

Práctica 1

Tinciones de Rutina para Bacterias y Hongos

- Preparación húmeda se pueden observar diferentes tipos de movimiento: Mov. Browniano, de corrientes y flagelar o real de las bacterias.
- Métodos de tinción, los que ofrecen las sig. Ventajas en la ID de los microorganismos:
 - proporcionar contraste entre el m.o. y el medio que le rodea, permitiendo llevar a cabo la diferenciación entre los distintos tipos morfológicos.
 - Permitir el estudio de estructuras propias de la célula bacteriana y micótica.

Tinción de Gram Modificación de Reed

- . ID, de bacterias y levaduras.
- Divide en Gram + y -
- Levaduras se tiñen como Gram + por las caract de su pared celular.
- No tiene utilidad taxonómica, tales como: espiroquetas, micoplasmas, micobacterias, clamidias y riquetsias.

Coloración de Microorganismos:

- Cristal violeta (c. Primario)y agregar bicarbonato de sodio(catalizador) (15s) y lavar.
- Yodo(decolorante) (15s) y lavar con agua corriente.
- Fucsina básica (colorante de contraste) (15s) y lavar.
- Secar el frotis por presión con una toalla de papel secante.

Gram +/- azul o morado, m.o. que conservan el cristal violeta
Gram -.- rosa o rojo, corresponde al de la safranina o fucsina.

Tinción de Ziehl-Neelsen

- Microorganismos designados ac. alcohol resistentes, una vez teñidos retienen el colorante y no son decolorados por la acción de ácidos.
- La ac alcohol resistencia está determinada por la composición de la pared celular.

Coloración:

- La penetración de fucsina fenicada(colorante 1º) se facilita debido a que ésta se encuentra disuelta en fenol y a que se aplica en presencia de calor. Una vez que penetra a la cell bacteriana, se combina con los componentes de la pared celular volviéndola hidrofóbica.
- Al aplicar una mezcla de alcohol ácido (decolorante) ésta no solubiliza los lípidos de la pared de las bacterias ac-alcohol resistentes y por lo tanto no decoloran.
- Bacterias no ac-alcohol resistentes son decoloradas fácilmente, por lo que se vuelven a teñir al aplicar azul de metileno (colorante de contraste).

- Bacterias ac-alcohol resistentes.- color rojo
- Bacterias no ac- alcohol resistentes.- color azul.

Tinción de Schaeffer y Fulton

- Espora bacteriana.- es una estructura altamente deshidratada y rígida que es formada por algunos géneros bacterianos.

Coloración:

- En una preparación teñida con la técnica de Gram las esporas aparecen como cuerpos refringentes sin teñir.
- Para teñirlas es necesario aplicar calor para forzar la entrada del verde de malaquita (colorante 1º) y una vez que éste ha penetrado, lavar la preparación y agregar safrina (colorante de contraste).

- Cell vegetativas se tiñen de rojo
- La espora permanece teñida de verde.

Tinción Negativa de Tinta China

- Cápsulas bacterianas y micóticas no pueden observarse en frotis teñidos con técnicas usuales porque son incapaces de reterner el colorante y pq los procesos de fijación al calor y lavado las disuelven.

Coloración:

- Preparando un montaje húmedo que contenga junto con las bacterias y levaduras algunas partículas de carbón en suspensión (tinta china).
- Las partículas de carbón en rápido mov rebotan con la estructura capsular sin llegar a tocar nunca la cell bacteriana o levaduriforme
- Se puede apreciar un efecto como de halo alrededor del organismo el cual constituye la cápsula.

Tinción Negativa de Maneval Modificado

- Gota de Maneval A (rojo congo)
- Con un asa microbiológica tomar una muestra de cultivo, colocarla sobre la gota y mezclarla con ésta haciendo mov giratorios con el asa
- Extender la suspensión de manera que quede una película delgada
- Dejar secar a temp ambiente
- Cubrir la preparación con Maneval B (fucsina ácida) y dejar actuar durante 1 minuto
- Lavar suavemente con agua y secar el frotis con toalla de papel
- Observar al microscopio . Las cápsulas se observan como halos incoloros, el espacio intercelular de un color oscuro y las cells bacterianas de color rojo.

Bacterias con cápsula: Klebsiella, Pasteurella, Bacillus, Escherichia, Haemophilus.

Levadura con cápsula: Cryptococcus

Tinción Lactofenol Azul de Algodón

- Método utilizado rutinariamente para la realización de preparaciones microscópicas de hongos filamentosos.
- c/u de los constituyentes del colorante lactofenol azul de algodón cumple una función determinada.
- El fenol utilizado sirve como funguicida
- La glicerina permite tener una preparación semipermanente
- El azul de algodón tiñe el exterior de la pared de los hongos
- El ac alcohol láctico actúa como agente aclarante.

Hongos filamentosos:Aspergillus, Microsporum, Mucor, Penicilium, Alternaria

Prueba de KOH al 3% para corroborar Tinción de Gram

- Consiste en colocar sobre una laminilla una gota de KOH al 3% y con el asa hacer en ella una suspensión de colonias de la bacteria problema, mezclando con movimientos giratorios durante 1 a 3 min.
- Si al separar el asa de la mezcla se forma una hebra viscosa, esto indica que se trata de bacterias Gram -.
- Si la hebra no se forma, se trata de bacterias Gram +.

Gram + : Staphylococcus, Streptococcus, Listeria, Bacillus, Clostridium

Gram - : Escherichia, Pseudomonas, Salmonella, Brucella, Bordetella