

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

**MEMORIA DE RESULTADOS**

**Título del Proyecto**

**Implementación de una nueva práctica de aislamiento e identificación  
de bacterias Gram positivas esporuladas presentes en medicamentos  
probióticos**

**Referencia**

**ID2015/0144**

**Profesores responsables**

M<sup>a</sup> Encarnación Velázquez Pérez

**Otros participantes**

Pedro F. Mateos González, Belén Rubio Pérez, Eustoquio Martínez  
Molina, 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 permitiendo a los alumnos acceder al vídeo sin estar ligados a un ámbito espacio-temporal concreto, por lo que podrán verlo tantas veces como deseen sin necesidad de estar en el laboratorio.

## Metodología aplicada

Se ha grabado el proceso completo de recuento e identificación mediante sistemas comerciales de bacterias Gram positivas esporuladas que están presentes en algunos medicamentos probióticos, como es el caso del Salvacolon, y pueden ser aislados en medios de cultivo convencionales y en condiciones aerobias.

El Salvacolon es un producto farmacéutico indicado para el tratamiento de enfermedades intestinales, fundamentalmente enterocolitis, y de la piel. Se presenta en polvo para suspensión extemporánea y su formulación específica que contiene *Bacillus subtilis* vivo. Este microorganismo no está presente en otros probióticos de venta en farmacias y pertenece a un grupo muy distante de los lactobacilos y de las bifidobacterias, que son las bacterias incluidas habitualmente en probióticos.

Tanto por la forma de la presentación, en polvo para reconstituir un jarabe, como por el tipo de microorganismo que contiene, el Salvacolon es uno de los casos más adecuados para la enseñanza/aprendizaje de la Biotecnología Farmacéutica.

Las bacterias esporuladas se han aislado en un medio habitualmente utilizado para el aislamiento de este tipo de bacterias y para la identificación se ha utilizado un kit comercial basado en pruebas fenotípicas convencionales y una base de datos integrada en un programa de ordenador especialmente diseñado para la identificación de estas bacterias.

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 bacterias aisladas a partir de un medicamento probiótico utilizando un kit comercial de pruebas fenotípicas convencionales que incluye:

- El recuento de colonias de *Bacillus* presentes en el medicamento.
- El aislamiento a partir de una colonia y la inoculación de la cepa mayoritaria aislada en el kit Ident-Bacillus diseñado para la identificación de bacterias Gram positivas esporuladas.
- La lectura de los resultados después de la incubación del kit y la comparación de los mismos con bases de datos que nos permiten la identificación de las bacterias mencionadas.

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 alimentos probióticos, que se han realizado en el transcurso de varios 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 la Biotecnología Microbiana y además de ser una excelente herramienta para el profesor, tienen una excelente acogida por parte de los alumnos.

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

1. Para llevar a cabo el recuento de *Bacillus* presentes en el Salvacolon se utilizó el medio de cultivo Tryptona Soya Agar (TSA), que es adecuado para estos microorganismos. Después de realizar diluciones decimales seriadas del producto hasta  $10^{-6}$  se inocularon las placas 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.



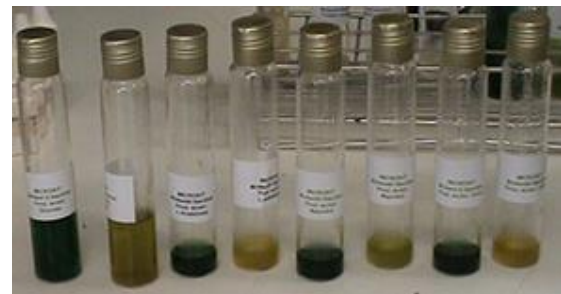
2. Se obtuvo un cultivo puro a partir de una de las colonias aisladas en placa y para la identificación de la bacteria se utilizó un kit comercial que incluye medios convencionales en tubos con medios sólidos y líquidos y ha sido diseñado para la identificación de bacilos Gram positivos esporulados (Ident-Bacillus).



3. Partiendo de un cultivo puro se inocularon los diferentes tubos del kit con la ayuda de una asa de cultivo esterilizada a la llama.



4. Cuando las bacterias son de crecimiento rápido, es suficiente un período de incubación de 48h para poder leer los resultados de las diferentes pruebas. Algunas se leen directamente por incremento de la turbidez en el tubo o por viraje en el indicador de pH de verde oscuro a amarillo en el caso de la utilización de los azúcares como fuente de carbono.



5. En otros casos es necesario añadir reactivos para revelar productos de reacciones enzimáticas.



6. Algunas reacciones sólo precisan la adición de un reactivo, como la catalasa, que se revela con agua oxigenada, y en la que se ve la aparición de burbujas, pero otros precisan la adición de dos reactivos y se desarrolla un color, como es el caso de la reducción de nitrato a nitrito.



7. Una vez leídos los resultados, la identificación se lleva a cabo frente a la base de datos incluida en el kit de identificación. Los resultados confirmaron la identificación de *Bacillus subtilis*.

