

PROGRAMA DE LA ASIGNATURA
TÉCNICAS RÁPIDAS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO
 Curso académico: 2013-2014

Identificación y características de la asignatura				
Código	502238			Créditos ECTS 6
Denominación (español)	Técnicas Rápidas de Análisis Microbiológico			
Denominación (inglés)	Rapid Microbiological Analysis Techniques			
Titulaciones	Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos			
Centro	Escuela de Ingenierías Agrarias			
Semestre	Segundo (8º)	Carácter	Optativo	
Módulo	Optativo			
Materia	Técnicas Rápidas de Análisis Microbiológico			
Profesor/es				
Nombre	Despacho	Correo-e	Página web	
María José Benito Bernáldez	D-720 Edificio Valle del Jerte	mjbenito@unex.es		
Área de conocimiento	Nutrición y Bromatología			
Departamento	Producción Animal y Ciencia de los Alimentos			
Profesor coordinador (si hay más de uno)	María José Benito Bernáldez			
Competencias				
CECSA1: Identificar y establecer las posibles causas del deterioro de los alimentos.				
CECSA2: Conocer y evaluar los peligros higiénicos-sanitarios y toxicológicos en los alimentos y sus efectos sobre la salud del consumidor.				
CECSA3: Promover la seguridad y la calidad en la cadena alimentaria, desde la producción de las materias primas al consumo.				
...				
Temas y contenidos				
Breve descripción del contenido				
<p>Conocer los fundamentos y aplicaciones de las técnicas rápidas y automatizadas. Importancia de la aplicación de técnicas rápidas para la detección de microorganismos. Análisis microbiológicos de los alimentos mediante técnicas específicas, rápidas y precisas. Caracterización e identificación de microorganismos mediante técnicas de ácidos nucleicos. Detección de microorganismos o sus productos mediante métodos físicos, químicos e inmunológicos. Usos de bioensayos y métodos afines. Esta asignatura se impartirá en inglés y español.</p>				
Temario de la asignatura				
Denominación del tema 1: ASPECTOS GENERALES.				

Contenidos del tema 1:

1.1. INTRODUCCIÓN. Sistemas, métodos, importancia de las nuevas técnicas de detección. Conceptos generales.

Denominación del tema 2: **TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS O SUS PRODUCTOS EN ALIMENTOS MEDIANTE MÉTODOS DE BIOLOGIA MOLECULAR**

Contenidos del tema 2:

2.1. ÁCIDOS NUCLEICOS. Estructura física y química del ADN. Renaturalización. Estructura del ARN.

2.2. TECNOLOGÍA DEL ADN RECOMBINANTE I. Obtención del ADN: extracción. Visualización del ADN. Fragmentación del ADN: enzimas de restricción. Unión de moléculas de ADN.

2.3. TECNOLOGÍA DEL ADN RECOMBINANTE II. Naturaleza de los vectores: plásmidos y fagos vectores. Genes sintetizados en el laboratorio: DNA complementario. Clonación: etapas.

2.4. TÉCNICAS USADAS PARA EL ESTUDIO DE LOS ÁCIDOS NUCLEÍCOS I. Hibridación: Definición de sonda. Marcaje de la sonda. Ventajas de las sondas. Sensibilidad y especificidad. de colonias. Técnicas de hibridación de fragmentos: Southern Blotting y Northern Blotting.

2.5. TÉCNICAS USADAS PARA EL ESTUDIO DE LOS ÁCIDOS NUCLEÍCOS II. Secuenciación, visualización y tipos. Digestión del ADN con enzimas de restricción (REN). Amplificación de fragmentos de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa: limitaciones y eficiencia; usos y aplicaciones. Estudio de los valores C+G. Complementariedad del ADN.

2.6. TÉCNICAS UTILIZADAS PARA EL ESTUDIO DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS III. Estudios de los polimorfismos genéticos I. Cariotipaje. Análisis de fragmentos de restricción (RFLPs), Estudio del ADNr. Estudio del ADN no ribosómico y ARN (RT-PCR).

2.7. TÉCNICAS UTILIZADAS PARA EL ESTUDIO DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS VI. Estudios de los polimorfismos genéticos II. Huella de ADN o fingerprinting, PCR aleatoria o RAPD, huella de PCR o PCR fingerprinting, polimorfismos de los fragmentos de ADN amplificado o AFLP.

Denominación del tema 3: **TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS O SUS PRODUCTOS EN ALIMENTOS MEDIANTE MÉTODOS FÍSICOS, QUÍMICOS E INMUNOLÓGICOS**

Contenidos del tema 3:

3.1. MÉTODOS FÍSICOS: Impedancia, microcalorimetría y citometría de flujo. Turbidimetría.

3.2. MÉTODOS QUÍMICOS: determinación de trifosfato de adenosina (ATP), Epifluorescencia directa (DEFT). Radiometría. Sustratos fluorógenos y cromógenos. Galerías API. Nucleasa termoestable. Lisado de Limulus para investigación de endotoxinas (LAL),.

3.3. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS: clasificación de métodos cromatográficos. Análisis y detección.

3.4. MÉTODOS INMUNOLÓGICOS I: Precipitación. a) en medio líquido: cuantitativa y cualitativa. b) en medio sólido: inmunodifusión doble, inmunodifusión radial e inmunoelectroforesis. Aglutinación: aglutinación en porta, seroaglutinación en tubo y hemaglutinación directa en microplaca.

3.5. MÉTODOS INMUNOLÓGICOS II: Inmunofluorescencia: directa e indirecta. Radioinmunoensayo: en fase sólida; directa e indirecta. ELISA: Fundamentos y tipos. ELISA directo. ELISA indirecto. ELISA doble "sandwich" de anticuerpos. ELISA indirecto doble "sandwich" de anticuerpos. ELISA competición.

3.7. BIOSENSORES. Definición. Componentes de un biosensor. Características de los biosensores. Futuro de los biosensores.

Denominación del tema 4: TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS O SUS PRODUCTOS EN ALIMENTOS MEDIANTE BIOENSAYOS Y MÉTODOS AFINES

Contenidos del tema 4:

4.1. PRUEBAS EN ANIMALES VIVOS. Letalidad en ratón, ratón lactante, diarrea del conejo y ratón, prueba del gatito, pruebas cutáneas en el conejo y en el cobaya.

4.2. MODELOS QUE REQUIEREN TÉCNICAS QUIRÚRGICAS. Técnicas de ligadura de asas intestinales. Método de RITARD

4.3. SISTEMAS DE CULTIVOS CELULARES. Células humanas de epitelio mucoso. Células intestinales de cobaya. Células Vero

Sesiones prácticas

Práctica 1: Identificación de toxinas microbianas por técnicas de ácidos nucleicos (PCR). Extracción de ADN bacteriano, PCR en tiempo real

Práctica 2: Visualización de toxinas de naturaleza proteica mediante electroforesis en gel de poliacrilamida. Identificación de diferentes microorganismos mediante perfiles de proteínas en electroforesis en gel de poliacrilamida.

Práctica 3: Identificación de microorganismos mediante técnicas inmunológicas ELISA, TECRA UNIQUE y VIDAS

Práctica 4: Utilización de otros métodos rápidos para detección de microorganismos índices indicadores como VIP(E.coli EHEC), SIMPLATE (coliformes y E.coli)

Práctica 5. Métodos bioquímicos rápidos: GALERIAS API.

Práctica 6. Métodos fisico-químicos (Cromatografías).

Actividades formativas

Horas de trabajo del alumno por tema		Presencial		Actividad de seguimiento	No presencial
Tema	Total	GG	SL	TP	EP
1	18,5	2,5		1	15
2	30	10			20
3	26,5	5		1,5	20
4	11	3			8
CAMPO O LABORATORIO					
1	11		6		5
2	11		5	1	5
3	11		6		5
4	11		5	1	5
5	10		5		5
6	10		5		5
Evaluación del conjunto	150	20.5	32	4.5	93

GG: Grupo Grande (100 estudiantes).

SL: Seminario/Laboratorio (prácticas clínicas hospitalarias = 7 estudiantes; prácticas laboratorio o campo = 15; prácticas sala ordenador o laboratorio de idiomas = 30, clases problemas o seminarios o casos prácticos = 40).

TP: Tutorías Programadas (seguimiento docente, tipo tutorías ECTS).

EP: Estudio personal, trabajos individuales o en grupo, y lectura de bibliografía.

Sistemas de evaluación

Se evaluarán:

- Conocimientos prácticos

El aprendizaje de la parte práctica de la asignatura se evaluará continuamente, mediante control de asistencia a las sesiones prácticas y su participación en las mismas. Se responderá a un cuestionario al final de las sesiones prácticas que será igualmente

evaluado. Asimismo, se evaluará su aprovechamiento mediante la realización de un trabajo práctico. En el examen final también se evaluará la parte práctica de la asignatura mediante preguntas cortas relacionadas con las prácticas realizadas (fundamentos, procedimiento de realización, etc.). Esta parte será obligatoria para superar la asignatura. Para aprobar esta parte es necesario obtener una calificación igual o superior a 5 puntos.

Seminarios o trabajos tutorizados ECTS

Los seminarios se evaluarán mediante la realización de trabajos monográficos que se expondrán a lo largo del curso en grupo grande. Se evaluará continuamente, mediante control de asistencia a las tutorías ECTS y su participación en las mismas. Asimismo se evaluarán los conocimientos de los seminarios en el examen final mediante un cuestionario que constará de preguntas cortas. Esta parte será obligatoria para superar la asignatura. Para aprobar esta parte es necesario obtener una calificación igual o superior a 5 puntos en cada una de las partes.

- Conocimientos teóricos

Se realizarán exámenes semanales que constarán de preguntas tipo test y cortas entremezcladas. Las preguntas de tipo test solamente tendrán una respuesta verdadera; aquellas preguntas contestadas de forma errónea restarán $\frac{1}{2}$ del valor de la pregunta, es decir, dos respuestas erróneas anulan una acertada. Las preguntas cortas tratarán sobre definiciones, conceptos básicos de la asignatura, etc., y serán puntuadas, en el caso de ser contestadas correctamente, como una pregunta tipo test. Para aprobar la parte teórica es necesario obtener una calificación igual o superior a 5 puntos en este examen.

Se realizará un examen final en Junio-Julio (fechas oficiales) que constará de preguntas tipo test y cortas entremezcladas. Las preguntas de tipo test solamente tendrán una respuesta verdadera; aquellas preguntas contestadas de forma errónea restarán $\frac{1}{2}$ del valor de la pregunta, es decir, dos respuestas erróneas anulan una acertada. Las preguntas cortas tratarán sobre definiciones, conceptos básicos de la asignatura, etc., y serán puntuadas, en el caso de ser contestadas correctamente, como una pregunta tipo test. Para aprobar la parte teórica es necesario obtener una calificación igual o superior a 5 puntos en este examen.

Cada parte representará un porcentaje de la nota final:

- Conocimientos teóricos 60%
- Seminarios: elaboración y presentación 20%
- Trabajo de laboratorio: asistencia, conocimientos y presentación 20%

Bibliografía y otros recursos

- CASARETT, L.J., AMDUR, M.O., KLAASSEN, C.D. (1995). Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poison. McGraw-Hill,
- DOYLE, M.P. (2000). Microbiología de los alimentos:fundamentos y fronteras. Acribia. Zaragoza
- LINDNER, E. (1995). Toxicología de los Alimentos. 2a ed. Acribia. Zaragoza.
- FREIFELDER, D. (1988). Fundamentos de biología molecular. Acribia S. A. Zaragoza.
- FRAZIER, W.C. y WESTHOFF, D.C. (1996). Microbiología.de los Alimentos. 4aEd. Acribia. Zaragoza.
- GRUENWEDEL, D.W. y WHITAKER, J. R. (1984). Food Analysis. Principles and Techniques. Volumen 3. Marcel Dekker, Inc. New York and Basel.
- HAYES, P .R. (1993) Microbiología e Higiene de los Alimentos. Acribia. Zaragoza.
- ICMSF. Microorganismos de los Alimentos. Ecología microbiana de los productos alimentarios (2001): Acribia. Zaragoza.
- JAY, J. (2002) Microbiología Moderna de los Alimentos. 4a ed. Acribia. Zaragoza.
- MORTIMER, S.E. y WALLACE, C. (1996) HACCP: Enfoque práctico. Acribia. Zaragoza.
- NELSON, W.H. (1985). Instrumental methods for rapid microbiological analysis. VCH Publishers.

- PASCUAL ANDERSON M.R. (2000) Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas. Díaz de Santos. Madrid.
- STANNARD, C.J., PETIT, S.B. Y SKINNER, F.A. (1989). Rapid microbiological methods for foods, beverages y pharmaceuticals. Blackwell scientific publications.
- WALKER, J.M. Y GINGOLD, E.B. (1997). Biología molecular y Biotecnología. 2ª edición. Acribia S. A. Zaragoza.

Bibliografía o documentación de lectura obligatoria*

Se les facilitará a los alumnos un resumen del tema impartido en grupo grande, en seminario-laboratorio o tutoría ECTS.

Bibliografía o documentación de ampliación, sitios web...*

BIBLIOGRAFÍA:

- Fenema, O.R. (1993). Química de los Alimentos. Acribia. S. A. Zaragoza.
- Forrest, J.C., Aberle, E.D., Harold, B. H., Judge, M.D., Merkel, R.A. (1979). Fundamentos de ciencia de la carne. Acribia S.A. Zaragoza.
- Günter, V., Gunter, J., Dieter, S., Wolfgang, S., Norbert, V. (1999). Elementos de Bromatología descriptiva. Acribia. S.A. Zaragoza.
- Huy, Y.H. (1991). Encyclopedia of food science and technology. John Wiley & Sons. Chichester.
- Ishikawa, K. (1994). Introducción al control de calidad. Díaz de Santos. Madrid
- Less, R. ((1982). Análisis de los Alimentos. Métodos y analíticos y control de calidad. Acribia S.A. Zaragoza.
- Muller, H.G. y Tobin, G. (1986). Nutrición y ciencia de los Alimentos. Acribia S.A. Zaragoza.
- Ockerman, H.W. y Hansen, C.L. (1994). Industrialización de subproductos de origen animal. Acribia S.A. Zaragoza.
- Peña, D. (1985). Estadística, modelos y métodos. 1. Fundamentos. Alianza Universidad. 2ª edición.
- Peña, D. (1986). Como controlar la calidad. Manuales IMPI. Segunda edición corregida y actualizada.
- Primo, E. (1997). Química de los Alimentos. Síntesis. Madrid.
- Robinson, D. S. (1991). Bioquímica y valor nutritivo de los Alimentos. Acribia S. A. Zaragoza.
- Sikorski, Z.E. (1994). Tecnología de los productos del mar. Acribia S.A. Zaragoza.

SITIOS WEB:

- <http://www.dce.ksu.edu/dce/cl/rapidmethods/>
- <http://www.rapidmethod.com>
- Aguas: <http://www.ua.es/es/servicios/juridico/aguas.htm>
- HACCP: <http://www.calidadalimentaria.com>
- HACCP: <http://www.juridicas.es>
- Seguridad Alimentaria:
<http://www.aesa.msc.es/aesa/web/AesaPageServer?idcontent=92&idpage=58>
- FDA, métodos rápidos de análisis: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-a1.html>
- Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology:
<http://www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=1060-3999>
- AOAC: <http://www.aoac.org/testkits/microbiologykits.htm> y
<http://www.aoac.org/pubs/microcompendium.htm>

Tutorías Programadas: los días en los que así se indique por el profesor en la web de la escuela. <http://www.unex.es/conoce-la-uex/estructura-academica/centros/eia/informacion-academica/horarios>

Tutorías de libre acceso: los días en los que así se indique por el profesor en la web de la escuela. <http://www.unex.es/conoce-la-uex/estructura-academica/centros/eia/informacion-academica/horarios>

Recomendaciones

Las recomendaciones generales para un mejor aprovechamiento de la asignatura por los alumnos son:

- Asistir y participar en las clases presenciales y prácticas de la asignatura.
- Utilizar frecuentemente el aula virtual y otros recursos web (foros, blogs, etc.)
- Asistir a las sesiones de tutoría programadas por el profesor para el seguimiento de la asignatura.
- Utilizar la bibliografía recomendada por el profesor.