de cuatro comisiones creadas al efecto, para la elaboración de un borrador que será posteriormente sometido a la consideración de todos los socios a finales de este año y muy posiblemente, según el calendario previsto, a debate y aprobación en la próxima Asamblea General de la SEM que tendrá lugar en julio de 2017. También tenemos en marcha otras iniciativas, a través del grupo de Docencia y Difusión de la Microbiología, como son el concurso de renovación del logotipo de nuestra sociedad, para adaptarlo a las nuevas tecnologías y darle un aire renovado al emblema de nuestra sociedad. Asimismo, se ha convocado el concurso bimensual ImágeneSEMico con la finalidad de ampliar el banco de imágenes de la SEM, que puedan ser utilizadas de forma gratuita por los docentes y profesionales que lo deseen. No quisiera dejar de mencionar la magnífica acogida que ha tenido el curso on-line de Microbiología vía Twitter, ofrecido de forma gratuita por nuestra sociedad a través de esta red social, en el cual han participado 30 profesores e investigadores miembros de la SEM. De todas estas actividades se ha venido informando a través de nuestro boletín mensual NoticiaSEM (recientemente renovado en cuanto a su formato) y de la página web de la SEM (<http://www.semicrobiologia.org>).

También quisiera hacer un comentario con respecto a la participación de la SEM en el próximo congreso de la Asociación Latinoamericana de Microbiología (ALAM), que tendrá lugar en Rosario (Argentina) del 26 al 30 de septiembre de 2016. Nuestras relaciones con ALAM, asociación a la cual pertenecemos, son excelentes y por otro lado estamos contribuyendo a estrechar relaciones entre dicha asociación y la Federación Europea de Sociedades de Microbiología (FEMS), que también tendrá una presencia importante en el citado congreso. Tuve la oportunidad de asistir al pasado congreso de ALAM celebrado en 2014 en Cartagena de Indias (Colombia) y de observar la excelente calidad de estos congresos, la altísima partici-

pación de microbiólogos de diversos países y la multitudinaria asistencia a las sesiones, con conferenciantes de muy alto nivel científico. Desde estas líneas animamos a nuestros socios a que consideren su participación en este y en próximos congresos de ALAM.

Y para terminar este breve repaso, me gustaría informar de la actual situación del VII Congreso FEMS 2017, que tendremos la oportunidad de celebrar de forma conjunta con nuestro XXVI Congreso Nacional de Microbiología de la SEM, en la ciudad de Valencia del 9 al 13 de julio de 2017. La sede del congreso serán las instalaciones de la Feria de Valencia. El Comité Científico ya ha mantenido dos reuniones para elaborar el programa científico del congreso, habiendo ya fijado la estructura del mismo y las temáticas de las diferentes sesiones. Además de las dos conferencias inaugurales del 9 de julio, cada día habrá una conferencia plenaria y posteriormente ocho sesiones simultáneas de simposios y mesas redondas, además de un número de sesiones especiales y de pósters, para finalizar con dos conferencias de clausura (Premio Lwoff de FEMS y Premio Jaime Ferrán de la SEM). Sin duda alguna este será un gran acontecimiento y una magnífica oportunidad para todos los microbiólogos españoles de demostrar el excelente nivel de nuestras investigaciones. Con la ayuda y la participación de todos estamos seguros del éxito de este evento que tendrá lugar el próximo año de nuevo en nuestro país, tras el II Congreso de FEMS, celebrado en Madrid en 2006 y de tan grato recuerdo por su excelente organización y altísimo nivel científico. Os animamos a participar en el VII Congreso FEMS-XXVI Congreso SEM y viajar a Valencia del 9 al 13 de julio de 2017; ¡de momento podéis anotar las fechas en vuestras agendas y considerarlas prioritarias!

Un fuerte abrazo,
Antonio Ventosa

DOCENCIA Y DIFUSIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA



Montserrat Llagostera
Presidenta del Grupo D+D SEM

Estimados colegas,

Seguidamente os indico los principales objetivos que nuestro grupo se marcó para este año:

- Concluir la total renovación de la Junta.
- Continuar con las tareas en marcha, dinamizando algunas de ellas.
- Organizar la III Reunión del grupo D+D SEM.
- Organizar el XX Curso de Iniciación a la Investigación en Microbiología.
- Revisar el contenido y objetivos de los grupos de trabajo actuales.
- Organizar un concurso para la renovación del logo de la SEM.
- Impulsar el proyecto SWI.
- Impulsar el curso #microMOOCSEM *on line* en las redes sociales.
- Valorar el uso de ejemplares del libro *Relatos Microscópicos* distribuidos a centros de primaria y secundaria.
- Impulsar la segunda edición del Concurso Literario «Relatos Microscópicos».
- Confeccionar un censo de los miembros de la SEM que podrían pertenecer al grupo JISEM.
- Valorar el trabajo de JISEM en la fidelización a la SEM de los alumnos de los cursos de Iniciación a la Investigación en Microbiología.

Cuando leáis estas líneas, algunos de los objetivos ya se habrán conseguido, otros estarán en marcha y unos pocos se abordarán en el segundo semestre de este año.

De entre todos ellos me gustaría destacar algunos de los objetivos que ya se han concretado o están en un estado muy avanzado:

- La creación del espacio https://www.flickr.com/photos/dydm_sem/. En el se encuentra el **banco de imágenes SEM** y está abierto tanto a los miembros de la SEM como al público en general. Para poder ampliarlo, hemos organizado un concurso fotográfico, en diferentes fases, en el que pueden participar tanto socios como no socios de SEM. Todo ello ha sido posible gracias a Rafael Rotger y Sergio Bárcena y contará con la colaboración en su desarrollo de diferentes miembros de nuestro grupo. Os animo a que enviéis vuestras imágenes, ya que el éxito de dicho banco depende de todos nosotros.
 - El éxito del **curso #microMOOCSEM** que, vía Twitter (y Facebook), es seguido por entusiastas de diferentes rincones de nuestro planeta. Gracias a todos los profesores del curso, algunos de ellos sin o con poca experiencia en Twitter, y a nuestro vicepresidente Nacho López-Goñi, por tener esta genial idea. Cuando escribo estas líneas, el curso está todavía en marcha y os puedo asegurar que estoy disfrutando muchísimo aprendiendo de todos vosotros. Cuando acabe, jecharé en falta mi cita nocturna con la Microbiología! Para aquellos que no lo habéis podido seguir *on line*, podéis acceder a las clases a través de: <https://storify.com/SEMmicrobiologia/>
 - Distribución gratuita de ejemplares del libro **Relatos Microscópicos**. Nos quedan ya pocos ejemplares para distribuir. Es decir, que nuestro libro ha llegado a muchos centros educativos de primaria y secundaria y disponemos de una relación de dichos centros y de personas de contacto, gracias a Inés Arana que ha coordinado la distribución y ha realizado el listado.
 - Participación en los **congresos SEM-FEMS 2017 en Valencia**. Se ha intensificado nuestro trabajo para definir la aportación de nuestro grupo a dichos congresos. Esperamos concretarlo mucho más el próximo julio durante nuestra reunión en Bilbao, la cual será paralela y también cooperativa con la reunión de los delegados europeos de educación de diversas sociedades de microbiología europeas y de la delegada de la propia FEMS.
- Agradecemos enormemente a nuestra colega Kika Colom que haya aceptado ser nuestra conexión con la sección de educación de FEMS, en sustitución de Víctor J. Cid, que estará fuera de nuestro país durante este verano. Estamos seguros que Kika y Víctor pueden formar un excelente equipo para asegurarnos una destacada contribución en el ámbito educativo en FEMS-Valencia-2017. Pero, la aportación de D+D SEM va algo más allá, ya que el grupo de jóvenes JISEM ha elaborado una propuesta para incrementar la participación joven durante el congreso FEMS. Esperamos que FEMS la haga suya de alguna manera.
- Participación en el **IX Congreso Iberoamericano de Docencia Universitaria**. Kika Colom, en representación de D+D SEM, participó en este congreso que se ha celebrado recientemente. A través de una excelente comunicación oral presentó todas nuestras actividades. Es de destacar que los asistentes valoraron como muy positivas todas nuestras actividades y los logros que hemos conseguido en tan poco tiempo. Podemos pues, sentirnos orgullosos del grupo y animarnos para seguir adelante y concretar todas las iniciativas que día a día aportan los miembros del grupo.
- Finalmente, como será la última vez que me dirija a todos vosotros a través de un breve informe como este, deseo haceros partícipe de que nunca hubiera imaginado que nuestro incipiente D+D SEM de hace unos pocos años sea lo que es actualmente, sobre todo, teniendo en cuenta que todo ello se ha hecho a través de lo que yo denomino «voluntariado SEM». La lluvia de ideas que he ido recibiendo, las voluntades decididas que he compartido de primera mano y un montón de ilusión de muchísimos miembros del grupo lo han hecho posible. Toda aportación, por pequeña que os pueda parecer, ha sido decisiva. A todos los miembros de D+D SEM mi agradecimiento. También deseo agradecer públicamente el decidido apoyo que nuestro grupo ha recibido siempre de los presidentes de SEM, Ricardo Guerrero y Antonio Ventosa, y de las Juntas Directivas. A pesar de las dificultades, sin su incondicional apoyo D+D SEM no sería

la realidad que hoy es. De todo corazón os digo que para mí ha sido muy entrañable conocer a muchos de vosotros y poder apreciar vuestra calidad humana, además de la «microbiológica».

«Acaba» para mí una etapa genial, primero como impulsora de D+D SEM, y, después, como presidenta. Todo un honor que me concedisteis en su momento y que, espero, haber sabido estar a la altura. Pero, queridos amigos, lamento decir, que no desaparezo, estoy por y para siempre con el grupo. Apoyaré decididamente a todas las nuevas Presidencias y Juntas D+D SEM que tengamos en un futuro y, en particular, la que se constituirá el próximo julio.

Nos encontrareis en <http://www.semicrobiologia.org/ddm/index.php> Muchas gracias a todos por vuestra colaboración.

MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



Francisco Javier Carballo
Presidente del Grupo

XX CONGRESO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

El **XX Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos** tendrá lugar, D.m., durante los días 14, 15 y 16 de septiembre de 2016 en la Real Colegiata de San Isidoro (Plaza de Santo Martino, 5) de León. Correrá la presidencia de la organización a cargo del Dr. Carlos Alonso Calleja, del Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de León.

Como en ediciones anteriores, el Congreso se articulará en torno a una conferencia inaugural, cuatro mesas redondas y una confe-

rencia de clausura, con los títulos y ponentes que a continuación se adelantan:

Conferencia inaugural

«Cambio climático y Seguridad Alimentaria». Dr. Jaime Martínez-Urtaza, Department of Biology & Biochemistry, University of Bath, U.K.

Mesa redonda I. «La seguridad alimentaria en el siglo XXI»

1. «El concepto One Health en el contexto de la Seguridad Alimentaria».

Dr. Elías F. Rodríguez Ferri, Departamento de Sanidad Animal, Universidad de León.

2. «Una visión global de la resistencia a antibióticos: el escenario ambiental y alimentario».

Dr. José Luis Martínez Menéndez, Departamento de Biotecnología Microbiana, Centro Nacional de Biotecnología, CSIC, Madrid.

3. «Nuevas estrategias en Seguridad Alimentaria: uso de extractos vegetales como inhibidores del *quorum sensing*». Dra. Ana Allende Prieto, Grupo de Calidad, Seguridad y Bioactividad de alimentos vegetales, CEBAS-CSIC, Murcia. Miembro del Panel de Riesgos Biológicos de EFSA.

Mesa redonda II. «Aspectos novedosos de los microorganismos probióticos, protectores y/o tecnológicos. I»

1. «Microbiología de la cerveza: el estado del arte».

Dña. Marta Orive i Camprubí, Grupo Mahou-San Miguel, Lleida.

2. «Cultivos protectores e iniciadores en productos lácteos: situación actual y tendencias».

Dra. Margarita Medina Fernández-Regatillo, Departamento de Tecnología de los Alimentos, INIA, Madrid.

3. «Uso de cultivos protectores en productos cárnicos».

Dr. Juan José Córdoba Ramos, Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Extremadura.

Mesa redonda II. «Aspectos novedosos de los microorganismos probióticos, protectores y/o tecnológicos. II»

1. «Utilidad de las técnicas ómicas para el estudio de los microorganismos probióticos y de interés tecnológico».

Dr. Abelardo Margolles Barros, IPLA, CSIC, Asturias.

2. «Microorganismos probióticos y de interés tecnológico: del laboratorio al alimento».

Dr. Juan Miguel Rodríguez Gómez, Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid.

Mesa redonda III. «Avances metodológicos en microbiología de los alimentos. I»

1. «Biosensores de última generación para la detección y cuantificación de microorganismos patógenos en la Industria Alimentaria».

Dra. M^a Isabel Pividori Gurgo. Grupo de Sensores y Biosensores, Universidad Autónoma de Barcelona.

2. «Avances metodológicos y nuevos desafíos en la mitigación de las micotoxinas en la cadena alimentaria».

Dr. Vicente Sanchis Almenar. Departamento de Tecnología de los Alimentos, Universidad de Lleida.

Mesa redonda III. «Avances metodológicos en microbiología de los alimentos. II»

1. «Metodología y aspectos prácticos de la validación y aplicación de métodos alternativos en un laboratorio de Microbiología de los Alimentos».

Dr. David Tomás Fornés. Microbial & Molecular Analytics, Food Safety & Quality, Nestec Ltd., Nestlé Research Center, Lausanne, Switzerland.

Mesa redonda IV. «Nuevos desafíos microbiológicos de interés para la industria alimentaria»

1. «Persistencia de *Listeria monocytogenes* en la Industria Cárnica».

Dr. Joaquín V. Martínez Suárez. Grupo de Seguridad Microbiológica de Alimentos, INIA, Madrid.

2. «Inactivación de *Cronobacter sakazakii* mediante tecnologías no térmicas».

Dr. Antonio Martínez López, Departamento de Conservación y Calidad de Alimentos, IATA-CSIC, Valencia.

3. «Tendencias en los sistemas de envasado antimicrobiano».

Dra. María J. Ocio Zapata. Departamento de Tecnología de los Alimentos, Universidad de Valencia.

4. «Estudios de vida útil: procedimientos al alcance de la Industria Alimentaria».

Dra. Sara Bover i Cid. Investigadora del Programa de Seguridad Alimentaria, IRTA, Girona.

CONFERENCIA DE CLAUSURA

A impartir por el galardonado con el Premio Especial del Grupo de Microbiología de los Alimentos para jóvenes investigadores, con temática por determinar.

El Congreso contará también con las habituales sesiones de pósteres, comunicaciones orales y workshops de casas comerciales.

Para más información sobre el Congreso puede consultarse la página web del mismo en la dirección <http://microalimentos-leon2016.unileon.es/>

MICROBIOLOGÍA INDUSTRIA Y BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA



Francisco Javier Pastor Blasco
Presidente del Grupo

Los días 12 al 14 de septiembre de 2016 tendrá lugar en León el **VI Congreso de Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana** (CMIBM'16) <http://fgulem.unileon.es/>

cmibm2016/. El Congreso se celebrará en la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, organizado por José A. Gil y los profesores de Microbiología del Departamento de Biología Molecular de la Universidad de León.

Contará con **VII Sesiones Científicas**: Biotecnología Ambiental, Bioenergía y Biocombustibles, Biotecnología Farmacéutica, Biotecnología Agrícola, Biotecnología de Alimentos, Biotecnología Enzimática, y Biotecnología Molecular. Se realizarán adicionalmente **sesiones de posters** sobre cada una de esas temáticas. Contará también con las siguientes conferencias:

- **Conferencia inaugural:** Prof. Masayuki Inui. Director del Grupo de Microbiología Molecular y Biotecnología. Research Institute of Innovative Technology of the Earth (RITE). Japón. Título: «*Production of biofuels and green chemicals from non-food biomass by a growth-arrested bioprocess*».
- **Conferencia de clausura:** Prof. Gilles van Wezel, Professor of Molecular Biotechnology. Director of the cluster Microbial Biotechnology & Health (Institute Biology Leiden). Leiden University, The Netherlands. Título: «*Streptomyces: the beauty of the beast*».

El congreso será una oportunidad para visitar León, que fue y sigue siendo una de las ciudades españolas con más tradición en Microbiología Industrial y Biotecnología (Antibióticos de León, Laboratorios Abelló, Laboratorio Syva, Laboratorios Ovejero, Genhelix, Gadea, LeonPharma, BioMar Microbial Technologies, DSM, Norel & Nature, Inbiotec, Ictal, RGA Bio-Investigación SL, Bioges Starters SA, ...). Alguna de esas empresas/institutos de investigación fueron creados por profesores de Microbiología de la Universidad de León y muchos microbiólogos, procedentes de Departamentos de Microbiología de la universidad española, son investigadores o directivos en ellas. En el Congreso se organizarán visitas a las mismas como una de las actividades sociales. Otras actividades sociales ya confirmadas son la visita al Museo de San Isidoro (donde se encuentra el Santo Grial) y a las cuevas de Valporquero.

Como en congresos anteriores, éste será un foro de discusión e intercambio de expe-

riencias tanto entre investigadores de reconocido prestigio ya establecidos, como de jóvenes investigadores que pretenden obtener una formación en el campo de la Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana, con la participación asimismo de especialistas del sector empresarial e industrial. Por lo tanto desde aquí os animamos a participar en este evento y a presentar vuestras comunicaciones

HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS



Humberto Martín
Presidente del Grupo

El **XIII Congreso Nacional de Micología** se celebra este año en Lérida del 20 al 22 de junio de 2016, organizado por María Ángeles de la Torre. Podéis encontrar toda la información en la dirección <http://www.congresomicologia2016.es/site/>. Os animamos a que os inscribáis si aún no lo habéis hecho.

Ya se ha fallado el premio Fleming 2016, concedido bienalmente al mejor trabajo de investigación presentado a concurso en el ámbito de la Micología y realizado en un laboratorio de España en los dos años previos. Una comisión compuesta por tres miembros de la Junta Directiva del grupo especializado ha otorgado el **premio «Fleming 2016»** al trabajo titulado «*A Single Nucleotide Polymorphism Uncovers a Novel Function for the Transcription Factor Ace2 during Candida albicans Hyphal Development*», publicado el año pasado en «*PLoS Genetics*» y cuyos autores son Diana M. Calderón-Noreña, Alberto González-Novo, Sara Orellana-Muñoz, Pilar Gutiérrez-Escribano, Yolanda Arnáiz-Pita, Encarnación Dueñas-Santero, M. Belén Suárez, Marie-Elisabeth Bougnoux, Francisco del Rey, Gavin Sherlock, Christophe d'Enfert, Jaime Correa-Bordes y Carlos R. Vázquez

de Aldana. Este trabajo será expuesto en la charla de clausura del XIII Congreso Nacional de Micología.

Por último, os recordamos que este año corresponde la renovación de la Junta Directiva del Grupo. Os mantendremos informados a través del correo electrónico y de la página web del grupo <http://www.semicrobiologia.org/micologia/home.htm>.

PROTISTOLOGÍA



Ana Martín González
Presidenta del Grupo

En la última reunión de la Federación Europea de Sociedades de Protistología, que tuvo lugar a primeros de septiembre de 2015, acudieron delegados de las Federaciones de Alemania (en representación de la delegación Suiza y Bélgica), Italia, Gran Bretaña, Francia, Rusia (en representación de la delegación Checa y Polaca) y España. El Secretario General de la Federación, Aurelio Serrano, indicó su disposición para abandonar el cargo, al haber cumplido su mandato. Meses después, la delegación italiana propuso para ese cargo a su Presidenta la Dra. M^a Cristina Angelici, del Instituto Superior de Sanidad de Roma. Dicha candidatura ha sido aceptada por unanimidad, por todas las delegaciones de la Federación. La Dra. Angelici es también profesora de la Facultad

de La Sapienza de Roma en la Facultad de Medicina y Farmacia y una reputada experta en la detección molecular de *Toxoplasma gondii* y en el diagnóstico, epidemiología y tratamiento de la toxoplasmosis. Como es habitual, se encargará de la organización del VIII European Congress of Protistology (ECOP), que tendrá lugar en 2019. Recientemente hemos recibido información interesante sobre las nuevas cuotas de afiliación a la International Society of Protistologist (ISOP), que traslado a nuestros socios por si es de su interés, ya que el ser socio del grupo Especializado de Protistología de la SEM, supone una importante reducción de la cuota. Podéis encontrar más información en el enlace: <http://protozoa.uga.edu> o bien, conectar directamente con el enlace de la editorial de la revista que publica la Sociedad (*Journal of Eukaryotic Microbiology*): <http://protozoa.uga.edu/memb.html>. Espero que alguno de los socios aproveche esta atractiva oferta.

TAXONOMÍA, FILOGENIA Y BIODIVERSIDAD



Jesús López Romalde
Presidente del Grupo

Entre los días 8 y 10 de junio se celebrará en Santiago de Compostela la **XVI Reunión del grupo especializado**, que se desarrollará en el Aula Magna de la Facultad de Biología,

situada en el Campus Vida a pocos minutos del casco histórico.

Es la segunda vez que Santiago acoge esta reunión que estamos preparando con la misma ilusión que hace 24 años. Queremos ofrecer un programa atractivo que abarque los diferentes campos en los que nuestra disciplina está representada, y pretendemos que sean los jóvenes investigadores del grupo especializado los protagonistas del mismo.

La conferencia inaugural correrá a cargo de Yolanda Pazos, investigadora del Instituto Tecnológico para el Control del Medio Marino de Galicia (INTECMAR), que nos acercará a la taxonomía y diversidad de fitoplancton con especial énfasis en las especies productoras de biotoxinas. Por su parte, Margarita Aguilera, que se encuentra a caballo entre la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y la Universidad de Granada, centrará su conferencia en aspectos de Taxonomía Microbiana y Seguridad Alimentaria. Por su parte, nuestra querida María José Figueras, flamante embajadora de la American Society for Microbiology (ASM) en España, impartirá un workshop titulado «Art of Science Communication». Las sesiones científicas habituales en nuestras reuniones y una mesa redonda completarán el contenido científico.

No nos hemos olvidado de la parte social, con una recepción de bienvenida y la cena de clausura. Además, a los alicientes habituales de nuestra ciudad, conocidos sin duda por todos vosotros, se une durante este año la apertura de la puerta santa de la catedral gracias al Jubileo papal extraordinario. Una buena oportunidad para visitar nuestra catedral de una forma diferente.

Podréis seguir todo lo relativo al congreso en la página web: <http://www.usc.es/es/congresos/taxon2016>, y tenéis a vuestra disposición la dirección de correo electrónico: congreso.taxon2016@usc.es, para que podáis comunicarnos con nosotros.

Os esperamos en Santiago.

Publicación de resúmenes de Tesis Doctorales

SEM@foro publica resúmenes de Tesis Doctorales realizadas por miembros de la SEM. Deben enviarse a la Secretaría de la SEM (secretaria.sem@semicrobiologia.org) o al Director Editorial (m.sanchez@umh.es) por correo electrónico, siguiendo el formato: Título, Autor, Director(es), Centro de realización, Centro de presentación (si es distinto) y Resumen (máximo, unas 200 palabras).

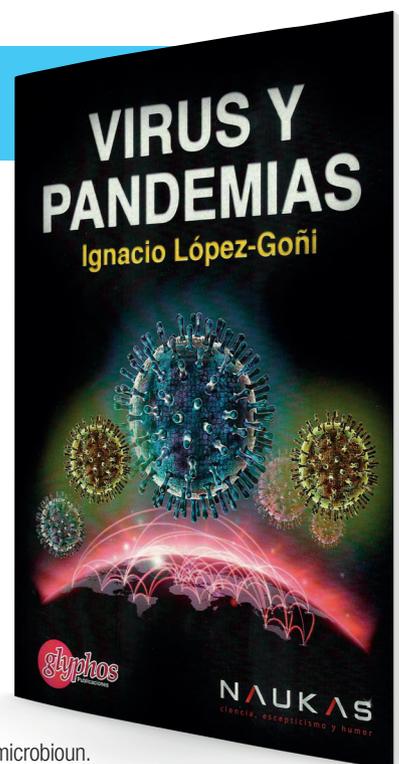
SEM@foro se reserva el derecho a no publicar la información si el resumen es excesivamente largo o el tema del trabajo no guarda suficiente relación con la Microbiología.

Virus y Pandemias



Ignacio López-Goñi

222 páginas • Formato: 15x21 cm • ISBN-13: 978-84-943056-7-2 • Publicado en diciembre 2015



Este libro, editado por Naukas, una plataforma on-line muy popular entre los aficionados a la divulgación científica, se presentó el pasado mes de marzo en el de Fundación Espacio Telefónica de Madrid por el autor, sus padrinos en Naukas y otros amantes de la divulgación virológica. Casi inmediatamente después del necesario «Las Vacunas Funcionan» (Ignacio López-Goñi y Ohiana Iturbide; Pequeñas Guías de Salud, Psylicom Ediciones), este oportuno texto dirige píldoras de virología de manera amena y eficaz al lector curioso por la materia en un lenguaje sencillo, con un espíritu puramente divulgativo. Cada uno de los casi 60 pequeños capítulos tiene la extensión del post de un blog, soporte en el cual el autor se mueve con comodidad y experiencia. Se pueden saborear individualmente, salteados, al azar, en apenas dos minutos, pero leídos en orden proporcionan una entretenida secuencia de la historia de la virología clínica y su impacto social desde la gripe «española» al brote de Ébola de 2015. El zika no llegó a tiempo, pero sí ayudó en la campaña de promoción... A la extensa recopilación de ciencia y anécdotas virológicas acompaña un sentido del humor, a menudo irónico y, ante todo, infeccioso.

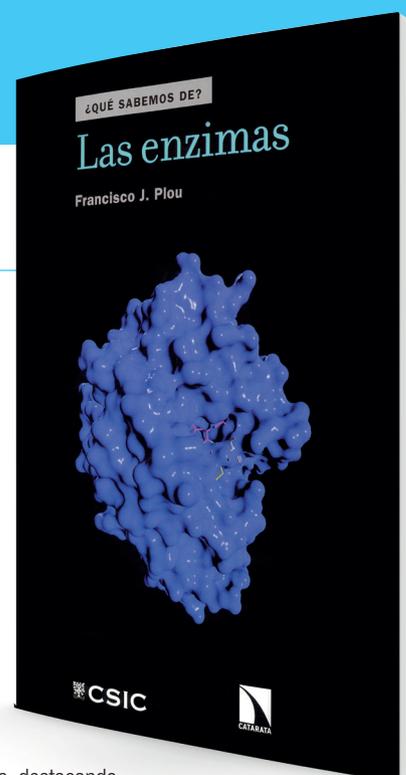
EL AUTOR: Ignacio es Vicepresidente del Grupo D+D SEM, notorio *blogger* creador del popular MicroBIO (microbioun.blogspot.com), e impulsor de múltiples iniciativas en el ámbito docente y divulgativo. Es profesor de microbiología y virología en la Universidad de Navarra y, según él mismo cita en la información que podemos encontrar en el propio sello Naukas, intenta «descubrir por qué algunas bacterias son tan malas y producen enfermedades», y trabaja «para desarrollar nuevas vacunas y nuevos métodos moleculares para detectar las bacterias». Además, como queda patente en esta obra, «le apasiona el mundo de los microbios, las bacterias y los virus, y disfruta contando historias».

¿Qué sabemos de... Las enzimas?



Francisco J. Plou

128 páginas • Formato: 13,5x21 cm • ISBN: 978-84-9097-128-4 • Publicado en marzo 2016



Sinopsis del autor: Miles de reacciones químicas tienen lugar en nuestro organismo en cada instante. La mayoría de ellas depende de unas proteínas que actúan como catalizadores, que aceleran millones de veces los procesos que ocurren en los seres vivos; sin ellas, la vida no sería posible. Estas moléculas son las enzimas, que al operar en condiciones experimentales suaves, se han convertido en pilares esenciales para la sostenibilidad de muchos procesos industriales. El ser humano ha aprovechado el enorme potencial de estos catalizadores biológicos y los produce a gran escala a partir de cultivos de microorganismos para incorporarlos a muchas de nuestras actividades cotidianas: para obtener alimentos saludables (productos sin lactosa, grasa de cacao, zumos, etc.), biocombustibles y polímeros, producir detergentes, tratar prendas textiles, en la producción de antibióticos o incluso en el tratamiento de enfermedades genéticas o en análisis clínicos.

EL AUTOR: Doctor en Ciencias Químicas e investigador científico del Instituto de Catálisis y Petroleoquímica del CSIC, donde lidera una línea de investigación en transformaciones enzimáticas de carbohidratos. Desde 2008 es profesor honorario de la Universidad Autónoma de Madrid. Ha organizado varios talleres de divulgación científica y es autor de más de cien trabajos científicos, algunos de ellos han recibido distinciones, destacando el Premio de Tecnología Enzimática del Instituto Químico de Sarriá, el Premio madri+d a las mejores patentes, el Premio CINFA de la Real Academia Nacional de Farmacia y el Premio al artículo más descargado del repositorio institucional Digital CSIC.

Ruth Patrick (1907-2013), la señora de las diatomeas

Mercè Piqueras

El día que Ruth Patrick cumplió siete años, su padre le regaló un microscopio y le dijo: «No cocines ni cosas. Puedes pagar a otras personas para que lo hagan por ti. Lee y mejora tu mente.» No sabemos si, de mayor, Ruth pagó a otras personas para que le hicieran las tareas del hogar, pero lo cierto es que, toda su vida, su mente se ensanchó y llegó a ser una gran científica, gran conocedora del mundo de las diatomeas y del papel de los microorganismos como indicadores de la calidad de las aguas en el medio natural. Otro consejo que Ruth recibió de su padre fue que, como científica, no renunciase a su apellido al casarse. Posiblemente eso respondía a un deseo de satisfacer el ego paterno más que a un estímulo a la independencia de su hija. Frank Patrick era un naturalista aficionado, pero su profesión era abogado, y quizás deseaba que su apellido tuviera un lugar en el mundo de la ciencia.

BIOGRAFÍA

Ruth Myrtle Patrick (Figuras 1-3) nació en Topeka (Kansas, EE.UU.) el 26 de noviembre de 1907 y se crió en Kansas City (Missouri, EE.UU.). Desde pequeña, cada domingo iba de excursión con su padre y su hermana por el bosque. Recorrían el curso de arroyos y riachuelos, de los que tomaban muestras, y de regreso a casa, el padre le dejaba mirar por el microscopio el material recolectado durante la excursión. El interés de la niña por la naturaleza y el mundo invisible que había descubierto a través del microscopio fue en aumento. En 1926 empezó a estudiar botánica en Cocker College (en Hartsville, Carolina del Sur), que era un centro universitario para chicas. Pero su padre no estaba convencido de que aquel centro fuera suficientemente bueno en la enseñanza de la ciencia y la animó a asistir a cursos de veranos en el Labora-



Figura 1.

Ruth Patrick realizando trabajo de campo.



National Academy of Sciences USA

Figura 2.

Ruth Patrick en una estación experimental de toma y análisis de muestras acuáticas.

torio de Cold Spring Harbor y en la Institución Oceanográfica de Woods Hole, dos centros que ya entonces gozaban de gran prestigio. Cuando se graduó en Cocker College, Ruth continuó los estudios de botánica en la Universidad de Virginia, donde cursó un máster y luego el doctorado, ambos sobre estudios de diatomeas, esas algas unicelulares microscópicas, componentes destacados del fitoplancton, con los que ella estaba ya familiarizada gracias al microscopio paterno.

Durante una estancia veraniega en Cold Spring Harbor Ruth conoció al que luego sería su marido, el entomólogo Charles Hodge IV. Se casaron y cuando, en 1934, ella obtuvo el doctorado, la pareja se trasladó a Filadelfia (Pensilvania). Allí, Charles trabajó como profesor de zoología en la Universidad de Temple y ella empezó a dar clases en la Escuela de Horticultura de Pensilvania (actualmente es



© Mariana Cook 2003

Figura 3.Retrato de Ruth Patrick en 2003 www.marianacook.com.

un centro de la Universidad de Temple). Antes de terminar el doctorado Ruth ya había empezado a colaborar como voluntaria con la Academia de Ciencias Naturales de Filadelfia (Fig. 4), que tenía una extensa colección de diatomeas. La Academia, que desde 2011 forma parte de la Universidad Drexel, fue fundada en 1812 y es el museo y centro de

investigación en ciencias naturales más antiguo del continente americano. En 1937 Ruth fue nombrada conservadora de la colección microscópica Leidy de la Academia, que revitalizó y amplió unificando varias colecciones dispersas en una sola (la colección lleva el nombre de Joseph Leidy [1823-1891], médico y uno de los más destacados naturalistas de los Estados Unidos del siglo XIX, aunque también un gran desconocido). Trabajó sin sueldo hasta 1945, año en el que ya entró a formar parte de la plantilla del centro. En la Academia, en 1947 Ruth fundó el Departamento de Limnología, que dirigió hasta 1973, cuando accedió a la cátedra Francis Boyer de Limnología. La colección de diatomeas de la Academia de Ciencias Naturales de Filadelfia siguió ampliándose con especímenes obtenidos en numerosas expediciones y a través de adquisiciones y actualmente es una de las mayores del mundo, con unas 220.000 preparaciones microscópicas de estas algas microscópicas.

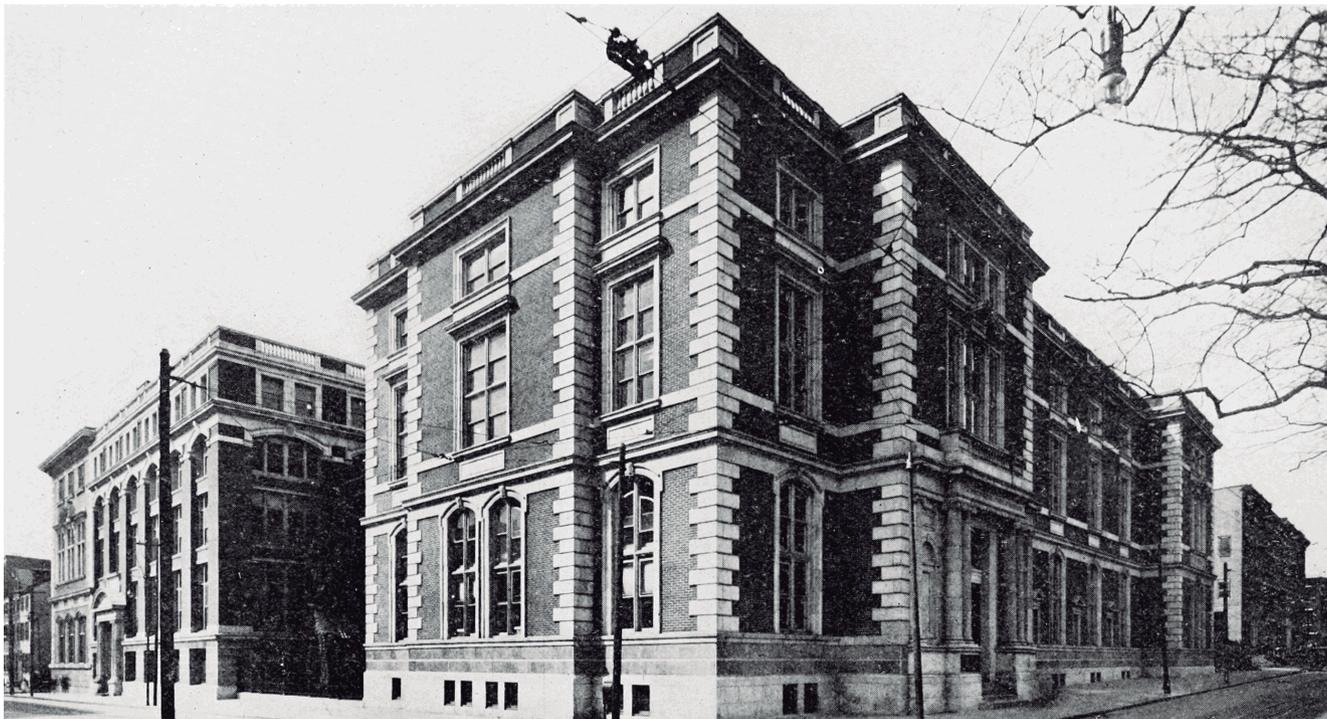
La carrera científica de Ruth fue muy larga. En 2012, ya centenaria, seguía leyendo publicaciones científicas. Cuando, el 23 de septiembre de 2013, falleció en Lafayette Hill

(Pensilvania), era viuda en segundas nupcias. Su primer marido, Charles Hodge, falleció en 1985. Diez años más tarde, en 1995, se casó con Lewis H. Vanduser, que falleció en 2004.

LAS DIATOMEAS COMO INDICADORES ECOLÓGICOS

La micropaleontología fue uno de los primeros campos de investigación a los que Ruth se dedicó y se la puede considerar pionera en el estudio de las diatomeas como indicadores de las condiciones paleoecológicas. Por ejemplo, comprobó que existen correlaciones entre las diatomeas del registro fósil y cambios climáticos o tectónicos o con la existencia de bolsas de petróleo. Pero su principal contribución fue en el ámbito de la ecología y de las ciencias ambientales.

En la década de 1940, Ruth aplicó un nuevo enfoque al estudio de las condiciones ambientales de los ecosistemas acuáticos y la evaluación de la calidad del agua. En 1948 dirigió un trabajo de investigación que confirmó que la biodiversidad de un curso de agua podía usarse como medida del grado de con-

**Figura 4.**

Academia de Ciencias Naturales de Filadelfia en 1912 (actualmente, Academia de Ciencias Naturales de la Universidad Drexel) (autor desconocido, dominio público).

taminación. En dicho trabajo se analizaron las aguas de la cuenca del río Conestoga, de Pensilvania, que comprende cursos de agua de características muy diversas: los había que procedían del riego de campos de cultivo; otros recibían aguas residuales municipales o de industrias y también los había con aguas apenas contaminadas. Fue un estudio multidisciplinar en una época en la que no era frecuente que especialistas de diferentes ámbitos participaran en un mismo proyecto de investigación. Se evaluaron las características químicas y físicas del agua, las características geológicas del terreno y la diversidad de muchos grupos de organismos: bacterias, algas, protozoos, rotíferos, macroinvertebrados y peces. Ruth llegó a la conclusión que, al aumentar el grado de contaminación del agua, la biodiversidad que contiene disminuye; es lo que actualmente se conoce como «principio de Patrick».

La elección que hizo Ruth de las diatomeas como indicadores de la calidad del agua se basaba en algunas características de estas microalgas: a) su fácil conservación gracias a la cubierta dura, silíceas; b) su gran abundancia en las corrientes de agua, tanto por el número de especies como por el número de individuos, lo que facilita los estudios estadísticos y les da fiabilidad; c) la gran variación específica en cuanto a la sensibilidad a las condiciones físicas y químicas del agua, que hace que prácticamente en cualquier tipo de ambiente de agua dulce se encuentren especies de diatomeas y que, para cada tipo de ambiente (natural o contaminado), se puedan encontrar especies indicadoras; y d) la enorme información que había disponible de ese grupo que algas, que había sido estudiado por muchos investigadores antes de que lo hiciera Ruth.

Los trabajos de Ruth y su equipo revelaron que algunas especies de diatomeas eran más abundantes en aguas muy contaminadas con materia orgánica procedente de aguas residuales, mientras que otras crecían mejor en aguas contaminadas por productos químicos. Por lo tanto, mediante la observación al microscopio de una muestra de agua y determinación de las especies de diatomeas y la cantidad en la que se encontraban, podía saberse el tipo de contaminación del agua y en qué grado se producía. Aquel enfoque revolucionó el modo de considerar el efecto

que causan en el medio acuático diferentes factores naturales y la actividad humana. Además, se ha aplicado también al análisis de las condiciones ambientales de otros ecosistemas terrestres y marinos.

ACADEMIA, EMPRESA E INGENIO

Con frecuencia, Ruth recordaba las circunstancias que hicieron posible el desarrollo del proyecto de estudio de las condiciones ambientales de las aguas dulces continentales en el que basó gran parte de su trabajo posterior. En 1946, William Hart, ejecutivo de la industria del petróleo y de la Cámara de Comercio de Pensilvania, asistió a una conferencia de Ruth sobre los factores ambientales que afectan a la distribución de las diatomeas en los medios de agua dulce. Se interesó por su posible aplicación en un proyecto para determinar la calidad de las aguas y, para subvencionarlo, logró reunir más de 50.000 dólares (una gran cantidad a mediados del siglo xx) procedentes del Gobierno del estado de Pensilvania y de industrias del mismo estado. Cuando Hart se entrevistó con el presidente de la Academia para tratar de dicho proyecto, este le dijo que Ruth no podría dirigir un estudio de esa envergadura ni gestionar tantos fondos económicos porque era «solo una chica». Hart insistió y amenazó con la no realización del proyecto si no era la

doctora Patrick quien lo dirigiera. En verano de 1948 un equipo pluridisciplinar dirigido por Ruth estudió el efecto de los contaminantes en la biota de los ríos Conestoga y Brandywine. El año siguiente, los resultados de aquel trabajo se publicaron en un artículo de más de 60 páginas.

Cuando se utiliza un grupo de organismos como indicadores de la calidad ambiental, para que las muestras que se estudian sean homologables es necesario que su recogida y estudio se hagan siempre del mismo modo en los diferentes ambientes analizados, por ejemplo para comparar los cursos superior e inferior de un río o dos ríos distintos. Ruth lo consiguió con un aparato que diseñó ella misma: el *diatómetro* (Fig. 5), que en 1955 patentó en nombre de la Academia de Ciencias Naturales de Filadelfia. Lo llamó diatómetro Catherwood en honor a la Fundación Catherwood, que subvencionó un proyecto de investigación para estudiar las aguas de la cabecera del río Amazonas, en Perú, y comparar sus características biológicas con las de ríos de la zona templada en el este y el sur de los Estados Unidos. La definición de la patente dice que es un «aparato de medida usado para obtener un índice de la vida acuática en una corriente de agua». El diatómetro, que es flotante (el modelo original llevaba flotadores de los que se utilizan en las cisternas de los inodoros), contiene portaobjetos y se deja

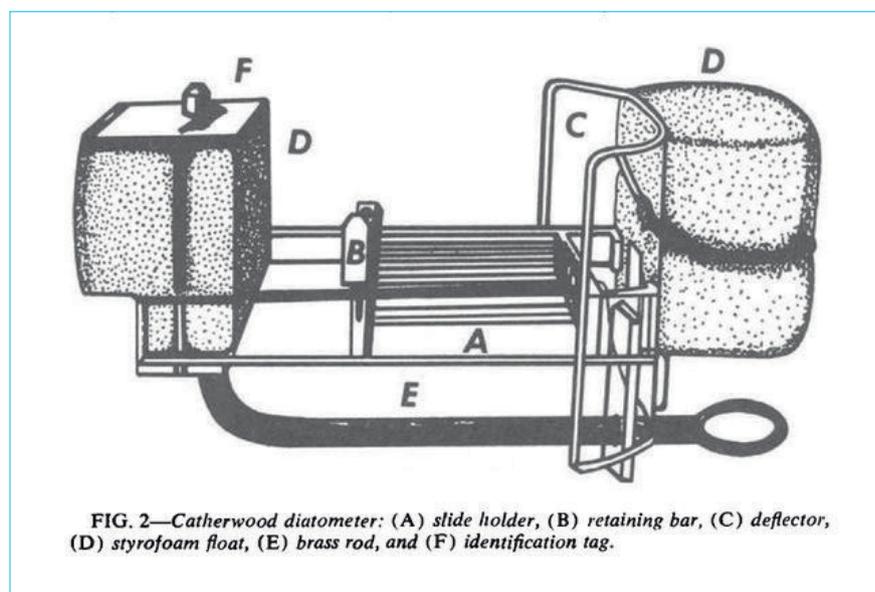
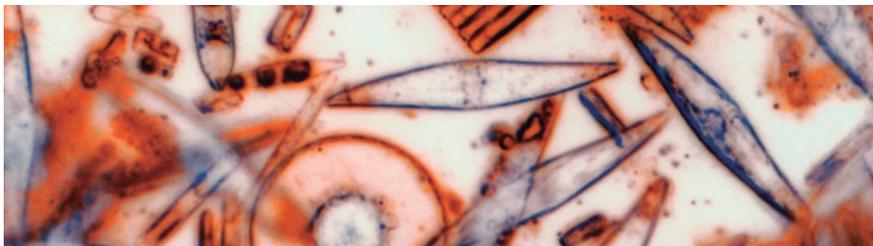


Figura 5.

Diseño del diatómetro inventado por Ruth Patrick.



en el agua el tiempo suficiente (dos semanas suelen bastar) para que se forme un sustrato biológico en la superficie de los portaobjetos. Las diatomeas vivas quedan adheridas, mientras que las muertas se despegan. Por lo tanto, todas las diatomeas que al final se observan sobre los portaobjetos aún están vivas. Esto resuelve el problema que había cuando se hacía el recuento de diatomeas a partir de muestras de agua, porque la cubierta silíceica de estas algas perdura mucho tiempo después de que la célula ha muerto, y no es posible distinguir las células vivas de las muertas.

UNA LARGA CARRERA

Ruth Patrick supo conciliar la investigación básica y la aplicada, dos aspectos de la ciencia que con frecuencia van separados. La reconocida experiencia y profundo conocimiento que tenía de la ecología de los sistemas acuáticos determinó que, además de organizaciones dependientes del Gobierno de los Estados Unidos, también instituciones privadas e industrias encargaran a Ruth el estudio del impacto ambiental de la actividad humana en ríos y otros medios de agua dulce, y que solicitasen sus servicios como asesora. De ella dijo el limnólogo Evelyn Hutchinson que, gracias a su reputación, era la única persona que podía ser interlocutora de científicos e industriales para tratar de la contaminación de los ríos. Los presidentes de Estados Unidos Lyndon B. Johnson y Ronald Reagan pidieron su asesoramiento sobre la contaminación de las aguas (Johnson) y sobre la lluvia ácida (Reagan). Ruth colaboró también con el Congreso de los Estados Unidos en la legislación contra la contaminación y participó en la redacción de la Ley para la protección del agua (*Clean Water Act*). Al final de su dilatada carrera profesional, Ruth calculaba que había estudiado entre 800 y 900 cursos de agua por todo el mundo. El desarrollo científico y tecnológico la fascinaba, porque permitía

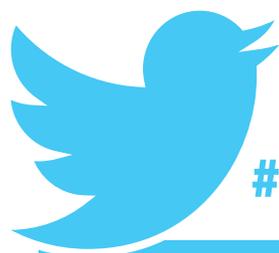
profundizar en el estudio de la estructura y funcionamiento de los ecosistemas y este conocimiento facilitaba la resolución de los problemas creados por la contaminación de las aguas. Casi centenaria, aún mostró interés por una innovación reciente: el desarrollo de un código de barras para el DNA, como herramienta para la identificación de larvas acuáticas de insectos y su aplicación para medir la contaminación de las aguas. Quería saber si esta metodología molecular podía emplearse para la identificación de las diatomeas. El último artículo científico del que fue coautora se publicó en 2015, cuando ella ya había fallecido; se trata de un estudio pluridisciplinar de las concentraciones de radionucléidos emisores de radiaciones gamma a lo largo de veinticinco años en la zona de influencia de la central nuclear de Three Mile Island, donde, en 1979, se produjo un grave accidente cuando uno de los reactores de la central sufrió una fusión parcial del núcleo. Se obtuvo así una amplia base de datos sobre los efectos de la radiación producida en aquel accidente, que sirvió de modelo para estudios posteriores tras los desastres de Chernobyl y Fukushima. El estudio del accidente de Three Mile Island puso de manifiesto la utilidad de las diatomeas como sensores muy eficaces de la radiactividad ambiental, ya que pueden amplificarla hasta 50.000 veces.

La destacada contribución de Ruth Patrick a la ciencia le fue reconocida en vida con numerosos premios y galardones de asociaciones y organizaciones científicas, de fundaciones privadas y organizaciones profesionales, de organizaciones cívicas, de organizaciones de mujeres, del gobierno de Pensilvania y del de los Estados Unidos, además de distinciones y doctorados *honoris causa* de varias universidades. También hay algunos centros de investigación que llevan su nombre, como el Centro Patrick de Investigación Ambiental de la Universidad Drexel (es el nombre actual del Departamento de Limnología que ella fundó) o el Centro de Educación de la Ciencia Ruth Patrick, de la Uni-

versidad Aiken de Carolina del Sur. Los archivos de la Academia de Ciencias Naturales de Pensilvania [<http://goo.gl/DJe1im>] son un registro valioso de la actividad académica, investigadora y de asesoría de Ruth Patrick y en ellos queda reflejado su trabajo pionero de análisis de la calidad del agua y la cuantificación de los efectos de la contaminación acuática. Aunque ella se consideró siempre una limnóloga, sus publicaciones y archivos demuestran que fue una pionera de los estudios ambientales y de la ecología microbiana. Y cuando muy pocos ecólogos eran conscientes de que en el futuro el agua llegaría a ser un bien escaso en el planeta, Ruth publicó un artículo con el título *Use without abuse of our water resources* (Massachusetts Audubon, enero-febrero 1961). (Otro científico que en la década de 1960 previó los problemas de la escasez de agua en el planeta fue el ecólogo Ramón Margalef). En aquellos archivos, la correspondencia, los documentos relativos a aspectos administrativos de la Academia y de otras organizaciones con las que mantuvo alguna relación, los artículos propios o de otros autores, memorias de proyectos, textos de conferencias que impartió, fotografías, cintas de audio y de video y algunos objetos son una fuente casi inagotable para futuras investigaciones sobre la dilatada carrera de Ruth Patrick.

BIBLIOGRAFÍA

- Cairns J** (2014) Resolution of respect: Ruth Patrick (1907-2013). *Bulletin Ecological Society of America* 95:11-13
- Harris C, Kreeger D, Patrick R, Palms J** (2015) Twenty-five years of environmental radionuclide concentrations near a nuclear power plant. *Health Physics* 108:503-513
- Hart D** (2014) Ruth Patrick, 1907-2013, obituary. *Limnology and Oceanography Bulletin* 23:54-56, DOI: 10.1002/lob.201423254c
- Langenheim JH** (1996) Early History and progress of women ecologists: Emphasis upon research contributions. *Annu Rev Ecol Syst* 27:1-53, DOI: 10.1146/annurev.ecolsys.27.1.1
- McCracken Peck R** (2014) In Memoriam Ruth Patrick (1907-2013). *The American Naturalist* 183:ii-iv, DOI: 10.1086/674825
- Patrick R** (1949) A proposed biological measure of stream conditions, based on a survey of the Conestoga Basin, Lancaster County, Pennsylvania. *Proc Acad Nat Sci Phil* 101:277-341.
- Patrick R** (1956) Diatoms as indicators of changes in environmental conditions. In: Tarzwell CM (Ed.) *Biological problems in water pollution*, Robert A. Taft Sanitary Engineering Center, Cincinnati, Ohio, pp. 71-83
- Weir A, Margulis L** (2000) The wonderful lives of Joseph Leidy (1823-1891). *Int Microbiol* 3:55-58



#microMOOCSEM

¡La que está montando la SEM en Twitter!

Ignacio López-Goñi

Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad de Navarra

Desde el pasado 5 de abril, la Sociedad Española de Microbiología está impartiendo el primer curso online gratuito sobre Microbiología vía Twitter del mundo. Está organizado y coordinado por el grupo de Docencia y Difusión de la Microbiología. Le denominamos #microMOOCSEM: lo de «MOOC» viene del acrónimo en inglés *Massive Online Open Course*, «micro» porque lo impartimos en formato pequeño de 140 caracteres vía Twitter y además va de microbiología, y SEM, por razones obvias.

Cada martes, miércoles y jueves por la noche a las 22:00 hora peninsular (haya fútbol o no en la TV) comenzamos la clase que consiste en unos 30-40 tuits (uno por minuto) sobre un tema concreto de microbiología. Compartimos contenidos, webs, links, noticias, imágenes espectaculares, vídeos súper chulos, cientos de enlaces sobre ciencia y microbiología. En cada sesión se incluyen además dos o tres preguntas de evaluación.

No hace falta inscribirse, es online, gratuito (sí, gratis, ¡de verdad!), sin certificados ni títulos. Se trata de compartir y difundir ciencia a través de las redes sociales. Con un lenguaje sencillo, divulgativo y muy visual, el objetivo es llegar a mucha gente, no hace falta conocimientos previos, solo que te guste la ciencia y que te apasione la microbiología. Para seguir el curso solo hace falta conectarse a Twitter y seguir la cuenta @SEMmicrobiología o la etiqueta #microMOOCSEM. El curso está teniendo tanto éxito que también se puede seguir a través de la cuenta de Facebook de la SEM.



Los profesores somos 30 profesionales e investigadores de la SEM, de 20 universidades o centros de investigación (algunos que están trabajando en centros extranjeros, incluso). El curso consta de 28 temas y va a durar hasta el 7 de junio (ver Tabla adjunta).

Esta iniciativa nos está permitiendo investigar el uso de las redes sociales para la docencia, la difusión de la ciencia y la microbiología y la promoción de nuestra sociedad científica.

Como es a través de las redes sociales nos siguen desde todo el mundo. Hasta ahora, el 62% de los seguidores son de

España y el resto se reparten entre México, Venezuela, Argentina, Colombia, Perú, Ecuador, Chile y EE.UU. (en ese orden de preferencia). En este sentido, #microMOOCSEM está siendo otra excelente herramienta para estrechar lazos con nuestras sociedades científicas hermanas de Latinoamérica. El 59% de los seguidores son mujeres, y por los comentarios que nos llegan, comprobamos que entre el público hay también muchos alumnos/as de universidad y de bachillerato, profesores de instituto, profesionales de ciencias, periodistas y divulgadores científicos.

El curso está teniendo mucha repercusión en otros medios. Ha habido reportajes y noticias sobre esta iniciativa en 28 periódicos o prensa digital, 14 blogs de ciencia, 10 webs de universidades, centros de investigación o sociedades científicas y hasta en 3 radios locales.

Este curso online te permite reenganchar-te cuando quieras y si te pierdes una clase no pasa nada, luego la puedes consultar en esta dirección de internet, en la que quedan colgadas todas las clases para que se puedan repasar: <https://storify.com/SEMmicrobiologia>. Es un excelente repositorio donde quedan guardados todos los tuits, con cientos de enlaces, vídeos e imágenes muy útiles para la docencia.

De momento, un efecto que ha tenido esta iniciativa es el aumento espectacular de seguidores en las redes sociales de la SEM. Antes de comenzar el curso el número de seguidor-

res de nuestra cuenta de Twitter era de 2.176 y a finales de junio ya hemos superado los 7.000 seguidores. Y lo mismo ha ocurrido en la cuenta de Facebook de la SEM: antes 3.312 y ahora más de 4.600. De esta forma, en unos pocos meses la SEM se ha colocado entre las sociedades científicas con más seguidores en Twitter (Tabla I):

Pero además, estamos cumpliendo otros objetivos: 1) estamos consiguiendo que se hable de la SEM y que la microbiología sea noticia; 2) hemos conseguido un buen grupo de microbiólogos que, sin conocernos personalmente muchos de nosotros, nos contagiemos mutuamente nuestra pasión por la docencia y la microbiología; 3) vamos a generar un repertorio de cientos de tuits con cientos de enlaces, videos e imágenes de libre acceso sobre los temas más variados de la microbiología; y 4) y más importante, todos estamos aprendiendo de otros colegas y además nos estamos divirtiendo de lo lindo. Con #microMOOCSEM hemos demostrado que sí, que se pueden dar una clase magistral de ciencia en Twitter. ¡Síguenos! (Tabla II)

TABLA I

Sociedad o Institución	Seguidores en Twitter (mayo 2016)
<i>MicrobeWorld</i>	17.300
<i>American Society for Microbiology</i>	16.700
<i>Microbiology Society</i>	11.500
Asociación Española de Bioempresas (ASEBIO)	6.349
Asociación Española de Vacunología (AEV)	5.152
FEMS	3.147
Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene (SEMPSPH)	2.873
Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (SEBBM)	1.543
Sociedad Española Interdisciplinaria del SIDA (SESIDA)	1.056
Sociedad Española de Virología (SEV)	1.026
Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)	972
<i>Canadian Society for Microbiology</i>	711

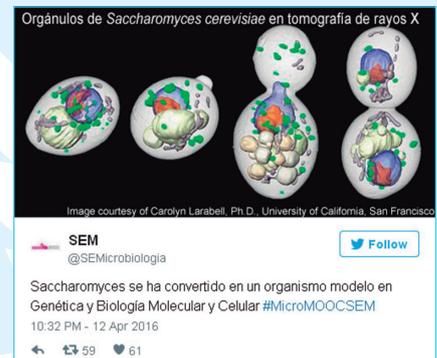


TABLA II: TEMAS Y PROFESORES DEL CURSO #MICROMOOCSEM

	Tema	Profesores	Centro
1	Historia de la microbiología	María José Martínez	Universitat de Barcelona
2	Arqueas y bacterias	Ignacio López-Goñi	Universidad de Navarra
3	Virus	Josefa Anton	Universidad de Alicante
4	Hongos y levaduras	Victor Cid	Universidad Complutense de Madrid
5	Protistas	Ana Martín González	Universidad Complutense de Madrid
6	Bacteriofagos	Maryury Brown-Jaque	Universitat de Barcelona
7	Genética bacteriana	Juan M García Lobo	Universidad de Cantabria
8	Origen de la vida y evolución microbiana	Manuel Sánchez Angulo	Universidad Miguel Hernández
9	Microbiología del suelo	Juan Ignacio Vilchez	Universidad de Granada
10	Microbiología del agua	Tatiana Robledo	Universidad de Granada
11	Biorremediación, biodeterioro, biodegradación, ...	Marina Seder	Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN)
12	Microbiota intestinal	Silvana Teresa Tapia	Universidad de Málaga
13	Probióticos y prebióticos	Alma Hernández de Rojas	Instituto Español de Oceanografía Gijón
14	El microbioma humano	Alex Mira	Centro Superior de Investigación en Salud Pública. Valencia
15	Microbios y plantas	JJ Gallego	www.microgaia.net
16	Microbiología de los alimentos	Teresa Mª López Díaz	Universidad de León
17	Microbiología en enología	Sergi Maicas i Prieto	Universitat de València
18	Microbiología industrial	Eduardo Villalobo y Manuel Sánchez Angulo	Universidad de Sevilla
19	Microbiología clínica e infección	Guillermo Quindós	Universidad País Vasco
20	Virulencia y patogenicidad bacteriana	Sabela Balboa Méndez y Jesús López Romalde	Universidad Santiago Compostela
21	Tuberculosis	Clara Aguilar	Universidad de Zaragoza
22	VIH/SIDA	Anna Tomas	Universitat Autònoma de Barcelona
23	Malaria	María Linares Gómez	Hospital Doce de Octubre-CNIO
24	Levaduras patógenas	Oscar Zaragoza	Centro Nacional de Microbiología. Madrid
25	Hongos y micotoxinas	Jessica Gil Serna	Universidad Complutense de Madrid
26	Antibióticos y quimioterápicos	Raquel Ferrer y Ana Camacho	Universidad de Navarra
27	Resistencia a los antibióticos	Laura Vinue	Massachusetts General Hospital (Boston, EE.UU.)
28	Las vacunas salvan millones de vidas	Jorge García-Lara	University of Central Lancashire / Reino Unido

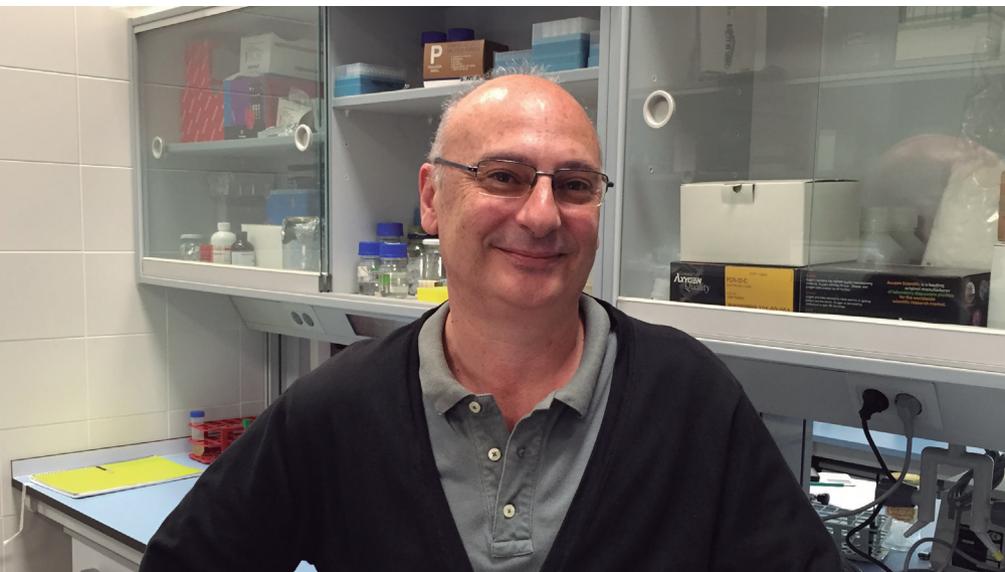
Coliloquio, by Víctor.



Entrevista a Francisco Mojica

Esta entrevista ha sido realizada conjuntamente por Ángeles Martínez y por Manuel Sánchez Angulo. Ángeles es la responsable del programa «Feedback Ciencia» y Manuel del programa «Tú yo y los microbios». Ambos se emiten por Radio UMH

Universidad Miguel Hernández, Alicante



You Tube

La explicación del sistema CRISPR por el propio Francis Mojica puede verse en este enlace:



<http://youtu.be/GOK6FkmHdQ>

Francis Mojica en su laboratorio.

¿QUÉ TE ANIMÓ A ESTUDIAR MICROBIOLOGÍA?

Lo que tenía muy claro es que quería estudiar Biología, pero dentro de ella no lo tenía tanto por cual disciplina decidirme y cuando vi qué eran los microbios me dije «¡Hombre! ¡perfecto!». Cuando uno estudia los microorganismos, está estudiando Bioquímica, Biología Molecular, Ecología, Fisiología, etc. Me pareció el campo más completo de la Biología. Lo que no entendía es cómo el resto del mundo no quería estudiar Microbiología. Todavía hoy en día me lo pregunto

¿QUÉ ES EL SISTEMA CRISPR?

El sistema CRISPR o CRISPR-Cas, haciendo referencia a los dos componentes principales de estos sistemas, es un mecanismo que tienen los procariontes para defenderse de invasiones por parte de elementos genéticos como son los plásmidos o los virus.

Lo que hace este sistema es reconocerlos como agentes extraños y mantener dentro del genoma del microorganismo una memoria que le permite luchar contra ellos. Es una especie de sistema de inmunidad adquirida que mantiene un registro de entrada de esos invasores y que, al residir en el genoma, puede transmitirse a la descendencia. Cuando el sistema CRISPR reconoce algo como un invasor gracias a esa memoria previa, corta el material genético de ese invasor que coincide con la información de dicha memoria. Ese corte lo lleva a cabo una proteína Cas.

HAN PASADO 25 AÑOS DESDE QUE COMENZASTE A TRABAJAR EN ESTA LÍNEA. ¿CUÁL ES TU CAMPO ACTUAL DE INVESTIGACIÓN?

El mismo. Yo sigo trabajando con los sistemas CRISPR-Cas, en concreto en la primera etapa, la de adquisición de esta inmunidad: cómo reconoce la célula a esos invasores

Es una especie de sistema de inmunidad adquirida que mantiene un registro de entrada de esos invasores y que, al residir en el genoma, puede transmitirse a la descendencia.

como elementos extraños y peligrosos. Esto está todavía por caracterizar y prácticamente no se sabe nada de cómo se genera esa memoria; estamos intentando aclarar aspectos fundamentales de la misma.

¿QUÉ TIENE DE REVOLUCIONARIO?

Los sistemas CRISPR son muy diversos. Algunos implican el funcionamiento de treinta proteínas distintas, pero hay otros muy

simples que sólo requieren tres proteínas. Una de ellas es Cas9. Se puede programar a esa proteína para que reconozca una diana concreta. Basta con darle una guía, un pequeño RNA que coincida con esa diana, y la corta. Esto se puede utilizar para la edición de genomas. Lo realmente asombroso es que funciona de maravilla en cualquier tipo celular, incluyendo las células humanas. Y lo hace de manera muy eficaz y con mucha precisión. Esta tecnología puede usarse para estudiar la función de un determinado gen o incluso intentar curar una enfermedad genética. Se abren muchísimas posibilidades.

EL ARTÍCULO EN EL QUE DESCRIBÍAS UNA POSIBLE FUNCIÓN DE CRISPR FINALMENTE FUE PUBLICADO EN EL JOURNAL OF MOLECULAR EVOLUTION. EN EL ARTÍCULO DE LANDER PUBLICADO EN LA REVISTA CELL, «LOS HÉROES DEL CRISPR», HABLA DE UNA ODISEA DE 18 MESES HASTA LA ACEPTACIÓN. ¿CÓMO VIVISTE ESOS MESES? ¿CUÁL FUE EL MOMENTO MÁS FRUSTRANTE?

Frustrantes fueron casi todos, quitando el último en el que por fin dijeron que lo aceptaban. Pero lo más frustrante era pensar que alguien fallaba y que quizás era yo mismo por mi incapacidad de hacer ver algo, que para mí estaba clarísimo que era muy importante. Cuando la primera revista a la que lo mandas te dice que eso no es tan relevante o que ya ha sido descrito previamente o que es otro sistema de restricción-modificación, pues se te cae el mundo al suelo. Y cuando intentas convencerlos de que se equivocan y lo mandas a

Lo más frustrante era pensar que alguien fallaba y que quizás era yo mismo por mi incapacidad de hacer ver algo, que para mí estaba clarísimo que era muy importante.

otra revista y te lo rechazan con los mismos argumentos, y lo mandas a otro y te vuelven a decir que no, y a otro, y a otro. En la mayoría de los casos sin pasar siquiera a revisores. Tú tienes oro en las manos y no eres capaz de hacerles ver lo que tienes. Eso supuso además de frustración, un estado de nervios tremendo, pues podría ser publicado por algún otro grupo de investigación. Cuando lo mandamos a la última revista donde fue aceptado, tardaron una eternidad en contestar. Recuerdo que al menos una vez al mes me ponía en contacto con el editor preguntando por el artículo. Cuando por fin fue publicado, al mes se publicó otro diciendo básicamente lo mismo que nosotros. Y seis meses después otro.

EN AQUEL MOMENTO ¿PENSASTE TÚ, O ALGUIEN DE TU GRUPO, QUE ESTO PODRÍA TENER ALGÚN TIPO DE APLICACIÓN, MÁS ALLÁ DE DESCRIBIR UN PROCESO FUNDAMENTAL EN BACTERIAS? ¿HUBO ALGÚN COMENTARIO CONSTRUCTIVO POR PARTE DE LOS REVISORES?

En el artículo se decía que los procariontes tienen un sistema de inmunidad adquirida. Ese era más o menos el título del manuscrito cuando se mandó inicialmente a *Nature*. También decíamos que ese sistema iba a tener muchas aplicaciones en biotecnología, en agricultura y en clínica. Todo eso lo tuvimos que quitar. Había un rechazo de los editores y de los revisores en cuanto a que era algo tan revolucionario, que o bien pedían un respaldo experimental muy grande o bien directamente no se lo creían. Fue uno de los últimos revisores en rechazar el artículo el que nos indicó que el contenido era más adecuado para el *Journal of Molecular Evolution*. Al enviarlo a esa revista nos centramos en el tema de que este sistema tenía una repercusión evolutiva muy grande y no en las posibles aplicaciones. Lo importante es que al final se publicó el artículo y que fuimos los primeros.

VOLVIENDO AL ARTÍCULO DE LANDER. SEGÚN ÉL, LA HISTORIA DE CRISPR ES UN EJEMPLO DE LO QUE SE DENOMINA «DESCUBRIMIENTO SIN HIPÓTESIS PREVIA» BASADO SIMPLEMENTE EN EL ANÁLISIS DEL «BIG DATA». ¿ESTÁS DE ACUERDO CON ESA AFIRMACIÓN?

Sí. Nosotros llevábamos desde el año 1993 preguntándonos para qué servía aquello, pero teníamos muy claro que era muy importante. Lo difícil era saber «para qué servía» ya que no teníamos ninguna pista. Fue gracias a la genómica y el desarrollo de la tecnología de secuenciación. A partir de 1995 comenzamos a disponer de la secuencia de genomas completos de

The Heroes of CRISPR

Eric S. Lander^{1,2,3*}
¹Broad Institute of MIT and Harvard, 415 Main Street, Cambridge, MA 02142, USA
²Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA 02139, USA
³Department of Systems Biology, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

- 1 1993 Discovery of CRISPR
- 2 2003 CRISPR is an adaptive immune system
- 3 2006 Experimental evidence that CRISPR confers adaptive immunity

Locations marked on the map: Alicante (1,2), Saint-Romain (3), Paris (2), Wageningen (4), Würzburg (7), Vienna (7,9), Vilnius (8,9).

En su artículo en *Cell*, el influyente Eric Lander dio crédito a Francisco Mojica como clave en el descubrimiento de los CRISPR, y puso a Alicante como la cuna del hallazgo, si bien sus detractores le acusan de diseñar una estrategia para desacreditar a Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier en favor de Feng Zhang en la carrera hacia el Nobel y la disputa por las millonarias patentes.

diversas bacterias y pudimos buscar en esas bases de datos el origen de las secuencias espaciadoras del sistema CRISPR. En el año 2003 encontramos que una de las secuencias que habíamos encontrado en una cepa de *Escherichia coli* era idéntica a la secuencia de un virus que infectaba a *E. coli*. Pensamos que aquello no era casualidad y seguimos comparando con otras secuencias espaciadoras y encontramos lo mismo. Entonces cogí las secuencias de todas las agrupaciones CRISPR que conocíamos y utilizando el procesador Word, porque yo de bioinformática no tengo ni idea, extraje todos los espaciadores y los comparé uno a uno con las bases de datos. Al final, un 2% de las 4500 secuencias que comparé eran idénticas o muy similares a elementos genéticos como plásmidos o virus. Fue un «big data» manual.

Para mí, lo primero que hicimos relevante en el campo CRISPR fue demostrar que esas agrupaciones eran una característica de los procariontes, ahora sabemos que «sólo» están en un 50%. Y para detectarlos no había una herramienta informática fiable que pudiera reconocer estas agrupaciones. Entonces, un estudiante de Biología llamado César Díez Villaseñor, diseñó un programa capaz de hacerlo. Y gracias a eso pudimos demostrar que esas agrupaciones no sólo se encontraban en *E. coli* o en las haloarqueas, sino que eran muy frecuentes.

Lo primero que hicimos relevante en el campo CRISPR fue demostrar que esas agrupaciones eran una característica de los procariontes.

¿CÓMO VES LA «PELEA DE PATENTES» ENTRE LAS DIFERENTES INSTITUCIONES E INVESTIGADORES?

Hasta cierto punto lo entiendo, porque hay mucho dinero en juego. Pero por otro lado es una verdadera lástima porque algo tan importante y con tanta repercusión como la

tecnología CRISPR se empañe por un asunto como este. Intento estar al margen.

¿HA CAMBIADO MUCHO TU VIDA EN EL PLANO CIENTÍFICO Y ACADÉMICO?

Y en el personal también. En el científico sí, en el sentido de que lo tengo completamente desatendido. Hace mucho que no hablo de Ciencia con mis colaboradores. Y precisamente podemos ponerle fecha: desde que salió el artículo de Lander en *Cell*, básicamente. En cuanto al académico, sigo dando mis clases hasta donde puedo. He tenido que pedir en alguna ocasión que alguien me sustituyera. Pero lo que más me ha afectado es no poder atender a muchísima gente que está intentando que les conceda entrevistas.

AUNQUE HAS CONTESTADO EN PARTE EN LA ANTERIOR PREGUNTA ¿CUÁNDO FUE ESE CAMBIO? ¿AL CONCEDER EL PREMIO PRINCESA DE ASTURIAS A JENNIFER DOUDNA Y EMMANUELLE CHARPENTIER, CUANDO SE PUBLICÓ EL ARTÍCULO DE LA REVISTA CELL «LOS HÉROES DEL CRISPR» O CUANDO SALIÓ EL ARTÍCULO EN EL PERIÓDICO «EL PAÍS» EN EL QUE TE COLGARON LA ETIQUETA DEL «CANDIDATO AL NOBEL»?

Realmente empezó con la concesión del Princesa de Asturias. Los periodistas contactaron conmigo a través de Lluís Montoliu que está en el Centro Nacional de Biotecnología. Él es uno de los usuarios de la técnica CRISPR y fue quien les informó a los periodistas del origen de dicha técnica. Sin embargo aquello no duró mucho. La locura se inició con la publicación del artículo de Lander en enero de 2016.



Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier durante la entrega del Premio Princesa de Asturias en 2015 (EFE).

ES INCREÍBLE EL IMPACTO QUE PUEDEN LLEGAR A TENER ESTAS REVISTAS ¿NO?

Las revistas y las personas. Uno de mis directores de tesis, el profesor Francisco Rodríguez-Valera, publicó en NoticiaSEM (NoticiaSEM 75) un artículo sobre mi implicación en el descubrimiento de este sistema y aquello no tuvo mucha repercusión, a pesar de que Rodríguez-Valera es uno de los mejores científicos de este país y un microbiólogo muy bien reconocido a nivel internacional. Sin embargo cuando Eric Lander, fundador del Broad Institute del MIT y Harvard, y promotor del proyecto Genoma Humano, escribe algo en *Cell*, pues la repercusión es mucho más grande. Tras escribirlo le llamé para agradecerle que me hubiera reconocido como descubridor aunque no estaba muy de acuerdo con algunas cosas. Las repeticiones CRISPR se descubrieron en 1987 por un grupo japonés, pero él me dijo que yo sí era el descubridor, ya que no es lo mismo encontrar algo, que encontrar algo, preocuparse por ello, investigarlo y explicarlo.

No es lo mismo encontrar algo, que encontrar algo, preocuparse por ello, investigarlo y explicarlo.

DESDE EL DESCUBRIMIENTO DEL CRISPR HASTA LAS APLICACIONES ACTUALES HAY UN LARGO CAMINO Y MUCHOS PARTICIPANTES. EN TU OPINIÓN, ¿CUÁL O CUÁLES HAN SIDO LAS MÁS SIGNIFICATIVAS?

Yo no le quitaría mérito a Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier, en cuanto a que ellas fueron las que definieron cuales eran los componentes de estos sistemas, suficientes y necesarios, para cortar el DNA de una forma dirigida. Lo hicieron *in vitro* y además fueron las primeras que dijeron que podía servir para editar genomas. Pero quienes realmente dieron ese paso fueron Feng Zhang del Broad Institute y George Church de Harvard, que trabajando independientemente publicaron *back to back* en la misma revista, la demostración experimental de que se podía usar el CRISPR para modificar células de ratón o células humanas. Desde mi punto de vista ese fue el auténtico bombazo.

HABLEMOS UN POCO DE OTROS TEMAS. HAY UN CONSENSO GENERALIZADO EN QUE NUESTRO SISTEMA ACTUAL DE FINANCIACIÓN DE LA CIENCIA EN ESPAÑA NO FUNCIONA, SOBRE TODO POR FALTA DE FONDOS. VAMOS A SUPONER QUE SE AUMENTA EL PRESUPUESTO. EN TU OPINIÓN ¿QUÉ ES LO SIGUIENTE QUE HABRÍA QUE CAMBIAR?

Ahí es nada. Financiación estamos todos de acuerdo que falta. Pero claro, en eso estamos de acuerdo los que somos científicos y los que estudian otros campos. No debería enfocarse tanto en la ciencia aplicada, sino también en la básica. No hay que olvidar que algo tan grande como es la tecnología CRISPR ha derivado de la investigación básica. Hasta el 2012 lo que se publicaba en este campo era investigación básica pura y dura. Y precisamente por eso se ha encontrado un sistema con muchísimas aplicaciones, en medicina, en agricultura, en ganadería, etcétera. Hay que potenciar la investigación básica aunque muchos puedan pensar que es a fondo perdido. Por ejemplo, los proyectos EXPLORA son una idea genial. Permiten financiar proyectos arriesgados, y son estos proyectos los que pueden dar lugar a sorpresas muy agradables. También hay que financiar a los grupos pequeños. La mayor parte de la financiación se la llevan los grupos grandes. Eso hace que estos cada vez sean más grandes y que consigan más dinero. Yo creo que no hace falta tener un grupo muy grande, ni muchísimo menos, para hacer grandes cosas. En el caso de CRISPR, Luciano Marraffini publicó mucho y muy bien, trabajando él solo.

¿CÓMO SE PODRÍA CONVENCER A LOS GESTORES CIENTÍFICOS DE QUE SE ARRIESGARAN MÁS?

Yo tengo la esperanza de que CRISPR sea un ejemplo. Y muchos intentan convencerme de que, por el bien de la Ciencia en España, haga la mayor divulgación posible de este gran éxito de

Yo creo que no hace falta tener un grupo muy grande, para hacer grandes cosas.

la ciencia básica, para que quien no sepa verlo, con un ejemplo tan claro lo vea. La divulgación de la ciencia es fundamental. Los profesores de universidad nos pasamos la vida dando clases, realizando gestiones, papeleos, realizando informes e investigando. Hay muchas cosas que hacer y lo que dejamos en el fondo del cajón es la divulgación. Nunca había dado una charla de divulgación hasta principios de este año. Y te puedo decir que es lo más gratificante que he hecho en cuanto a actividades relacionadas con la Ciencia. Es una maravilla ver la cara de la gente cuando le cuentas cosas que escapan un poco a la comprensión del ciudadano de a pie, pero cuando consigues hacérselo entender y que vean la repercusión de la Ciencia en sus vidas, eso es muy grande. Además, nosotros los científicos debemos ver a la divulgación como una tarea que tenemos que hacer.

Los científicos debemos ver a la divulgación como una tarea que tenemos que hacer.

A NIVEL DE LO QUE PODRÍAMOS LLAMAR «RECURSOS HUMANOS» ¿CÓMO CREES QUE HA EVOLUCIONADO EL CAMPO DE LA MICROBIOLOGÍA EN ESPAÑA? ¿SIGUE SIENDO ATRACTIVO PARA UN ESTUDIANTE?

Yo creo que sí. Creo que la Microbiología está infravalorada. A nivel nacional, nunca entendí como la Microbiología no es una asignatura básica en los grados de Ciencias de la Salud. Para mí es totalmente incomprensible. Sin embargo a nivel internacional el grupo *Nature* ha lanzado el *Nature Microbiology* el pasado mes de enero. Así que algo está cambiando y me gusta pensar que CRISPR tiene algo que ver con ello. Al ritmo actual, este año se publicarán unos 2000 artículos sobre dicha técnica.

¿LE RECOMENDARÍAS LA CARRERA DE INVESTIGACIÓN A UN ESTUDIANTE QUE ACABA DE TERMINAR EL GRADO O EL MASTER?

Respondería con un ejemplo personal. Voy a darle la vuelta a la pregunta. Si yo tuviera

18 años y tuviera que decidir qué hacer, volvería a hacer lo mismo que he hecho y me dedicaría a la investigación. No hay nada más apasionante. Quizás no saldría tan bien, pero desde luego no te ibas a aburrir. Cuando uno cree en algo, tiene que ir a por ello. Y si te financian, maravilloso. Y si no te financian, pues te pones a hacer cosas que no consuman más que electricidad: un ordenador y a buscarte la vida.

Si yo tuviera 18 años y tuviera que decidir qué hacer, volvería a hacer lo mismo que he hecho y me dedicaría a la investigación.

ESPECULEMOS UN POCO Y VOLVIENDO AL CRISPR ¿QUÉ PERSPECTIVAS TIENES SOBRE EL USO DE LA TECNOLOGÍA CRISPR EN LA PRÓXIMA DÉCADA?

Ahora está el sistema CRISPR-Cas9. En estos próximos diez años se va a empezar a hablar de CRISPR-Cpf1, y de CRISPR-C2C1, y de CRISPR-C2C2. Se está explotando sólo uno de los sistemas CRISPR de la naturaleza y hay muchos más. Ahora mismo estamos empezando a sacarle partido a esta tecnología. Recientemente se ha publicado la estructura tridimensional de una de las proteínas de otro de esos sistemas que sirven para la edición de genomas, así que cada vez se irá mejorando su eficacia y precisión. Hay que ser muy cautos en el aspecto de que CRISPR-Cas9 pueda ser usado como un «medicamento» que se administre a un paciente para curar una enfermedad genética. Eso podría ser, pero puede haber efectos colaterales que desconocemos. No hay tanta restricción para su uso en modelos animales y eso va a permitir estudiar y conocer esas enfermedades intratables, lo que puede permitir que aumente la posibilidad de cura o de tratamiento. Además no debemos olvidar que esta tecnología se puede utilizar para modificar plantas o animales de interés económico. Por ejemplo, se ha conseguido eliminar retrovirus endógenos en cerdo, lo cual puede permitir el uso de dichos animales para realizar xenotransplantes seguros. Son sólo unos ejemplos de lo mucho que se puede hacer.



XIV WORKSHOP

«Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria»

<http://jornades.uab.cat/workshopmrama>



Del 24 al 27 de noviembre de 2015, tuvo lugar el XIV *workshop* sobre Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria (MRAMA), en la Facultad de Veterinaria de la *Universitat Autònoma de Barcelona* (UAB; Bellaterra, Cerdanyola del Vallès), dirigido por la Dra. Marta Capellas Puig y el Dr. Josep Yuste Puigvert, profesores de Ciencia y Tecnología de los alimentos, y organizado por el *Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments* (CERPTA) y el Departamento de Ciencia animal y de los alimentos de la UAB. Celebrado anualmente, el *workshop* MRAMA, de un contenido aplicado y de futuro, amplía y difunde los conocimientos teóricos y prácticos sobre métodos innovadores para detectar, contar, aislar y caracterizar rápidamente los microorganismos, y sus metabolitos, habitualmente en los alimentos y el agua.

Como cada año, el ponente principal fue el profesor **Dr. Daniel Y. C. Fung**, catedrático

emérito de Ciencia de los alimentos y de Industria y Ciencias animales en la *Kansas State University* (KSU; Manhattan, Kansas, EUA). Su especialidad es la microbiología de los alimentos y, dentro de este campo, es un científico de prestigio internacional en el ámbito de los métodos rápidos y miniaturizados y la automatización. Director del *workshop* internacional sobre Métodos rápidos y automatización en microbiología, celebrado anualmente durante 30 años en Manhattan, KS (1980-2010). Ganador del Premio Internacional del *Institute of Food Technologists* (IFT) en 1997, por la organización de esta serie de *workshops*; el Premio Waksman al Educador Excepcional de la *Society for Industrial Microbiology* en 2001; el Premio a la Excelencia en la Docencia Universitaria del *College of Agriculture* de la KSU en 2005; el Premio Carl R. Fellers del IFT en 2006, por su destacada trayectoria en Ciencia y Tecnología de los alimentos; el Premio Inaugural al Educador

Excepcional en Seguridad Alimentaria de la revista *Food Safety* y ConAgra Foods Inc en 2007, por su carrera docente: más de 20.000 alumnos y director de 121 estudiantes graduados (36 doctorados y 85 másteres); el Premio al Servicio Distinguido de la *Chinese American Microbiology Society* en 2009, por sus excepcionales funciones como presidente, tesorero y secretario (2000-2009); y el Premio de la Seguridad Alimentaria de la *International Association for Food Protection* (IAFP) en 2012, por la serie única de *workshops* en la KSU. Fundador y editor del *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology* (1992-2009). Miembro de Honor del IFT, la *American Society for Microbiology* (ASM) y la *International Academy of Food Science and Technology* (IAFoST), de los EUA, y el *Institute of Food Science and Technology* (IFST), del Reino Unido; y Promoción Inaugural de Miembros de Honor de la IAFoST (1998). En 1995, fue invitado a dar una conferencia

en el Instituto Pasteur de París (Francia) con motivo de la conmemoración del 100º aniversario de la muerte de Louis Pasteur. El Dr. Fung tiene, pues, una larga experiencia en los temas del *workshop*, de hecho, se le conoce como el «padre» de los métodos microbiológicos miniaturizados, porque en este campo fue pionero y uno de los investigadores más expertos y especializados del mundo, y ha ensayado con resultados positivos y ha aportado un alto número de técnicas innovadoras.

El *workshop* contó con otros conferenciantes de renombre. Se encargó de la ponencia inaugural la **Dra. Cécile Lahellec**, directora honoraria de investigación de la *Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments* (AFSSA), en Alfort (Francia), que narró la saga de las salmonelas, una breve historia sobre un largo período de interacción con las bacterias de la carne de ave. El **Dr. Armand Sánchez Bonastre**, director del Servicio Veterinario de Genética Molecular de la UAB y profesor de nuestro Departamento, informó exhaustivamente sobre la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), método genético, en constante evolución, para detectar e identificar microorganismos. El **Dr. Norbert Langfeldt**, del *Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr Kiel*, en Kronshagen (Alemania), participó con una interesante ponencia acerca de la aplicación de métodos rápidos en un laboratorio de campo para mejorar la higiene y la seguridad alimentarias en regiones en crisis. El **Sr. Jon Basagoiti Azpitarte**, consultor y auditor de Imagining Management Systems, en Ermua, explicó su experiencia en gestión de la calidad y la inocuidad de los alimentos, e hizo especial hincapié en los análisis microbiológicos como parachoques del sistema de la empresa y/o como garantía de la salud de los consumidores. El **Dr. Daniel Ramón Vidal**, director científico y consejero delegado de Biopolis, en Paterna, transmitió a los asistentes sus amplios conocimientos sobre la secuenciación genómica masiva aplicada a la seguridad alimentaria, lo que generó un interesante debate en la mesa redonda posterior a su ponencia. La **Sra. Ana María Hernández Andaluz**, de Premiumlab, en Sant Boi de Llobregat, habló sobre la validación de *kits* ELISA para deter-

minar alérgenos. La **Dra. Alicia Subires Orenes**, de nuestro Departamento, expuso la implementación y el uso de la poco conocida técnica de la citometría de flujo para detectar bacterias patógenas lesionadas en alimentos. Y el **Sr. David Tomás Fornés**, investigador científico de Nestec, Centro de Investigación de Nestlé, en Lausana (Suiza), presentó un tema de gran importancia como es la preparación de muestras para análisis microbiológicos y los retos e innovaciones que ello implica en la industria alimentaria.

Además, asistieron importantes **empresas de microbiología**, que explicaron y mostraron sus productos y sus servicios (funcionamiento, ventajas y limitaciones, y técnicas en que se basan). Estas empresas, que patrocinaron el XIV *workshop* MRAMA, fueron: 3M España, BD Biosciences, BIOGENETICS, bioMérieux España, Bio-Rad Laboratories, Bioser, Eppendorf Ibérica, Gomensoro, IDEXX Laboratories, iMiCROQ, INGENASA, ITRAM HIGIENE, IUL, Laboratorios MICROKIT, MicroPlanet Laboratorios, Neogen Europe, Nirco (parte de Grupo Deltalab), PanReac AppliChem, Sigma-Aldrich Química, Thermo Scientific, y Werfen – QIAGEN.

También colaboran con el *workshop* MRAMA: Premiumlab, Grupo Bonmacor, el Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria (CNTA), Productos Florida, Cirad (Francia), la *Associació Catalana de Ciències de l'Alimentació* (ACCA), Publica – Revista *Técnicas de Laboratorio*, Estrategias Alimentarias – Revista *EUROCARNE*, Sweet Press – Revista *Tec-nifood*, ainia.centro tecnológico, la Sociedad Española de Microbiología (SEM), la Asociación de Consultores y Formadores de España en Seguridad Alimentaria (ACOFESAL), la Sociedad Española de Seguridad Alimentaria (SESAL), la Agencia de Salud Pública de Barcelona, la *Agència de Salut Pública de Catalunya*, y la Sociedad Española de Químicos Cosméticos (SEQC).

El *workshop* ha sido una actividad exitosa, tanto por los ponentes y sus ponencias, como por la asistencia de público y la participación de las empresas de microbiología. Reunió a 192 personas, de diversos colectivos nacionales e internacionales: (i) Laboratorios, asesorías y consultorías, e industrias

de los ámbitos agroalimentario (entre otros, los sectores cárnico y avícola, lácteo, comidas preparadas, panificación y bollería, oleícola, bebidas analcohólicas –aguas, licuados vegetales, bebidas refrescantes– y alcohólicas –cervecero, vitivinícola–, ingredientes y aditivos), biotecnológico, etc.; (ii) Profesores y estudiantes de la UAB (titulaciones de Ciencia y Tecnología de los alimentos, Veterinaria; tercer ciclo), otras universidades y centros docentes; (iii) Otros centros de investigación; (iv) Administración.

Durante tres días, se realizaron unas **sesiones prácticas en el laboratorio**, en las que se trabajó con algunos equipos y los productos más innovadores del campo de los métodos rápidos y la automatización. Y se organizaron tres **talleres**: (i) Uso de los recursos para microbiología predictiva disponibles en internet, a cargo de la **Sra. Montse Vila Brugalla** (Servicio de Control alimentario de mercados centrales de la Agencia de Salud Pública de Barcelona); (ii) Desviaciones típicas en las auditorías de certificación de sistemas de inocuidad alimentaria (BRC, IFS y FSSC22000), a cargo de SGS ICS Ibérica; (iii) Tecnología PlasmlA: detección fácil, rápida y múltiple de patógenos mediante un nuevo ensayo inmuno-óptico en el laboratorio de análisis de hoy, a cargo de Prestodiag (Francia).

La **mesa redonda** previa a la clausura oficial del *workshop*, con varios ponentes y profesionales de empresas de microbiología, estuvo moderada por el **Dr. José Juan Rodríguez Jerez** (investigador principal del grupo AMicS de la UAB y profesor de nuestro Departamento), fue sobre la instrumentación en microbiología de los alimentos, las tendencias del mercado mundial y otros temas de actualidad del sector, y constató, junto con las ponencias del *workshop*, la importancia del muestreo y su influencia en los resultados; la relevancia de la automatización en el laboratorio; la diversidad de necesidades en cuanto a métodos microbiológicos, según el sector; así como los progresos en el desarrollo de soluciones que aportan rapidez, precisión, sensibilidad y especificidad.

El XV *workshop* MRAMA se celebrará del 22 al 25 de noviembre de 2016.

Evaluación rápida (4h.), por el Método del Doble Tubo de Fung de la contaminación fecal de aguas de baño en playas

Daniel Y. C. Fung¹, Josep Yuste² y Marta Capellas²

¹Kansas State University, Department of Animal Sciences and Industry, Call Hall, Manhattan, Kansas (EUA). ²Universitat Autònoma de Barcelona, Centre d'Innovació, Recerca i Transferència en Tecnologia dels Aliments (XaRTA, TECNIO), Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Bellaterra (Cerdanyola del Vallès)

Las aguas de baño (playas, ríos, lagos, estanques, etc.) son áreas importantes para usos recreativos tales como nadar, bañarse, jugar, etc., pero pueden contaminarse con vertidos conteniendo a veces materia fecal procedentes de zonas urbanas, y entonces contendrán bacterias fecales y otros microorganismos que suponen un riesgo para la salud pública de las personas usuarias de dichas aguas. Por tanto, es importante analizar periódicamente en estas aguas la presencia o la ausencia de contaminación fecal para proteger la seguridad de los nadadores, los bañistas y demás público usuario.

La detección convencional de la contaminación fecal en agua conlleva 1 o 2 días, de manera que, cuando se obtienen los resultados, la calidad del agua puede haber cambiado considerablemente, lo que hace que los datos obtenidos tengan un valor limitado.

Entre los años 2011 y 2013, el *Water Research Group* del *Public Health Department* en Honolulu, Hawái (EUA), bajo la dirección del Dr. Roger Fujioka, ha estado probando nuevos métodos más rápidos para determinar la potencial contaminación fecal del agua de la playa usando el Método del Doble Tubo de Fung, el cual puede proporcionar datos en 4 horas, desde el momento de añadir al sistema la muestra de agua a analizar hasta el momento de la lectura positiva o negativa de los resultados sobre contaminación fecal. Actualmente, este método es el más rápido para detectar bacterias fecales en agua. El grupo en Honolulu concluye que el sistema del doble tubo es muy fácil de usar y limpiar y permite, efectivamente, obtener resultados en 4 horas, de manera que pueden tomarse decisiones rápidas de cara a abrir o cerrar las playas para uso recreativo.

Clostridium perfringens es una bacteria anaerobia esporulada ubicua en la materia fecal (animal y humana). Así, su presencia en el agua de mar indica una alta probabilidad de contaminación fecal. El método convencional para detectar *C. perfringens* en agua conlleva de 24 a 48 horas, lo que hace que los resultados tengan poco valor para advertir al público del peligro potencial del agua. El Dr. Daniel Y. C. Fung, profesor de Ciencia de los Alimentos en la *Kansas State University*, diseñó el Método del Doble Tubo, que puede detectar y enumerar *C. perfringens* en agua en sólo 4 horas: es el *test* más rápido para organismos indicadores fecales. La clave es el rápido tiempo de generación de *C. perfringens* (7,1 minutos a 41 °C); de hecho, es la bacteria que crece más rápidamente conocida hasta el momento.

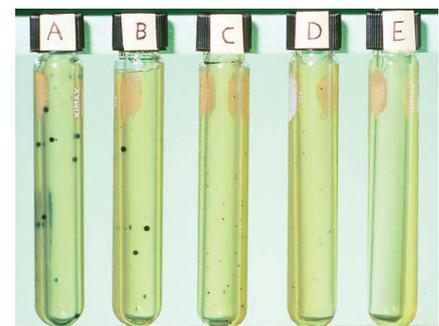
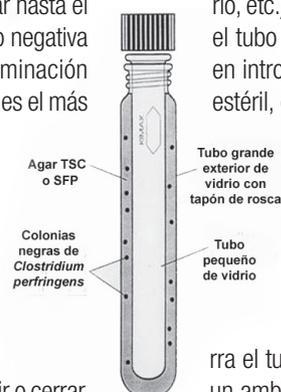
El Método del Doble Tubo de Fung consiste en dos tubos, uno más pequeño que se colocará en el interior de otro más grande (v. Figs.). Primero, se vierten en el tubo grande 10 ml de agar Shahadi Ferguson Perfringens (SFP; formulado especialmente para detectar *C. perfringens*) líquido, se cierra dicho tubo con un tapón de rosca, se esteriliza todo ello, y después se mantiene a 42 °C para que el medio de cultivo no solidifique. Para el análisis, 10 ml de la muestra de agua (de mar, río, etc.) se añaden al agar contenido en el tubo grande. El último paso consiste en introducir el tubo pequeño, también estéril, en el interior del tubo grande, lo que hace que los 20 ml (agar SFP más muestra de agua) se compriman, asciendan por el espacio existente entre los dos tubos, y se acabe formando una capa fina en dicho espacio. Entonces, se cierra el tubo con el tapón y así se genera un ambiente altamente anaerobio. Si la muestra de agua contiene *C. perfringens*,



se habrán formado pequeñas colonias de color negro en 4 horas (aumentan de tamaño con el paso del tiempo), lo que ya permite determinar si el agua contiene o no la bacteria y en qué número (colonias/ml de agua).

Si no crecen colonias de color negro, el agua analizada está libre de materia fecal y es segura para nadar, bañarse, etc. Si crecen 1-10 colonias, el nivel de contaminación es bajo y el agua puede ser segura para los usuarios pero con precaución. En cambio, si crecen 10-100 colonias, el agua no es segura para uso recreativo y la playa debería cerrarse.

El Método del Doble Tubo de Fung también puede aplicarse para detectar *C. perfringens*, como indicador de contaminación fecal, en aguas de bebida.





Microbiología del Medio Acuático

Juan José Borrego García

Presidente del Grupo de MMA

Todo llega... y aquí se hace realidad el segundo número especial de SEM@foro dedicado al Grupo de Microbiología del Medio Acuático. Hace casi 6 años desde que se publicó el primer monográfico en la antigua Actualidad SEM (Número 50, Diciembre 2010), número en el que participaron 12 grupos de investigación. Esta publicación creó mucha expectación y también recibí algunas críticas, críticas de algunos investigadores que no habían sido invitados a participar o críticas centradas en la limitada extensión del monográfico. Por ello, durante algún tiempo insistí, primero con Fede Navarro y después con Víctor Cid, en la necesidad de tener otro número dedicado a nuestro Grupo Especializado, pero... todo llega y ha llegado ahora. Por ello, estoy muy satisfecho de que tengamos esta oportunidad de «saldar esta deuda pendiente» con algunos grupos de investigación.

Desde 2010 hasta ahora el Grupo de Microbiología del Medio Acuático ha seguido creciendo y creo, sin triunfalismos, que se ha consolidado. Contamos con 180 socios, pero lo más importante que hemos conseguido es crecer manteniendo las directrices fundamentales de nuestro Grupo, lo que coloquialmente llamamos «el espíritu de Hortaleza», es decir que el Grupo sea dinámico, participativo, y que dé el protagonismo fundamental a nuestros jóvenes investigadores.

En estos años se han producido cambios en la Junta Directiva del Grupo, y es de justicia agradecer el esfuerzo y dedicación de

nuestros compañeros que han finalizado en sus cargos en la Junta: Alicia Carolina Estévez Toranzo que ocupó el puesto de Vicepresidenta (2007-2015), Sara Isabel Pérez Prieto que ocupó el puesto de Secretaria (2003-2011), M^a Carmen Márquez Marcos (2009-2013) y Vicente Catalán (2009-2013), que ocuparon sendas Vocalías. La Junta Directiva actual está formada por: Juan José Borrego (Univ. Málaga), como Presidente (2013-2017); Rosa Pintó (Univ. Barcelona), como Vicepresidenta (2015-2019); Dolores Castro (Univ. Málaga), como Secretaria (2015-2019); M^a Carmen Macián (Univ. Valencia), como Tesorera (2013-2017), y como Vocales: M^a José Figueras (Univ. Rovira i Virgili) (2013-2017), Inmaculada Solís (IPROMA) (2013-2017), José Agustín Guijarro (Univ. Oviedo) (2015-2019) y Teresa Pérez Nieto (Univ. Vigo) (2015-2019). Además, desde 2015 contamos con Inés Arana (Univ. País Vasco) como la nueva figura de Delegada de Difusión del Grupo.

El Grupo ha seguido colaborando con los Congresos Nacionales de la SEM en la organización de Mesas Redondas. Desde 2010 ha participado en los Congresos Nacionales celebrados en Salamanca (2011), l'Hospitalet (2013), y Logroño (2015), con la siguiente composición:

- XXIII Congreso Nacional (Salamanca, 2011):
Moderadores: Elena Alcaide (Univ. Valencia) y Rosa Pintó (Univ. Barcelona)
Ponentes: Antonio Alcamí (CBM, Madrid), José Agustín Guijarro (Univ. Oviedo),

Consuelo Esteve (Univ. Valencia) y Gary Toranzos (University of Puerto Rico).

- XXIV Congreso Nacional (l'Hospitalet, 2013):
Moderadores: Dolors Furones (IRTA) y Carles Borrego (Univ. Girona).
Ponentes: Luis Bañeras (Univ. Girona), Jesús L. Romalde (Univ. Santiago), Ramón Roselló (Univ. Illes Balears) y Remy Guyoneaud (Univ. Pau et des Pays de l'Adour, Francia).
- XXV Congreso Nacional (Logroño, 2015):
Moderador: Manuel Lemos (Univ. Santiago).
Ponentes: Isabel Esteve (Univ. Autónoma Barcelona), Carlos P. Dopazo (Univ. Santiago), M^a José Figueras (Univ. Rovira i Virgili) y Silvia G. Acinas (ICM, CSIC, Barcelona).

Desde Vigo (2010), el Grupo especializado ha seguido organizando Congresos Científicos, en 2012 en Barcelona, en 2014 en Elche-Orihuela, y este año se celebrará nuestro XI Congreso en Oviedo.

Para terminar, sirvan estas letras a modo de despedida. En 2017 dejo irremediablemente la presidencia del Grupo, a cuya Junta Directiva he estado vinculado desde su formación en 1994 (23 años). Creo que el balance, a nivel personal, ha sido muy positivo y enriquecedor para mí, y siempre me he sentido muy orgulloso de formar parte y de representar a este colectivo no solo de compañeros, sino sobre todo de amigos... Por ello os doy las gracias.

Respuesta bacteriana al estrés

Maite Orruño¹, Vladimir R. Kaberdin^{1,2} e Inés Arana¹



Universidad de Oviedo-Facultad de Medicina-Dpto. Biología Funcional-Microbiología. C/ Julián Clavería, 6, 33006 Oviedo

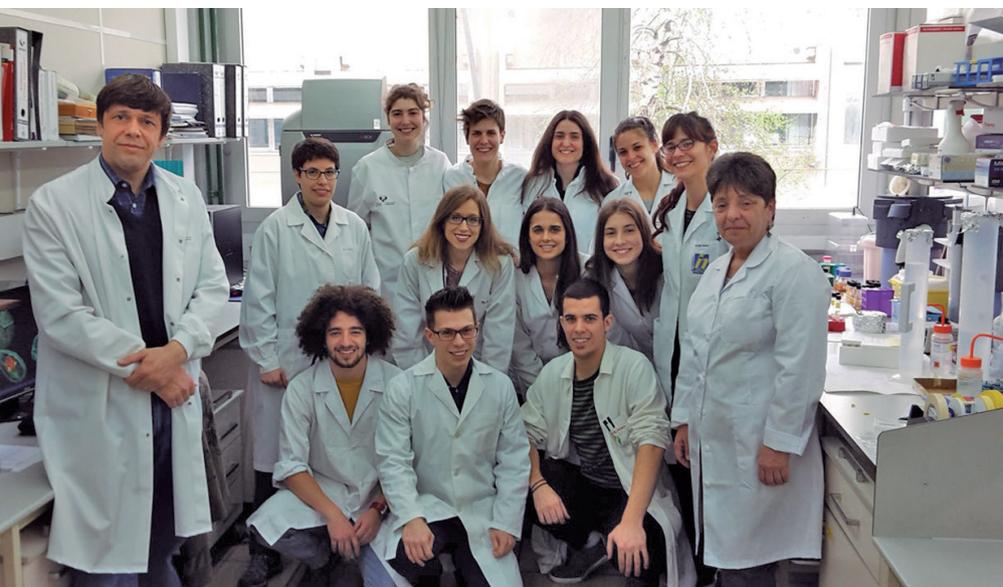


Foto de grupo.

Inés Arana (Profesora Titular), Maite Orruño (Profesora Adjunta), Vladimir R. Kaberdin (Investigador Ikerbasque), Zaloa Bravo y Claudia Parada (Investigadoras Postdoctorales), Ander Hernández, Itxaso Montánchez, Elixabet Ogayar y Olatz Ruiz-Larrabeiti (Investigadores Predoctorales), Angela Arabiotorre y Aitor González-Uriarte (Alumnos de Máster), Raquel Catediano, Asier Escobero, Beatriz Gallego, Leire Ramos (Alumnos de Grado).

En los ecosistemas naturales las bacterias se enfrentan a cambios continuos en las condiciones ambientales que inducen el despliegue de diferentes estrategias de supervivencia que aseguren su éxito. En el caso de las bacterias alóctonas, el desarrollo de mecanismos de adaptación condiciona su capacidad de sobrevivir en ambientes hostiles. En los sistemas acuáticos, los factores abióticos más estresantes incluyen variaciones de la temperatura, limitación en la disponibilidad de nutrientes o exposición a la radiación solar. La presencia de la microbiota natural de dichos sistemas, que también está sujeta al efecto de los factores abióticos, es otro factor determinante del éxito de las poblaciones bacterianas.

Nuestro grupo comenzó su andadura bajo el nombre «Supervivencia bacteriana en los sistemas acuáticos» con la dirección de la Dra. Barcina y, en los últimos años, hemos cambiado de dirección, denominación e, incluso, objeto de

estudio. Los trabajos realizados en los inicios se centraron fundamentalmente en el estudio de la respuesta de *Escherichia coli* a factores abióticos estresantes y de la estrategia de supervivencia subyacente en diferentes sistemas acuáticos, que incluyeron los ambientes marino y lóxico y un ambiente artificial, las plantas de tratamiento de aguas residuales.

Los resultados obtenidos mostraron que *E. coli*, bajo condiciones de estrés, adopta el estado Viable No Cultivable (VNC). En este estado, parte de la población pierde su cultivabilidad, si bien mantiene la integridad de la membrana citoplasmática y es capaz de reducir sales de tetrazolio (indicativo del funcionamiento de la cadena de transporte de electrones), entre otras actividades constatables. Uno de los principales, y más estudiados, factores inductores del estado VNC es la temperatura. Para *E. coli* encontramos una relación indirecta entre la temperatura y la pérdida de cultivabilidad. Así, a temperaturas

inferiores a 10°C, ocurre una ralentización del metabolismo, lo que retrasa la degeneración celular. Por otra parte, establecimos que los componentes de la radiación solar (luz visible, UV-A, UV-B) ejercen un efecto negativo mediante la generación de formas reactivas del oxígeno y/o la acción fotobiológica directa que deriva en la inducción del estado VNC en función de la radiación estudiada. Además, el estudio del subproteoma de la membrana externa indicó que la exposición de poblaciones de *E. coli* a condiciones ambientales adversas se acompaña del cambio en la expresión de proteínas tales como OmpA, TolC, la lipoproteína 28, entre otras.

Durante el proceso de supervivencia de *E. coli* en los sistemas acuáticos, las células VNC liberan al medio circundante proteínas, aminoácidos y carbohidratos, que son utilizados por las células cultivables supervivientes con el fin de asegurar su persistencia en el sistema.

Se ha indicado que la importancia del estado VNC como estrategia de supervivencia de las bacterias no diferenciadas radica en la capacidad de resucitación (recuperación de la cultivabilidad) de una fracción de estas células cuando revierten las condiciones estresantes, lo que permitiría la recolonización del sistema. En el caso de *E. coli*, tras el diseño de un complejo protocolo de resucitación, no se observó reversión de la cultivabilidad de la fracción VNC y sí crecimiento de la subpoblación cultivable remanente. Estos resultados confirman que, para *E. coli*, la inducción del estado VNC supone una estrategia de supervivencia orientada a asegurar la permanencia de la fracción cultivable.

En los últimos años, hemos integrado el género *Vibrio* en nuestro trabajo desde varias vertientes. Así, en el contexto de los previsibles cambios originados por el calentamiento global y, considerando la escasez de estudios sobre la distribución del género *Vibrio* en la costa vasca, comenzamos a realizar campañas anuales orientadas al aislamiento e identificación mediante secuenciación del 16SRNA y tipificación multilocus de secuencias (MLST) de bacterias de este género. En una primera etapa nos hemos centrado en la costa vizcaína, pero con la colaboración de AZTI se recogerán muestras a lo largo de toda la costa vasca. Además, utilizando una cepa modelo (*V. harveyi* CECT 525) hemos verificado la inducción del fenotipo VNC por efecto de las bajas temperaturas y su capacidad de revertir nuevamente al estado cultivable. Estos resultados confirman que, a pesar de que tanto *V. harveyi* como *E. coli* adoptan el estado VNC, esta estrategia de supervivencia tiene un significado biológico diferente en ambos microorganismos. Para *V. harveyi*, el estado VNC en sí mismo es un mecanismo de perdurabilidad de la especie en situaciones adversas, aunque hemos encontrado diferencias en el comportamiento de cepas ambientales respecto a la cepa patrón.

Por otra parte, los análisis comparados de la variación del subproteoma de las membranas externas de estos microorganismos muestran que, si bien ambas bacterias conservan proteínas relacionadas con el mantenimiento de la estructura celular, el transporte y la conservación de la energía, *V. harveyi* experimenta extensos cambios que afectan, por ejemplo, a la respuesta a estímulos químicos y la movilidad. En el caso de *E. coli*, sin embargo, los cambios son más limitados.

El estudio de la expresión génica de *V. harveyi* muestra que, cuando aún no se detectan cambios morfológicos y fenotípicos por efecto del estrés ambiental, esta bacteria responde variando la expresión de numerosos genes implicados en el metabolismo central del carbono, en la biosíntesis de nucleótidos y aminoácidos, en la reparación del DNA, la homeostasis del hierro y la respuesta al estrés oxidativo.

Otra línea de investigación incluye el *screening* de alto rendimiento y análisis funcional de RNAs antisentido con nuevas funciones en las respuestas frente al stress en *E. coli* y *V. harveyi*. Dadas la importancia de los sRNAs en la adaptación y virulencia bacterianas, el principal objetivo de esta línea es, mediante una combinación de metodologías bioquímicas, genéticas y de biología molecular de alto rendimiento, caracterizar sRNAs identificados experimentalmente y predichos por análisis *in silico* que no han sido estudiados previamente, establecer su papel en las respuestas bacterianas al estrés y determinar sus funciones reguladoras usando *E. coli* y *V. harveyi* como organismos modelos. Además, también se plantea investigar cómo la formación de complejos de sRNA/mRNA afectan al destino de los sRNAs seleccionados y sus dianas, y determinar la contribución de la chaperona Hfq y de ribonucleasas celulares a los pasos subsiguientes de desensamblaje y procesamiento de esos complejos *in vivo*.

PUBLICACIONES RECIENTES

- Barcina I, Orruño M y Arana I.** (2013) Benefits and risks of a wastewater treatment process. In: Handbook of Wastewater Treatment: Biological Methods, Technology and Environmental Impact. Nova Science Publishers, NY.
- Bravo Z, Orruño M, Parada C, Kaberdin VR, Barcina I y Arana I.** (2016) The long-term survival of *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606^T under nutrient-deprived conditions does not require the entry into the viable but non-culturable state. Arch Microbiol. DOI 10.1007/s00203-016-1200-1.
- Kaberdin VR y Blasi U.** (2013) Bacterial helicases in post-transcriptional control. Biochim Biophys Acta 1829: 878-83.
- Kaberdin VR y Blasi U.** (2014) mRNA stability. In: Encyclopedia of Life Science. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester.
- Kaberdin VR., Montánchez I, Parada C, Orruño M, Arana I y Barcina I.** (2015) Unveiling the metabolic pathways associated with the adaptive reduction of cell size during *Vibrio harveyi* persistence in seawater microcosms. Microb Ecol 70: 689-700.
- Montánchez I, Arana I, Parada C, Garaizabal I, Orruño M, Barcina I y Kaberdin VR.** (2014) Reprogramming of *Vibrio harveyi* gene expression during adaptation in cold seawater. FEMS Microbiol Ecol 87:193-203.
- Murashko ON, Kaberdin VR y Lin-Chao S.** (2012) Membrane binding of *Escherichia coli* RNase E catalytic domain stabilizes protein structure and increases RNA substrate affinity. Proc Natl Acad Sci USA 109: 7019-24.
- Orruño M, Garaizabal I, Arana I y Barcina I.** (2013) Persistence and dissemination of antimicrobial resistances in aquatic systems. In: Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Microbiology Book Series – 2013. Formatex Research Center. Spain.
- Orruño M, Garaizabal I, Bravo Z, Parada C, Barcina I y Arana I.** (2014) Mechanisms involved in *Escherichia coli* and *Serratia marcescens* removal during activated sludge wastewater treatment. MicrobiologyOpen 3: 657-67.
- Romero AD, Hasan AH, Lin YF, Kime L, Ruiz-Larrabeiti O, Urem M, Bucca G, Mamanova L, Laing EE, van Wezel GP, Smith CP, Kaberdin VR y McDowall KJ.** (2014) A comparison and analysis of key aspects of gene regulation in *Streptomyces coelicolor* and *Escherichia coli* using equivalent nucleotide-resolution transcription maps produced by global and differential RNA-sequencing. Mol Microbiol 94: 963-87.

Patología de organismos acuáticos y biotecnología acuícola

Ruben Avendaño-Herrera, Rute Irgang, Diana Tapia-Cammas, Jörn Bethke, Juan Guzmán, Felipe Morán, Johan Quezada, Cristian Oliver, Héctor Levipán, Matías Poblete-Morales

 reavendano@yahoo.com
ravendano@unab.cl

Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias Biológicas, Torre C, BIO-416, Viña del Mar, Chile

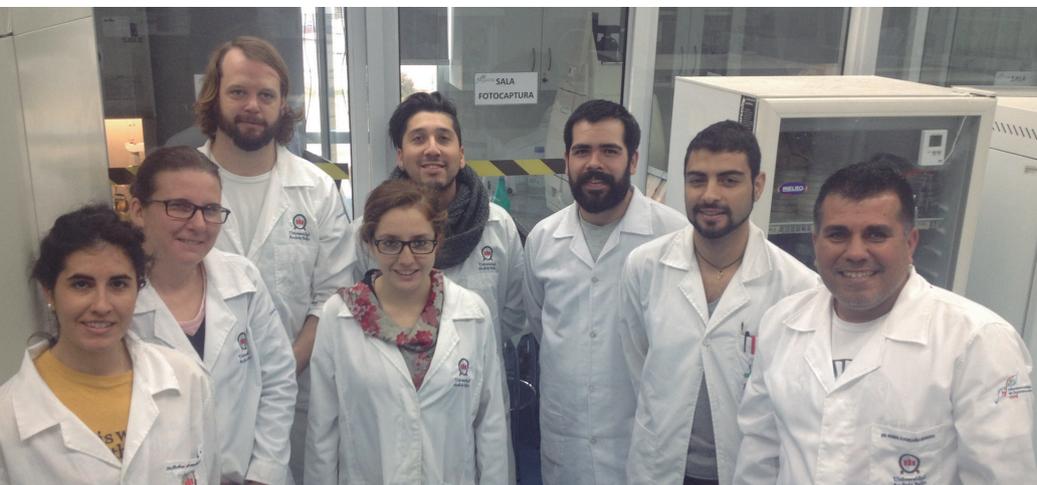


Foto de grupo.

Algunos de los miembros del grupo «Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola» (de izquierda a derecha): Beatriz Carnicero, Jörn Bethke, Felipe Morán, Diana Tapia-Cammas, Matías Poblete-Morales, Johan Quezada y Rubén Avendaño-Herrera.

El grupo de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, es relativamente joven, se formó en el año 2010 con la incorporación del Dr. Ruben Avendaño-Herrera al Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad Andrés Bello, quien dejó su labores en una reconocida empresa farmacéutica en donde centraba sus esfuerzos en el desarrollo de vacunas para peces. Desde entonces, se ha convertido en un grupo multidisciplinario constituido por profesionales con una fuerte formación biológica, destacando Ingenieros en Acuicultura, Biotecnología y Agrónomos, Biólogos Marinos, y Biólogos así como estudiantes de pre- y post-grado. Nuestro grupo es muy versátil y con capacidad de afrontar desafíos con bacterias de las más variadas características y grupos taxonómicos, aportando a Chile en el conocimiento no sólo del microorganismo (patógeno o no), sino la generación de nuevas herramientas de diagnóstico y de medidas de control y prevención.

Actualmente, hemos consolidado colaboraciones científicas y de amistad con diversos grupos de investigación tanto en Chile como

en España, Francia, México, Alemania e Inglaterra, fortaleciendo nuestras capacidades y productividad. Además, hemos sido reconocido como Miembro del Grupo de Acuicultura (AWG) del Clinical and Laboratory Standards Institute y parte del Comité de Expertos para el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura de Chile. Desde 2010, hemos obtenido financiamiento para más de 15 proyectos en convocatorias competitivas tanto nacionales como internacionales, que han dado como resultado 42 publicaciones científicas en revistas de prestigio, también el único libro en español de patología titulado «Enfermedades infecciosas del cultivo de salmónidos en Chile y el mundo» y la formación de más de 12 estudiantes de pre- y post-grado. Es de destacar que uno de los hitos del grupo, es ser miembro del único Centro de Excelencia financiado por el Gobierno de Chile para el desarrollo de la acuicultura sustentable (www.incar.cl).

Entre los aportes realizados por nuestro grupo podemos destacar las siguientes: a) El único método de diagnóstico molecular para *Vibrio ordalii*, b) el desarrollo de una técnica de diagnóstico y genotipificación para el virus

de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) usando como matrices cultivos celulares y tejidos de órganos de peces, c) el desarrollo del primer medio líquido para el cultivo microbiológico del patógeno intracelular *Piscirickettsia salmonis*, d) la estandarización y validación de un método de susceptibilidad a antimicrobiano para *P. salmonis*, la cual se incluyó en la directriz CLSI y e) el conocimiento de la estructura poblacional del principal agente causante de mortalidades de salmónidos en agua dulce, *Flavobacterium psychrophilum*.

En la actualidad las líneas de trabajo que nuestro grupo desarrolla se pueden resumir en las siguientes:

- Estudio de mecanismos de patogenidad de bacterias causantes de enfermedades en organismos acuáticos de interés comercial, incluyendo vías de infección y la respuesta inmune innata de los peces.
- Identificación, caracterización y tipificación de microorganismos patógenos de especies de cultivo, coleccionando bac-

terias representante de los principales patógenos bacterianos que afectan la salmonicultura chilena que permitan conocer la estructura y distribución de estos microorganismos.

- Desarrollo de métodos innovadores de diagnósticos, evaluando nuevos sistemas de diagnósticos moleculares y anti-génicos en bacterias y virus que afectan a organismos acuáticos.
- Identificación de nuevas especies bacterianas asociadas a ambientes acuáticos, evaluando su potencial patogénico y/o biotecnológico.
- Estandarización de procedimientos de control y validación del apropiado uso de antibióticos, permitiendo conocer la susceptibilidad de diversos patógenos bacterianos que afectan la acuicultura chilena y reportando los valores y criterios que permiten diferenciar entre un aislado silvestre de aquellos que no lo son.
- Diseño de modelos de infección para evaluar vacunas para patologías acuática, estudiando los mecanismos de patogenidad y seleccionando aquellos aislados bacterianos que afectan la salmonicultura chilena en orden a probarlos en infecciones controladas. Así, mediante la aplicación de distintas estrategias de inoculación se proponen modelos de infección para patógenos de las bacterias más prevalentes en nuestro país.

Además, los distintos financiamientos asociados a proyectos en terreno han permitido obtener una importante colección de bacterias aisladas en la Antártida Chilena y otras fuentes acuáticas en distintas áreas geográficas de Chile (i.e. FIA PYT 2013-04, INACH_08-13, FONDAF 1511027, FONDECYT 1190054, FONDECYT 1110219, FONDECYT 1150695). Asimismo, hemos coleccionado bacterias a partir de ejemplares silvestres de salmón Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) (FIP 2014-87), así como peces cultivados, incluyendo salmón del Atlántico (*Salmo salar*), trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) y salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*). En este sentido, durante los últimos años nos hemos interesado por el desarrollo de la acuicultura de especies nativas, estudiando la microbiota asociada al congrio colorado (*Genypterus chilensis*, FONDECYT

Post-Doctorado N° 3140296) y lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*). Esta enriquecida colección bacteriana nos ha permitido realizar estudios de distinta naturaleza, incluso en algunos casos siendo identificadas nuevas especies taxonómicas.

Contamos con infraestructura y las capacidades humanas para desarrollar una inmensa variedad de análisis en áreas de la bacteriología, biología molecular, cultivo celular y dos unidades experimentales en donde mantenemos especies salmónidas y nativas (lenguados y congrios colorados). Asimismo, una fuerte componente de nuestras investigaciones se sustentan en las necesidades científico-técnicas de los principales actores de la industria salmonera chilena, con quienes trabajamos en pos de generar innovación y dar soluciones a los más diversos problemas sanitarios.

PUBLICACIONES SELECCIONADAS RECIENTES

Ruiz P, Balado M, Toranzo AE, Poblete-Morales M, Lemos ML y Avendaño-Herrera A. (2016) Iron assimilation and siderophore production by *Vibrio ordalii* strains isolates from diseased Atlantic salmon *Salmo salar* in Chile. *Dis Aquat Org* 118: 217-226.

Sandoval C, Infante J, Abad J, Ferguson HW, Paredes E, Valdebenito S, Yáñez AJ, Ildardi P y Avendaño-Herrera R. (2016) Case report: Strawberry disease in farmed Chilean rainbow trout. *J Aquat Anim Health* 28: 1-10.

Salazar S, Oliver C, Yáñez AJ y Avendaño-Herrera R. (2016) Comparative analysis of innate responses to *Streptococcus phocae* strains in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol* 51: 97-103.

Oliver C, Valenzuela K, Hernández M, Sandoval R, Haro RE, Avendaño-Herrera R, Cárcamo JG, Villar MT, Artigues A, Garduño R y Yáñez AJ. (2016) Characterization and pathogenic role of outer membrane vesicles produced by the fish pathogen *Piscirickettsia salmonis* under *in vitro* conditions. *Vet Microbiol* 29: 184-194.

Avendaño-Herrera R, Irgang R, Sandoval C, Moreno-Lira P, Houel A, Duchaud E, Poblete-Morales M, Nicolas P y Ildardi P. (2016) Isolation, characterization and virulence potential of *Tenacibaculum dicentrarchi* in salmonid cultures in Chile. *Transbound Emerg Dis* 63: 121-126.

Avendaño-Herrera R y Poblete-Morales M. (2016) Genome sequence of *Streptococcus phocae* subsp. *phocae* strain ATCC 51973^T isolated from Harbor seal (*Phoca vitulina*). *Genome Announc* 19:3 (6), e01307-15.

Levican A y Avendaño-Herrera R. (2015) Bacteria associated with mass mortality of post-larvae of red conger eel (*Genypterus chilensis*) cultured in a Chilean farm. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 35: 162-169.

Lasa A, Avendaño-Herrera R, Estrada JM y Romalde JL. (2015) Isolation and identification of *Vibrio toranzoniae* associated with diseased red conger eel (*Genypterus chilensis*) farmed in Chile. *Vet Microbiol* 179: 327-331.

Oliver C, Valenzuela K, Silva H, Haro RE, Cortés M, Sandoval R, Pontigo JP, Álvarez C, Figueroa JE, Avendaño-Herrera R, Troncoso JM y Yáñez AJ. (2015) Effectiveness of egg yolk immunoglobulin against the intracellular salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis*. *J Appl Microbiol* 119: 365-376.

Solís C, Poblete-Morales M, Cabral S, Valdés JA, Reyes AE, Avendaño-Herrera R y Feijóo CG. (2015) Neutrophil migration in the activation of the innate immune response to different *Flavobacterium psychrophilum* vaccines in zebrafish (*Danio rerio*). *J Immunol Res* 215: 515-517.

Ruiz P, Poblete M, Yáñez AJ, Irgang R, Toranzo AE y Avendaño-Herrera R. (2015) Cell-surface properties of *Vibrio ordalii* strains isolated from Atlantic salmon *Salmo salar* in Chilean farms. *Dis Aquat Org* 113: 9-23.

Avendaño-Herrera R, Houel A, Irgang R, Bernardet JF, Godoy M, Nicolas P y Duchaud E. (2014) Introduction, expansion and coexistence of epidemic *Flavobacterium psychrophilum* lineages in Chilean fish farms. *Vet Microbiol* 170: 298-306.

Avendaño-Herrera R, Balboa S, Castro N, González-Contreras A, Magariños B, Fernández J, Toranzo AE y Romalde JL. (2014) Comparative polyphasic characterization of *Streptococcus phocae* strains with different host origin and description of the subspecies *Streptococcus phocae* subsp. *salmonis* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 64: 1775-1781.

Avendaño-Herrera R, Ceballos C, Ramírez L, Poblete-Morales M y Irgang R. (2014) *Flavobacterium chilensis* and *Flavobacterium spartansii*, two novel non-pathogenic species to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*; Walbaum) obtained from «Rio Branco» fish farm in Chile. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 34: 130-137.

Avendaño-Herrera R, Maldonado JP, Tapia-Cammas D, Feijóo CG, Calleja F y Toranzo AE. (2014) PCR protocol for detection of *Vibrio ordalii* by amplification of the *vohB* (hemolysin) gene. *Dis Aquat Org* 107: 223-234.

Avendaño-Herrera R, Suarez R, Lazo E, Bravo D, Llegues KO, Romalde JL y Godoy MG. (2014) Genome sequence of *Streptococcus phocae* subs. *salmonis* strain C-4T, isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Genome Announc* 2(6): e01269-14.

Yáñez AJ, Valenzuela K, Matzner C, Olavarría V, Figueroa J, Avendaño-Herrera R y Cárcamo JG. (2014) Broth microdilution protocol for minimum inhibitor concentration (MIC) determinations of the intracellular salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis* to florfenicol and oxytetracycline. *J Fish Dis* 37: 505-509.

Godoy MG, Kibenge MJT, Suarez R, Lazo E, Heisinger A, Aguinaga J, Bravo D, Mendoza J, Llegues KO, Avendaño-Herrera R, Vera C, Mardones F y Kibenge FS. (2013) Infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Chilean Atlantic salmon (*Salmo salar*) aquaculture: emergence of low pathogenic ISAV-HPRO and re-emergence of virulent ISAV-HPRDelta: HPR3 and HPR14. *Virology* 10: 344.

Barbier P, Lunazzi A, Fujiwara-Nagata E, Avendaño-Herrera R, Bernardet J-F, Touchon M y Du-

chaud E. (2013) From the *Flavobacterium* genus to the phylum Bacteroides: genomic analysis of dnd gene clusters. FEMS Microbiol Lett 348:26-35.

Yáñez AJ, Silva H, Valenzuela K, Pontigo JP, Godoy M, Troncoso J, Romero A, Figueroa J, Carcamo JG y Avendaño-Herrera R. (2013) Two novel blood-free solid media for the culture of the salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis*. J Fish Dis 36: 587-591.

Hedrera MI, Galdanes JA, Jimenez-Reyes MF, Reyes AE, Avendaño-Herrera R, Romero J y Feijóo CG. (2013) Soybean meal induces intestinal inflammation in zebrafish larvae. PLoS One 8 (7): e69983.

Yáñez AJ, Godoy MG, Gallardo A y Avendaño-Herrera R. (2013) Identification of *Streptococcus phocae* strains associated with mortality of Atlantic salmon

(*Salmo salar*) cultured at low temperature in Chile. Bull Eur Assoc Fish Pathol 33: 58-63.

Poblete-Morales M, Irgang R, Henríquez-Núñez H, Toranzo AE, Kronvall G y Avendaño-Herrera R. (2013) *Vibrio ordalii* antimicrobial susceptibility testing – Modified culture conditions required and tentative epidemiological disk test cut-off values. Vet Microbiol 165: 434-442.

Patología Microbiana y Diagnóstico en Acuicultura

José Agustín Guijarro



Universidad de Oviedo-Facultad de Medicina-Dpto. Biología Funcional-Microbiología. C/ Julián Clavería, 6, 33006 Oviedo



Foto de grupo.

Grupo de Patología y Diagnóstico en Acuicultura (de izquierda a derecha): Desirée Cascales, Ana Isabel García, José Agustín Guijarro y Jessica Méndez.

Tras una trayectoria inicial en la investigación de diversos aspectos relacionados con el ciclo de vida de especies del género *Streptomyces*, en el año 1997 José Agustín Guijarro Atienza materializó su interés en la acuicultura, y más concretamente en las infecciones bacterianas que ocasionan importantes pérdidas económicas en el sector, con la formación del grupo Patología Microbiana y Diagnóstico en Acuicultura adscrito al Departamento de Biología Fun-

cional de la Universidad de Oviedo. Así, en colaboración con el SERIDA, concretamente con el Laboratorio de Sanidad Animal de Jove, inició una línea de investigación sobre patología infecciosa de salmónidos cuyo eje ha sido el estudio de tres importantes bacterias patógenas: *Flavobacterium psychrophilum* causante de la Enfermedad del agua fría (CWD), *Yersinia ruckeri*, agente causal de Yersiniosis o ERM y *Lactococcus garvieae* responsable de la lactococosis.

En este ámbito los trabajos de investigación del grupo se han centrado en dos líneas principales. Por un lado el desarrollo pionero de sistemas de diagnóstico basados en ensayos Taq-man de gran utilidad para el diagnóstico de la CWD y de una PCR múltiple que permitió identificar en muestras naturales, además de *F. psychrophilum*, otros patógenos como *Y. ruckeri* y *Aeromonas salmonicida*. El desarrollo de esta metodología que ha sido implementada en laboratorios de diagnóstico

fue reconocida con la concesión del V Premio JACUMAR de Investigación en Acuicultura concedido por el entonces Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación en el año 2004 y el IV Premio ProAqua 2005, actualmente BioMar, para distinguir las aportaciones de sistemas útiles para la acuicultura.

Actualmente, el trabajo del grupo se centra en una segunda línea de investigación que tiene como objetivo el estudio de los mecanismos de virulencia de los tres patógenos anteriormente mencionados. En todos los casos el objetivo de partida fue la puesta a punto de sistemas de manipulación genética que permitiesen la selección, identificación y el estudio de los genes relacionados con la virulencia así como de aquellos mecanismos de regulación que controlan su expresión.

Así, en el caso de *F. psychrophilum* una bacteria calificada como «fastidiosa» por la dificultad que presenta su manipulación, el grupo ha conseguido desarrollar diferentes medios de cultivo y sistemas de manipulación genética como la mutagénesis insercional, mutación por delección o transposición, que han permitido obtener más de trescientos mutantes intragénicos, algunos de ellos defectuosos en importantes factores de virulencia, lo que resulta de gran importancia de cara a conocer la interacción bacteria-hospedador y para el desarrollo de vacunas, una de las líneas que actualmente está desarrollando el grupo.

No menos importantes han sido los avances en el desarrollo de técnicas de manipulación genética de *Lactococcus garvieae* (transformación, mutagénesis insercional o transposición). Destacar el aplicación de la técnica Signature tagged mutagenesis (STM) que ha permitido seleccionar y analizar mutantes con el crecimiento limitado *in vivo* y con ello la identificación de genes esenciales para la progresión del proceso infeccioso. Se

desarrolló un modelo infeccioso en ratones y además, ha sido esta bacteria la primera con la que el grupo ha incorporado la bioinformática a su campo de trabajo con la secuenciación y análisis del genoma de la cepa *L. garvieae* UNIOV74 aislada de trucha arcoíris.

En cuanto a *Y. ruckeri*, indicar que el grupo comenzó a trabajar con este microorganismo a finales de los noventa con la caracterización de la proteasa extracelular Yrp1 implicada en su virulencia y se continuó con una línea bien definida y fructífera que se mantiene hasta la actualidad. Resaltar en este aspecto la aplicación de la Tecnología IVET en este patógeno, la cual permitió identificar y posteriormente estudiar, numerosos factores de virulencia como los implicados en la captación de hierro, una hemolisina, un sistema de secreción de tipo IV y otro de captación de cisteína. Recientemente, el grupo siempre con la idea de buscar vías novedosas de abordaje al estudio de las relaciones bacteria-hospedador, ha desarrollado una serie de técnicas que permiten la identificación de genes cuya expresión se induce a 18 °C, temperatura a la que ocurren los brotes de la enfermedad, y/o en presencia de una atmósfera reductora, condiciones presentes en determinadas zonas del tracto intestinal. Una característica interesante de este método de selección es que al generar mutaciones en los genes identificados permite estudiar la implicación de éstos tanto en la fisiología como en la virulencia de la bacteria, además de poder analizar los factores o condiciones que influyen en su expresión. Actualmente, los integrantes del grupo (Ana I. García, Desirée Cascales, Jessica Méndez y José Agustín Guijarro) se plantean un reto adicional: mediante el desarrollo de una nueva estrategia fundamentada en un proceso de doble transposición, identificar nuevos sistemas de regulación de genes de virulencia, en particular los dependientes de temperatura y/o de una atmósfera reductora y al mismo tiempo, determinar qué

factores físico-químicos regulan la expresión de los propios genes reguladores.

PUBLICACIONES RECIENTES

- Gómez E, Álvarez B, Duchaud E y Guijarro JA.** (2015). Development of a markerless deletion system for the bacterial fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. Plos One 10, e0117969.
- Guijarro JA, Cascales D, García-Torrico AI, García-Domínguez M y Méndez J.** (2015). Temperature-dependent expression of virulence genes in fish-pathogenic bacteria. Front Microbiol 6: 700.
- Pérez-Pascual D, Gómez E, y Guijarro JA.** (2015). Lack of a type-2 glycosyltransferase in the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum* determines pleiotropic changes and loss of virulence. Vet Res 46:1-9.
- Gómez E, Méndez J, Cascales D y Guijarro JA.** (2014). *Flavobacterium psychrophilum* vaccines: a difficult task. Microb Biotechnol 7: 414-423.
- Navais R, Méndez J, Cascales D, Pérez-Pascual D y Guijarro JA.** (2014). Two tandem putative U32 peptidases encoding genes of *Yersinia ruckeri* induced under anaerobic conditions are involved in virulence. Virulence 5: 1-6.
- Navais R, Méndez J, Cascales D, Reimundo P y Guijarro JA.** (2014). The heat sensitive factor (HSF) of *Yersinia ruckeri* is produced by an alkyl sulphatase involved in sodium dodecyl sulphate (SDS) degradation but not in virulence. BMC Microbiol 14: 221-231.
- Méndez J y Guijarro JA.** (2013). In vivo monitoring of *Yersinia ruckeri* in fish tissue: progression and virulence gene expression. Environ Microbiol Rep 5: 179-185.
- Méndez J, Reimundo P, Pérez-Pascual D, Navais R, Gómez E y Guijarro JA.** (2011). A novel *cdsAB* operon is involved in the uptake of L-cysteine and participates in pathogenesis of *Yersinia ruckeri*. J Bacteriol 193: 944-951.
- Navais R, Méndez J, Reimundo P, Pérez-Pascual D, Gómez E y Guijarro JA.** (2011). The *yctCAB* operon of *Yersinia ruckeri* involved in in vivo citrate uptake is not necessary for virulence. App Environ Microbiol 77: 1107-1110.
- Pérez-Pascual D, Gómez E, Álvarez B, Méndez J, Reimundo P, Navais R, Duchaud E y Guijarro JA.** (2011). Comparative analysis and mutation effects of *fpp1-fpp2* tandem genes encoding proteolytic extracellular enzymes of *Flavobacterium psychrophilum*. Microbiology 157:1196-1204.

Ecología Microbiana y Biogeoquímica: La vida secreta del sedimento

Sokratis Papaspyrou, Juan Luis Jiménez-Arias, Alfonso Corzo



Área de Microbiología. Departamento de Biomedicina, Biotecnología y Salud Pública, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz. Área de Ecología, Departamento de Biología. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz. Cádiz



Figura 1.

Miembros del grupo durante la edición de La Noche Europea de los Investigadores del 2015. De izquierda a derecha: Eddy Gómez Ramírez, Sara Soria Píriz, Sokratis Papaspyrou, Silvia Rayo Mato, Alfonso Corzo Rodríguez, Juan Luis Jiménez Arias y Julio Bohórquez Ferrando.

Los sedimentos de los ecosistemas acuáticos costeros, tales como estuarios, lagunas marales y marismas, están habitados por una comunidad microbiana muy compleja y diversa, tanto metabólicamente como taxonómicamente que, sin embargo, pasa totalmente desapercibida. Los componentes principales de esta comunidad desde un punto de vista funcional son: el componente fotoautotrófico, que de forma parecida a las plantas terrestres, produce materia orgánica usando energía solar, CO_2 y otros nutrientes inorgánicos; y el componente quimioheterótrofo, cuyo metabolismo es parecido al de los animales, es decir, consumen materia orgánica para obtener su energía y crecer.

La comunidad de microorganismos fotoautotrófos del sedimento (conocidos colectiva-

mente como microfitobentos) está constituida por microalgas (diatomeas) y procariontas autótrofos (principalmente cianobacterias), mientras que los microorganismos heterótrofos pertenecen a diversos grupos de procariontas (Bacteria y Archaea) y de protozoos. Todos estos microorganismos constituyen junto con los detritus orgánicos acumulados en los sedimentos los recursos alimentarios para una comunidad taxonómicamente muy diversa de animales pequeños (50-500 μm) llamados colectivamente meiofauna. Por último, los animales más grandes (>500 μm), la macrofauna, se alimentan de la comunidad microbiana, la meiofauna y el detritus orgánico con distintos niveles de selección.

El fuerte acoplamiento funcional que existe entre las distintas comunidades bentónicas, y

que es especialmente intenso en los primeros milímetros del sedimento, permite que una fracción importante de la materia orgánica que sedimenta o es producida in situ sea remineralizada rápidamente. Los nutrientes inorgánicos procedentes de la materia orgánica remineralizada, son devueltos a la columna de agua en forma disuelta para ser utilizados por otros productores primarios característicos de este tipo de ecosistemas someros como son el fitoplancton, las macroalgas y las fanerógamas marinas, que junto con el microfitobentos y el detritus forman la base de las cadenas tróficas en sistemas someros. Otra parte de la materia orgánica, sin embargo, queda enterrada miles de años dentro del sedimento dando estabilidad al sistema climático y llegando a controlar la concentración en la atmósfera de gases como el O_2 y

el CO_2 . Por todo ello, los sedimentos juegan un papel clave en la productividad primaria y secundaria de sistemas acuáticos costeros, y en el reciclado de nutrientes y el clima a nivel global.

Los sistemas costeros se caracterizan por presentar una gran variabilidad espacial y temporal a distintas escalas y un fuerte forzamiento físico (estacionalidad anual, ciclos de día y noche, mareas, oleaje). A su vez, la interfase agua-sedimento es un sistema biogeoquímico muy complejo dado que se caracteriza por gradientes fisicoquímicos intensos a escalas muy pequeñas. Muchas variables ambientales relevantes para la comunidad microbiana, tales como la irradiancia, el pH y la concentración de O_2 , CO_2 , nutrientes, entre otros, cambian considerablemente con la profundidad en el sedimento, en escalas que van de micras a unos pocos milímetros. Por tanto, es importante conocer las interacciones entre estas variables físico-químicas y los organismos bentónicos en diversas escalas espacio-temporales para poder evaluar correctamente el funcionamiento global del ecosistema costero.

El trabajo en el laboratorio de Ecología Microbiana y Biogeoquímica de la Universidad de Cádiz (<http://www2.uca.es/grup-invest/microbentos/>) se centra en el estudio de los procesos biogeoquímicos que ocurren en el sedimento, especialmente en medios acuáticos y en la interfase agua-sedimento, intentando entender el papel de los organismos, y en particular de los microorganismos, en el funcionamiento del ecosistema. Nuestro interés y pasión por la ecología y la biogeoquímica a «micro»-escala empezó en los años 2000 cuando el Profesor Alfonso Corzo, el responsable del laboratorio, inició esta línea de investigación en la Universidad de Cádiz. El laboratorio durante los últimos años ha crecido notablemente y actualmente está constituido además del IP, de un profesor sustituto interino, 2 becarios postdoctorales, 7 doctorandos y un número variable de estudiantes de master y de grado (Fig. 1). Para la realización de nuestros estudios utilizamos diferentes enfoques experimentales, combinando estudios de campo y experimentos, tanto *in situ* como de laboratorio, y empleando diferentes herramientas biogeoquímicas modernas. No obstante, la herramienta fundamental de nuestro grupo son los microelec-

trolos, –los cuales nos permiten determinar gradientes químicos de diversos dadores y aceptores de electrones a microescala en los sedimentos.

La línea prioritaria de investigación durante varios años ha sido el estudio del microfitobentos en sedimentos intermareales. El microfitobentos contribuye de manera importante al total de la producción primaria en sistemas someros (hasta un 50%) y, por lo tanto, representa una fuente importante de oxígeno y carbono para los organismos heterótrofos en este tipo de sistemas. Además, una función ecológica importante y poco conocida del microfitobentos, y que también estudiamos, ocurre a través de la producción de sustancias extracelulares poliméricas (EPS, de las siglas en inglés Extracellular Polymeric Substances). Aparte de ser una fuente adicional de carbono para los heterótrofos, los EPS (predominantemente polisacáridos) contribuyen al mantenimiento de la estructura física del sedimento impidiendo de ese modo

su erosión y resuspensión. Gracias al trabajo realizado a lo largo de estos años en la Bahía de Cádiz, nuestro grupo ha constatado la gran importancia ecológica del microfitobentos en este tipo de ambientes someros, con especial énfasis en la dinámica de nutrientes.

La segunda línea de investigación más importante ha sido el estudio del efecto de las proliferaciones masivas (blooms) de macroalgas verdes (del género *Ulva*, conocida como lechuga de mar) sobre la biogeoquímica del sedimento (Fig. 2). Los blooms de macroalgas son la manifestación más común en sistemas someros de la eutrofización, provocada por el aumento de nutrientes antrópicos (agricultura, residuos urbanos, etc.). Las acumulaciones de macroalgas tienen efectos importantes sobre el ecosistema debido a que atenúan la luz, lo cual afecta negativamente a la producción primaria del microfitobentos, y alteran la composición del resto de la comunidad. Además, las macroalgas reducen la disponibilidad de oxígeno de forma particular-



Figura 2.

A. Proliferación masiva de macroalgas verdes sobre la superficie una zona intermareal dentro del saco interno de la Bahía de Cádiz. **B.** Testigos de sedimento recolectados en zonas con macroalgas (izquierda) y sin macroalgas (derecha). A la izquierda casi no se aprecia la zona oxidada (color marrón) debajo de la capa de macroalgas, mientras que a la derecha esta zona se extiende varios centímetros. La reducción de hierro con el sulfhídrico producido por la sulfato-reducción es la causa del color negro de la parte baja. **C.** Experimento de laboratorio con biopelículas procedentes de una EDAR. Puede observarse el uso conjunto de microelectrodos de oxígeno, sulfhídrico y pH para este tipo de estudios a microescala. **D.** Imagen de la punta de un microelectrodo de oxígeno cerca de la superficie del sedimento durante la realización de otro experimento. El diámetro de la punta puede variar entre 10-500 μm dependiendo del tipo de sedimento y la resolución del perfil vertical deseada.

mente grave durante la descomposición de los blooms, cuando se producen condiciones hipóxicas o anóxicas incluso en la columna de agua. Tales condiciones favorecen la actividad de las bacterias anaerobias que respiran sulfato en lugar de oxígeno. Dichas bacterias producen sulfuro de hidrogeno como subproducto, el cual es altamente tóxico para la flora y la fauna bentónica, provocando en muchos casos gran mortandad. Hasta el momento, nuestro grupo ha contribuido a la descripción de los efectos de las distintas etapas del desarrollo del bloom (proliferación, senescencia, degradación) sobre los ciclos del carbono y el nitrógeno en el sedimento, la producción primaria microfítobentónica, y los cambios que se producen en la estructura de la comunidad bacteriana y de la meiofauna.

Otro ámbito donde hemos desarrollado una intensa actividad ha sido la microbiología de biopelículas en estaciones de depuración de aguas residuales (EDAR). La producción de sulfuro de hidrogeno por las bacterias sulfatoredutoras constituye uno de los principales problemas en este tipo de instalaciones. Aparte de su olor muy desagradable a huevos podridos, el sulfuro de hidrógeno es un serio peligro para los trabajadores debido a su toxicidad, provocando pérdidas económicas importantes debidas a la corrosión metálica y al deterioro de las estructuras de hormigón. Uno de los métodos propuestos para controlar la producción de esta sustancia es la adición de nitrato durante el tratamiento del agua residual. Nuestro grupo ha demostrado la presencia en las biopelículas de un grupo poco conocido de bacterias, las denominadas bacterias oxidadoras de sulfuro y reductoras de nitrato (NR-SOB). Las bacterias NR-SOB son capaces de oxidar el sulfuro de hidrógeno y el azufre elemental a sulfato, utilizando nitrato. Las aplicaciones potenciales de este grupo de bacterias es muy alto ya que el problema del sulfuro de hidrogeno es común también

en otros tipos de industrias (petrolífera, papelería, etc.).

Durante los últimos años, y gracias a varios proyectos de cooperación internacional y otros nacionales y regionales, hemos expandido nuestro ámbito de estudio a sistemas más «exóticos». En Costa Rica estamos estudiando el acoplamiento entre la producción primaria en la columna de agua y su mineralización en el sedimento en uno de los estuarios más productivos del mundo, el Golfo de Nicoya. En Honduras, estamos involucrados en el estudio de la ecología microbiana y biogeoquímica en la laguna de Los Micos. Más cerca de nosotros, en la provincia de Huelva, estamos trabajando en sistemas acuáticos impactados por drenaje ácido de minas (con un pH que puede ser tan bajo como 1.5 y altas concentraciones de metales). Ese tipo de ambientes son una excelente oportunidad de estudiar microorganismos extremófilos que tienen una gran variedad de metabolismos poco estudiados y que pueden tener un potencial biotecnológico grande.

Cabe destacar que el trabajo que realizamos, bastante interdisciplinar, se debe en gran parte a las colaboraciones que mantenemos tanto dentro de la propia universidad como con investigadores de otras instituciones a nivel nacional e internacional. En este sentido, mantenemos colaboraciones con expertos en el uso de microelectrodos (Prof. N.P. Revsbech, Aarhus University), la ecología del microfítobentos (Prof. G.C. Underwood, Essex University), el ciclo del hierro en el sedimento (Prof. S. Poulton, Leeds University), los estuarios tropicales (Prof. A. Morales, CIMAR), técnicas moleculares para el análisis de comunidades microbianas (Prof. T. McGenity, Essex University, RU; Dr. J.M. González, IRNAS-CSIC; Dr. José Antonio Morillo, Universidad de Granada) y la geoquímica de sistemas impactados por drenaje ácido de minas (Dr. C.

Ayora y Dra. E. Torres, IDAEA-CSIC; Prof. J.M. Nieto, Universidad de Huelva).

PUBLICACIONES RECIENTES SELECCIONADAS

Microfítobentos y macroalgas

Bohórquez J, Papaspyrou S, Yúfera M, van Bergeijk SA, García-Robledo E, Jimenez-Arias JL, Bright M y Corzo A. (2013). Effects of green macroalgal blooms on the meiofauna community structure in the Bay of Cádiz. *Mar Pollut Bull* 70:10-17.

Corzo A, van Bergeijk SA y García-Robledo E. (2009). Effects of green macroalgal blooms on intertidal sediments: Net metabolism and carbon and nitrogen contents. *Mar Ecol Prog Ser* 380: 81-93.

Biofilms en depuradoras

Villahermosa D, Corzo A, García-Robledo E, González JM y Papaspyrou S. (2016). Kinetics of indigenous nitrate reducing sulfide oxidizing activity in microaerophilic wastewater biofilms. *PLoS One*. doi:10.1371/journal.pone.0149096.

García-de-Lomas J, Corzo A, Portillo C, González JM, Andrades JA, Sáiz-Jiménez C y García-Robledo E. (2007). Nitrate stimulation of indigenous nitrate-reducing, sulphide-oxidising bacterial community in wastewater anaerobic biofilms. *Water Res* 41: 3121-3131.

Lagos ácidos

Torres E, Ayora C, Jiménez-Arias JL, García-Robledo E, Papaspyrou S y Corzo A. (2014). Benthic metal fluxes and sediment diagenesis in a water reservoir affected by acid mine drainage: a laboratory experiment and reactive transport modeling. *Geochim Cosmochim Acta* 139: 344-361.

Torres E, Ayora C, Canovas CR, García-Robledo E, Galvan L y Sarmiento AM. (2013). Metal cycling during sediment early diagenesis in a water reservoir affected by acid mine drainage. *Sci Tot Envir* 461: 416-429.

Otros

Graham EB, Knelman JE, Schindlbacher A, et al. (2016). Microbes as engines of ecosystem function: when does community structure enhance predictions of ecosystem processes? *Front Microb* 7:214.

Portillo MC, Villahermosa D, Corzo A y Gonzalez JM. (2011). Microbial community fingerprinting by differential display-denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl Environ Microb* 77: 351-354.

Lactococcus garvieae, un patógeno de peces con posible implicación en Salud Pública

A. Gibello, M.M. Blanco, M.T. Cutuli, A.I. Vela, L. Domínguez y J.F. Fernández-Garayzábal



Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid

El gran desarrollo de la piscicultura ha supuesto un aumento de la incidencia de las enfermedades infecciosas, debido en gran medida a las propias condiciones de producción intensiva en las que actualmente se cultivan las especies de interés comercial. Nuestro grupo de la Facultad de Veterinaria, en el área de la Sanidad Animal ha contribuido, desde hace varias décadas, a la identificación de diversos microorganismos patógenos en peces cultivados: *L. garvieae* como agente causal de la lactococosis, *Pseudomonas anguilliseptica* como agente implicado en la enfermedad de invierno de la dorada, *Streptococcus phocae* y *Mycobacterium peregrinum* como patógenos de peces. También se han descrito nuevas especies bacterianas (*Flavobacterium oncorhynchi* y *Chryseobacterium shigense*) a partir de alevines de truchas con sintomatología clínica. El grupo de investigación posee, también un amplio bagaje en el diagnóstico y prevención de las enfermedades infecciosas en piscifactorías, y ha colaborado en el estudio de casos clínicos que han surgido de forma esporádica en instalaciones piscícolas. Ejemplos de esta actividad son la detección de una infestación por ácaros en tilapias, o la micosis causada por *Fusarium oxysporum*. Además, el grupo ha desarrollado diversos sistemas de diagnóstico basados en técnicas moleculares (PCR) y ha estudiado los mecanismos de resistencia a antibióticos de bacterias patógenas, como *Yersinia ruckeri*, implicada en la enfermedad de la boca roja, y diversos agentes responsables de estreptococosis en peces.

El tema principal de trabajo del grupo ha sido y sigue siendo, el estudio de la lactococosis en peces, producida por *Lactococcus garvieae*. La enfermedad se describió por primera vez en 1990 en Japón, y un año después surgieron brotes en Italia, Francia y España, principalmente en las piscifactorías de truchas. La

Foto de grupo.
De izquierda a derecha: Alicia Gibello, Mar Blanco, Lucas Domínguez, Ana I. Vela, M.T. Cutuli y José F. Fernández-Garayzábal.



lactococosis es una enfermedad septicémica generalizada, que en la trucha se asocia al aumento de la temperatura del agua. Los animales afectados suelen presentar hiperpigmentación, exoftalmos y hemorragias oculares (Fig. 1), y a nivel interno una marcada enteritis y hepatomegalia. La lactococosis es difícil de tratar con antimicrobianos, ya que es frecuente la resistencia a quinolonas, tetraciclinas y otros antibióticos y, aunque en la actualidad existen vacunas que reducen la incidencia de esta infección, se trata de vacunas inactivadas que resultan eficaces, frente a la biovariedad predominante en un país. Hasta el momento, los estudios genotípicos y epidemiológicos de las cepas de *L. garvieae* aisladas de peces indican la existencia de grupos genéticos adaptados a distintas especies y áreas geográficas.

Aunque la mayor importancia clínica de *L. garvieae* reside en su incidencia en la acuicultura de los países de la cuenca mediterránea, desde su descripción en 1983 como agente productor de mastitis bovina, esta bacteria ha sido relacionada con infecciones en ganado bovino y porcino y con diversas infecciones en humanos. En los últimos años, ha aumentado

el número de publicaciones sobre infecciones causadas por *L. garvieae* en humanos, que en algunos casos, se han llegado a relacionar con el consumo de pescado y otros alimentos contaminados con esta bacteria. A diferen-

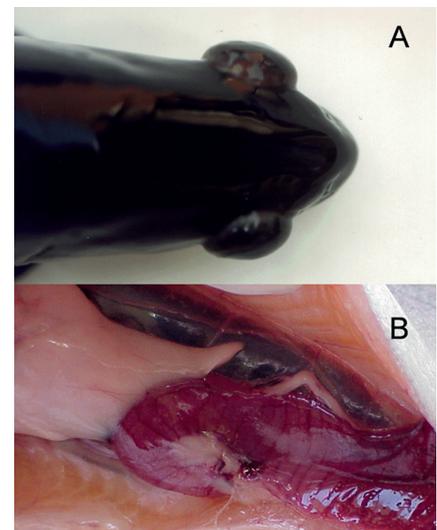


Figura 1.

Trucha con lactococosis. A) Se aprecia la hiperpigmentación y exoftalmos; B) se aprecia una marcada enteritis.

cia de lo que ocurre con otros patógenos de peces, algunas cepas de *L. garvieae* se aíslan de leche cruda y productos lácteos, como quesos artesanales, en los que contribuye a sus características organolépticas. Por este motivo, nuestros últimos trabajos se han centrado en la comparación genética de aislados procedentes de muestras clínicas de peces, humanas y de alimentos, mediante MLST. Por primera vez se ha observado que existe un complejo clonal que reúne aislados de infecciones humanas y algunas cepas procedentes de peces y alimentos. Sin embargo, los estudios para determinar el carácter patógeno de esta bacteria están poco desarrollados. Uno de los marcadores distintivos propuestos entre las cepas aisladas de peces y de productos lácteos es la capacidad de metabolizar la lactosa en estos últimos, pero hemos observado que existen cepas lactosa positivas aisladas de carnes y de muestras clínicas en otras especies animales, incluido el hombre.

Entre los factores de patogenicidad, la presencia de cápsula resulta importante para resistir la fagocitosis, pero en el caso de *L. garvieae*, las cepas no capsuladas también son patógenas para las truchas. De hecho, nuestro grupo se ha centrado en la caracterización de la cepa epidémica de la lactococosis en trucha en España desde 2004, y esta cepa carece de cápsula. La DL₅₀ en infecciones experimentales mediante inyección intraperitoneal se ha determinado en torno a 10²-10³ UFC/pez. Esta DL₅₀ es similar a la de las cepas de *L. garvieae* italianas de truchas y ligeramente superior a la de las cepas japonesas que afectan a otros peces. Uno de los hallazgos más significativos de la cepa con la que trabajamos, es su capacidad para adherirse e internalizarse en células no fagocíticas. Estos estudios de adherencia e internalización se han realizado en cultivos celulares *in vitro*, e *in vivo* en el modelo de pez cebra.

El desarrollo de las tecnologías de secuenciación masiva durante los últimos años ha llevado a la publicación de los genomas completos de 15 cepas de *L. garvieae*, que incluyen dos cepas japonesas aisladas casos clínicos en jurel y tres de truchas en Italia y España. El análisis *in silico* de estos genomas indica la existencia de genes potencialmente implicados en virulencia (hemolisinas, adhesinas, colagenasas, ...). En este sentido, los mutantes en el gen de la Sortasa C y/o en los genes adyacentes que codifican proteí-

nas con dominios pilina y LPxTG, presentan menor virulencia. Así pues, tal y como sucede en otros patógenos, las fimbrias o pili que presentan algunas cepas de *L. garvieae* aisladas de peces (Fig. 2), podrían estar implicadas en la adhesión y colonización de los tejidos durante la infección. También, los genes implicados en el metabolismo bacteriano a la temperatura a la que suceden los brotes pueden ser importantes ya que, por ejemplo, mutantes de *L. garvieae* en los genes que intervienen en el transporte de glutamina presentan menor virulencia. En este contexto, nuestros estudios sobre el efecto que tiene la temperatura en el transcriptoma de *L. garvieae* mediante microarrays, indican que genes que codifican la Glutamina sintetasa, están sobreexpresados a la temperatura a la que suceden los brotes.

Otros estudios que hemos abordado incluyen la caracterización de proteínas de *L. garvieae* que inducen una respuesta humoral. Los ensayos experimentales realizados por otros investigadores indican que algunas de estas proteínas inmunógenas confieren protección y podrían utilizarse en el desarrollo de nuevas vacunas. Además, nuestro grupo ha conseguido la purificación y caracterización de una bacteriocina producida por una cepa de *L. garvieae*, aislada de una infección en humanos, que es totalmente específica para inhibir el crecimiento de otras cepas de *L. garvieae*. La actividad y especificidad de esta Garvicina A hace pensar en su futura utilización en piscicultura. Nuestro trabajo actual consiste en el estudio de las proteínas del surfoma en las cepas de *L. garvieae*, con el fin de conocer las proteínas implicadas en la interacción patógeno-hospedador durante los primeros momen-

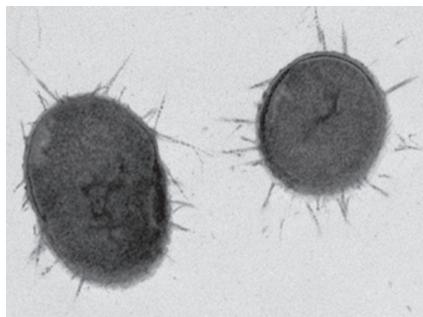


Figura 2.

Imagen de Microscopía Electrónica de Transmisión en la que se observa las fimbrias o pili de un aislado clínico de *L. garvieae* procedente de jurel.

tos de la infección (adhesión y colonización) y conocer la respuesta inmunitaria de la trucha frente a la infección de esta bacteria.

REFERENCIAS

- Aguado-Urda M, Cutuli MT, Blanco MM, Aspiroz C, Tejedor JL, Fernández-Garayzábal JF y Gibello A.** (2010). Utilization of lactose and presence of the phosphor-β-galactosidase (*lacG*) gene in *Lactococcus garvieae* isolates from different sources. *Int Microbiol* 13: 189-193.
- Aguado-Urda M, López-Campos GH, Gibello A, Fernández-Garayzábal JF, Cutuli MT, Aspiroz C, López-Alonso V y Blanco M.** (2011). Genome sequence of *Lactococcus garvieae* 8831, isolated from a rainbow trout lactococcosis in Spain. *J Bacteriol* 193: 4263-4264.
- Aguado-Urda M, Rodríguez-Bertos A, delas Heras AI, Blanco MM, Acosta F, Cid R, Fernández-Garayzábal JF y Gibello A.** (2014). Experimental *Lactococcus garvieae* infection in zebrafish and first evidence of its ability to invade non-phagocytic cells. *Vet Microbiol* 171: 248-54.
- Aguado-Urda M, Gibello A, Blanco MM, Fernández-Garayzábal JF, López-Alonso V, López-Campos GH.** (2013). Global transcriptome analysis of *Lactococcus garvieae* strains in response to temperature. *PLoS One* 8: 11.
- Fortina MG, Ricci G y Borgo F.** (2009). A study of lactose metabolism in *Lactococcus garvieae* reveals a genetic marker for distinguishing between dairy and fish biotypes. *J Food Prot* 72: 1248-1254.
- Gibello A, Díaz de Alba P, Blanco MM, Machuca J, Cutuli MT y Rodríguez-Martínez JM.** (2014). *Lactococcus garvieae* carries a chromosomally encoded pentapeptide repeat protein that confers reduced susceptibility to quinolones in *Escherichia coli* producing a cytotoxic effect. *Res Microbiol* 165: 590-599.
- Maldonado-Barragán A, Cárdenas N, Martínez B, Ruiz-Barba JL, Fernández-Garayzábal JF, Rodríguez JM y Gibello A.** (2013). Garvicin A, a novel class IId bacteriocin from *Lactococcus garvieae* that inhibits septum formation in *L. garvieae* strains. *Appl Environ Microbiol* 9: 4336-46.
- Menéndez A, Fernández L, Reimundo P y Guijarro JA.** (2007). Genes required for *Lactococcus garvieae* survival in a fish host. *Microbiology* 153: 3286-3294.
- Reguera-Brito M, Galán-Sánchez F, Blanco MM, Rodríguez-Iglesias M, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF y Gibello A.** (2016). Genetic analysis of human clinical isolates of *Lactococcus garvieae*: Relatedness with isolates from foods. *Infect Genet Evol* 37: 185-191.
- Tejedor JL, Vela AI, Gibello A, Casamayor A, Domínguez L y Fernández-Garayzábal JF.** (2011). A genetic comparison of pig, cow and trout isolates of *Lactococcus garvieae* by PFGE analysis. *Lett Appl Microbiol* 53: 614-619.
- Vela AI, Vázquez J, Gibello A, Blanco MM, Moreno M, Liébana P, Albendea C, Alcalá B, Mendez A, Domínguez L y Fernández-Garayzábal JF.** (2000). Phenotypic and genetic characterization of *Lactococcus garvieae* isolated in Spain from lactococcosis outbreaks and comparison with isolates of other countries and sources. *J Clin Microbiol* 38: 3791-3795.

Estudio integrado de virus, bacterias y protozoos de interés en salud pública, agua y alimentos (VirBaP)

Rosina Girones, Sílvia Bofill-Mas, Humbert Salvadó, Rosa Araujo



Universitat de Barcelona, Barcelona



Foto de grupo.

El grupo VirBaP de la Universidad de Barcelona.

El equipo VirBaP de la Universidad de Barcelona, de la Facultad de Biología, está compuesto por investigadores de dos departamentos, el Departamento de Genética, Microbiología y Estadística y Departamento de Biología Evolutiva, Ecología y Ciencias Ambientales. El equipo de trabajo está reconocido como grupo de investigación consolidado con el apoyo de la Generalitat de Catalunya. El equipo está formado por los equipos de Rosina Girones y Silvia Bofill especialistas en virus (http://www.ub.edu/microbiologia_virology), Rosa Araujo en patógenos bacterianos que se encuentran en el agua, y Humbert Salvadó, en protistología de tratamiento de aguas. El equipo está formado un total de 15 miembros entre profesores, investigadores doctores, e investigadores en formación.

El objetivo general del grupo es estudiar de manera integrada contaminación microbiana de agua y alimentos, la eficiencia de los diferentes tratamientos de depuración y desinfección y patógenos e indicadores de interés en salud pública. Se estudian todo tipo de matrices acuáticas: aguas superficiales, sub-

terráneas, de distribución, aguas residuales, y regeneradas, aguas de baño y fangos activos. Las principales áreas de trabajo y retos planteados se distribuyen en 5 puntos descritos a continuación:

ANÁLISIS DE LA BIOCENOSIS DE PROCESOS DE DEPURACIÓN

El análisis de los componentes biológicos en los procesos de depuración sigue siendo en muchos aspectos un enigma. La cuantificación y la identificación de sus componentes mediante microscopía óptica se utiliza hoy en día como herramienta complementaria y rutinaria en el control del proceso de depuración de aguas residuales urbanas e industriales en fangos activos así como en sistemas con biofilms y en cultivos mixtos. Dentro de los microorganismos con más capacidad bioindicadora mediante microscopía clásica están los protistas. Hemos caracterizado en sistemas avanzados de eliminación de amonio SCNR (Short-Cut Nitrogen Removal) y NIPAR (nitrification partial) previo al Anammox con

alta carga amoniacal y en cultivos mixtos, la dinámica de los protistas tanto en la matriz del biofilm como en el líquido intersticial en MBBR (Canals *et al.* 2013; Canals y Salvadó 2016). En paralelo la puesta a punto de técnicas de citometría de flujo, así como del análisis cuantitativo con FISH nos ha permitido el estudio amplio y comparativo de técnicas para analizar la dinámica en EDAR urbanas y en plantas piloto (Abzazou *et al.* 2016).

PATÓGENOS BACTERIANOS TRANSMITIDOS POR AGUA

El agua es un vehículo de transmisión de bacterias patógenas para el hombre. Algunas son bacterias acuáticas como *Legionella sp.* y otras procedentes del hombre u otros animales como *Campylobacter* o *Helicobacter*. El estudio de la presencia, persistencia y control en el medio acuático han sido objeto de estudio del grupo. Hemos estudiado la presencia y persistencia de especies termotolerantes de *Campylobacter* en aguas superficiales en las diferentes épocas del año y también en aguas

residuales de origen urbano y animal. *Legionella* y su relación con protozoos en el medio hídrico y en tratamientos de desinfección han sido largamente estudiados por el grupo. La endosimbiosis que establece con *Acanthamoeba* u otros protozoos ha demostrado ser de suma importancia para su persistencia en los sistemas de distribución de agua con recirculación y su resistencia frente a procesos de desinfección (Serrano *et al.* 2013; Cervero *et al.* 2015). Actualmente estamos trabajando con sistemas de electroquímicos integrados de oxidación avanzada para descontaminar y desinfectar aguas residuales urbanas e industriales.

NUEVOS INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL/RIESGO/ TRATAMIENTO Y MARCADORES DEL ORIGEN DE LA CONTAMINACIÓN (MST)

La calidad del agua utilizada para beber, irrigación, procesamiento de alimentos o fines recreativos tiene un impacto significativo en la salud pública a escala mundial. El desarrollo de nuevos indicadores de contaminación/riesgo/tratamiento, incluyendo procesos de desinfección de virus en agua (Rusiñol *et al.* 2015, Calgua *et al.* 2014, Girones *et al.*, 2014) es un tema que se ha estado trabajando intensamente en nuestro grupo. Hemos desarrollado nuevas técnicas de cuantificación y estudio de virus y hemos definido nuevos indicadores, adenovirus humanos (HAdV) y poliovirus que son los marcadores virales más utilizados para la identificación del nivel de contaminación de origen humano, ya que son excretados por un alto porcentaje de la población humana y tienen una alta prevalencia en todo el mundo. También hemos desarrollado ensayos de virus específicos que pueden ser utilizados para rastrear la contaminación bovina, ovina, porcina y aviar. Las nuevas técnicas desarrolladas se han aplicado en diferentes estudios; en el proyecto VIROCLIME se han analizado los niveles de contaminación fecal, indicadores y patógenos virales en 5 cuencas fluviales, en Brasil, Suecia, Grecia, Hungría y España (Rusiñol *et al.* 2014) identificando el origen de la contaminación fecal en cada zona («Microbial Source Tracking» (MST)). Se necesita un conocimiento detallado de las fuentes de contaminación para diseñar estrategias eficientes y rentables de gestión

y un sistema de evaluación de riesgos como parte de los planes de seguridad del agua recomendados por la OMS.

ESTUDIOS DE CONTAMINACIÓN VÍRICA DEL AGUA EN CONTEXTOS DE CRISIS HUMANITARIAS

Parte de las actividades de investigación del equipo están destinadas a la cooperación internacional, y varios proyectos se han desarrollado haciendo estudios y actividades formativas en países o zonas de bajo nivel sanitario. Se ha trabajado en cooperaciones de investigación y formación en Florianópolis (Brasil), Haití, Guatemala, Chad y Sudán. Es en esta línea de investigación del grupo en la que se enmarca la cooperación con OXFAM INTERMON para contribuir a la reducción de las infecciones virales de transmisión hídrica en regiones con emergencias humanitarias. Recientemente se ha finalizado el proyecto financiado por Humanitarian Innovations Fund, el proyecto WADHE que se ha desarrollado en colaboración de MSF y realiza estudios de desinfección de agua y diseminación de virus transmitidos por agua a campos de refugiados de Sudán del Sur. (Guerrero-Latorre *et al.* 2014, 2015).

NUEVOS PATÓGENOS EMERGENTES Y TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN DE NUEVA GENERACIÓN

Hemos publicado el primer estudio de metagenómica de virus en agua residual (Cantalupo *et al.* 2011) en el que se analiza el «Viroma» excretado en la población de Barcelona, Pittsburg (USA) y Addis Abeba (Etiopía) detectando virus de 51 familias diferentes incluyendo 17 virus diferentes que infectan humanos. Hemos seguido trabajando en el estudio de virus desarrollando protocolos de metagenómica más eficientes, trabajando actualmente dentro del programa Water JPI, en el proyecto METAWATER coordinado por Rosina Girones con el principal objetivo de estudiar virus, bacterias y protozoos del agua residual y agua de riego utilizada en Europa usando técnicas de secuenciación de nueva generación. Aunque la metagenómica presenta una oportunidad única para obtener información sobre el contenido de las especies presentes simultáneamente en

una muestra, la detección directa de ácidos nucleicos usando técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS) todavía no es tan sensible como, por ejemplo, PCR anidada. Por lo tanto, el desarrollo y validación de métodos sensibles usando técnicas de NGS para el análisis de aguas potencialmente contaminadas será de gran valor. Además se necesitan algoritmos de bioinformática precisos y rápidos para permitir la interpretación correcta de los datos generados por secuenciación masiva.

Los proyectos del grupo tienen objetivos relacionados con aspectos básicos de la biología, ecología y la patogenicidad de los virus, bacterias y protozoos estudiados, y también, objetivos aplicados, que incluyen la colaboración con empresas y organismos reguladores y la evaluación de aspectos técnicos y de gestión, importantes para el control y la mejora de la calidad microbiológica del medio, el agua y los alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

- Abzouz T, Araujo R.M, Auset M y Salvadó H.** (2016). Tracking and quantification of nitrifying bacteria in biofilm and mixed liquor of a partial nitrification MBBR pilot plant using fluorescence in situ hybridization. *Sci Total Environ* 541: 1115-1123.
- Calgua B, Carratala A, Guerrero-Latorre L, de Abreu Correa A, Kohn T, Sommer R y Girones R.** (2014). UVC Inactivation of dsDNA and ssRNA Viruses in Water: UV Fluences and a qPCR-Based Approach to Evaluate Decay on Viral Infectivity. *Food Environ Virol* 6: 260-268. DOI 10.1007/s12560-014-9157-1.
- Canal O y Salvadó H.** (2016). Description of *Epistylis camprubii* n. sp., a Species Highly Tolerant to Ammonium and Nitrite. *Acta Protozool* 55: 7- 8.
- Canals O, Salvadó H, Auset M, Hernández C y Malfeito J.J.** (2013). Microfauna communities as performance indicators for an A/O Shortcut Biological Nitrogen Removal moving-bed biofilm reactor. *Water Res* 47-9: 3141-3150.
- Cantalupo PG, Calgua B, Zhao G, Hundesa A, Wier AD, Katz JP, Grabe M, Hendrix RW, Girones R, Wang D y Pipas JM.** (2011). Raw Sewage Harbors Diverse Viral Populations. *mBio* 2(5):e00180-11. doi:10.1128/mBio.00180-11.
- Cervero-Aragó S, Rodríguez-Martínez S, Puertas-Bennasar A y Araujo RM** (2015) Effect of Common Drinking Water Disinfectants, Chlorine and Heat, on Free Legionella and Amoebae-Associated Legionella. *PLoS one* 10 (8), e0134726.
- Girones R, Carratalà A, Calgua B, Calvo M, Rodríguez-Manzano J y Emerson S.** (2014). Chlorine inactivation of hepatitis E virus and human adenovirus 2 in water. *J Water Health* 12: 436-42. doi: 10.2166/wh.2014.027.
- Guerrero-Latorre L, Hundesa A y Girones R.** (2015). Transmission sources of waterborne viruses in South

Sudan refugee camps. CLEAN - Soil, Air, Water, in press.
Guerrero-Latorre L, Rusiñol M, Hundesa A, García-Valles M, Martínez S, Joseph O, Bofill-Mas S y Girones R. (2014). Development of improved low-cost ceramic water filters for viral removal in the Haitian context. *Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development* In Press, Uncorrected Proof® IWA Publishing 2014. doi:10.2166/washdev.2014.121.
Rusiñol M, Fernandez-Cassi X, Hundesa A, Vieira C, Kern A, Eriksson I, Ziros P, Kay D, Miagostovich

M, Vargha M, Allard A, Vantarakis A, Wyn-Jones P, Bofill-Mas S y Girones R. (2014). Application of human and animal viral microbial source tracking tools in fresh and marine waters from five different geographical areas. *Water Res* 59: 119-29. doi: 10.1016/j.watres.2014.04.013.
Rusiñol, M, Fernandez-Cassi X, Timoneda N, Carratalà A, Abril JF, Silvera C, Figueras MJ, Gelati E, Rodó X, Kay D, Wyn-Jones P, Bofill-Mas S y Girones R. (2015). Evidence of viral dissemination

and seasonality in a Mediterranean river catchment: implications for water pollution management. *J Environ Manage* 159: 58-67. doi:10.1016/j.jenvman.2015.05.019

Serrano-Suárez A, Dellundé J, Salvadó H, Cervero-Aragó S, Méndez J, Canals O, Blanco S, Arcas A y Araujo R. (2013). Microbial and physicochemical parameters associated with *Legionella* contamination in hot water recirculation systems. *Environ Sci Pollut R* 20: 5534-5544.

Biocontrol y Prevención de Enfermedades en Acuicultura

MA Moriñigo, Balebona MC, Martínez-Manzanares E, Arijo S



Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga

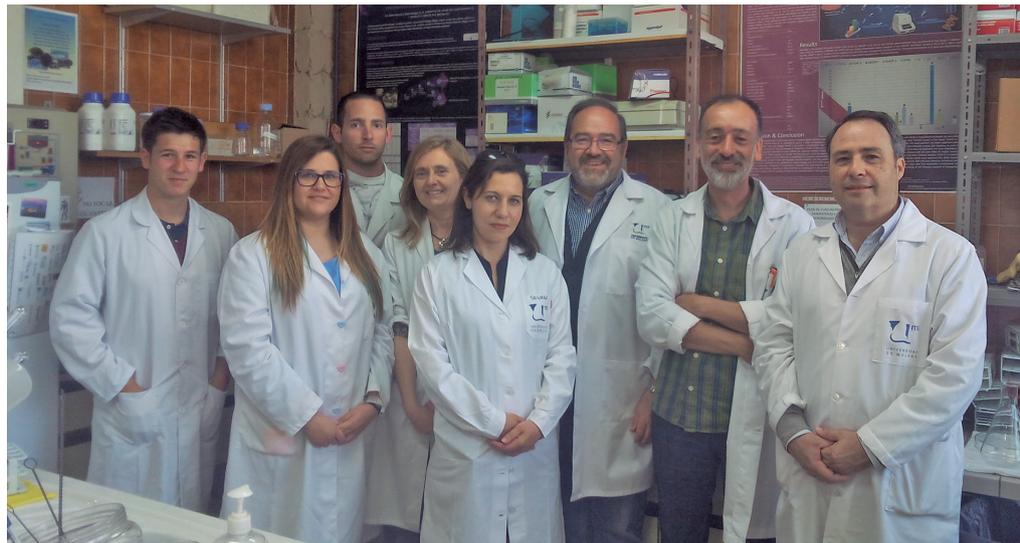


Foto de grupo.

Miembros del grupo de investigación (de izquierda a derecha): Iván Gallardo, Milena Fumanal, J. Alberto Nuñez, M^a Carmen Balebona, Silvana Tapia, Miguel A. Moriñigo, Salvador Arijo y Eduardo Martínez.

El grupo de Biocontrol y Prevención de Enfermedades en Acuicultura está encuadrado en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Málaga y forma parte del Grupo de Investigación consolidado del Plan Andaluz de Investigación denominado Fotobiología y Biotecnología de los Organismos Acuáticos (FYBOA) (RNM 295). Si bien sus investiga-

dores cuentan con una experiencia de más de 25 años en el campo de la Acuicultura, es desde el año 2000 cuando desarrollan su labor científica como equipo independiente. El grupo está formado por los profesores Miguel Angel Moriñigo Gutierrez, Eduardo Martínez Manzanares, M^a Carmen Balebona Accino y Salvador Arijo Andrade, así como por la investigadora postdoctoral

Silvana Teresa Tapia Paniagua y los investigadores predoctorales Juan Alberto Nuñez Díaz y Alberto Medina López. Además mantiene estrechas y habituales colaboraciones a través de proyectos de investigación con investigadores del Instituto Español de Oceanografía de Santander, la Universidad de Murcia y la Universidad de Córdoba, entre otras.

Sus principales líneas de investigación son: (1) el aislamiento y caracterización de patógenos acuícolas con vistas al diseño de vacunas efectivas y (2) la selección de microorganismos para su empleo como probióticos.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

El principal modelo de estudio abordado por el equipo es el constituido por el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) y los patógenos *Photobacterium damsela* subsp *piscicida* y *Vibrio harveyi*. El lenguado senegalés es una especie de pez plano con una alta relevancia económica además de ser un candidato ideal para la diversificación de la producción acuícola en el Sur de Europa. Sin embargo, su cultivo tiene varios cuellos de botella uno de los cuales son las patologías, siendo *Vibrio harveyi* y *P. damsela* subsp *piscicida* dos de las patógenos más relevantes.

En este contexto, nuestra investigación ha estudiado la capacidad de estimulación del sistema inmune del lenguado expuesto al patógeno por vía intraperitoneal o por inmersión. Se ha podido demostrar que la capacidad de activación del sistema inmune por parte del patógeno es esencialmente muy similar independientemente de la vía de infección empleada (Nuñez-Díaz *et al.*, en prensa).

Diseño de vacunas

En la actualidad, en esta línea se están desarrollando proyectos de investigación encaminados a la identificación de proteínas de los patógenos expresadas o sobreexpresadas tanto *in vitro* como *in vivo* y que sean altamente inmunogénicas para el lenguado con vistas a su empleo en el diseño de vacunas. Así, los resultados obtenidos hasta el momento han permitido la identificación de varias proteínas de la membrana externa de *V. harveyi* expresadas *in vitro* y que fueron altamente inmunogénicas para lenguado (Medina *et al.*, 2015).

SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS PARA SU EMPLEO COMO PROBIÓTICOS

El control de los patógenos bacterianos en acuicultura normalmente implica la admi-

nistración de antimicrobianos. Sin embargo, el excesivo uso de los mismos conlleva no sólo la aparición de microorganismos resistentes con el consiguiente riesgo para la salud humana, sino también el impacto que su empleo puede tener sobre el medio ambiente circundante de las instalaciones piscícolas. En consecuencia, la acuicultura moderna demanda alternativas encaminadas a conseguir unas prácticas más sostenibles que permitan la lucha contra la enfermedad y el mantenimiento de la salud ambiental. En esta línea, el uso de los probióticos se está planteando como una herramienta muy útil para la acuicultura.

Nuestro equipo ha aislado una bacteria a partir de ejemplares sanos de dorada (*Sparus aurata*), la cual ha sido identificada como *Shewanella putrefaciens* Pdp11 (SpPdp11) y que ha mostrado poseer capacidad antagónica frente a *Photobacterium damsela* subsp *piscicida* y *Vibrio harveyi*, por la producción de sustancias antimicrobianas y por la interferencia adhesiva. Por ello, se ha planteado su uso como probiótico en el cultivo de dorada y lenguado senegalés, teniendo las patentes para el preparado de bacterias probióticas para su administración oral a peces cultivados basado en la encapsulación en hidrogeles de alginato (N.º de publicación: 2 390 428) y el procedimiento de preparación, conservación, y uso en peces del probiótico para el control de enfermedades y la mejora en el crecimiento (N.º de publicación: 2 389 364).

Posteriormente nuestras investigaciones, nos han permitido demostrar que la administración en la dieta de este microorganismo ejerce distintas actividades que permiten considerarle como un probiótico. Entre estas actividades cabe citar aquellas que tienen su efecto sobre:

La resistencia a la enfermedad

Los resultados obtenidos han mostrado una menor susceptibilidad a infecciones por *V. harveyi* (Tapia-Paniagua *et al.*, 2014) y *P. damsela* subsp *piscicida* (García de la Banda *et al.*, 2012), en los ejemplares de lenguado que alimentados con una dieta suplementada con SpPdp11 en comparación con los ejemplares que recibieron la misma dieta pero sin suplementar con SpPdp11, y se han podido constatar incrementos significativos

en la transcripción de genes relacionados con el sistema inmune de lenguado en los peces alimentados con dieta adicionada con SpPdp11 (Tapia-Paniagua *et al.*, 2015).

El desarrollo de los peces

Se han observado incrementos significativos en las tasas de crecimiento de los juveniles de lenguado (García de la Banda *et al.*, 2012) o dorada (Varela *et al.*, 2010), así como reducciones en la dispersión del tamaño en el caso del primero (García de la Banda *et al.*, 2010a).

El tracto gastrointestinal

Nuestros resultados mostraron una reducción del número de inclusiones lipídicas en los enterocitos y hepatocitos de ejemplares de lenguado alimentados con la dieta adicionada con SpPdp11 en comparación con las observadas en aquellos especímenes que habían recibido una dieta sin el microorganismo (García de la Banda *et al.*, 2010).

La microbiota intestinal

La microbiota intestinal es un ecosistema dinámico que tiene importantes efectos en la fisiología e inmunidad de su hospedador, pero que es muy susceptible a muchos factores, entre lo que los probióticos pueden ser un factor a considerar. Este aspecto constituye en la actualidad uno de los principales objetivos de investigación de nuestro equipo.

En este contexto, los trabajos que hemos llevado a cabo han demostrado la capacidad de SpPdp11 para modular la microbiota intestinal tanto de dorada (Cordero *et al.*, 2015) como de lenguado senegalés (Tapia-Paniagua *et al.*, 2010), incluso bajo condiciones no idóneas de cultivo como son estrés por cultivo en altas densidades de individuos (Tapia-Paniagua *et al.*, 2014a) o que requieren la administración de antibióticos (Tapia-Paniagua *et al.*, 2015).

La modulación de la microbiota intestinal inducida por SpPdp11 está implicada en la menor presencia de inclusiones lipídicas

observada en enterocitos y hepatocitos de los lenguados alimentados con la dieta suplementada con este microorganismo (Tapia-Paniagua *et al.*, 2014b).

Las larvas de los peces cultivados están expuestas a importantes desórdenes asociados con la microbiota intestinal ya que la alimentación comienza cuando el tracto digestivo no está completamente desarrollado. La administración de SpPdp11 a las larvas a través de su bioencapsulación en *Artemia* indujo una modulación temprana de su microbiota intestinal (Tapia-Paniagua *et al.*, 2014c) y este efecto se ha relacionado con un adelanto de la metamorfosis, un mayor crecimiento y una menor dispersión del tamaño larvario (Lobo *et al.*, 2014a,b).

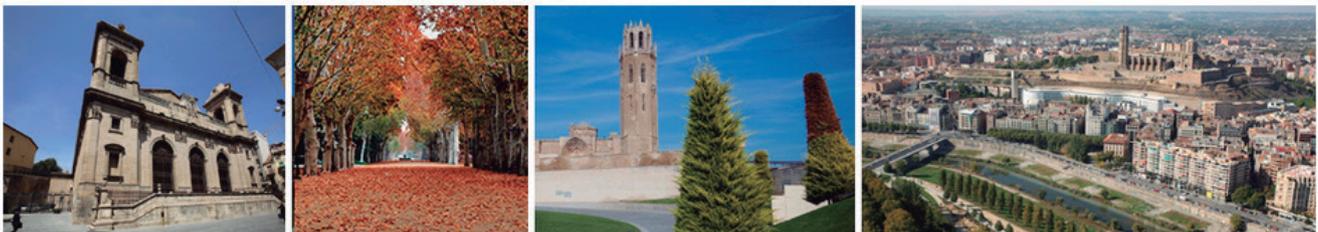
BIBLIOGRAFÍA

- Cordero H, Guardiola FA, Tapia-Paniagua St, Cuesta A, Meseguer J, Balebona MC, Moriño MA y Esteban MA** (2015) Modulation of immunity and gut microbiota after dietary administration of alginate encapsulated *Shewanella putrefaciens* Pdp11 to gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) Fish Shellfish Immunol 45: 608-618.
- García de La Banda I, Lobo C, León-Rubio JM, Tapia-Paniagua S, Balebona MC, Moriño MA, Moreno-Ventas X, Lucas M, Linares F, Arce F y Arijó S.** (2010). Influence of two closely related probiotics on juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) performance and protection against *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. Aquaculture 306: 281-288.
- García de la Banda I, Carmen Lobo C, Chabrilón M, León-Rubio JM, Arijó S, Pazos G, Lucas LM y Moriño MA** (2012). Influence of dietary administration of a probiotic strain *Shewanella putrefaciens* on senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) growth, body composition and resistance to *Photobacterium damsela* subsp *piscicida*. Aquacult Res 43: 662-669.
- Lobo C, Tapia-Paniagua S, Moreno-Ventas X, Alarcón FJ, Rodríguez C, Balebona MC, Moriño MA y García de la Banda I** (2014a). Benefits of probiotic administration on growth and performance along metamorphosis and weaning of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). Aquaculture 433: 183-195.
- Lobo C, Moreno-Ventas X, Tapia-Paniagua S, Rodríguez C, Moriño MA y García de la Banda I** (2014b). Dietary probiotic supplementation (*Shewanella putrefaciens* Pdp11) modulates gut microbiota and promotes growth and condition in Senegalese sole larviculture. Fish Physiol Biochem 40: 295-309.
- Medina A, Mancera JM, Martínez-Manzanares E, Moriño MA y Arijó S** (2015) Identification of *Vibrio harveyi* proteins involved in the specific immune response of Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup) Fish Shellfish Immunol 47: 377-380.
- Núñez-Díaz JA, Fumanal M, Mancera JM, Moriño MA y Balebona MC** (2016) Two routes of infection with *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* are effective in the modulation of the transcription of immune related genes in *Solea senegalensis*. Vet. Immunol. Immunopathol. En prensa.
- Tapia-Paniagua ST, Chabrilón M, Díaz-Rosales P, García de la Banda I, Lobo C, Clavijo E, Balebona MC y Moriño MA** (2010). Intestinal microbiota diversity of the flat fish *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) following probiotic administration. Microbial Ecol 60: 310-319.
- Tapia-Paniagua ST, Vidal S, Lobo C, Prieto-Álamo MJ, Jurado J, Cordero H, Cerezuela R, García de la Banda I, Esteban MA, Balebona MC y Moriño MA** (2014a). The treatment with the probiotic *Shewanella putrefaciens* Pdp11 of specimens of *Solea senegalensis* exposed to high stocking densities to enhance their resistance to disease. Fish Shellfish Immunol 41: 209-221.
- Tapia-Paniagua ST, Díaz-Rosales P, García de la Banda I, Lobo C, Clavijo E, Balebona MC y Moriño MA** (2014b). Modulation of certain liver fatty acids in *Solea senegalensis* is influenced by the dietary administration of probiotic microorganisms. Aquaculture 424-425: 234-238.
- Tapia-Paniagua, Lobo C, Moreno-Ventas X, García de la Banda I, Moriño MA y Balebona MC** (2014c). Probiotic supplementation influences the diversity of the intestinal microbiota during early stages of farmed Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858). Mar Biotechnol 16: 716-728.
- Tapia-Paniagua ST, Vidal S, Lobo C, García de la Banda I, Esteban MA, Balebona MC y Moriño MA** (2015). Dietary administration of the probiotic SpPdp11: Effects on the intestinal microbiota and immune-related gene expression of farmed *Solea senegalensis* treated with oxytetracycline. Fish Shellfish Immunol 46: 449-458.
- Varela JL, Ruiz-Jarabo I, Vargas-Chacoff L, Arijó S, León-Rubio JM, García-Millán I, Martín del Río MP, Moriño MA y Mancera JM** (2010). Dietary administration of probiotic Pdp11 promotes growth and improves stress tolerance to high stocking density in gilthead seabream *Sparus auratus*. Aquaculture 306: 265-271.



Universidad de Lleida, del 20 al 22 de junio de 2016

www.congresomicologia2016.es



Asimilación de hierro mediante sideróforos en patógenos bacterianos de peces

Manuel L. Lemos



Dpto. de Microbiología y Parasitología. Facultad de Biología e Instituto de Acuicultura. Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela

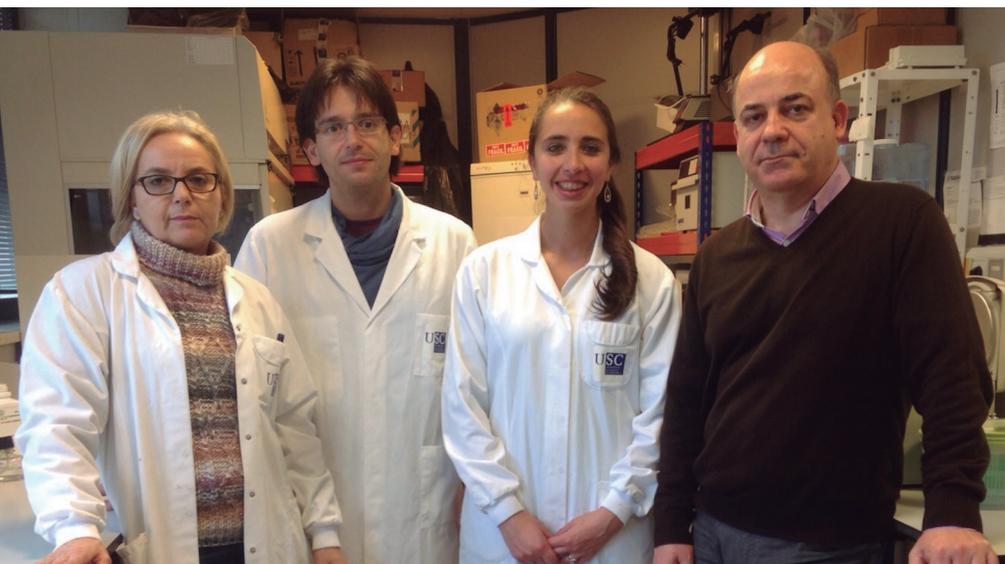


Foto de grupo.

Algunos miembros y colaboradores del grupo. De izquierda a derecha Soledad Núñez, Miguel Balado, Pamela Ruiz y Manuel Lemos.

La adquisición de hierro es un proceso indispensable para todas las bacterias, ya que es un elemento fundamental en el metabolismo celular. Sin embargo, a pesar de la concentración micromolar requerida para el crecimiento celular, el hierro es un compuesto biológicamente limitante debido a su baja solubilidad (10^{-18} M) en los ambientes aerobios y de pH neutro. Por esta razón los seres vivos han desarrollado complejos mecanismos para la asimilación de este elemento fundamental. Uno de los más importantes en las bacterias es la biosíntesis de agentes quelatantes, denominados sideróforos. Estos compuestos de bajo peso molecular (300-2.000 Da) son secretados al medio circundante donde quelatan muy eficazmente al Fe^{3+} . Los microorganismos adquieren luego el complejo Fe^{3+} -sideróforo mediante un transporte activo específico a través de receptores de la pared, situados en la membrana externa en las bacterias Gram-negativas. Existen cientos

de sideróforos distintos producidos por bacterias y hongos, pero se pueden agrupar por su estructura química en catecoles, hidroxamatos y alfa-hidroxicarboxilatos.

Está demostrado que la producción de sideróforos es un factor de virulencia clave para que una bacteria potencialmente patógena pueda desarrollar el proceso infeccioso. Las bacterias que causan infecciones en los peces en cultivo no son una excepción y nuestro grupo, en estrecha colaboración con el grupo del Prof. Carlos Jiménez del Departamento de Química Fundamental de la Universidad de A Coruña, ha contribuido a esclarecer algunos de estos mecanismos de asimilación de hierro en diferentes patógenos de peces, desgranando la genética y bioquímica de estos sistemas, así como determinando la estructura química de los sideróforos sintetizados (Fig. 1) (Soengas *et al*, 2006; Souto *et al*, 2012; Balado *et al* 2015).

Vibrio anguillarum es uno de los principales agentes causales de vibriosis en peces. Sus aislados se clasifican según el antígeno O en 23 serotipos diferentes, siendo los aislados de los serotipo O1, O2 y, en menor medida, O3 los causantes de los brotes infecciosos. En esta especie se han descrito dos sistemas de sideróforos diferentes: el de la anguibactina, presente únicamente en las cepas virulentas del serotipo O1 que portan el plásmido pJM1, y el de la vancrobactina (Fig. 1), codificado en el cromosoma y que se cree que es el sideróforo primigenio de esta especie (Lemos *et al*, 2010) y que ha sido caracterizado por nosotros. El sideróforo vancrobactina está codificado por el clúster de genes *vab*, donde *vabABCDEFGG* participan en los procesos de síntesis, mientras que *fvfA* codifica el receptor de la ferri-vancrobactina FvtA (Balado *et al*, 2006; 2008; 2009). En contraposición con la gran variedad serológica de los aislados, se ha comprobado que las

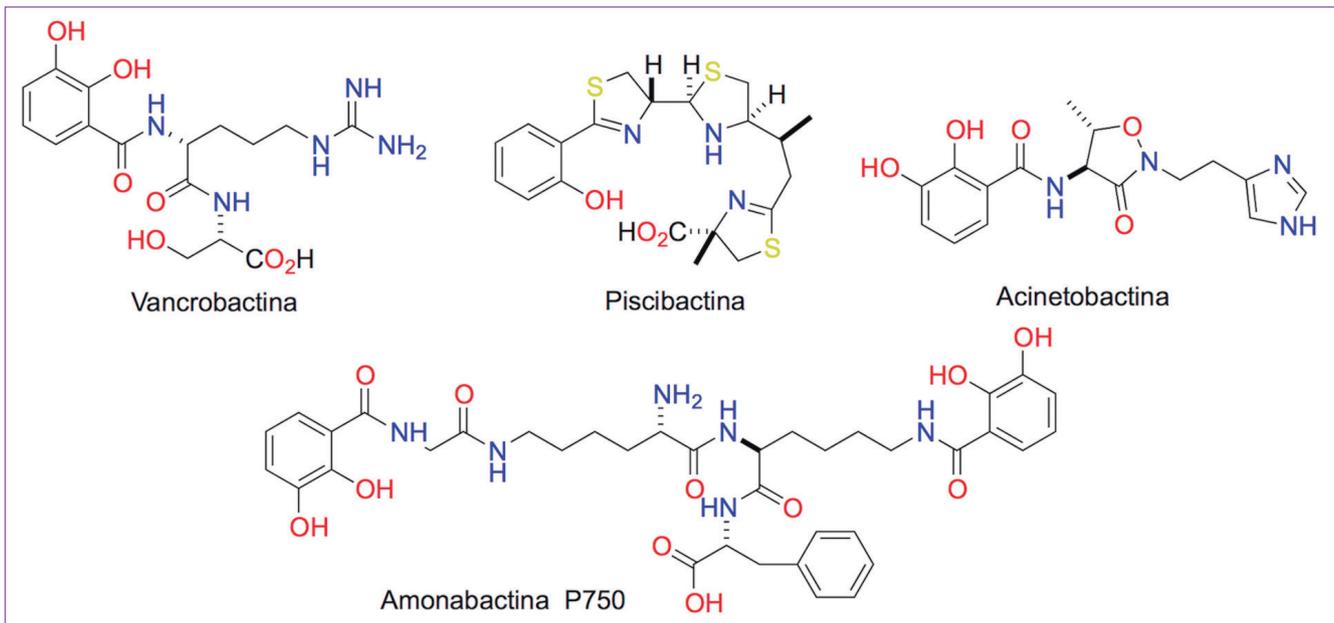


Figura 1.

Estructuras de los sideróforos aislados e identificados por nuestro grupo en *Vibrio anguillarum* (vancrobactina), *Photobacterium damsela subsp piscicida* (piscibactina) y *Aeromonas salmonicida subsp salmonicida* (acinetobactina y amonabactina) (J. Rodríguez).

cepas de los serotipos O1, O2, y O3, producen o no vancrobactina, expresan el receptor FvtA (Balado *et al*, 2009). El aislamiento de este sideróforo a partir de sobrenadantes nos permitió determinar su estructura química y proponer una metodología exitosa de síntesis química en laboratorio (Soengas *et al*, 2006). También se diseñaron análogos estructurales capaces de interactuar con el receptor FvtA que, en un futuro, podrían ser utilizados para el diseño de nuevos agentes terapéuticos (Soengas *et al*, 2008; Balado *et al*, 2009).

Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida es el agente causal de la forunculosis, una enfermedad devastadora que afecta de modo recurrente principalmente a salmón y rodaballo de cultivo causando importantes pérdidas económicas. Aunque se conoce desde hace décadas que los aislados de *A. salmonicida* producen al menos un sideróforo de tipo catecol, es en trabajos realizados por nuestro grupo donde se demostró que *A. salmonicida* produce simultáneamente acinetobactina y 4 formas diferentes de amonabactina (Fig. 1), dos sideróforos previamente descritos en *Acinetobacter baumannii* y *Aeromonas hydrophila*, respectivamente. Hay que destacar que ambos sideróforos son de tipo catecol y que su producción depende de la síntesis del ácido 2,3-dihidroxibenzoico (DHBA), codificada

por los genes *entABCDE*. Una vez sintetizado el DHBA (que es el grupo de unión al hierro) los genes *asbDF* codifican la síntesis de acinetobactina y los genes *amoGH* codifican las amonabactinas. Aunque ambos sistemas de sideróforos están presentes en todas las cepas analizadas, ciertas cepas portan una mutación en el gen *amoG* que inactiva la síntesis de amonabactina. Sorprendentemente todos los aislados estudiados procedentes de rodaballo portan esta mutación inactivante, sin embargo, son capaces de utilizar amonabactina como fuente de hierro pues mantienen intactos los componentes para su transporte. En contraposición, todas las cepas aisladas de salmón producen y utilizan acinetobactina y amonabactina simultáneamente (Balado *et al*, 2015). Si este hecho tiene algún significado biológico en la selección de hospedadores es todavía una incógnita por resolver.

Photobacterium damsela es un miembro de la familia *Vibrionaceae* que está dividido en dos subespecies: *damsela* y *piscicida*. Ambos son patógenos marinos pero causan enfermedades muy diferentes y afectan a hospedadores muy distintos. La subsp *damsela* causa una forma de vibriosis en una amplia variedad de especies marinas, y es incluso un patógeno oportunista para el hombre. Por

el contrario la subsp *piscicida* infecta únicamente a varias especies de peces, pero tiene una gran repercusión al afectar a especies de alto interés comercial como dorada, lubina o lenguado. Nuestro grupo ha descrito y caracterizado el sideróforo piscibactina en *P. damsela subsp. piscicida* (Osorio *et al*, 2006; Souto *et al*, 2012). Dicho sistema está codificado en el plásmido pPHDP70, que es movilizable por conjugación y porta todos los determinantes necesarios para la síntesis y utilización de la piscibactina (Fig. 2) (Osorio *et al*, 2015). Mediante ensayos de mutagénesis hemos demostrado que la síntesis de este sideróforo es un factor de virulencia clave para la subsp *piscicida*. Este plásmido puede ser transmitido y expresado en otras especies como *Vibrio alginolyticus*, lo que demuestra su posible expansión por transferencia horizontal. En la subsp *damsela* hemos podido demostrar la producción del sideróforo vibrioferrina, ya descrito en otros vibrios como *V. parahaemolyticus* o *V. alginolyticus*, pero únicamente es producido por algunas cepas, por lo que el sistema utilizado por el resto de cepas permanece aún desconocido.

En los últimos años se ha evidenciado que un mismo sistema de sideróforos puede estar presente en varias especies bacterianas distintas, y que una misma bacteria puede pro-

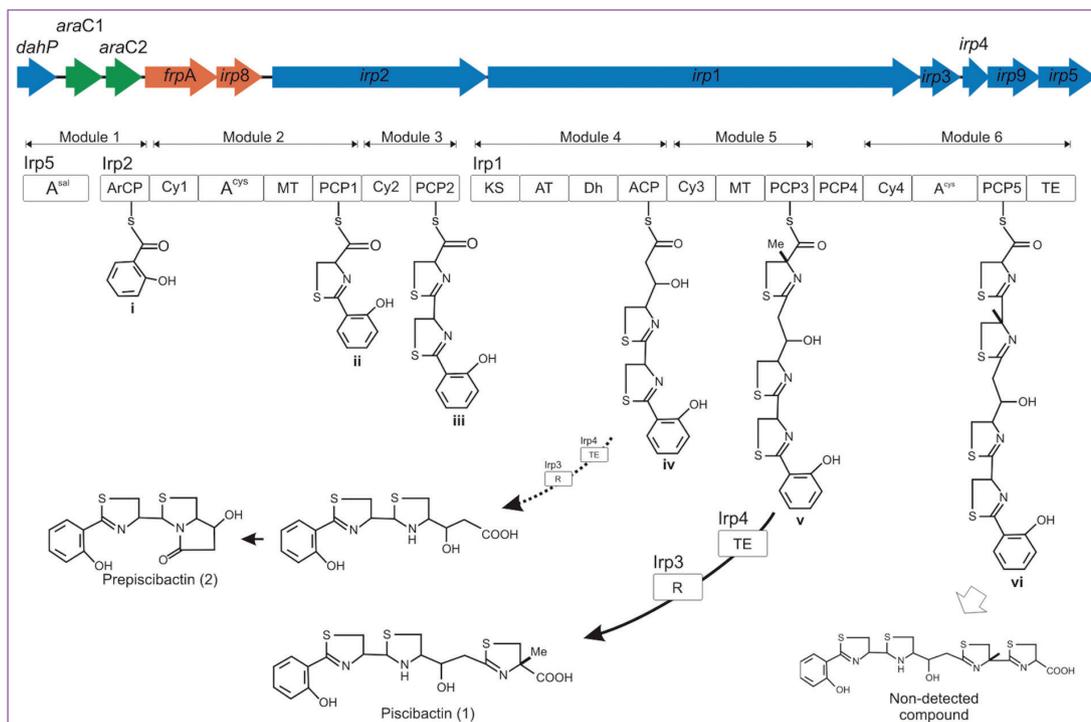


Figura 2.

Mapa genético y ruta bioquímica de síntesis del sideróforo piscibactina mediante enzimas multimodulares de tipo NRPS en *P. damsela* subsp. *piscicida* (Souto *et al*, Eur J Org Chem, 2012).

ducir más de un sideróforo. Así, ciertas cepas virulentas de *V. anguillarum* tienen insertado en el cromosoma II los genes de síntesis de la piscibactina (identificado en *P. damsela* subsp. *piscicida*), así como un homólogo de su receptor FrpA. Por otra parte, se ha detectado la producción de mono- di- y tri-vancrobactina en aislados ambientales de *V. campbellii* (Sandy *et al*, 2010). Además, nosotros hemos demostrado que el gen *fvfA*, que codifica el receptor de vancrobactina, está presente en todas las cepas de *V. anguillarum* (Balado *et al*, 2009). Asimismo, una búsqueda detallada en el *GenBank* de los genes que codifican el sistema de la vancrobactina, demuestra que estos genes o homólogos cercanos, están presentes en otros *Vibrios* como *V. metschnikovii*, *V. harveyi* o *V. ordalii*. Por tanto, el sistema de la vancrobactina está presente en todas las cepas de *V. anguillarum* pero también en otros *vibrios* patógenos. Asimismo, resultados recientes de nuestro grupo demuestran la producción de piscibactina por cepas virulentas de *V. ordalii*, especie responsable de la vibriosis atípica en salmones que, en países Latinoamericanos como Chile, causa grandes pérdidas económicas (Ruiz *et al*, 2016).

Por tanto, parece claro que los sistemas de síntesis de sideróforos están extendidos por todas las bacterias patógenas de peces y que

algunos de ellos son compartidos por especies muy diversas, lo que avala su papel clave en el desarrollo de los procesos infecciosos. En este sentido, uno de los intereses actuales y futuros de nuestro grupo es aprovechar la ubicuidad e importancia de estos sistemas para el desarrollo de nuevos métodos de prevención y control de las enfermedades infecciosas en acuicultura.

BIBLIOGRAFÍA

Balado M, Osorio CR y Lemos ML. (2006). A gene cluster involved in the biosynthesis of vanchrobactin, a chromosome-encoded siderophore produced by *Vibrio anguillarum*. *Microbiology* 152: 3517-28.

Balado M, Osorio CR y Lemos ML. (2008). Biosynthetic and regulatory elements involved in the production of the siderophore vanchrobactin in *Vibrio anguillarum*. *Microbiology* 154: 1400-13.

Balado M, Osorio CR y Lemos ML. (2009). FvfA is the Receptor for the Siderophore Vanchrobactin in *Vibrio anguillarum*: Utility as a Route of Entry for Vanchrobactin Analogues. *Appl Environ Microbiol* 75: 2775-83.

Balado M, Souto A, Vences A, Careaga VP, Valderrama K, Segade Y, Rodríguez J, Osorio CR, Jiménez C y Lemos ML. (2015). Two catechol siderophores, acinetobactin and amonabactin, are simultaneously produced by *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* sharing part of the biosynthetic pathway. *ACS Chem Biol* 10: 2850-60.

Lemos ML, Balado M y Osorio CR. (2010). Anguibactin- versus vanchrobactin-mediated iron uptake in *Vibrio anguillarum*: evolution and ecology of a fish pathogen. *Environ Microbiol Rep* 2: 19-26.

Osorio CR, Juiz-Rio S y Lemos ML. (2006). A siderophore biosynthesis gene cluster from the fish pathogen *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* is structurally and functionally related to the *Yersinia* high-pathogenicity island. *Microbiology* 152: 3327-41.

Osorio CR, Rivas AJ, Balado M, Fuentes-Monteverde JC, Rodríguez J, Jiménez C, Lemos ML y Waldor MK. (2015). A transmissible plasmid-borne pathogenicity island confers piscibactin biosynthesis in the fish pathogen *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. *Appl Environ Microbiol* 81: 5867-79.

Ruiz P, Balado M, Toranzo AE, Poblete-Morales M, Lemos ML y Avendaño-Herrera R. (2016). Iron assimilation and siderophore production by *Vibrio ordalii* strains isolated from diseased Atlantic salmon *Salmo salar* in Chile. *Dis Aquat Org* 118: 217-26.

Sandy M, Han A, Blunt J, Munro M, Haygood M y Butler A. (2010). Vanchrobactin and anguibactin siderophores produced by *Vibrio* sp. DS40M4. *J Nat Prod.* 73:1038-43.

Soengas RG, Anta C, Espada A, Paz V, Ares IR, Balado M, Rodríguez J, Lemos ML y Jiménez C. (2006). Structural characterization of vanchrobactin, a new catechol siderophore produced by the fish pathogen *Vibrio anguillarum* serotype O2. *Tetrahedron Lett* 47: 7113-6.

Soengas RG, Larrosa M, Balado M, Rodríguez J, Lemos ML y Jiménez C. (2008). Synthesis and biological activity of analogs of vanchrobactin, a siderophore from the fish pathogen *Vibrio anguillarum*. *Org Biomol Chem* 6: 1278-87.

Souto A, Montaos MA, Rivas AJ, Balado M, Osorio CR, Rodríguez J, Lemos ML y Jiménez C. (2012). Structure and Biosynthetic Assembly of Piscibactin, a Siderophore from *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, Predicted from Genome Analysis. *Eur J Org Chem* 2012: 5693-700.

Taxonomía de bacterias del medio acuático: diversidad, recursos genéticos y aspectos aplicados

María A. Ruvira², Teresa Lucena², David R. Arahall^{1,2}, Rosa Aznar^{1,2}, María J. Pujalte^{1,2}, M. Carmen Macián²



¹Departament de Microbiologia i Ecologia y ²Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), Universitat de València. <http://www.uv.es/cect>



Foto de grupo.

De izquierda a derecha: Amparo Ruvira, David R. Arahall, María Jesús Pujalte, Teresa Lucena, MariCarmen Macián.

UN POCO DE HISTORIA

En la década de los 80, el grupo de investigación fundado por Esperanza Garay y dedicado al estudio de la microbiota bacteriana de las aguas del lago de la Albufera de Valencia expandió su área de estudio a las aguas marinas costeras colindantes, iniciándose así una línea de trabajo ampliada al medio marino dentro de la cual realizaron sus tesis doctorales María J. Pujalte (1985) y Rosa Aznar (1991), hoy investigadoras senior y catedráticas del equipo. M. Carmen Macián, *curator* de procariontes en la CECT, se formó como doctora en el seno de este grupo (2001), lo mismo que Teresa Lucena y María A. Ruvira algunos años más tarde (2012 y 2013, respectivamente). Por su parte David R. Arahall, se incorporó a la Universidad de Valencia en 2004 con un contrato Ramón y Cajal, y por su historial en taxonomía de halófilos (doctor por la U. de Sevilla en 1998), no tuvo problemas

en sumar casi toda su dedicación investigadora a esta línea.

EVOLUCIÓN RECIENTE

El grupo ha desarrollado su actividad centrado sobre todo en aspectos taxonómicos de la microbiota marina cultivable, con especial dedicación al trabajo en sistemática, pero con conexiones con el diagnóstico de patógenos bacterianos en organismos marinos (bivalvos, peces cultivados) y estudios sobre la incidencia y distribución anual de bacterias autóctonas marinas en diferentes tipos de muestras. En los últimos diez años el enfoque taxonómico se ha acentuado notablemente gracias a la financiación recibida a nivel nacional con los proyectos 'TAXPROMAR - Taxonomía, filogenia y conservación de bacterias marinas' (CGL2005-02292/BOS) y 'TAXPROMAR2010' (CGL2010-18134/BOS) y, a nivel autonómico,

con el proyecto 'Exploración de la diversidad microbiana y de su potencial biotecnológico' (PROMETEO/2012/040) dentro de las ayudas de la Generalitat Valenciana para Grupos de Investigación de Excelencia.

Desde el punto de vista metodológico, nuestro grupo ha hecho un esfuerzo por incorporar las técnicas más resolutivas y de mayor aplicabilidad al trabajo de rutina. Entre las primeras podemos nombrar el análisis de secuencias génicas multilócicas (MLSA) y, más recientemente, el cálculo de índices genómicos como criterios para la definición de especies bacterianas y para establecer relaciones evolutivas. Entre las segundas se encuentran la obtención de perfiles de ácidos grasos de membrana metil esterificados (FAME) y de perfiles proteicos totales por MALDI-TOF MS.

El cálculo de índices genómicos tales como el Average Nucleotide Identity (ANI) o la Hibri-

dación DNA-DNA estimada *in silico* (eDDH), implica trabajar con secuencias genómicas (completas o borrador), lo que a su vez posibilita nuevas vías de estudio y caracterización de microorganismos mediante el análisis genómico y la genómica comparada. Así, el análisis de las secuencias genómicas permite hacer la anotación de genes y clústeres, detección de islas genómicas, secuencias regulatorias, y otros rasgos descriptivos. Pero además, se pueden hacer estudios de inferencia fenotípica para establecer correspondencias entre las secuencias genómicas observadas y los caracteres fenotípicos de la cepa. Así mismo, permiten desvelar la presencia de genes y rutas metabólicas, que no siendo esperadas pueden ser valiosas para la descripción del microorganismo y, más aún, para su potencial aplicación biotecnológica.

PRESENTE Y FUTURO

Actualmente, el grupo participa en el proyecto Retos Colaboración 'Drinking Water Library' (RTC-2015-4496-2) junto con Aigües de Barcelona y la Fundación Bosch i Gimpera - Universitat de Barcelona. La investigadora principal por la Universitat de València es la Dra. Rosa Aznar, directora de la Colección Española de Cultivos Tipo. El objetivo del proyecto es el desarrollo de una biblioteca de perfiles MALDI-TOF MS para la identificación de microorganismos aislados de aguas de consumo (redes de distribución y embotelladas). El papel del grupo en el proyecto viene avalado por la experiencia de haber participado en el proyecto europeo 'European Consortium of Microbial Resource Centres -EMbaRC' (FP7- 228310), en el que se generaron más de 1000 perfiles MALDI-TOF MS consensuados y representantes de diversas especies bacterianas, así como por la experiencia de los miembros del grupo en la taxonomía de bacterias de origen acuático. La colaboración del grupo contribuirá al desarrollo de una base de datos específica de microbiota de aguas de consumo, amplia y validada que facilitará la implementación de la espectrometría de masas MALDI-TOF como técnica de rutina en el análisis microbiológico del agua. Junto a proyectos como éste con metas aplicadas, mantenemos el interés de

seguir haciendo ciencia básica, explorando y describiendo la diversidad microbiana en un ambiente tan importante como es el medio acuático.

AGRADECIMIENTOS

A los investigadores que se formaron con nosotros y tiraron del carro con todo su empeño. A los colaboradores externos que han compartido su trabajo y experiencia con nosotros.

PUBLICACIONES DE LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS RELACIONADAS CON LA MICROBIOLOGÍA DEL MEDIO ACUÁTICO

- Arahal DR, Pujalte MJ y Rodrigo-Torres L.** (2016). Draft genomic sequence of *Nereida ignava* CECT 5292^T, a marine bacterium of the family *Rhodobacteraceae*. *Stand Genomic Sci* 11: 21.
- Arahal DR, Rodrigo-Torres L, Lucena T y Pujalte MJ.** (2015). Draft genome sequences of *Vibrio renipiscarius* strains CECT 8603^T and CECT 8604, two marine gammaproteobacteria isolated from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Genome Announc* 3(2).
- Arahal DR, Shao Z, Lai Q y Pujalte MJ.** (2014). Draft genome sequence of *Actibacterium mucosum* KCTC 23349, a marine alphaproteobacterium with complex ionic requirements isolated from Mediterranean seawater at Malvarrosa Beach, Valencia, Spain. *Genome Announc* 2(3).
- Cuesta G, Soler A, Alonso JL, Ruvira MA, Lucena T, Arahal DR y Goodfellow M.** (2013). *Pseudonocardia hispaniensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from industrial wastewater activated sludge. *Antonie Van Leeuwenhoek* 103: 135-42.
- de la Haba RR, Arahal DR, Sánchez-Porro C y Ventosa A.** (2014). The family *Halomonadaceae*. In: Rosenberg E, DeLong EF, Stackebrandt E, Lory S, Thompson F (ed), *The Prokaryotes—Gammaproteobacteria*, 4th ed, vol 9, pp. 325-60. Springer Verlag, Berlin, Germany.
- Lucena T, Ruvira MA, Pascual J, Garay E, Macián MC, Arahal DR y Pujalte MJ.** (2011) *Photobacterium aphoticum* sp. nov., isolated from coastal water. *Int J Syst Evol Microbiol* 61: 1579-84.
- Lucena T, Pujalte MJ, Ruvira MA, Garay E, Macián MC y Arahal DR.** (2012). *Tropicibacter multivorans* sp. nov., an aerobic alphaproteobacterium isolated from surface seawater. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 844-8.
- Lucena T, Ruvira MA, Arahal DR, Macián MC y Pujalte MJ.** (2012). *Vibrio aestivus* sp. nov. and *Vibrio quintilis* sp. nov., related to Marisflavi and Gazogenes clades, respectively. *Syst Appl Microbiol* 35: 427-31.
- Lucena T, Ruvira MA, Garay E, Macián MC, Arahal DR y Pujalte MJ.** (2012). *Actibacterium mucosum* gen. nov., sp. nov., a marine alphaproteobacterium from Mediterranean seawater. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 2858-64.
- Lucena T, Ruvira MA, Macián MC, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2013). Description of *Tropicibacter mediterraneus* sp. nov. and *Tropicibacter litoreus* sp. nov. *Syst Appl Microbiol* 36: 325-9.
- Lucena T, Ruvira MA, Macián MC, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2014). *Roseovarius albus* sp. nov., a new Alphaproteobacterium isolated from the Mediterranean Sea. *Antonie Van Leeuwenhoek* 105: 671-8.
- Pascual J, Lucena T, Ruvira MA, Giordano A, Gambacorta A, Garay E, Arahal DR, Pujalte MJ y Macián MC.** (2012). *Pseudomonas litoralis* sp. nov., isolated from Mediterranean seawater. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 438-44.
- Pérez-Cataluña A, Lucena T, Tarazona E, Arahal DR, Macián MC y Pujalte MJ.** (2016). Taxonomic update of the Splendidus clade, a lineage containing several fish and shellfish pathogenic *Vibrio* spp., through MLSA. *Syst Appl Microbiol*. *Aceptado*.
- Pujalte MJ, Lucena T, Ruvira MA, Arahal DR y Macián MC.** (2014). The family *Rhodobacteraceae*. In Rosenberg E, DeLong EF, Stackebrandt E, Lory S, Thompson F (ed), *The Prokaryotes—Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*, 4th ed, vol 8, pp. 439-512. Springer Verlag, Berlin, Germany.
- Rodrigo-Torres L, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2016). Draft genome of *Leisingera aquaeremixtae* CECT 8399^T, a member of the Roseobacter clade isolated from a junction of fresh and ocean water in Jeju Island, South Korea. *Genom Data* 7: 233-6.
- Rodrigo-Torres L, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2016). Draft genome sequence of *Thalassobius mediterraneus* CECT 5383^T, a poly-beta-hydroxybutyrate producer. *Genom Data* 7: 237-9.
- Rodrigo-Torres L, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2016). Draft genome sequence of *Shimia marina* CECT 7688^T. *Mar Genomics*, en prensa.
- Rodrigo-Torres L, Pujalte MJ y Arahal DR.** (2016). Draft genomes of *Nautella italica* strains CECT 7645^T and CECT 7321: Two roseobacters with potential pathogenic and biotechnological traits. *Mar Genomics* 26: 73-80.
- Ruvira MA, Lucena T, Pujalte MJ, Arahal DR y Macián MC.** (2013). *Marinifilum flexuosum* sp. nov., a new Bacteroidetes isolated from coastal Mediterranean Sea water and emended description of the genus *Marinifilum* Na et al., 2009. *Syst Appl Microbiol* 36: 155-9.
- Tarazona E, Lucena T, Arahal DR, Macián MC, Ruvira MA y Pujalte MJ.** (2014). Multilocus sequence analysis of putative *Vibrio mediterranei* strains and description of *Vibrio thalassae* sp. nov. *Syst Appl Microbiol* 37: 320-8.
- Tarazona E, Pérez-Cataluña A, Lucena T, Arahal DR, Macián MC y Pujalte MJ.** (2015). Multilocus Sequence Analysis of the redefined clade Scophthalmi in the genus *Vibrio*. *Syst Appl Microbiol* 38: 169-75.
- Tarazona E, Ruvira MA, Lucena T, Macián MC, Arahal DR y Pujalte MJ.** (2015). *Vibrio renipiscarius* sp. nov., isolated from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Int J Syst Evol Microbiol* 65:1941-5.

Diagnóstico, Prevención y Control de enfermedades bacterianas en Acuicultura

Ysabel Santos, Angeles Muñoz Crego y Rafael Seoane Prado

ysabel.santos@usc.es/mysabel.santos@gmail.com
Angeles Muñoz Crego: a.munoz.crego@usc.es
Rafael Seoane Prado: rafael.seoane@usc.es

Dpto. Microbiología y Parasitología, Facultad de Biología-Edificio CIBUS, Campus Vida, Universidade de Santiago de Compostela

Foto de grupo.

Algunos de los miembros del Grupo de Investigación (de Izquierda a Derecha): Silvia Piñeiro (alumna en prácticas), Yolanda Torres Corral, Raquel Lama López y Clara Fernández Álvarez (alumnos Pre-doctorales), Andrea Raipal Atán (Alumno de FP en prácticas), Angeles Muñoz Crego, Rafael Seoane Prado e Ysabel Santos (Profesores Universidad de Santiago). Nancy Saltos Rosero (Investigadora Predoctoral SENESCYT, República de Ecuador) y Alba (Alumna de Biología en prácticas).



El grupo de Investigación Diagnóstico, Prevención y control de enfermedades bacterianas en Acuicultura forma parte del Grupo de Investigación Consolidado de la Universidad de Santiago denominado Diagnóstico, tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas (Gl.1218-DITAPREIN) coordinado por el Profesor Rafael Seoane Prado. El grupo se formó en el año 2004 y está constituido por 6 profesores del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad de Santiago de Compostela, 4 investigadores en formación y 3 colaboradores externos pertenecientes a centros públicos y privados, Los miembros del grupo que realizan actividades de investigación relacionadas con el medio acuático son Angeles Muñoz Crego, Rafael Seoane Prado e Ysabel Santos (Profesores de Universidad), Raquel Lama

López, Clara Fernández Álvarez, Yolanda Torres Corral (alumnos predoctorales) y Nancy Saltos Rosero (Investigadora Predoctoral SENESCYT, República de Ecuador), además de un número variable de técnicos de Formación Profesional en prácticas y alumnos de las Facultades de Biología y Farmacia que realizan en nuestro laboratorio prácticas externas y trabajos de iniciación a la investigación.

Desde su creación el grupo ha centrado su actividad el estudio de las patologías de etiología bacteriana que afectan a las especies de peces en cultivo y en la búsqueda de métodos para su prevención y control. Desde el año 2002 hemos ampliado el marco de nuestra investigación al estudio de los mecanismos implicados en la respuesta inmune de los

peces frente a la infección o frente a inmunógenos. Actualmente nuestra investigación se centra en tres líneas básicas: i) Desarrollo, optimización y validación de medios de cultivo y técnicas para el diagnóstico de enfermedades bacterianas, ii) Caracterización de patógenos bacterianos causantes de epizootias y estudio de la interacción hospedador-patógeno y iii) Búsqueda de nuevos métodos de prevención y control de enfermedades bacterianas de peces en acuicultura y estudio de la respuesta inmune.

La primera, es una de las líneas en las que el grupo lleva trabajando más tiempo y con resultados satisfactorios tanto en el diseño de medios de cultivo, técnicas serológicas y moleculares aplicables a la de detección y tipificación de bacterias patógenas. Entre los

resultados de interés dentro de esta línea cabe señalar:

- Diseño y validación de medios bacteriológicos que facilitan el aislamiento y el cultivo de bacterias exigentes como *Flavobacterium psychrophilum* y *Tenacibaculum* spp.
- Diseño y validación de métodos serológicos para la identificación y detección de bacterias patógenas de peces pertenecientes a las especies *Listonella anguillarum*, *F. psychrophilum* y *Tenacibaculum maritimum*.
- Diseño y validación de métodos de diagnóstico molecular basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y en el uso de microarrays para la identificación de los principales agentes causantes de mortalidad en acuicultura marina y continental. En el caso de *T. maritimum* y *T. soleae*, los métodos de PCR diseñados por nuestro grupo fueron los primeros descritos para la detección de dichos patógenos en los tejidos de peces enfermos, mejorando el diagnóstico de la tenacibaculosis.

Con respecto a la segunda línea de investigación, los estudios de caracterización de bacterias filamentosas aisladas de peces afectados por síndromes ulcerativos nos han permitido:

- La descripción de cuatro nuevas especies dentro del género *Tenacibaculum* (*Tenacibaculum discolor*, *T. soleae*, *T. gallaicum* y *T. dicentrarchi*) y demostrar que dos de estas especies, *T. soleae* y *T. discolor* suponen un riesgo potencial para los cultivos de lenguado, lubina, rodaballo y lenguado en cultivo.
- Establecer la existencia de siete serotipos con una estrecha relación con el hospedador en la especie *F. psychrophilum*, siendo los serotipos O2a, O2b y O3 los principales responsables de las mortalidades en trucha arcoíris a nivel mundial. También se ha demostrado la existencia de heterogeneidad serológica en las especies *T. soleae*, *T. discolor* y *T. gallaicum*.

En relación a los estudios de la interacción hospedador-patógeno, la investigación realizada en colaboración con el grupo de Anato-

mía Patológica de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Santiago dirigido por la Profesora María Isabel Quiroga Berdeal, nos han permitido:

- Corroborar que la piel constituye una puerta de entrada para *T. maritimum* y que las escamas, podrían actuar como una fuente de nutrientes para *T. maritimum*. Asimismo, se ha demostrado que en la periferia de las lesiones, además de la pérdida de la epidermis se produce agregación de los melanóforos en la capa pigmentaria de la dermis, causando una despigmentación local que podría explicar el aspecto blanquecino de los bordes de las lesiones, descrito como signo característico en peces afectados de tenacibaculosis.
- Otro hallazgo relevante es la detección de *T. maritimum* en el lumen gastrointestinal intacto de peces que habían sufrido infecciones naturales por *T. maritimum*, lo cual sugiere que el tracto digestivo podría actuar como un reservorio del patógeno.
- Se ha establecido un modelo de infección experimental que ha facilitado el estudio de la patogenia de la tenacibaculosis y el análisis de la respuesta inmune de los peces a la infección.

La investigación centrada en la búsqueda de nuevos métodos de prevención y control de enfermedades bacterianas de peces nos ha permitido:

- Desarrollar vacunas y estrategias de inmunización eficaces adaptadas a las diferentes especies de peces y sistemas de cultivo que han contribuido a reducir los problemas asociados a las patologías bacterianas en acuicultura. Entre estos diseños cabe destacar la vacuna frente a la tenacibaculosis causada por *T. maritimum* que es la única comercializada en la actualidad. Actualmente, trabajamos en el diseño de vacunas y métodos de inmunización eficaces para la prevención de las enfermedades causadas por *F. psychrophilum*.
- Demostrar la eficacia de nuevos fármacos derivados de cumarinas para el control de las principales enfermedades que afectan a los cultivos de peces marinos y continentales. Este trabajo ha sido

posible gracias a la colaboración con el grupo de los profesores Eugenio Uriarte y Lourdes Santana del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago. Los resultados obtenidos nos han permitido seleccionar diferentes compuestos que muestran una actividad frente a *T. maritimum* superior (10 a 11 veces) a la observada con algunos fármacos de uso común en acuicultura como la enrofloxacin.

- Estudio de la actividad antimicrobiana de compuestos fitobióticos frente a *F. psychrophilum*. Este estudio, realizado en el marco de un proyecto CDTI, nos ha permitido demostrar mediante ensayos «in vitro» la elevada capacidad antimicrobiana de compuestos de origen natural frente a este microorganismo. Además, los estudios de infección experimental así como los ensayos de campo han demostrado que la alimentación de los peces con dietas suplementadas con fitobióticos incrementa su capacidad de supervivencia en procesos infecciosos causados por *F. psychrophilum*.

Por último, el trabajo realizado a lo largo de todos estos años se ha consolidado en el establecimiento de una oferta de servicios encaminados a la evaluación y solución de los problemas encontrados en las empresas y organizaciones públicas y privadas.

PUBLICACIONES RELEVANTES DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN LOS ÚLTIMOS AÑOS

Coscelli GA, Bermudez R, Losada AP, Santos Y y Quiroga MI. (2015). Vaccination against *Aeromonas salmonicida* in turbot (*Scophthalmus maximus* L.): Study of the efficacy, morphological changes and antigen distribution. *Aquaculture* 445: 22-32.

Failde LD, Bermúdez R, Losada AP, Ríaza A, Santos Y y Quiroga MI. (2014). Immunohistochemical diagnosis of tenacibaculosis in paraffin embedded tissues of Senegalese sole, *Solea senegalensis* Kaup 1858. *J Fish Dis* 37: 959-968.

Failde LD, Losada AP, Bermúdez R, Santos Y y Quiroga MI. (2014). Evaluation of immune response in turbot (*Psetta maxima* L.) tenacibaculosis: Haematological and immunohistochemical studies. *Microb Pathog* 76: 1-9.

Fernández-Álvarez C, Torres-Corral Y, Coscelli G, Sánchez Arévalo AR, Martínez A, Quiroga MI y Santos Y. (2015). *Nutraceuticals for control of bacterial cold water diseases*. *International Aquafeed* 18: 15-16.

García-González P, García-Lamas N, Fuentes Edfuf C y Santos Y. (2011). Development of a PCR method for the specific identification of the marine fish pathogen *Tenacibaculum soleae*. *Aquaculture* 319: c1-4.

Matos MJ, Vázquez-Rodríguez S, Santana L, Uriarte E, Fuentes-Edfuf C, Santos Y y Muñoz-Crego A. (2013). Synthesis and structure-activity relationships of novel amino/nitro substituted 3-arylcoumarins as antibacterial agents. *Molecules* 18: 1394-1404.

Muñoz Atienza E., Araújo C, Magadán S, Hernández PE, Herranz C, Santos Y y Cintas LM. (2014). *In vitro* and *in vivo* evaluation of lactic acid bacteria of aquatic origin as probiotics for turbot (*Scophthalmus maximus* L.) farming. *Fish Shellfish Immunol* 41: 570-580.

Piñero-Vidal M, Rianza A y Santos Y. (2008). *Tenacibaculum discolor* sp. nov. and *Tenacibaculum gallai-*

cum sp. nov., isolated from sole (*Solea senegalensis*) and turbot (*Psetta maxima*) culture systems. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 21-25.

Piñero-Vidal M, Carballas CG, Gómez-Barreiro O, Rianza A y Santos Y. (2008). *Tenacibaculum soleae* sp. nov. isolated from diseased sole (*Solea senegalensis*, Kaup). *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 881-88521-25.

Piñero-Vidal M, Gijón D, Zarza C y Santos Y. (2012). *Tenacibaculum dicentrarchi* sp. nov. a novel marine bacteria of the family *Flavobacteriaceae* isolated from European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 425-429.

Santos Y, García-Márquez S, Pereira PG, Pazos F, Rianza A, Silva R, El Morabit A y Ubeira FM. (2005). Efficacy of furunculosis vaccines in turbot, *scophthal-*

mus maximus (L.): evaluation of immersion, oral and injection delivery. *J Fish Dis* 28: 165-172.

Vilar P, Failde LD, Bermúdez R, Vigliano F, Rianza A, Silva R, Santos Y y Quiroga MI. (2012). Morphopathological features of a severe ulcerative disease outbreak associated with *Tenacibaculum maritimum* in cultivated sole, *Solea senegalensis* (L.) *J Fish Dis* 35: 437-445.

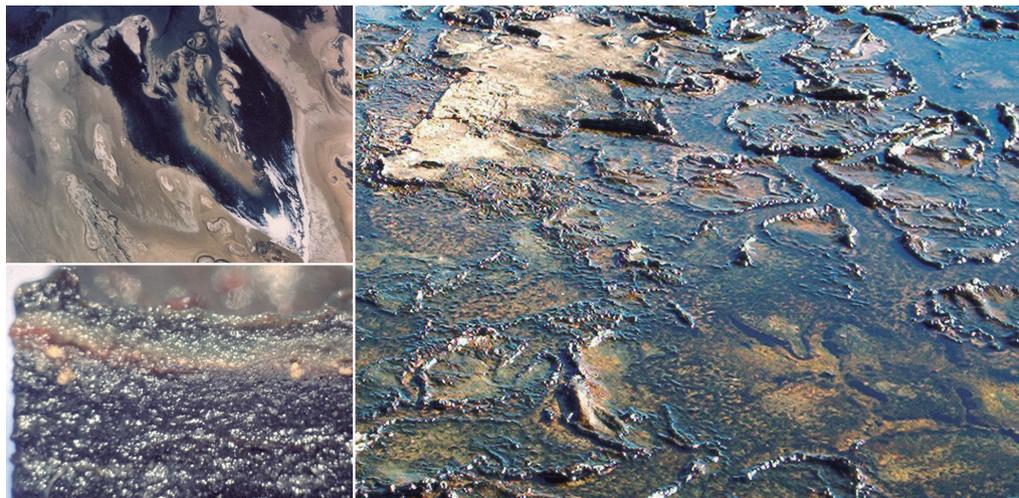
Vázquez-Rodríguez S, Lama-López R, Matas MJ, Armesto-Quintas G, Serra S, Uriarte E, Santana L, Borges F, Muñoz A y Santos Y. (2015). Design, synthesis and antibacterial study of new potent and selective coumarin-chalcone derivatives for the treatment of tenacibaculosis. *Bioorgan Med Chem* 23: 7045-7052.

Ecogenética y Diversidad Microbianas

Jordi Urmeneta, Mercè Berlanga y Ricardo Guerrero



Departamento de Genética, Microbiología i Estadística de la Facultat de Biologia y Departamento de Biología, Sanidad y Medio Ambiente de la Facultat de Farmacia y Ciències de la Alimentació de la Universitat de Barcelona



Tapetes microbianos del Delta del Ebro. Foto aérea, vista general y macrofotografía de una sección.

El grupo de Ecogenética i Diversidad Microbianas (ECODIVEM) de la Universidad de Barcelona cuenta con una dilatada y amplia experiencia en el campo de la ecología microbiana tanto en comunidades plan-

tónicas lacustres como en comunidades bentónicas costeras. El grupo fue creado por el Prof. Ricardo Guerrero al conseguir en 1988 una cátedra en el Departamento de Microbiología de la Facultat de Biologia

de la Universidad de Barcelona, dejando el cargo de Director del Departamento de Genética y Microbiología de la Universidad Autónoma de Barcelona, que ocupaba en ese momento. En sus inicios el grupo esta-

ba centrado en el estudio de las dinámicas poblacionales de las bacterias fototróficas de los lagos del sistema cárstico de Banyoles y en la dinámica de acumulación de biopolímeros de reserva, como los poli- β -hidroxialcanoatos, en los microorganismos y sus aplicaciones biotecnológicas. El grupo fue también pionero, junto con el grupo de Ecología Microbiana de la UAB, en iniciar los estudios de los tapetes microbianos del Delta del Ebro. Estos estudios se han continuado de forma ininterrumpida hasta el momento actual, siendo la línea principal de trabajo del grupo. A continuación se detallan las principales líneas de investigación llevadas a cabo por el grupo.

BIODIVERSIDAD ORGANÍSMICA Y MOLECULAR DE LOS TAPETES MICROBIANOS

Los tapetes microbianos son comunidades procarióticas que representan los análogos actuales de los primeros ecosistemas que se dieron sobre la Tierra. El estudio de estos ecosistemas revela las estrategias microbianas para la supervivencia bajo una amplia gama de ambientes. Estos ecosistemas son sistemas complejos formados por poblaciones de microorganismos fotoautótrofos, fotoheterótrofos, quimioautótrofos y quimioheterótrofos. Las distintas poblaciones se distribuyen a lo largo del perfil vertical según las características fisicoquímicas presentes. Las poblaciones de cianobacterias, bacterias fototróficas y sulfatorreductoras constituyen la biomasa principal de estas comunidades, pero estudios recientes demuestran la presencia de una gran diversidad de otros microorganismos que desempeñan un papel básico en el reciclaje de los nutrientes en estos ecosistemas.

En primer lugar se localizaron todos los tapetes microbianos que había en la Punta de la Banya del Delta del Ebro, realizando un mapeado y estudiando los diferentes grados de desarrollo que mostraban en los diferentes puntos. Se realizaron observaciones microscópicas y análisis de biomasa y pigmentos a lo largo de ciclos circadianos. Trabajos realizados en colaboración con la Prof. Lynn Margulis, de la Universidad de Massachusetts (Amherst), dieron como resultado la observación y caracterización de la espiroqueta libre

de mayor tamaño descrita hasta el momento, *Spyrosymplokos deltaeiberi*.

Para obtener una buena aproximación a la biodiversidad y al estado fisiológico de la comunidad de los tapetes microbianos es preciso utilizar diferentes enfoques metodológicos. En el grupo se han realizado estudios combinados de biomarcadores lipídicos y de las secuencias del RNA ribosómico 16S en muestras de los tapetes microbianos del Delta del Ebro y del delta del Ródano, en la Camarga. La extracción, identificación y cuantificación de los ácidos grasos de los fosfolípidos (PLFA) ha proporcionado información sobre la biomasa microbiana viable y sobre el estado metabólico y fisiológico de la comunidad. A pesar de la gran cantidad de información aportada por los análisis lipídicos, han sido necesarios métodos basados en los ácidos nucleicos para realizar un estudio taxonómico más exacto. La combinación del análisis lipídico con una técnica basada en la amplificación por PCR del 16S rDNA, seguida de un análisis DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis), permitió enumerar e identificar los componentes microbianos de la comunidad y establecer su estado fisiológico.

ACUMULACIÓN Y BIODEGRADACIÓN DE POLI- β -HIDROXIALCANOATOS POR BACTERIAS. IMPORTANCIA A NIVEL ECOLÓGICO Y BIOTECNOLÓGICO

La mayor parte de las inclusiones de reserva en organismos procarióticos son de poli- β -hidroxialcanoatos (PHA). Los PHA son polímeros formados por subunidades de β -hidroxicarboxiácidos unidos por enlaces éster. Según el número de carbonos que posee cada subunidad tenemos diferentes tipos de PHA, entre los que destaca el poli- β -hidroxibutirato (PHB), con subunidades de 4 carbonos. Estos biopolímeros se acumulan bajo condiciones de estrés metabólico o bajo condiciones de crecimiento no equilibrado (alta disponibilidad de carbono y escasez de otros nutrientes, como el nitrógeno y el fósforo). Así, tal y como se ha establecido en diferentes estudios, la acumulación de estos biopolímeros se puede relacionar con el estado fisiológico del microorganismo.

Se han realizado estudios de la acumulación de estos biopolímeros en bacterias y de

biodegradación en sedimentos anaeróbicos. También se ha utilizado la cuantificación de los PHA como indicadores del estado fisiológico y nutricional de las comunidades de los tapetes microbianos a lo largo de un ciclo circadiano.

En el momento actual, las nuevas instalaciones de tratamiento de aguas residuales deben incluir la generación de nuevos productos de valor añadido, con el fin de reducir su impacto ambiental. Por ello, el grupo también ha participado en un proyecto para analizar el potencial de producción de biopolímeros (como los PHA) dentro del mismo reactor biológico utilizado para el tratamiento de aguas residuales. De esta forma, controlando ciertas variables del proceso, es posible obtener, junto al tratamiento del agua residual, una cantidad importante de productos de elevado interés biotecnológico.

ESTUDIOS DE PROCESOS DE REDUCCIÓN DE NITRATO POR MICROORGANISMOS QUIMIOAUTÓTROFOS QUE PUDIERAN SER APLICADOS A LA DESCONTAMINACIÓN DE ACUÍFEROS

La contaminación de los acuíferos por nitratos supone, cada vez más, un serio problema a nivel medioambiental. La desnitrificación es el proceso más importante para la atenuación de esta contaminación. La reducción del nitrato se puede producir por la oxidación de la materia orgánica y/o de distintos compuestos reducidos de azufre. No hay pruebas de que el nitrato pueda actuar como oxidante de la pirita en condiciones abióticas. En cambio, algunos estudios de campo aportan pruebas indirectas de la oxidación de la pirita, un reservorio muy importante de azufre reducido en muchas zonas. Esa oxidación se produciría mediante la respiración anaeróbica del nitrato por parte de bacterias desnitrificantes quimioautótrofas.

Experimentos realizados en microcosmos de laboratorio han demostrado la capacidad de *Thiobacillus denitrificans* de reducir el nitrato creciendo autotóricamente utilizando la pirita como única fuente de electrones. También se ha podido observar que la reducción de nitrato es mayor en los experimentos con pirita de tamaño de partícula menor (es decir, con mayor superficie reactiva).

Se han utilizado técnicas químicas, isotópicas y microbiológicas para estudiar, en experimentos de laboratorio, la capacidad de la pirita de estimular la actividad desnitrificante de la microbiota autóctona en aguas y sedimentos provenientes de un acuífero contaminado por nitrato. Además de los experimentos de bioestimulación, también se han llevado a cabo experimentos de bioaumento mediante la inoculación de una bacteria desnitrificante autotrófica conocida, *Thiobacillus denitrificans*.

En acuíferos, la mayor proporción de la biomasa microbiana está adherida a los sólidos y sólo una pequeña parte vive de forma planctónica. Los estudios realizados nos indican la capacidad de adhesión de la bacteria desnitrificante autotrófica *T. denitrificans* a la superficie de la pirita y que la población de bacterias desnitrificantes planctónicas sobrevive a expensas del material solubilizado por parte de la población adherida. La gran cantidad de bacterias planctónicas viables favorece su dispersión y la colonización de nuevos nichos.

SIMBIOSIS Y COMUNIDADES MICROBIANAS. ANÁLISIS DE ECOSISTEMAS MÍNIMOS

El rápido avance en el estudio del microbioma, especialmente en los últimos 15 años, ha revelado la contribución crucial de las comunidades microbianas a muchas funciones fisiológicas de animales, entre otras la digestión, la inmunidad y la reproducción. La coexistencia permanente de los diversos biontes forma el holobionte (según definió Joshua Lederberg), que es el conjunto del hospedador y su microbiona. Hemos analizado las relaciones a nivel de ecosistema tanto de ecosistemas mínimos, como los tapetes

microbianos o el intestino de insectos xilófagos, para intentar comprender la constancia, o equivalencia funcional, de las poblaciones procarionóticas a través de generaciones y a lo largo de la historia evolutiva de cada especie. Las interacciones simbióticas, tanto a nivel orgánico, como funcional o de sistemas, han desempeñado un papel esencial en la constancia, resiliencia y capacidad de adaptación a nuevos nichos ecológicos no explotados que muestran deficiencias nutricionales o factores ambientales no favorables o deletéreos. Nuestros últimos trabajos permiten conocer los mecanismos de las poblaciones microbianas que permiten la resistencia, autonomía y evolución de todo el ecosistema.

PUBLICACIONES DESTACADAS

- Berlanga M, Llorens C, Comas J y Guerrero R.** (2016). Gut bacterial community of the xylophagous cockroaches *Cryptocercus punctulatus* and *Parasphaeria boleiriana*. PLoS ONE 11: e0152400. doi:10.1371/journal.pone.0152400.
- Guerrero R y Berlanga M.** (2016). From the cell to the ecosystem: The physiological evolution of Symbiosis. Evol Biol (June). DOI 10.1007/s11692-015-9360-5.
- Berlanga M y Guerrero R.** (2016). The holobiont concept: the case of xylophagous termites and cockroaches. Symbiosis 68:49-60 DOI 10.1007/s13199-016-0388-9
- Guerrero R, Margulis L y Berlanga M.** (2013). Symbiogenesis: the holobiont as a unit of evolution. Int Microbiol 16: 133-143.
- Guerrero R y Berlanga M.** (2013). An integrate ecogenetic study of minimal ecosystems: The microbial mats of the Ebro Delta and the Camargue (Western Mediterranean). Contrib Sci 9: 117-139.
- Torrentó C, Urmeneta J, Edwards KJ y Cama J.** (2012). Characterization of Attachment and Growth of *Thiobacillus denitrificans* on Pyrite Surfaces. Geomicrobiol J 29: 379-388.
- Torrentó C, Urmeneta J, Otero N, Soler A, Viñas M y Cama J.** (2011). Enhanced denitrification in groundwater and sediments from a nitrate-contaminated aquifer after addition of pyrite. Chem Geol 287: 90-101.
- Torrentó C, Cama J, Urmeneta J, Otero N y Soler A.** (2010). Denitrification of groundwater with pyrite and *Thiobacillus denitrificans*. Chem Geol 278: 80-91.

- Villanueva L, Navarrete A, Urmeneta J, Geyer R, White DC y Guerrero R.** (2007). Monitoring diel variations of physiological status and bacterial diversity in an estuarine microbial mat: An integrated biomarker analysis. Microb Ecol 54: 523-531.
- Villanueva L, Navarrete A, Urmeneta J, White DC y Guerrero R.** (2007). Analysis of diurnal and vertical microbial diversity of a hypersaline microbial mat. Arch Microbiol 188: 137-146.
- Wierzychos J, Berlanga M, Ascaso, C y Guerrero R.** (2006). Micromorphological characterization and lithification of microbial mats from the Ebro Delta (Spain). Int Microbiol 9: 289-295.
- Villanueva L, Navarrete A, Urmeneta J, White DC y Guerrero R.** (2004). Combined phospholipid biomarker-16S rRNA gene denaturing gradient gel electrophoresis analysis of bacterial diversity and physiological status in an intertidal microbial mat. Appl Environ Microbiol 70: 6920-6926.
- Urmeneta J, Navarrete A, Huete J y Guerrero R.** (2003). Isolation and characterization of cyanobacteria from microbial mats of the Ebro Delta, Spain. Curr Microbiol 46: 199-204.
- Navarrete A, Peacock A, Macnaughton SJ, Urmeneta J, Mas-Castellà J, White DC y Guerrero R.** (2000). Physiological status and community composition of microbial mats of the Ebro Delta, Spain, by signature lipid biomarkers. Microb Ecol 39: 92-99.
- Guerrero R, Haselton A, Solé M, Wier A y Margulis L.** (1999). *Titanospirillum velox*: A huge, speedy, sulfur-storing spirillum from Ebro Delta microbial mats. Proc Natl Acad Sci USA 96: 11584-11588.
- Urmeneta J, Alcoba Ó, Razquín E, Tarroja E, Navarrete A y Guerrero R.** (1998). Oxygenic photosynthesis and respiratory activity in microbial mats of the Ebro Delta, Spain, by oxygen exchange method. Curr Microbiol 37: 151-155.
- Mas-Castellà J, Urmeneta J, Lafuente R, Navarrete A y Guerrero R.** (1995). Biodegradation of Poly- β -hydroxyalkanoates in anaerobic sediments. Int Biodeterior Biodegradation 35: 155-174.
- Urmeneta J, Mas-Castella J y Guerrero R.** (1995). Biodegradation of poly- β -hydroxyalkanoates in a lake sediment sample increases bacterial sulfate reduction. Appl Environ Microbiol 61: 2046-2048.
- Margulis L, Ashen JB, Sole M y Guerrero R.** (1993). Composite, large spirochetes from microbial mats: Spirochete structure review. Proc Natl Acad Sci USA 90: 6966-6970.
- Guerrero R, Urmeneta J y Rampone G.** (1993). Distribution of types of microbial mats at the Ebro Delta, Spain. BioSystems 31: 135-144.

FE DE ERRATAS

En el número anterior (nº 60; diciembre de 2015), en la sección Nuestros Grupos (Microbiología de los Alimentos) en la página 4. Donde dice "la Dra. Capita García" debe decir "la Dra. Capita González".

Asimismo, en el pie de figura de la página 15, correspondiente al artículo "Imaginando Microbios", donde dice: "Una vorticela en microscopía de campo oscuro" debería poner "Un *Stentor* en microscopía de campo oscuro"; y en el pie de foto de la página 16, en lugar de "Una colonia de protozoos" debería decir "Grupo de ciliados del género *Paramecium*".

MICROBIOLOGÍA MOLECULAR

LOS GENES *phoP-phoR* Y LA EVOLUCIÓN DEL GÉNERO *Mycobacterium* PARA ADAPTARSE A DIFERENTES HOSPEDADORES

Informa: Jesús Gonzalo Asensio

Dos personas elegidas al azar tienen el doble de diversidad genética que dos especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Teniendo en cuenta que las especies de este complejo son capaces de infectar un rango de hospedador tan diverso como humanos (*M. tuberculosis*), bóvidos (*M. bovis*), roedores (*M. microti*) o focas (*M. pinnipedii*), surge una pregunta interesante: ¿qué polimorfismos son responsables de la interacción patógeno-hospedador?

Responder esta cuestión implicaría evaluar el papel de los aproximadamente 2000 polimorfismos presentes entre dos especies del complejo *M. tuberculosis* lo cual es prácticamente inabordable dada la difícil manipulación genética de estas bacterias. En este trabajo se relata la extraordinaria implicación que han tenido varios polimorfismos en el sistema regulador de la virulencia *phoP-phoR* en la evolución tanto *in vivo* como *in vitro* del género *Mycobacterium*. A lo largo del trabajo se descifran las bases moleculares de la atenuación *in vitro* de cepas mundialmente utilizadas como H37Ra o la vacuna BCG. También se profundiza en el papel de un polimorfismo que posiblemente ha determinado la adaptación del bacilo de la tuberculosis bien para infectar a humanos o para infectar animales. Finalmente estos conocimientos se han utilizado para desentrañar el mecanismo por el cual la vacuna MTBVAC -basada en la inactivación del gen *phoP*- protege frente a la enfermedad.

Brosset E, Martín C, Gonzalo-Asensio J. (2015). Evolutionary landscape of the *Mycobacterium tuberculosis* complex from the viewpoint of PhoPR: implications for virulence regulation and application to vaccine development. *MBio*. 6(5):e01289-15. doi: 10.1128/mBio.01289-15. <http://mbio.asm.org/content/6/5/e01289-15>

PROTISTOLOGÍA, MICROBIOLOGÍA CELULAR

ESTUDIANDO EL REPERTORIO DE ESTRATEGIAS MOLECULARES PARA EL PARASITISMO INTRACELULAR EN *LEGIONELLA* EN AMEBAS

Informa: Ana Martín

En los últimos años se ha demostrado que algunos protozoos actúan como reservorios de importantes bacterias patógenas humanas, como *Legionella pneumophila* o las causantes de fiebres tifoideas, tuberculosis o fiebre Q. La etapa en el reservorio, no sólo incrementa la supervivencia del patógeno, sino que también le protege de agentes antimicrobianos y además, aumenta su virulencia. Sin embargo, nunca se había encontrado una evidencia de una interacción genética entre el protozoo reservorio natural y el patógeno. El género *Legionella* contiene más de 50 especies, de las cuales al menos 20 están asociadas a enfermedades humanas. La más importante es *L. pneumophila* (causante de la legionelosis y la fiebre de Pontiac), que tiene 300 proteínas asociadas con su virulencia, denominadas efectores porque manipulan los procesos biológicos de la célula hospedadora. Mediante secuenciación y análisis genómico comparado de 38 especies de *Legionella*, se ha comprobado que la mayoría de efectores son específicos de especie y tan sólo siete son universales, que parecen ser imprescindibles para el desarrollo intracelular en el protista reservorio *Acanthamoeba castellanii*. Algunos de los genes que son potencialmente codificantes de efectores específicos de especie, tienen características inusuales, más propias de genomas eucariotas. Los autores postulan que dichas secuencias habrían sido adquiridas por las bacterias, mediante transferencia horizontal del protozoo reservorio, a lo largo del proceso de co-evolución. Este parece ser también el origen de un buen porcentaje de genes del genoma de los Mimivirus (virus gigantes), que también tienen como hospedador a amebas del género *Acanthamoeba*.

Burstein D, Amaro F, Zusman T, Lifshitz Z, Cohen O, Gilbert JA, Pupko T, Shuman HA y Segal G. (2016). Genomic analysis of 38 *Legionella* species identifies large and diverse effector repertoires. *Nature Genetics* 48: 167-175.

La sección «nuestra ciencia» publica reseñas de artículos científicos producidos por nuestros socios. La extensión máxima es de 250 palabras. Envía tus reseñas a la Dirección de las revistas o al al delegado de Difusión de tu Grupo Especializado.

semaforo@semicrobiologia.org
noticiasem@semicrobiologia.org

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

Autor: Joan Colom Comas

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

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

Fecha de defensa: 5 de febrero de 2015.

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

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

similares a las de los fagos de los géneros tipo SP6 (UAB_Phi78) y tipo Felix01 (UAB_Phi87), respectivamente.

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

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

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

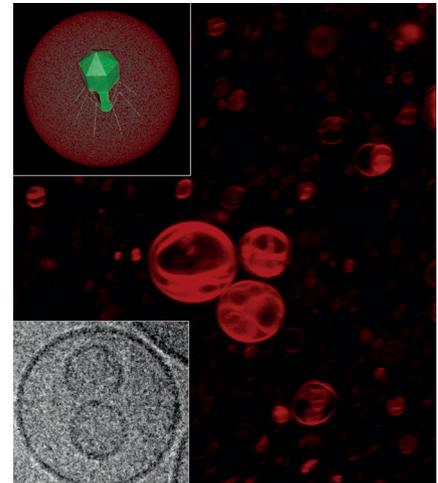


Figura 1.

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

DE LA METAGENÓMICA AL CULTIVO PURO: SPIRIBACTER SALINUS

Autora: María José León León

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Autora: Carmen Infante Domínguez

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Autor: Julio A. Belinchón Vergara

Directores: Diego A. Moreno y Ana M. García

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

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

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

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

HAEMOPHILUS PARASUIS HOST-PATHOGEN INTERACTIONS IN THE RESPIRATORY TRACT

Autor: Bernardo Bello Ortí

Directora: Dra. Virginia Aragón

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

Centro de defensa: Universitat Autònoma de Barcelona.

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

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

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

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

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

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

Autor: Silvana Teresa Tapia Paniagua

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

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

Centro de presentación: Universidad de Málaga.

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

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

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

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

Nuevos socios de la SEM

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

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

Españolas por el mundo: Becas FEMS 2015

Massiel Cepeda



Durante el proyecto de investigación de mi tesis doctoral en el CNB-CSIC he realizado técnicas ingeniería genómica para modificar con precisión y de forma múltiple a la bacteria *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) y así poder estudiar en detalle la patogénesis de este microorganismo. EPEC fue el primer patotipo de *E. coli* en ser asociado con la producción de infección en humanos. Las cepas EPEC son importantes productoras de diarrea, responsables de producir diarrea aguda y crónica en niños de corta edad (< 5 años). En los años 1940 y 1950 EPEC fue una causa importante de diarrea en los países desarrollados, pero hoy en día la infección por EPEC en estos países tiene una importancia limitada. Sin embargo, en los países en vías de desarrollo EPEC sigue siendo una importante causa de diarrea infantil, representando entre el 30% y el 40% de los patógenos bacterianos productores de diarrea en los países de África y América del Sur.

EPEC esta dotada de genes que le permiten producir enfermedad, entre ellos los genes necesarios para el ensamblaje de un sistema de secreción tipo III (T3SS) que es utilizado por EPEC para inyectar proteínas efectoras dentro de los enterocitos. Estas proteínas efectoras son responsables de alterar las funciones de estas células hospedadoras a favor de la infección, generando una lesión a nivel de la microvellosidades del intestino delgado humano denominada lesión de unión y borrado, A/E (*Attaching and Effacing lesion*). La lesión A/E producida por EPEC y otros patógenos relacionados ha sido estudiada a profundidad, sin embargo la mayoría de estos estudios se han llevado a cabo mediante infecciones en líneas células humanas *in vitro*. Aun cuando estos estudios han dado una vasta información acerca de cómo se produce la lesión A/E, no existe una correlación exacta entre estudios *in vitro* y estudios *in vivo*.

Durante mi estancia de investigación financiada por la FEMS en el Imperial College de Londres, hemos infectado cultivos de órganos *in vitro* (IVOC - *in Vitro* Organ Culture) de biopsias intestinales humanas con diferentes cepas de EPEC, previamente generadas por mí mediante técnicas de delección múltiple del genoma. La finalidad de este trabajo ha sido investigar cuál es el conjunto mínimo de proteínas efectoras que se requieren para la formación de la lesión A/E en infecciones de intestino humano, las cuales son condiciones más cercanas a las naturales de la infección por EPEC. Infectamos biopsias humanas con dichas cepas de EPEC y analizamos la formación de la lesión A/E en las biopsias humanas mediante microscopía electrónica de barrido. Hemos encontrado que algunas de las cepas generadas, pese a ser capaces de infectar células HeLa *in vitro* e inducir la característica de acumulación de actina debajo de las bacterias unidas, eran incapaces de formar la lesión A/E en biopsias humanas. Estos resultados inesperados nos indican que algunos efectores que no son necesarios para la formación del pedestal de actina *in vitro* son esenciales para la formación de la lesión A/E en las superficies mucosas.

Gracias a la generosidad de la FEMS tuve la oportunidad de llevar a cabo este emocionante trabajo en el laboratorio del profesor Gad Frankel en el Imperial College de Londres. Fue una excelente experiencia personal y científica y de gran ayuda para completar mi trabajo de doctorado. Estos resultados serán publicados próximamente.

Kenny B. (2002). *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) – a crafty subversive littlebug. *Microbiology*. 148(7): 1967-78.

Nataro JP y Kaper JB (1998). *Diarrheagenic Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev* 11: 142-201.

Lai Y, et al., (2013). *Intimate host attachment: enteropathogenic and enterohaemorrhagic Escherichia coli*. *Cell. Microbiol.* 15: 1796-808.

Hicks S, et al., (1998). *Role of intimin and bundle-forming pili in enteropathogenic Escherichia coli adhesión to pediatric intestinal tissue in vitro*. *Infect. Immun.* 66:1570-8.

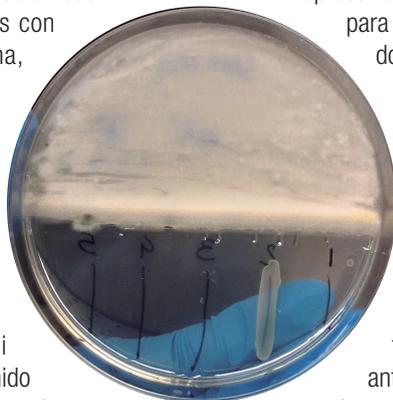
Españolas por el mundo: Becas FEMS 2015

Paulina Corral



Estimados socios y amigos de la SEM, me complace compartir mi experiencia durante mi estancia de investigación como becaria FEMS. Empezar cortos o largos viajes en pro de la ciencia deja siempre mucho que contar.

En esta ocasión me dirigí al Consejo Nacional de Investigaciones de Italia para desarrollar mi proyecto en el Instituto de Bioquímica de las Proteínas situado en Nápoles. El laboratorio de Drug Discovery se centra en la bioprospección de ambientes marinos extremos para la producción sustentable de compuestos con actividad antimicrobiana, antifúngica, antiparasitaria y anticáncer. Llegué a este sitio motivada por el potencial que los microorganismos halófilos poseen para sintetizar moléculas con actividades biológicas únicas. Desde mi tesis doctoral los he venido estudiando y considero que además de su gran importancia en la ecología microbiana, los halófilos son una mina



de compuestos bioactivos debido a las condiciones ambientales extremas en las cuales prosperan.

Mi proyecto consistió en realizar un screening *in vitro* de distintas cepas aisladas de ambientes marinos extremos para la búsqueda de moléculas con actividad antimicrobiana contra patógenos humanos multirresistentes a fármacos (MDR). La actual crisis antibiótica y el incremento de la resistencia microbiana representan un problema emergente

para la salud pública, surgiendo la necesidad de desarrollar nuevos antibióticos.

Durante este estudio se obtuvieron centenares de cepas halófilas y halotolerantes aisladas de sedimentos abisales del mar Ártico y Antártico, todas ellas fueron sometidas a un test antagónico frente a un panel de patógenos MDR. Varias cepas fueron capaces de inhibir totalmente el crecimiento de los patógenos diana y poste-



riormente los extractos crudos de estas cepas positivas mostraron un potente grado de inhibición a concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) muy bajas. Actualmente, se está realizando la identificación química de la molécula que es producida por una actinobacteria halófila y cuyo genoma se estudia para identificar los genes biosintéticos responsables de la actividad. Como todos los productos de origen natural se espera que se trate de una molécula innovadora y que no sea tóxica para el ser humano.

Los microorganismos halófilos tienen una gran proyección futura, a pesar de los avances en la síntesis química, la esperanza para resolver las infecciones recalcitrantes recae en la explotación de la biodiversidad, en este caso los ambientes extremos son un nicho prometedor cuya microbiota constituye un recurso sostenible. Se trata entonces de enfrentarse a un gran problema utilizando un arma microscópica, el verse socorrido por los microorganismos para resolverlo desafía toda regla.

En cuanto a mi experiencia fuera del laboratorio, Nápoles es una ciudad encantadora y llena de contrastes. Mientras te envuelven los paisajes del golfo con el gran Vesuvio, de repente te ves abrumado entre el caos y la confusión, pero luego nuevamente recompensado por el cariño de la gente y por la presencia de un patrimonio cultural, artístico y gastronómico fascinantes. Me llamaba en particular la atención cómo todo se mueve con pericia y astucia, y no puedo evitar relacionarlo con los mecanismos de resistencia antibiótica. A la velocidad de una Vespa me vi adaptada a las circunstancias, las cuales hicieron que este período sea enriquecedor y fructífero.



SEM@foro y **NoticiaSEM** publican artículos de opinión y divulgación sobre Microbiología, así como todo tipo de reseñas e información sobre la actividad de los Grupos Especializados de la SEM, congresos, simposios, seminarios, etc.

Además, **SEM@foro** y **NoticiaSEM** admiten **PUBLICIDAD** de las actividades, servicios o productos de tu empresa o institución.

Solicita los precios de publicidad a los directores de las publicaciones o a secretaria.sem@semicrobiologia.org.

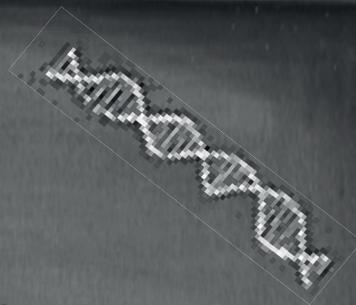
XX CONGRESO NACIONAL DE MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

(Sociedad Española de Microbiología -SEM-)

microalimentos-leon2016.unileon.es

LEÓN, 14, 15 y 16 de septiembre de 2016





Docencia Difusión

Bilbao, 18 - 19 Julio

III Reunión Docencia y Difusión de la Microbiología

18 - 19 Julio

Facultad de Ciencia y Tecnología

Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea
(UPV/EHU)

<http://ddmicro.ehu.eus/>

<https://www.uik.eus/es/iii-reunion-de-docencia-y-difusion-de-la-microbiologia>



ZTF-FCT

Zientzia eta Teknologia Fakultatea
Facultad de Ciencia y Tecnología

CEGBIOL



eman ta zabal zazu

Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

NAZIOARTEKO
BIKAINASUN
CAMPUSA
CAMPUS DE
EXCELENCIA
INTERNACIONAL


SEM
Sociedad Española de Microbiología

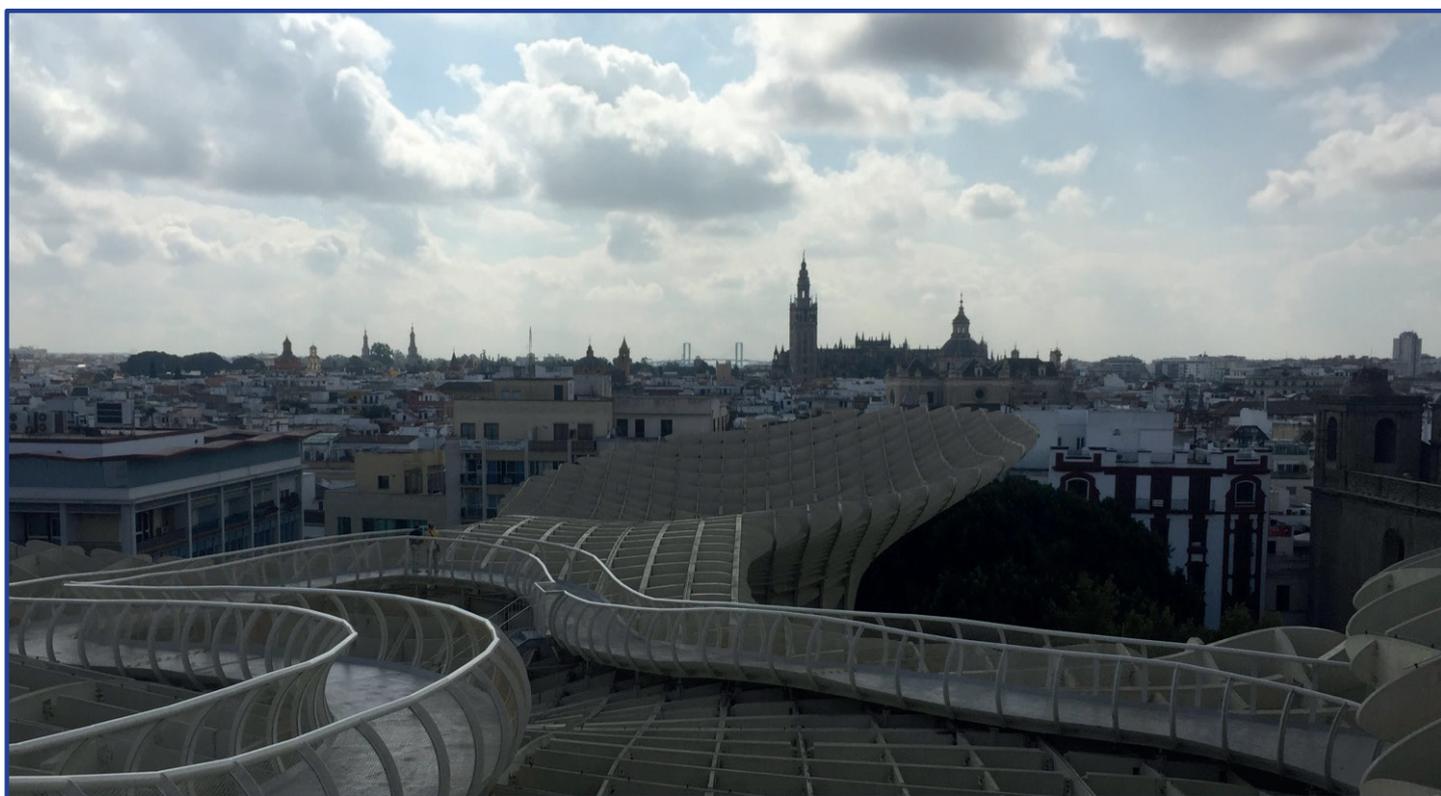


Sociedad Española de Microbiología

XI Reunión Grupo Especializado

MICROBIOLOGÍA

MOLECULAR



Sevilla, 6-8 de septiembre, 2016



CSIC

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

<http://micromolecular2016.org>



CMIBM 16 - LEÓN

SEM BIOTEC CETOIB

Congreso de microbiología industrial y biotecnología microbiana



12, 13 Y 14 DE SEPTIEMBRE
LEÓN 2016



/cmibm16_ule
/cmibm16