



# Microbiología de los Alimentos bajo el concepto de One Health

## Libro de Comunicaciones



Editores:

Magdalena Martínez Cañamero, Rosario Lucas López, Elena Ortega Morente, Rubén Pérez Pulido, M<sup>a</sup> José Grande Burgos, Antonio Cobo Molinos y Antonio Gálvez del Postigo Ruiz

©De los textos:

Sus autores

Diseño de cubierta:

Elena Yañez

ISBN: 978-84-09-45137-1

1.<sup>a</sup> edición: septiembre de 2022

# ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA EN QUESO DE CABRALES POR TÉCNICAS METAGENÓMICAS Y DE CULTIVO

**Javier Rodríguez<sup>1,2</sup>, Ana González-Guerra<sup>3</sup>, José A. Valenzuela<sup>1</sup>, Lucía Vázquez<sup>1,2</sup>, Raúl Fernández-López<sup>3</sup>, Ana Belén Flórez<sup>1,2</sup>, Fernando de la Cruz<sup>3</sup> y Baltasar Mayo<sup>1,2\*</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología y Bioquímica, Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Paseo Río Linares s/n, 33300-Villaviciosa, Asturias; <sup>2</sup>Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Avenida de Roma s/n, 33011-Oviedo, Asturias; <sup>3</sup>Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria (IBBTEC), Universidad de Cantabria-CSIC, C/Albert Einstein 22, 39011-Santander, Cantabria

\*[baltasar.mayo@ipla.csic.es](mailto:baltasar.mayo@ipla.csic.es)

## INTRODUCCIÓN

Las propiedades sensoriales del queso dependen del tipo de leche, la alimentación animal, las prácticas de elaboración y maduración y la composición cualitativa y cuantitativa de su microbiota. La enorme diversidad de tipos de queso hace muy diversa también la microbiota de cada variedad. Sin embargo, las variaciones en la composición de la microbiota particular de cada tipo queso conducen, con frecuencia, a defectos tecnológicos y sensoriales o a problemas de seguridad alimentaria. La industria quesera precisa de más conocimiento científico de la microbiota (y sus componentes) para enfrentarse a los desafíos tecnológicos.

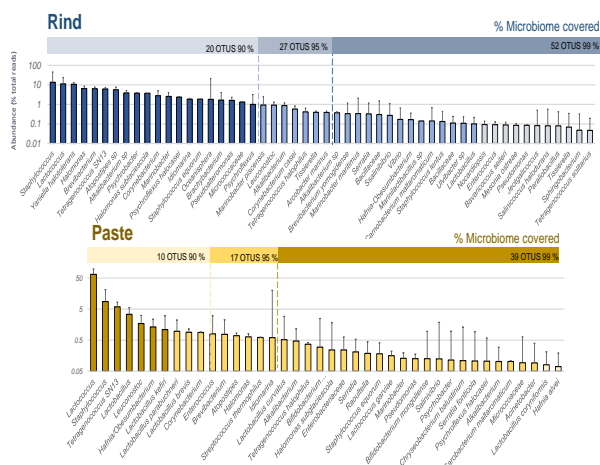
Las modernas técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos han permitido descubrir en el queso ADN de innumerables taxones, incluyendo microorganismos tecnológicamente relevantes, alterantes y patógenos. Sin embargo, algunos tipos microbianos se detectan únicamente mediante cultivo, lo que sugiere que ambos tipos de técnicas son complementarias en la caracterización microbiana del queso. Además, la posible utilización de biotipos como fermentos o cultivos de maduración exige, antes de introducirlos en la cadena alimentaria, la recuperación en cultivo, su completa caracterización y la producción de masa microbiana.

## MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo, se da cuenta de la diversidad microbiana y la frecuencia de los microorganismos en una muestra de queso de Cabrales maduro mediante metagenómica filogenética (amplificación y secuenciación de fragmentos del ADNr) y tras cultivo en distintos medios selectivos y no selectivos incubados en diferentes condiciones. Procedentes de los cultivos, se aislaron 393 colonias bacterianas y 98 colonias eucariotas. Estas se identificaron por técnicas moleculares. La diversidad microbiana por debajo del nivel de especie se estimó en algunas de las poblaciones mayoritarias mediante una tipificación RADP con varios oligonucleótidos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante amplificación de ADNr bacteriano, secuenciación y comparación de secuencias en las bases de datos, se identificaron en el ADN microbiano total de la corteza (rind) del queso 52 OTUs (operational taxonomic units) al 97% de homología (nivel de especie) con una frecuencia superior al 0,01% (Figura 1). De estos, solo 20 de ellos presentaban una frecuencia superior al 1% y constituían el 90% de los OTUs. De igual manera, se identificaron 39 OTUs en el interior (paste) del queso, de los que solo siete presentaban una frecuencia superior al 1%.



**Figura 1.** Perfil taxonómico filogenético del microbioma bacteriano del queso Cabrales.

Los OTUs identificados pertenecían a 31 géneros diferentes, de los que *Lactococcus*, *Staphylococcus* y *Tetragenococcus* resultaron dominantes, tanto en corteza como en interior del queso.

Tras identificar las colonias de los cultivos, se determinó la presencia de unas 26 especies bacterianas (Tabla 1).

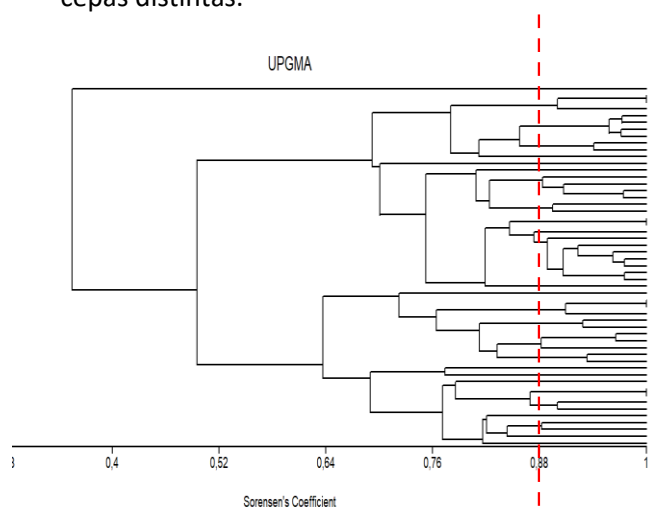
**Tabla 1.** Bacterias identificadas en cultivo de queso de Cabrales.

Género/especie	Número de aislados
<i>Tetragenococcus koreensis</i>	133
<i>Staphylococcus equorum</i>	81
<i>Corynebacterium variabile</i>	31
<i>Enterococcus faecalis</i>	31
<i>Enterococcus gilvus</i>	23
<i>Lactiplantibacillus plantarum/ L. paraplantarum</i>	20
<i>Brevibacterium linens</i>	14
<i>Corynebacterium flavescens</i>	11
<i>Lactococcus lactis</i>	10
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	8
<i>Enterococcus dispar</i>	7
<i>Enterococcus spp.</i>	6
<i>Enterococcus malodoratus</i>	3
<i>Enterococcus saigonensis/E. dispar</i>	2
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	2
<i>Brevibacterium iodinum</i>	2
<i>Enterococcus avium</i>	1
<i>Enterococcus durans</i>	1
<i>Enterococcus italicus</i>	1
<i>Enterococcus italicus/E. hirae</i>	1
<i>Kocuria rhizophila</i>	1
<i>Lactococcus brevis</i>	1
<i>Microbacterium oxydans</i>	1
<i>Pseudomonas poae</i>	1
<i>Staphylococcus hominis</i>	1
<b>Total</b>	<b>393</b>

*Tetragenococcus koreensis* y *Staphylococcus equorum* resultaron las especies bacterianas dominantes, seguidas por especies de *Enterococcus* spp. y *Coryne-*

*bacterium variabile*. La técnica molecular detectó mayor diversidad, pero algunos biotipos se identificaron solo en los cultivos. Entre los eucariotas, se identificaron 16 especies de las que *Candida zeylanoides* y *Yarrowia lipolytica* fueron mayoritarias. Por el momento, se desconoce el significado tecnológico y de seguridad de la enorme diversidad microbiana en queso.

En la actualidad estamos caracterizando las propiedades tecnológicas y de seguridad de biotipos mayoritarios. En ellos, se ha detectado una enorme diversidad intraespecífica, como se muestra en la Figura 2 para 53 aislados de *S. equorum*, en los que determinamos la presencia de 27 cepas distintas.



**Figura 2.** Perfiles de RAPD con tres oligonucleótidos de 57 aislados de *S. equorum*. La línea roja separa cepas distintas.

## CONCLUSIONES

1. La microbiota del Cabrales maduro está compuesta por una gran diversidad de organismos procariotas y eucariotas.
2. La diversidad se detecta a niveles interespecíficos e intraespecíficos.
3. Las técnicas moleculares y de cultivo son complementarias para caracterizar la microbiota del queso.
4. La detección molecular de biotipos no cultivados posibilita el desarrollo de estrategias para su aislamiento selectivo.

## AGRADECIMIENTOS

El trabajo se financia con el proyecto PID2019-110549RB-I00/AEI/10.13039/501100011033. JR disfruta de una beca del Programa Severo Ochoa del Principado de Asturias (BP19-098).

## Organizan



## Colaboradores

