

PROGRAMA DE MEJORA DE LA CALIDAD
PLAN ESTRATEGICO GENERAL 2013-2018
Planes de formación e innovación

MEMORIA DE RESULTADOS

Título del Proyecto

**Implementación de diferentes tipos de sistemas miniaturizados para la
identificación de levaduras que intervienen en la producción de
probióticos**

Referencia

ID2014/0188

Profesores responsables

M^a Encarnación Velázquez Pérez

Otros participantes

Pedro F. Mateos González, Belén Rubio Pérez, Eustoquio Martínez
Molina, Raúl Rivas González, Carmen Tejedor Gil, José David
Flores Félix, Lorena Celador Lera

Introducción

En el proceso de enseñanza-aprendizaje de las ciencias experimentales, la utilización de recursos multimedia facilita la adquisición de destrezas tanto mentales como manuales, éstas últimas objetivo de las prácticas de laboratorio.

En el caso de las prácticas que requieren el manejo de microorganismos, como es el caso de la Biotecnología Farmacéutica, la elaboración de tutoriales en video permite al alumno observar la forma correcta de manipularlos y aprender técnicas microbiológicas, con la ventaja de que se pueden recoger en unos pocos minutos resultados que, en la práctica microbiológica, tardan días en obtenerse.

La utilización de este tipo de tutoriales ha demostrado una gran eficacia en las prácticas de laboratorio real, ya que evita errores en la manipulación de los microorganismos por parte del alumno y los riesgos que eso puede conllevar en algunos casos.

Actualmente, además, se pueden subir estos videos a plataformas que permiten la distribución on-line que permitirá a los alumnos acceder al vídeo sin estar ligados a un ámbito espacio-temporal concreto, por lo que podrán verlo tantas veces cómo deseen y sin necesidad de estar en el laboratorio.

Metodología aplicada

Se ha grabado el proceso completo de identificación mediante sistemas miniaturizados de levaduras que están presentes en algunos probióticos, como es el caso del kefir, y que pueden ser aislados en medios de cultivo convencionales y en condiciones aerobias.

Las levaduras se han aislado en un medio selectivo que lleva en su composición un antibiótico (cloranfenicol) para evitar el crecimiento de las bacterias y se han utilizado dos sistemas miniaturizados rutinariamente aplicados a la identificación de estos microorganismos tanto en alimentos como en clínica. En ambos casos los comercializa la casa BioMerieux (Francia) y se basan en la utilización de diferentes fuentes de carbono, con la diferencia de que en el API 20CAUX las pruebas se llevan a cabo en microtubos y en el API ID32C en micropocillos, además de contener más pruebas el segundo sistema.

Los resultados obtenidos se han analizado utilizando la base de datos de estos grupos de microorganismos accesible on-line a la que está suscrito nuestro Departamento (Apiweb).

La grabación del video se realizó utilizando una cámara Sony HandyCam DCR-SR77E. A continuación, se utilizó el programa informático Windows Live Movie Maker 14.0.8091.0730 en un ordenador HP a6641es con procesador Intel Core 2 Quad Q8200 a 2,33GHz. Tras la edición y maquetado del archivo de video se procedió a realizar la grabación en formato CD haciendo uso del programa informático CyberLink PowerStarter 7.0.2216

Resultados

Los resultados obtenidos en función de los objetivos previstos en el presente proyecto se exponen a continuación:

1. Se ha elaborado un tutorial en video digital sobre la identificación de microorganismos aislados a partir de kefir utilizando sistemas miniaturizados que incluye:

- El recuento de levaduras presentes en el kefir en medio Saboureaud con cloranfenicol.
- El aislamiento a partir de una colonia y la inoculación de la cepa de levadura aislada en los sistemas API 20CAUX y API ID32C diseñado para la identificación de levaduras.
- La lectura de los resultados después de la incubación de las galerías y la comparación de los mismos con bases de datos de acceso on-line que nos permiten la identificación de los microorganismos.

2. Se ha implementado esta práctica en la asignatura de Biotecnología Farmacéutica de cuarto curso del Grado de Farmacia.

- Este video-tutorial ha sido diseñado para ser visualizado por los alumnos a continuación de otros video-tutoriales previos en el que los alumnos aprenden a realizar diluciones decimales seriadas y el aislamiento e identificación de bacterias presentes en otros probióticos de origen animal (yogur) y que se han realizado en el transcurso de dos proyectos de innovación docente previos.
- Este tipo de video-tutoriales han demostrado ser de una gran utilidad para la realización de prácticas de laboratorio en asignaturas relacionadas con la Microbiología y además de ser una excelente herramienta para el profesor, tienen una excelente acogida por parte de los alumnos.
- Las encuestas anónimas realizadas a los alumnos del Grado de Farmacia que han cursado la asignatura de Biotecnología Farmacéutica han mostrado que el 85% de los alumnos consideran positiva o muy positiva la inclusión de una práctica de identificación de levaduras en las prácticas de la asignatura Biotecnología Farmacéutica de cuarto curso del Grado de Farmacia.



A continuación se exponen los puntos básicos del video-tutorial mediante capturas de pantallas del mismo.

1. Para llevar a cabo el recuento de levaduras presentes en el kefir se utilizó el medio de cultivo Saboureaud cloranfenicol que es selectivo para estos microorganismos. Después de realizar diluciones decimales seriadas del kefir hasta 10^{-6} se inocularon placas con este medio a partir de cada una de las diluciones y el recuento se llevó a cabo en la placa en que el número de colonias estuvo entre 30 y 300.



1. Se utilizaron dos tipos de galerías comerciales diseñadas para la identificación de levaduras que contienen diferente número de pruebas y diferente diseño, el API 20CAUX consta de 20 cúpulas y el API ID32C de 32 micropocillos.



2. Partiendo de un cultivo puro en medio Saboureaud cloranfenicol, utilizado para el aislamiento de levaduras, se hace una suspensión del mismo en el medio líquido de las ampollas incluidas en los kits con la ayuda de un asa de cultivo estéril y se deja durante unos minutos en reposo para que se resuspendan las células adecuadamente.



3. Una vez homogeneizada la suspensión con la ayuda de una pipeta pasteur estéril se rellenan las cúpulas en el caso del API 20CAUX y los micropocillos en el caso del API ID32GN.



4. Una vez inoculada la cepa, las galerías se incuban a 25°C durante 48h y los resultados se leen observando la aparición de turbidez en los pocillos.



11. Una vez leídos los resultados, la identificación en ambos casos se lleva a cabo on-line frente a las bases de datos correspondientes a levaduras de la casa que comercializa ambos sistemas miniaturizados de identificación. La levadura aislada a partir de kefir se identificó en ambos casos como *Candida kefir*

Departamento de Microbiología y Genética Universidad de Salamanca · **apiweb**

API 20 C AUX VS.0 [Impresora](#) [Exportar](#) [Nuevo test](#) [Modificar](#)

REFERENCIA: FECHA: 26.06/15

COMENTARIO:

EXCELENTE IDENTIFICACION

Galería	API 20 C AUX VS.0		
Perfil	2 0 4 0 4 2 6		
Nota			

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Candida kefir</i>	99.9	1.0	

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1	0.1	0.36	LAC 0% MAL 75%

API

- API 10S
- API 20 A
- API 20 C AUX
- API 20 E
- API 20 NE
- API 20 STREP
- API 50 CHE
- API 50 CHE
- API 50 CHE
- API CAMPY
- API CANDIDA
- API CORVINE
- API LISTERIA
- API NH
- API STAPH
- RAPO 20 E

ID32



Departamento de Microbiología y Genética Universidad de Salamanca - **salamanca**





API ▶
ID32 ▶
 ID 32 C
 ID 32 E
 ID 32 STAPH
 rapid ID 32 A
 rapid ID 32 E
 rapid ID 32 STREP

ID 32 C V4.0 [Impresora](#) [Exportar](#) [Nuevo test](#) [Modificar](#)

REFERENCIA: FECHA:
 COMENTARIO:

PERFIL INACEPTABLE

Galería	ID 32 C V4.0
Perfil	7 2 2 0 7 1 0 4 3 1
Nota	¡NO VALDA ANTES DE 48 H DE INCLUBACIÓN!

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
Candida kefyr			RIB	1%	LVT	0%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra			
Candida spherica			RIB	0%	LVT	0%

Salamanca a 29 de Junio de 2015