

## Programa de MICROBIOLOGÍA APLICADA

**Carrera:** *Licenciatura en Biotecnología*

**Asignatura:** *Microbiología Aplicada*

**Núcleo al que pertenece:** *Complementario Electivo (Ciclo Superior de la Orientación en Genética Molecular y de la Orientación en Bioprocesos)<sup>1</sup>*

**Profesoras:** *Lucrecia Delfederico, Silvia Amor*

**Correlatividades previas:** *Genética Molecular*

### **Objetivos**

Competencias actitudinales y sociales:

Que las/os estudiantes desarrollen la inquietud de búsqueda de nuevos conocimientos y la capacidad para aplicarlos.

Que las/os estudiantes se interesen por los avances científicos alcanzados en las disciplinas relacionadas y analicen, de forma crítica, su importancia relativa.

Que las/os estudiantes desarrollen las capacidades de trabajo y colaboración en equipo.

Que las/os estudiantes asuman principios éticos reflejados en conductas consecuentes, como norma de convivencia social.

Competencias procedimentales:

Que las/os estudiantes desarrollen capacidades de análisis, razonamiento y autoaprendizaje.

Que las/os estudiantes conozcan y manejen diversas fuentes de información relacionadas con los conocimientos de esta asignatura.

Que las/os estudiantes logren integrar los conocimientos teóricos con la práctica a través de clases teórico-prácticas y seminarios.

---

<sup>1</sup> En plan vigente, Res CS N° 125/19. Para el plan Res CS N° 277/11, pertenece al Núcleo de Orientación.

Que las/os estudiantes se expresen de manera efectiva, a través del lenguaje oral y escrito, con el objetivo de comunicar con exactitud la información relevante.

Competencias cognitivas:

Que las/os estudiantes comprendan el rol de la asignatura en relación con otras disciplinas y su utilidad en el aprendizaje articulado.

Que las/os estudiantes conozcan las bases de la taxonomía microbiana y comprendan el fundamento de las técnicas aplicadas a la identificación y tipificación.

Que las/os estudiantes conozcan el impacto de los microorganismos en la producción y el deterioro de los alimentos.

Que las/os estudiantes conozcan las características de las principales toxoinfecciones.

### **Contenidos mínimos**

Taxonomía microbiana. Relaciones fenéticas y filogenéticas entre microorganismos. Concepto de especie procariota, aislamientos, cepas. Herramientas moleculares aplicadas a la identificación y tipificación. Microorganismos en la industria alimentaria. Levaduras y bacterias como agentes de fermentación y suplementos alimenticios. Preservación de alimentos y vida útil. Tecnologías aplicables al control de microorganismos en los alimentos. Alimentos funcionales, nutraceuticos, probióticos, prebióticos y simbióticos. Características de microorganismos probióticos: criterios de seguridad e inocuidad (carácter GRAS y QPS), estabilidad genética y resistencia a antibióticos; criterios tecnológicos y funcionales. Acción benéfica de microorganismos probióticos en el ser humano y animales. Sinergismo de cepas. Uso de bacterias lácticas y levaduras como probióticos. Inmunidad de mucosas, mecanismos generales y específicos. Bacterias intestinales y su función en la regulación de la homeostasis gastrointestinal. Enfermedades de transmisión alimentaria, patogénesis y epidemiología. Factores de virulencia, mecanismos moleculares. Métodos de detección.

**Carga horaria semanal:** 6 horas

**Programa analítico**

**Programa teórico**

**UNIDAD I: TAXONOMÍA MICROBIANA**

## ELEMENTOS DE TAXONOMÍA MICROBIANA

Relaciones fenéticas (fenotípicas y genotípicas) entre microorganismos, relaciones filogenéticas y taxonomía polifásica. Concepto de especie procarionta, aislamientos y cepas.

## IDENTIFICACIÓN Y TIPIFICACIÓN

Metodologías basadas en PCR: amplificación y secuencia de regiones ribosomales (*16S rRNA*, *23S rRNA* y espaciadores intergénicos), análisis de secuencia de genes *housekeeping* y genes de virulencia. ARDRA (*Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis*). Métodos RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*): aplicados a la diferenciación intra e inter específica de bacterias.

Metodologías no basadas en PCR: electroforesis de campo pulsante (PFGE, *Pulse Field Gel Electrophoresis*), hibridación fluorescente *in situ* (FISH, *Fluorescent In Situ Hybridization*), *Real Time PCR* (qPCR), electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (PCR-DGGE), electroforesis de amplicones de PCR en gel con gradiente desnaturizante de temperatura (PCR-TGGE).

## UNIDAD II: MICROORGANISMOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

### TRANSFORMACIONES DE ALIMENTOS POR MICROORGANISMOS

Levaduras y bacterias como agentes de fermentación y suplementos alimenticios. Bebidas alcohólicas. Productos lácteos fermentados. Obtención y mantenimiento de cepas. Crecimiento microbiano y alteración de los alimentos: contaminaciones y control del crecimiento microbiano. Preservación de alimentos.

### ALIMENTOS FUNCIONALES: PREBIÓTICOS, PROBIÓTICOS Y NUTRACÉUTICOS

Generalidades y aspectos históricos. Criterios a cumplir por los microorganismos probióticos: criterios de seguridad: inocuidad (carácter GRAS y QPS), características taxonómicas, *Lactobacillus* y otras bacterias del ácido láctico (BAL), estabilidad genética y resistencia a antibióticos; criterios tecnológicos (viabilidad, escalado, estabilidad); criterios funcionales: resistencia a condiciones del tracto gastrointestinal, adhesión, antagonismo frente a patógenos, sinergismo de cepas.

## UNIDAD III: TOXOINFECCIONES ALIMENTARIAS

### INMUNIDAD DE MUCOSAS: MECANISMOS GENERALES Y ESPECÍFICOS

La organización del sistema inmune de mucosas: histofisiología de la mucosa gastrointestinal. El epitelio intestinal: la interfase entre el huésped y el patógeno.

Inmunología de la mucosa gastrointestinal: la respuesta del sistema inmune de mucosas a la infección y su regulación. Importancia de la IgA a nivel de las mucosas. Bacterias intestinales y su función en la regulación de la homeostasis gastrointestinal.

**PATOGÉNESIS DE LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS**  
Infecciones e intoxicaciones: conceptos generales. Patogénesis y epidemiología.

Infecciones bacterianas: naturaleza de la infección, patogénesis, prevalencia en alimentos, inmunidad, tratamiento y prevención. Toxinas y factores de virulencia. Métodos de detección. Principales ejemplos: *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium spp.*, *Bacillus cereus*, *Shigella*, *Listeria monocytogenes*.

Infecciones virales y parasitarias: patogénesis, prevalencia en alimentos, inmunidad, tratamiento y prevención. Métodos de detección. Principales ejemplos: Hepatitis A, Rotavirus, Norovirus, Enterovirus, *Trichinella spiralis*, *Giardia lamblia*.

Intoxicaciones: mecanismos de acción de las toxinas, alimentos más comúnmente asociados con intoxicaciones, prevención y detección. Principales ejemplos: *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*. Micotoxinas y otras toxinas.

#### VACUNAS

Inmunización activa y pasiva. Estrategias de vacunación: microorganismos completos (inactivados y atenuados), macromoléculas purificadas, DNA, vectores recombinantes. Inmunidad de mucosas y vacunas: adyuvantes y sistemas de *delivery*. Desafíos futuros. Diseños experimentales.

#### UNIDAD IV: OTRAS INTERACCIONES MICROORGANISMO-HOSPEDADOR

##### INTERACCIONES MICROBIANAS BENEFICIOSAS CON HUMANOS

Generalidades. Microbiota de piel, cavidad bucal y tracto gastrointestinal.

#### **Programa práctico**

#### SEMINARIO Y TP I: HERRAMIENTAS MOLECULARES APLICADAS A LA IDENTIFICACIÓN, CLASIFICACIÓN Y TIPIFICACIÓN DE BACTERIAS DE ORIGEN ALIMENTARIO

Filogenia de diferentes grupos bacterianos. *Bacillales* y *Lactobacillales*, aislamiento y caracterización. Rol de las BAL en diferentes procesos fermentativos.

## SEMINARIO Y TP II: ALIMENTOS PROBIÓTICOS

Criterios de seguridad/inocuidad, estudios de la actividad antimicrobiana.

## SEMINARIO Y TP III: DETECCIÓN DE PATÓGENOS E INMUNIDAD ESPECÍFICA

Infecciones bacterianas: *Bacillus cereus*: toxinas y factores de virulencia, mecanismos de patogénesis. Detección de genes que codifican sus toxinas. Infecciones virales: Rotavirus: mecanismos de patogénesis. Detección y caracterización de la respuesta inmune inducida por la infección.

### **Trabajos de Laboratorio:**

#### **TP N°1: BACILLALES Y LACTOBACILLALES: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN. HERRAMIENTAS MOLECULARES PARA SU IDENTIFICACIÓN Y TIPIFICACIÓN**

##### **Objetivos**

La/os estudiantes deberán ser capaces de:

- Obtener cultivos puros de *Bacillus cereus* aislándolo de una mezcla de microorganismos presentes en distintos tipos de alimentos.
- Estudiar la microflora involucrada en la producción de diferentes alimentos fermentados y obtener cultivos puros de *Lactobacillus spp* u otras bacterias del ácido láctico (BAL), aislándolos de esos alimentos.
- Identificar y caracterizar los microorganismos aislados utilizando metodología tradicional y técnicas moleculares.
- Explorar características tecnológicas deseables en los aislamientos seleccionados.

##### **Descripción**

**El TP se realiza como una sucesión de ejercicios de laboratorio, desarrollándose en al menos cuatro jornadas.**

Enriquecimiento selectivo y aislamiento a partir de muestras naturales. Formulación/elección de medios de cultivo, elección de las condiciones de incubación y el posible tratamiento previo de la muestra original. Características morfológicas y fisiológicas de los microorganismos buscados que les otorguen ventajas sobre los microorganismos competidores. Preservación de cultivos axénicos. Obtención y purificación del DNA cromosomal de los aislamientos en estudio, modificaciones para Gram positivos. Pruebas moleculares para la identificación y tipificación de los aislamientos en estudio: Amplificación del gen ribosomal *rRNA 16S* y su análisis mediante ARDRA (*Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis*) y secuencia; Análisis de genomas bacterianos mediante RAPD. Análisis de secuencias y construcción de árboles filogenéticos.

#### **TP N°2: ALIMENTOS PROBIÓTICOS: CRITERIOS FUNCIONALES Y CRITERIOS DE INOCUIDAD APLICADOS A MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS MISMOS**

##### **Objetivos**

La/os estudiantes deberán ser capaces de:

- Evaluar propiedades asociadas a la caracterización de microorganismos como potencialmente probióticos. En particular, aquellas establecidas entre los criterios funcionales y de inocuidad que deberían cumplir los mismos.
- Utilizar adecuadamente metodologías desarrolladas con este fin.

##### **Descripción**

Se emplearán aislamientos pertenecientes a especies del género *Lactobacillus* (GRAS, QPS) obtenidas de: 1- Kéfir, leche fermentada originaria de las montañas caucásicas, preparada a partir de gránulos de kéfir, los cuales contienen levaduras, bacterias del ácido láctico y del acético creciendo en estrecha relación; 2- Otros alimentos o bebidas fermentados (TP anterior)

Durante **tres jornadas de actividades de laboratorio** se realizarán pruebas básicas y preliminares orientadas a establecer la potencialidad probiótica de los aislamientos: 1-Hidrofobicidad de superficie celular (HSC), 2-Tolerancia a las sales biliares, 3- Actividad antagonista frente a patógenos *in vitro*, 4-Determinación de resistencia a diversos antibióticos, CIM.

### **TP N°3: ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS. DETECCIÓN DE PATÓGENOS-MECANISMOS DE PATOGÉNESIS**

#### **Objetivos**

La/os estudiantes deberán ser capaces de:

- Detectar la presencia de patógenos asociados con infecciones transmitidas por alimentos (ETAs) mediante técnicas moleculares.
- Detectar la presencia de factores de virulencia mediante técnicas moleculares y mediante ensayos *in vitro*.

#### **Descripción**

Se utilizarán como modelos las infecciones producidas por *Bacillus cereus*, se estudiarán factores de virulencia, mecanismos de patogénesis. Detección de genes que codifican sus toxinas.

Se emplearán los aislamientos de miembros del grupo taxonómico *B. cereus*, (obtenidos en el primer TP) y se procederá, durante **tres jornadas de laboratorio**, a la detección por PCR de genes codificantes de factores de virulencia y determinación de la actividad citotóxica de aislamientos utilizando como modelo de infección larvas del insecto *Galleria melonella*.

En todos los TP se llevan a cabo los experimentos planteados y se realiza la observación, registro y discusión de resultados

La/os estudiantes reciben una clase de seminario previa al inicio de las actividades de laboratorio para cada TP, con fundamentos teóricos de las metodologías abordadas, como así también una Guías de TP, con los protocolos a aplicar en cada caso.

#### **Bibliografía**

#### **Obligatoria**

**Foodborne Infections and Intoxications.** 3rd edition. H.P. Riemann & D.O. Cliver. Elsevier. New York, USA. 2006.

**Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach.** 3rd edition. A.A. Salyers, B.A. Wilson, D.D. Whitt. ASM Press. New York, USA. 2011.

**Molecular Detection of Foodborne Pathogens.** D. Liu. CRC Press. Florida, USA. 2009.

**Brock. Biology of Microorganisms.** 13th edition. M.T. Madigan, J.M. Martinko, D. Sthal, D.P. Clark. Benjamin Cummings. 2010.

## **De consulta**

**Immunity Against Mucosal Pathogens.** M. Vajdy. Springer. New York, USA. 2008.

**Janeway's Immunobiology.** 7th edition. K.M. Murphy, P. Travers, M. Walport. Garland Science. London, UK. 2007.

**Kuby Immunology.** 6th edition. T.J. Kindt, R.A. Goldsby, B.A. Osborne. W.H. Freeman and Company. New York. 2007.

**Mucosal Immune Defense: Immunoglobulin A.** C.S. Kaetzel. Springer. New York, USA. 2007.

**Mucosal Immunology and Virology.** S. Tying. Springer. London, UK. 2006.

**Molecular Mechanisms of Bacterial Infection via the Gut.** C. Sasakawa. Springer. New York, USA. 2009.

**Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals.** 4th edition. C.L. Gyles, J.F. Prescott, G. Songer, C.O. Thoen. Wiley-Blackwell. Iowa, USA. 2010.

**Food microbiology: Fundamentals and Frontiers.** 3rd edition. M.P. Doyle & L.R. Beuchat. ASM Press. Washington, USA. 2007.

**Foodborne pathogenesis: Hazards, risk analysis and control.** 1st edition. C.W. Blackburn & P.J. McClure. CRC Press. Florida, USA.

La bibliografía que no se encuentra en la Biblioteca de la UNQ es suministrada por los docentes, ya sea porque se dispone de las versiones electrónicas y/o se dispone del ejemplar en el grupo de investigación asociado.

## **Organización de las clases**

La asignatura incluye clases teóricas, trabajos prácticos y seminarios.

## **Modalidad de evaluación**

La evaluación se realizará mediante dos parciales teórico-prácticos y un examen integrador. en todos los casos la nota mínima de aprobación es de 4 puntos (50% bien respondido, de cada tema incluido en el examen). Cada parcial tiene una sola instancia de recuperación a la cual podrán acceder únicamente aquellos estudiantes que hayan estado ausentes o hayan desaprobado la primera instancia de evaluación.

## **Aprobación de la asignatura según Régimen de Estudios vigente de la Universidad Nacional de Quilmes:**

La aprobación de la materia bajo el régimen de regularidad requerirá: Una asistencia no inferior al 75 % en las clases presenciales previstas, y cumplir con al menos una de las siguientes posibilidades:

- (a) la obtención de un promedio mínimo de 7 puntos en las instancias parciales de evaluación y de un mínimo de 6 puntos en cada una de ellas.
- (b) la obtención de un mínimo de 4 puntos en cada instancia parcial de evaluación y en el examen integrador, el que será obligatorio en estos casos. Este examen se tomará dentro de los plazos del curso.

Los/as alumnos/as que obtuvieron un mínimo de 4 puntos en cada una de las instancias parciales de evaluación y no hubieran aprobado el examen integrador mencionado en el Inc. b), deberán rendir un examen integrador, o en su reemplazo la estrategia de evaluación integradora final que el programa del curso establezca, que el cuerpo docente administrará en los lapsos estipulados por la UNQ.

**Modalidad de evaluación exámenes libres:**

En la modalidad de libre, se evaluarán los contenidos de la asignatura con un examen escrito, un examen oral e instancias de evaluación similares a las realizadas en la modalidad presencial. Los contenidos a evaluar serán los especificados anteriormente incluyendo demostraciones teóricas, laboratorios y problemas de aplicación.

Anexo II

**CRONOGRAMA TENTATIVO**

Semana	Tema/unidad	Actividad*			Evaluación
		Teórico	Práctico		
			Res Prob.	Lab.	
1	Introducción – Conceptos generales Taxonomía: principios generales; rol de los microorganismos en los alimentos.	X X			
2	Herramientas moleculares aplicadas a la identificación, clasificación y tipificación de bacterias de origen alimentarios Filogenia de diferentes grupos bacterianos. Bacillales y Lactobacillales.	X		X	
3	Bacillales y Lactobacillales: aislamiento y caracterización I Bacillales y Lactobacillales: aislamiento y caracterización II		X X		
4	Bacillales y Lactobacillales: aislamiento y caracterización III Bacillales y Lactobacillales: aislamiento y caracterización IV		X X		
5	Cepas. Preservación de alimentos y vida útil Nuevas tecnologías aplicables al control de microorganismos.	X X			
6	Alimentos fermentados. Alimentos probióticos: criterios de inocuidad.	X		X	
7	Estudios de la actividad antimicrobiana I Estudios de la actividad antimicrobiana II		X X		
8	Estudios de la actividad antimicrobiana III Alimentos funcionales, nutraceuticos, probióticos, prebióticos y simbióticos. BAL y levaduras como probióticos.	X	X		
9	Discusión de papers - Clase de consulta Primer Parcial			X	X

10	Generalidades de la respuesta inmune. Inmunidad de mucosas. Mucosa gastrointestinal.	X X	
11	Patogénesis de las enfermedades transmitidas por alimentos I. Recuperatorio del Primer Parcial	X	X
12	Patogénesis de las enfermedades transmitidas por alimentos II Detección de patógenos e inmunidad específica	X	X
13	Detección de microorganismos patógenos en alimentos I Detección de microorganismos patógenos en alimentos II	X X	X
14	Patogénesis de las enfermedades transmitidas por alimentos III. Vacunas	X X	
15	Detección de inmunidad contra microorganismos patógenos III Detección de inmunidad contra microorganismos patógenos IV	X X	
16	Discusión de papers - Clase de consulta Segundo Parcial		X
17	Recuperatorio del Segundo Parcial		X
18	Integrador		X

\*INDIQUE CON UNA CRUZ LA MODALIDAD