

# **Máster en Calidad, Seguridad y Tecnología de los Alimentos**

## **63011 - Metodología para el estudio de la inactivación y supervivencia microbiana**

**Guía docente para el curso 2015 - 2016**

**Curso: , Semestre: , Créditos: 3.0**

---

### **Información básica**

---

#### **Profesores**

- **Rafael Pagán Tomás** [pagan@unizar.es](mailto:pagan@unizar.es)
- **María Pilar Mañas Pérez** [manas@unizar.es](mailto:manas@unizar.es)

#### **Recomendaciones para cursar esta asignatura**

Sería conveniente que aquellos estudiantes que no hayan cursado previamente Microbiología y Microbiología de los Alimentos tuvieran una reunión con los profesores responsables de la asignatura para que éstos les orienten sobre la posibilidad de consultar algunos textos básicos con anterioridad al comienzo del curso.

#### **Actividades y fechas clave de la asignatura**

La fechas e hitos clave de la asignatura están descritos con detalle, junto con los del resto de asignaturas del Master Universitario en Calidad, Seguridad y Tecnología de los Alimentos en el documento “Programación de actividades” ubicado en la [página web](#) de la Facultad de Veterinaria.

---

### **Inicio**

---

#### **Resultados de aprendizaje que definen la asignatura**

**El estudiante, para superar esta asignatura, deberá demostrar los siguientes resultados...**

**1:**

Conoce y es capaz de distinguir los métodos laboratoriales básicos más adecuados para el estudio de la supervivencia microbiana frente a agentes de diversa naturaleza.

**2:**

Es capaz de plantear un experimento, estimar el material y manipulaciones necesarias, prever dificultades y problemas metodológicos y plantear posibles soluciones.

**3:**

Es capaz de realizar las manipulaciones necesarias y utilizar las técnicas de laboratorio adecuadas para el estudio de la supervivencia microbiana frente a un determinado agente.

- 4:** Es capaz de interpretar y analizar los resultados obtenidos experimentalmente, y extraer conclusiones.
- 5:** Ha adquirido capacidad crítica a través del manejo de bibliografía científica relacionada con el tema de trabajo, y a través de la evaluación del propio trabajo.
- 6:** Es capaz de obtener e interpretar en una presentación oral los resultados de un trabajo de investigación, realizado en equipo, sobre supervivencia microbiana frente a un determinado agente de inactivación.

## Introducción

### Breve presentación de la asignatura

La asignatura *Metodología para el estudio de la inactivación y supervivencia microbiana* es de carácter optativo. Tiene una carga docente de 3 ECTS y se imparte en el segundo cuatrimestre. Pertenece al módulo optativo Itinerario de Investigación.

---

## Contexto y competencias

---

### Sentido, contexto, relevancia y objetivos generales de la asignatura

#### La asignatura y sus resultados previstos responden a los siguientes planteamientos y objetivos:

Se trata de una asignatura encuadrada dentro del módulo de investigación, optativa e independiente del resto. Junto con asignaturas como *Investigación de microorganismos en alimentos, agua y ambiente: técnicas tradicionales y moleculares*, *Investigación de mohos y micotoxinas en alimentos*, *Herramientas moleculares para la ciencia de los alimentos*, y *Detección y valoración de compuestos antimicrobianos en los alimentos*, proporciona a los alumnos la posibilidad de profundizar en el ámbito de la microbiología como materia básica en la formación de cualquier especialista en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

Además de proporcionar formación básica en el campo de la microbiología, tiene como principal objetivo el desarrollo de habilidades en las técnicas más utilizadas en investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, así como proporcionar el conocimiento de las herramientas necesarias para la búsqueda de información científica y la adquisición de la capacidad para desarrollar un trabajo de investigación de forma autónoma, presentarlo y defenderlo públicamente.

### Contexto y sentido de la asignatura en la titulación

La superación de esta disciplina aportará conocimientos básicos acerca de los microorganismos de los alimentos y capacitará a los alumnos para el desempeño de actividades de investigación en el campo de la inactivación y supervivencia microbiana, especialmente sobre aspectos relacionados con la Ciencia y Tecnología de los alimentos: desinfección, conservación de alimentos, etc. Además, junto con el resto de asignaturas del Master, permite el acceso al Programa de Doctorado en Calidad, Seguridad y Tecnología de la Universidad de Zaragoza, programa con Mención hacia la Excelencia, y realizar la tesis doctoral en este mismo ámbito u otros relacionados dada la gran variedad de líneas de investigación ofertadas en el Programa de Doctorado.

### Al superar la asignatura, el estudiante será más competente para...

- 1:** Interpretar y analizar de manera crítica trabajos científicos relacionados con la inactivación y supervivencia microbiana.
- 2:** Diseñar un experimento relacionado con la inactivación y supervivencia microbiana, prever las dificultades que puede conllevar su realización y ejecutarlo en el laboratorio.

**3:** Analizar los resultados, interpretar gráficas de supervivencia, detectar posibles errores y plantear posibles soluciones.

**4:** Comunicar resultados científicos en este campo de trabajo mediante una presentación oral.

### **Importancia de los resultados de aprendizaje que se obtienen en la asignatura:**

Permiten contribuir a la formación de profesionales en el ámbito de la investigación en el campo de la microbiología de los alimentos, materia esencial en la formación del personal investigador responsable de los proyectos de I+D+I en Ciencia y Tecnología de los Alimentos tanto en el ámbito académico como al servicio de los centros tecnológicos o la empresa privada.

Muchos de los problemas que se presentan en el ámbito de la alimentación, las soluciones que se plantea a estos y otros problemas, y las nuevas demandas en el ámbito alimentario requieren del planteamiento, investigación y desarrollo de propuestas relacionadas con la microbiología de los alimentos, y más específicamente con el control de los microorganismos, en ocasiones su inactivación y en otras su supervivencia. Los resultados del aprendizaje alcanzados en esta asignatura garantizan la adquisición de las habilidades necesarias para plantear y desarrollar determinadas acciones o proyectos de investigación en el ámbito de la inactivación y la supervivencia microbiana. Junto con el resto de los resultados del aprendizaje logrados en las otras asignaturas del master se consigue formar profesionales capaces de integrarse en la estructura de investigación, desarrollo e innovación en el campo de la Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

---

## **Evaluación**

---

### **Actividades de evaluación**

**El estudiante deberá demostrar que ha alcanzado los resultados de aprendizaje previstos mediante las siguientes actividades de evaluación**

**1:**

#### **Evaluación continua:**

**1) Trabajo de investigación:** En esta evaluación se comprueba la adquisición de habilidades por parte del alumno durante la realización del trabajo de investigación. Dicha actividad será llevada a cabo en grupos reducidos. Cada grupo tendrá un profesor tutor asignado que en reuniones prefijadas orientará y a la vez evaluará el grado de autonomía individual y grupal.

La superación de esta prueba permitirá acreditar el logro de los cinco primeros resultados de aprendizaje propuestos y será evaluada según los criterios y niveles de exigencia descritos en el siguiente apartado. La realización de dicho trabajo práctico se considera obligatoria. La calificación será de 0 a 10 y representará el 40% de la calificación final del estudiante en la asignatura.

**2) Evaluación de la presentación y defensa en sesión oral del trabajo de investigación realizado.**

Los profesores del curso evaluarán la presentación oral del trabajo realizado según los criterios y niveles de exigencia descritos en el siguiente apartado. La superación de esta prueba permitirá completar la evaluación de los cinco primeros resultados de aprendizaje propuestos y acreditar la adquisición del sexto resultado del aprendizaje. La realización de dicho trabajo práctico se considera obligatoria. La calificación será de 0 a 10 y representará el 40% de la calificación final del estudiante en la asignatura.

**3) Aplicación de conocimientos teóricos a un caso práctico.** Coincidiendo con la prueba 2, los alumnos responderán por escrito a una cuestión relacionada con los resultados obtenidos en su trabajo de investigación. La superación de esta prueba permitirá completar la evaluación de los resultados de aprendizaje 1, 2, 4 y 5. La realización de dicho trabajo práctico se considera obligatoria. La calificación será de 0 a 10 y representará el 20% de la calificación final del estudiante en la asignatura.

**2:**

### **Prueba global:**

Los alumnos que no hayan elegido la evaluación continua podrán ser evaluados mediante una prueba global que consistirá en las mismas actividades de evaluación que para la continua. Los porcentajes de calificación de cada actividad y los criterios de valoración serán los mismos para la prueba global que para la evaluación continua.

### **Criterios de valoración y niveles de exigencia**

<b>ACTIVIDAD DE EVALUACIÓN 1 (40%):</b>
<b>Preparación de la fase experimental (20%)</b>
Bibliografía: comprensión, interpretación, búsqueda correcta de datos (5%)
Estimación condiciones de tratamiento (10%)
Otros objetivos: daño subletal, etc. (5%)
<b>Desarrollo y defensa del trabajo (20%)</b>
Diseño experimental: errores, cálculos, plan muestreo. Grado de autonomía (10%)
Ánálisis de los resultados: elaboración gráficas, interpretación de los resultados. Grado de autonomía (10%)
<b>ACTIVIDAD DE EVALUACIÓN 2 (40%):</b>
Presentación oral: Análisis e interpretación de los resultados (20%)
Presentación oral: Capacidad expositiva (organización de los materiales, coherencia, estructura, etc.) (20%)
<b>ACTIVIDAD DE EVALUACIÓN 3: (20%)</b>
Estimación condiciones de tratamiento.
Diseño experimental: errores, cálculos, plan muestreo.

### **Sistema de calificaciones:**

De acuerdo con el Reglamento de normas de evaluación del aprendizaje de la UZ (acuerdo de CG de 22 de diciembre de 2010), los resultados obtenidos por el alumno se calificarán en función de la siguiente escala numérica de 0 a 10, con expresión de un decimal, a la que se podrá añadir su correspondiente calificación cualitativa:

0-4,9: Suspenso (SS).

5,0-6,9: Aprobado (AP).

7,0-8,9: Notable (NT).

9,0-10: Sobresaliente (SB).

La mención de Matrícula de Honor podrá ser otorgada a estudiantes que hayan obtenido una calificación igual o superior a 9,0. Su número no podrá exceder del 5% de los estudiantes matriculados en el correspondiente curso académico

---

## **Actividades y recursos**

---

### **Presentación metodológica general**

#### **El proceso de aprendizaje que se ha diseñado para esta asignatura se basa en lo siguiente:**

La asignatura está estructurada en 10 clases magistrales participativas, 20 horas de prácticas de laboratorio y el planteamiento, realización y presentación de un trabajo de investigación que requerirá 45 horas de trabajo autónomo de los estudiantes.

En relación a las clases magistrales participativas, está previsto entregar la documentación de cada tema al menos con 1 semana de antelación con objeto de que el alumno la revise con detalle antes de la correspondiente clase.

Las prácticas se realizarán en sesiones de 5 horas. Está previsto que en cada sesión el grupo se desdoble en subgrupos que

realizarán actividades diferentes simultáneamente.

Una vez finalizado el programa de actividades presenciales, los alumnos formarán grupos reducidos para plantear el trabajo de investigación que una vez discutido con su tutor, llevarán a cabo durante una semana en el laboratorio. Este trabajo se realizará en horario de mañana. Dos semanas más tarde realizarán una presentación oral del proyecto que será evaluada por los profesores de la asignatura.

## **Actividades de aprendizaje programadas (Se incluye programa)**

**El programa que se ofrece al estudiante para ayudarle a lograr los resultados previstos comprende las siguientes actividades...**

**1:**

### **PROGRAMA DE CLASES TEÓRICAS**

El programa de clases teóricas pretende que los alumnos recuerden algunos conceptos y adquieran los conocimientos básicos que necesitarán a lo largo del curso. Se impartirá en forma de lecciones magistrales participativas.

#### **Tema 1. Introducción.**

Duración estimada: 3 horas presenciales.

Contenidos:

- Contexto de la asignatura, importancia de los microorganismos como agentes de alteración, agentes productores de toxíinfecciones y agentes utilizados en la fabricación de alimentos.
  - Importancia del conocimiento de los mecanismos y factores que llevan a la muerte o a la supervivencia celular.
  - Aspectos fisiológicos de los microorganismos con relevancia en la supervivencia en alimentos.
- Composición y estructura de las células. Funciones de las diversas estructuras celulares. Las envolturas celulares. Homeostasis celular: algunos ejemplos importantes, mantenimiento del pH intracelular, mantenimiento del potencial transmembrana, mantenimiento del turgor citoplasmático.

#### **Tema 2. Inactivación microbiana**

Duración estimada: 3 horas presenciales.

Contenidos:

- Concepto de célula viva y célula muerta. Métodos de detección de viabilidad celular: recuento en placa vs indicadores de viabilidad. Ventajas e inconvenientes.
- Obtención de curvas de supervivencia mediante técnicas de recuento en placa. Métodos de siembra más habituales y métodos de recuento. Cálculo del número, fracción y porcentaje de supervivientes. Ejemplos prácticos. Precauciones en la obtención de las gráficas de supervivencia en el laboratorio.
- Cinética de inactivación: curvas de supervivencia más habituales que se obtienen mediante los diferentes agentes. Interpretaciones de las desviaciones de la linearidad. Artefactos metodológicos.
- Factores más importantes que determinan la resistencia microbiana frente a los distintos agentes.

Ejemplo: el calor.

#### **Tema 3. Daño y reparación celular.**

Duración estimada: 2 horas presenciales.

Contenidos:

- Concepto de célula dañada subletalmente. Importancia en la industria alimentaria: aspectos positivos y negativos.
- Tipos de daño, técnicas de detección, medios de cultivo. Ventajas e inconvenientes. Ejemplos.
- Factores que determinan la presencia de daño subletal y su reparación.

#### **Tema 4. Estrategias para el estudio de los mecanismos de inactivación.**

Duración estimada: 1 hora presencial.

Contenidos:

- Enfoques experimentales más habituales: relación inactivación/alteración funcional o morfológica.
- Utilización de mutantes específicos.
- Targets celulares implicados en la inactivación por los diversos agentes. Ejemplos.

#### **Tema 5. Desarrollo de resistencia.**

Duración estimada: 1 hora presencial.

Contenidos:

- Desarrollo de respuestas de resistencia: importancia. Respuestas transitorias y permanentes. Regulación genética del desarrollo de resistencia (factores sigma y selección de mutantes resistentes). Respuestas al choque térmico, choque por frío, ácido, alcalino, estrés oxidativo.
- Técnicas para el estudio del desarrollo de resistencias microbianas.

2:

## **Programa de clases prácticas**

El programa de clases prácticas persigue apoyar los conceptos explicados en las clases de teoría. Además, de manera muy especial en esta asignatura, los alumnos habrán de adquirir las destrezas manuales necesarias para realizar las manipulaciones de laboratorio que posteriormente requerirá la realización del trabajo autónomo que se les propone. Las sesiones de prácticas serán cuatro, de 5 horas de duración.

### **Práctica 1. Introducción.**

Duración estimada: 5 horas presenciales.

Espacio necesario: laboratorio de microbiología.

Contenidos: preparación del material y medios, obtención de los cultivos microbianos.

Actividades que realiza el alumno:

- Preparar agar, diluyentes, caldos de cultivo, medios de tratamiento, material de plástico estéril.
- Realizar un recuento microscópico.
- Realizar los pasos necesarios para preparar una suspensión en fase estacionaria de crecimiento.

Objetivos:

- Adquirir las destrezas básicas del laboratorio de microbiología.

### **Práctica 2. Obtención de gráficas de supervivencia frente a un agente de naturaleza química.**

Duración estimada: 5 horas presenciales.

Espacio necesario: laboratorio de microbiología.

Contenidos: evaluación de la capacidad de supervivencia de *E. coli* a un agente químico (ácido acético).

Actividades que realiza el alumno:

- Estimar la concentración microbiana mediante diferentes técnicas.
- Calcular los volúmenes de inóculo inicial, los volúmenes de siembra en placa y las diluciones decimales necesarias.
- Realizar los experimentos: preparar los medios de tratamiento, inocularlos con la suspensión, extraer muestras a lo largo del tiempo y procesarlas adecuadamente para su recuento.

Objetivos:

- Adquirir las destrezas necesarias para estimar resistencias microbianas.
- Familiarizarse con las precauciones y errores más frecuentes en la determinación de resistencia a agentes químicos.

### **Práctica 3. Obtención de gráficas de supervivencia frente a un agente de naturaleza física y determinación de la presencia de daño subletal**

Duración estimada: 5 horas presenciales.

Espacio necesario: laboratorio de microbiología.

Contenidos:

- a) evaluación de la capacidad de supervivencia de *E. coli* a un agente físico (calor).
- b) Estudio de la reparación del daño térmico en la membrana citoplasmática y externa de *E. coli* en leche y en zumo.

Actividades que realiza el alumno:

- Estimar la concentración microbiana mediante diferentes técnicas.
- Calcular los volúmenes de inóculo inicial, los volúmenes de siembra en placa y las diluciones decimales necesarias.
- Realizar los experimentos: preparar los medios de tratamiento, inocularlos con la suspensión, extraer muestras a lo largo del tiempo y procesarlas adecuadamente para su recuento.
- Contar las placas de supervivientes de la práctica anterior.

Objetivos:

- Adquirir las destrezas necesarias para estimar resistencias microbianas.
- Familiarizarse con las precauciones y errores más frecuentes en la determinación de resistencia a agentes físicos.
- Diseñar medios de recuperación para la detección de daños subletales.
- Adquirir las destrezas necesarias para estimar laboratorialmente la capacidad de reparación de una célula dañada.

**Práctica 4. Análisis de los resultados.**

Duración estimada: 5 horas presenciales.

Espacio necesario: aula de informática.

Contenidos: Elaboración de gráficas de supervivencia.

Actividades que realiza el alumno:

- Calcular el número, la fracción, el porcentaje de superviventes en cada gráfica de supervivencia.
- Representarlas.
- Calcular los parámetros cinéticos de interés.

Objetivos:

- Adquirir las destrezas matemáticas e informáticas necesarias para representar adecuadamente los datos.
- Detectar posibles fallos metodológicos y errores experimentales.
- Discutir críticamente los resultados y extraer las conclusiones adecuadas.

**3:**

**Trabajo de investigación y elaboración de informe**

El trabajo propuesto a los alumnos consiste en determinar la resistencia de un microorganismo a un determinado agente de inactivación, para lo cual se les formulan una serie de cuestiones que habrán de responder a través de la realización de sus experimentos en el laboratorio, sin la supervisión constante del profesor. Obviamente el profesor revisa los planteamientos experimentales, corrige los protocolos si es necesario, y ayuda en la interpretación de los resultados. A continuación se expone uno de los ejemplos propuestos el pasado curso lectivo.

Duración estimada: 25 horas trabajo autónomo.

Espacio necesario: laboratorio de microbiología

Contenidos: Trabajo de investigación, elaboración de informe y presentación oral

Actividades que realiza el alumno:

**EJEMPLO:** caracterizar la resistencia al peróxido de hidrógeno de *Escherichia coli*.: determinar el tiempo de exposición necesario a tres concentraciones distintas para lograr una inactivación de más del 99,9% de la población. Estudiar la presencia de daño subletal a nivel de la membrana citoplasmática. Estudiar la influencia de la presencia de un secuestrante de radicales libres en el medio de recuperación.

El alumno deberá:

- - Recopilar bibliografía, leerla, resumirla y planear los experimentos.
  - Hacer una estimación del material y los reactivos, prepararlo y esterilizarlo.
  - Realizar los experimentos a distintas concentraciones.
  - Recontar los supervivientes.
  - Elaborar las gráficas y calcular los parámetros cinéticos.
  - Realizar las réplicas y repeticiones necesarias.
  - Analizar los resultados.
  - Presentarlos en sesión pública.

Objetivos:

- Plantear un experimento, estimar el material y manipulaciones necesarias, prever dificultades y problemas metodológicos y plantear posibles soluciones.
- Adquirir destreza en la realización de las manipulaciones y técnicas de laboratorio necesarias.
- Interpretar y analizar los resultados obtenidos, y extraer conclusiones.
- Adquirir capacidad crítica a través del manejo de bibliografía científica relacionada con el tema de trabajo, y a través de la evaluación del propio trabajo.

A continuación se muestra un cuadro con el reparto de tiempo entre las distintas actividades

ACTIVIDAD	HORAS PRESENCIALES	FACTOR	HORAS TRABAJO AUTÓNOMO	TOTAL
Clases de teoría	10	0,5	5	15
Prácticas	20	0,5	10	30
Trabajo de investigación y elaboración de informe			25	25
Tutorías			3	3
Evaluación			2	2
<b>Total</b>	<b>30</b>		<b>45</b>	<b>75</b>

## Planificación y calendario

### Calendario de sesiones presenciales y presentación de trabajos

El calendario del máster y la programación de las sesiones teóricas y prácticas de la asignatura aparecerán a lo largo del mes de julio en la web de la Facultad de Veterinaria, en la siguiente dirección:

<http://veterinaria.unizar.es/>

## Referencias bibliográficas de la bibliografía recomendada

- Benito, A. et al. "Variation in resistance of natural isolates of *Escherichia coli* O157 to high hydrostatic pressure, mild heat and other stresses". En: *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, vol. 65, p. 1564-1569.
- Cebrián, G. et al. "Resistance of *Escherichia coli* grown at different temperatures to various environmental stresses". En : *Journal of applied microbiology*, 2008, vol. 105, núm. 1, p. 271-278.
- Mackey, B.M. "Injured bacteria". En: *The Microbiological safety and quality of food*. Gaithersburg : Aspen, 2000, p. 315-341.
- Verhoeff-Bakkenes, L. et al. "Pyruvate relieves the necessity of high induction levels of catalase and enables *Campylobacter jejuni* to grow under fully aerobic conditions". En : *Letters in Applied Microbiology*, 2008, vol. 46, núm. 3, p. 377-382.