

## 2.8: Laboratorio 1. Microscopia y Coloraciones

### Objetivos

- Aprender el manejo y cuidado del microscopio óptico de campo claro.
- Aprender las técnicas de preparación de frescos, de fijación y coloraciones más utilizadas en el estudio microscópico de cultivos bacterianos, obtenidos de medios sólidos y líquidos.
- Identificar las principales formas bacterianas y la importancia de las tinciones simples y diferenciales en la caracterización morfológica de dichos microorganismos.
- Observar y caracterizar someramente, mediante observación macroscópica y microscópica, la diversidad microbiana de un ambiente elegido por el estudiante.

### Desarrollo práctico

#### Primer día:

- a) Observación microscópica de preparados en fresco y coloreados que se brindarán al estudiante para que determine: forma, agrupación y comportamiento tintorial de los microorganismos, comparándolos con los efectuados por él mismo.
- b) Observación de la diversidad microbiana: Llevar una placa de Petri cerrada conteniendo agar nutritivo, con cuidado de que no se abra durante el transporte, al ambiente cuya carga microbiológica se desee evaluar. Retirar la tapa y dejar la placa abierta, durante aproximadamente 30 minutos. Pasado este tiempo, cerrar la placa e incubarla a temperatura de 25-30° C, durante 2 a 5 días.

#### Segundo día:

##### Confección de preparados para observación en fresco

- a) Observación de la presencia de microorganismos en preparados en fresco, de diferentes materiales de origen natural o de cultivos provenientes de dichos materiales.

*A partir de materiales líquidos: agua estancada, vinagre, suspensión de levaduras, leche.*

Tomar directamente, o previa centrifugación, con el ansa en anillo, una gota del material y depositarla sobre un portaobjetos desengrasado y limpio. Cubrir con un cubreobjetos y observar al microscopio (40x).

*A partir de material semisólido: pus, esputo, yogurt, etc.*

Colocar 1 o 2 gotas de diluyente (agua, solución fisiológica, etc.) sobre un portaobjetos. Tomar con el ansa en anillo el material en estudio y disgregar en la gota sobre el portaobjetos. Colocar un cubreobjetos y observar al microscopio (40x).

*A partir de un material sólido: alimentos, materia fecal, tierra u otros.*

Colocar en un tubo de ensayo 2 a 4 gotas de solución diluyente. Agregar el material y agitar hasta obtener una suspensión homogénea. Tomar el material contenido en el tubo con el ansa (previamente esterilizada a la llama y enfriada al aire cerca del mechero), y apoyarla sobre el portaobjetos, repetir las veces que sea necesario para obtener un volumen adecuado. Dejar caer sobre la gota un cubreobjetos y observar al microscopio óptico (40x).

##### Confección de frotis para coloraciones

Se realizarán diferentes coloraciones, tales como, Azul de Metileno, Gram, Ziehl-Neelsen y Schaeffer y Fulton (Verde de Malaquita) de extendidos realizados con materiales disponibles y su posterior observación al microscopio óptico.

Sobre un portaobjetos limpio y desengrasado extender con el ansa el material en suspensión adecuadamente. Dejar secar el extendido (puede acelerarse con calor suave). Fijar el extendido pasándolo aproximadamente tres veces por la llama del mechero, dejar enfriar y colorear según se indique.

##### Observación de la diversidad microbiana

Se observará diversos tipos de colonias en las placas expuestas el primer día de práctico. Se anotarán las características más importantes de las colonias (Figura 2.8.1) y se realizará un estudio microscópico de cada una de ellas, haciendo preparados en fresco, frotis y diferentes coloraciones con la finalidad de observar comportamiento tintorial, forma, tamaño, agrupaciones de las células, presencia y ubicación de las endosporas. En el caso de observar colonias filamentosas se realizarán montajes en fresco y se evaluará presencia de micelio cenocítico y/o tabicado y estructuras de reproducción.

| Forma       | Borde       | Elevación    | Superficie             |
|-------------|-------------|--------------|------------------------|
| Puntiforme  | Entero      | Plana        | Lisa o rugosa          |
| Circular    | Ondulado    | Elevada      | Mate o brillante       |
| Rizoide     | Lobulado    | Convexa      | Seca o cremosa         |
| Irregular   |             | Crateriforme | Invasiva o superficial |
| Filamentosa | Filamentoso | Acuminada    |                        |

Figura 2.8.1: Aspectos más comunes de las diversas colonias microbianas aisladas sobre medio sólido tras la exposición de las placas a un ambiente particular. (CC-BY; This work)

## Resultados

Informar: forma, agrupación, tamaño relativo y comportamiento tintorial de cada uno de los microorganismos y/o colonias observadas.

## Tratamiento de los materiales usados

- Una vez finalizado el trabajo de laboratorio, limpie adecuadamente las mesadas de trabajo con alcohol al 70% o hipoclorito de sodio al 1%.
- Descarte los cubreobjetos y portaobjetos en un frasco con solución de hipoclorito de sodio al 5% destinado para tal fin
- Descarte todo material contaminado en las bolsas para residuos patógenos.
- Lávese las manos con jabón.

This page titled [2.8: Laboratorio 1. Microscopia y Coloraciones](#) is shared under a [not declared](#) license and was authored, remixed, and/or curated by [María M. Reynoso, Carina E. Magnoli, Germán G. Barros y Mirta S. Demo](#).