

REGULARIZACIÓN DE SERVICIOS CIENTÍFICO-TÉCNICOS

Nombre del Servicio		
PCR a tiempo real aplicada al sector agroalimentario		
Responsable del Servicio		
Diego García Gonzalo y Laura Espina Cadena		
Centro, Instituto de Investigación, Departamento o grupo de investigación responsable del servicio		
Instituto Agroalimentario de Aragón IA2		
Descripción del servicio		
Estudios de detección y cuantificación de organismos de interés agroalimentario (BL-1 y BL-2, incluyendo OMGs), así como estudios de expresión génica, determinación de presencia/ausencia de genes de virulencia y antibiorresistencias, entre otros.		
Equipamiento que se va a utilizar en el servicio		
EQUIPO	Nº INVENTARIO	FUENTE DE FINANCIACIÓN (CÓDIGO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN SI FUE EL CASO)
CFX OPUS DW RT PCR instrument for FSD BIORAD	281018	Convocatoria para la adquisición de infraestructura de investigación de la Universidad de Zaragoza (2023).
Cabina seguridad biológica Safefast classic 212 (F00001140000)	281020	
Listado de prestaciones / servicios que se van a ofertar		
1	Autoservicio	
2	Análisis con fungible disponible	
3	Servicios específicos a convenir con el personal responsable del equipamiento.	
Disponibilidad de personal técnico para atender el servicio (Nombre, categoría, puesto)		
M ^a Jesús Serrano Andrés, PTGAS con contrato indefinido en el IA2.		
Análisis de la complementariedad del servicio propuesto con el resto de servicios ofertados en UNIZAR		
<p>La técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real o cuantitativa (qPCR) es una técnica molecular avanzada utilizada para amplificar y simultáneamente cuantificar fragmentos determinados de ADN en tiempo real. Por ello, es una técnica muy versátil con aplicaciones no sólo en el campo de la microbiología de los alimentos sino en diversas áreas de la biología molecular, la medicina, la biotecnología y muchas otras disciplinas.</p> <p>El equipo va a estar en las instalaciones de un laboratorio BL-2, ya que el trabajo con organismos patógenos y/o modificados genéticamente (OMGs) requiere de instalaciones acreditadas que cumplan todas las medidas de bioseguridad. El</p>		

laboratorio 00.191 del edificio de Zootecnia de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza se encuentra evaluado y autorizado para actividades de nivel de riesgo tipo 2 (nivel de bioseguridad 2: BL-2) por la Unidad de Prevención de Riesgos Laborales, así como por el Comité de Bioseguridad de la Universidad de Zaragoza. Además, está autorizado como instalación de utilización confinada de tipo 2 para trabajar con organismos modificados genéticamente (OMG) por la Comisión Nacional de Bioseguridad. Por tanto, este laboratorio acreditado y autorizado para trabajar con organismos BL-1 y BL-2, así como de OMGs, se considera que es una instalación singular en el IA2.

La prestación 1 (autoservicio) pone a disposición del usuario el equipamiento. Será el usuario quien aporte todo el fungible necesario y lleve a cabo los análisis. La prestación 2 se plantea para aquellos casos en los que el usuario requiera del fungible plástico, la MasterMix y los cebadores ya disponibles. La prestación 3 contempla todas aquellas necesidades específicas de análisis. Las condiciones de uso en ese último caso se acordarán con los responsables del servicio. Se recomienda que los amplicones tengan un tamaño de entre 75 y 150 pares de bases. La prestación 1 contempla el experimento completo a realizar sobre una paca de 96 pocillos, con independencia de las muestras que se analicen. La prestación 2 incluye tarifas por run de hasta 48 o 96 pocillos, con o sin apoyo de personal. La prestación 3 incluirá el importe asociado a los servicios acordados con los responsables del servicio.

Entre las aplicaciones de este servicio está la detección rápida y precisa de **genes que confieren resistencia a antibióticos** en bacterias y otros microorganismos, proporcionando información vital para el manejo de infecciones, el control de la diseminación de resistencia y la implementación de estrategias efectivas de tratamiento. En el ámbito de la seguridad alimentaria, tiene utilidad en el marco del estudio de genes de resistencia en patógenos alimentarios o en el monitoreo de exposición a antibióticos en alimentos e industria alimentaria. En el campo del diagnóstico clínico es útil, por ejemplo, para identificar genes de resistencia y monitorizar brotes. En este sentido, tiene gran utilidad en epidemiología de cara a la vigilancia y mapeo de resistencias a antibióticos. El usuario de esta prestación podrá elegir qué genes de resistencia desea amplificar y cuantificar dentro de una amplia colección, de forma que cada amplificación se realizará con un control positivo y proporcionando el número de copias inicial de dicho gen, si se desea.

La técnica también permite la **detección y (semi)cuantificación de bacterias de interés agroalimentario**, incluyendo patógenos, alterantes, organismos modificados genéticamente (OMGs), y otros microorganismos relevantes para la seguridad, calidad y autenticidad de los productos alimentarios. La detección de patógenos alimentarios se utiliza para certificar la seguridad alimentaria y llevar a cabo el monitoreo ambiental de ambientes de procesamiento de alimentos. La identificación y cuantificación de OMGs es útil en estudios de regulación y cumplimiento de la normativa, así como de cara a la transparencia para el consumidor. En el caso de la detección de bacterias, se utilizarán cebadores específicos en función de los géneros o familias que se quieran detectar, de forma que se amplificará selectivamente un fragmento del gen 16s rRNA. Si se quiere saber el número de copias de cada gen, se realizará una curva de calibración con

cada par de cebadores. En el caso de que se deseen detectar levaduras o mohos, se amplificará el gen 18s rRNA, y se ofrecerá la posibilidad de cuantificación previa realización de una curva de calibración.

Dada la gran versatilidad de la qPCR para amplificar prácticamente cualquier fragmento genético, esta técnica también se podrá emplear para la **detección y semicuantificación de cualquier otro gen de interés agroalimentario** (genes de virulencia, genes relacionados con la producción de aminos biógenas, detección de mutaciones, etc.). Por ejemplo, la identificación de la presencia de genes de virulencia que permiten a un microorganismo infectar un huésped y causar enfermedad resulta esencial para evaluar su potencial de causar enfermedad y diseñar estrategias de control y prevención. Esto tiene numerosas aplicaciones en el campo de la seguridad alimentaria, la Medicina y el diagnóstico clínico, seguridad, la investigación microbiológica general y el control de enfermedades en agricultura.

Además, también permite realizar **estudios de expresión génica** tras extracción de RNA en determinadas condiciones y conversión a cDNA. Esta técnica permite analizar cómo los genes se expresan bajo diferentes condiciones y en respuesta a diversos factores, lo cual es crucial para optimizar prácticas agrícolas, mejorar cultivos y garantizar la seguridad alimentaria. Por ello, puede utilizarse en mejora genética y selección de cultivos para identificar genes de interés en el marco de programas de mejora tanto en el ámbito animal como vegetal. También tiene aplicabilidad el marco de programas de mejora de la calidad y valor nutricional de alimentos y de producción de compuestos bioactivos. Esta técnica también se usa en el marco de estudios del microbioma y salud del suelo y de estrés biótico y abiótico, entre otros.

En las prestación 1 (que se llevará a cabo en modalidad autoservicio) y en la 2 en modalidad autoservicio, también se puede ofrecer asesoramiento respecto a la selección de cebadores para amplificación de fragmentos de interés, comprobación de una amplificación única por cada par de cebadores, y ayuda en la determinación del número inicial de copias del fragmento escogido. Adicionalmente, se añade asesoramiento para la extracción de ADN de matrices alimentarias complejas. El asesoramiento será provisto por los responsables del servicio. La prestación 3 incluye todas aquellas necesidades de uso en las que requieran aporte de personal o material específico. La posibilidad de diseño y compra de sondas fluorescentes también están recogidas en la prestación 3. Las condiciones de uso deberán acordarse con los responsables del servicio.

Además, es conveniente señalar que los usuarios pueden solicitar cualquiera de las prestaciones del servicio de forma independiente, de forma que el uso de una de ellas no compromete al usuario a hacer uso del resto de prestaciones ofertadas en el servicio.

Debido a la versatilidad de aplicaciones de las prestaciones ofertadas, este servicio puede resultar de utilidad para gran parte de los grupos y líneas de investigación tanto del IA2, como de otros grupos de investigación de la Universidad de Zaragoza u organismos públicos de investigación e incluso empresas.



Tarifas que se proponen			
PRESTACIÓN	TARIFA INTERNA	TARIFA OPI*	TARIFA EXTERNA*
1. Autoservicio	11,28 €/ RUN	-	-
2. Análisis con fungible disponible			
Autoservicio (sin mano de obra)			
• Hasta 48 pocillos*	17,09€+ 2,12€/muestra	-	-
• Desde 48 hasta 96 pocillos	22,89€+ 2,12€/muestra	-	-
Servicio completo (con mano de obra)			
• Hasta 48 pocillos	22,04€+ 2,12€/muestra	38,65€+ 2,97€/muestra	50,64€+ 2,97€/muestra
• Desde 48 hasta 96 pocillos	32,79€+ 2,12€/muestra	41,85€+ 2,97€/muestra	68,61€+ 2,97€/muestra
3. Servicios específicos a convenir con el personal responsable del equipamiento.	Según características de la solicitud	Según características de la solicitud	Según características de la solicitud
* La tarifa aplicable a OPI y usuarios externos deberá incluir el coste de fungible, personal y costes indirectos (incluido IVA).			
**Por lo general, el número de pocillos será igual al número de muestras + 1 control negativo por RUN (necesario) + 1 control positivo interno por RUN (necesario) + 1 control positivo por par de cebadores (opcional)			
Propuesta de tarifas bonificadas			
Las tarifas a aplicar a los miembros pertenecientes al CITA u otros miembros asociados al IA2 serán las mismas que las que se aplican a los miembros de UNIZAR.			
Justificación de las tarifas propuestas			
Las tarifas que se han calculado no incluyen el diseño del experimento, que deberá ser realizado por el usuario a excepción de la prestación 5 y aquellas en las que se llegue a un acuerdo con los responsables del servicio. Las tarifas incluyen las prestaciones indicadas y se han elaborado para cubrir los gastos correspondientes al fungible empleado, mantenimiento general de los equipos, los gastos de laboratorio asociados a los ensayos y equipos y el mantenimiento de los mismos.			



Propuesta de gestión (gestión de solicitudes, posibles prioridades de uso, gestión económica, ...)

La gestión de solicitudes y las prioridades de uso corren a cargo del responsable del servicio. La gestión económica se llevará a cabo a través de la secretaria del IA2. La facturación se hace a través de OTRI en proyecto exclusivo para el Servicio.