



Aplicación de técnicas de vídeo y programación informática para el diseño de prácticas de identificación de bacterias

Tejedor, C., García-Fraile, P., Rivas, R., González-Sánchez, M.J., Vizcaino, N., Martínez-Molina, E., Velázquez E. y Corbo, A.
Departamento de Microbiología y Genética. Universidad de Salamanca. Spain.

Abstract

El aprendizaje de la identificación de microorganismos mediante pruebas fenotípicas clásicas es fundamental en la enseñanza de la Microbiología. Aunque actualmente se dispone de técnicas moleculares para la identificación de microorganismos, la caracterización fenotípica basada en pruebas fisiológicas y bioquímicas es muy importante para la caracterización y diferenciación de especies (Tindall et al., 2010). Además muchos kits orientados a la identificación de bacterias clínicas y de alimentos se basan en este tipo de pruebas. Sin embargo, hay pocos kits adecuados para la identificación de bacterias no clínicas que son muy importantes para otros procesos que intervienen directamente en la salud humana como es el caso de los probióticos, un producto en alza tanto en el sector de la alimentación como en el farmacéutico debido a la revalorización de estos productos en los últimos años.

Dado que en los estudios de Farmacia, la asignatura Biotecnología Farmacéutica incluye temas dedicados a la producción de probióticos, se ha implementado, con un alto grado de satisfacción, esta práctica en la misma.

Los alumnos visualizan un tutorial en vídeo previamente al desarrollo de la práctica cuyo objetivo es el aislamiento y la identificación de bacterias lácticas a partir de yogur. La bacterias aisladas en medio TJA (agar jugo de tomate) se observan al microscopio después de llevar a cabo la tinción de Gram para confirmar que se trata de bacilos Gram positivos no esporulados. La identificación se lleva a cabo en un kit comercial que fue diseñado en nuestro grupo de investigación con ayuda de un programa de ordenador denominado MISS (Microbial Identification Scientific Software) que analiza las pruebas más discriminatorias para un determinado grupo de microorganismos. En este caso la base de datos contiene los datos bibliográficos correspondientes a las bacterias productoras de ácido láctico.

El kit resultante está integrado por 14 tubos conteniendo diferentes azúcares que permiten la diferenciación de las bacterias lácticas. Una vez sembrada la cepa, incubado el kit y leídos los resultados, éstos se codifican en forma binaria y con ayuda de otro programa de ordenador se analizan los resultados y se obtiene la identificación de las especies.

Resultados

Elaboración del tutorial en vídeo

Hemos diseñado una práctica de laboratorio y elaborado un videotutorial donde se lleva a cabo su realización que incluye los distintos apartados:

- Control de productos probióticos en distintos alimentos mediante técnicas de recuento.
- Aislamiento de bacterias probióticas a partir de muestras de yogures.
- Realización de las pruebas bioquímicas para identificación del aislado utilizando un kit de identificación de bacterias lácticas.
- Identificación del aislado mediante un programa informático denominado PROALTER.

Materiales y Métodos

El vídeo fue grabado con una cámara Sony Digital 8 DCR-TRV510E PAL. La edición se realizó con el programa iMovie HD 6.0.3. en un Mac OS X Power PC G5 a 1.9 GHz. Una vez editado el vídeo fue preparado para su exportación y posterior grabación en formato CD.

El programa de ordenador se diseñó en lenguaje hypertext y puede ser utilizado en plataformas Macintosh y PC.

1. Dilución de yogur líquido



2. Dilución de yogur sólido



3. Suspensión del yogur sólido



4. Diluciones seriadas



5. Siembra en placas



6. Incubación de las placas



7. Microcolonias en placa



9. Lectura de resultados



8. Inoculación del kit



Elaboración del programa de ordenador

Hemos diseñado un programa de ordenador en lenguaje hypertext que permite la identificación de bacterias lácticas.

- Los resultados se introducen en el ordenador en forma binaria (positivos 1 y negativos 0).
- El programa analiza los resultados introducidos frente a la base de datos.
- Si los resultados introducidos coinciden exactamente con los de una de las especies de la base de datos, el programa proporciona el nombre de la especie identificada.
- Si los datos introducidos coinciden con más de una especie de la base de datos el programa ofrece una clave dicotómica con las pruebas necesarias para diferenciarlas.
- Si los datos introducidos no coinciden con ninguna de las especies de la base de datos, el programa permite conocer todas las especies más próximas (aquellas que tienen una variación de hasta el 20% con respecto a los datos introducidos) detallando cuáles son las pruebas en las que se diferencian cada una de ellas con respecto a la cepa problema.

Elaboración de la Encuesta

Se incluyeron seis preguntas en la encuesta

1. Ver el ejercicio práctico de forma completa en el vídeo me ha ayudado a comprender mejor el objetivo de la práctica
2. Considero que únicamente siguiendo el vídeo sería capaz de llevar a cabo la práctica
3. El vídeo me ayuda a comprender la técnica de recuento de microorganismos
4. El vídeo me ayuda a comprender cómo funciona el kit de identificación de bacterias lácticas
5. El vídeo me ayuda a reforzar los conocimientos sobre las características de crecimiento de las bacterias lácticas
6. Prefiero llevar a cabo la manipulación de microorganismos después de haber visto un vídeo de la técnica

Implementación en prácticas

La práctica de recuento e identificación de bacterias lácticas en probióticos lácteos ha sido implementada en cuarto curso de la Licenciatura de Farmacia.

- Los alumnos ven el tutorial en vídeo antes de llevar a cabo la práctica en laboratorio.
- La identificación de las bacterias lácticas aisladas se lleva a cabo utilizando el kit comercial (Ident-Alter) y el programa de ordenador PROALTER.

Bibliografía

Tindall, B.J. et al., Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes 2010 International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 60: 249-266.

9. Programa de ordenador PROALTER



10. Resultados de la identificación



Tabla 2. Porcentaje de estudiantes que contestan cada una de las opciones de las preguntas de la encuesta

Número de pregunta	7	8	9	10	11	12
Totalmente de acuerdo (5)	20%	30%	10%	30%	30%	40%
De acuerdo (4)	70%	40%	80%	70%	70%	60%
Dudoso (3)	10%	30%	10%	0%	0%	0%
En desacuerdo (2)	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Totalmente en desacuerdo (1)	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Valoración (Modelo de Likert)	4,1	4	4	4,3	4,3	4,4