

A petri dish containing bacterial cultures on agar, held by a gloved hand. The cultures show various growth patterns, including colonies and streaks. The background is blurred, showing laboratory equipment.

Microbiología

Práctica 5: Cultivo en medios definidos y complejos

Práctica 6: Tinciones simples y diferenciales

Práctica 5: Cultivo en medios definidos y complejos

Objetivo: Conocer los fundamentos del crecimiento e identificación de microorganismos mediante cultivos selectivos.



Práctica 5: Introducción

Un medio de cultivo proporciona los nutrientes necesarios para el crecimiento microbiano.

Generales: crecimiento de la mayoría de los microorganismos.

Selectivos: permiten el crecimiento de un grupo e inhiben a otros.

Diferenciales: distinguen géneros o especies.

Práctica 5: Observaciones reales



- Se sembraron cepas de *E. coli* y *Klebsiella* en agar EMB: se esperaba verde brillante, pero algunas colonias mostraron variaciones.



- En agar Sal Manitol, principalmente creció *Staphylococcus aureus*.



- En agar verde brillante, el medio se observó amarillento, aunque se esperaba otro resultado.



- Se usaron cepas variadas para observar diferencias de crecimiento.

Práctica 5: Medios utilizados

- • Agar nutritivo
- • Sabouraud-dextrosa-agar
- • Agar Sal Manitol
- • Agar Verde Brillante
- • Agar MacConkey
- Además de diferentes tubos con combinaciones de nutrientes (agar, glucosa, peptona, extracto de levadura, etc.).



Resultados esperados de el crecimiento bacteriano según cepa y medio

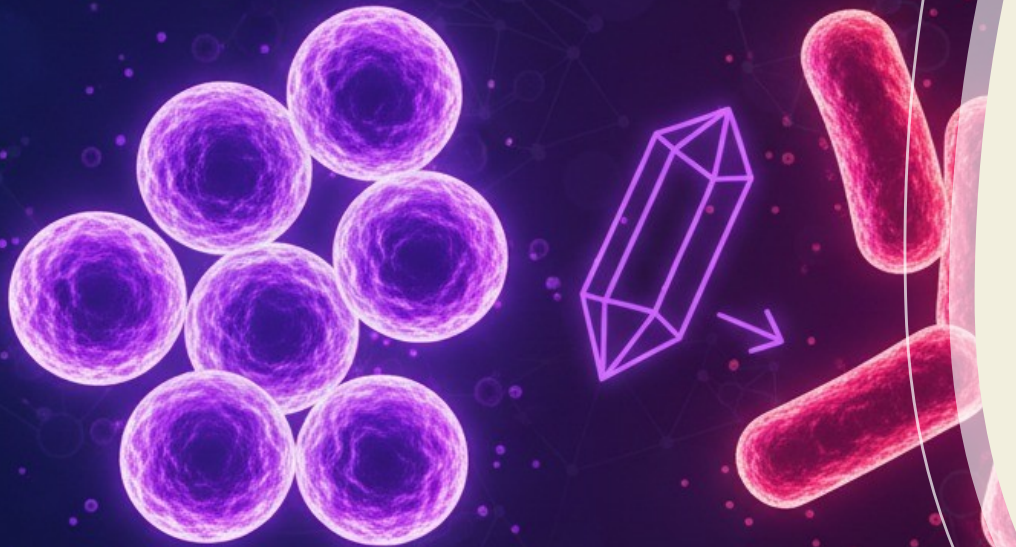
Tabla de Medios y Resultados Esperados:

Medio (Componentes Clave)	Tipo de Medio	Propósito	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Penicillium</i>
a) Agar	No nutritivo	Control negativo, solo soporte físico.	Nulo	Nulo	Nulo
b) Agar + Sales	Definido (mínimo)	Fuente de iones esenciales.	Muy escaso/Nulo	Nulo	Muy escaso/Nulo
c) ... + Glucosa + NH4Cl	Definido (mínimo)	Añade fuente de C y N inorgánico.	Bueno	Escaso/Nulo	Regular
d) ... + Glucosa + Peptona	Complejo	Fuente de C y N orgánico (aminoácidos).	Excelente	Bueno	Bueno
e) ... + Glucosa + Ext. Levadura	Complejo	Añade vitaminas y cofactores.	Excelente	Excelente	Excelente
f) Agar Nutritivo	Complejo (General)	Estándar para bacterias heterótrofas.	Excelente	Excelente	N/A (no es ideal)
g) Sabouraud	Selectivo para hongos	pH ácido y alta [azúcar] inhiben bacterias.	Inhibido/Escaso	Inhibido	Excelente

Medio	Principio Activo	Selectivo para...	Diferencial por...	Resultado con <i>S. aureus</i>	Resultado con <i>E. coli</i>
Agar Sal Manitol (ASM)	Alta [NaCl] (7.5%)	Halotolerantes (<i>Staphylococcus</i>)	Fermentación de Manitol (Rojo de Fenol)	Crece y fermenta manitol. (Medio Amarillo)	No crece (inhibido por la sal)
Agar Verde Brillante (AVB)	Verde Brillante y Rojo Fenol	Gram negativas (inhibe Gram +)	Fermentación de Lactosa/Sacarosa	No crece (inhibido por el colorante)	Crece y fermenta azúcares. (Colonias amarillas/verdes)
Agar MacConkey (MCK)	Sales biliares y Cristal Violeta	Gram negativas (Enterobacterias)	Fermentación de Lactosa (Rojo Neutro)	No crece (inhibido)	Crece y fermenta lactosa. (Colonias Rosadas/Rojas)

TINCIÓN DE GRAM

Clasificación Bacteriana Esencial



Práctica 6: Tinciones simples y diferenciales

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



LAB MICRO

PRESENTACIÓN PROFESIONAL
DD/MM/AAAA

Práctica 6: Introducción



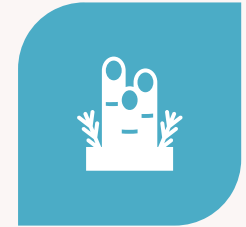
LAS TINCIONES
AUMENTAN EL
CONTRASTE EN LA
MICROSCOPIA.



- TINCIÓN SIMPLE: TIÑE
TODA LA CÉLULA O
ESTRUCTURA.

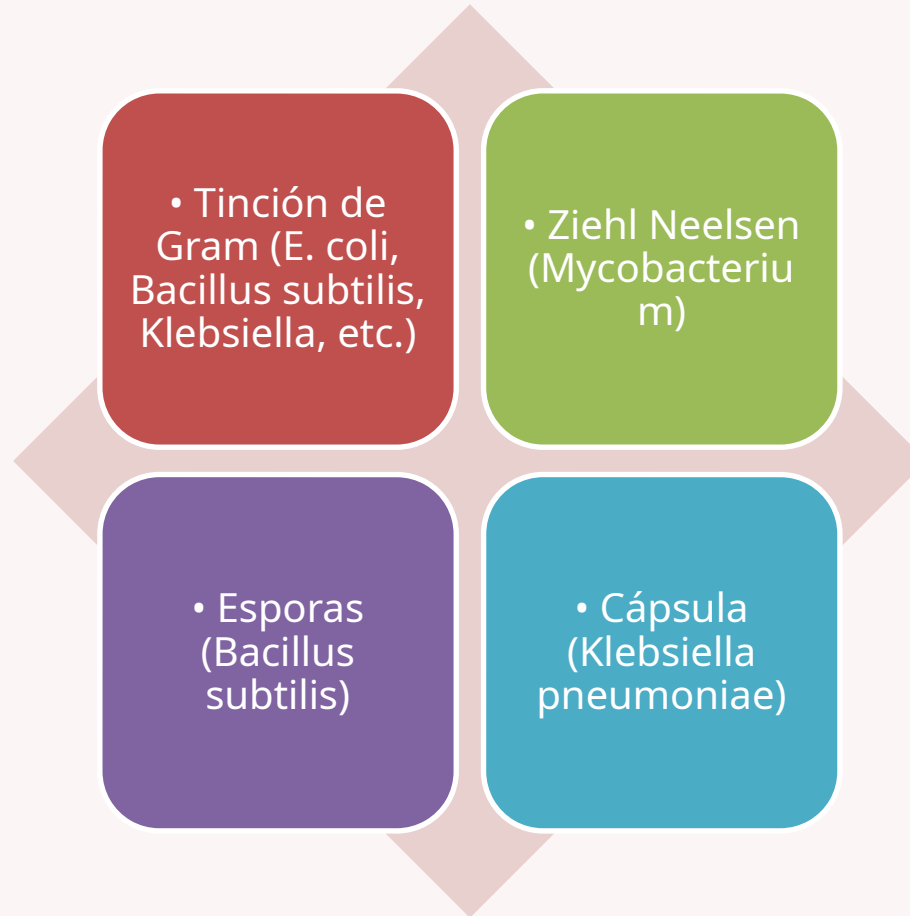


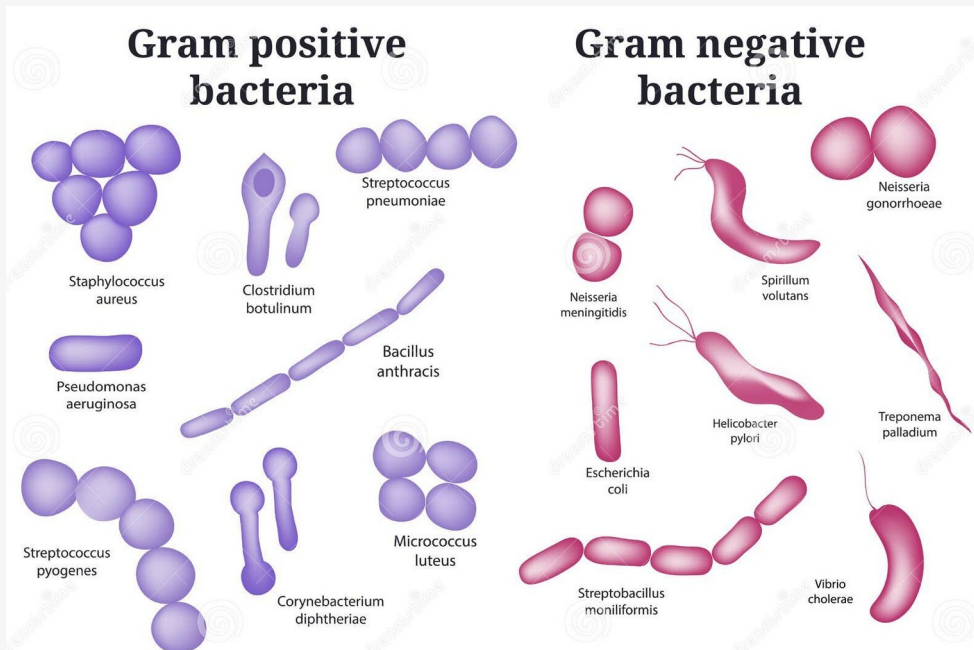
- TINCIÓN
DIFERENCIAL:
DISTINGUE ENTRE
DIFERENTES TIPOS DE
BACTERIAS.



EJEMPLO: GRAM
(POSITIVAS MORADAS,
NEGATIVAS ROSAS).

Práctica 6: Tinciones a realizar





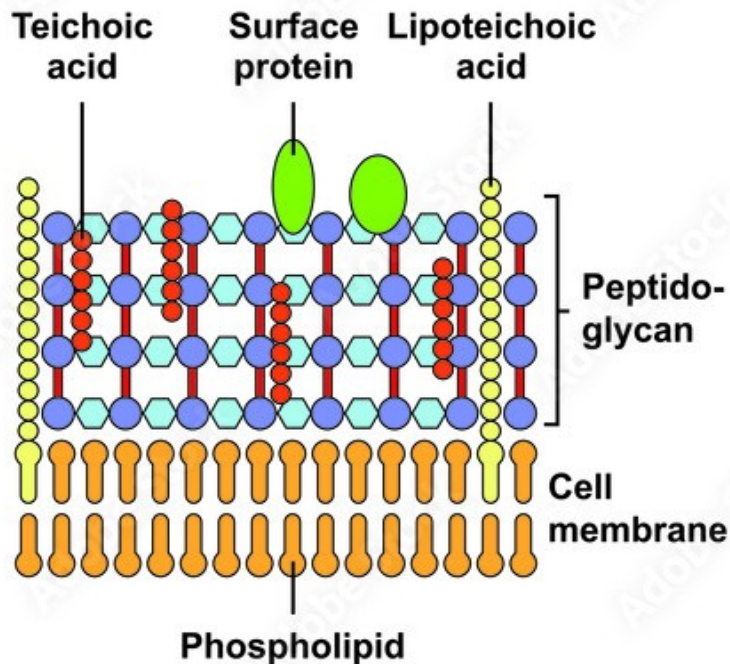
• ♦ Tinción de Gram

• **Gram positivas (morado):** La pared celular tiene una **capa gruesa de peptidoglicano** que retiene el cristal violeta-iodo incluso tras la decoloración.

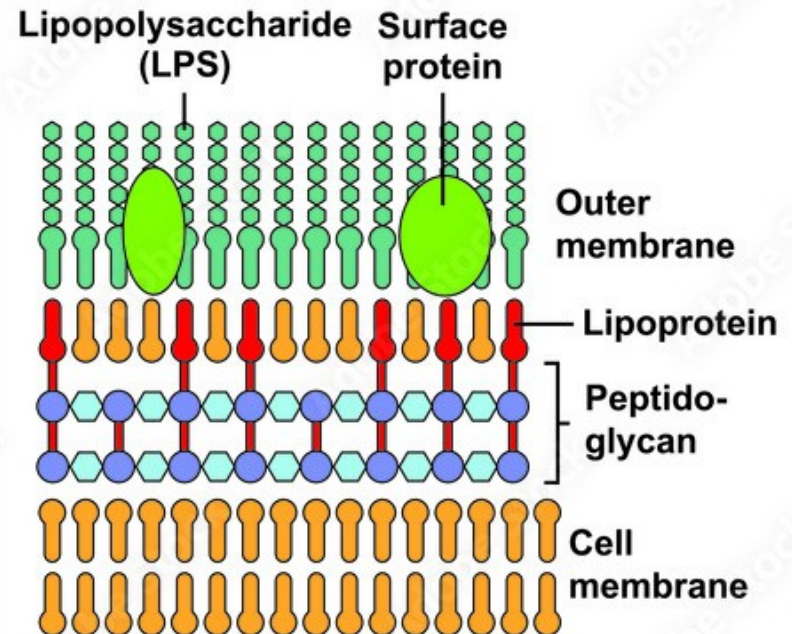
• **Gram negativas (rosa):** Su pared tiene **poco peptidoglicano** y una **membrana externa lipídica**; el cristal violeta se pierde en la decoloración y se tiñen con safranina.

Gram Positive and Gram Negative Bacteria

Gram Positive Bacteria



Gram Negative Bacteria



Tutorial para realizar las distintas tinciones

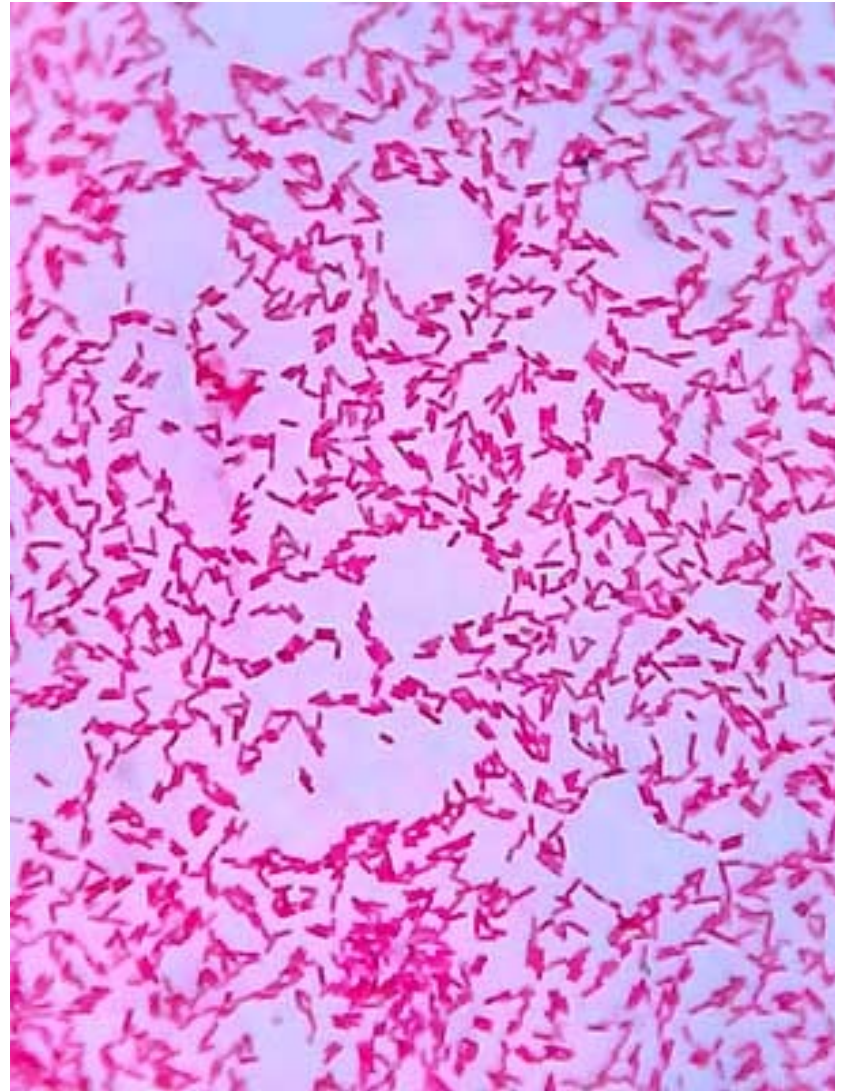


- Ejemplo de tinción gram
 - <https://www.youtube.com/watch?v=s9fNFYUOKzg>
- Tinción de Ziehl Neelsen
 - https://www.youtube.com/watch?v=rx_4xm38u3E
- Tinción de esporas (Wirtz-Conklin)
 - <https://www.youtube.com/watch?v=L0dpCk9ijc>
- Tinción tinta china
 - <https://www.youtube.com/watch?v=ljJT6lLX0sE>

- **Tinción Ziehl Neelsen**

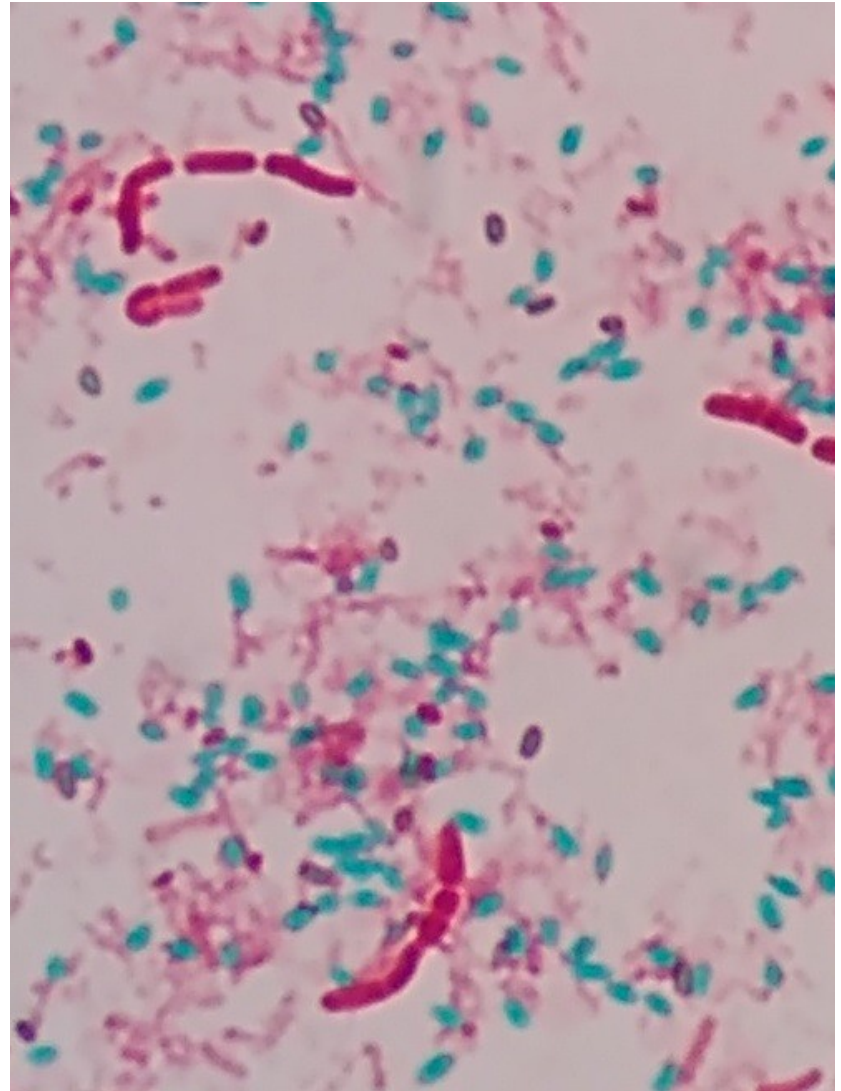
- Las **micobacterias** poseen **ácidos micólicos** en su pared, que retienen la **carbofucsina** aun después del lavado con ácido-alcohol → se observan **rojas**.

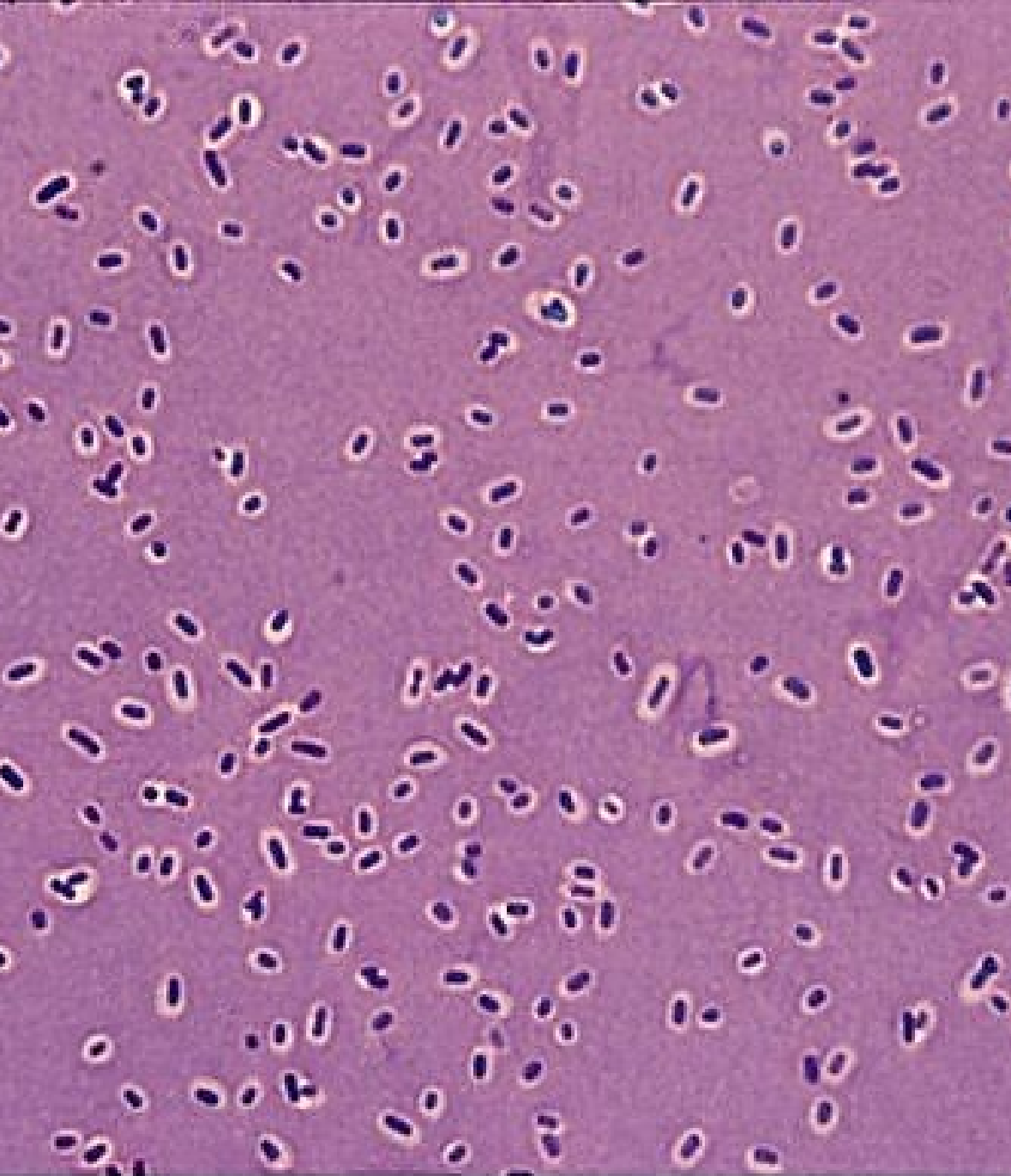
- Bacterias no ácido-alcohol resistentes se decoloran y quedan teñidas de azul con el **azul de metileno**.



Tinción de esporas (Wirtz-Conklin)

- Las esporas tienen una **capa de queratina muy resistente** que fija el verde de malaquita con calor.
- El resto de la célula se decolora y se tiñe con safranina → células rojas con **esporas verdes**.





•Tinción de cápsula

- La cápsula es una **capa de polisacáridos** que no se tiñe con colorantes convencionales.
- El fondo se tiñe con tinta china y la célula con un colorante (ej. safranina) → aparece un **halo claro** alrededor de la célula.

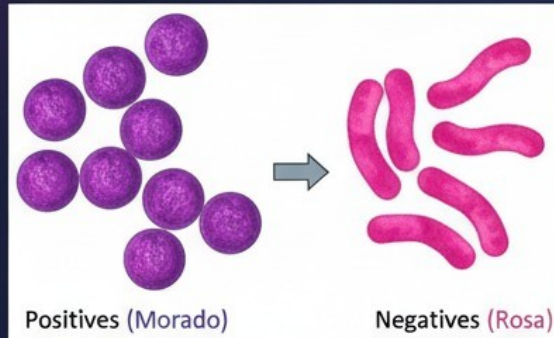
Práctica 6: Observaciones esperadas

- **Gram:** diferenciación en positivas (morado) y negativas (rosa).
- **Ziehl Neelsen:** bacilos ácido-alcohol resistentes en rojo.
- **Esporas:** estructuras verdes dentro de células teñidas de rojo.
- **Cápsula:** halo claro alrededor de la célula teñida.

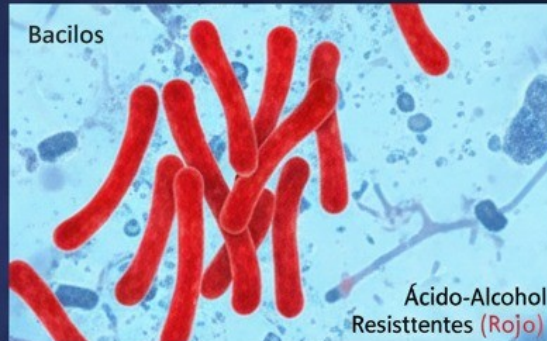
TINCIÓN MICROBIOGLICA DIFFERNIAL

Guía Visual para la Identificación Bacteriana

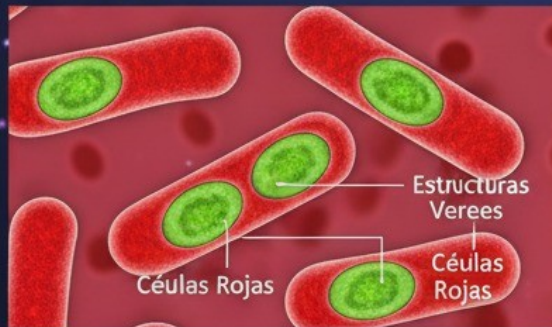
GRAM



ZIEHL-NEESEN



ESPORAS



CÁPSULA

