

XII

JARDUNALDIA
JORNADA

**ELIKAGAIEN SEGURTASUNAREN ARLOKO
IKERKETA EMAITZAK TRANSFERENTZIA**

**TRANSFERENCIA DE RESULTADOS DE
INVESTIGACIÓN EN SEGURIDAD ALIMENTARIA**

Apirilak 10 de abril 2025

 **Euskaldun Berria Aretoa**

Vitoria-Gasteiz
Eusko Jaurlaritza - Gobierno Vasco



**EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO**

ELIKADURA, LANDA GARAPEN,
NEKAZARITZA ETA
ARRANTZA SAILA
OSASUN SAILA

DEPARTAMENTO DE ALIMENTACIÓN,
DESARROLLO RURAL,
AGRICULTURA Y PESCA
DEPARTAMENTO DE SALUD



SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA



ÍNDICE

1. Introducción
2. Objetivos del proyecto
3. Resultados relevantes para reducir riesgos en la cadena agroalimentaria vasca
4. Actividades de difusión y transferencia realizadas



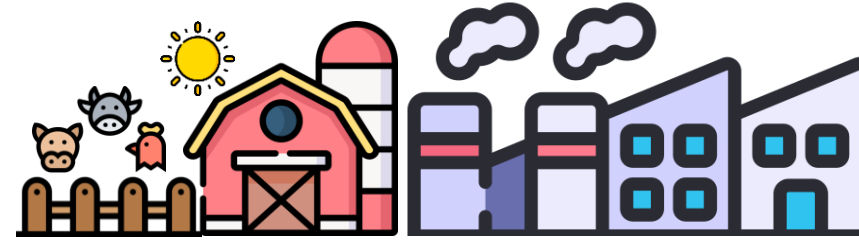
SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA



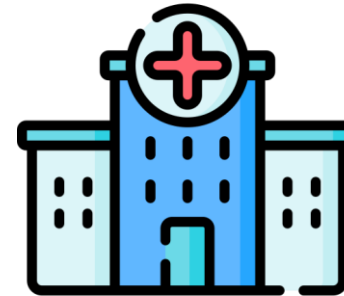
1. INTRODUCCIÓN




**ZOONOSIS
ALIMENTARIAS**



Industria agroalimentaria



Salud pública



SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA



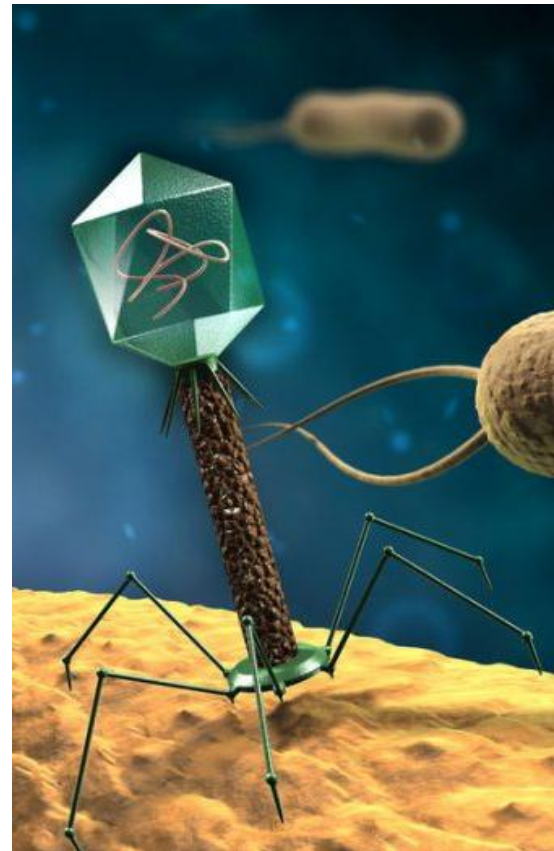
1. INTRODUCCIÓN



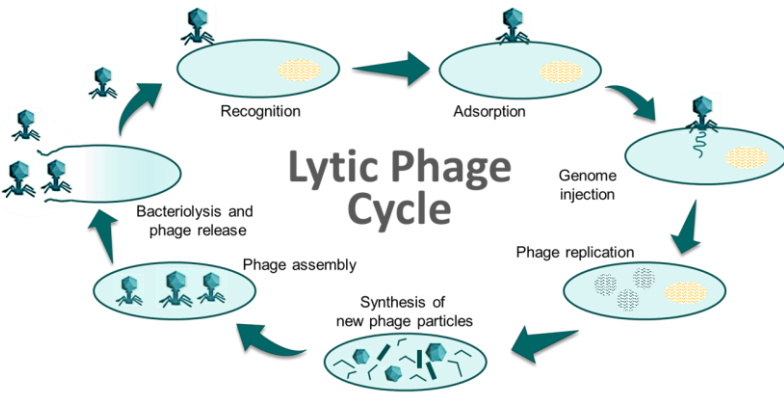
Nuevas Estrategias
Seguridad Alimentaria

1. INTRODUCCIÓN

- Virus de bacterias
- Muy abundantes
- Origen natural - ubicuos



- **Muy específicos**
 - Especie – género
 - No afectan microbiota, probióticos, starters
 - Inofensivos para humanos, animales y plantas
- **Gran potencial antibacteriano**
 - Activos frente a resistentes a antibióticos
 - Evolucionan con las bacterias

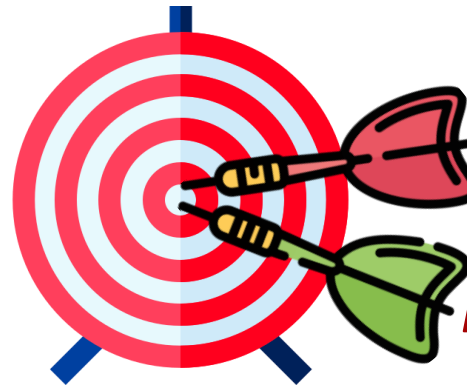


SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA 2021-2024



1. OBJETIVOS

- Avanzar en la búsqueda de nuevas soluciones biotecnológicas, basadas en el empleo de **bacteriófagos**, para el **biocontrol de patógenos** en alimentos y entornos de procesado.
- Optimizar la aplicación de dichas soluciones y promover el desarrollo de nuevos procesos en la industria alimentaria a fin de obtener **alimentos de mayor seguridad**.



Campylobacter spp.

Listeria monocytogenes



SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA

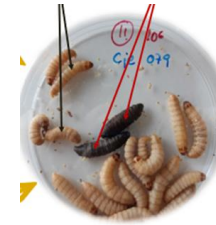


2. RESULTADOS RELEVANTES

Punto de partida

- Colección > 300 fagos
- Caracterización preliminar
- Selección de 30 fagos

- Potencial lítico – Rango de Huésped (30 fagos vs 160 cepas bacterianas)
- Selección 8 fagos (mayor potencial)
- Propiedades tecnológicas, morfológicas y genéticas
- Estabilidad



Campylobacter



Aislamiento

Caracterización

Formulación

Pruebas de eficacia

Producción



SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA

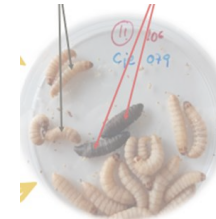


2. RESULTADOS RELEVANTES

Punto de partida

- Colección > 300 fagos
- Caracterización preliminar
- Selección de 30 fagos

- Potencial lítico – Rango de Huésped (30 fagos vs 160 cepas bacterianas)
- Selección 8 fagos (mayor potencial)
- Propiedades tecnológicas, morfológicas y genéticas
- Estabilidad



Aislamiento

Caracterización

Formulación

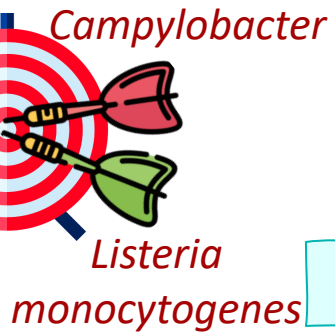
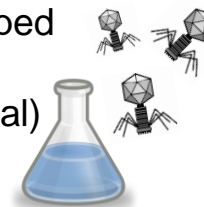
Pruebas de eficacia

Producción

Punto de partida

- Colección > 75 fagos
- Caracterización preliminar
- Selección de 16 fagos

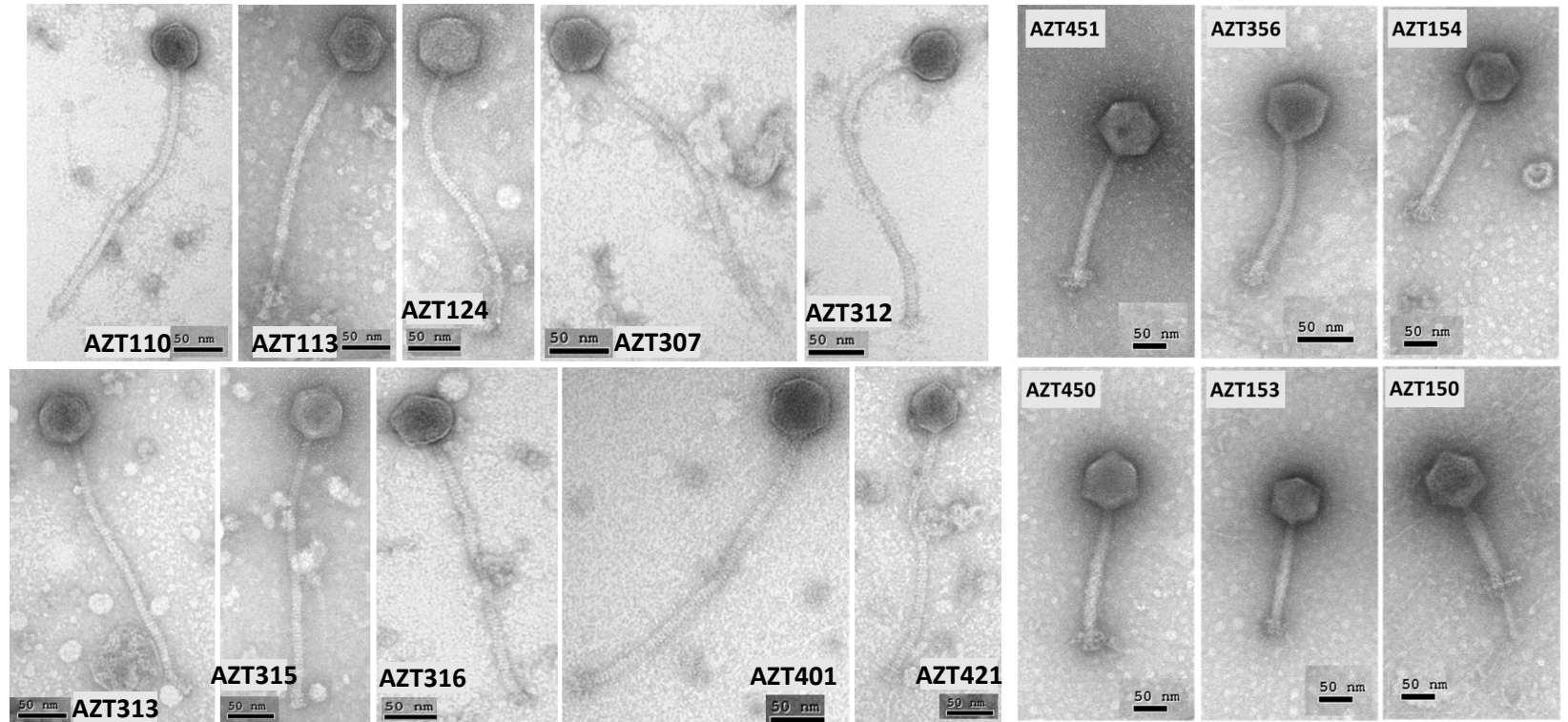
- Potencial lítico – Rango de Huésped (30 fagos vs 160 cepas bacterianas)
- Selección 8 fagos (mayor potencial)
- Propiedades tecnológicas, morfológicas y genéticas
- Estabilidad



2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*



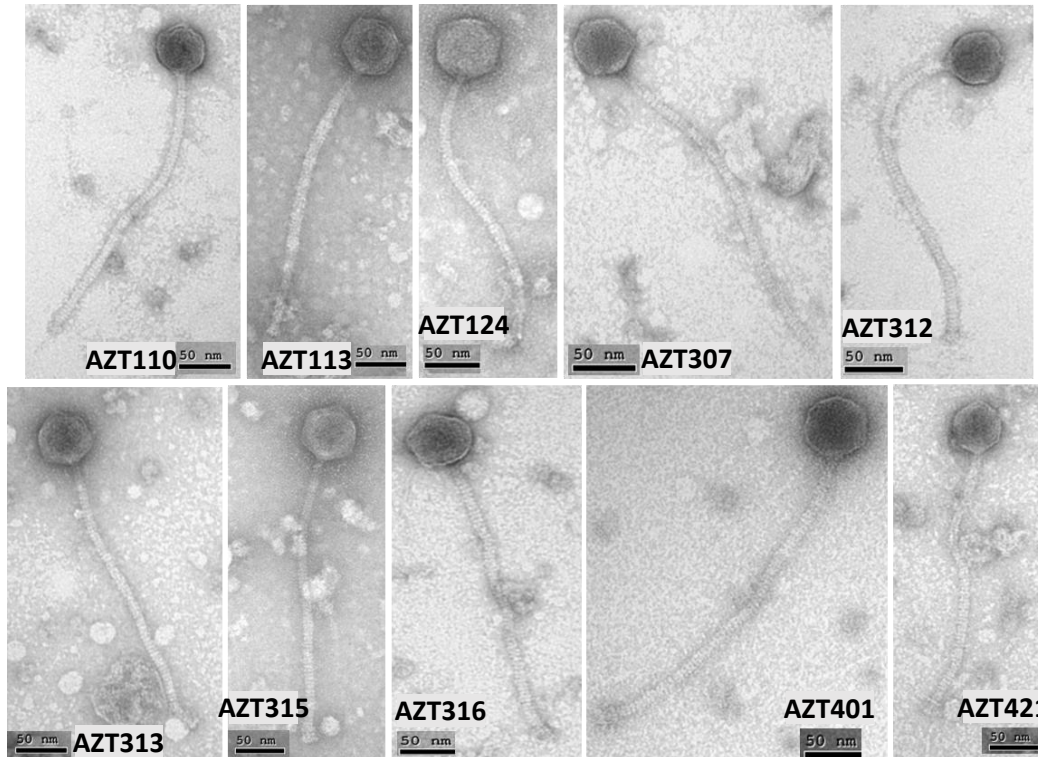
Orden
Caudovirales



Imágenes obtenidas por el servicio de microscopía electrónica del CNB



2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*

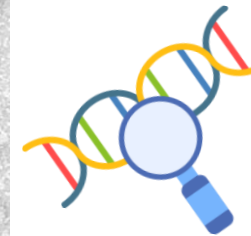


Imágenes obtenidas por el servicio de microscopía electrónica del CNB



Familia *Siphoviridae*

- DNA doble cadena
- Cabeza icosaédrica ($\varnothing=50-67$ nm)
- **Larga cola no contráctil** (longitud=265-292nm)



- Fagos atemperados (**NO** líticos)
- Genes asociados a lisogenia

BIOCONTROL

SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA



2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*



Familia *Myoviridae*

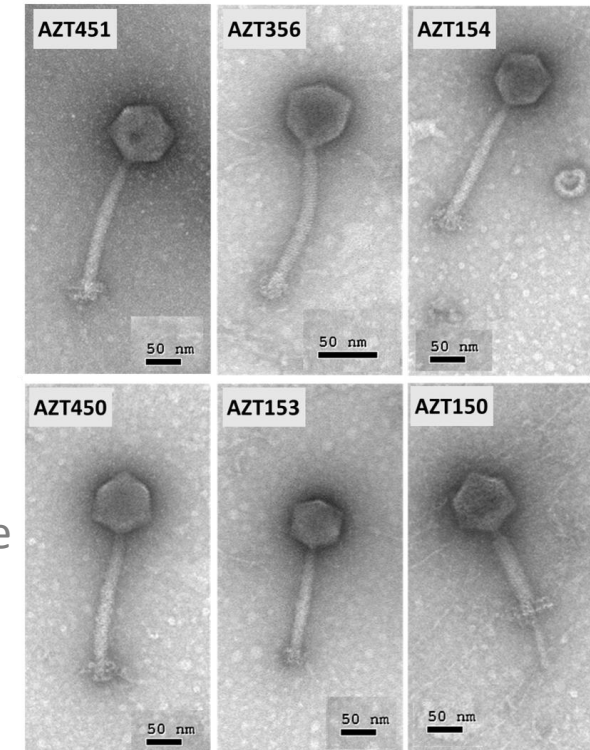
- DNA doble cadena
- Cabeza icosaédrica ($\varnothing=83-94$ nm)
- Larga cola contráctil (longitud=190-211nm)

Grupo P100-like

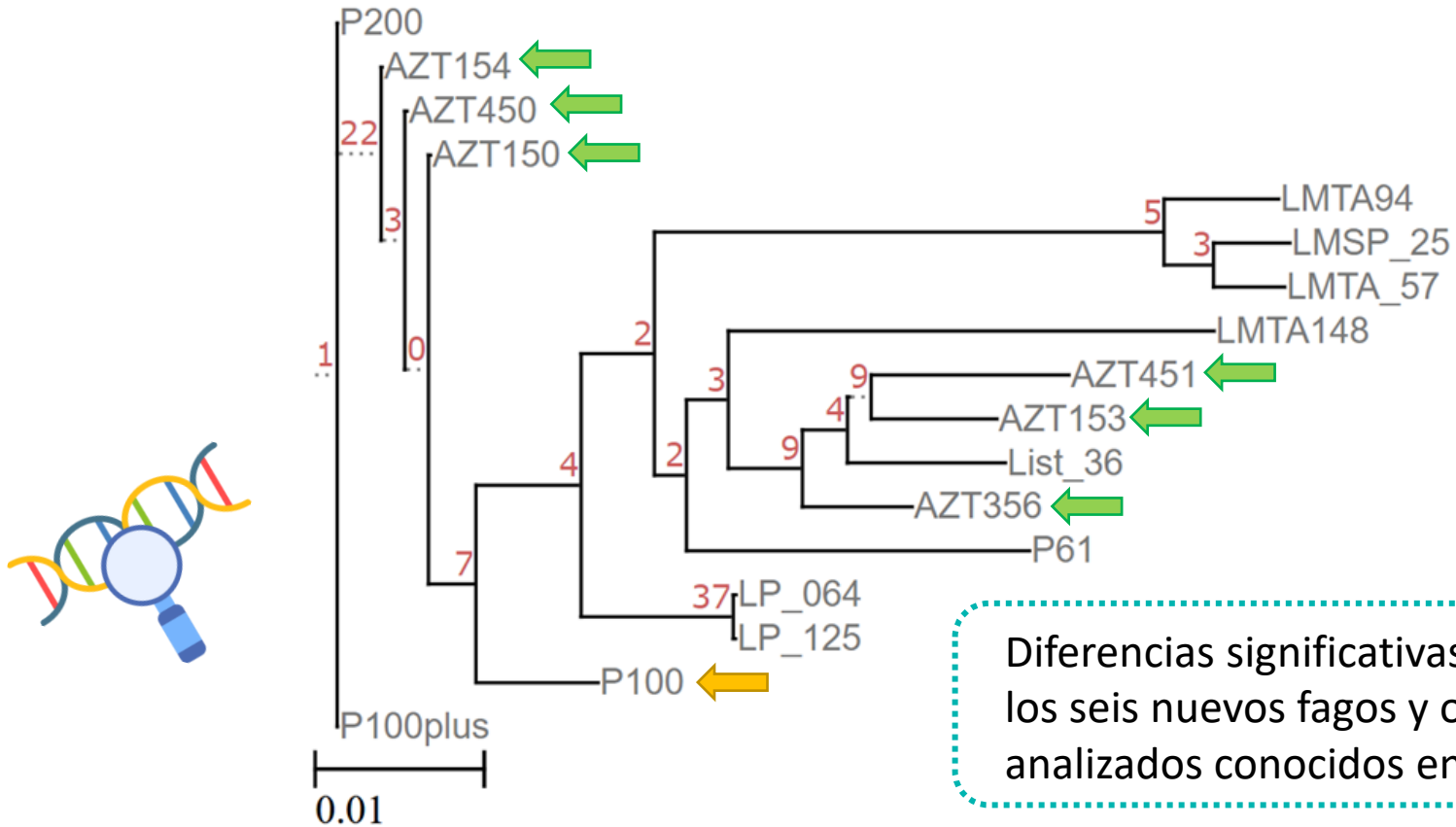
- Fagos virulentos
- Sin genes asociados a lisogenia, producción de toxinas, virulencia bacteriana o resistencia a antibióticos



BIOCONTROL



2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*



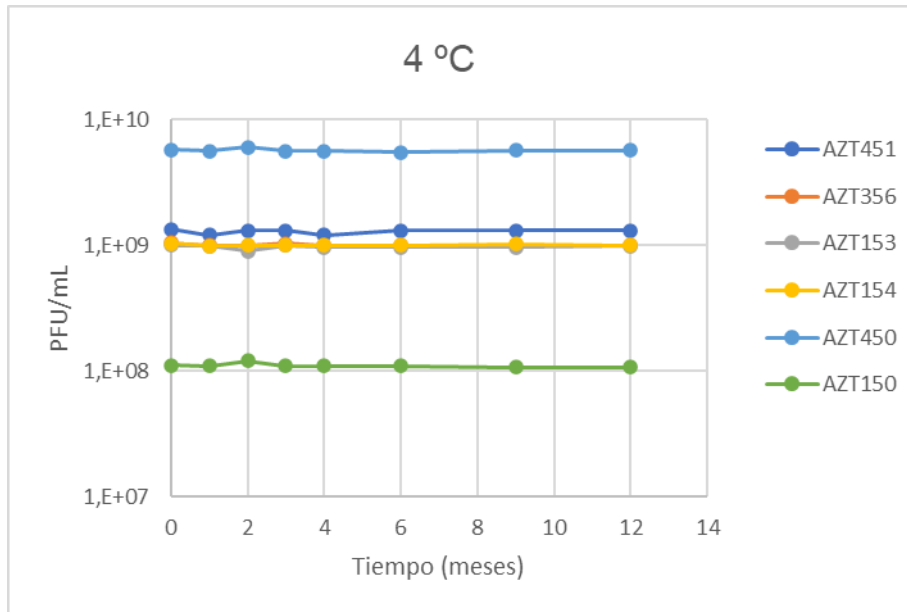
Diferencias significativas a nivel de genoma entre los seis nuevos fagos y otros fagos de *Listeria* analizados conocidos en el estado de la técnica



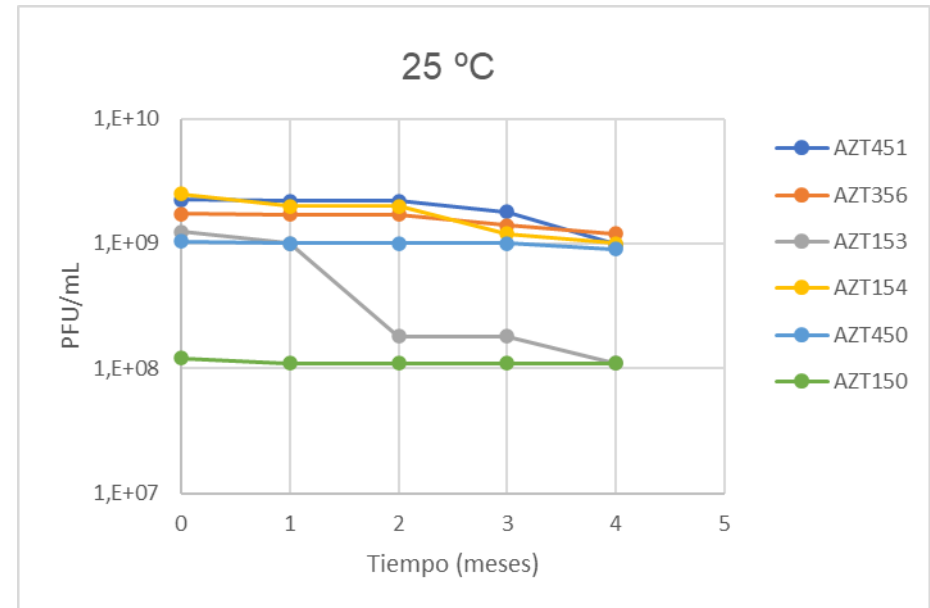
SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA



2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*



Estables durante su almacenamiento a 4°C (pH 7,5) durante un año



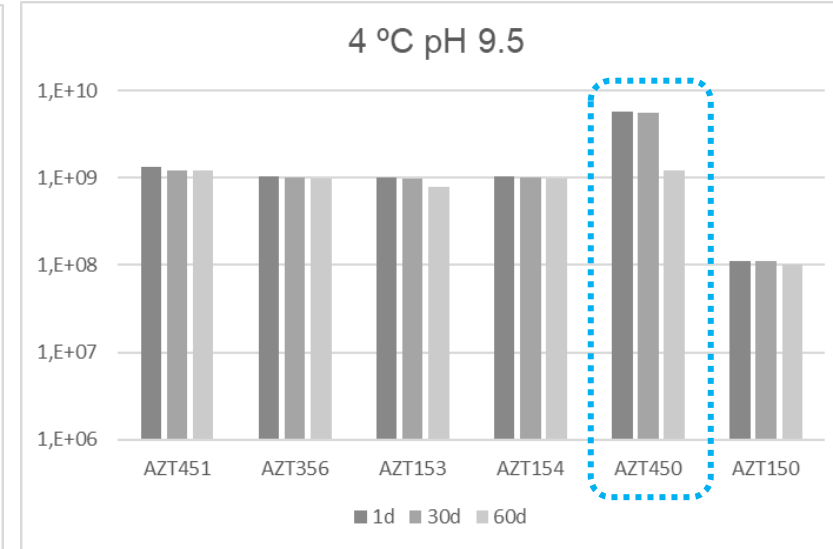
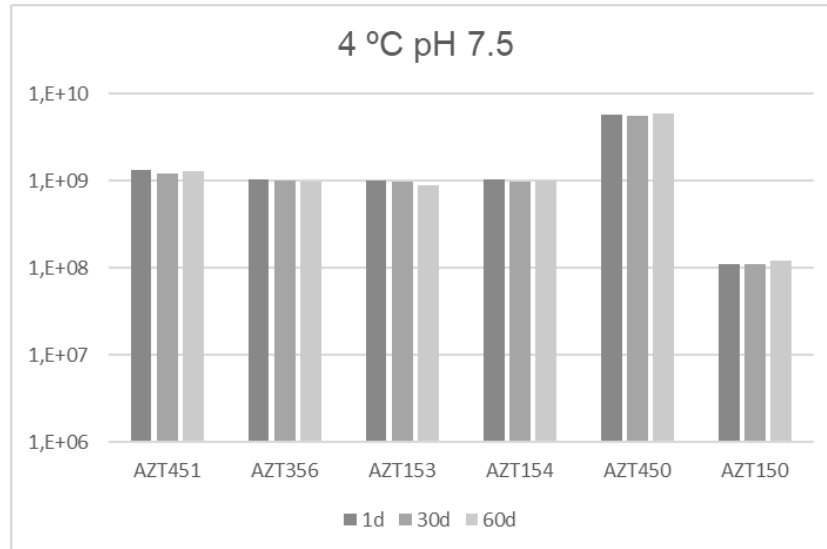
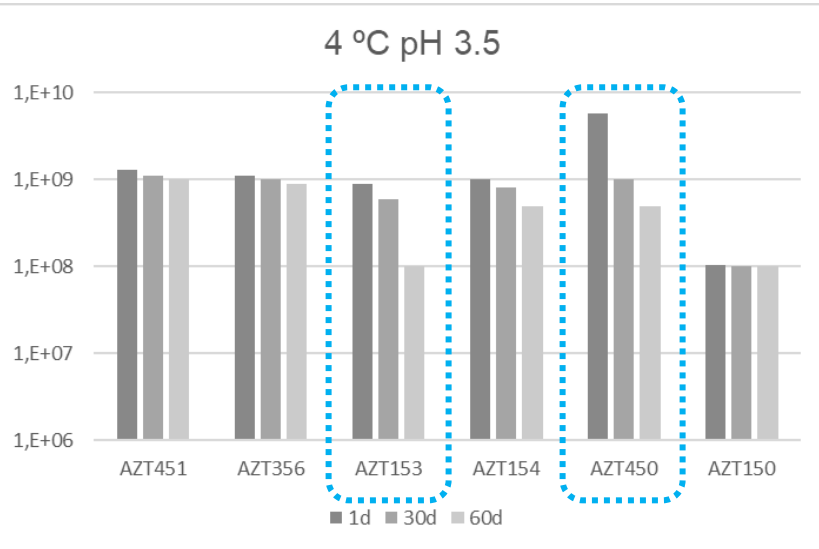
Estables (excepto AZT153) durante su almacenamiento a 25°C (pH 7,5) durante 4 meses



SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA



2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*



Estables a pH 3,5-9,5 (4°C) durante, al menos, 30 días
Menor estabilidad de AZT153 y AZT450





2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*

Rango de huésped – Potencial lítico

- 6 fagos AZTI
- 1 cóctel de fagos (combinación 5 fagos AZTI)
- Producto comercial Listex P100

105 cepas bacterianas (silvestres y de colección)

- 85 *Listeria* spp
 - 80 *L. monocytogenes*
 - *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. whelsimeri*, *L. grayi*
- 20 no *Listeria* spp.

Phage	N
AZT451	85
AZT356	85
AZT154	85
AZT450	85
AZT153	85
AZT150	85
PC1	85
Listex P100	85



SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA



2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*

Phage	<i>Listeria</i> strains				
	N	Resistant	Moderately susceptible	Highly susceptible	Total susceptible
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
AZT451	85	6 (7%)	32 (38%)	47 (55%)	79 (93%)
AZT356	85	14 (16%)	28 (33%)	43 (51%)	71 (84%)
AZT154	85	10 (12%)	32 (38%)	43 (51%)	75 (88%)
AZT450	85	10 (12%)	35 (41%)	40 (47%)	75 (88%)
AZT153	85	8 (9%)	40 (47%)	37 (44%)	77 (91%)
AZT150	85	11 (13%)	38 (45%)	36 (42%)	74 (87%)
PC1	85	6 (7%)	19 (22%)	60 (71%)	79 (93%)
Listex P100	85	16 (19%)	40 (47%)	29 (34%)	69 (81%)

Rango de huésped – Potencial lítico

- ✓ Específicos frente a *Listeria*
- ✓ Activos vs *Lm*, *Lin*, *Liv*, *Lse*, *Lwe*
- ✓ Activos vs *Lm* : diferentes orígenes y serotipos
- ✓ Espectro lítico diferente entre ellos y con P100
- ✓ Rango de hospedador 81-93%



SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA



2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*

Phage	<i>Listeria</i> strains				
	N	Resistant	Moderately susceptible	Highly susceptible	Total susceptible
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
AZT451	85	6 (7%)	32 (38%)	47 (55%)	79 (93%)
AZT356	85	14 (16%)	28 (33%)	43 (51%)	71 (84%)
AZT154	85	10 (12%)	32 (38%)	43 (51%)	75 (88%)
AZT450	85	10 (12%)	35 (41%)	40 (47%)	75 (88%)
AZT153	85	8 (9%)	40 (47%)	37 (44%)	77 (91%)
AZT150	85	11 (13%)	38 (45%)	36 (42%)	74 (87%)
PC1	85	6 (7%)	19 (22%)	60 (71%)	79 (93%)
Listex P100	85	16 (19%)	40 (47%)	29 (34%)	69 (81%)

Rango de huésped – Potencial lítico

- ✓ Específicos frente a *Listeria*
- ✓ Activos vs *Lm*, *Lin*, *Liv*, *Lse*, *Lwe*
- ✓ Activos vs *Lm* : diferentes orígenes y serotipos
- ✓ Espectro lítico diferente entre ellos y con P100
- ✓ Rango de hospedador (RH) : 81-93%
- ✓ AZT451 y PC1 : RH más amplio (93%)
- ✓ Cóctel PC1:

⇒ no mejora el RH

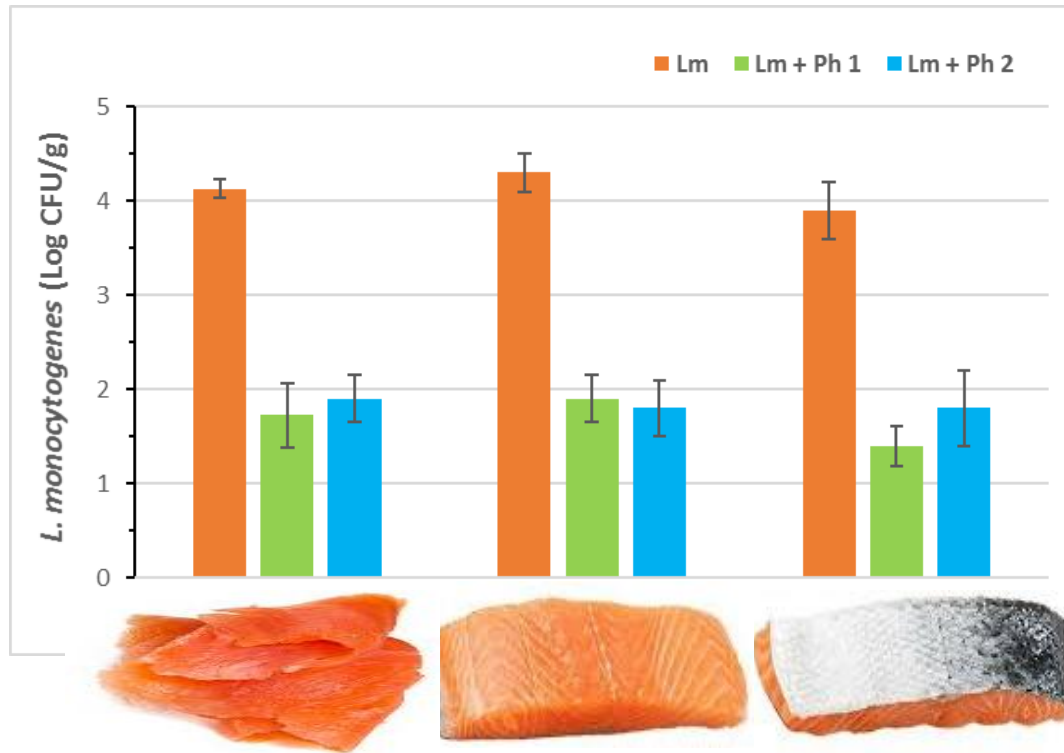
↑ % altamente susceptible



SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA



2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*



Los dos cócteles diseñados fueron efectivos para la **reducción de >2 Log UFC/g** de *L. monocytogenes* en la superficie de **salmón ahumado** y **salmón fresco (músculo y piel)**



SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA

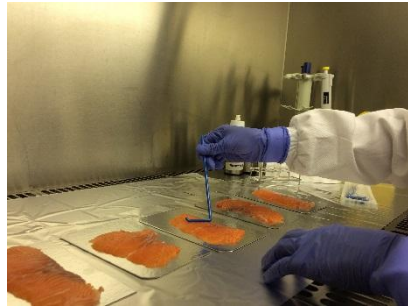


2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*



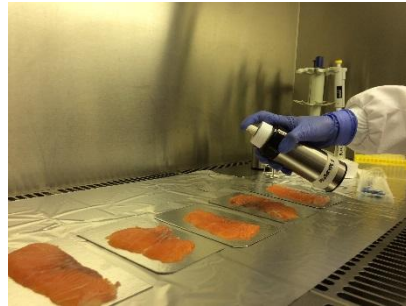
Inoculación

- Mezcla de 2 *Lm* (1/2a;4b)
- Cultivadas a 8 °C
- 50-100 ufc/g



Tratamiento

- PC1
- 10⁷ ufp/g
- MOI 10⁵



Almacenamiento

- Envasado vacío
- 2/3 vida útil 4°C
- 1/3 vida útil 8°C



Enumeración de *Lm*

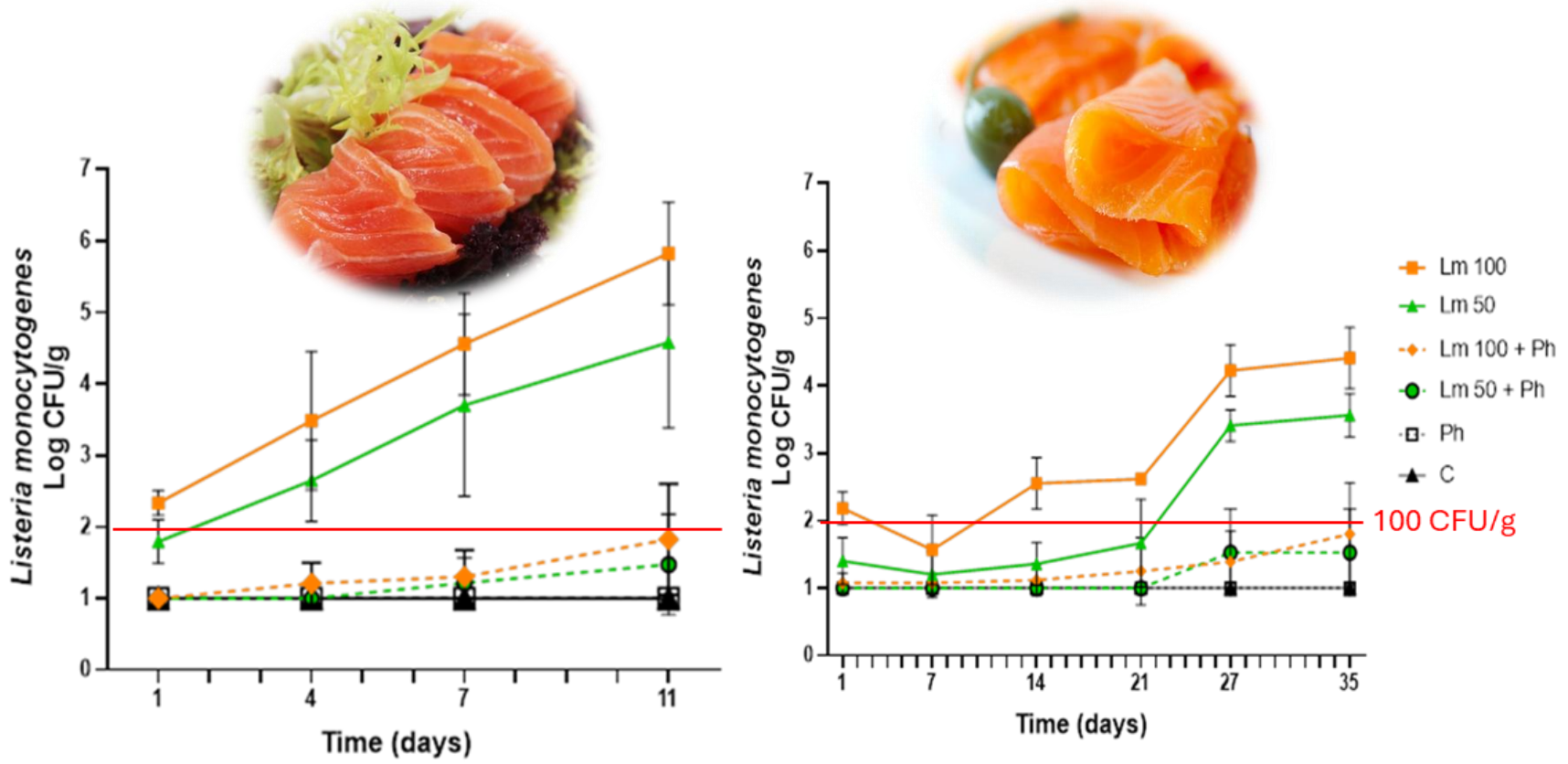
- Recuento en ALOA
- ≥ 4 muestreos
- 3 muestras/muestreo



SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA



2. RESULTADOS RELEVANTES : Fagos contra *Listeria monocytogenes*



El cóctel de fagos redujo la carga inicial de *L. monocytogenes*, que se mantuvo por debajo del límite legal de 100 UFC/g hasta el final de la vida útil del salmón crudo y salmón ahumado



SOLUCIONES NATURALES BASADAS EN BACTERIÓFAGOS COMO HERRAMIENTA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA

4. ACTIVIDADES DE DIFUSIÓN Y TRANSFERENCIA



	2021	2022	2023	2024	TOTAL
Patentes (PTC) solicitadas	-	1	-	-	1 + 1
Artículos científicos	-	1	1	1	3
Artículos técnicos - divulgación	1	1	1	1	4
Comunicaciones a congresos: Oral	1	3	4	4	12
Comunicaciones a congresos : Póster	-	1	1	1	3
Organización de congresos	1	-	-	1	2
Entrevistas radio / TV	2	1	1	1	5
Tutorización estancias > 6 meses	1	1	1	-	3
Co-dirección TFG (UPV-EHU)	1	-	-	-	1
Co-dirección TFM (UPV-EHU)	-	1	-	1	2
Co-dirección Tesis Doctoral (UPV-EHU)	-	-	-	1	1

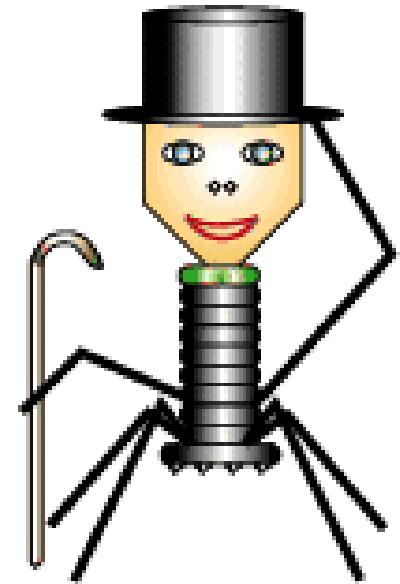
TRANSFERENCIA y EXPLOTACIÓN

En contacto con varias empresas biotecnológicas y productoras de microorganismos a nivel mundial:

- CAPV
- Nacional
- Europa
- USA
- Sudamérica



ESKERRIK ASKO!



Amaia Lasagabaster

alasa@azti.es