

•Práctica 6: Tinciones simples y diferenciales

•Objetivo:
Conocer los fundamentos de las tinciones que permiten visualizar estructuras microbianas.



Práctica 6: Introducción



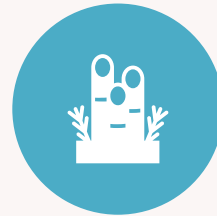
Las tinciones aumentan el contraste en la microscopía.



- Tinción simple: tiñe toda la célula o estructura.



- Tinción diferencial: distingue entre diferentes tipos de bacterias.



Ejemplo: Gram (positivas moradas, negativas rosas).

Práctica 6: Tinciones a realizar

- Tinción de Gram (*E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella*, etc.)



- Ziehl Neelsen (*Mycobacterium*)



- Esporas (*Bacillus subtilis*)



- Cápsula (*Klebsiella pneumoniae*)

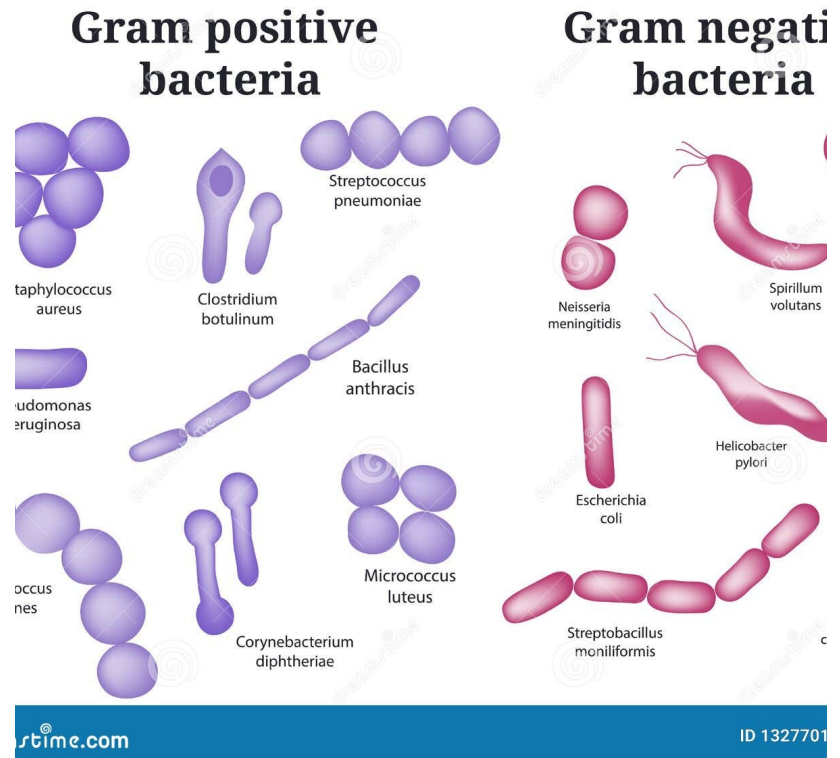
1. Tinción Gram (diferencial)

•Diferencia bacterias **Gram positivas** (morado) y **Gram negativas** (rosa) según la **composición de su pared celular**.

•**Gram positivas:** Pared gruesa de peptidoglicano, retienen cristal violeta-iodo.

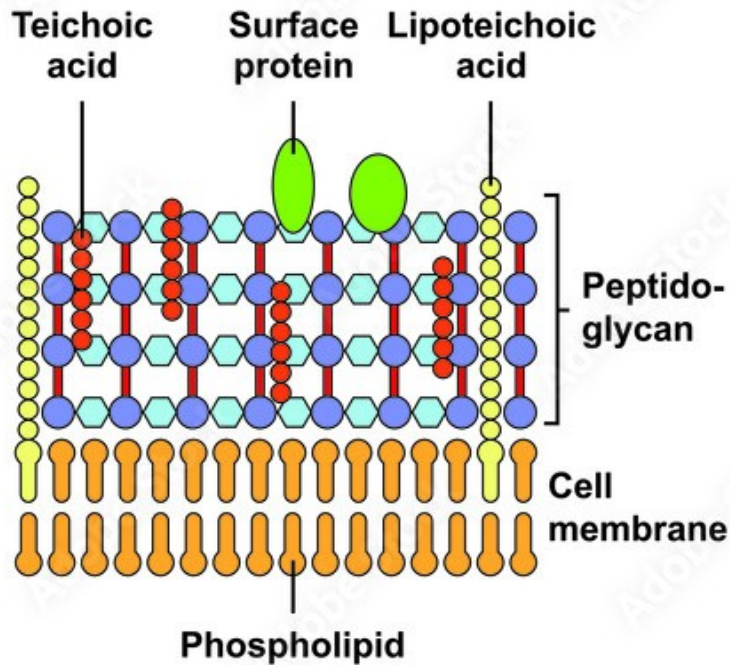
•**Gram negativas:** Pared delgada de peptidoglicano y membrana externa, pierden el cristal violeta y se tiñen con safranina.

•**Principio:** La fijación del complejo cristal violeta-iodo depende del grosor del peptidoglicano.

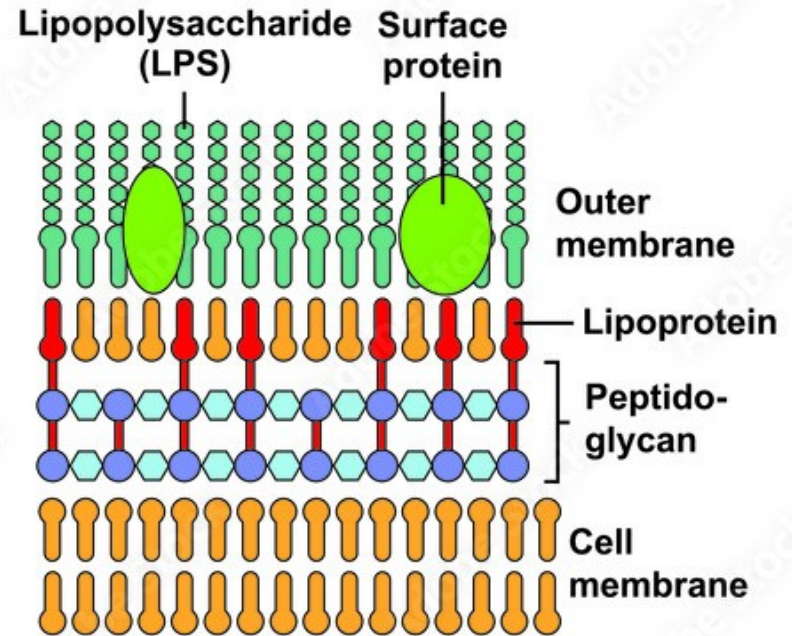


Gram Positive and Gram Negative Bacteria

Gram Positive Bacteria



Gram Negative Bacteria



- **Tinción Ziehl-Neelsen (ácido-alcohol resistente)**

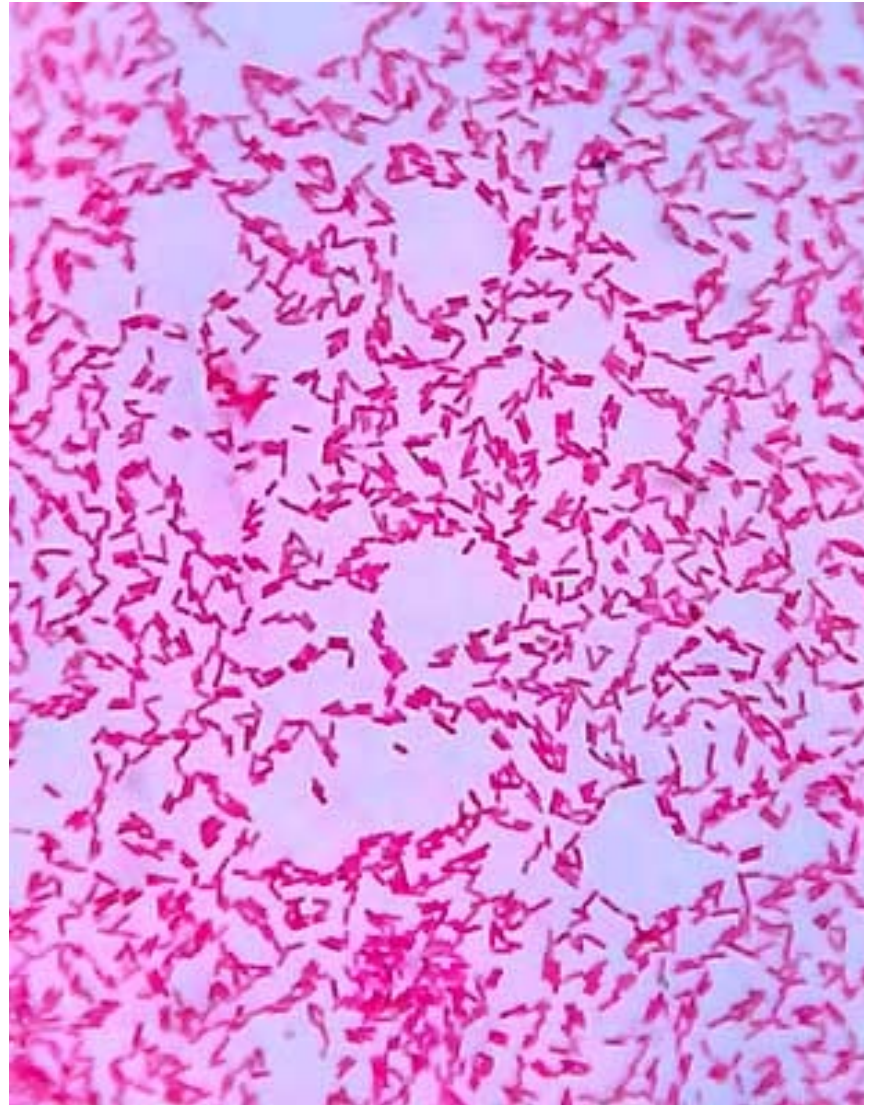
- Identifica bacterias con **pared rica en ácidos micólicos**, como *Mycobacterium*.

- **Ácido-alcohol resistentes:**

Retienen carbofucsina incluso después de decolorar con ácido/alcohol.

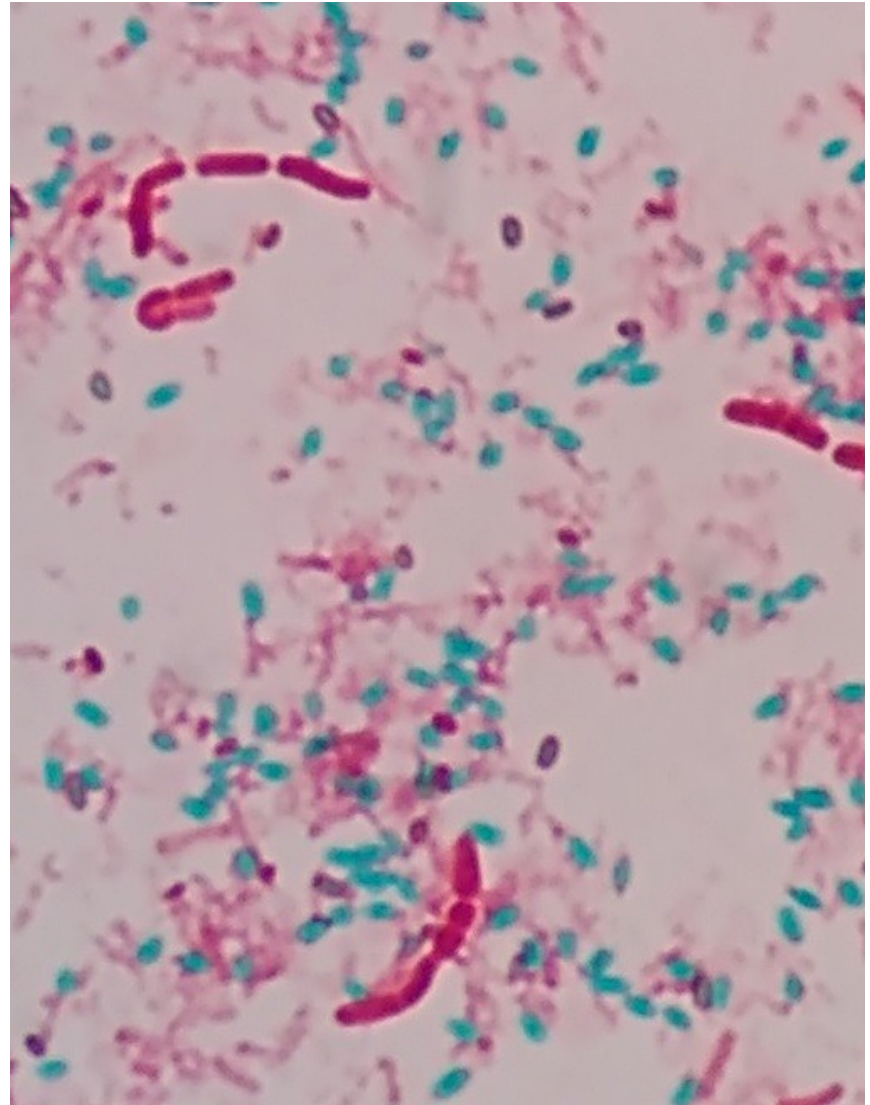
- **No resistentes:** Se decoloran y se tiñen con azul de metileno.

- **Principio:** La lipídica pared celular es impermeable a colorantes hidrosolubles normales, requiere calor para fijar carbofucsina.



•Tinción de esporas (Wirtz-Conklin)

- Detecta **esporas bacterianas**, estructuras de resistencia de *Bacillus* y *Clostridium*.
- Las esporas son **resistentes al calor y a los colorantes** comunes.
- Se usa **malachita verde con calor** para penetrar la spora, y **safranina** para teñir el resto de la célula.
- Principio:** La spora tiene membranas muy impermeables, requiere calor para que el tinte entre.



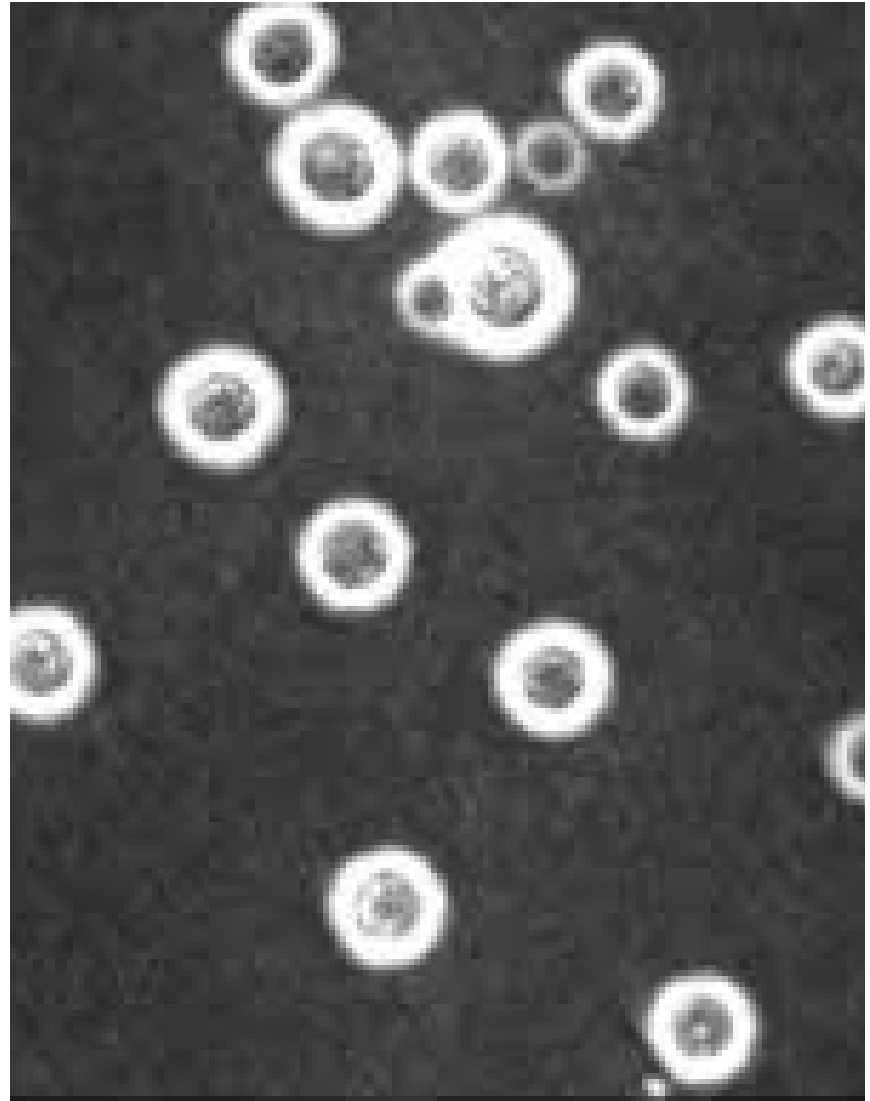
•Tinción de cápsula

- Detecta **cápsulas polisacáridas** que rodean algunas bacterias.

- La cápsula **no se tiñe**; se observa como halo claro alrededor de la célula teñida.

- Tinción negativa:** Tinta china o mezcla crómica tiñen el fondo, la célula se tiñe con otro colorante.

- Principio:** Las cápsulas son repelentes al colorante (neutras o hidrofóbicas), se visualizan por contraste con el fondo y la célula.

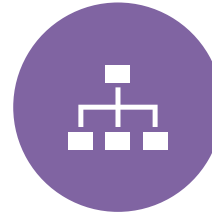




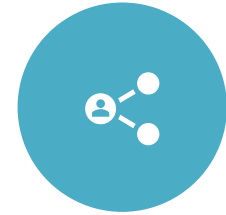
1. FUNDAMENTO DE
LA TINCIÓN GRAM.



2. FUNDAMENTO DE
LA TINCIÓN ZIEHL-
NEELSEN.



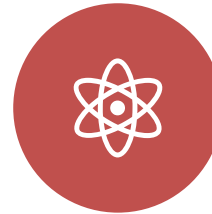
3. CLASIFICACIÓN
MICROSCÓPICA
(FORMA Y
AGRUPACIÓN).



4. FORMACIÓN DE
ENDOSPORAS.



5. TIPOS DE
ENDOSPORAS.



6. COMPOSICIÓN Y
FUNCIÓN DE LA
CÁPSULA.



Imagen disponibl e en TEAMS

Microbiología Práctica: Tinciones y Estructuras Bacterianas

1. Tinción Gram

- Diferencia bacterias según la **pared celular**.
- **Gram positivas**: pared gruesa de peptidoglucano → morado.
- **Gram negativas**: pared delgada + membrana externa → rosado.

Uso práctico: Clasificación rápida y orientación para tratamiento antibiótico.

2. Tinción Ziehl-Neelsen

- Detecta bacterias **ácido-alcohol resistentes** como *Mycobacterium*.
- Carbolfluoresina penetra paredes con lípidos → resiste alcohol-ácido.
- Bacterias no resistentes se tiñen con azul de metileno.

Uso práctico: Diagnóstico de tuberculosis y lepra.

3. Clasificación microscópica

- **Formas**: cocos, bacilos, espirilos, vibrones.
- **Agrupaciones**: cadenas, racimos, diplococos, etc.

Uso práctico: Identificación preliminar de bacterias.

4. Formación de endosporas

- Mecanismo de supervivencia ante condiciones adversas.
- Estructura resistente, metabólicamente inactiva → germina cuando mejora el ambiente.
- **Tipos de endosporas**: terminal, subterminal, central.

Uso práctico: Identificación de géneros como *Bacillus* y *Clostridium*; bacterias con endosporas son más resistentes al calor y desinfectantes.

5. Bacterias con cápsula vs endosporas

- **Cápsula**: capa externa de polisacáridos → protege de fagocitos y desecación.
- **Endospora**: estructura interna resistente → permite supervivencia prolongada en ambientes extremos.

Diferencia clave: cápsula protege mientras la bacteria está activa; endospora protege cuando la bacteria entra en estado latente.

Practica 7

Esporulación y germinación (Penicillium y
Aspergillus)

¿Qué Vamos a Ver Hoy?

(Introducción)

- **El mundo microscópico de los hongos.**
- **Es decir...** Los hongos filamentosos (mohos) son los principales recicladores de la naturaleza.
- **¿Cómo se reproducen?** Principalmente de forma asexual, a través de **esporas**.
- **¿Qué es una espora?** Es una célula reproductiva muy resistente. Cuando encuentra condiciones ideales (humedad, nutrientes), **germina** y da lugar a un nuevo hongo.

Objetivo de la Práctica



¿Qué buscamos lograr?



Identificar y diferenciar las estructuras clave de la esporulación y germinación en dos géneros de hongos muy comunes: ***Penicillium*** y ***Aspergillus***.



En pocas palabras: Vamos a observar cómo se ven sus "fábricas de esporas" bajo el microscopio.

Nuestros Modelos Biológicos

- ***Penicillium***

Famoso por: Producir el antibiótico penicilina.

Estructura clave: Su aparato reproductor parece un **pincel**.

- ***Aspergillus***

Importancia: Se usa en la industria (ej. ácido cítrico) pero algunas especies pueden ser patógenas.

Estructura clave: Su aparato reproductor tiene forma de **cabeza esférica** o "diente de león".

Pasos Clave de la Práctica (Metodología)



Usando la Técnica de Microcultivo.



Preparar la "Casa" del Hongo: Se corta un pequeño cuadro de agar y se coloca en un portaobjetos dentro de una caja Petri. Esto crea una cámara húmeda.



Inocular (Sembrar): Con una aguja, se toma una muestra del moho y se "pica" en los cuatro lados del cuadro de agar.



Incubar y Esperar: Se tapa y se deja en un lugar cálido (28°C) por 48 horas para que el hongo crezca. ¡Hay que espiarlo cada 12 horas!



Fijar y Teñir: Se detiene el crecimiento con formaldehído y se usa **azul de algodón** para colorear las estructuras del hongo.



Observar: Se montan las muestras y se llevan al microscopio.

Bibliografía

- Madigan M., Martinko J. & Parker J. (2008).
- Brock, Biología de los microorganismos.
- 10a ed. Pearson Educación.

