

MEMORIA DE RESULTADOS

Título del proyecto:

Diseño de ejercicios de laboratorio virtual para el aprendizaje y la evaluación de técnicas y procesos microbiológicos de identificación y diagnóstico de microorganismos.

Referencia:

ID/0066

Investigador Responsable:

M^a Encarnación Velázquez Pérez

Otros investigadores:

Carmen Tejedor Gil, Nieves Vizcaíno Santiso, Eustoquio Martínez Molina, y Raúl Rivas González.

Objetivos del proyecto:

Diseño y evaluación de nuevas prácticas de laboratorio virtual para el diagnóstico de enfermedades víricas y de identificación molecular de microorganismos productores de antibióticos para la enseñanza-aprendizaje de la asignatura Microbiología II del nuevo grado de Farmacia adaptado al EES.

Introducción

De acuerdo a los objetivos del proyecto se ha llevado a cabo el diseño y evaluación de nuevas prácticas de laboratorio virtual para ser incorporadas el próximo curso a la asignatura Microbiología II del nuevo grado de Farmacia adaptado al EES.

Los contenidos de la nueva asignatura Microbiología II versan sobre las aplicaciones de la microbiología de interés sanitario e industrial. Algunos de los contenidos prácticos de esta asignatura son muy difíciles de implementar en el contexto de un laboratorio tradicional de enseñanza en microbiología por limitaciones de tiempo y coste y por razones de seguridad. En concreto, el diagnóstico de las enfermedades víricas se enseña de forma teórica debido a la imposibilidad de llevar a cabo estos experimentos en laboratorios de prácticas convencionales. El laboratorio virtual es una alternativa para asegurar la adquisición y evaluación de competencias relacionadas con este tipo de análisis microbiológico. Por otra parte, la identificación de microorganismos se limita, en el laboratorio de prácticas, a una cepa de una bacteria y se lleva a cabo basándose únicamente en criterios fenotípicos.

Además de los temas de interés planteados en la memoria de solicitud se han elaborado ejercicios de Laboratorio Virtual multimedia para el aprendizaje del diagnóstico de laboratorio de algunas enfermedades de especial interés como las producidas por priones, partículas subvíricas, o algunos tipos de meningitis. En concreto los siguientes:

1. Ejercicios de Diagnóstico microbiológico

Enfermedades bacterianas

1. 1. Meningitis bacteriana

Enfermedades víricas

1. 2. Diagnóstico de la Gripe aviar

1. 3. Diagnóstico de infección por Citomegalovirus

1. 4. Hemólisis Radial. Rubeola

Enfermedades producidas por priones

1. 5. El Control Oficial de Alimentos. Los Métodos Rápidos de control y la Encefalopatía Espongiforme Bovina

2. Producción de antibióticos y productores de antibióticos

2. 1. Biotecnología de la producción de Antibióticos

2. 2. Identificación de microorganismos mediante secuenciación del ADN y consulta *online* a BBDD de secuencias

Diseño y elaboración de los ejercicios

1. Ejercicios de Diagnóstico microbiológico. Ejercicios de Autoaprendizaje basado en casos.

Hemos diseñado ejercicios pautados de técnicas microbiológicas con posibilidad de autoevaluación en competencias que permiten al alumno familiarizarse con los

protocolos experimentales, visualizar las técnicas utilizadas en los mismos mediante imágenes (estáticas vídeos) e interpretar los resultados de los mismos. El ejercicio incluye una serie de preguntas de entrenamiento y un cuestionario final de respuesta múltiple con información feed-back que permite la autoevaluación del aprendizaje acerca grado de comprensión del protocolo alcanzado por el alumno y de la adquisición de la competencia para el que se ha diseñado (emisión de un diagnóstico, interpretación de un resultado, elección de un protocolo...).

Ejemplos de cabecera de algunos ejercicios

	<h2 style="text-align: center;">Meningitis bacteriana</h2>
<p>Las meningitis bacterianas agudas han sido clásicamente denominadas purulentas debido al aspecto turbio o purulento del líquido cefalorraquídeo (LCR). Independientemente del agente causal y de la edad del paciente, la meningitis bacteriana no tratada tiene un desenlace fatal en la casi totalidad de los casos. El rápido curso del proceso obliga a un diagnóstico inmediato, seguido de la aplicación urgente del tratamiento antibiótico más apropiado para cada caso.</p>	
<h3>Supuesto práctico</h3>	
<p>Una estudiante de 17 años que en su primera semana en el colegio se siente enferma de forma progresivamente creciente en un periodo de 48 horas. Inicialmente ella y sus familiares piensan que padece un proceso gripal. Pero posteriormente aparecen dificultades para incorporarse, incoherencia, fiebre alta de 40.6°C, náuseas y vómitos por lo que acude al servicio de urgencias donde es ingresada con un diagnóstico inicial de meningitis pues en la exploración se ha encontrado rigidez de nuca y otros signos de irritación meníngea (Kerning y Brudzinski).</p>	
<h3>Apartados</h3>	
<ol style="list-style-type: none"> 1 2 3 4 5 6 	<p>Muestras Tinción de Gram Cultivo en agar sangre Resultados Interpretación de resultados Envío de resultados</p>

<h2 style="margin: 0;">El Control Oficial de Alimentos, los Métodos Rápidos de Detección y la Encefalopatía Espongiforme Bovina</h2>	
<h3>Apartados del ejercicio</h3>	
<ol style="list-style-type: none"> A. El Control Oficial de Alimentos B. Los Métodos Rápidos de Detección C. Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET) D. Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) E. Supuesto práctico F. Procedimiento con el kit 'Prionics®-Check PrioSTRIP' G. Resultado del supuesto práctico 	



**INFLUENZA
AVIAR**

Diagnóstico de Gripe Aviar



Apartados del ejercicio

- A. El peligro de gripe humana pandémica
- B. Vigilancia y prevención: El papel del diagnóstico
- C. ¿Qué es la gripe aviar?
- D. Supuesto práctico
- E. Técnica de inmunocromatografía en aves
- F. Técnica de inmunocromatografía en humanos
- G. Determinación del incremento en anticuerpos mediante la inhibición de la HA

En os ejercicios se incluyen vídeos de los procedimientos

Numerosos microorganismos producen antibióticos, sustancias capaces de inhibir el cr de eliminarlos directamente. Desde el desarrollo de la penicilina en la década de los 40 sustancias han cosechado éxitos formidables en la lucha contra las enfermedades.

Objetivo

[ver video clip del procedimiento](#)

Mostrar la producción del antibiótico estreptomycin por *Streptomyces griseus*, así como su efecto sobre el crecimiento de distintos organismos.




1. Toma de muestra y muestras [Ver vídeoclip](#)

Todas las muestras fueron de excrementos o heces (ya sea tomadas de la cloaca del ave o recogidas del suelo de la granja) y obtenidas mediante una torunda.

Muestras

- P1: Pato muerto
- g1- g5: gallinas 1 a 5
- e1-e4: excremento 1 a 4



Ejemplo de imágenes de resultados

Rubeola. Resultados e interpretación

Resultados:
Después de la incubación a 37 °C toda la noche las placas presentan los siguientes resultados

Una zona de lisis de hematies alrededor del pocillo mayor en la placa "Test" que en la placa "Control" indica la presencia de anticuerpos frente a la rubéola en ese suero.

Ejemplo de entrenamiento en la interpretación de resultados

4. Entrenamiento en lectura de resultados

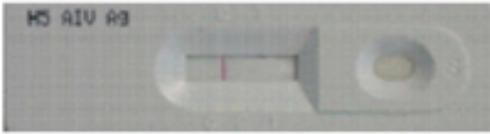
Interprete el resultado de la imagen de la derecha con el kit para detectar el antígeno del virus de la gripe aviar (AIV Ag kit):

a) Positivo
b) Negativo
c) Inválido



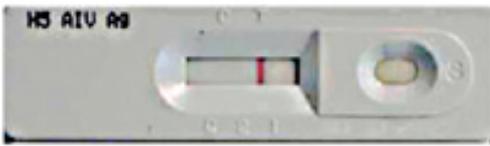
Interprete el resultado de la imagen de la derecha con el kit para detectar el subtipo H5 del virus de la gripe aviar (H5 AIV Ag kit):

a) Positivo
b) Negativo
c) Inválido



Interprete el resultado de la imagen de la derecha con el kit para detectar el subtipo H5 del virus de la gripe aviar (H5 AIV Ag kit):

a) Positivo
b) Negativo
c) Inválido





[Aplicación JavaScript]
CORRECTO. Interprete otra prueba.

Aceptar



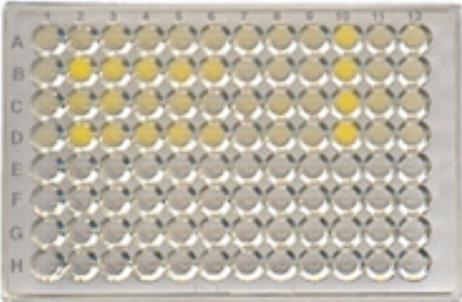
[Aplicación JavaScript]
INCORRECTO. Pulse otra respuesta.

Aceptar

Ejemplo de supuesto práctico. Interpretación de resultados

ELISA
Diagnóstico de infección por CMV

Esta es la placa:



y éstos son los resultados de las densidades ópticas obtenidas con el lector de placas:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0.05	0.12	0.11	0.11	0.12	0.10	0.11	0.12	0.02	2.04	0.03	0.06	IgM - Hace 1 año
B	0.05	1.83	0.92	0.44	0.27	0.18	0.07	0.05	0.04	2.10	0.05	0.07	IgM - Hoy
C	0.04	0.90	0.41	0.23	0.14	0.04	0.05	0.06	0.03	2.04	0.04	0.05	IgG - Hace 1 año
D	0.05	1.90	0.91	0.46	0.24	0.17	0.07	0.05	0.06	2.03	0.04	0.06	IgG - Hoy
Substrato	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	Negativo	Positivo	Delayente	Enzima		

Los resultados positivos (mayores que los controles negativos con un margen de ~0.1) se muestran en rojo.

Los ejercicios incluyen una o varias series de preguntas y la opción de obtener los Resultados

Preguntas

1.- En todas las muestras la morfología de las bacterias encontradas pertenecía a:

a) Cocos
 b) Bacilos
 c) Vibrios

2.- En las tinciones

a) Gram positivos
 b) Gram negativos
 c) Ziehl positivos

3.- La agrupación presentada ha sido:

a) Diplos o cadenas cortas
 b) Cadenas largas
 c) En racimos

4.- En agar sangre además de la sensibilidad a la optoquina, ¿qué tipo de hemolisis han producido las colonias?:

a) Hemolisis alfa
 b) Hemolisis beta
 c) No hemolisis

5.- Se identifica

a) Estreptococos del grupo B
 b) *Neisseria meningitidis*
 c) *Streptococcus pneumoniae*

OBTENER RESULTADOS

Resultados Ejercicio

Meningitis bacteriana

1.- En todas las muestras la morfología de las bacterias encontradas pertenecía a:

a) Cocos -> Esta es la correcta
b) Bacilos -> Fallada
c) Vibrios

2.- En las tinciones

a) Gram positivos -> Esta es la correcta
b) Gram negativos
c) Ziehl positivos -> Fallada

3.- La agrupación presentada ha sido:

a) Diplos o cadenas cortas -> Correcta
b) Cadenas largas
c) En racimos

4.- En agar sangre además de la sensibilidad a la optoquina, ¿qué tipo de hemolisis han producido las colonias?:

a) Hemolisis alfa -> Esta es la correcta
b) Hemolisis beta
c) No hemolisis -> Fallada

5.- Se identifica

a) Estreptococos del grupo B
b) *Neisseria meningitidis*
c) *Streptococcus pneumoniae* -> Correcta

Resultados
Correctas: 2
Incorrectas: 3

Nota
4/10

2. Ejercicios sobre producción de antibióticos e identificación de organismos productores.

En el primero de estos ejercicios se ha incluido la posibilidad de acceso a un Simulador (se incluye un tutorial de uso) que en este caso permite, modificar las condiciones de cultivo en la producción de antibióticos y comprobar los efectos ocasionados (es un simulador basado en el Modelo D de Baranyi y adaptado a Excel).



Biotecnología de la producción de Antibióticos



Apartados del ejercicio

A.- Descripción del ejercicio

I.- Relato histórico

B.- El descubrimiento original y el redescubrimiento

C.- La producción de penicilina y la Segunda Guerra Mundial

D.- La producción de Penicilina después de la Segunda Guerra Mundial

II. Supuesto práctico 1: Screening para detectar la producción de antibióticos

E.- Técnica por siembra en estrias perpendiculares

F.- Resultados del supuesto práctico 1 y preguntas de interpretación de los resultados

III. Supuesto práctico 2: Simulación de la producción de penicilina

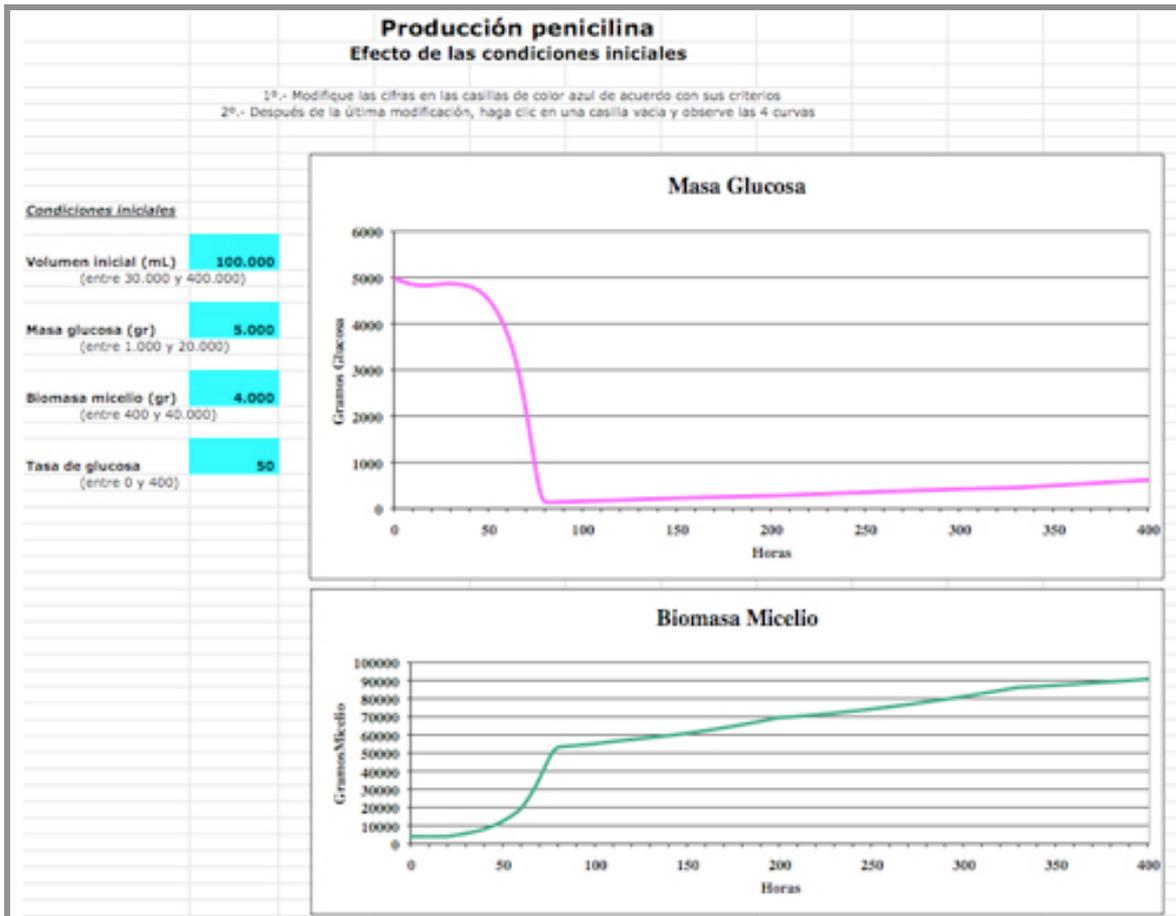
G.- Producción de penicilina

H.- Economía del proceso

I.- Objetivos de este 2ºsupuesto práctico

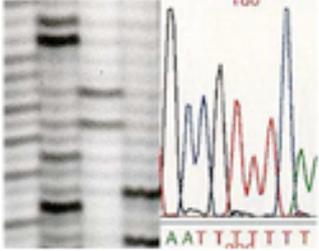
J. Acceso al simulador de producción de penicilina

K.- Efectuar simulaciones, interpretar los resultados y contestar a las preguntas



En el segundo ejercicio se realiza de forma figurada la secuenciación automática de un fragmento de ADN de un microorganismo productor de antibióticos que ha de ser identificado para luego, una vez obtenida la secuencia, realizar la consulta *online* a las bases de datos de secuencias y poder identificarlo.

Identificación mediante secuenciación del ADN y consulta a bases de datos de secuencias



Análisis de los resultados

Para el análisis de las secuencias proporcionadas por el secuenciador existen programas en los cuales cada nucleótido tiene un color diferente como podemos ver en la imagen de la derecha. Generando lo que se denomina un cromatograma.



Si pulsamos sobre el botón "CATG" obtendremos la secuencia generada después de la secuenciación.

CATG AGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCCTAACACATG
CAAGTCGAACGGTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

BASES DE DATOS

Las bases de datos contienen una colección de todas las secuencias de DNA que son públicamente accesibles. Cada una de las entradas de estas bases de datos es una secuencia, de DNA o de RNA, que contiene una serie de anotaciones en las que se especifican las características de dicha secuencia. Las secuencias, se obtienen de los datos enviados por los investigadores, que voluntariamente hacen accesibles sus datos a toda la comunidad científica.

En la actualidad, existen tres puntos de entrada de secuencias en las bases de datos, que forman parte del denominado "International Nucleotide Sequence Database Collaboration":

- **EMBL** Nucleotide database (European Molecular Biology Laboratory) del EBI (European Bioinformatics Institute, Inglaterra)
- **DDJ** (DNA Data Bank of Japan) y
- **GenBank** del NCBI (National Center for Biotechnology Information, NIH, USA)

Estos tres centros funcionan como puntos independientes de entrada de secuencias en las bases de datos, pero intercambian información diariamente, por lo que las bases de datos resultantes **CONTIENEN LA MISMA INFORMACIÓN** aunque con un **FORMATO** ligeramente diferente. Por esta razón, no es necesario consultar las tres bases de datos independientemente cuando se quiere realizar una búsqueda.

En este ejercicio nos vamos a centrar en NCBI



NCBI **PubMed** National Library of Medicine

Search PubMed | Enter | Go | Clear

Advanced Search

- Enter one or more search terms, or click [Diction/Index](#) for advanced searching.
- Enter [pubmed terms](#) as [mesh](#) if [index](#) are optional.
- Enter [journal titles](#) in full or as [MEDLINE](#) abbreviations. Use the [Journal Database](#) to find journal titles.

PubMed, a service of the National Library of Medicine, provides access to over 13 million MEDLINE citations back to the mid-1960's and additional life science journals. PubMed includes links to many sites providing full text articles and other related resources.

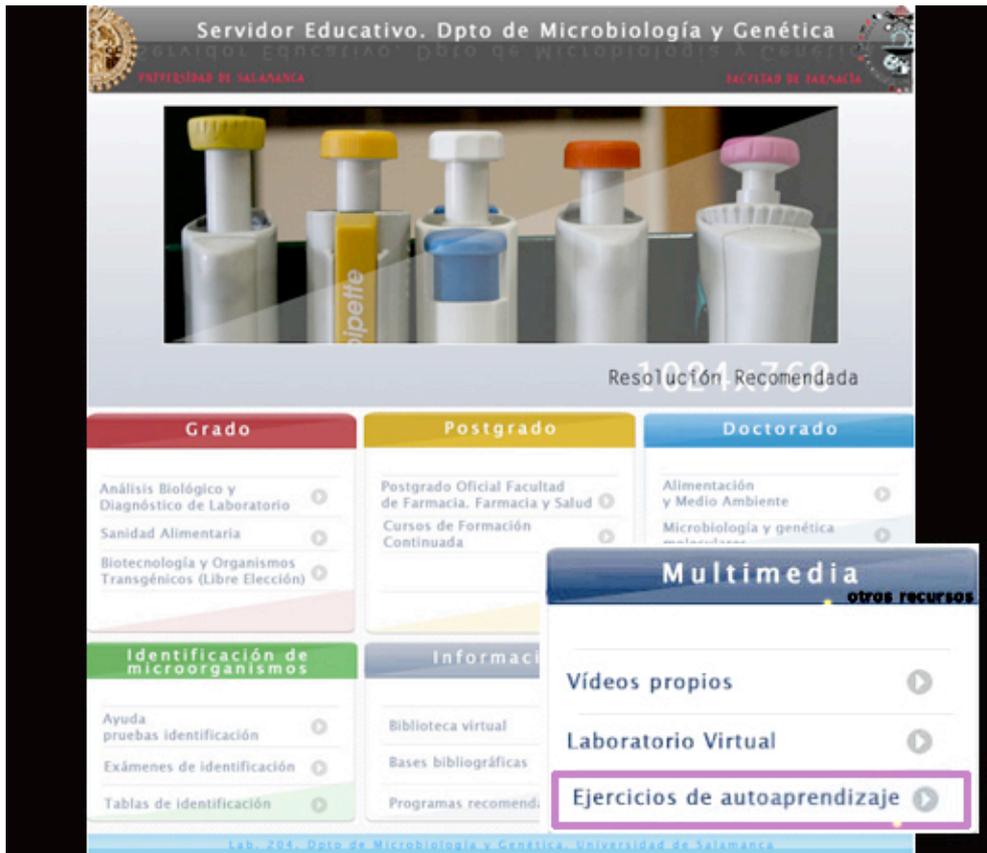
BLAST Basic Local Alignment Search Tool

Programación Informática

La programación informática se ha realizado en lenguaje de programación HTML (*HyperText Markup Language*), que permite entremezclar de forma eficiente elementos multimedia con los tradicionales datos, así como enlazar documentos con el mismo formato (.HTML) y crear enlaces dentro del mismo documento, dando así una mayor facilidad a la hora de la consulta y manejo del documento. En las páginas HTML, se ha utilizado embebido otro lenguaje de programación, el *JavaScript*. Este lenguaje nos ha permitido la interactividad necesaria (independiente de servidores y de Internet) para ofrecer información feedback inmediata ante los eventos generados por el usuario.

Implementación y estudio piloto

Los ejercicios elaborados se pusieron a disposición de los alumnos de la asignatura Análisis Biológicos y Diagnóstico de Laboratorio I de la licenciatura de Farmacia, que se transformará en la Microbiología II del nuevo grado en Farmacia, en el servidor del educativo del Departamento (<http://coli.usal.es>) al que podían acceder desde *Studium* y además se suministraron en soporte CD a los alumnos que lo solicitaron



Los 7 ejercicios implementados han estado en el servidor a disposición de los estudiantes, durante aproximadamente dos meses. Durante ese tiempo se han realizado un total de 926 ejercicios de los cuales el 48,1% fue calificado con la máxima nota. De forma voluntaria 68 estudiantes han participado en un estudio de evaluación del aprendizaje realizando un ejercicio-examen al final de los dos

meses.

El ejercicio examen consistía en 14 preguntas disponibles online de respuesta múltiple sobre aspectos realizados con alguno de los 7 ejercicios implementados. Las calificaciones obtenidas se presentan en la figura 1.

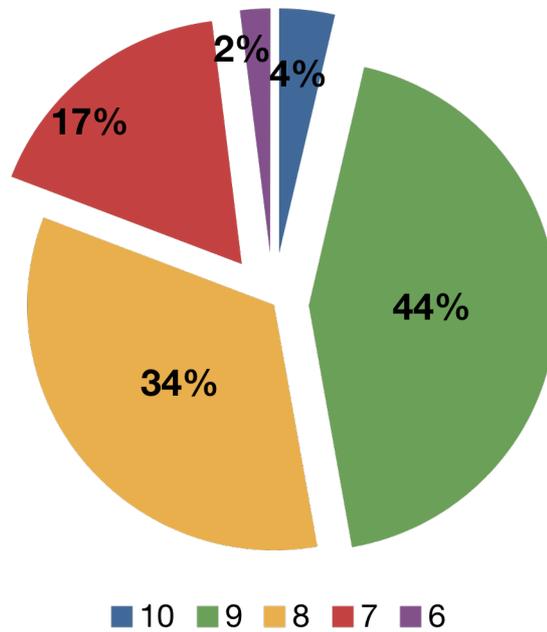


Figura 1. % de Estudiantes y Calificaciones obtenidas en el ejercicio-examen

Como se observa, un 48 % de los participantes obtuvieron un sobresaliente (9-10) y un 94% al menos un notable (7, 8, 9, 10).

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto en este proyecto se han cumplido todos los objetivos planteados.

Salamanca, 27 de mayo de 2009

Fdo.: M^a de la Encarnación Velázquez Pérez
Investigador Responsable