

Laboratori integrat VI

Codi: 100975
Crèdits: 3

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
2500502 Microbiologia	OB	3	2

Professor/a de contacte

Nom: Neus Ferrer Miralles
Correu electrònic: neus.ferrer@uab.cat

Utilització d'idiomes a l'assignatura

Llengua vehicular majoritària: català (cat)
Grup íntegre en anglès: No
Grup íntegre en català: No
Grup íntegre en espanyol: No

Altres indicacions sobre les llengües

Les classes i avaluacions es fan en català o en castellà a discreció del professorat, amb el material docent en anglès preferentment.

Equip docent

Andromeda Celeste Gomez Camacho
Daniel Yero Corona
Nuria Vigues Frantzen

Prerequisits

S'aconsella als estudiants revisar els continguts científico-teòrics sobre els quals es basa aquesta assignatura.

Així mateix convé cursar aquesta assignatura de manera simultània o amb posterioritat a la resta d'assignatures programades per al segon semestre del tercer curs del grau en Microbiologia.

Per poder cursar aquesta assignatura cal que l'estudiant hagi superat la prova de seguretat i de bioseguretat que trobarà en el corresponent espai docent del campus virtual. La informació que cal consultar per superar aquestes proves es troba a l'espai de comunicació del grau en Microbiologia. A més a més, és imprescindible que l'estudiant segueixi la normativa de treball que indiqui el professorat i que accepti i segueixi les normes de funcionament dels laboratoris docents de la Facultat de Biociències.

Per raons de seguretat, si no s'han superat els dos tests de seguretat i de bioseguretat, o bé si no es porten bata i ulleres de seguretat no es permetrà l'accés al laboratori.

Objectius

Es tracta d'una assignatura obligatòria de tercer curs, nuclear del grau en Microbiologia, que introdueix els estudiants en l'ús d'un conjunt de tècniques bàsiques de microbiologia per a l'experimentació en un laboratori

de microbiologia industrial i microbiologia ambiental. Els coneixements assolits en aquesta assignatura permetran a l'alumnat adquirir les competències d'altres d'assignatures pràctiques o teòriques que conformen el grau en Microbiologia i que estan programades perquè se segueixin simultàniament o amb posterioritat.

Els objectius concrets que l'alumnat ha d'assolir es defineixen en els punts següents:

1. Saber aïllar i seleccionar microorganismes d'interès industrial.
2. Manipular un microorganisme per convertir-lo en productor d'una activitat industrial d'interès utilitzant mètodes moleculars.
- 3.-Desenvolupar un procés d'obtenció d'un producte d'interès industrial.
- 4.-Determinar la qualitat microbiològica de l'aire i de les superfícies d'instal·lacions industrials.
- 5.-Determinar la qualitat microbiològica de l'aigua.
- 6.-Descriure l'efecte desinfectant de productes químics.
- 7.-Convertir residus industrials en productes d'alt contingut proteic.
- 8.-Seleccionar i avaluar l'activitat dels microorganismes implicats en el bioremei de sòls.
- 9.-Demostrar l'acció de bacteris sobre la inhibició del creixement de fongs fitopatògens.

Competències

- Adaptar-se a noves situacions.
- Aplicar eines basades en microorganismes per a valorar l'impacte ambiental de l'activitat humana, i també per a recuperar ambients contaminats.
- Aplicar els coneixements teòrics a la pràctica.
- Aplicar els principis sobre l'avaluació i la prevenció de riscos al laboratori i les regulacions sobre bioseguretat relatives als microorganismes i a la manipulació de diferents sistemes biològics.
- Avaluar la qualitat i/o seguretat microbiològica dels aliments, aigües, fàrmacs, cosmètics i altres productes naturals o elaborats.
- Caracteritzar els agents causals de malalties microbianes en l'home, en els animals i les plantes per diagnosticar-les i controlar-les, fer estudis epidemiològics i conèixer la problemàtica actual i les estratègies de lluita contra aquestes malalties.
- Conèixer i aplicar les normes de seguretat i qualitat en microbiologia.
- Desenvolupar el raonament crític en l'àmbit d'estudi i en relació amb l'entorn social.
- Dissenyar i controlar processos d'origen microbià i participar en els processos productius en què hi intervenen microorganismes.
- Dissenyar i utilitzar tractaments de desinfecció i esterilització, i també mètodes de control per a evaluar-ne l'eficàcia.
- Ser sensible a temes mediambientals, sanitaris i socials.
- Tenir capacitat d'anàlisi i de síntesi, d'organització i planificació i de presa de decisions.

Resultats d'aprenentatge

1. Adaptar-se a noves situacions.
2. Analitzar i seguir les dinàmiques poblacionals de microorganismes en processos aplicats.
3. Aplicar al laboratori els principis de l'avaluació i la prevenció de riscos.
4. Aplicar al laboratori les normatives de bioseguretat.
5. Aplicar els coneixements teòrics a la pràctica.
6. Aplicar mètodes per valorar el potencial de desinfecció de productes químics.
7. Aplicar tractaments de desinfecció i valorar-ne l'eficiència.
8. Avaluar l'efecte dels desinfectants sobre els microorganismes i les superfícies de treball.

9. Aïllar i caracteritzar agents potencials de control biològic basats en microorganismes per al control de plagues i malalties.
10. Aïllar i cultivar microorganismes d'interès biotecnològic.
11. Calcular el rendiment de microorganismes que fem créixer en diferents substrats.
12. Conèixer i aplicar les normes de seguretat i qualitat en microbiologia.
13. Desenvolupar el raonament crític en l'àmbit d'estudi i en relació amb l'entorn social.
14. Determinar els nivells de contaminació microbiana atmosfèrica.
15. Determinar experimentalment els paràmetres que defineixen els tractaments d'esterilització.
16. Determinar experimentalment i interpretar els paràmetres cinètics que defineixen el creixement microbià.
17. Dissenyar estratègies de bioremediació i biorecuperació a partir de sistemes model desenvolupats al laboratori.
18. Establir les condicions òptimes de producció de productes d'origen microbià.
19. Seleccionar comunitats microbianes per al tractament de contaminants.
20. Ser sensible a temes mediambientals, sanitaris i socials.
21. Tenir capacitat d'anàlisi i de síntesi, d'organització i planificació i de presa de decisions.
22. Utilitzar bioindicadors per avaluar l'impacte ambiental.
23. Utilitzar bioreactors d'operació contínua i discontinua.
24. Utilitzar els microorganismes per valorar el grau de contaminació del medi i per recuperar-lo.
25. Utilitzar instruments adequats per fer el seguiment i el control de processos basats en microorganismes.
26. Valorar l'activitat biològica de productes microbians.
27. Valorar la càrrega microbiana de superfícies.

Continguts

L'assignatura es divideix en els mòduls següents:

Mòdul 1: Microbiologia industrial

Mòdul 2: Microbiologia ambiental

Cada mòdul té una durada aproximada de 24 hores.

Mòdul 1: Microbiologia industrial

Continguts: aquest mòdul consta de set sessions i se centra en l'aïllament i l'ús de microorganismes per obtenir un producte d'interès industrial.

Les pràctiques d'aquest mòdul es faran obligatòriament sota la normativa de treball que s'indicarà quan s'iniciïn

1. Aïllament i selecció de microorganismes d'interès industrial-MI1
2. Cribratge per activitat-MI2
3. Aïllament de gens d'interès industrial-MI3
4. Clonació en vectors de sobreexpressió-MI4
5. Desenvolupament del mètode de producció-MI5
6. Valoració-MI6

Mòdul 2: Microbiologia ambiental

Continguts: aquest mòdul consta de vuit sessions centrades en la determinació de la contaminació microbiana ambiental, la utilització dels microorganismes en bioremediació i valorització de residus, així com en el control de plagues i malalties vegetals.

1. Gestió de residus

Bioremei d'un sòl contaminat-MA1

Producció de proteïna unicel·lular a partir d'un residu-MA2

2. Control de la contaminació ambiental

Qualitat de l'aire i de les superfícies d'instal·lacions industrials-MA3

Qualitat microbiològica de l'aigua-MA4

Desinfecció de superfícies-MA5

3. Control biològic

Aïllament de bacteris de la fil·losfera.

Determinació del seu potencial com a enemics naturals de patògens vegetals-MA6

Els continguts per sessió que s'impartiran en cadascun dels mòduls són els següents:

Mòdul 1: Microbiologia industrial

MI1

Sessió 1

Enriquiment i aïllament d'*Actinomicets* de mostres de sòl

Sessió 2

Enriquiment i aïllament de *Bacillus* de mostres de sòl

Identificació, recompte i aïllament de clons d'*Actinomicets*

Sessió 3

Identificació, recompte i aïllament de clons de *Bacillus*

MI2

Sessió 3

Detecció de l'activitat antibiòtica d'*Actinomicets*-sembra

Detecció de l'activitat enzimàtica d'*Actinomicets*-sembra

Sessió 4

Detecció de l'activitat antibiòtica de *Bacillus*-sembra

Detecció de l'activitat enzimàtica de *Bacillus*-sembra

Sessió 5

Avaluació de l'activitat enzimàtica d'*Actinomicets*

Detecció de l'activitat antibiòtica d'*Actinomicets*-sembra en doble capa

Sessió 6

Detecció de l'activitat antibiòtica de *Bacillus*-sembra en doble capa

Sessió 7

Avaluació de l'activitat antibiòtica de *Bacillus*

Avaluació de l'activitat enzimàtica de *Bacillus*

Avaluació de l'activitat antibiòtica d'*Actinomicets*

Avaluació i discussió de resultats

MI3

Sessió 1

Purificació de DNA genòmic de *Bacillus*

PCR per amplificació d'un gen d'interès industrial

Sessió 2

Gel de comprovació d'un fragment de DNA del gen d'interès industrial

MI4

Sessió 2

Digestió de vector d'expressió *E. coli*

Digestió de fragment de DNA del gen d'interès industrial

Defosforil·lació i purificació del vector d'expressió *E. coli* digerit

Sessió 3

Lligació d'un gen d'interès industrial

Transformació de la lligació

Sessió 4

Detecció de soques productores

MI5

Sessió 5

Inoculació de microorganismes productors d'activitats enzimàtiques d'interès industrial

Sessió 6

Experiment en *batch*: reinoculació del cultiu i seguiment del creixement de microorganismes productors d'activitats enzimàtiques d'interès industrial

MI6

Sessió 6

Avaluació de la producció i de l'activitat d'enzims d'interès industrial produïts per microorganismes

Sessió 7

Avaluació i discussió de resultats

Mòdul 2: Microbiologia Ambiental

MA1

Sessió 4

Enriquiment i aïllament de bacteris degradadors d'hidrocarburs de mostres de sòl contaminades

Determinació de l'activitat microbiana de mostres de sòl contaminades

Sessió 8

Lectura d'heteròtrofs totals

Detecció de microorganismes degradadors d'hidrocarburs totals

Detecció i recompte de microorganismes degradadors d'hidrocarburs aromàtics policíclics

Detecció de microorganismes degradadors d'n-hexadecà

Sessió 9

Recompte de microorganismes degradadors d'hidrocarburs totals

Recompte de microorganismes degradadors d'n-hexadecà

Avaluació i discussió de resultats

MA2

Sessió 1

Inoculació de bioreactors amb microorganismes en medis amb diferent concentració de sucres

Presa de mostres inicials del cultiu: sembra de viables, sucres, DO

Anàlisi de mostres: sembra de viables i mesura DO

Sessió 2

Presa de mostres del cultiu: sembra de viables, sucres, DO

Anàlisi de mostres: viables, taxa de creixement del cultiu, temps de duplicació, DO, determinació del consum de sucres

Sessió 3

Presa de mostres final

Anàlisi de mostres:

Recomptes i gràfics

Determinació del consum de sucres

Determinació de la biomassa del cultiu

Càlculs

Avaluació i discussió dels resultats

MA3

Sessió 5

Detecció de microorganismes en mostres d'aire

Detecció de microorganismes en mostres de superfícies

Sessió 7

Observació i recompte de microorganismes de mostres d'aire i de superfícies

Avaluació i discussió de resultats

MA4

Sessió 5

Sembra de microorganismes viables de mostres d'aigua

Detecció i recompte de bacteris coliforms i d'*Escherichia coli*

Detecció i recompte d'enterococs intestinals

Detecció i recompte de *Clostridium perfringens*

Sessió 6

Avaluació i test de confirmació de la presència d'*Escherichia coli*

Avaluació i test de confirmació de la presència de *Clostridium perfringens*

Sessió 7

Avaluació de la presència d'*Escherichia coli* en mostres d'aigua

Avaluació i test de confirmació de la presència d'enterococs fecals

Sessió 8

Recompte de microorganismes viables de mostres d'aigua

Avaluació i discussió de resultats

MA5

Sessió 6

Detecció de microorganismes en mostres de superfícies desinfectades

Sessió 8

Observació i recompte de microorganismes de superfícies desinfectades

Avaluació i discussió de resultats

MA6

Sessió 5

Aïllament de bacteris epífits de fulles de diferents espècies vegetals

Sessió 6

Obtenció de cultius axènics de bacteris epífits de fulles

Sessió 7

Realització del test de control biològic de fongs per bacteris epífits de fulles

Avaluació dels resultats obtinguts del potencial antagonista dels bacteris epífits de fulles sobre un fong fitopatogen

Avaluació i discussió de resultats

Metodologia

Aquesta assignatura s'impartirà en tres grups reduïts d'estudiants (d'un màxim de 24 estudiants per sessió). Per tal de poder adquirir les competències de l'assignatura l'assistència a les classes és obligatòria. Si un estudiant, per causa justificada i imprevisible (com ara un problema de salut, defunció d'un familiar de fins a segon grau, accident, gaudir de la condició d'esportista d'elit i tenir una competició o activitat esportiva d'obligada assistència, etc) no ha pogut assistir a una sessió de pràctiques o més d'una, haurà de dir-ho al professor o professora responsable i presentar-li el justificant corresponent durant les 48 h posteriors a la sessió a la qual ha faltat (certificat mèdic oficial en què es faci constar explícitament la incapacitat d'assistència a la/les sessió/sessions de pràctiques, atestat policial, justificació de l'organisme esportiu competent, etc.). En cas de convocatòria de vaga, si un estudiant decideix exercir el seu dret de vaga ho haurà de comunicar a la persona responsable de l'assignatura en un període màxim de 48 h després del dia de la vaga. En cap cas l'absència no podrà ser superior al 20 % de les activitats programades. El màxim d'absència en cada un dels mòduls es fixa en un 10 % per poder ser avaluat. En cas que se superi aquest valor, l'assignatura serà qualificada amb un no avaluable.

Els estudiants disposaran d'un manual de l'assignatura abans de l'inici de les sessions pràctiques. A cada sessió de pràctiques és obligatori que l'estudiant porti la seva pròpia bata, ulleres de laboratori, retolador permanent, calculadora i el manual de l'assignatura que trobarà disponible al campus virtual, assignatura Moodle o bé allà on li ho indiqui el professorat. També cal portar una llibreta tipus Miquelrius, Abacus o Oxford amb els fulls cosits, on cada estudiant anotarà les observacions fetes. Per a la realització de les pràctiques l'alumnat treballarà en parella i sota la supervisió del professorat. A l'inici i/o durant cada sessió el professor o la professora farà breus explicacions teòriques del contingut de les pràctiques i de les experiències que han de fer els alumnes, així com de les mesures de seguretat específiques i del tractament dels diferents residus químics i biològics generats.

Per aconseguir un bon rendiment i adquirir les competències corresponents a aquesta assignatura és imprescindible que l'estudiant faci una lectura comprensiva del manual de l'assignatura i que es familiaritzi amb les pràctiques que durà a terme cada sessió i amb la metodologia que haurà d'aplicar en cada cas.

Nota: es reservaran 15 minuts d'una classe, dins del calendari establert pel centre/titulació, per a la complementació per part de l'alumnat de les enquestes d'avaluació de l'actuació del professorat i d'avaluació de l'assignatura/mòdul.

Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Tipus: Dirigides			
Classes pràctiques de laboratori	48	1,92	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27
Tipus: Supervisades			

Tutoria	1	0,04	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27
Tipus: Autònomes			
Estudi	12	0,48	2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 22, 23, 24, 25, 26, 27
Lectura comprensiva del manual de l'assignatura	5	0,2	2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 22, 23, 24, 25, 26, 27
Redacció de la llibreta de laboratori	6	0,24	21
preparació presentacions orals	3	0,12	13, 21

Avaluació

L'avaluació de l'assignatura es fa per a cada mòdul i és continuada. El pes de l'avaluació sobre la qualificació final de l'assignatura de cada mòdul és d'un 50 % per al mòdul 1 d'un 50 % per al mòdul 2. Per poder superar l'assignatura caldrà obtenir una nota igual o superior a 5 en cadascun dels mòduls pràctics per separat.

L'avaluació de cada mòdul es farà de la manera següent:

Mòdul 1: Microbiologia industrial

Avaluació continuada del treball en grup

Exposició oral discussió de resultats de les pràctiques i participació en les pràctiques (20 %)

Avaluació individual dels continguts

Seguiment diari de la llibreta i de treball de laboratori (10 %)

Qüestionari individual amb preguntes de tipus test* (20 %)

*El qüestionari individual es pot fer durant qualsevol moment de les sessions de pràctiques i pot haver-hi més d'un qüestionari

Mòdul 2: Microbiologia ambiental

Avaluació continuada del treball en grup

Lliurament d'un informe final sobre bioreactors (3,3 %)

Exposició oral i discussió de resultats de les pràctiques i participació en les pràctiques (6,7 %)

Avaluació individual dels continguts

Seguiment diari de la llibreta de laboratori (10 %)

Qüestionari individual amb preguntes de tipus test (30 %)

En cada mòdul s'avaluarà l'actitud de l'estudiant al laboratori, la puntualitat, la utilització d'equipament del laboratori (bata i ulleres de protecció), el compliment de les normatives de seguretat i bioseguretat i la comprensió i el seguiment del manual de l'assignatura. Aquesta avaluació no comporta un augment de la nota, però pot significar la reducció de fins a un 20 % de la qualificació final obtinguda a cada mòdul.

Atès que l'assistència a les activitats programades en aquesta assignatura és obligatòria, l'absència a alguna de les sessions ha de ser justificada i no pot ser superior al 20 %. En qualsevol cas, aquest 20 % no es pot acumular en un únic mòdul. L'absència màxima a cada mòdul és del 10 %. En cas que se superi aquest valor l'assignatura es qualificarà amb un no avaluable.

Els estudiants que no superin les avaluacions dels diferents mòduls de l'assignatura els poden recuperar en la data programada al final del semestre (prova de recuperació) tot responant un qüestionari associat al mòdul no superat anteriorment. En aquesta prova es pot recuperar per separat l'avaluació de l'examen tipus test de cada mòdul (20 % i 30 % respectivament). Les altres activitats no tenen recuperació.

L'alumnat que no obtingui la qualificació mínima requerida per superar cada un dels mòduls del laboratori integrat, no aprovarà l'assignatura. En aquest cas, la qualificació final màxima de l'assignatura serà un 4.

Com que aquesta assignatura està diferenciada en mòduls, a partir de la segona matrícula, l'alumnat repetidor tan sols s'ha d'avaluar dels mòduls concrets que no han estat superats.

Activitats d'avaluació

Títol	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Avaluació mòdul 1, microbiologia Industrial: presentació oral i participació	20 %	0	0	13, 21
Avaluació mòdul 1, microbiologia industrial: examen tipus test	20 %	0	0	6, 7, 8, 9, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 24, 26, 27
Avaluació mòdul 2, microbiologia ambiental: examen tipus test	30 %	0	0	1, 2, 3, 4, 5, 10, 12, 13, 18, 21, 25
Avaluació mòdul 2, microbiologia ambiental: lliurament de l'informe	3,3 %	0	0	2, 5, 11, 16, 17, 18, 20, 23, 25
Avaluació mòdul 2, microbiologia ambiental: presentació oral i participació	6,7 %	0	0	13, 21
Lliurament de la llibreta de laboratori	20 %	0	0	2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27

Bibliografia

La bibliografia i els enllaços web s'indiquen en els protocols de pràctiques.

La programació de l'assignatura es pot consultar a l'espai docent de la coordinació del grau en Microbiologia.

Microbiologia industrial

R.S. Burlage, R. Atlas, D. Stahl, G. Geesey and G. Sayler, (1998). Techniques in Microbial Ecology. New York, NY. Oxford University Press.

L-M. Prescott (2002). Microbiology. Capter 42: Industrial Microbiology and biotechnology, 5th Edition, New York, NY. The McGraw–Hill Companies.

M. Rabbani, H.M. Sadeghi, F. Moazen, M. Rahimi and G. Salehi. (2011). Cloning and Expression of Randomly Mutated Bacillus subtilis α -Amylase Genes in HB101. Biotechnology Research International
[doi:10.4061/2011/305956](https://doi.org/10.4061/2011/305956).

R.C. Cadwell and G.F. Joyce. (1994). Mutagenic PCR. *Genome Res.* 3: S136-S140.

M.J. Waites, N.L. Morgan, J.S. Rockey and G. Higon (2001) *Industrial Microbiology: an introduction*. London, UK. Blackwell Science Ltd.

M.R. Ladisch, N.S., Mosier, (2009) *Modern Biotechnology*. John Wiley & Sons, Inc.
<https://doi.org/10.1002/9780470473412>

Protocol per a l'activitat amb alfa amilasa: <http://www.worthington-biochem.com/aa/assay.html>

Preparació d'un tampó de fosfats: http://openwetware.org/wiki/Phosphate_buffer

Microbiologia ambiental

1. Gestió de residus

Martin Alexander (1999) *Biodegradation and Bioremediation*. 2nd Edition. Cornell University, Ithaca, New York, U.S.A. Academic Press.

Ajay Singh, Ramesh C. Kuhad, Owen P. Ward. (2009) *Advances in applied bioremediation*. Berlin, Heidelberg. Springer-Verlag. <https://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-89621-0>

Ralph, M. and Ji-Dong, G. (eds) (2010) *Environmental Microbiology*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9780470495117>

Yates, M. V. et al. (eds) (2016) *Manual of Environmental Microbiology*. 4th Edition. ASM Press. [doi: 10.1128/9781555818821](https://doi.org/10.1128/9781555818821).

2. Control de la contaminació ambiental

Wen-Tso Liu, Janet K. Caister (2010) *Microbiology*. Norfolk, UK. Academic Press.

Harley- Prescott. (2002) *Laboratory exercises in microbiology* (5th Edition). Boston, Mass. The McGraw-Hill companies.

Delort, A.-M. and Amato, P. (eds) (2017) *Microbiology of aerosols*. Wiley Blackwell.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781119132318>

Mohee, R. and Mudhoo, A. (eds) (2012) *Bioremediation and Sustainability: Research and Applications*. Wiley-Blackwell. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781118371220>

3. Control biològic

H.J. Benson, (2001) *Microbiological applications. Laboratory manual in general microbiology* (8th edition). Boston, Mass. The McGraw-Hill companies.

B. Prapagdee, C. Kuekulvong and S. Mongkolsuk (2008). Antifungal Potential of Extracellular Metabolites Produced by *Streptomyces hygroscopicus* against Phytopathogenic Fungi. *International Journal of Biological Sciences* 4:330-337.

Ghannoum, M. et al. (eds) (2015) *Microbial Biofilms*. Second Edi. ASM Press. [doi: 10.1128/9781555817466](https://doi.org/10.1128/9781555817466).

Microbiologia general

Martín A., Béjar V., Gutierrez J.C., Llagostera M. y Quesada E. 2019. *Microbiología Esencial*. 1ª edición. Editorial Médica Panamericana. <https://www.medicapanamericana.com/VisorEbookV2/Ebook/9788491102427>

Programari

No hi ha previst un programari específic