

Grupo de Biotecnología Microbiana del Instituto de Investigaciones Biosanitarias de la Universidad Francisco de Vitoria (IIB-UFV)

Olga Zafra; Alba Blesa; Estela Pérez-Lago; María Arroyo-Hernández; Raquel Francisco; Daniel García; Cruz Santos



Instituto de Investigaciones Biosanitarias, Universidad Francisco de Vitoria,
Carretera Pozuelo-Majadahonda Km 1.8, Pozuelo de Alarcón (Madrid), 28223, España



Miembros del grupo de investigación. Investigador principal Dr. Cruz Santos (en el extremo derecho). En la fotografía, de izquierda a derecha: Daniel García, Dra. Estela Pérez-Lago, Raquel Francisco, Dra. María Arroyo, Dra. Olga Zafra, Dra. Alba Blesa y Dr. Cruz Santos

Colaboradores: Dra. Fátima López Fabal (Hospital Universitario de Móstoles, Madrid), Marina Peñuelas (Hospital San José, Madrid) y Dr. Francisco Javier Candel (Hospital Clínico San Carlos, Madrid)

El grupo de Biotecnología Microbiana, creado hace 10 años, es un grupo estable de investigación dentro del Instituto de Investigaciones Biosanitarias adscrito a la Facultad de Ciencias Experimentales de la UFV (IIB-UFV). El grupo se ha centrado en el empleo y estudio de microorganismos de interés en el sector alimentario y en el clínico.

INVESTIGACIÓN EN EL ÁREA DE MICROBIOLOGÍA ALIMENTARIA

Los proyectos asociados al área de microbiología alimentaria giran en torno a la función y aplicación de levaduras durante la elaboración del vino y en la determinación de compuestos funcionales.

El proyecto de levaduras “Estudio del potencial fermentativo y biotecnológico de levaduras vínicas de tipo no *Saccharomyces*”, ha permitido desarrollar un procedimiento de diferenciación de especies y cepas en base al uso de marcadores moleculares AFLP. Además, se ha diseñado un método para identificar levaduras en muestras complejas de

mosto de uva sin necesidad de aislamiento y cultivo microbiológico previo. Este procedimiento ha sido patentado en la Oficina Española de Patentes y Marcas con referencia nº 201500058. Este proyecto ha dado lugar a la tesis doctoral titulada "Identificación de levaduras indígenas mediante AFLP y estudio de su influencia en fermentaciones dirigidas para la obtención de vinos de autor" que defendió el Dr. Ignacio Baselga en la UFV en 2017.

Esta técnica se está aplicando en otro proyecto dirigido a la caracterización molecular de variedades de hongos comestibles. El proyecto se realiza con financiación y en colaboración con la empresa Gurelan S. Coop. y el objetivo es definir patrones moleculares que permitan diferenciar variedades de champiñón de la especie *Agaricus bisporus*.

En colaboración con la empresa Mostos Españoles S. A se está realizando un proyecto dirigido a caracterizar y cuantificar el contenido en polifenoles del mosto de uva concentrado de aplicación en alimentación. Este producto natural se utiliza como base en muchos productos alimentarios, siendo especialmente demandado en los productos infantiles. Por ello, el objetivo de este proyecto es determinar cómo afecta el proceso de concentración del mosto al contenido en polifenoles, compuestos naturales antioxidantes altamente demandados en el sector alimentario. Este trabajo constituye la investigación de tesis doctoral de Daniel García.

INVESTIGACIÓN EN EL ÁREA DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

En el año 2017 se inició un proyecto de investigación cuyo objetivo es la caracterización genotípica y fenotípica de bacterias entéricas multiresistentes a antibióticos. El proyecto aborda el estudio de enterobacterias patógenas resistentes a carbapenemos, antibióticos de última generación, aisladas en la Comunidad de Madrid. La diseminación de

genes de resistencia a antimicrobianos entre las bacterias patógenas es un grave problema de salud pública, de ahí la necesidad creciente de investigar en esta área. Se ha trabajado con 30 aislados hospitalarios de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenemos. El objetivo del proyecto reside en incrementar el conocimiento sobre los mecanismos moleculares que permiten la adquisición y diseminación de factores de resistencia a antibióticos en bacterias patógenas y el papel que pueden jugar otros factores de virulencia. A partir de los datos fenotípicos obtenidos mediante el sistema VITEK-2 (Biomérieux) en el hospital de Móstoles, se han seleccionado 11 cepas de *K. pneumoniae* y se ha realizado la caracterización molecular mediante PCR. Los datos obtenidos han permitido identificar cepas que portan más genes de resistencia de los que inicialmente se pensaba. El análisis fenotípico ha mostrado que algunas cepas forman más biopelícula y tienen mayor resistencia a radiación UV que la cepa control sin resistencias antibióticas, pero en ningún caso estos fenotipos se asocian a un coste de *fitness* ni una mejora de la resistencia a antibióticos. Este trabajo se amplió con cepas resistentes a carbapenemos del género *Enterobacter* provenientes también del Hospital de Móstoles en Madrid y la caracterización de aislados panresistentes de *Pseudomonas aeruginosa* provenientes del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, potencialmente portadores de una metalocarbapenemasa en los que se sospecha una interacción sinérgica entre este enzima y la expresión de la β -lactamasa AmpC.

Actualmente se está avanzando en la caracterización de los aislados de *K. pneumoniae* y *P.aeruginosa* centrándonos en el análisis de expresión de genes de resistencia a antibióticos y genes relacionados con capacidades ecológicas importantes en la patogénesis como son la formación de biofilm, la expresión de competencia, la resistencia a ROS, etc. Se pretende determinar si estas características se relacionan con la resis-

tencia a antibióticos y su grado de implicación en la supervivencia de unos aislados clínicos frente a otros. Todo ello se está realizando en distintas condiciones de crecimiento, algunas de ellas simulando tratamientos antibióticos fallidos o abandonados por los pacientes (cantidades subinhibitorias de antibióticos) para poder recrear en cierta manera el comportamiento de los patógenos ante posibles escenarios de infección.

Además, se está iniciando un proyecto de producción de anticuerpos bifuncionales de tipo *nanobody* para uso terapéutico, en sistemas bacterianos, concretamente en *E.coli*. Este tipo de anticuerpos se están utilizando como fármacos en tratamientos altamente específicos frente a determinados tipos de cáncer. El proyecto se está desarrollando con el apoyo de la Cátedra Merck-UFV recientemente creada.

REFERENCIAS SEÑALADAS

- García, D.J., Calzada, J., Martín Saborido, C., Santos, C.** (2019) Grape polyphenols arrest *in vitro* proliferation of human leukemia cells. A systematic review and meta-analysis. Enviado a publicar.
- Baselga, I., Zafra, O., Pérez Lago, E., Francisco-Álvarez, R., Rodríguez-Tarduchy, G., Santos, C.** (2017). An AFLP based method for the detection and identification of indigenous yeast in complex must samples without a microbiological culture. *Int. J. Food Microbiol.* 241: 89-97.
- Calzada, J., Baselga, I., Lago, E. P., Francisco-Álvarez, R., González, A., Rodríguez-Tarduchy, G., Santos, C.** (2013). Influence of indigenous non-Saccharomyces yeast on the aromatic profiles of red wines. *Proceedings of the 36th World Congress of Vine and Wine.*
- Baselga, I., Lago, E. P., de Laorden, E. H., Francisco-Álvarez, R., Rodríguez-Tarduchy, G., Iglesias, M., Santos, C.** (2012). Molecular characterization of indigenous yeast strains isolated from Ribera de Duero Spanish wineries. *Oeno* 2011. pp. 529 - 534. Dunod Ed.

Patente Nacional 201500058: Método de identificación de cepas de levaduras vínicas a partir de muestras de mosto. Fecha concesión: 18-02-2017.