

REAL ACADEMIA DE DOCTORES

---

*AVANCES Y RETOS DE LA MICROBIOLOGÍA  
A FINALES DE SIGLO*

DISCURSO  
pronunciado por el

**Excmo. Sr. Dr. D. Julio Rodríguez Villanueva**

en el acto solemne de recepción como Académico de número  
de la Real Academia de Doctores el 22 de Octubre, 1997

y  
CONTESTACIÓN  
del

**Excmo. Sr. Dr. D. Rafael Cadórniga Carro**



MADRID, 1997



## Í N D I C E

AVANCES Y RETOS DE LA MICROBIOLOGÍA A FINALES DE SIGLO . . . . .	9
La importancia de la Microbiología . . . . .	10
La aportación de los microbios . . . . .	13
La Microbiología de nuestros días . . . . .	15
La Microbiología en perspectiva . . . . .	17
La oferta de las levaduras como materiales de investigación biológica . . . . .	18
La historia resumida de la Microbiología Española . . . . .	21
La investigación sobre levaduras y hongos en España . . . . .	24
Resumen final sobre la Micología . . . . .	46
Infecciones fúngicas en España . . . . .	49
El reto de las enfermedades infecciosas . . . . .	50
La enfermedad del SIDA . . . . .	58
Las infecciones de tuberculosis . . . . .	61
El desarrollo de las hepatitis víricas . . . . .	64
Las enfermedades infecciosas y la investigación biomédica . . . . .	65
Mecanismos de resistencia a los agentes antimicrobianos . . . . .	66
CONTESTACIÓN AL DISCURSO DE INGRESO . . . . .	71



# AVANCES Y RETOS DE LA MICROBIOLOGÍA A FINALES DE SIGLO

*Excmo. Sr. Director*

*Excmos. Sres. Académicos*

*Señoras y Señores*

Ante el honor de ser admitido en esta Real Academia de Doctores, deseo en primer lugar, expresar mi profundo agradecimiento por la gran distinción que para mí supone este hecho. Llego a esta Academia para ocupar la vacante de la Medalla núm. 6 de la Sección de Farmacia de esta Corporación y a propuesta de los Excmos. Sres. Dres. D. Angel Santos Ruiz, D. Miguel Dean Guelbenzu y D. Luis Adaro Ruiz-Falcó, por lo que deseo manifestarles mi más sincero agradecimiento. Con algunos de estos destacados académicos he compartido actividades en la Real Academia de Farmacia y con anterioridad he recibido enseñanzas a lo largo de mis estudios ya lejanos de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Madrid. Al preparar este discurso me ha parecido oportuno hacerlo en un campo como el de la Microbiología que he cultivado a lo largo de los últimos 45 años, primero en la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Farmacia en la Universidad de Madrid y después en la Universidad de Cambridge y en el Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC de Madrid, para concluir en la Universidad de Salamanca a la que me incorporé en Enero de 1967.

A lo largo de mi exposición me he propuesto abordar varios temas importantes del área de la Microbiología iniciándola con una amplia introducción a la materia, seguida de un breve resumen del desarrollo de la

Microbiología en España, si cabe más desde la experiencia, incluyendo un amplio apartado sobre la contribución de varios grupos de jóvenes especialistas en el área de las levaduras y hongos, campo que personalmente hemos frecuentado a lo largo de muchos años. Posteriormente y como colofón a esta intervención haré referencia a un tema que desde hace tiempo me ha preocupado personalmente, cual es el problema del desarrollo de resistencia a los agentes antimicrobianos, especialmente los antibióticos, por los quebraderos de cabeza que está produciendo en amplios sectores hospitalarios y clínicos y que con tanta fuerza están afectando a la sociedad.

### **La importancia de la Microbiología**

Algún biólogo destacado ha subrayado recientemente que, para entender los microorganismos, los científicos dependen de la bioquímica y de la biología molecular, pero es al mismo tiempo gratificante ver que, de forma creciente, los biólogos moleculares aprecian la extraordinaria diversidad de los microorganismos como origen de excelentes estudios y motivo de interesantes cuestiones. La Microbiología demanda también conocimientos de fisiología, genética, biología de poblaciones, ecología e incluso sobre la evolución, de tal forma que exige la continua expansión de los conocimientos de los que la practican. Por esta razón, el editor de una de las obras más caracterizadas de la especialidad, los “Annual Review of Microbiology”, publicadas en Palo Alto, California, afirmaba recientemente que todos los biólogos, incluso todos los científicos, son bienvenidos a la Microbiología, un campo en el que los “visitantes” tienden a quedarse y permanecer. Para los que llevamos algunas décadas dedicados a la Microbiología es altamente gratificante ver el interés que ha ido despertando esta ciencia y apreciar los estímulos que se reciben tanto de los grandes maestros de la microbiología, como de los continuos y trascendentes avances científicos que se están alcanzando en este campo.

Desde hace años soy un apasionado lector de artículos y de obras modernas de Biología y especialmente de las relacionadas con la Microbiología.

Mi curiosidad por el mundo microbiano y especialmente por las bacterias, ha ido creciendo sin cesar. En el Prólogo a una de las ediciones de la obra de Roger Y. Stanier y colaboradores de la Universidad de California, titulada "The Microbial World", y que nosotros hemos traducido en varias versiones, se puede leer: "Hace unos cien años, Pasteur puso de manifiesto el papel de los microorganismos en la Naturaleza y su importancia para el bienestar de la Humanidad. Sus sucesores, más relacionados con el segundo aspecto que con el primero, hicieron girar la microbiología hacia un campo floreciente de ciencia aplicada que fue evolucionando completamente aislado del resto de la biología. Cuando apareció la primera edición de "El Mundo de los Microbios", este largo aislamiento iba llegando a su fin. Nuestra obra tenía la finalidad de acelerar el cambio, presentando la Microbiología dentro del marco de los conceptos y de los hechos de la biología general". Y se podría añadir que, a partir de entonces, la biología ha sufrido una sorprendente revolución en la que las bacterias y los virus (después también las levaduras y algunos hongos filamentosos) han sido los objetos materiales de estudio a través de los cuales se fueron descubriendo las bases moleculares de la función celular.

Figuras eminentes de la microbiología de finales del siglo pasado tenían demasiadas limitaciones para poder apreciar la función de los microorganismos en la Naturaleza. Los métodos de obtención de cultivos puros debidos a Roberto Koch y su grupo de colaboradores, permitieron sentar las bases del aislamiento y caracterización de los seres microscópicos, principalmente de las bacterias. En poco más de una década, el estudio del papel desempeñado por las bacterias como agentes infecciosos centró el interés microbiológico de aquella época. Establecer el papel fundamental que desempeñan los microorganismos en los ciclos biológicamente importantes de la Naturaleza fue tarea ardua y difícil, emprendida por algunos destacados microbiólogos, principalmente del ámbito europeo, a medida que avanzaba nuestro siglo. Gran parte del protagonismo pasó luego a manos de grandes figuras de la microbiología americana, que trabajaban en las Universidades y algunas en la industria, principalmente la farmacéutica. Con el paso del tiempo, se fue observando

que los microorganismos presentan una amplia diversidad biológica, y que muchos grupos están especializados en la realización de transformaciones químicas que no pueden llevar a cabo ni las plantas ni los animales. Esta es la razón fundamental por la que se ha atribuido a los microorganismos un protagonismo y un papel clave en la renovación de la materia de nuestro planeta.

Actualmente se reconoce que existen ejemplos notables de especialización fisiológica microbiana, tanto entre las bacterias denominadas autótrofas como entre las heterótrofas. El desarrollo de técnicas para su aislamiento y estudio mediante la puesta en práctica de los “cultivos de enriquecimiento”, la aplicación en microescala de la selección natural, ha sido fundamental para el conocimiento de sus diversas funciones fisiológicas. Estas técnicas constituyen uno de los más poderosos instrumentos de experimentación en manos del microbiólogo, algo en lo que siempre hacemos hincapié ante nuestros alumnos de la especialidad, pues, en cierto modo, junto con las técnicas de obtención de cultivos puros, han supuesto la clave para caracterizar a todos y cada uno de los microorganismos aislados y luego aprovecharlos en la industria o bien en la moderna biotecnología.

Actualmente un gran número de obras de microbiología o relacionadas con ella, muestran la importancia de los microorganismos tanto por sus propiedades bioquímicas como por su diversidad fisiológica y morfológica. En las décadas últimas se ha puesto a punto una amplia variedad de técnicas basadas en la selectividad y en los cultivos de enriquecimiento, desarrolladas por la Escuela de Delft bajo el influjo de esas grandes figuras de la Microbiología como Beijerinck, Kluyver y van Niel. Sus ya amplios y siempre crecientes conocimientos sobre el desarrollo y la diversidad de los microorganismos, se han transformado en una fuerza decisiva para el diseño y la aplicación de nuevos métodos, de gran utilidad para la captura y aislamiento de microbios de la naturaleza. De hecho, el destacado microbiólogo Mortimer P. Starr, de la Universidad de California y principal editor de la famosa obra “The Prokaryotes”, editada

en 1981 por Springer-Verlag, subraya en el prólogo de la misma, que “la fisiología, la bioquímica y la ecología de los microbios constituyen las facetas más atractivas para el científico”.

Dado que posiblemente la historia de los microorganismos abarca unos 4.000 millones de años, no sorprende que, ante la gran diversidad de seres microscópicos que existen en nuestros días, un científico tan prestigioso y de la categoría de Van Niel, con toda una vida dedicada a la Microbiología, comentara con frecuencia ante sus alumnos “cuan apasionante es observar una muestra de microorganismos recogida de la Naturaleza y comprobar que sólo es posible reconocer unos pocos de estos seres vivos”. Es por ello interesante subrayar con Mortimer P. Starr, que el número de microbios ahora “domesticados y guardados en cautividad” representan tan sólo una reducidísima parte de los que realmente existen y viven en el ambiente, en un grado de competencia y de interacción realmente formidable. A pesar de ello, es evidente el progreso continuo de las ciencias microbiológicas y su impacto en numerosos campos.

### **La aportación de los microbios**

La evolución de los estudios con microorganismos en los últimos años ha sido considerable. Actualmente se estudian los problemas más complejos y difíciles del crecimiento y de la división celular utilizando microorganismos, especialmente bacterias. Las células de muchos de estos seres crecen individualizadas, separándose después de la división celular y, por ello, resulta sencillo cultivar y aislar organismos unicelulares en condiciones bien definidas. A diferencia de lo que ocurre con las células o tejidos de organismos superiores, que requieren una variedad de factores de crecimiento y medios complejos, muchas bacterias crecen en un medio simple y bien definido, y se prestan a toda clase de estudios y manipulaciones en el laboratorio. Por todas estas razones, en las últimas décadas, los esfuerzos de los científicos se han concentrado en unos pocos tipos de bacterias, situándose claramente en vanguardia *Escherichia coli* y organismos

afines. Precisamente por su simplicidad, facilidad de cultivo y carencia de patogeneidad, esta bacteria se ha constituido en el ser vivo más estudiado en la actualidad, si se exceptúa el hombre. Sin unas razones demasiado importantes, en el fondo casuales, *E.coli* se ha transformado tal como ha afirmado el Premio Nobel James D.Watson, en el organismo por excelencia de la moderna Biología Molecular, ciencia a la que ya ha proporcionado copiosos frutos.

Cuando se intenta abordar la moderna Biotecnología es preciso subrayar que una de sus principales facetas, la ingeniería genética, se ha desarrollado básicamente gracias a estudios realizados con microorganismos. De hecho son muchas las ventajas con que cuentan los microorganismos sobre otro tipo de células y que los hacen sumamente adecuados para esta clase de investigaciones. A diferencia de lo que sucede con las células vegetales o animales, que se multiplican lentamente y son muy exigentes desde el punto de vista nutricional y de difícil cultivo, los microorganismos y especialmente las bacterias, se cultivan y crecen fácilmente, incluso a gran escala en voluminosos tanques de fermentación, sin olvidar que presentan una gran versatilidad para la utilización de muy variados y diversos sustratos, aspecto éste de gran importancia en biotecnología.

Es preciso subrayar que los avances logrados en citogenética de las levaduras han hecho que este grupo de microorganismos pase a ocupar un lugar importante en los actuales estudios de ingeniería genética, dada la facilidad con que hoy se realiza toda clase de manipulaciones genéticas y clonaciones moleculares. Pero existe otro grupo de microorganismos, los virus, que ofrecen también un interés biológico grande dentro de la biología molecular y la moderna biotecnología, sobre todo al actuar como vectores de clonación en numerosos experimentos de ingeniería genética. De hecho los virus, y más concretamente los bacteriófagos, han sido utilizados para llevar a cabo la amplificación genética en los trabajos de manipulación genética. Los métodos modernos de análisis de secuencias nucleotídicas permiten ahora resolver series completas de nucleótidos de

cromosomas de distintas clases de fagos, facilitando así el formidable desarrollo de la moderna ingeniería genética.

En este apartado es interesante subrayar la importancia del desarrollo de las colecciones de microorganismos, dado el enorme interés que poseen con fines científicos e industriales. La conservación de microorganismos es un compromiso difícil pero necesario, y ahora, de cara a la biotecnología, de la mayor importancia ya que frecuentemente en las colecciones microbianas hay que manejar especies portadoras de vectores, plásmidos o virus de gran valor, que pueden plantear algunos problemas. El uso creciente de los microorganismos para la producción de sustancias de interés industrial sólo puede tener éxito si se dispone de cultivos fiables y auténticos y por ello existe una conciencia cada vez más firme de que las colecciones proporcionan recursos y servicios que son una decisiva aportación al desarrollo de la biotecnología. La red internacional de colecciones de microorganismos (en la que está integrada la Colección Española de Cultivos Tipo, la CECT, con sede en el Departamento de Microbiología de la Universidad de Valencia) puede ahorrar a los biotecnólogos una enorme cantidad de trabajo y de recursos económicos que será preciso evaluar adecuadamente ya que en estas colecciones siempre resulta posible encontrar el microorganismo que cumpla las exigencias deseadas para desarrollar un trabajo específico. Por otra parte, basta ver el formidable desarrollo alcanzado por las colecciones internacionales de microorganismos y de otros tipos de células especialmente por la American Type Culture Collection (ATCC), para apreciar en todo su valor las dimensiones alcanzadas y con ello valorar la colaboración que las colecciones prestan al moderno desarrollo de la Biología Molecular y de forma más concreta, a la moderna Biotecnología.

## **La Microbiología de nuestros días**

Las últimas décadas han sido testigo de una increíble revolución en nuestro modo de entender la estructura y la forma de trabajar de la maqui-

naria genética de las células vivas. Aunque las implicaciones teóricas de estos estudios se hicieron enseguida aparentes para los biólogos y químicos, los posibles beneficios prácticos de estos conocimientos en relación a la medicina, la agricultura y la industria, sólo han resultado evidentes en los últimos años. La ingeniería genética es una nueva tecnología que está revolucionando el estudio de la biología por lo que existe una gran expectación en cuanto a su impacto futuro. Las principales consecuencias de la aplicación de la ingeniería genética están produciendo su efecto en la industria farmacéutica y en la química, así como en la de la alimentación. Sin embargo, la principal y más directa beneficiaria es la biomedicina, seguida de la agricultura en su doble faceta vegetal y animal. Las biotecnologías se han beneficiado sobre todo de las técnicas del DNA recombinante, aplicadas a la microbiología industrial, la ingeniería genética se ha desarrollado sobre todo a base de estudios realizados con microorganismos. Los progresos de la biología molecular, el establecimiento de mapas genéticos de cepas microbianas de interés industrial, el desarrollo de la ingeniería genética en bacterias y levaduras y el gran avance en el conocimiento de las rutas biosintéticas que conducen a la producción de metabolitos de interés industrial o biomédico, permiten establecer métodos racionales para la obtención y selección de mutantes denominados superproductores. Tal como ya hemos indicado, el gran esfuerzo dedicado al estudio de *E.coli* constituye una de las razones principales del progreso de la biología molecular; estos avances son ahora seguidos por los logrados con *Bacillus subtilis* y *Sacch. cerevisiae* o con cultivos de células eucarióticas superiores realizados en el laboratorio.

Los descubrimientos que han llevado a poder acoplar genes de organismos que normalmente no se intercambian información genética y a introducirlos en microorganismos en los que estos genes foráneos pueden ser clonados y finalmente expresados, constituyen una de las series más profundas e importantes de descubrimientos científicos de la moderna era de la Ciencia. La aplicación de estos nuevos conocimientos ha de tener un enorme efecto sobre la vida y los seres vivos y para la solución de problemas que hoy ni siquiera se vislumbran. Obviamente los conceptos

derivados del estudio de la célula bacteriana han incrementado notablemente nuestras posibilidades de estudiar las propiedades de las células eucarióticas.

## **La Microbiología en perspectiva**

Un estudio actual de la Microbiología forzosamente nos obligaría a recordar la evolución y el desarrollo de esta rama de la Biología a lo largo de los últimos cien años comenzando por la caracterización de los microorganismos, principalmente las bacterias, y su papel como agentes causantes de las enfermedades que con mayor insistencia han afectado al hombre, sin olvidar el papel que desempeñan los microbios en el medio ambiente y posteriormente, ya bien entrado el siglo actual, en la utilización de las células microbianas, mayormente bacterias y levaduras, como modelos de los progresos de la vida y el uso de los microorganismos a nivel industrial, con sus amplias posibilidades de aplicaciones biotecnológicas. La reciente aparición de enfermedades serias mayormente originadas por virus (SIDA y hepatitis) sin olvidar los graves trastornos causados por los protozoos (caso de la malaria), cuando se consideraba ya superada la fase de las enfermedades infecciosas, ha hecho que la Organización Mundial de la Salud (OMS) tuviera que reconsiderar posiciones y se viera obligada a establecer nuevas perspectivas en la lucha contra las enfermedades.

Aunque sólo sea de forma abreviada, nos proponemos en esta intervención comentar algunos de los aspectos más interesantes relacionados con la Microbiología en España. Algunos autores han publicado en las décadas pasadas una breve historia de la microbiología desarrollada en los años treinta y cuarenta en nuestro país y que recordaremos, aunque más nos gustaría desarrollar aspectos relacionados con nuestras vivencias microbiológicas analizando el desarrollo a nivel del CSIC y, sobre todo, lo ocurrido en las dos últimas décadas en los departamentos de Microbiología de la Universidad española, sin olvidar, por supuesto, el formidable desarrollo de la microbiología industrial relacionada con la

producción de antibióticos. De otro lado, también consideraríamos pertinente un repaso a lo ocurrido en el formidable desarrollo de los Servicios de Microbiología de los grandes Hospitales en los Centros de la Seguridad Social, con un análisis suficientemente amplio de los objetivos y perspectivas de la Microbiología española, campo en el que forzosamente han de incidir las numerosas acciones de la Sociedad Española de Microbiología, hoy afortunadamente potenciada y estimulada hacia los más altos horizontes en el nivel internacional, así como por la nueva Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica que se muestra también activa en los sectores médicos y clínicos.

### **La oferta de las levaduras como material de investigación biológica**

Pero nuestro material de estudio en estos años han sido fundamentalmente las levaduras, las que se han constituido en el material de experimentación biológico casi ideal; nos adelantamos a subrayar que la aplicación de las técnicas de clonación que permiten la manipulación genética, han convertido a *S.cerevisiae* en el sistema experimental más versátil disponible hasta el momento para el estudio de la organización molecular de las células eucarióticas. Además, esta levadura reúne una serie de características que la sitúan en vanguardia de la investigación genética: Puede crecer tanto en estado haploide como diploide, siendo posible identificar fácilmente mutantes, aislarlos de los cultivos haploides, y ensayarlos enfrentándolos a otras células en estado haploide.

*Saccharomyces* crece de forma rápida, incluso en medios de composición casi definida. Su desarrollo en medio líquido permite la obtención de gran cantidad de células y grandes volúmenes de cultivo, pero si se desea, puede crecer sobre placas de medio sólido, lo que permite realizar análisis clonal y aislar mutantes nutricionales. Pero esta levadura presenta otra propiedad importante y casi definitiva, y es que los cuatro productos celulares haploides de la meiosis están contenidos en un asca, facilitando con

ello el análisis de todos los recombinantes de un único acontecimiento meiótico, algo que presenta un extraordinario valor para hacer mapas de recombinación en levaduras. De hecho, si el análisis genético en levaduras se caracteriza por su sencillez y elegancia, *Saccharomyces cerevisiae* es sin duda, uno de los microorganismos más atractivos para realizar estudios de manipulación genética en Microbiología.

La levadura está considerada actualmente como un organismo de amplio uso entre los que utilizan la tecnología eficientemente tanto en *Saccharomyces cerevisiae* como en *E.coli*, ha facilitado el libre intercambio de genes entre *E.coli* y la levadura. Además, aunque la bacteria es más adecuada para construir genotecas, muchos de los genes de la levadura funcionan de manera comparable en *E.coli* y este hecho ha facilitado mucho su aislamiento. De hecho miembros seleccionados de estas librerías genómicas pueden ser probados directamente en la levadura utilizando un vector lanzadera. De gran importancia, por último, es el hecho de que bajo condiciones selectivas apropiadas, el genoma de *Saccharomyces* puede integrar DNA transfectado, integración que tiene lugar en el sitio homólogo del genoma de la levadura. La levadura es, por ahora, el único organismo eucariótico en el que el DNA transfectado puede ser persuadido para que se recombine en el sitio homólogo del genoma del hospedador. Por otra parte, la posibilidad que ofrece *Saccharomyces* de aislar mutantes mitocondriales, ha hecho que este microorganismo sea realmente atractivo para el estudio de la genética molecular.

La Biología Molecular ha aspirado desde hace tiempo al estudio detallado de los mecanismos que gobiernan el funcionamiento de los genes dado que, en última instancia, la expresión génica es la base de todas las actividades celulares. Precisamente la introducción de una serie de técnicas de clonación molecular que propician el aislamiento, caracterización y manipulación de secuencias génicas, en conjunción con las técnicas genéticas clásicas, ha proporcionado gran información sobre genes de muchos organismos diferentes. Este hecho ofrece grandes esperanzas para el entendimiento de los procesos biológicos fundamentales. Pero aún se

puede decir algo más: Las cepas de levadura se encuentran bien caracterizadas desde el punto de vista genético y se dispone de mapas genéticos detallados de *S.cerevisiae* y de *Schizosaccharomyces pombe*, precisamente los dos tipos de células con las que más hemos trabajado.

La aplicación de las nuevas metodologías de la biología molecular en la manipulación de genes clonados ha abierto formidables posibilidades para profundizar tanto en la caracterización de secuencias particulares como en el análisis de los mecanismos que controlan la expresión génica en *Saccharomyces*, lo que ha conducido a algunas conclusiones generales acerca de los patrones de control que operan en este organismo.

En los últimos años se han depositado grandes esperanzas sobre la levadura, especialmente en el área de la biotecnología. No obstante, a pesar de que en algunos casos es posible la expresión directa en *Saccharomyces*, de material genético procedente de otros sistemas biológicos, la principal limitación que presenta la expresión funcional de genes foráneos parece ser de incapacidad que presenta la maquinaria biosintética y de elaboración de la levadura, para reconocer de forma eficiente las señales que controlan dicha expresión. Esto se traduce, en no pocos casos, en un bajo nivel de transcripción a partir de promotores heterólogos, en una elaboración incorrecta de los RNA mensajeros o en la secreción ineficiente de los productos formados. El mejor conocimiento de las secuencias que controlan la expresión de los genes homólogos ha permitido, sin embargo, la construcción de estructuras híbridas facilitando el que las levaduras puedan actuar de forma más eficiente sobre la síntesis de moléculas biológicamente activas, a partir de genes heterólogos.

A la vista de lo expuesto, queda patente el hecho de que *Saccharomyces cerevisiae* es un organismo especialmente bien dotado para llevar adelante el análisis de las funciones celulares. La facilidad y el rigor de su análisis genético permite al investigador aplicar el poder de la genética molecular a una amplia variedad de procesos bioquímicos y citológicos. Se confía en que muchos de los procesos revelados en la levadura

puedan proporcionar información útil sobre algunos de los mecanismos que operan en una gama más amplia de organismos eucarióticos. Algunas semejanzas entre los procesos que tienen lugar en levaduras y aquellos de células de plantas o animales pueden indicar vías experimentales útiles para abordar el análisis genético de estos últimos microorganismos.

## **La historia resumida de la Microbiología Española**

A lo largo de los dos últimos años han aparecido interesantes trabajos sobre la “Breve historia de la Sociedad Española de Microbiología de 1946 a 1995” elaborados por la doctora Concepción García Mendoza, Investigadora en Microbiología del Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC y antigua y apreciada colaboradora nuestra. Pensamos que la citada investigadora ha prestado un impagable servicio a los microbiólogos españoles al disponerse a beber en las fuentes originales de la Microbiología como son las actas de las reuniones de la Sociedad Española de Microbiología a lo largo de más de 50 años y en las que se recogen las actividades y acuerdos tomados por las diferentes Juntas de Gobierno de la SEM.

Y digamos para comenzar que la Dra. García Mendoza inicia y desarrolla esta actividad con ocasión de la celebración del cincuentenario de la SEM, Sociedad que fue fundada en 1946 en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas en Madrid. Esta ya histórica SEM cuenta en la actualidad con más de dos mil socios y dispone de una sólida tarea administrativa, aunque se reconoce que su desarrollo y crecimiento ha representado algunas serias dificultades afortunadamente ahora mayormente superadas.

En esta serie de artículos, la autora resume las principales aportaciones facilitadas por un conjunto de profesores e investigadores que con sus esfuerzos, no siempre reconocidos y apreciados, consiguieron consolidar y expandir la SEM que con los correspondientes y sucesivos cambios se

sitúa como la organización activa de hoy día en clara competencia, pero también de colaboración, con la otra gran y moderna sociedad biológica cual es la Sociedad Española de Bioquímica, Sociedad a la que pertenece un elevado número de microbiólogos de la SEM.

Como los interesados en el tema pueden fácilmente consultar los artículos originales de la doctora García de Mendoza publicados en la Revista Microbiología de la Sociedad Española de Microbiología, volúmenes 11 y 12, años 1995 y 1996, no consideramos necesario extendernos en esta conferencia como alguien podría considerar necesario. Sin embargo si nos parece oportuno y tal vez justo, reseñar los nombres de los que fueron sus iniciadores, la gran mayoría ya desaparecidos pero a los cuales debemos al menos un recuerdo de gratitud y respeto por los esfuerzos realizados en los años cuarenta y la gran visión demostrada al ser profetas del futuro y relativamente rápido crecimiento de la Microbiología española.

A algunos de nosotros que nos encontramos en los albores de la jubilación, aún nos suenan los nombres del Profesor Juan Marcilla Arrazola, primer presidente de la SEM, así como los de los Profesores Lorenzo Vilas López, Miguel Benlloch Martínez, Ricardo Salaya León, Pedro Carda Gómez, Gerardo Clavero del Campo, Arnaldo Socias y Eduardo Gallardo, entre otros. Es de destacar como a partir de 1946 la Sociedad celebró reuniones periódicas en las que, a modo de sesiones públicas, se presentaron numerosas comunicaciones científicas que se publicaron en la Revista Microbiología Española del Instituto "Jaime Ferrán" de Microbiología del CSIC y que fue fundada de forma paralela con la sociedad. Mencionar también que varios microbiólogos del Instituto "Jaime Ferrán" como los doctores Rubio Huertos, Román Vicente Jordana, Antonio Portolés, Gregorio Fraile, Genoveva Tejerina, Eulalia Cabezas y varios otros tomaron parte activa en el desarrollo de actividades de la Sociedad.

El inicio de la década de los años sesenta supone un cambio y en cierto modo un gran impulso para la SEM. En 1960 se funda bajo nuestra

dirección la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) que en años sucesivos inicia un largo peregrinaje por diferentes ciudades españolas. En 1962 también organizamos el I Curso de Bioquímica de Microorganismos concretamente en el CIB, para ser continuados más tarde en la Universidad de Salamanca. En ese mismo año tiene lugar la organización y celebración de la I Reunión Científica de Microbiólogos Españoles en el Salón de Actos del CSIC y bajo la dirección del matrimonio Rodríguez Villanueva. Esta primera reunión de microbiólogos sirvió para sentar el desarrollo y al mismo tiempo de estímulo para la Organización de reuniones posteriores. De hecho fue en noviembre de 1969 cuando tuvo lugar el II Congreso Nacional de Microbiología en Madrid acordándose con este motivo celebrar Congresos Nacionales cada dos años tal como se ha venido haciendo hasta este mismo verano en que se celebró el X Congreso Nacional de Microbiología en Barcelona. Y es a partir de los años sesenta cuando la SEM inicia el envío regular de delegaciones a participar en los diferentes Congresos Internacionales de Microbiología que tienen lugar en México, Moscú, etc. En 1972 tiene lugar la publicación del primer Boletín Informativo de la SEM, redactado bajo la dirección de los Profesores Julio R. Villanueva y Federico Uruburu en el Departamento de Microbiología de la Universidad de Salamanca. A partir de entonces este Boletín ha ido adquiriendo fuerza y personalidad de tal forma que periódicamente los microbiólogos españoles reciben esta valiosa publicación que recoge noticias varias y junto con la Revista de la SEM sirve de vínculo entre la SEM y todos sus miembros.

A lo largo de las décadas de los setenta y de los ochenta se potencia la SEM con la creación de “grupos especializados” en diversas áreas así como con la formación de “grupos regionales” que durante algún tiempo ponen en evidencia su fuerza y vitalidad si bien, en la última época, estos grupos regionales decaen hasta casi desaparecer tanto en sus funciones como actividad.

Mencionar por último, otra interesante actividad desarrollada por la SEM. Nos referimos concretamente a los “Ciclos de Conferencias de

Iniciación a la Investigación en Microbiología” organizados en diferentes ciudades españolas bajo la dirección de varios profesores e investigadores de la especialidad y que han supuesto un gran estímulo para la vocación de los jóvenes microbiólogos españoles, normalmente en el último año de sus estudios de licenciatura en carreras relacionadas con la Microbiología. Es de justicia resaltar que para la organización de tales cursos se contó siempre con el apoyo de la SEM y de la Fundación Ramón Areces que generosamente y de forma continuada, ha venido contribuyendo con ayudas especiales para financiar estancias y viajes de profesores y alumnos. Merece ser destacado que la participación en estos cursos ha sido nutrida, generalmente un grupo de jóvenes brillantes interesados en la microbiología provenientes de toda la Universidad española. El ambiente de interés y desarrollo de un estimable ambiente científico fue algo que predominó siempre en las diferentes sesiones.

### **La Investigación sobre levaduras y hongos en España**

Al comenzar este apartado, me adelanto a subrayar que una buena parte de él se va a referir al trabajo desarrollado en las últimas décadas por varios de nuestros antiguos colaboradores. Y lo hago así, de un lado, porque su trabajo lo conozco bastante bien y de otro, porque sin duda, todos ellos, en numerosos departamentos universitarios y del CSIC, han contribuido de forma destacada a desarrollar la Microbiología en España y en especial, lo que se refiere al campo de las levaduras y hongos filamentosos. Son muchos grupos los que en centros muy diferentes trabajan sobre todo con levaduras, algo que se puede apreciar por el elevado número de publicaciones que realizan. De forma especial nos referiremos con cierta profundidad al trabajo desarrollado por nuestro grupo en Salamanca.

Iniciamos pues el desarrollo de esta historia prácticamente a partir del año 1960, justo desde nuestro regreso de la Universidad de Cambridge, después de una larga estancia en esa conocida institución en la que tuvimos ocasión de adquirir una cierta formación complementaria a la

que habíamos conseguido durante nuestro doctorado en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas y, en parte, en el Departamento de Fitopatología de la Estação Agronómica Nacional de Sacavem, Lisboa. Hemos de aclarar que no consideramos necesario referirnos más a épocas anteriores por una doble razón: la primera es que no la conocemos con tanto detalle como la que vamos a analizar y, en segundo lugar, porque los interesados tienen a disposición un trabajo del Prof. Lorenzo Vilas, presentado en la Real Academia de Farmacia, titulado “Pasado, presente y futuro de la Microbiología” y publicado con fecha 21 de Mayo, 1964. Este trabajo se complementa con lo ya expuesto por nosotros en esta conferencia y recoge un estudio de la Microbiología Española y los grupos más significativos de aquella época de la geografía nacional que, aunque no eran muchos ni diversos, significaban el inicio de lo que en las décadas siguientes iba a representar un auténtico crecimiento de la Microbiología en general, hasta llegar a la formidable expansión del papel de los microbiólogos en nuestros días, puesto tan de manifiesto en la conmemoración del 50 Aniversario de la SEM, celebrado ahora hace precisamente un par de años en el Congreso Nacional de Madrid y del que muchos de los presentes hemos sido testigos y participantes. Y precisamente, coincidiendo con esta celebración, la Sociedad Española de Microbiología tenía ocasión de conocer la llegada a la Presidencia de la Federación Europea de Sociedades de Microbiología, que reúne a prácticamente todas las sociedades europeas de la especialidad, del Profesor Cesar Nombela Cano, uno de nuestros más apreciados discípulos y actual Presidente del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, en Madrid.

Dicho esto, es nuestro propósito ir centrándonos en el tema “La investigación sobre levaduras y hongos en España” y a título de recordatorio, mencionar los nombres y grupos de algunos destacados microbiólogos, trabajando en este campo de la Micología. En primer lugar, recordar la eminente figura del Profesor ingeniero Juan Marcilla, catedrático de la Escuela de Ingenieros Agrónomos de Madrid y formador de una sólida escuela de micólogos que se extendió al Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, el actual INIA, y que, en los años 1950 y 1960,

abordaron no pocas enfermedades producidas por hongos en el campo vegetal. Es importante subrayar que el profesor Marcilla fue el primer firmante del trabajo sobre levaduras de velo del vino de Jerez, prioridad reconocida en todos los trabajos de la especialidad. Y precisamente a, partir de esta escuela, surgen dos ó tres nombres importantes, uno el del Ingeniero Enrique Feduchy, investigador del CIB, excelente persona y gran especialista en el tema de las levaduras en flor, y el del no menos importante, Profesor Juan Santamaria, que a lo largo de muchos años constituyó un grupo de microbiólogos excelente, de los que alguno de ellos prosiguen su labor en la cátedra que trabajó sobre todo en el área de las levaduras, de muy diferentes procedencias pero mayormente relacionadas con la apicultura. Basta dar un vistazo a los volúmenes de la ATCC, pero de forma especial el dedicado a "The Yeast", para leer no sin cierta sorpresa la larga relación de especies clasificadas por el Profesor Santamaria y depositadas en tan importante colección internacional.

Parece también de rigor mencionar dos ó tres nombres más de micólogos con los que a nuestro regreso de Inglaterra tuvimos ocasión de mantener una excelente relación. De un lado, el Dr. José Garrido Márquez, así como a su buen colaborador y amigo el Dr. Iñigo Leal, que trabajando en el Instituto de Fermentaciones Industriales del CSIC, en la calle Castelló de Madrid, fueron capaces por entonces, de abordar importantes temas de fermentación industrial que iban a señalar la base de otros estudios posteriores más amplios y generalizados relacionados con las grandes bodegas de vinos españoles, sobre todo del área de Jerez. Precisamente en este grupo realizó su primera tesis doctoral el doctor David Vázquez, buen amigo, desaparecido ahora hace diez años. Es necesario recordar que a lo largo de los años sesenta, al adquirir nuevas estructuras el Patronato Juan de la Cierva, el mencionado Instituto se trasladó con todo su equipo y dependencias a las afueras de Madrid en la zona de Arganda, donde el CSIC realizaba una expansión de centros de investigación aplicada. Recordar, por último, dos nombres de levadurólogos destacados, como el Dr. J. Campomanes, que en los años 50 trabajaba en el grupo del Prof. Arnaldo Socias, tristemente desaparecido prematuramente y, el Dr. Carlos

Ramírez, excelente micólogo que pasó muchos años en Canadá y en los Estados Unidos y que, habiendo publicado numerosos trabajos en algunas revistas americanas, apenas dejó su huella en España por sus largas ausencias del país y tal vez, por su falta de arraigo. Y recordar, como no, la labor que en el Instituto Jaime Ferrán ha realizado hasta hace poco el Dr. Rafael Lahoz, formado en Londres con el destacado bioquímico el profesor Raistrick y dedicado de lleno al estudio del metabolismo de los hongos, sin olvidar al Dr. Domingo Rodríguez y demás colaboradores entre ellos la doctora Fuensanta Reyes.

Aunque sea de forma concisa no podemos por menos de reseñar también el impulso microbiológico dado en los años cuarenta con la creación de algunas industrias para la fabricación de antibióticos. En primer lugar, la gran empresa instalada en León ANTIBIÓTICOS, S.A. bajo la dirección científica del Dr. Alvaro Zugaza, y que ha contado con un excelente equipo técnico que logró poner en marcha una de las mejores plantas piloto del mundo para la investigación de desarrollo y que llegó a exportar más del cincuenta por ciento de su elevada producción de antibióticos. En esta industria han trabajado científicos y técnicos muy competentes en el manejo de hongos y actinomicetos, alcanzando niveles de producción de penicilinas y otros antibióticos de los más altos del mundo. También debemos mencionar a la otra gran compañía productora de antibióticos instalada en Madrid y Aranjuez bajo la denominación de CEPA, S.A. con un equipo de científicos también magnífico. Fue precisamente este laboratorio el que descubrió un importante antibiótico, la fosfomicina, que ha alcanzado altos niveles de producción y distribución por la empresa Merck americana.

Iniciándose la década de los sesenta, intentamos pues instalarnos en el Instituto Jaime Ferrán de Microbiología del CIB del CSIC, no sin dificultades y superando no pocos problemas. La inmediata incorporación de jóvenes investigadores de gran valía facilitó nuestra labor al poder contar con la colaboración de la que sin tardar mucho iba a ser la Dra. Concepción García Mendoza, así como la incorporación de Juan Antonio Leal y más tarde José Luis Cánovas y Emilio Muñoz, la primera oleada de jóvenes

científicos de otras muchas que iban a hacer evolucionar la Microbiología en España y que significaría un importante punto de partida para la amplia labor del grupo en nuestro país. A medida que pasaban los años, el grupo se iba ampliando con otros recién licenciados como Santiago Gascón y Amparo García Ochoa, Carlos Hardisson, Rafael Sentandreu y María Victoria Elorza, Gregorio Nicolás, Federico Uruburu y María Dolores García López, María José Rodríguez Aguirre, M.<sup>a</sup> del Carmen Romero, Juan Pedro García Ballesta, Antonio Jiménez, Rubens López, Claudino Rodríguez Barrueco, Paco López Belmonte, etc. que a lo largo de los años, fueron adquiriendo formación en un excelente ambiente de trabajo y de amistad aunque, a decir verdad, con bastante escasez de recursos. La mayoría de los jóvenes investigadores mencionados, al concluir su tesis doctoral en la Universidad, concurrían a diferentes convocatorias de becas para, una vez obtenidas, salir al extranjero a completar su formación bien en Universidades o en instituciones científicas europeas o en las americanas. La realidad es que, después de largas estancias fuera, regresaban a España para incorporarse a nuestros laboratorios, del clásico CIB (Centro de Investigaciones Biológicas) de Madrid, auténtico centro generador de microbiólogos, bioquímicos, genéticos y citólogos. Muchos de ellos, tuvieron la oportunidad de acceder a la Universidad de Salamanca, en donde en 1967 habíamos obtenido la cátedra de Microbiología de la Facultad de Ciencias y más tarde de la nueva Facultad de Biología. Inicialmente los Dres. Federico de Uruburu y M.<sup>a</sup> Dolores García López, y después, los Dres. Santiago Gascón y Amparo García Ochoa así como también los Dres. R. Sentandreu y María Victoria Elorza se instalaron en Salamanca. Por aquella época también el Dr. Carlos Hardisson junto con el Dr. Gregorio Nicolás optaban por regresar a Salamanca, después de una larga estancia en París y en Wisconsin, respectivamente.

Mencionados ya los nombres de un número de especialistas colaboradores hagamos referencia, de forma resumida, a los temas en que inicialmente nos ocupamos. Para entender mejor estos “orígenes” tal vez nos interesa recordar algunos aspectos personales que facilitará la comprensión de la evolución de las cosas.

Para nuestra segunda tesis doctoral, realizada en Inglaterra, habíamos trabajado con actinomicetos aislados del suelo, con actividad sobre nitroderivados aromáticos. Por aquella época, uno de nuestros colegas el Dr. Gabor Szabo, posteriormente Rector de la prestigiosa Universidad de Medicina de Debrecen, Hungría, y fallecido recientemente, trabajaba precisamente a nuestro lado en el problema de obtención de protoplastos de *Saccharomyces cerevisiae*, utilizando como agentes líticos enzimas proteolíticas. Día a día, tenía así la oportunidad de seguir sus experimentos y de esta forma aprender mucho sobre el tema. A nuestro regreso al CIB de Madrid, coincidieron nuestros interés con el de algunos colaboradores del Dr. Alberto Sols dedicados al estudio del transporte de azúcares en levadura. La mera coincidencia de las dos circunstancias anteriores vividas en la Universidad de Cambridge y el hecho de que, el grupo del doctor Sols tuviera serias dificultades a la hora de obtener protoplastos de levadura, hizo que nos interesáramos en el tema y desarrolláramos un claro objetivo, cual era aislar actinomicetos con actividades líticas, de muestras de suelos españoles. Fueron varios centenares las especies de Actinomicetos, principalmente del género *Streptomyces*, aisladas y a continuación ensayadas, para estudiar su capacidad de producir enzimas líticas, y en algunos casos de antibióticos. De esta forma llegamos al aislamiento y caracterización de una serie de cepas de gran interés, trabajo en el que mucho tuvieron que ver C. García Mendoza, M. J. Rodríguez Aguirre y M. D. García López. Más tarde, estas cepas iban a proporcionar excelentes resultados tanto para el grupo del Dr. Alberto Sols como para otros grupos nacionales así como para algunos extranjeros. Habiendo desarrollado potentes cepas productoras de enzimas líticas para la lisis de la pared celular tanto de levadura como de especies de hongos filamentosos, fueron algunos científicos extranjeros los que se interesaron por los resultados y más tarde se desplazaron ya a Salamanca para, de esta forma, poder beneficiarse de nuestra experiencia y de algunas de las actividades de nuestras cepas de *Streptomyces* con resultados de un cierto interés. En especial, quisiera mencionar el nombre del Dr. John Peberdy de la Universidad de Nottingham y el de la Dra. Remei Coudray de Suiza, que se beneficiaron de nuestras aportaciones con resultados realmente extraordinarios en la

obtención de protoplastos de hongos filamentosos. El Dr. Peberdy además, difundió a nivel internacional, no siempre con nuestro conocimiento, cepas líticas de *Streptomyces* aisladas y caracterizadas por nosotros.

Entre tanto, nuestros colaboradores que habían decidido quedarse en el CIB, así como los que se habían trasladado con nosotros a Salamanca, proseguían sus trabajos, cada vez más diversificados y especializados sobre estructura y función de la levadura, en especial realizando estudios sobre la pared celular, la membrana citoplásmica de levadura, aislada ésta y caracterizada por primera vez desde el punto de vista estructural, químico y morfológico por la Dra. García Mendoza, con resultados que luego iban a ser publicados en BBA y en otras revistas importantes, y utilizados como trabajos de referencia. Así mismo, varios de nuestros colaboradores en diversas ocasiones, y ya en otras universidades, profundizan e indagan en la caracterización de enzimas líticas de la pared celular así como en el conjunto de enzimas del grupo de las glucan y las quitin sintetasas, etc. Son centenares las publicaciones del grupo que han aparecido desde los años sesenta, generalmente en revistas internacionales.

Llegado este momento, como consecuencia de lo mencionado, dos aspectos quisiera recordar. De un lado, el incremento a lo largo de los años 70 y 80 de los núcleos de investigación en levaduras y hongos en España, y de otro, la gran cantidad de escuelas que se establecen en diferentes Universidades españolas, al ir obteniendo cátedras muchos de nuestros brillantes colaboradores y de otros grupos de Barcelona, Sevilla, Granada, etc. De esta forma, en esos años, inician su labor en Oviedo, los grupos de Carlos Hardisson y Santiago Gascón, en Valencia, Rafael Sentandreu y María Victoria Elorza en la Facultad de Farmacia, mientras que en la de Biológicas lo hacen Federico Uruburu y María Dolores García López. Entre tanto, se traslada a Santiago de Compostela el Dr. Tomás González Villa que había trabajado en la Universidad de California con el gran especialista en levaduras, el Prof. Phaff durante varios años, para posteriormente desarrollar una excelente labor en el área de las levaduras de los vinos gallegos y en especial sobre el vino

Albariño. En estos momentos el tema principal que estudia su grupo es la distribución ecológica y caracterización genético-molecular de cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, aisladas en mostos y vinos de Galicia. También persiguen la evaluación de su potencial en la industria enológica, sobre la base de que ya se cuenta con dos cepas industriales para la fabricación de vinos aromáticos.

Destacar también que los Dres. Juan Francisco Martín y Paloma Liras, seguidos por José Antonio Gil, se establecen en la nueva Universidad de León llegando a configurarse como una de las más potentes escuelas españolas de Microbiología aplicada y Biotecnología, con un amplio grupo de jóvenes investigadores que llenos de entusiasmo e ilusión realizan tesis doctorales, publican trabajos y firman convenios con numerosas empresas nacionales e internacionales de la especialidad. Su producción científica y actividades son bien conocidas de todos. Por otra parte el doctor José María Luengo se integra en Antibióticos, S.A. y más tarde en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de León trabajando en colaboración con el profesor A. Reglero.

En la Universidad de Alcalá de Henares inicia su labor el Dr. Fernando Laborda que, sobre todo, en los últimos años, adquiere una gran fuerza en el área del "biodeterioro" aunque alguno de sus colaboradores también trabaja con hongos. En la Facultad de Biología de la Universidad de Murcia se instala el Dr. Mariano Gacto en donde, superando no pocas dificultades, se ha ido afianzando al publicar en los últimos tiempos algunos trabajos relevantes sobre el metabolismo de la trehalosa por levaduras, principalmente con *Schizosaccharomyces pombe*. De igual forma se sitúa en la Universidad de La Laguna el Dr. Luis Rodríguez que con su esposa la Dra. Teresa Ruiz, inician su labor con las levaduras, publicando recientemente trabajos sobre la clonación y análisis de secuencias del gen de la invertasa INV1 de la levadura *Pichia anomala*. En estos momentos este grupo también aborda el aislamiento de genes "sec" implicados en la secreción en *C.albicans* y en *Schizosaccharomyces pombe*.

Mencionar también el grupo del Dr. Germán Larriba, en Badajoz, Universidad de Extremadura, que no siempre en un clima propicio, intenta superar dificultades para afianzar su capacidad de trabajo y de tesón demostrado a lo largo de los años. Las levaduras han sido en todo momento su material de estudio como se puede comprobar por sus publicaciones en relación a *S.cerevisiae*, siempre en buenas revistas. El grupo del doctor Larriba ha estudiado la naturaleza química y ruta secretora de la exoglucanasa mayoritaria de *S.cerevisiae*. Estudios por resonancia magnética nuclear han servido para caracterizar esta enzima. El conocimiento preciso de las características de esta molécula con la posible identificación de las glicofomas la convierte en un excelente marcador para estudiar procesos de glicosilación y secreción, habiendo sido incorporada al Proyecto Europeo EUROFAN. El grupo de Larriba ha iniciado así mismo estudios de búsqueda de genes de meiosis y dimorfismo en *Candida albicans* que pueden ofrecer interesantes resultados.

Y de forma más general se podría decir, en parte como consecuencia de la política científica central y autonómica desarrollada en los últimos años en España, se han formado en Universidades y Centros de Investigación un buen número de excelentes biólogos moleculares. Esta realidad se confirma fácilmente al revisar revistas de alto impacto y comprobar el elevado número de artículos firmados por investigadores españoles que trabajan generalmente en ámbitos relacionados con la bioquímica, la microbiología y la genética. Y habrá que reconocer que muchas de las aportaciones importantes efectuadas en estas áreas han sido llevadas a cabo por microbiólogos y entre estos, posiblemente vale la pena destacar un buen número de especialistas del campo de los hongos, principalmente trabajando con levaduras. Más adelante haremos un breve resumen de la labor de diferentes grupos de levadurólogos españoles y de esta forma, podremos apreciar el elevado número de grupos existentes y sobre todo, la calidad de los trabajos que se realizan.

No hace falta explicar que debido a que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* presenta un gran interés para la industria, esta especie ha

recibido en todo el mundo una atención particular y el conocimiento científico sobre ella es bastante mayor que el logrado sobre otras especies de levadura. Además, el trabajo desarrollado en relación a la secuenciación del genoma de esta levadura, al que luego nos referiremos, ha añadido un nuevo interés al campo. Sin embargo, como recientemente ha subrayado el Dr. Carlos Gancedo, en un excelente artículo sobre “La glicolisis en levadura, cien años después de Büchner”, incorporado a la interesante obra “Microbiología y Genética Molecular”, editada por el doctor Casadesus, bajo el patrocinio de la SEM y la Universidad de Huelva, gran parte del conocimiento no se ha logrado estudiando cepas de uso industrial, sino cepas de laboratorio, debido a que las levaduras industriales presentan características que las hacen difíciles de utilizar para ciertos estudios aunque, a decir verdad, afortunadamente la mayoría de los resultados obtenidos con las cepas de laboratorio son perfectamente aplicables a las de uso industrial.

El mismo doctor Gancedo ha subrayado al abordar el metabolismo de la levadura que su conocimiento es menor de lo que habitualmente se piensa. Quedan por resolver numerosas cuestiones de tipo cualitativo y cuantitativo, fundamentales para comprender como funciona la levadura y como podemos modificarla para nuestro interés y uso. Problemas como el del transporte de los azúcares y su influencia en la fisiología de la célula, la determinación de las señales producidas por la glucosa, y aclarar el mecanismo de su acción sobre el control metabólico, quedan aún pendientes de resolver, si bien la contribución de la genética clásica, la biología molecular y la misma bioquímica pueden llegar a ser decisivas a la hora de responder a muchas de estas preguntas.

Gran parte de los avances producidos en el campo de la división celular en los últimos años, han sido consecuencia del análisis genético y molecular de este proceso en las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y *Schizosaccharomyces pombe*. La posibilidad de ser sometidas a análisis genético, unida a que poseen una fase haploide estable, ha permitido la obtención de mutantes defectivos en los genes implicados en el proceso

de división celular. El análisis de estos mutantes ha permitido clonar los genes implicados en este proceso y establecer que las transiciones entre las fases G1/S y G2/M están controladas por la activación de proteína quinasa codificadas por determinados genes. Este trabajo del Dr. Sergio Moreno y su grupo responde a un proyecto de investigación sobre “Regulación negativa de la proliferación celular” que patrocina la Fundación Ramón Areces.

Pero aún tenemos que referirnos al trabajo de algunos de los grupos que trabajan en micología. El equipo del profesor Sentandreu, en la Universidad de Valencia centra sus investigaciones en la morfogénesis celular. Para ello estudia desde la recepción de señales hasta la construcción de las paredes celulares de varias especies fúngicas. Se han clonado varios genes cuyos productos forman parte de la pared celular (un posible receptor de la laminina de *Candida albicans*, una proteína específica de *Yarrowia lipolytica*, una proteína de 140 kDa de *Saccharomyces cerevisiae*,...). Además se están estudiando los clones positivos obtenidos del rastreo de genotecas con sondas inmunológicas y de DNA de proteínas implicadas en la transducción de señales. Se continúa con los estudios de ensamblaje de las macromoléculas de la pared celular, efecto de antibióticos y caracterización de anticuerpos monoclonales, algunos de ellos ya comercializados.

En la Universidad de Oviedo existen potentes equipos científicos en Microbiología y en Bioquímica. El grupo de investigación de los profesores Santiago Gascón, recientemente desaparecido, y Fernando Moreno de la Universidad de Oviedo ha venido trabajando durante los últimos años en un proyecto que tiene dos objetivos principales: (1) Diseñar un sistema eficaz in vivo para estudiar la localización, vida media y expresión de proteínas heterólogas en levaduras. (2) Establecer a través del análisis molecular de la represión inducida por glucosa en *Saccharomyces cerevisiae*, el mecanismo de transducción de la señal “glucosa” desde el medio extracelular hasta el núcleo celular. A corto plazo, este estudio contribuirá a mejorar el conocimiento de los mecanismos de control transcripcional de los

organismos eucariotas. A largo plazo se pretende llegar a adquirir un buen conocimiento de los elementos reguladores, en *cis* y en *trans*, que controlan la expresión génica en los eucariotas inferiores. El logro de esta meta permitirá diseñar un promotor “a la carta” que sea capaz de controlar la expresión de un gen heterólogo de la forma más adecuada para mejorar la producción biotecnológica de proteínas de interés sanitario e industrial.

Recordar también el trabajo del Dr. Enrique Herrero y colaboradores, anteriormente en Valencia y actualmente en la nueva y a la vez antigua Universidad de Lérida, y en el que aborda, como las levaduras y en particular *Saccharomyces cerevisiae* como especie más estudiada, utilizan mecanismos comunes a los empleados por bacterias y células superiores para traducir señales ambientales e integrarlas en forma de respuestas metabólicas y/o proliferativas. Son estos autores los que subrayan la posibilidad de que las levaduras posean sistemas complejos que relacionan los estímulos externos con las respuestas fisiológicas, lo que les permite una adaptación rápida y eficaz frente a situaciones cambiantes, incluidas las que conllevan la invasión de organismos superiores en el caso de especies patógenas como *Candida albicans*.

Aunque últimamente no he seguido las investigaciones del Profesor Enrique Montoya en la Universidad de Granada, tristemente desaparecido hace unos meses, recordar al menos su labor de hace años con las denominadas levaduras “petit” sobre las que publicó varios trabajos.

En forma resumida, consideramos conveniente mencionar también la labor realizada por el grupo del Departamento de Genética de Sevilla. De todos es conocida, la brillante trayectoria científica del Prof. Enrique Cerdá Olmedo que ha usado el hongo *Phycomyces blakesleeanus* como organismo modelo en estudios de conducta, síntesis de carotenos, desarrollo multicelular y fotobiología. Con la obtención de mutantes y su disección genética sentó las bases para el estudio de las respuestas sensoriales de *Phycomyces*, integrando en un árbol de flujo de información los diferentes estímulos (luz, gravedad, presencia de objetos, etc.) con las

diferentes respuestas (tropismos, mecismos, forogénesis, carotenogénesis, etc.). Gracias al uso de mutantes alterados en la carotenogénesis y al desarrollo de las técnicas de complementación cuantitativa, Cerdá Olmedo y su grupo ha desarrollado notoriamente el estudio de la biosíntesis de los carotenos en *Phycomyces* y sus mecanismos de regulación. La formulación de un agregado de enzimas carotenogénicas que funcionan como una cadena de montaje, así como el esclarecimiento de los distintos mecanismos de regulación ha conducido a que la regulación de la síntesis de beta caroteno en *Phycomyces* sea una de las mejores conocidas en organismos eucarióticos. Desde hace unos años se trabaja en el grupo del Prof. Cerdá con el hongo *Gibberella fujikoroi* en la biosíntesis de carotenos y en la producción de gibberelinas, sustancias que promueven el crecimiento y que regulan varios estadios en el desarrollo de plantas.

En esta misma línea ha venido trabajando también en Salamanca el profesor Arturo Pérez Eslava, Catedrático de Genética, y su grupo con resultados realmente importantes. Sus trabajos han versado sobre disección genética de las respuestas sensoriales de *Phycomyces blakesleeanus* sobre el esclarecimiento del comportamiento meiótico y elaboración del primer mapa genético de *Phycomyces*, el único mapa existente dentro del orden de los Mucorales. También han estudiado la biosíntesis de carotenoides y regulación así como en el aislamiento de los genes implicados en *Phycomyces blakesleeanus* y *Mucor circinelloides* y la morfogénesis en *Mucor circinelloides*.

Y por último y no por ello menos importante, nos parece obligado mencionar al grupo, reducido en tamaño pero muy importante por la realización de trabajos, que ha encabezado la Dra. Tahia Benítez, actual catedrático de Genética en Sevilla. Su labor desde que abandonó nuestro grupo de Salamanca ha estado principalmente protagonizada por las levaduras habiendo realizado aportaciones decisivas al campo de la genética de levaduras del que ella es una reconocida especialista. El trabajo anterior en la Universidad de Salamanca durante el doctorado versó sobre *Trichoderma viride* con varias publicaciones de gran interés.

Es bien conocido el prestigio alcanzado por el grupo de los Dres. Cesar Nombela y Miguel Sánchez en la Universidad Complutense, con más de sesenta colaboradores de cierto nivel y con un "clima para la ciencia" excelente en su departamento madrileño de la Universidad Complutense. La categoría de la organización del XV Congreso Nacional de ahora hace prácticamente dos años y que todos hemos vivido, es fiel reflejo del excelente equipo investigador con que cuenta y lo que, para un próximo futuro, su proyección puede anunciar en la Microbiología española. Es también de todos conocido el alto nivel de las publicaciones de este grupo y, sobre todo, su interés por abordar temas de levaduras, sobre todo en el área de la genética molecular, que puede ofrecer interesantes perspectivas. Recordar al Prof. José Martínez Peinado por su trabajo con levaduras y ocupado ahora en temas de fermentaciones industriales y anteriormente con Nicolás van Uden del Centro de Biología de Oeiras, Portugal.

Centrémonos por último, en el trabajo realizado en otros grupos del Instituto de Microbiología-Bioquímica de Salamanca, en donde un buen conjunto de investigadores ha venido desarrollando en las últimas décadas, temas de enorme interés, tal como vamos a reseñar brevemente en algunos apartados, aunque en las páginas anteriores ya hemos hecho mención de algunos.

En nuestro centro Instituto de Microbiología de Salamanca vienen trabajando básicamente con levaduras y hongos del orden de 10 ó 12 grupos sólidos de investigación en donde, desde sus orígenes en 1967, uno de los objetivos principales ha sido la formación de jóvenes investigadores de cierto relieve. Los datos referidos a los últimos 25 años son más que elocuentes. En el período comprendido entre 1970 y el actual, se han desarrollado en nuestro grupo alrededor de 70 Tesinas de Licenciatura y realizado cerca de 100 Tesis Doctorales, y además mencionaremos que se han publicado en el período antes aludido del orden de 300 trabajos científicos, en su gran mayoría en revistas de reconocido prestigio internacional. Prácticamente sin excepción, todos los jóvenes una vez doctorados, han salido a continuación a completar su formación en centros y universidades,

tanto de Europa como de los Estados Unidos. Por supuesto, que un buen número de ellos han regresado a centros españoles reanudando la labor investigadora anteriormente desarrollada. Además, muchos de estos jóvenes investigadores, han colaborado de lleno en la docencia, sobre todo especializada a nivel del Tercer Ciclo o del Doctorado. Y para concluir, diremos que uno de los aspectos que más se ha cuidado en Salamanca es el ambiente científico, habiéndose implantado un sentido de la responsabilidad y del trabajo serio fácilmente detectable por cualquier persona que visita nuestro nuevo centro, situado actualmente en el nuevo Campus Miguel de Unamuno de la Universidad de Salamanca. Para nosotros, al afirmar estas palabras, supone la mayor satisfacción en ese objetivo prioritario establecido en la década de los sesenta de contribuir a elevar el nivel científico de la investigación española con un trabajo serio y al mismo tiempo conducido por jóvenes investigadores españoles bien seleccionados y en los que tratamos de imprimir ilusión por el trabajo científico y carácter investigador.

Destacar, como no, la ingente labor directiva-organizativa y de investigación del doctor Angel Durán y todo su grupo como autores de numerosas publicaciones y de contratos de investigación con grandes empresas biotecnológicas situadas en España. Al hacer referencia al grupo del doctor Angel Durán es obligado reseñar los nombres de los doctores Pilar Pérez, Cesar Roncero, Yolanda Sánchez, María Henar Valdivieso, Carmen Castro y Juan Carlos Ribas que han realizado un excelente trabajo con levaduras. Así de forma resumida, han procedido al aislamiento y caracterización de mutantes defectivos en el proceso de biosíntesis de quitina y su regulación en *Saccharomyces cerevisiae*. Aislamiento del gen estructural de la actividad quitin sintasa III (CHS3) responsable mayoritaria de la síntesis de quitina de la pared celular, a lo largo del ciclo de vida de la levadura de gemación. Clonación del resto de los genes implicados en su regulación (CHS4-CHS7) y estudio de su función. Aislamiento y caracterización de mutantes defectivos en el proceso de biosíntesis de (1,3) $\beta$ -D-glucano en *S.cerevisiae* y la levadura de fisión *Schizosaccharomyces pombe*. Aislamiento y caracterización del gen estructural de una actividad (1,3) $\beta$ -D-Glucan sintasa de *S.cerevisiae*.

Identificación de la GTP-asa Rho1 como el factor soluble regulador de dicha actividad en *S.pombe*. Estudio del modo de acción de agentes antifúngicos que afectan la biosíntesis del (1,3) $\beta$ -D-glucano, mediante el aislamiento y caracterización de genes cuya mutación determina la resistencia o hipersensibilidad a dichos agentes (papulacandina B y equipocandina B). Actualmente se intenta descifrar los mecanismos moleculares que conectan los procesos de biosíntesis de la pared celular fúngica con las cascadas de quinasas implicadas en procesos morfogenéticos tales como: gemación, conjugación, esporulación y osmorregulación. En definitiva, se trata de desvelar procesos morfogenéticos esenciales y específicos de la célula fúngica que permitan detectar nuevas dianas útiles en el diseño de nuevos agentes antifúngicos. En estos momentos me satisface informar que el Dr. A. Durán ha sido nombrado recientemente coordinador del Área de la Biología y Biomedicina del CSIC por el nuevo Presidente del CSIC.

Una breve mención a una reciente publicación del grupo de la Dra. Mercedes Tamame del Instituto de Microbiología-Bioquímica de Salamanca sobre el control general de la biosíntesis de aminoácidos en *Saccharomyces cerevisiae* como sistema modelo de regulación de la expresión génica en levaduras. Es un hecho que durante las últimas décadas se han puesto a punto sofisticadas técnicas de genética y biología molecular para esta levadura, que han facilitado extraordinariamente el aislamiento de numerosos genes, el estudio de su función y el de los mecanismos que regulan a distintos niveles la expresión de los mismos. La biosíntesis de aminoácidos y de proteínas (transducción) son dos procesos centrales en el metabolismo y consumen gran parte de la energía celular. En los dos procesos intervienen numerosos mecanismos de regulación que actúan a diferentes niveles y que son objeto de estudio por varios grupos de investigadores. Recordar así mismo el trabajo desarrollado con hongos por el grupo que dirige el Dr. Fernando Leal. Este grupo ha caracterizado varios antígenos inmunodominantes de diferentes especies de *Aspergillus*, analizando su papel en la capacidad patogénica de este hongo filamentoso oportunista. Uno de estos antígenos es una catalasa que protegería al hongo del daño oxidativo infligido por los macrófagos y neutrófilos.

Dentro de esta revisión de temas abordados por microbiólogos españoles me parece oportuno destacar los trabajos realizados últimamente por los Dres. Rosa Esteban y T. Fujimura, en el Instituto de Microbiología-Bioquímica del CSIC y de la Universidad de Salamanca, en los que se estudia un virus RNA de *Saccharomyces cerevisiae*. Precisamente una de las propiedades más características de los micovirus, según afirman estos autores, es que carecen de un ciclo infeccioso o etapa extracelular y se mantienen en las células como parásitos intracelulares obligados; su presencia, por tanto, pasa normalmente desapercibida, ya que a todos los efectos funcionan como un orgánulo subcelular. La ausencia de rutas extracelulares de transmisión parece ser debida a la facilidad que tienen en la naturaleza para pasar de una célula a otra mediante los procesos normales de intercambio de información genética existente en los hongos, tales como la fusión de hifas (o anastomosis), o mediante la conjugación en el caso de la existencia de grupos genéticamente diferentes y compatibles. El trabajo desarrollado por la Dra. Rosa Esteban y colaboradores sobre los RNAs responsables del sistema "Killer" ha despertado un gran interés. En el caso de los retrotransposones existen revisiones excelentes relativamente recientes.

Resulta de interés el trabajo desarrollado en estos años por el doctor Angel Domínguez Olavarri con varios de sus colaboradores como la doctora Mary Carmen López Cuesta y Carmina Rodríguez, casi siempre con levaduras, en la Universidad de Salamanca. Este grupo se centra actualmente en dos líneas de investigación, secreción de proteínas heterólogas en levaduras no convencionales (*Kluyveromyces lactis* y *Yarrowia lipolytica*) y análisis del dimorfismo en *Yarrowia lipolytica* y *Candida albicans*.

Y también es un placer resaltar la presencia frecuente en Salamanca y Valencia del doctor José Ruiz Herrera, investigador mejicano y prácticamente español por amistad con muchos de nuestros colaboradores, en especial de las Universidades de Sevilla, Extremadura, Madrid, Salamanca y Valencia. Ruiz Herrera ha contribuido mucho con su trabajo y su

ejemplo a consolidar a nivel internacional varios grupos de investigación con levaduras y hongos filamentosos. Nuestro aprecio personal hacia este gran científico iberoamericano es grande lo que manifiesto públicamente además de agradecerle su colaboración y generosidad con los grupos españoles con los que ha colaborado a lo largo de los años.

Contamos en el Departamento de Microbiología y Genética de la Universidad de Salamanca con un grupo que trabaja en Control Biológico y Diagnóstico de Hongos Fitopatógenos, y que surgió al regreso del Dr. Enrique Monte de una estancia postdoctoral en el International Mycological Institute, en Kew (Reino Unido). Junto a su directora de tesis, la Dra. Isabel García Acha, Profesora de Investigación del CSIC en el Instituto de Microbiología-Bioquímica, iniciaron, tras la incorporación al grupo de los doctores Isabel Grondona y Pablo García Benavides, una trayectoria de investigación aplicada en el ámbito de la Fitopatología que es ahora cuando empieza a dar sus frutos traducidos en tesis doctorales, tesis y publicaciones diversas. El trabajo inicial sobre caracterización morfológica, fisiológica, bioquímica molecular de *Phoma betae* y otras especies de *Phoma*, se ha visto continuado con un proyecto, coordinado por la Universidad de Salamanca y financiado por la Comunidad Europea, sobre “métodos de diagnóstico rápido de especies de *Colletotrichum* patógenas de fresa” que también cuenta como socios españoles a la CECT y a la Junta de Andalucía. Gracias a proyectos financiados por la CICYT, Fundación Ramón Areces, Junta de Castilla y León, y Artículos 11 LRU con empresas del sector fitosanitario, se han podido realizar, a nivel de campo, los primeros ensayos con semillas pildoradas con un agente de control biológico que, a escala industrial, se han realizado en España.

No es mi intención extenderme más sobre un aspecto de interés general aunque no específico para los interesados en el campo de las levaduras y hongos. Sin embargo, estamos casi obligados a mencionar unas palabras de reconocimiento a los Profesores Federico Uruburu y María Dolores García López, ambos antiguos colaboradores nuestros de la época de Madrid y más concretamente, el Dr. Uruburu, mi primer colaborador

docente e investigador en la cátedra de Microbiología de la Universidad de Salamanca. Con ocasión de nuestro traslado a esta histórica institución decidimos trasladar a Salamanca la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), que había sido creada en el CIB de Madrid a mitad de la década de los sesenta. Pues bien, la colección se traslada a Salamanca y después, a la Universidad del País Vasco al obtener el Prof. Uruburu la cátedra en la nueva Universidad. Más tarde, un traslado a la Universidad de Valencia hace que la colección se afiance y reciba apoyos de la propia Universidad y de la Comunidad. La labor realizada por el matrimonio Uruburu en Valencia ha sido ingente, consiguiendo no sólo unas excelentes condiciones en las nuevas instalaciones de la Facultad de Biología sino, sobre todo, pleno reconocimiento europeo e internacional. Reuniones, ayudas y apoyos y mucha colaboración, es lo que ha hecho que la CECT sea hoy una institución que puede llenar de orgullo a todos los microbiólogos españoles, pero de forma especial, a aquellos que mucho tuvimos que ver con su creación y puesta a punto en los lejanos años sesenta, en el CSIC de Madrid.

Es de todos conocido el amplio número de especies de levaduras y de hongos depositados y mantenidos por la colección española. Además, las habilidades del Dr. Uruburu han hecho que excelentes colecciones de especies de levaduras, como la desarrollada personalmente por el Prof. Juan Santamaría en la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, fueran al fin depositadas en la CECT y de esta forma, no se perdieran. A título simplemente informativo nos interesa resumir que la CECT mantiene actualmente un total de 1.500 especies de levaduras y una cifra que supera las 1.000 especies de hongos filamentosos de interés fitopatológico y general. Desde esta tribuna es nuestro deseo felicitar al matrimonio Uruburu por la excelente labor desarrollada con la CECT en favor de la Microbiología española.

Podríamos dar por concluida la intervención en estos momentos aunque para completar lo ya mencionado y con el fin de obtener una visión actual del estado en que se encuentran los estudios sobre levaduras y hongos, en este apartado nos hubiera parecido oportuno pasar revista a las

principales aportaciones realizadas por los diferentes especialistas a los Congresos Nacionales de Microbiología celebrados en España desde 1975, es decir, en los últimos 20 años. En su conjunto esta breve revisión tal vez nos hubiera servido para adquirir una conciencia más real del problema pero, para no extendernos, lo dejaremos para otro momento.

Habiendo hecho referencia a los Congresos Nacionales de Microbiología celebrados en España nos parece oportuno referirnos aunque sólo sea brevemente, a un aspecto de alguna forma potenciado desde el ámbito de nuestro grupo, primero en el CSIC de Madrid y después desde la Universidad de Salamanca. Nos referimos concretamente al tema de los protoplastos de hongos y levaduras. En la década de los sesenta y setenta habíamos sido invitados a escribir sendos capítulos sobre estos temas en las dos obras clásicas de Academic Press con título "The Fungi" (1966) y "Methods in Microbiology" (1971) en los que hacíamos una amplia revisión del tema "producción y uso de protoplastos de hongos" y en los que incluíamos toda nuestra amplia experiencia sobre estos temas del trabajo de varios años. Más tarde en 1972, éramos también invitados a organizar en la Universidad de Salamanca el Symposium Internacional sobre "Yeast, Mould and Plant Protoplasts" con amplia concurrencia de investigadores, mayormente europeos y americanos, que también era publicado por Academic Press en 1973. No cabe duda que los protoplastos de hongos alcanzaron en pocos años amplia difusión de interés inicial en el metabolismo y en la regeneración de la pared celular sobre todo de levaduras, que luego se extendió a temas como estructura y morfogénesis, biosíntesis y secreción de materiales de la cubierta celular y de las enzimas exocelulares, así como a la fusión y desarrollo de los protoplastos lo que en su conjunto ha servido para demostrar la utilidad de estas estructuras para estudios de bioquímica y biología molecular de estos organismos.

Nos queda una última pero al mismo tiempo destacada referencia, a incluir en este conjunto de actividades. Nos referimos a las contribuciones sumamente significativas realizadas por grupos españoles en lo que se refiere al desciframiento completo del genoma de *Saccharomyces cerevi-*

*siae*, anunciado el mes de Abril de 1996 en Bruselas. Los 6000 genes de la levadura agrupados en 16 cromosomas y escritos con 12 millones de caracteres han sido presentados como un trabajo de colaboración de más de 100 laboratorios de Europa, EE.UU., Canadá y Japón, marcando un hito sin precedentes al ser la primera vez que se conoce la secuencia completa del genomio de un organismo eucariótico. Este trabajo, y otros similares, representan el comienzo de una nueva era de la biología en la que la información genética obtenida a partir de microorganismos modelo abrirá las puertas al mejor conocimiento de organismos más complejos, permitiendo, entre otras posibilidades, la comprensión de las bases moleculares de un buen número de enfermedades en la especie humana. Ha supuesto para todos nosotros una inmensa alegría el que varios equipos de especialistas españoles, procedentes mayormente de Madrid así como de Salamanca, Valencia y Sevilla, hayan trabajado denodadamente en este proyecto europeo a lo largo de los últimos años. Nosotros, en Salamanca, a través de los equipos de los Dres. Francisco del Rey y José Luis Revuelta, en profunda asociación, hemos sido testigos de los logros obtenidos en un campo tan atractivo y de tanto futuro.

Un importante reto a la comunidad científica es, en la actualidad, el desarrollo de nuevos sistemas de análisis que permitan desmenuzar la ingente cantidad de información acumulada sobre la estructura del genoma de este organismo e identificar las funciones génicas que hasta el momento han escapado a las técnicas “clásicas” del análisis genético. En este sentido, la Unión Europea, dentro de su IV Programa Marco, ha aprobado el proyecto EUROFAN que tiene como objetivo el análisis funcional de nuevos genes descubiertos por secuenciación sistemática del DNA. Con la participación de 134 laboratorios de la Unión Europea más de 13 laboratorios de países no pertenecientes a la Unión, EUROFAN representa el mayor proyecto de colaboración científica jamás ensamblado, y se ha establecido una relación estrecha con una plataforma industrial denominada YIP (Yeast Industrial Platform) en la que se encuadren las empresas interesadas en la explotación comercial de los datos y “productos” generados en el proyecto. En esta nueva fase, la contribución científica

española es aún más significativa tras la incorporación de nuevos grupos de distintas Universidades y de reconocida experiencia en el área de la biología molecular de este organismo. Los recursos generados por los derechos de propiedad intelectual de EUROFAN serán destinados a un consorcio denominado “EUROFAN trust” que tendrá como objetivo la promoción de la investigación en levaduras en la Unión Europea mediante la concesión de becas a jóvenes investigadores. Los grupos de investigación españoles incluidos en este proyecto coordinado son, pues, generadores y beneficiarios, a través de su participación, de todos los recursos y beneficios científicos y sociales derivados del proyecto EUROFAN.

Y ya mencionar, por último, la reciente constitución de lo que se denomina Red Española de Levaduras, dependiente de la CICYT, en la que se reúnen los responsables de proyectos o empresas que han respondido a una encuesta y que se agrupan en los siguientes apartados: a) Ácidos nucleicos, transcripción y síntesis de proteínas; b) Ciclo celular; c) Mejoras de cepas para usos industriales. Colecciones; d) Metabolismo; e) Pared celular y morfogénesis; f) Secreción, tráfico de proteínas y expresión heteróloga; g) Transducción de señales y, por último, h) Transportadores y proteínas de membranas. En su conjunto, los responsables de proyectos o empresas alcanzan un total de 66 siendo el más numeroso el correspondiente a “Mejora de cepas para usos industriales” que, además de un amplio número de investigadores, cuenta con la presencia de las más importantes industrias cerveceras así como varias de las empresas bodegueras de los mejores finos españoles. Por lo demás, los nombres que se han dado de alta en esta Red de Levaduras corresponden a los cabezas de grupos más importantes extendidos por toda la geografía española, por cierto en elevado número y con justo reconocimiento internacional.

En la intervención hemos expuesto una amplia panorámica científico-histórica de la que nosotros estimamos la evolución de los diferentes aspectos de la microbiología relacionada con los hongos, en su sentido más amplio, en España. No hemos pretendido ni mucho menos ser exhaustivos y estamos convencidos de que, como en toda obra humana,

habrá lagunas pero no malas intenciones. Hemos tratado de valorar de forma parecida los trabajos de todos los dedicados a estos temas sin hacer adscripciones de lugar ni fechas. Afortunadamente, en los momentos en que les hablo, se ha abierto una larga e interesante etapa y algunos de nosotros de más edad, hemos sido testigos de los grandes cambios producidos en la Microbiología en España gracias al esfuerzo y contribución de muy diversas generaciones de científicos. Y basado en la independencia que en todo momento nos ha caracterizado y sobre todo, en la amplia visión que creo que tenemos de un campo como el de la Microbiología tanto nacional como internacional, es por lo que con la mejor voluntad me he propuesto el desafío, de escribir esta conferencia, con amplias referencias tanto a levaduras como a los hongos filamentosos, campos de la Microbiología que a lo largo de los años hemos tenido la suerte de frecuentar más a fondo, lo que nos puede permitir establecer algunos juicios de valor y resumir unas breves conclusiones.

### **Resumen final de la micología**

A través de esta exposición ha quedado de manifiesto, cómo al inicio de los años sesenta las investigaciones relacionadas con levaduras y hongos eran más bien limitadas y sin demasiada proyección exterior. Los trabajos en el campo de la Micología eran mayormente aplicados y notablemente concentrados en los ámbitos del INIA y del CSIC de Madrid, con poca presencia en las Universidades. Al paso del tiempo, y a medida que se va consolidando la formación de jóvenes generaciones de científicos procedentes en su mayor parte de la Facultad de Farmacia de Madrid, de donde traen una buena base en bioquímica y en biología molecular, la situación comienza a cambiar. El Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) se transforma en poco tiempo en un centro de sólida formación microbiológica-genética-bioquímica. Los trabajos con levaduras y hongos filamentosos se desarrollan rápidamente e incluso llegan a ser predominantes. Los jóvenes científicos, al doctorarse, comienzan a salir a centros de Europa y de los Estados Unidos, incorporándose a grupos con

especialistas realmente relevantes. Esta cadena de formación de científicos, con el paso del tiempo, no sólo no se detiene sino que se acelera y es un continuo ir y venir de forma que los ya formados regresan a los núcleos del CSIC o de las Universidades y en poco tiempo, son titulares de cátedras y ocupan direcciones de departamentos que, de alguna forma, revolucionan tanto el sistema de docencia como, sobre todo, de la investigación científica de nuestro país. Con el paso del tiempo comienzan a establecerse unidades o grupos sólidos de Microbiología por todas las Universidades españolas así como en el CSIC y de esta forma, Universidades como las de Oviedo, País Vasco, Valencia, Sevilla, Granada, Murcia, Extremadura, Alcalá de Henares, Santiago de Compostela, León y, por supuesto, las de Madrid y Salamanca, se transforman en núcleos sólidos de investigación sobre levaduras y ocasionalmente sobre hongos, que se proyectan hacia el exterior, y siguen potenciándose.

En especial, nos interesa destacar la sobresaliente potencialidad de la investigación desarrollada con levaduras y hongos tanto en calidad como en número, en las Universidades de Madrid, de Oviedo, de León, de Valencia y de Sevilla, así como en la de Salamanca. En todas estas Universidades crecen y se desarrollan grupos sólidamente formados, con un buen ambiente para la investigación y para la docencia, con excelentes relaciones internacionales con grupos europeos y americanos. Las visitas y los intercambios son constantes y ello hace más fluido el mejoramiento del ambiente científico. Por supuesto que las publicaciones realizadas en revistas de reconocido prestigio que ahí están, son un fiel reflejo de la calidad científica de las jóvenes promociones de investigadores.

A lo largo de la intervención han quedado de manifiesto los principales grupos de investigación y queremos resaltar, que aunque una variedad de levaduras han sido objeto de estudio, *Saccharomyces cerevisiae*, es el eucariota universal, que se ha codeado con el *E.coli* como procariota y sobre todo, como organismo de interés biotecnológico. Otras levaduras como *Candida utilis*, *Schizosaccharomyces cerevisiae* y *Yarrowia lipolytica*, han alcanzado igualmente su protagonismo. Sin embargo, hemos de

reconocer que ha sido *Candida albicans* la que por razones de importancia clínica y en los últimos tiempos de protagonismo de la biología genética y molecular, ha adquirido un lugar realmente importante. Dos grupos de biología molecular de levaduras, los del Prof. Cesar Nombela en Madrid y del Prof. Rafael Sentandreu en Valencia, son hoy obligados puntos de referencia a nivel internacional, al hablar de *Candida albicans*. Los trabajos publicados y las tesis doctorales realizadas en ambos departamentos, son un fiel reflejo de cual es la situación actual.

En este resumen de conclusiones y por lo que se refiere a la importancia de la labor realizada por los diferentes centros españoles, nos parece oportuno recordar la ya mencionada labor de varios grupos del campo de las levaduras, participando en las actividades de desciframiento completo del genoma complejo de *S.cerevisiae* anunciado hace unos meses en Bruselas. La participación española de núcleos del CSIC de Madrid y de Salamanca, así como de las Universidades Complutenses, de Salamanca, Sevilla y Valencia, son un fiel reflejo del grado de madurez y de calidad de nuestros investigadores compitiendo al máximo nivel en foros internacionales manifestados en Bruselas. El hecho de que la mayoría de los cabezas de grupo, J. P. García Ballesta, A. Jiménez, Cesar Nombela y Francisco del Rey hayan sido “producto científico” de nuestro grupo, primero en Madrid y posteriormente en Salamanca, nos llena de satisfacción y de orgullo. A todos ellos con sus jóvenes grupos de colaboradores deseo transmitirles desde esta tribuna mi más sincera enhorabuena y lo orgulloso que uno se siente de todos ellos, aunque ya sea un poco desde la lejanía pero con toda ilusión y reconocimiento. Es interesante contemplar la gran evolución producida en el panorama micológico español en los últimos 30 años. Antes era más bien raro encontrar grupos de investigación en levaduras y hongos en las Universidades españolas y hoy, afortunadamente, es muy fácil contemplar la actividad de estos grupos universitarios en España.

Y a fuer de sincero, esta es la satisfacción que uno siente, en cierto modo del deber cumplido, al haber contribuido en mayor o menor medida a la formación de tantos jóvenes científicos y a mejorar el nivel de los

grupos de investigación españoles en el área de la Microbiología, traducida en sólidos núcleos de investigación básica en el campo de las levaduras y, en parte, en el de los hongos filamentosos.

## Infecciones fúngicas en España

No parece necesario subrayar la importancia de las infecciones fúngicas en muchos países por lo que nos vemos obligados a recordar la situación en España. En este sentido debemos precisar que de las infecciones declaradas al Sistema Nacional de Información Microbiológica aproximadamente entre el 3,5 y el 5 por ciento corresponden a las identificadas con hongos. Al igual que ha venido sucediendo en años anteriores, *Candida albicans* es la responsable, junto al protozoo *Pneumocystis carini*, de más de la mitad de las infecciones sistémicas totales, predominando la segunda en los años 1994 y 1995, posiblemente muy relacionada con el desarrollo del SIDA. Se puede destacar del análisis de las estadísticas publicadas que se ha observado un descenso paulatino de *Aspergillus fumigatus*, mientras que asciende el número de casos de infecciones por *Cryptococcus neoformans*, y el nivel constante de *C. parapsilosis* con alrededor del 10 por ciento. En 1994 se efectúa la primera identificación de *Histoplasma capsulatum* tan frecuente en latitudes sudamericanas.

Por lo que se refiere a las infecciones cutáneas y subcutáneas, los principales agentes infecciosos son dermatofilos como *Trichophyton mentagophites*, *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum*, seguidos de cerca por *Candida albicans* y *Candida parapsilosis*. A nivel de las mucosas se detectan *Aspergillus fumigatus*, *A. niger* y *C. albicans*.

Se puede decir que en todo el mundo la mayor parte de las infecciones fúngicas son producidas por especies del género *Candida* y de forma más frecuente *C. albicans*, posiblemente debido a que se encuentra de forma natural permanente en nuestros tejidos lo que facilita la implantación y colonización inicial.

Resulta obligado subrayar que el incremento en la incidencia de las infecciones fúngicas tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo se corresponde en gran medida, con la llegada de la pandemia del SIDA que comenzó su expansión en la década de los ochenta. La aparición de esta enfermedad y la posibilidad de mantener un buen control sobre los patógenos bacterianos ha hecho que numerosos agentes fúngicos considerados comensales o no patógenos, como puede ser el caso de *Saccharomyces cerevisiae*, se conviertan en patógenos potenciales que amenazan la vida de los enfermos de SIDA. A finales del presente siglo se conocen gran cantidad de infecciones provocadas por hongos que pueden causar patologías graves aunque las más frecuentes desde el punto de vista clínico en los países occidentales son la aspergilosis, la candidiasis, la coccidiomicosis, la criptococosis, la histoplasmosis y la neumocistosis. Es de destacar que a pesar del aumento de la importancia y número de las infecciones fúngicas, los datos con que se cuenta desde el punto de vista epidemiológico no son muy abundantes ni suficientemente rigurosos, estando en no pocos casos muy fragmentados y mal documentados por los Sistemas Nacionales de Salud que de forma a veces lamentable no las considera “enfermedades de declaración obligatoria”. A este respecto conviene recordar que cuando se considera el caso de los Estados Unidos se aprecia como las infecciones fúngicas se duplicaron en la década de los ochenta, proceso que continua en nuestra década, de las que entre el 8 y el 10 por ciento son de origen hospitalario. Subrayemos por último, que aproximadamente el 79 por ciento de estas infecciones hospitalarias han sido debidas a la *Candida albicans*.

### **El reto de las enfermedades infecciosas**

Hace dos ó tres décadas se pensaba que las enfermedades infecciosas estaban a punto de desaparecer. De hecho el uso de los antibióticos y el desarrollo de las nuevas vacunas daban pié para pensar que muchos de los microorganismos causantes de enfermedades estaban vencidos, pero desgraciadamente, el mal uso y el abuso de los antibióticos y las dificultades

encontradas para la obtención de nuevas vacunas han dado en parte al traste con la justificada esperanza de superar tantos problemas como a diario se hacen patentes en la lucha contra la enfermedad.

Recientemente el Dr. José Campos, investigador del Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, ha publicado un editorial de gran interés en la revista *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* (1997), 15: 235, en el que, de forma realmente magistral, resume con un enfoque médico el estado de la cuestión de las enfermedades infecciosas y del que trataremos de efectuar un pequeño resumen.

Se inicia este interesante artículo afirmando que las enfermedades infecciosas transmisibles se consideraban en claro retroceso frente a los problemas de salud como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares, tan patentes en las últimas décadas. En la actualidad la mortalidad por enfermedades cardiovasculares tiende a descender mientras que, según el autor del editorial, las enfermedades infecciosas constituyen la tercera causa de muerte en los Estados Unidos.

Tanto la aparición de nuevos agentes infecciosos como la reemergencia de enfermedades confirman lo equivocada que estaba aquella idea. De hecho, algunos de los problemas microbiológicos están "in crescendo" a veces de forma alarmante: La resistencia a los antibióticos en diversas especies bacterianas aumenta sin cesar; la tuberculosis se extiende de forma preocupante, el cólera en América y Asia presenta serios y preocupantes remalazos, la difteria en las repúblicas de la antigua URSS sigue dando signos de vida en claro contraste con lo que ocurre en otros países avanzados y en otros que lo son menos. La epidemia del SIDA continua en aumento, aunque en estos momentos existan esperanzas de contener la enfermedad gracias a la combinación de diferentes drogas; la criptosporidiosis, las intoxicaciones alimentarias por *E.coli* 0157 :47, las fiebres hemorrágicas víricas (fiebre amarilla, Ebola, Marburg, Dengue, fiebre de Lassa, fiebre del Valle del Rift, etc.) continúan siendo causa de seria preocupación en los ambientes médicos. Por lo que se refiere a España, habría

que recordar los recientes brotes comunitarios de legionelosis en Alcalá de Henares que se han constituido en el caso más importante del país y posiblemente de la Unión Europea en los años recientes, sin olvidar la epidemia de infección meningocócica causada por el meningococo del serogrupo C. En el otoño del año pasado se produjo un brote epidémico de neumonía en Alcalá de Henares, con un número de casos que superó los 200, causados por *Legionella pneumophila* SG-1 subtipo Pontiac, cuyo origen se relaciona con la diseminación del organismo por medio de torres de refrigeración tan frecuentes en no pocas ciudades. Es de destacar que a finales de la década de los ochenta sólo el 13 por ciento de los meningococos aislados en nuestro país pertenecían al serogrupo C, pero desde entonces su frecuencia ha aumentado considerablemente hasta alcanzar en 1996 aproximadamente el 58 por ciento de media. Aunque no está del todo claro se achaca a la introducción y diseminación de una nueva cepa epidémica que se desplaza de oeste a este, lo que explicaría el considerable aumento detectado. Es preciso subrayar que estos constituyen dos ejemplos manifiestos y actuales de enfermedades nuevas o reemergentes en España y que no se pueden ni deben ignorar.

Si hacemos caso a las fuentes originales de la OMS, debemos destacar que en los últimos 20 años se han descrito al menos 30 enfermedades infecciosas nuevas entre las que destacan las causadas por el HIV, el virus de la hepatitis C, rotavirus, la fiebre hemorrágica debida al virus Ebola, la enfermedad del legionario y el síndrome pulmonar por hantavirus. Resulta obligado subrayar que otras enfermedades teóricamente consideradas como antiguas como la tuberculosis, la peste, el dengue, el cólera, la fiebre amarilla y la difteria, han experimentado un gran recrudecimiento hasta el punto de ser causa de seria preocupación tanto a nivel de la OMS como de las autoridades sanitarias de no pocos países. A este respecto es importante destacar que la tuberculosis es según la OMS, la primera causa de muerte de naturaleza infecciosa en el mundo. A decir verdad, según datos recientemente publicados, el número de casos de esta enfermedad se ha incrementado en la última década cerca del 28 por ciento. Los casos de cólera en América y Asia se aproximan en 1994 a los 400.000, mientras

que el Dengue sólo en América supera los 200.000 casos, de los que unos 5.000 casos corresponden al Dengue hemorrágico. Los casos de difteria contabilizados en 1994 se acercan a los 55.000, cifras que suponen un incremento de cerca de 170 por ciento sobre los descritos en 1990. La cifra de cerca de 400.000 casos de criptosporidiosis ha causado un cierto impacto en la OMS, así como los 2.000 casos de peste bubónica detectados por las mismas fechas.

En el artículo que ahora comentamos se hace referencia a la llamada de atención producida por la publicación de preocupantes datos facilitados por un grupo denominado de “científicos independientes” y que de alguna forma han puesto el dedo sobre la llaga: Estos científicos, en su mayor parte especialistas de enfermedades infecciosas, resaltan como los Estados Unidos de América están expuestos a infecciones emergentes más propias de otras épocas y de otras zonas geográficas. Al mismo tiempo se reconoce que los países denominados del Tercer Mundo han vivido en la permanente emergencia y reemergencia de enfermedades infecciosas muy similares a las que se presentaban en el mundo occidental más avanzado hace apenas un siglo y de hecho estas enfermedades son causa del 50 por ciento de la mortalidad en aquellos países subdesarrollados, cifras que señalan un claro contraste con lo que ocurre en los más desarrollados que, en el peor de los casos, apenas si llega al 10 por ciento.

Es de destacar en el contexto que ahora nos ocupa que en 1992, como ya hemos mencionado, un amplio número de profesionales independientes, convocados por el Instituto de Medicina de los Estados Unidos, proceden a una llamada de atención sobre las infecciones emergentes que constituyen una amenaza para la salud pública del país. Se tiene constancia de que este hecho constituye un revulsivo para que el Centro de Atlanta publique dos años más tarde un listado de medidas de actuación sobre algunos objetivos prioritarios como son la vigilancia, investigación aplicada, prevención y control así como las medidas para reforzar las infraestructuras de salud pública, medidas que se calculan pueden costar del orden de los 125 millones de dólares al año. Conviene recordar que la

OMS también se vio forzada a establecer nuevas medidas de actuación a nivel internacional.

Es un hecho que la crisis de las enfermedades emergentes en el gran país americano fuerzan al propio sistema de salud pública a rectificar acciones anteriores y de esta forma evitar situaciones de autocomplacencia que en nada favorecen la lucha contra las enfermedades infecciosas. Por esta razón los objetivos de los científicos se orientan hacia la autocrítica del sistema, de su capacidad para detectar y actuar rápidamente ante un brote epidémico. Al mismo tiempo se lanza el mensaje a la opinión pública y a las autoridades sanitarias, de la necesidad de establecer nuevas pautas de actuación poniendo de manifiesto la escasez de recursos destinados a la lucha contra las enfermedades infecciosas. Posiblemente ha sido el manifiesto aumento de la tuberculosis el que actúa de revulsivo en todos estos acontecimientos, al apreciarse un notable incremento de la enfermedad desde principios de la presente década, algo que posiblemente marcha paralelo con el desarrollo de los casos de SIDA. Pero no es sólo la tuberculosis la que sirve para dar el aldabonazo; otras enfermedades nosocomiales de resistencia a los antibióticos que implican neumococos y enterococos, así como la contaminación por *Criptosporidium* de las aguas superficiales y su impacto en inmunodeprimidos, las intoxicaciones alimentarias, sobre todo por cepas de *E.coli* con comportamientos similares a las de *Shigella*, procedente de animales pero capaces de producir una potente verotoxina y causar el síndrome hemolítico urémico, y finalmente el síndrome pulmonar por hantavirus con una mortalidad superior al 60 por ciento.

En 1994 el CDC de Atlanta define alguno de los factores más importantes relacionados con la emergencia de las enfermedades infecciosas, entre los que se destacan los sociales por causa de guerras, hambre y emigraciones, los cuidados de la salud al tener en cuenta el gran incremento de los trasplantes, inmunosupresión, uso de antibióticos, también las cadenas de producción de alimentos con su distribución, la conducta humana afectada sobre todo por la droga, el sexo, viajes y costumbres. En

estos tiempos que nos ha tocado vivir se ha de tener en cuenta el preocupante factor de los cambios medioambientales así como las infraestructuras de salud pública con fallos en la prevención y vigilancia y la falta de personal adiestrado. No han faltado autores que han resaltado la importancia de los cambios genéticos y adaptación de los microorganismos expresados fundamentalmente por los cambios antigénicos y la resistencia a los antibióticos, tema sobre el que nos extenderemos más ampliamente en otro apartado.

El doctor Campos en su editorial, se ha referido también a las circunstancias clínicas ante las que no se debe bajar la guardia, tal como ocurre con las enfermedades respiratorias agudas, encefalitis y meningitis aséptica, fiebres hemorrágicas, diarrea aguda, exantemas febriles, síndromes clínicos inusuales así como los brotes poco frecuentes de infecciones.

Resulta interesante plantear, como hace el autor, las circunstancias que se viven en España para considerar, sobre todo, si existe alguna similitud con lo ocurrido en los Estados Unidos de auténtica quiebra del sistema. Es preciso sin embargo hacer consideraciones especiales en torno a algunos de los problemas planteados, sobre todo por lo que respecta a las situaciones relacionadas con aspectos clínicos, epidemiológicos y del laboratorio diagnóstico. La circunstancia reconocida de que nuestro país es un lugar de paso de emigrantes de Africa y Sudamérica se ha de tener muy en cuenta, ya que son en no pocos de los países de esos territorios en donde se producen muchas de las infecciones emergentes antes citadas. La tuberculosis resistente o no, presenta un elevado número de casos en España junto con el SIDA, siendo nuestro país una de las naciones del área occidental de incidencia más significativa. El doctor Rullan y colaboradores han publicado en España casos de brotes nosocomiales de tuberculosis multirresistentes sin olvidar que la resistencia a los antibióticos, sobre todo en patógenos comunitarios, es en España una de las mas altas del mundo. Y aunque no se han presentado brotes epidémicos importantes, también en nuestro país se han descrito infecciones por *E.coli* 0157 :H7 a las que hay que conceder su importancia.

A este respecto interesa informar que en el último número de Agosto de la prestigiosa revista Science se da a conocer el trabajo realmente importante del doctor Frederick Blatner y colaboradores de la Universidad de Wisconsin, Madison , por el que se logra determinar la secuencia completa del genoma de *E.coli* y localizar cada uno de sus genes. Es notable la importancia de este microorganismo, no sólo como agente bacteriano en el que más estudios de biología molecular se han realizado, sino también como patógeno causante de las más graves diarreas en el recién nacido y en el adulto, e incluso brotes epidémicos importantes que pueden causar la muerte, especialmente en niños, como ocurrió recientemente en el Japón con la cepa 0157 que causó la muerte a un número significativo de individuos en la ciudad de Osaka. Parece ser que la secuencia completa del genoma de *E.coli* K12 contiene 4.639.221 pares de bases y que de los 4.288 genes codificadores de proteínas anotados, el 38 por ciento no tienen una función atribuida. No hay duda de que este descubrimiento estimulará notablemente la investigación científica sobre este interesante microorganismo aspirándose a un completo conocimiento de estas células desde un punto de vista experimental médico e industrial. La secuencia completa de la célula de *E.coli* se une así a la de otros siete genomas recientemente publicados, el último el de *Helicobacter pylori* de especial importancia médica. Es preciso subrayar que según los autores del trabajo la secuencia del genoma de *E.coli* no es una meta sino el punto de partida para investigar la función de todos sus genes.

Interesa destacar que no pocas de las infecciones citadas, sobre todo las fiebres hemorrágicas víricas, se deben a patógenos de gran peligrosidad tal como ha dejado bien patente el CDC de Atlanta. Precisamente el trabajo con estos agentes patógenos requiere medidas de protección para el personal sanitario y la comunidad de máximo nivel, así como el poder disponer de laboratorios de altos niveles de seguridad.

A modo de resumen se puede afirmar que las enfermedades infecciosas eran, con diferencia, al principio del siglo, la causa principal de muerte. Tan importante fue el efecto de la mejoría de las condiciones higiénico-

sanitarias, de las campañas de prevención y vacunación y del desarrollo de fármacos antimicrobianos eficaces, que en la década de los años cincuenta se auguraba una rápida disminución de la incidencia de este tipo de patología. No obstante, casi a las puertas del siglo XXI, y a pesar de los espectaculares avances conseguidos en ciertas áreas, la importancia de las enfermedades infecciosas, lejos de disminuir, ha aumentado y esta clase de enfermedades suponen hoy la tercera causa de muerte en el mundo, sólo superadas por las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. Las estadísticas publicadas reflejan que entre 1980 y 1992 la tasa de mortalidad por infecciones en EE.UU. ha pasado de 41 a 65 por 100.000 personas, un incremento del 58%. Con todo, especialmente espectacular es el incremento de la mortalidad entre las personas entre 25 y 44 años, que se ha multiplicado 6,3 veces desde 1980, fundamentalmente debido a la epidemia y los estragos del SIDA. Un incremento del 25% en la mortalidad por infecciones en personas mayores de 65 años, y del 83% en la mortalidad por septicemias son otros datos relevantes. Del total de las muertes causadas por infecciones, el 47% fueron debidas a infecciones del tracto respiratorio, el 20% al SIDA, el 11% a septicemias y el 7% a infecciones urinarias.

Especialistas del CDC de Atlanta han puesto de manifiesto los nuevos mecanismos de resistencia antimicrobiana que se detectan. Cada día se aprecia mejor como los patógenos hospitalarios frecuentemente son resistentes a los agentes antimicrobianos de mayor uso. Aunque las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina continúan siendo un grave problema en muchos hospitales, varios nuevos tipos de determinantes de resistencia han sido detectados entre organismos causantes de infecciones adquiridas en los hospitales, como bacilos gram-negativos con  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro. Así mismo entre los enterococos se plantean resistencia a  $\beta$ -lactamas, glicopéptidos y a altos niveles de aminoglicósidos. La resistencia a las quinolonas es relativamente frecuente entre cepas de *S. aureus* que ya son resistentes a meticilina. Y cada vez se extienden más los genes de resistencia múltiple simultáneamente en organismos gram-negativos vía elementos Tn 21 relacionados genéticamente. Como

consecuencia de estos nuevos mecanismos de resistencia se complican los tratamientos de infecciones nosocomiales al limitarse el número de agentes antimicrobianos efectivos a disposición del clínico. Se considera importante para el personal responsable del control de las infecciones y para los microbiólogos trabajar de acuerdo con el fin de detectar y controlar la extensión de patógenos resistentes en los ámbitos hospitalarios.

Ante este panorama creemos que vale la pena pasar revista a algunas de las entidades clínicas de etiología infecciosa más relevantes y que presentan un mayor reto terapéutico en el momento presente y entre ellos al SIDA, la tuberculosis y las hepatitis víricas.

*La enfermedad del SIDA.* Se estimaba en 1996 que había más de 22 millones de personas infectadas por el VIH en todo el mundo. Hasta el 30/6/96 la OMS había registrado 1.4 millones de casos de SIDA (más de 500.000 en EE.UU.). Entre 1981 y 1992, la OMS ha recibido notificación de más de 220.000 casos de SIDA en 153 países pero, teniendo en cuenta las deficiencias de información de ciertas áreas, se estimaba que en dicho período en realidad más de 500.000 personas han desarrollado SIDA, de las cuales el 60% (300.000 personas) ya han fallecido. En 1994 se calculaba que en el mundo había cerca de 15 millones de niños infectados por el VIH, y que casi el 50% de los adultos infectados eran mujeres en edad fértil. La OMS asume que a principios del siglo XXI ya habrá 30 millones de personas infectadas, el 95% de las cuales vivirán en países en vías de desarrollo, y que la mortalidad anual por esta causa será de 2 millones de personas. En EE.UU. en 1995 los NIH gastaron en investigación sobre el SIDA unos 36.000 dólares por cada paciente de SIDA registrado.

Recientemente hemos recibido del doctor Rafael de Andrés Medina, del Instituto de Salud Carlos III en Majadahonda, los datos anuales de los casos de SIDA por Comunidad Autónoma correspondientes al Registro Nacional del SIDA con fecha de actualización del 31 de marzo de 1997. El resumen de los datos es el siguiente: Andalucía 5991 casos, Aragón 802, Asturias 800, Baleares 1228, Canarias 1027, Cantabria 420, Castilla

y León 1515, Castilla-La Mancha 741, Cataluña 10.165, Comunidad Valenciana 3411, Extremadura 486, Galicia 2228, Madrid 10.818, Murcia 714, Navarra 527, País Vasco 3524, La Rioja 287, Ceuta 85, Melilla 43, Otros Países 167, Desconocida 153. La suma total de todos estos datos sitúa a España con 45.132 casos de SIDA. En forma de resumen y con la misma fecha del presente año se puede decir que de los 45.132 casos de SIDA descritos el número más elevado corresponde a los usuarios de drogas por vía parenteral con 29.145 casos (64,6%), seguidos por los homo y bisexuales que suponen 6.341 (14%), los heterosexuales con 4950 (11%), los de origen desconocido con 1980 (4,4%), mientras que los originados por uso de hemoderivados son 700 (1,6%) y los de transfusiones 311 (0,7%). Los originados a partir de madres de riesgo de SIDA son 732 (1,6%). Los de origen desconocido apenas superan los 205 casos (0,5%). Como se puede apreciar un complejo panorama con el que tienen que enfrentarse las autoridades sanitarias de nuestro país.

*El problema de los niños infectados por VIH.* Los datos publicados en The Lancet por G. Scarlatti en 1996 son realmente escalofriantes. Se calcula que en el año 2.000 habrá seis millones de mujeres embarazadas y de 5 a 10 millones de niños infectados por el virus del Sida. Se han planificado, y en algunos casos se han iniciado ya estrategias de intervención. Sin embargo, para aplicar una estrategia en el momento adecuado y con una buena relación coste-eficacia será preciso tener en cuenta que la mayor parte de las personas infectadas por el VIH-1 viven en países en desarrollo. Serán necesarios nuevos estudios sobre los factores inmunológicos y virológicos que afectan a la transmisión del VIH-1 de la madre al niño, sobre las diferencias existentes en la progresión de la enfermedad entre los niños afectados y sobre las infecciones transitorias.

Recordemos que los primeros casos de infección por el virus del Sida en niños se describieron en 1983. En el año 1994 la OMS calculaba que en todo el mundo, había aproximadamente 15 millones de niños infectados, con más de tres cuartas partes de los casos en el Africa Subsahariana y regiones en vías de desarrollo de América. Pero por si todo esto fuera

poco, se calcula que casi la mitad de los adultos infectados por el virus son mujeres en edad fértil, todo un panorama preocupante y de resultados realmente catastróficos. Si se tiene en cuenta que la mayor parte de los niños que contraen la infección reciben el virus de la madre, la importancia futura de la infección pediátrica por el VIH estará directamente relacionada con la incidencia creciente de la infección en las mujeres. Por todas estas razones las autoridades sanitarias consideran que existe una necesidad urgente de intervenciones para prevenir que continúe la escala de la transmisión de la madre al hijo.

Se puede subrayar el hecho de que la tasa de transmisión materno-infantil del VIH-1 se ha calculado después de varias encuestas epidemiológicas que varía entre un 13 y un 42 por ciento. Pero hay que resaltar que en los países africanos que sufren el azote de la enfermedad, la tasa de transmisión es por lo menos el doble de alta que en las naciones europeas. Hay que precisar que estas diferencias tan abultadas no han podido aún ser explicadas, si bien entre los factores que contribuyen a producirla se encuentran las infecciones simultáneas de la madre, las diferentes existentes en la virulencia de los virus según su origen geográfico y la frecuencia de la lactancia materna.

Es obvio que es importante llegar al conocimiento exacto del momento en que se produce la transmisión del virus de la madre al feto, con el fin de diseñar estrategias de intervención. Existen datos que hablan de varios momentos de transmisión, detectándose en unos casos la infección temprana en el primer trimestre de la gestación aunque otros autores sugieren que aproximadamente la mitad de los casos de transmisión se producen con toda probabilidad en un momento próximo al parto. A este se puede añadir que la transmisión postnatal puede producirse a través de la lactancia materna. Aplicar medidas ó proporcionar consejos en esos ambientes no resulta fácil, sobre todo si se tiene en cuenta que la lactancia materna en muchos de estos países tiene un efecto protector frente a la muerte del niño por otras enfermedades endémicas. Hay que subrayar que las infecciones bacterianas graves, la infección por citomegalovirus, la neumonitis

intersticial linfoide y la encefalopatía son más frecuentes en los niños que en los adultos infectados.

*Las infecciones de Tuberculosis.* Supone la principal causa de muerte por infección entre adultos en el momento actual, suponiendo el 6% de todas las muertes. Tal es la magnitud de la pandemia actual de tuberculosis en el mundo que en 1993 la OMS, por primera vez en la historia, declaró a la tuberculosis como una “emergencia global”. Se estima que hoy en día, cada segundo hay una nueva persona infectada de tuberculosis en el mundo. Un tercio de la población mundial está infectada en la actualidad. Durante la próxima década se estima que 300 millones de personas más van a infectarse, que 90 millones van a desarrollar enfermedad clínica, y que 30 millones van a morir como consecuencia de la misma. La tuberculosis, por sí sola, causa más muertes en el mundo (3 millones al año, 170.000 de las cuales son niños) que el SIDA, la malaria y enfermedades tropicales combinadas. En el momento presente, hay más de 8 millones de personas con enfermedad clínicamente activa, de las cuales 7,6 millones se encuentran en países en vías de desarrollo y 400.000 en países industrializados. Así, con grandes ciudades, creciente diseminación de la infección por VIH y altas tasas de infección por *M.tuberculosis*, acapara cerca de dos tercios de todos los casos de tuberculosis.

La infección por el VIH ha sido el determinante principal de que la tuberculosis, después de casi cuatro décadas de continuo declinar, haya vuelto a incrementar su incidencia a partir de los años 80. De los 14 millones de personas infectadas de tuberculosis en 1994, se calcula que 5,6 millones eran VIH positivos. Esta combinación es especialmente mortífera en ambas direcciones. Los individuos VIH-positivos, debido a el deterioro del sistema inmunitario, son mas frecuentemente tuberculosis activos, facilitando la diseminación de la infección, y presentan las cifras de mortalidad por tuberculosis más elevadas. La OMS estimaba que, para el final del siglo, los 1,4 millones de casos de tuberculosis activa al año no se habrían dado de no ser por la epidemia del VIH. La tuberculosis es además la causa principal de muerte entre los pacientes con

SIDA, casi el 30% en el mundo y el 40% en Africa. Es la enfermedad oportunista predominante (50 a 70%) en los pacientes con SIDA en ciertas áreas de Asia. Adicionalmente, los cálculos de la OMS indicaban que dos tercios de los pacientes VIH-positivos con tuberculosis no realizaban un tratamiento antibiótico adecuado, contribuyendo a la diseminación de la enfermedad y a la aparición de cepas resistentes a los antibióticos utilizados en el tratamiento.

*Epidemiología global de la Tuberculosis.* Una serie de artículos recientes han pasado revista a la epidemiología global de la tuberculosis al mismo tiempo que estudian las estimaciones recientes de la incidencia de la tuberculosis y de la mortalidad en el mundo. Diferentes autores acentúan la mayor prevalencia de la infección por *M. tuberculosis* y consideran el riesgo anual de la infección en las regiones subsahariana de Africa y en el sudeste asiático. En su conjunto, casi 3,8 millones de casos de tuberculosis han sido dados a conocer en el mundo en 1990, de los cuales el 49 por ciento se adjudican al Sudeste de Asia. La OMS ha informado como entre 1984 y 1991 la notificación de casos aumenta a nivel mundial con la excepción de las regiones americana y europea. Concretamente en 1990 se calcula que han existido 7,5 millones de casos con 2,5 millones de muertes en el mundo. Se ha puesto también en evidencia como el virus de la inmunodeficiencia humana está causando incrementos en el número de casos de tuberculosis, particularmente en Africa, aunque en las regiones asiáticas puede suceder lo mismo. En muchos países industrializados la tuberculosis ha dejado recientemente de bajar mientras que en el área este europea y la anterior Unión Soviética el número de casos y las muertes no dejan de crecer. La resistencia a las drogas constituye un serio problema, especialmente en los Estados Unidos. Determinados epidemiólogos especialistas del área de la tuberculosis anuncian que, si el control a nivel mundial no se mejora, nos podemos encontrar con más de 90 millones de casos y 30 millones de muertes en la década actual.

A la vista de esta serie de estimaciones emanadas de la OMS y de otros organismos responsables del estado sanitario de los países, se considera que la magnitud del problema global de la tuberculosis es enorme

pudiendo adquirir proporciones mayores en un próximo futuro. Se puede afirmar que en la actualidad, entre adultos, la tuberculosis es la primera causa de muerte a nivel mundial a causa de un único agente infeccioso. De hecho se calcula que si el control global de la tuberculosis permanece a nivel de los datos de 1990, no menos de 30 millones de personas pueden morir por tuberculosis en el año 2.000. No obstante, a causa de lo inadecuado de los informes facilitados por no pocos países en desarrollo, se considera que no resulta fácil presentar datos más precisos sobre la incidencia de la enfermedad así como sobre la mortalidad.

De mayor importancia es la resistencia a las drogas empleadas hasta hace poco en la lucha contra la tuberculosis. Se define la resistencia primaria como la presencia de resistencia a una o más drogas antituberculosas en un paciente tuberculoso que nunca anteriormente ha recibido tratamiento contra la enfermedad, aspecto que se diferencia de la resistencia adquirida durante el proceso de desarrollo de la tuberculosis. Se reconoce que ambos casos de resistencia primaria y adquirida están adquiriendo una creciente importancia en los países industrializados. La información sobre resistencias múltiples, particularmente al menos a la isoniacida y a la rifampicina, ha sido aportada en los Estados Unidos, ocurriendo no pocos casos en enfermos contagiados de Sida. Los datos referidos a otros países varían según las circunstancias y el momento en que se reportan los datos pero, a pesar de ello, no deja de ser cierto que la multiresistencia se incrementa a medida que pasa el tiempo, en no pocos países.

En esta confusa situación y ante la posibilidad de que no se tomen las medidas adecuadas en fechas próximas las autoridades sanitarias de los diferentes países y de la OMS piensan que el problema puede llegar a adquirir caracteres de catástrofe mundial, aunque su incidencia sea mucho mas acusada en unos países que en otros. De hecho, varias son las causas que generan esta preocupación y los malos augurios; por un lado las fuerzas demográficas presionan en no pocas regiones y por otro, los niños nacidos en las décadas pasadas en regiones con altos índices de crecimiento de la población están ahora alcanzando las edades a las que la

morbilidad y mortalidad debidas a la tuberculosis es alta. Incluso si las proporciones debidas a la edad no se incrementan, los cambios en los tamaños de los grupos de población pueden ahora comenzar a causar un señalado incremento en el número de muertes por tuberculosis así como en los nuevos casos.

*El desarrollo de las hepatitis víricas.* Se calcula que cerca del 5% de la población mundial (unos 350 millones de personas) está infectada crónicamente por el virus de la hepatitis vírica B. Aproximadamente el 50% de estos individuos presentan replicación vírica activa crónica, de los cuales 15-20% van a desarrollar enfermedad hepática crónica (cirrosis) en el plazo de 5 años. La supervivencia a 5 años de estos pacientes, una vez iniciada la fase clínica de cirrosis, es de menos del 55%, y de sólo el 14% cuando se establece una clara insuficiencia hepática. Adicionalmente, el 0,5% de los portadores crónicos van a desarrollar hepatocarcinoma, cuya mortalidad es casi del 100%. En áreas como el sudeste asiático, la prevalencia de la infección supera el 75%. La elevada frecuencia de transmisión perinatal (15% a 45%) hace casi imposible la erradicación de la enfermedad. En España la prevalencia de portadores crónicos se estima en el 1-2% de la población.

Es interesante añadir que el 5% de los pacientes infectados por el virus de la hepatitis B sufren coinfección por el virus de la hepatitis D, lo cual determina una mayor propensión hacia la forma crónica activa y al desarrollo de cirrosis e insuficiencia hepática grave.

La hepatitis vírica C (previamente no-A, no-B) es otra modalidad de hepatitis vírica de transmisión parenteral y mediante contacto sexual. La prevalencia mundial de infección crónica por este virus es de más de 500 millones de personas. De ellas, 4 millones corresponden a EE.UU. y 3 millones a Europa. En España su prevalencia es 0.1-1.2% de la población. La incidencia anual en Japón, Europa occidental y EE.UU. es de 500.000 nuevos casos, de los cuales 170.000 son americanos. La importancia de esta modalidad de hepatitis radica en su elevadísima tendencia

a transformarse en enfermedad crónica activa (casi el 70% de los casos) y posteriormente causar cirrosis e insuficiencia hepática. Se estima que en EE.UU. entre 8.000 y 10.000 pacientes mueren anualmente como consecuencia de las complicaciones asociadas a su insuficiencia hepática. Este tipo de insuficiencia hepática se ha convertido en la causa número uno de trasplante hepático en EE.UU. en el momento actual (casi 1.000 trasplantes anuales).

A pesar de la aparición de fármacos como el interferón alfa y la lamivudina, importantes problemas de falta de eficacia clínica, coste elevado, efectos adversos y disconfort, hacen que este tipo de infecciones hepáticas sigan constituyendo importantes problemas médicos.

## **Las enfermedades infecciosas y la investigación biomédica**

Todos estos problemas, tanto los “clásicos” aumentados o agravados en los años recientes, como los de nueva aparición, están marcando el camino de la investigación biomédica en el área de las enfermedades infecciosas. Así, los grandes temas en los que en el momento actual se está trabajando de forma más intensa son :

a.- El estudio de la fisiología microbiana, tratando de entender los mecanismos genéticos de control, las propiedades de adaptación al medio, los factores de virulencia, y las relaciones ecológicas con otros microorganismos.

b.- La caracterización de los mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de las enfermedades infecciosas. Este estudio se dirige tanto a los factores de virulencia del microorganismo como a los sistemas de defensa del huésped y a las interacciones y modulaciones recíprocas de ambos componentes.

c.- El análisis de los mecanismos genéticos de adquisición y transmisión de resistencia a los agentes farmacológicos antimicrobianos.

Es de esperar que, basados en los problemas actuales y dirigidos por los progresos científicos en las áreas anteriormente indicadas, en los próximos años se produzca un importante avance en el área de la infectología clínica plasmados en:

- Desarrollo de mejores medidas de prevención de las enfermedades infecciosas. Este progreso ha de ser fundamentalmente mediante el desarrollo y utilización de vacunas eficaces y seguras frente a los más importantes agentes infecciosos patógenos, pero también requerirá el establecimiento de programas eficaces de profilaxis y control de las infecciones.

- Identificación de nuevas dianas terapéuticas. El mejor conocimiento de la fisiología microbiana ha de permitir identificar enclaves metabólicos esenciales y/o componentes genéticos centrales frente a los cuales desarrollar nuevos agentes farmacológicos.

- Purificación de nuevos principios activos naturales y diseño asistido por ordenador de compuestos sintéticos dotados de actividad antimicrobiana. Estos nuevos fármacos probablemente serán más eficaces, seguros y específicos y menos tóxicos.

- Establecimiento de métodos diagnósticos más eficaces, fiables, específicos, sensibles, sencillos y baratos que faciliten la identificación de los agentes antimicrobianos patógenos y su seguimiento epidemiológico.

### **Mecanismos de resistencia a los agentes antimicrobianos**

Es bien sabido que las bacterias existen en formas y tamaños diferentes que van desde los cocos y bacilos hasta las formas espiraladas, aunque su estructura es bastante similar, de manera que las drogas antibacterianas actúan de un modo suficientemente uniforme contra ellas, independientemente de las especies. La permeabilidad de la célula bacteriana a sustancias extrañas, como los antimicrobianos, está ampliamente determinada,

no obstante, por la estructura básica de la pared celular del organismo, es decir, por el hecho de ser el organismo gram positivo o gram negativo. Los antimicrobianos actúan contra las bacterias por una variedad de mecanismos, pero muchas especies se han rebelado contra este hecho y han llegado a ser resistentes por una igual variedad de mecanismos. Esta guerra ha conducido al desarrollo de docenas de sustancias antimicrobianas en busca de agentes que puedan superar los mecanismos de resistencia y que presenten también perfiles farmacocinéticos y farmacológicos más favorables. Pero esta clase de investigaciones y búsquedas de nuevas drogas están aún lejos de sus metas; por el contrario nos hemos acercado a una crisis en la cual ciertas infecciones serias no son ya tratables.

En un reciente artículo de la doctora M. Claire McMagnus, publicado en el volumen 54 del *Ann. J. Health. System. Pharm.* del pasado 15 de Junio, se pasa revista a los diferentes mecanismos que subyacen en el desarrollo y la dispersión de la resistencia bacteriana a las drogas antimicrobianas, dedicando una atención especial a los enterococos y a los estafilococos, los organismos que están proporcionando mayores preocupaciones y problemas a los clínicos. En el trabajo se pasa revista a la estructura bacteriana y a los mecanismos de acción de los agentes antimicrobianos, a los mecanismos genéticos de resistencia, bien intrínsecos o adquiridos por mutación o por adquisición de nuevo DNA. Los mecanismos bioquímicos de resistencia son también analizados y divididos en cinco categorías: 1) Por inactivación de drogas, 2) por reducción de la accesibilidad de las drogas, 3) por cambios en la diana, 4) por desvíos metabólicos y 5) por tolerancia, que en el caso de los estreptococos se explica por falta de enzimas autolíticas. El artículo también aborda los mecanismos de resistencia de los enterococos y en especial la resistencia glicopeptídica. Por último, se estudia la resistencia antimicrobiana en estafilococos, en especial a los agentes  $\beta$ -lactámicos.

Al final del trabajo la autora discute en profundidad la situación planteada con estas resistencias que están conduciendo si no a una crisis, sí a una situación en la que ciertas bacterias desarrollan caracteres de

resistencia múltiple de tal forma que la terapia habitual con drogas no es de uso más prolongado en contra de las infecciones que se originan. El hecho es que la resistencia de los enterococos y estafilococos está llegando a ser más prevalente. Así se subraya que la adquisición por especies de enterococos de genes de resistencia a la vancomicina ha culminado en algunos aislamientos de cepas de enterococos altamente resistentes que no son susceptibles a ningún agente normalmente disponible. Este hecho por sí mismo, es ya altamente preocupante si bien la situación puede empeorar si estos genes son pasados a especies de estafilococos, algo en que todos coinciden que puede tener unas consecuencias incalculables. Se sabe como los estafilococos intercambian eficientemente y con facilidad, información de resistencia incluyendo cepas coagulasa positivas y coagulasa negativas, al mismo tiempo que sirven de grandes reservorios de genes de resistencia adquirida. La mayoría de los clínicos pueden coincidir en que la emergencia de alto nivel de resistencia a la vancomicina en estafilococos podría conducir a una situación incontrolable, en un próximo futuro.

Diversos autores han abordado en años recientes el serio problema de la resistencia a los antibióticos y en general a los antimicrobianos, por las bacterias responsables de las infecciones hospitalarias. Tendríamos que recordar que muchos agentes antimicrobianos han sido encontrados en la naturaleza o bien sintetizados en los últimos 50 años. Los agentes antibacterianos inhiben la formación de la pared celular, destruyen la función de la membrana citoplásmica, impiden la síntesis del DNA, interfieren con la síntesis de proteínas, etc. De hecho la resistencia a los antibióticos es el resultado de tres mecanismos principales: Evitar que el agente antibacteriano alcance el sitio del receptor, producción de dianas alteradas y destrucción o modificación de los agentes. La resistencia bacteriana ha tenido lugar debido a los cambios cromosómicos o a la presencia de plásmidos o transposones. Por ejemplo, la resistencia a las  $\beta$ -lactamas es el resultado de las  $\beta$ -lactamasas y la producción de proteínas que se unen a la penicilina alteradas, así como a la también una alterada permeabilidad celular. Ejemplos importantes de estas formas de resistencia tienen lugar en estafilococos y pneumococos que han alterado "penicilin-binding proteins".

Una nueva forma de cambio de diana ha sido la producción en enterococos de proteínas que inhiben la actividad de las glicoproteínas. Las  $\beta$ -lactamasas están presentes en ambas especies de bacterias gram-positivas y gram-negativas. Recientemente se han aislado nuevos plásmidos  $\beta$ -lactamasas que destruyen diferentes cefalosporinas. La resistencia a los aminoglicósidos se debe a enzimas que acetilan, adenilan o fosforilan aminoglicósidos, que inhiben la unión a los ribosomas y como consecuencia da lugar a la pobre absorción de la droga. La resistencia a la tetraciclina es debida a plásmidos que causan la pérdida del agente del citoplasma. La resistencia a los macrólidos es el resultado de un componente ribosómico 23S alterado de los ribosomas 50S. La resistencia a las sulfamidas y el trimetropurin se debe a la producción de enzimas sintetasas y reductasas alteradas, esenciales en la síntesis del ácido fólico. La resistencia a las nuevas fluoroquinolonas se debe bien a una DNA girasa alterada o a los cambios de la pared celular que impiden la entrada de los compuestos. Aunque la resistencia ha constituido un importante problema, la producción de compuestos molecularmente modificados y de inhibidores de  $\beta$ -lactamasas y el desarrollo de nuevas drogas han facilitado la producción de agentes para tratar bacterias altamente resistentes. Digamos por último, que el trabajo publicado por H.C. New, del Centro Médico de la Universidad de Columbia bajo el título "New understandings of resistance and modes of action" aparecido en *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 12, 109 S (1989) se constituye en un excelente artículo de revisión que aún no ha perdido actualidad y que puede servir de obligada referencia al tratar los temas de resistencia antimicrobiana.

Por otro lado se reconoce que la ecología de la resistencia a los antibióticos es compleja y los problemas que se plantean difíciles de resolver, los análisis son usualmente retrospectivos siendo los modelos de laboratorio dignos de confianza de situaciones naturales difíciles de establecer. Trabajos recientes han sugerido que el DNA liberado es casi estable en el medio ambiente y rápidamente atraviesa las barreras de las membranas, la creciente estabilización continua debido a la unión del DNA al material particulado. De hecho las preparaciones mismas de antibióticos están con

frecuencia contaminadas con DNA que codifica genes de resistencia a los antibióticos, incrementando de esta forma la oportunidad de intercambio genético entre organismos productores de antibióticos y los propios microbios que se intenta controlar.

Con la información aportada hemos intentado poner de manifiesto el progreso alcanzado por la Microbiología en general pero de modo especial en España, campo en el que afortunadamente en la actualidad un elevado número de jóvenes y más maduras promociones de científicos desarrollan con ilusión esta atractiva especialidad. Y al concluir esta disertación quisiera agradecerles sinceramente la benevolencia demostrada al seguir el discurso con tanta atención. Muchas gracias.

# **CONTESTACIÓN AL DISCURSO DE INGRESO EN LA REAL ACADEMIA DE DOCTORES**

**DEL PROF. D. JULIO RODRÍGUEZ VILLANUEVA**

Pronunciado por el Académico de Número  
**EXCMO. SR. D. RAFAEL CADÓRNIGA CARRO**

Pocas cosas son tan gratas como recibir y abrazar al amigo, y pocas veces resulta tan fácil una misión tan grata.

Cuando recibí el encargo de la Sección de Farmacia de esta Real Academia de contestar, en su nombre, el Discurso de Ingreso del Dr. Rodríguez Villanueva, y obtuve la aquiescencia del recipiendario para tal fin, sentí el temor de no estar a la altura de las circunstancias. Glosar un Discurso de Ingreso, que preveía de gran riqueza de contenido, y poner de relieve la trayectoria y personalidad del Prof. Rodríguez Villanueva, en el corto espacio de tiempo de que debe disponer el académico que recibe al nuevo colega, se me antojaba muy superior a mis fuerzas. Acepté, sin embargo, agradecido y con gusto; por sentido de la disciplina y por sentido de la amistad.

Tras una primera lectura de los datos de que disponía, y pergeñar la estructura de lo que podía ser mi intervención, se disiparon mis temores. Empezaba a invadirme una ola de osado optimismo.

## 1. La persona, el medio y la circunstancia

Veamos, en primer lugar, qué es, y qué hizo, el Prof. D. Julio Rodríguez Villanueva, a quien hoy recibe con júbilo esta Real Corporación. Es, como tantos españoles de similar edad, víctima y fruto de las circunstancias en que se desarrolla su infancia y adolescencia. Nace en Villamayor (Asturias) el 27 de abril de 1928. Ello significa que, apenas cumplidos los seis años, pasan ante sus ojos infantiles, atónitos, incapaces de comprender los hechos, los dramáticos sucesos de octubre de 1934 que afectan a toda España y, de forma muy directa, a su terruño.

Probablemente aún no repuesto de esta impresión se ve inmerso, dos años más tarde, en los nuevos avatares de nuestra guerra civil, que le enseñan que aún pueden vivirse mayores tragedias que las ya pasadas. Aún retumban en nuestros oídos los últimos cañonazos de la, tantas veces llamada, “guerra incivil” cuando Europa primero, y el resto del mundo después, se sumergen en la más sangrienta contienda que recuerda la Historia. ¿Hasta cuando la escalada de la violencia ?.

Y así, con esta “música” de fondo, transcurre su, -nuestra-, infancia y su, -nuestra-, adolescencia. Sigue un período de aislamiento internacional que, en el interior, se hace coincidir con un ansia de autarquía que, como siempre, -y más aquí y en ese momento-, no deja de ser un deseo utópico.

Lo que comenzaba a vislumbrarse como el “alborear de un siglo de plata”, en opinión de un nutrido grupo de intelectuales españoles, se trunca por el exilio,- voluntario o forzado-, de docentes y científicos que impartían aquí su magisterio, y el aislamiento de los que optaron por, y pudieron, quedarse en España. Estos, los que permanecieron, demostrando una acrisolada vocación docente; trabajan con más entusiasmo que medios; suplen la precariedad con el ingenio; crean, en las jóvenes promociones, la ilusión por el trabajo y animan, o despiertan, inquietudes en una generación que quiere ser abierta, tolerante e ilusionada.

## 2. El período de formación

En este medio de cultivo, con estos nutrientes y precursores, -como podría decir un microbiólogo,- inicia y concluye Julio Rodríguez Villanueva su período de formación universitaria. No es difícil suponer que la tradición familiar influyera en la elección de la carrera. Su padre, farmacéutico vocacional, se mantuvo al frente de su farmacia hasta su fallecimiento, a edad ya muy avanzada. La esposa y dos de sus hijas, son también farmacéuticos. El peso de la tradición, se recibe y se transmite.

Se licencia en Farmacia en 1952 con Premio Extraordinario e inicia sus estudios de doctorado bajo la dirección y tutela de D. José María Albareda y D. Lorenzo Vilas, maestros de toda una generación de farmacéuticos españoles, con lo que comienza su formación de post-grado. Una primera estancia en el extranjero, en la Sección de Fitopatología de la Estação Agronómica Nacional, Sacavem-Lisboa trabajando bajo la dirección del Prof. Branquinho d'Oliveira (1953-54), le desvela nuevos horizontes. Vuelve a Madrid, concluye y redacta su Tesis Doctoral, que versa sobre "Hongos Fitopatogenos" y, en la misma Facultad en que se licencia, Universidad de Madrid, se doctora en 1955, también con Premio Extraordinario.

El Prof. Branquinho d'Oliveira, Director del Departamento de Fitopatología de la Estação Agronómica Nacional, en Sacavem-Lisboa, en la que Rodríguez Villanueva había disfrutado de una Beca Predoctoral, era Ph.D. por la Universidad inglesa de Cambridge, con la que, naturalmente, mantenía una estrecha relación. El Prof. Severo Ochoa por una relación familiar le orienta también en su formación postdoctoral. Consecuencia lógica de estas relaciones es que, en 1955 inicie su ciclo de formación postdoctoral en la Universidad de Cambridge (U.K.), ahora en el Subdepartment of Chemical Microbiology, School of Biochemistry de la citada Universidad, bajo la dirección del Prof. Ernest F. Gale. Esta estancia, aunque con alguna interrupción, culmina con el Doctorado en Bioquímica (1959), por la prestigiosa Universidad británica.

Colaborador Científico por oposición del C.S.I.C. (1957), Investigador en 1962 y Profesor de Investigación en 1971, jalonan sus pasos en el campo de la investigación científica. Una estancia en el Instituto de Fisiología y Bioquímica de la Universidad de Lovaina, siguiendo un curso de Ultrafiltración impartido por el Premio Nobel Prof. De Duve, y numerosas y detenidas visitas a Centros de Investigación y Universidades de la Europa Occidental y América, relacionados en su mayoría con la Microbiología y la Biología Molecular, confieren al Dr. Rodríguez Villanueva la preparación y madurez que le abren las puertas de la Cátedra Universitaria.

### **3. La Cátedra Universitaria**

En 1967 obtiene, por oposición, la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Salamanca y, casi inmediatamente, la Dirección del Departamento. En 1970 pasa a dirigir el Centro Mixto de Microbiología y Bioquímica del CSIC y la Universidad de Salamanca, y posteriormente, en 1987, el Departamento de Microbiología, Genética, Medicina Preventiva y Salud Pública en la misma Universidad.

El Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Salamanca empieza a ser un Centro de Referencia en la Microbiología española; En este Departamento desarrolla su docencia directa el Prof. Rodríguez Villanueva, y en él se crea un vivero de microbiólogos, y científicos en general, que pasearán el nombre de España por los más prestigiosos centros extranjeros. La figura de Rodríguez Villanueva adquiere una dimensión poco común. Es por ello, sin duda, que en 1972 es nombrado Rector de la Universidad de Salamanca, y, con su rectorado, afianza su andadura la Facultad de Farmacia de Salamanca que pronto alcanza un extraordinario prestigio merced al trabajo y tesón de su magnífico plantel de profesores.

Decíamos antes que el Departamento de Microbiología de la Facultad de Biología se transforma en vivero de docentes e investigadores que

ocupan puestos de gran relieve en Centros nacionales y extranjeros. Dar nombres resulta siempre enojoso y arriesgado. Enojoso por lo difícil que es establecer una prioridad en la cita, que no siempre salva airoosamente el socorrido orden alfabético. Arriesgado porque siempre existe la posibilidad de una omisión involuntaria, con harta frecuencia comprendida y disculpada por el omitido pero acerbamente criticada por su posible corte de aduladores, habitualmente mediocres intelectual y científicamente. Y... ¡que crueles son estos en la maledicencia!

Las cifras dan idea de la magnitud aunque no descendan al detalle. En los 40 años de actividad docente e investigadora del Prof. Rodríguez Villanueva y su equipo, se han formado en los laboratorios a su cargo: 22 Catedráticos de Universidad, 25 Profesores Titulares, 22 Investigadores Científicos del CSIC, y, al menos, otros 18 Científicos que trabajan en empresas o que ejercen su actividad en centros nacionales o extranjeros, algunos integrados, o dirigiendo, equipos punteros en áreas de vanguardia de la Microbiología y la Biología Molecular.

#### **4. Congresos, Reuniones y Comisiones**

Tras el I Congreso Nacional de Microbiología, que el Dr. Rodríguez Villanueva organiza con la colaboración de su esposa la Dra. Isabel García Acha en la Sede del CSIC, en Madrid, en el año 1960, se le propone como Secretario del Comité Organizador de la primera Reunión Española de Bioquímicos, que se celebra en julio de 1961, en la Universidad Internacional Menéndez Pelayo, presidida por el Prof. Alberto Sols y con la asistencia, entre otros destacados científicos, del Prof. Severo Ochoa. En esta reunión se sientan las bases de lo que sería la Sociedad Española de Bioquímica (SEB), que se constituye con ocasión del I Congreso Nacional de Bioquímica celebrado en Santiago de Compostela en 1962. El Prof. Rodríguez Villanueva es elegido primer secretario de la SEB, y, en 1968, Presidente de la Sociedad. Un año más tarde, desempeña un importante papel en la organización del VI Congreso de la FEBS (Federación

Europea de Sociedades Bioquímicas), celebrado en Madrid en el mes de mayo de 1969, en el que actúa de Presidente del Congreso, al que asisten más de 1.000 científicos españoles y un elevado número de extranjeros, entre ellos 10 Premios Nobel.

Se suceden a ritmo acelerado las reuniones nacionales, internacionales, cursos, participación en comités y comisiones en los que se reclama la presencia y participación del Dr. Rodríguez Villanueva. La obligada brevedad de mi intervención aconseja omitir una relación más detallada de las reuniones científicas en las que participa el nuevo académico, ya que esta relación puede ser sustituida por un apéndice a ambos discursos.

No sólo congresos y reuniones científicas absorben su tiempo. Paralelamente, y consecuencia de su actividad docente, situación y consideración en el ámbito universitario, ha de hacer frente a muchos y muy variados compromisos. Porque es, o ha sido, Miembro Permanente del Consejo de Rectores de España en la Conferencia de Rectores de las Universidades Europeas (1979-84); Presidente del Comité Asesor del Centro de Educación Superior de la UNESCO (CEPES) (1979-84); Asesor de Asuntos Universitarios de la Oficina de Educación Iberoamericana (OEI); Miembro del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces desde su creación (1987); Académico de Número y vicedirector de la Real Academia de Farmacia; Miembro del Consejo Rector del Instituto Nacional de Salud Carlos III. La relación podría continuarse, pero lo considero innecesario por las razones ya apuntadas en una sección anterior.

## **5. Premios y Distinciones**

Cuarenta largos años de magisterio, formando docentes e investigadores, participando en congresos y reuniones, tomando parte en comisiones de la más variada naturaleza, tienen como obligado corolario el reconocimiento de la sociedad por la labor realizada. Este reconocimiento se puede manifestar de dos formas radicalmente diferentes: tangible, u ostensible,

una e inconcreta y emocional la otra. Personalmente, concedo más valor e importancia a esta que a aquella.

La intangible, o emocional y emotiva, se percibe cuando, pasados los años, se produce un encuentro, fortuito o no, con un antiguo colaborador o ex-alumno. La expresión que se puede leer en su rostro, más elocuente que las palabras con las que trata de expresar la posible satisfacción del encuentro, compensan sobradamente los desvelos y trabajos que conlleva la función educadora. Es el flujo afectivo que se establece entre dos personas que han compartido, durante un tiempo limitado, una misma tarea: la exposición o discusión de un problema, un trabajo experimental,... la búsqueda de un futuro ilusionado e ilusionante. Solo lo perciben los que lo sienten. No se puede cuantificar ni encaja en un sistema de registro predefinido. Pero, ¡Que gratificante es esta sensación!

La segunda forma de reconocimiento sí que se puede expresar, e incluso materializar, en algo tangible. Es la que se plasma en nombramientos, diplomas y distinciones. A decir verdad, son muy numerosos los que, hasta la fecha, puede aportar el Prof. Rodríguez Villanueva. Sirva como muestra la relación que a continuación se incluye, anteponiendo a la misma una salvedad: La relación, hecha por mi, no supone que las distinciones excluidas sean de inferior rango que las que se mencionan. Se resucita el riesgo de las exclusiones, que no omisiones, con el peligro de no incluir alguna que pueda tener, para el Prof. Rodríguez Villanueva, un especial significado que yo ignoro.

### **Relación parcial de premios y distinciones:**

Fellow de la Fundación Ramsay de Londres (1959)

Premio Feijóo de Divulgación Científica de la Asociación Española para el Progreso de las Ciencias (1963),

Premio Nacional de Investigación Científica. CSIC (1974).

Premio del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos de España (1975).

Caballero de la Legión de Honor de México (1978).

Doctor Honoris Causa por la Universidad de Queretaro, México (1978) y de la Universidad de San Marcos de Lima (1978).  
Medalla de Oro de la Universidad de Salamanca (1979).  
Doctor Honoris Causa por la Universidad de Oviedo (1981).  
Académico de Número de la Real Academia de Medicina de Salamanca (1982).  
Gran Cruz de la Orden Civil de Alfonso X El Sabio (1982).  
Premio a la Invención de la Fundación García Cabrerizo, Madrid (1983).  
Miembro del Jurado del Premio Príncipe de Asturias de Investigación Científicas y Técnica (1981-1987).  
Miembro del Jurado del Premio de Ciencia Severo Ochoa, de la Fundación Ferrer Internacional. Barcelona (1985-87).  
Premio de Investigación Rey Jaime I de la Generalitat Valenciana (1990).  
Vicepresidente del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces.

## **6. El Discurso de Ingreso**

El discurso leído por el Profesor Villanueva presenta una amplia visión del desarrollo de la Microbiología, haciendo especial hincapié en aspectos relacionados con la historia de la Microbiología Española que él ha vivido desde los años cincuenta hasta nuestros días. El Profesor Rodríguez Villanueva ha sido testigo activo de la evolución de la Microbiología tanto en España como en el extranjero desde sus puestos de responsabilidad en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas y desde la Universidad. Trata con su intervención de subrayar la importancia de la Microbiología y lo que ha supuesto la aportación de los microorganismos al desarrollo de la moderna Biología y en especial de la Biología Molecular. Desde su lugar de observación ha vivido el formidable desarrollo de la Microbiología Española sobre todo a partir de los años sesenta desde su incorporación al Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC en Madrid.

De forma especial el académico realiza un amplio examen al campo de la micología y en especial a todo lo que ha supuesto en nuestro país el

trabajo con las levaduras, en centros y departamentos españoles. De forma más profunda y precisa relata los trabajos de muchos de los que han sido sus colaboradores en el Centro Mixto Instituto de Microbiología-Bioquímica del CSIC y la Universidad de Salamanca. De hecho se puede afirmar que desde la incorporación del Prof. Villanueva al CSIC en 1960 se inicia una intensa labor de investigación y de formación de docentes e investigadores en el campo de las levaduras y hongos de tal forma que el Instituto de Microbiología Bioquímica de Salamanca adquiere un amplio reconocimiento a nivel internacional por sus trabajos científicos y en especial por sus aportaciones al mejor conocimiento de la estructura y función de las levaduras. Los datos que se recogen en esta memoria pueden considerarse como un interesante material de consulta para las futuras promociones de microbiólogos.

La última parte de su discurso representa una síntesis de un problema realmente acuciante para la sociedad y que a él le preocupa personalmente como es el que corresponde al desarrollo de la resistencia a los actuales agentes antimicrobianos, principalmente los antibióticos. La lectura de las correspondientes páginas da ocasión para conocer un poco a fondo el verdadero problema actual del desarrollo y de la reemergencia de las enfermedades infecciosas que el Prof. Rodríguez Villanueva trata de resumir en el análisis de la situación de los estudios clínicos en relación con el SIDA, la tuberculosis y los diferentes tipos de hepatitis víricas. Y resumiendo se puede afirmar que los problemas planteados con estas resistencias a los modernos agentes antimicrobianos de que se dispone en clínica están conduciendo en buena parte a una crisis como consecuencia de las resistencias múltiples de forma que la terapia habitual con diferentes drogas se limita y no parecen ser de uso más prolongado en contra de las actuales infecciones.

La Real Academia de Doctores se felicita hoy al incorporar a su seno a un profesor que a lo largo de su vida se dedicó con gran entrega e ilusión al desarrollo de la Microbiología en España y en nombre de la institución nos ha correspondido la grata misión de darle la bienvenida a esta docta corporación.

