



**UNIVERSIDAD  
COMPLUTENSE  
MADRID**

Proyecto de Innovación

Convocatoria 2019/20

Nº Proyecto 171

Detectives de alimentos: un trabajo en equipo  
para la investigación de toxiinfecciones  
alimentarias

Responsable del Proyecto: Carmen Herranz Sorribes

Facultad de Veterinaria

Sección Departamental de Nutrición  
y Ciencia de los Alimentos

## 1. OBJETIVOS PROPUESTOS EN LA PRESENTACIÓN DEL PROYECTO

Las enfermedades de transmisión alimentaria causadas por microorganismos patógenos presentes en los alimentos, denominadas toxiinfecciones alimentarias (en adelante, TIA), se cuentan entre las enfermedades humanas más frecuentes tanto en los países desarrollados como en vías de desarrollo.

En Europa, según el informe "The European Union One Health 2018 Zoonoses Report" elaborado en 2019 por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades, durante el año 2018 se produjeron 5146 brotes de TIA en los que resultaron afectadas 48.365 personas, de las que 4588 fueron hospitalizadas y 40 fallecieron. Los agentes causales de brotes de enfermedad de transmisión alimentaria más frecuentes fueron *Salmonella* spp. (30,7 % del total de brotes); toxinas bacterianas producidas por *Bacillus* spp., *Clostridium* spp. (con excepción de *Cl. botulinum*), *Staphylococcus* spp. y otras toxinas bacterianas no identificadas (12,7 %); *Campylobacter* spp. (10,2 %); y norovirus y otros calicivirus (7,6 %). La localización más frecuente en la que se produjeron los brotes fue el hogar (40,5 % del total). En lo que se refiere al vehículo de los patógenos, en aproximadamente el 60% de los mismos se encontraron implicados alimentos de origen animal, fundamentalmente huevo y ovoproductos (20,2 %), carne y productos cárnicos (17,5 %), pescado y productos de la pesca (15,9 %) y leche y productos lácteos (5,4 %).

En la Unión Europea, la política de seguridad alimentaria se basa en el enfoque "de la granja a la mesa", según el cual todos los sectores involucrados en la producción de alimentos deben implementar sistemas que permitan garantizar la seguridad a lo largo de toda la cadena alimentaria. En este sentido, la seguridad de los productos alimenticios se garantiza principalmente mediante un enfoque preventivo, como la adopción de Prácticas Correctas de Higiene (PCH) y la aplicación de procedimientos basados en los principios del sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC). En el Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la UCM estas competencias se abordan, entre otras asignaturas, en la de Calidad Microbiológica de los Alimentos (obligatoria, 3.er curso). A este respecto, este Proyecto de Innovación se planteó inicialmente como una actividad voluntaria para los alumnos matriculados en esta asignatura con la finalidad de que alcanzaran un aprendizaje más significativo de sus contenidos. Para ello, las actividades propuestas tuvieron como objetivos globales: (i) facilitar la interrelación de los contenidos de esta asignatura con los de otras asignaturas del Grado; y (ii) aplicar los conocimientos a un contexto similar al real. Asimismo, con el fin de lograr una mayor implicación de los estudiantes en la construcción del propio conocimiento, la técnica propuesta para alcanzar estos objetivos

globales fue el aprendizaje cooperativo. En función de lo expuesto, los objetivos parciales inicialmente planteados en este Proyecto fueron los siguientes:

**1.1.** Elaboración y diseño de fichas descriptivas de los patógenos de transmisión alimentaria (en adelante, fichas de patógenos) con información relativa a las características principales del microorganismo, las vías de contaminación de los alimentos, los criterios microbiológicos aplicables, las técnicas para su diagnóstico en el laboratorio y las medidas de prevención y control de su presencia en los alimentos.

**1.2.** Análisis y discusión de un caso de TIA descrito en las tarjetas de estudio de caso (en adelante, tarjetas de caso) proporcionadas por los profesores, proponiendo: (i) una hipótesis acerca de la causa (etiología, factores contribuyentes y vehículo de transmisión) de la misma; (ii) los criterios microbiológicos aplicables al alimento sospechoso basándose en la legislación alimentaria europea o los planes de muestreo más apropiados, así como las técnicas de diagnóstico laboratorial para confirmar la hipótesis propuesta; y (iii) las medidas que serían adecuadas para reducir la probabilidad de que la TIA volviera a ocurrir.

**1.3.** Elaboración y diseño de nuevas tarjetas de estudio de caso que describan un caso de TIA, incluyendo información clave que oriente sobre la identificación del microorganismo implicado.

**1.4.** Representación teatral de un caso de TIA en la que se pongan en evidencia los factores contribuyentes a la misma, se realice un diagnóstico de laboratorio del agente causal y se discutan las medidas preventivas que hubieran evitado su aparición.

## **2. OBJETIVOS ALCANZADOS**

De los objetivos mencionados en el apartado anterior, el 1.4. (Representación teatral de un caso de TIA) no pudo abordarse debido a la suspensión de las actividades presenciales con motivo de la pandemia de COVID-19.

El resto de objetivos fueron abordados con modificaciones. A este respecto, además de por la necesidad de adaptación de la metodología inicialmente propuesta a la situación de no presencialidad, estos objetivos se modificaron como consecuencia de la participación de dos grupos distintos de estudiantes. Así, aunque el Proyecto estaba orientado inicialmente a alumnos de 3.er curso matriculados en la asignatura de Calidad Microbiológica de los Alimentos, un grupo de 9 estudiantes de 4.º curso, que habían

superado la asignatura en el curso académico anterior, también manifestaron su interés por participar en el mismo. Por este motivo, se decidió que la elaboración de tarjetas de caso por los estudiantes (objetivo 1.3) fuera llevada a cabo por estos alumnos del curso superior, en lugar de por los profesores como se había previsto inicialmente. Finalmente, la elaboración de tarjetas de caso adicionales por los estudiantes de 3.er curso no se llevó a cabo debido a la sobrecarga de trabajo sobrevenida tanto para los estudiantes como para los profesores como consecuencia de la necesidad de adaptación a la docencia no presencial derivada de la pandemia de COVID-19.

### **3. METODOLOGÍA EMPLEADA EN EL PROYECTO**

Como ya se ha mencionado, el objetivo principal del Proyecto consistió en que los estudiantes lograran un aprendizaje más significativo de los contenidos de la asignatura de Calidad Microbiológica de los Alimentos, lo que se abordó a través del estudio de casos de TIA, previa elaboración de los contenidos (fichas de patógeno y tarjetas de casos) por los propios estudiantes. En este sentido, las tarjetas de caso fueron elaboradas por los estudiantes de 4.º curso mediante trabajo autónomo en grupo y contando con asesoramiento de los profesores a través de tutorías virtuales (plataforma *Collaborate*). Asimismo, las fichas de patógenos, inicialmente previstas para ser elaboradas mediante trabajo cooperativo presencial (método del puzle) por los estudiantes de 3.er curso, fueron también elaboradas mediante trabajo autónomo en grupo; en este caso, fue posible llevar a cabo tutorías presenciales con dos de los grupos antes del cese de la actividad presencial con motivo de la pandemia; el asesoramiento y corrección de las fichas de los dos grupos restantes se llevó a cabo mediante tutorías virtuales a través de la plataforma *Collaborate*..

Adicionalmente, se emplearon las plataformas *Kahoot* y *Collaborate* para la realización de cuestionarios *on-line* y reuniones virtuales para la resolución de los casos, respectivamente.

### **4. RECURSOS HUMANOS**

En este Proyecto participaron un total de 25 estudiantes de 3.er (n=16) y 4.º (n=9) cursos del Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, así como 6 profesores pertenecientes a dos departamentos distintos de la Facultad de Veterinaria, según se detalla a continuación:

- M<sup>a</sup> del Mar Blanco Gutiérrez (Dpto. de Sanidad Animal)

- Gustavo R. Domínguez Bernal (Dpto. de Sanidad Animal)
- Ana I. Haza Duaso (Sección Departamental de Nutrición y Ciencia de los Alimentos)
- Carmen Herranz Sorribes (Sección Departamental de Nutrición y Ciencia de los Alimentos)
- Paloma Morales Gómez (Sección Departamental de Nutrición y Ciencia de los Alimentos)
- Juan M. Rodríguez Gómez (Sección Departamental de Nutrición y Ciencia de los Alimentos)

Los profesores fueron responsables del asesoramiento de los alumnos durante la elaboración de las fichas de patógenos y tarjetas de caso y de la corrección final de las mismas, del diseño y ejecución de test en la *plataforma Kahoot*, de la organización de reuniones en la plataforma *Collaborate* para la resolución de los casos y de la evaluación de los estudiantes.

## 5. DESARROLLO DE LAS ACTIVIDADES

Para abordar los objetivos citados en el apartado 2, se llevaron a cabo secuencialmente las actividades que se describen a continuación.

### 5.1. Reclutamiento de estudiantes

Para ello se realizó una sesión informativa en la que mediante una presentación de Power Point se describieron los objetivos y la dinámica de trabajo. Como resultado, se inscribieron voluntariamente 25 estudiantes (16 de 3.er curso y 9 de 4.º curso).

### 5.2. Organización de los grupos y distribución del trabajo

Se realizó una reunión presencial con los estudiantes para explicarles la metodología de trabajo (método del puzle como técnica de aprendizaje cooperativo; Anexo 1), organizar los grupos de trabajo y asignar las distintas tareas.

Los estudiantes de 3.er curso (n=16) se distribuyeron en 4 grupos (A, B, C y D) de 4 componentes cada uno. Seguidamente, a cada estudiante de cada grupo se le asignó un número del 1 al 4 para que los estudiantes con el mismo número formaran un "equipo de expertos" encargado de elaborar las fichas de patógenos (Objetivo 1.1) que les fueran asignadas por sorteo (dos por grupo). Concretamente, la asignación fue la siguiente: (i) Grupo 1: *Escherichia coli* enterohemorrágica y *Salmonella* sp.; (ii) Grupo 2: *Campylobacter jejuni* y *Bacillus cereus*; (iii) Grupo 3: *Listeria monocytogenes* y *Clostridium perfringens*; y (iv) Grupo 4: *Staphylococcus aureus* y norovirus.

Por otra parte, se asignó a los estudiantes de 4.º curso la elaboración mediante trabajo en grupo de 8 tarjetas de caso de TIA provocadas por estos microorganismos (Objetivo 1.3 modificado, ver apartado 2) que incluyeran información relativa, al menos, a los síntomas del paciente, los alimentos posiblemente implicados y la localización en la que se ingirió el alimento contaminado.

### **5.3. Seminario sobre búsqueda de información y creación de un seminario de trabajo en el Campus Virtual**

Se llevó a cabo una sesión presencial para mostrar a los estudiantes las principales herramientas de búsqueda de información para la elaboración de las fichas de patógenos y las tarjetas de caso, tales como bases de datos para la búsqueda de artículos científicos y normas ISO, páginas web de organismos nacionales e internacionales relacionados con la microbiología y la seguridad alimentaria, etc.

Por otra parte, se creó un seminario de trabajo llamado "Detectives de alimentos" en el Campus Virtual, en el que se depositaron ejemplos de fichas de patógenos y tarjetas de caso, criterios microbiológicos e información relacionada con los métodos de detección e identificación de los microorganismos de interés en el laboratorio.

### **5.4. Elaboración de las fichas descriptivas de patógenos**

Como se ha descrito, la metodología de trabajo inicialmente planteada para la elaboración de las fichas de patógenos estaba basada en la técnica del puzle. En este contexto, las reuniones de los "equipos de expertos" debían realizarse en forma de sesiones presenciales en las que los grupos trabajaran de forma autónoma bajo la supervisión de los profesores. Sin embargo, debido a la dificultad de los estudiantes para estar disponibles simultáneamente para la realización de dichas sesiones, los grupos elaboraron las fichas de forma no presencial. Esta situación no es deseable, puesto que no permite a los estudiantes obtener las ventajas que presenta el aprendizaje cooperativo frente al trabajo individual.

Durante la elaboración de las fichas de patógenos, las dudas que manifestaron los estudiantes fueron resueltas por los profesores mediante correo electrónico; por otra parte, las correcciones realizadas en la primera versión de los materiales elaborados por los estudiantes se comunicaron de forma presencial a dos de los grupos, mientras que en los otros dos dicha comunicación se llevó a cabo mediante correo electrónico debido al inicio de la situación de no presencialidad.

La siguiente fase del aprendizaje cooperativo hubiera consistido en la vuelta de los estudiantes a su grupo original (A, B, C o D) para transmitir los contenidos de las fichas de patógeno (Anexo 2) elaboradas por los "equipos de expertos" a los integrantes de su

grupo original; no obstante, dada la imposibilidad de realizar esta actividad presencialmente, se depositaron los materiales elaborados en el seminario de trabajo "Detectives de alimentos" con el objetivo de que fueran accesibles a todos los estudiantes participantes en el trabajo y pudieran estudiar su contenido de forma individual. Esta forma de trabajo difiere de la prevista inicialmente en el Proyecto, pero hubo de adoptarse ante el escenario de no presencialidad originado por la pandemia.

### **5.5. Elaboración de las tarjetas de estudio de casos**

Dado que la elaboración de las tarjetas de casos por los estudiantes de 4.º curso había comenzado simultáneamente a la de las fichas descriptivas de patógenos, se solicitó a los estudiantes que revisaran los casos elaborados con el fin de asegurar que podrían ser resueltos con la información contenida en las fichas depositadas en el Campus Virtual. Tanto la resolución de las dudas que presentaron los estudiantes durante la elaboración de las tarjetas de casos, como la comunicación de las correcciones, se llevaron a cabo por los profesores mediante correo electrónico. En el Anexo 3 se muestra un ejemplo de tarjeta de caso elaborada por los estudiantes.

### **5.6. Evaluación de la adquisición de conocimientos por los estudiantes**

Con el objetivo de comprobar si los estudiantes habían adquirido los conceptos incluidos en las fichas de patógenos, se diseñó un cuestionario de 20 preguntas de tipo multirrespuesta en la plataforma *Kahoot*. El cuestionario se realizó a través de la modalidad "Assign" y permaneció abierto durante 72 h, no existiendo limitaciones en el número de intentos por parte de los estudiantes. Aunque se ofreció la posibilidad de realizar el test a todos los estudiantes incluidos en el Proyecto, ningún estudiante de 4.º curso participó. Por otra parte, todos los estudiantes de 3.er curso realizaron el test, siendo la nota media de los 16 estudiantes de  $7,4 \pm 1,61$  (Anexo 4).

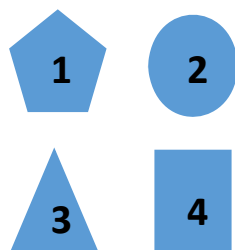
### **5.7. Resolución de los casos**

Únicamente tres de los cuatro grupos participaron en esta actividad final del Proyecto. La resolución de los casos se llevó a cabo en remoto mediante la plataforma *Collaborate* mediante reuniones de los profesores con cada uno de los tres grupos. Para ello, tras poner a disposición de los estudiantes el caso, los profesores dinamizaron y guiaron el debate para que los estudiantes propusieran una solución para el mismo, siendo destacable que los tres grupos formularon una propuesta correcta en un tiempo breve (aprox. 20 min) con ayuda nula o reducida por parte de los profesores. También en esta fase hubiera sido preferible que esta actividad se hubiera realizado de forma presencial, y que los encargados de la orientación y dinamización durante la resolución hubieran sido los propios estudiantes que habían elaborado el caso.

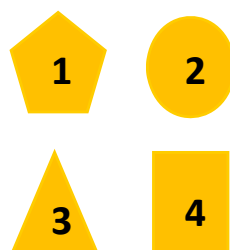
### **5.8. Evaluación de los estudiantes**

Para evaluar el rendimiento de los estudiantes que llevaron a cabo la elaboración de las fichas de patógenos y la resolución de los casos de TIA se tuvieron en cuenta los siguientes ítems (% calificación final): (i) calidad (fondo y forma) de las fichas y actitud durante el trabajo dirigido (20%); (ii) calificación del cuestionario *Kahoot* (40%) y (iii) calidad de la discusión y pertinencia de la solución propuesta en el estudio de casos (40%). Las calificaciones finales de los 16 estudiantes (de los que únicamente 12 participaron en la resolución del caso) se muestran en el Anexo 5. Finalmente, se entregaron a los estudiantes los obsequios adquiridos con parte de la financiación concedida para el Proyecto, consistentes en un pendrive (para todos los estudiantes) y libros divulgativos de microbiología, biotecnología y ciencia de los alimentos (únicamente para los estudiantes participantes en el estudio de caso).

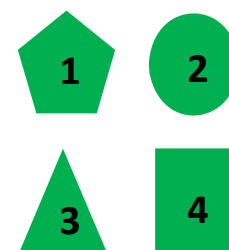
**1. FORMACIÓN DE LOS GRUPOS DE TRABAJO COOPERATIVO**



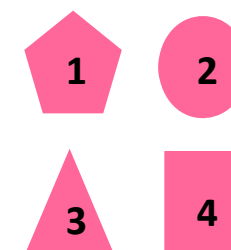
**Grupo A**



**Grupo B**



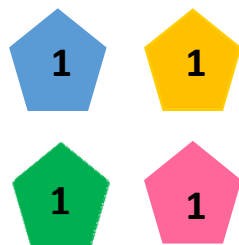
**Grupo C**



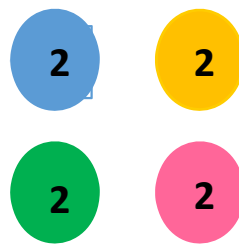
**Grupo D**

**2. FORMACIÓN DE LOS EQUIPOS DE EXPERTOS**

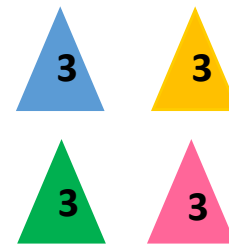
Realización de las fichas de patógenos



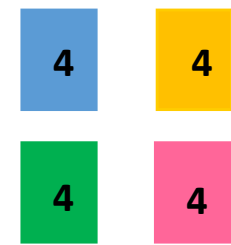
**Fichas I y II**



**Fichas III y IV**



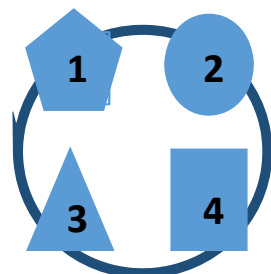
**Fichas V y VI**



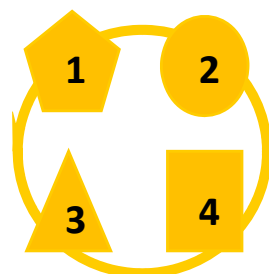
**Fichas VII y VIII**

**3. REGRESO DE LOS EXPERTOS AL GRUPO**

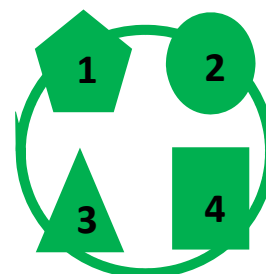
Intercambio información entre miembros del grupo



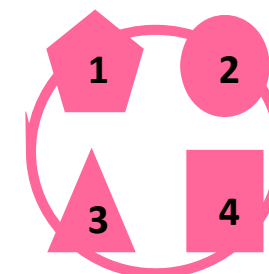
**Fichas I-VIII**



**Fichas I-VIII**



**Fichas I-VIII**



**Fichas I-VIII**

**Anexo 1. Dinámica para la elaboración de las fichas de patógenos mediante trabajo cooperativo (método del puzle)**

## Escherichia coli O157:H7

### El miedo a la bacteria 'E. coli' hunde la exportación de la huerta española

El Gobierno exige a Alemania que concluya la investigación  
Rusia se suma a los países que han cerrado sus fronteras

### Alemania exculpa del brote letal de 'E. coli' a los pepinos españoles

Bruselas estudia medidas para compensar a los agricultores  
Berlín admite que no ha avanzado en la identificación del origen



## FUENTES DE CONTAMINACIÓN Y ALIMENTOS IMPLICADOS

### Fuentes de contaminación

- Animales portadores: rumiantes
- Mataderos: carne contaminada con materia fecal
- Aguas contaminadas con materia fecal utilizadas para consumo o riego

### Alimentos implicados

- Carnes, especialmente carne picada.
- Leche no tratada térmicamente y quesos de leche cruda
- Frutas y hortalizas consumidas crudas, zumos no pasteurizados



## CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS

CATEGORÍA DE ALIMENTOS	PLAN DE MUESTREO Y LÍMITES	FASE
Brotos de semillas (Reglamento 2073/2005. Criterio de seguridad alimentaria)	n=5 c=0 No detectado en 25 g	Producto comercializado durante su vida útil
Leche cruda de venta directa al consumidor: Cataluña (Decreto 163/2018)	n=5 c=0 No detectado en 25 ml	Producto comercializado durante su vida útil

## MEDIDAS DE PREVENCIÓN DE LA TIA

- **Control integral** de la cadena alimentaria (bioseguridad en explotaciones, buenas prácticas higiénicas mataderos)

- Correcto tratamiento térmico de los alimentos, p.ej., 70 °C en carne picada (termómetro de alimentos)
- Evitar consumo de leche cruda y zumos no pasteurizados



- Correcto lavado de frutas y hortalizas
- Evitar contaminación cruzada
- Manipuladores: adecuado lavado de manos

## PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS

- Familia Enterobacteriaceae
- Bacilos Gram negativos, flagelos peritricos
- Grupo coliformes
- Anaerobio facultativo
- Cierta resistencia a pH bajo
- Oxidasa negativo, catalasa positivo
- Fermenta glucosa y lactosa
- Productor de shigatoxinas
- Patotipo enterohemorrágico (EHEC)
- Glucuronidasa negativo
- Sorbitol negativo

## CARACTERÍSTICAS DE LA TIA

- Patotipo más frecuente causante de TIA
- Dosis infectiva baja

### Síntomas:

- Diarrea acuosa, hemorrágica
- Síndrome urémico hemolítico (10% mortalidad)
- Secuela: púrpura trombótica trombocitopénica

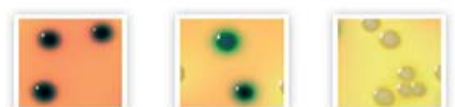
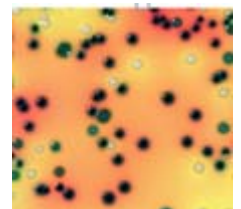
## MÉTODOS PARA LA IDENTIFICACIÓN EN EL LABORATORIO

- **Método de referencia:** CEN/ISO TS 13136

Método horizontal para la detección de *E. coli* productora de shigatoxinas (STEC) y para la determinación de los serotipos O157, O111, O26, O103 y O145): **PCR en tiempo real** (previo enriquecimiento de la muestra a 37 °C, 18-24 h)

- **Método alternativo:** RapID *E. coli* O157:H7 agar

- Enriquecimiento a 41,5 °C, 16-24 h
- Separación inmunomagnética
- Siembra en agar RapID *E. coli* O157:H7; 37 °C, 24 h
- Confirmación con test de látex



Enzymatic Activity	<i>E. coli</i> O157:H7	Other <i>E. coli</i>	Other bacteria
Glucuronidase	-	+	-
Galactosidase	+	+	-
Sorbitol	-	+	+/-

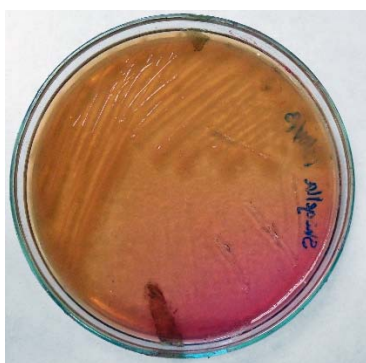
A Anna le encanta viajar de pueblo en pueblo y probar alimentos artesanos. Durante las vacaciones de Semana Santa, se fue a pasar unos días a Lérida.

En una parada entre dos pueblos vio una máquina expendedora que ofrecía leche cruda y compró una botella para probarla, pues había escuchado que este producto era muy sano y natural.

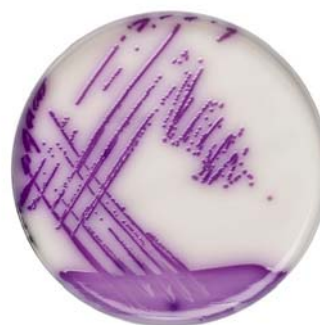
Al llegar a su destino, hizo una ruta de 20 km a pie, en la que descansó a medio camino y tomó un puñado de frutos secos, un bocadillo de jamón serrano y fruta cortada en trocitos que había preparado esa misma mañana. Para beber, tomó agua. Ya de vuelta en la casa rural en la que se alojaba, a la hora de cenar tomó una tortilla de patatas elaborada con huevos ecológicos adquiridos en una granja cercana y probó unas conservas caseras de vegetales.



Dos días después, ya de vuelta en su domicilio habitual, Anna empezó a sentir dolor abdominal y a las pocas horas comenzó con una diarrea abundante. Anna acudió al médico y este, ante la sospecha de toxiinfección alimentaria, pidió que se realizara una investigación de algunos de los alimentos que había consumido. En dicha investigación se emplearon métodos alternativos a los oficiales para la detección de diversos microorganismos patógenos, obteniéndose resultados significativos únicamente en uno de los alimentos analizados. Los resultados fueron los siguientes:



Medio de cultivo 1 (con lactosa)



Medio de cultivo 2 (para confirmación)

### Anexo 3. Ejemplo de tarjeta de estudio de caso de toxiinfección alimentaria

<b>Estudiante</b>	<b><i>Kahoot total score</i></b>	<b>Calificación (1-10)</b>
#1	26476	9,5
#2	10917	6,5
#3	26234	9,5
#4	27709	10
#5	11149	6,5
#6	18900	9
#7	17575	8
#8	12750	7
#9	12433	6
#10	15374	8,5
#11	5901	3,5
#12	12573	7
#13	10700	6
#14	16625	8
#15	12749	7
#16	13257	7

**Anexo 4. Resultados del cuestionario realizado en la plataforma *Kahoot***

<b>Estudiante</b>	<b>20% fichas</b>	<b>40% Kahoot</b>	<b>40% caso</b>	<b>Nota final</b>
#1	1	3,8	3,6	8,4
#2	1	2,6	0	3,6
#3	1	3,8	4	8,8
#4	1	4	3,6	8,6
#5	1,25	2,6	0	3,9
#6	1,25	3,6	3,6	8,5
#7	1,25	3,2	4	8,5
#8	1,25	2,8	3,6	7,7
#9	0,375	2,4	4	6,8
#10	0,375	3,4	3,6	7,4
#11	0,375	1,4	0	1,8
#12	0,375	2,8	3,6	6,8
#13	1,25	2,4	3,6	7,3
#14	1,25	3,2	3,6	8,1
#15	1,25	2,8	0	4,1
#16	1,25	2,8	4	8,1

**Anexo 5. Calificaciones finales de los estudiantes de 3.er curso**