

# Identificación y Caracterización Molecular de Patógenos Bacterianos de Origen Animal (ICM)

Ana Isabel Vela, José Fco. Fernández-Garayzábal y Lucas Domínguez



Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET).  
Universidad Complutense, 28040 Madrid



Laboratorio de Taxonomía (Izda-Dcha):  
Lucas Domínguez, Leydis Zamora, José Francisco  
Fernández-Garayzábal, Irene Cerdá, Almudena  
Casamayor, Isabel Camacho, Elvira San Martín,  
Marta Pérez Sancho, Ana Isabel Vela, Elisa Pulido

Nuestro grupo de investigación comenzó a desarrollar su labor aproximadamente hace 20 años en el antiguo Departamento de Patología Animal I de la Facultad de Veterinaria de Universidad Complutense de Madrid. Actualmente todos sus miembros pertenecen al Departamento de Sanidad Animal y al grupo VISAVET de la UCM donde desarrollan su labor docente e investigadora. ICM está formado actualmente por los profesores Lucas Domínguez Rodríguez, José Francisco Fernández-Garayzábal Fernández y Ana Isabel Vela Alonso, dos contratados postdoctorales (Marta Pérez Sancho y Leydis Zamora Morales), dos Licenciados (Elvira San Martín y Luis Bouzo) y una técnico de laboratorio (Almudena Casamayor). Nuestro trabajo se centra de forma preferente en la investigación y en el desarrollo de tecnologías para el diagnóstico y control de enfermedades animales, especialmente zoonóticas, aunque esta dedicación no es exclusiva puesto que nuestro trabajo de investigación abarca otras áreas distintas,

como Salud Pública, Seguridad Alimentaria y Medio Ambiente. En conjunto ICM tiene una amplia experiencia en las siguientes líneas de investigación: a) Taxonomía y biodiversidad bacteriana, b) Diagnóstico clínico y caracterización molecular de bacterias patógenas de interés veterinario, c) Aplicación de MALDI TOF en el diagnóstico microbiológico clínico y en taxonomía.

## TAXONOMÍA BACTERIANA Y BIODIVERSIDAD

En el área de la taxonomía bacteriana, y en estrecha relación con el diagnóstico clínico, hemos identificado un total de 53 nuevos géneros o especies bacterianas aisladas a partir de diversos procesos clínicos en diferentes especies animales. Se ha abordado el estudio de nuevos patógenos bacterianos en distintas poblaciones animales que ha conducido al descubrimiento por parte de nuestro

grupo de nuevas especies y géneros bacterianos (*Streptococcus entericus*, *Corynebacterium aquilae*, *Corynebacterium testudinoris*, *Corynebacterium suicordis*, *Uruburuella suis*). Nuestras principales contribuciones han sido en el Género *Streptococcus*, *Corynebacterium* y en la Familia *Flavobacteriaceae*. En el primero de los géneros hemos descrito hasta la fecha 11 nuevas especies bacterianas. En el género *Corynebacterium* nuestras aportaciones han sido 7 nuevas especies. Respecto a la Familia *Favobacteriaceae*, nuestro trabajo se ha centrado en la descripción de nuevas especies encuadradas en géneros distintos (*Bergeyella*, *Flavobacterium* y *Chryseobacterium*). Nuestra contribución en este sentido asciende a un total de 12 especies. Asimismo, los estudios taxonómicos nos han permitido la asociación, en el ámbito veterinario, de ciertas especies bacterianas con nuevos procesos clínicos o la implicación de ciertas bacterias como patógenas en otras especies animales (por ejemplo *Weisella ceti*, *Globi-*

*catella sanguinis* o *Weissella confusa*). Finalmente hemos realizado estudios de diversidad centrándonos en la microbiota presente en distintas especies animales, tales como buitres, o aves de vida libre.

Publicaciones representativas del grupo en esta línea de investigación a lo largo de los tres últimos años:

- Morales-Covarrubias MS, Bolan-Mejía MC, Vela AI, Fernández-Garayzabal JF, Gómez-Gil B. *Streptococcus penaeicida* sp. nov., isolated from a diseased farmed Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). Int J Syst Evol Microbiol. IN PRESS
- Vela AI, Casas-Díaz E, Fernández-Garayzabal JF, Serrano E, Agustí S, Porrero MC, Sánchez del Rey V, Marco I, Lavín S, Domínguez L. Estimation of cultivable bacterial diversity in the cloacae and pharynx in Eurasian griffon vultures (*Gyps fulvus*). Microbiol Ecol. 69:597-607. 2015
- González-Braojos S, Vela AI, Ruiz-de-Castañeda R, Briones V, Cantarero A, Moreno J. Bacteria on nestling skin in relation to growth in pied flycatchers. J Ornithol. 156:327-30. 2015.
- Zamora L, Pérez-Sancho M, Fernández-Garayzabal JF, Orden Ja, Domínguez-Bernal G, De La Fuente R, Domínguez L, Vela AI. *Streptococcus ovuberis* sp. nov., isolated from a subcutaneous abscess in the udder of a sheep. Int J Syst Evol Microbiol. 7:4340-4. 2017.
- Zamora L, Domínguez L, Fernández-Garayzabal JF, Vela AI. *Bergeyella porcorum* sp. nov., isolated from pigs. Syst Appl Microbiol. 139:160-3. 2016.
- Vela AI, Mentaberre G, Lavín S, Domínguez L, Fernández-Garayzabal JF. *Streptococcus caprae* sp. nov., isolated from Iberian ibex (*Capra pyrenaica hispanica*). Int J Syst Evol Microbiol. 66:196-200. 2016
- Vela AI, Perez Sancho M, Domínguez L, Busse H-J, Fernández-Garayzabal JF. *Pelistega suis* sp. nov., a new *Pelistega* species isolated from domestic and wild animals. Int J Syst Evol Microbiol. 65:4909-14. 2015
- Vela AI, Casas-Díaz E, Lavín S, Domínguez L, Fernández-Garayzabal JF. *Streptococcus pharyngis* sp. nov., a new streptococcal species isolated from the respiratory tract of wild rabbits. Int J Syst Evol Microbiol. 65:2903-7. 2015.
- Díaz-Delgado J, Sierra E, Vela AI, Domínguez L, Andrada M, Arbelo M, Fernández A. Endocarditis associated with *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica* in a short-beaked common dolphin (*Delphinus delphis*). J Wild Dis. 51:283-6 2015.

## DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS PATÓGENAS DE INTERÉS VETERINARIO

En esta línea de trabajo trabajamos fundamentalmente con bacterias patógenas responsable de diferentes procesos clínicos en animales. Así hemos centrado nuestros esfuerzos en enfermedades que afectan al ganado ovino (como la mamitis clínica y

subclínica), al ganado porcino (centrándonos en el estudio de procesos respiratorios y meningitis), en el campo de la acuicultura (investigando distintos aspectos de patologías como la lactococosis, la enfermedad de la boca roja, la forunculosis o la vibriosis de animales marinos). El grupo ha destacado internacionalmente en las investigaciones realizadas en mastitis de ganado ovino, en el diagnóstico de enfermedades infecciosas de animales salvajes y exóticos, así como en procesos bacterianos en ganado porcino y peces. En esta línea de investigación, utilizamos diferentes técnicas de caracterización genética (PFGE, MLST, VNTR, RAPD) para el tipado de patógenos bacterianos de gran importancia para Salud Pública o Sanidad Animal. La aplicación de estas técnicas genéticas nos ha permitido estudiar la diversidad de la población de distintos microorganismos, como por ejemplo, conocer la posible existencia de relaciones clonales entre aislados de una misma especie bacteriana y analizar sus implicaciones epidemiológicas. Así, hemos trabajado con diferentes poblaciones bacterianas trazando vínculos epidemiológicos entre cepas aisladas de animales procedentes del mismo brote de enfermedad (*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*) o realizando estudios epidemiológicos globales (*Pseudomonas anguilliseptica*, *Yersinia ruckeri*, *Listeria monocytogenes*, *Lactococcus garviae*, *Streptococcus suis*).

Publicaciones representativas del grupo en esta línea de investigación a lo largo de los tres últimos años:

- García-Alvarez A, Vela AI, San Martín E, Chaves F, Fernández-Garayzabal JF, Domínguez L, Cid D.** Characterization of *Pasteurella multocida* associated with ovine pneumonia using multi-locus sequence typing (MLST) and virulence-associated gene profile analysis and comparison with porcine isolates. Vet. Microbiol. 204:180-7. 2017
- Zheng H, Du P, Qiu X, Kerdsin A, Roy D, Bai X, Xu J, Vela AI, Gottschalk M.** Genomic comparisons of *Streptococcus suis* serotype 9 strains recovered from diseased pigs in Spain and Canada. Vet Res. 49:1-13. 2018.
- Poirer L, Kieffer N, Fernandez-Garayzabal JF, Vela AI, Larpin Y, Nordmann P.** MCR-2-mediated plasmid-borne polymyxin resistance most likely originates from *Moraxella pluranimalium*. J Antimicrob Chemother. 72:2947-9. 2018
- Bustos CP, Guida N, Casamayo A, Muñoz AJ, Fernández-Garayzabal JF, Vela AI.** First report of molecular characterization of Argentine isolates of *Streptococcus equi* subsp. *equi* by pulsed-field gel electrophoresis. J Equine Vet Sci. 53 30-37. 2017.

- Sánchez del Rey V, Fernández-Garayzabal, JF, Gottschalk M, Domínguez L, Vela AI.** Screening of virulence-associated genes as a molecular typing method for characterization of *Streptococcus suis* isolates recovered from wild boars and pigs. Vet J. 209:108-12. 2016
- Díaz-Delgado J, Sierra E, Vela AI, Arbelo M, Zucca D, Groch KR, Fernández A.** Coinfection by *Streptococcus phocae* and cetacean morbillivirus in a short-beaked 2 common dolphin (*Delphinus delphis*). Dis Aquatic Org. 124:247-52. 2017
- Vela AI, Villalón P, Sáez-Nieto JA, Chacón G, Domínguez L, Fernández-Garayzabal JF.** Characterization of *Streptococcus pyogenes* from Animal Clinical Specimens, Spain. Emerg Infect Dis. 23:2013-6. 2017.
- Díaz-Delgado J, Manuel A, Sierra E, Vela AI, Domínguez M, Paz Y, Andrada M, Domínguez L, Fernández A.** Fatal *Erysipelothrix rhusiopathiae* septicemia in an Atlantic spotted dolphin (*Stenella frontalis*) and an Atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) "Erysipelas in dolphins". Dis Aquatic Org. 116:75-81. 2015
- Cardoso-Toset F, Gómez-Laguna J Amarilla SP, Vela AI, Carrasco L, Fernández-Garayzabal JF, Astorga RJ, Luque I.** Multi-etiological nature of tuberculosis-like lesions in condemned pigs at the slaughterhouse. PLOS ONE. 10(9):e0139130. 2015.

## APLICACIÓN DE LA TÉCNICA MALDI TOF/TOF EN EL CAMPO DE LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA Y LA AGROALIMENTACIÓN

Esta línea de investigación es de las más recientes, comenzando en el año 2013 con la adquisición de una plataforma MALDI TOF/TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization y Time-Of-Flight). Esta plataforma de espectrometría de masas consta de tres aplicaciones multidisciplinares: identificación de microorganismos, MALDI Imaging y LC-MALDI (Proteómica/Metabolómica). La técnica MALDI-TOF se ha aplicado de manera tradicional para estudios de proteómica como la identificación y caracterización de proteínas de interés. En los últimos años, se ha demostrado la enorme utilidad que tiene esta técnica analítica en el campo de la microbiología tanto para la identificación como para la caracterización de microorganismos, fundamentalmente, bacterias y hongos. La técnica MALDI-TOF la estamos utilizando, además de en el diagnóstico microbiológico clínico (para la diferenciación de subespecies de distintas bacterias, tales como *Photobacterium damsela*), como herramienta en taxonomía bacteriana para la diferenciación e identificación de nuevas especies bacterianas, tales como *Jeotgalibaca porci* o *Streptococcus ovuberis*.

Publicaciones representativas del grupo en esta línea de investigación a lo largo de los tres últimos años:

**Pérez-Sancho M, Vela AI, Kostrzewa M, Zamora L, Casamayor A, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF.** First analysis by MALDI-TOF MS technique of *Chryseobacterium* species relevant to aquaculture. J. Fish Dis. 41:389-92. 2018.

**Pérez-Sancho M, Vela AI, Wiklund T, Kostrzewa M, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF.** Differentiation of *Flavobacterium psychrophilum* from *Flavobacterium psychrophilum*-like species by MALDI-TOF mass spectrometry. Res. Vet. Sci. 115:345-52. 2017.

**Pérez-Sancho M, Vela AI, García-Seco T, González S, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF.** Usefulness of MALDI-TOF MS as a Diagnostic Tool for the Identification of *Streptococcus* Species Recovered from Clinical Specimens of Pigs. PLoS One. 12:e0170784. 2017.

**Pérez-Sancho M, Vela AI, Awad MA, Kostrzewa M, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF.** Differentiation of *Photobacterium damsela* subspecies using Matrix-Assisted Laser-Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) in fish isolates. Aquaculture. 464:159-64. 2016.

**Pérez-Sancho M, Vela AI, García-Seco T, Gottschalk M, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF.** Assessment of MALDI-TOF MS as alternative tool for *Streptococcus suis* identification. Front. Public Health 3:202. 2015.

En estas líneas de investigación, ICM colabora con varios grupos de investigación nacionales e internacionales, además de con varias empresas:

- Dr. J.J. Soler. Universidad Granada: Diversidad microbiana
- Dr. J. Fernández. Hospital Central Universitario, Asturias. Diversidad microbiana
- Dr. M. Gottschalk. University of Montreal, Quebec, Canada. Diversidad Microbiana
- Dr. J. Moreno. Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC. Madrid. Diversidad microbiana
- Dra. M.S. Morales-Covarrubias. A.C. Mazatlán Unit for Aquaculture, Sinaloa, Mexico. Taxonomía bacteriana
- Prof. A. Ventosa. Universidad de Sevilla. Taxonomía bacteriana
- Profa. C. Tarradas. Universidad de Córdoba. Diversidad microbiana

- Dr. E. Moore. University of Gothenburg, Suecia. Taxonomía bacteriana
- Dr. H.-J. Busse. Universität Wien. Austria. Taxonomía bacteriana
- Dr. J.A. Sáez-Nieto. Diversidad microbiana y Taxonomía bacteriana
- Dr. T. Wiklund. Åbo Akademi University, Artillerigatan Finland. MaldiTof.
- Exopol. (Zaragoza). Diagnóstico y Diversidad microbiana
- Piszolla S.L. (Salamanca): Taxonomía bacteriana, Diagnóstico y Diversidad microbiana
- Grupo Dibaq (Segovia) y Exopol (Zaragoza): Diagnóstico y Diversidad microbiana
- Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany. Maldi-Tof

## Nuevos socios de la SEM

- Abreu Yanes, Estefanía
- Albert Sola, Manuel
- Alonso Fernandes, Elena
- Barreiro Méndez, Carlos
- Buruaga Ramiro, Carolina
- Cabaleiro Amil, Juan Manuel
- Cabañas Romero, Lourdes Verónica
- Cea Sánchez, Sara
- Celada Crespo, Lucía
- Correa Galeote, David
- de Pedro Jové, Roger
- Delgado Martín, Josemaría
- Encinar del Dedo, Javier
- Espejo Serrano, Carmen
- Fernández Cantos, María Victoria
- Fernandez Cassi, Xavier
- Fernández Escámez, Pablo
- Fernández Fernández, Rosa
- Fernández Morales, Ana
- Fillol Homs, Mireia
- Galván Romero, Ana Isabel
- García Fernández, Beatriz
- Gómez Torres, Natalia
- González Garrido, Cristina
- González Serrano, Rafael
- Haro Moreno, Jose Manuel
- Heredia Barroso, Abel
- Hernández Bolaños, Eduardo Antonio
- Jabalera Ruz, Ylenia María
- Jorda Moret, Jaume Vicent
- Libkind, Diego
- Liébana García, Rebeca
- Marchesini Tovar, Giuseppina
- Margalet Català, María del Mar
- Marín Orenga, Clara
- Molina Menor, Esther
- Montesdeoca Flores, David Tomás
- Morena Gatiús, Angela Gala
- Núñez Nepomuceno, David
- Ruiz Dueñas, Francisco Javier
- Sánchez León, Irene
- Sans Català, Ariadna
- Sastre Gallard, Martín
- Soder Walz, Jessica Maiara
- Tascón Márquez, Delia
- Vázquez Merchán, Almudena
- Vega, Santiago
- Velasco Rodríguez, Oscar

Altas desde el 25/05/2017 hasta 09/11/2017