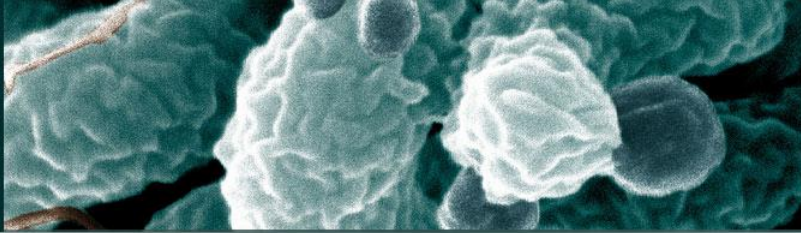


bacteria

La célula bacteriana

VETR 125

Profa. Brenda J. Hernández, Ma. Ed.

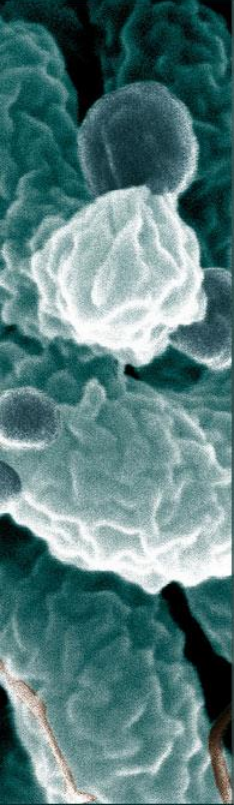


OBJETIVOS

- Estudiar y reconocer los métodos de estudio para las bacterias.
- Identificar los diferentes medios de cultivos de las bacterias.
- Reconocer la morfología de las bacterias, sus formas, sus estructuras.
- Reconocer las formas de nutrición, crecimiento y aislamiento de las bacterias.
- Identificar los diferentes tipos de bacterias.

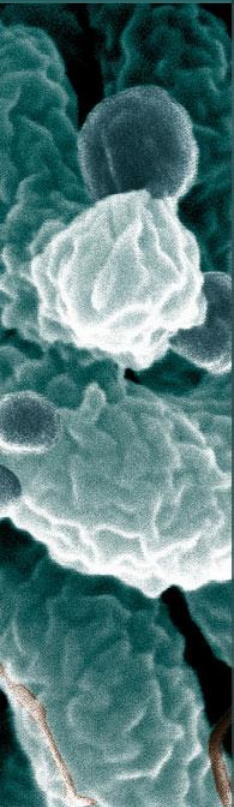
Métodos de estudio

- Hoy en día se disponen de muchas técnicas para detectar y cuantificar muchos marcadores específicos de enfermedades infecciosas.
- Existen varios métodos de estudios para identificar las diversas enfermedades infecciosas.



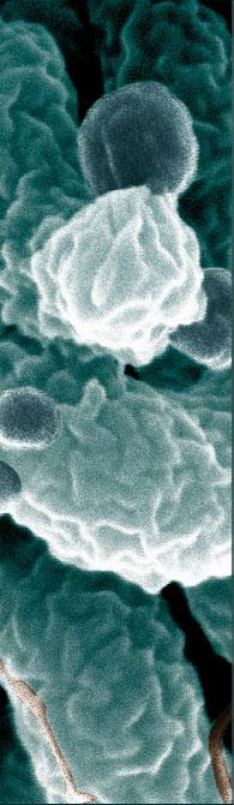
Métodos de estudio

- ***Métodos directos*** – son aquellos que detectan al microorganismo por microscopio, por cultivo, a los antígenos del microorganismo y los ácidos nucleicos.
- ***Métodos indirectos*** – son aquellos que reconocen la respuesta inmune (humoral o celular) que desarrolla el huésped.



Métodos de estudio

- ***Microscopio*** – es una de las herramientas más útiles en el diagnóstico bacteriológico.
- Existen distintos microscopios ópticos o de luz. El más usado en el laboratorio de bacteriología es el microscopio de campo claro.
- En los laboratorios tenemos el microscopio óptico compuesto.



Métodos de estudio

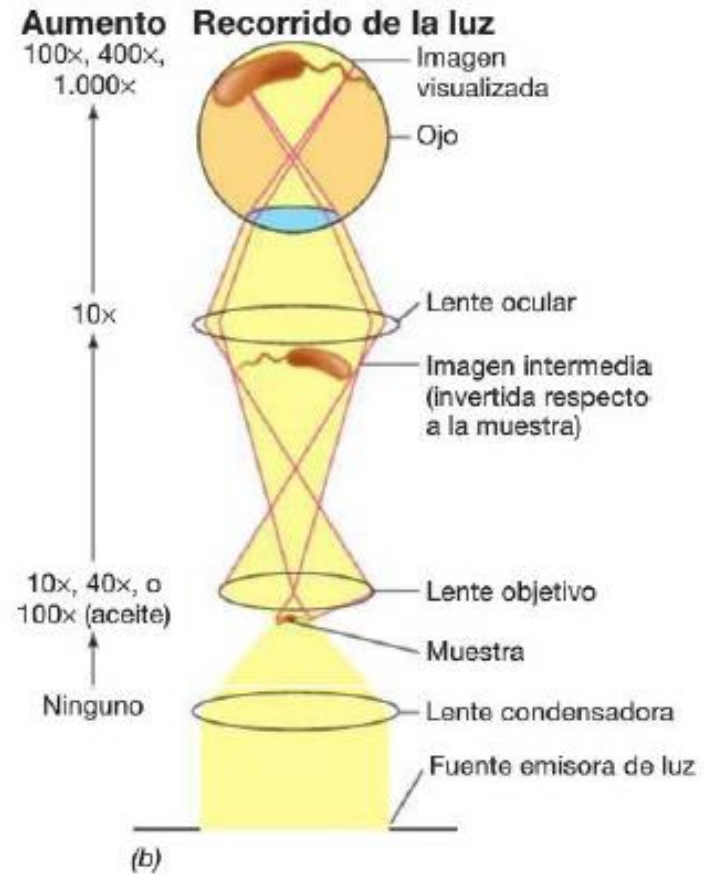
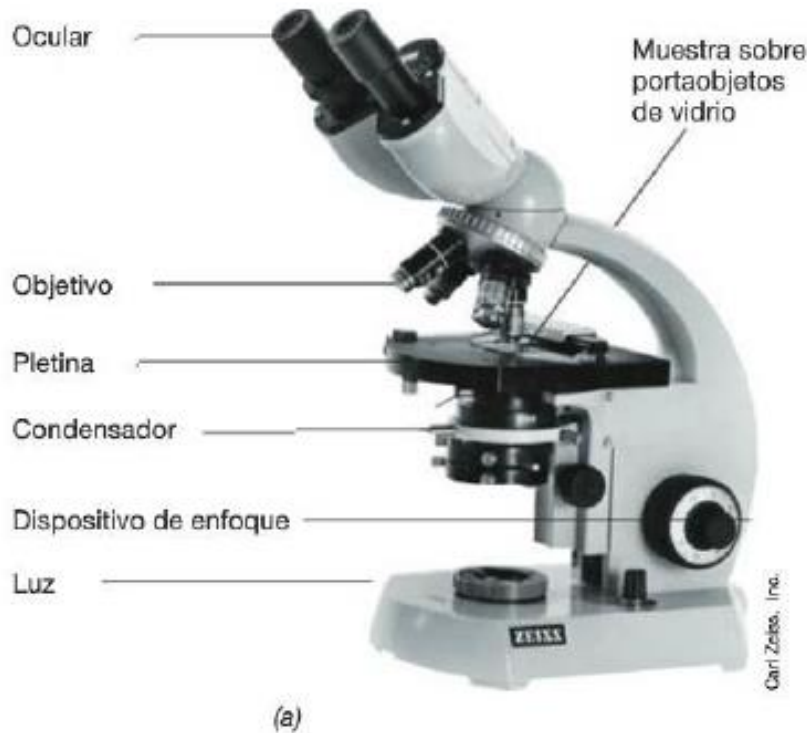
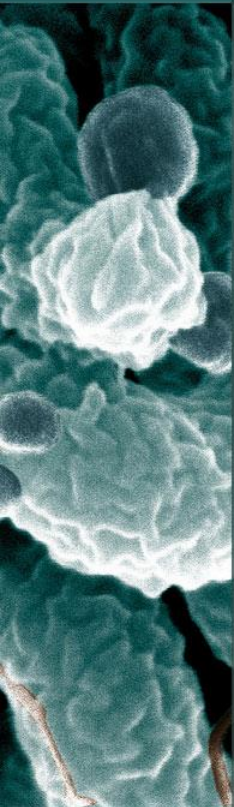


Figura 2.1 Microscopía. (a) Un microscopio óptico compuesto. (b) Trayectoria de la luz a través del microscopio compuesto. Además del ocular de 10x, existen oculares que proporcionan aumentos de 15-30x.

Métodos de estudio

- El microscopio óptico es un método más sencillo y rápido.
- Nos informa la cantidad y la morfología bacteriana, además de la presencia de determinados tipos de células presentes en el preparado que validan o no la muestra para análisis microbiológico.



Métodos de estudio

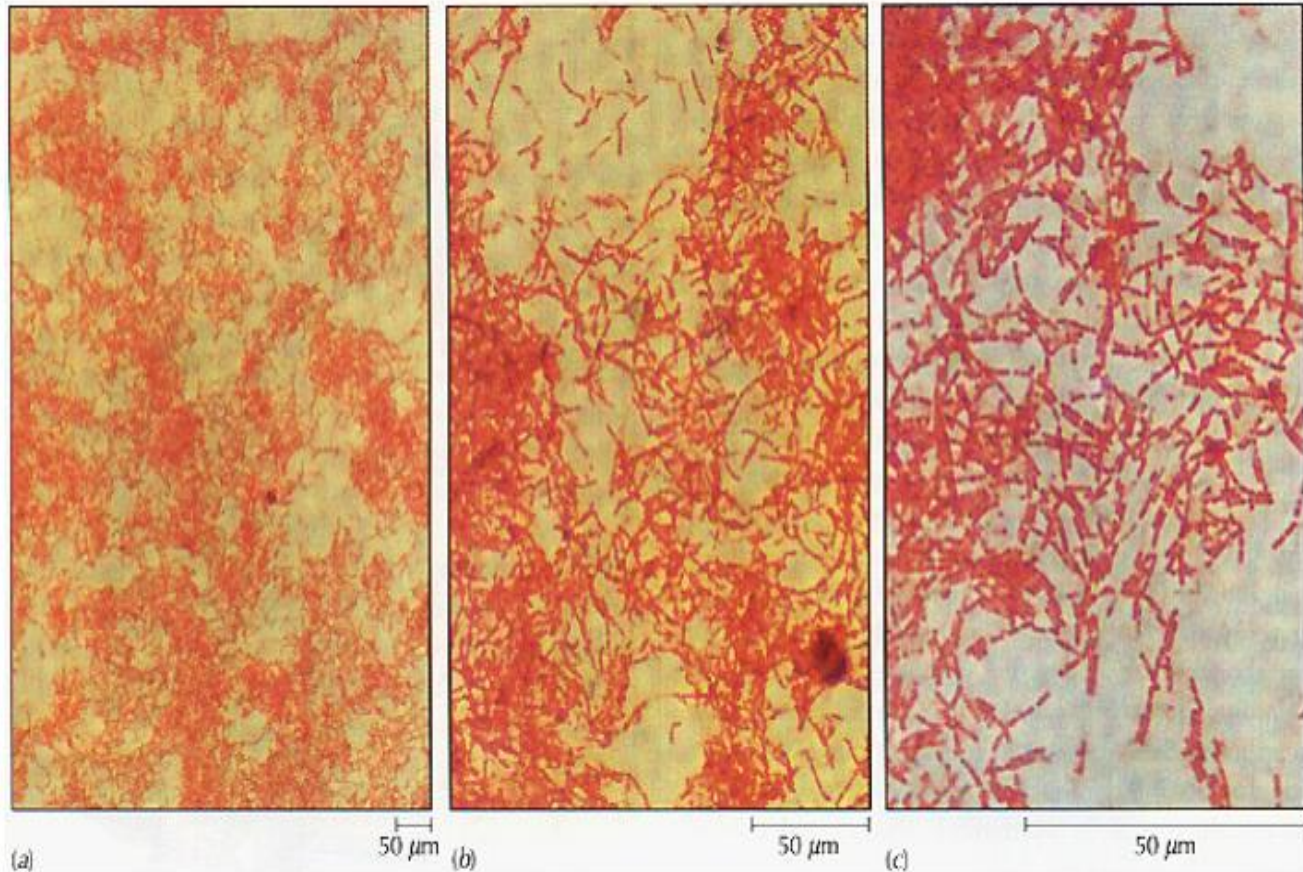
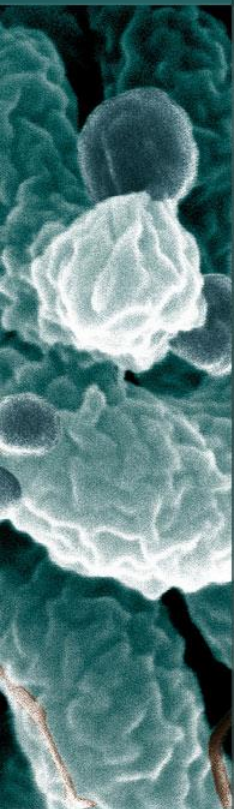
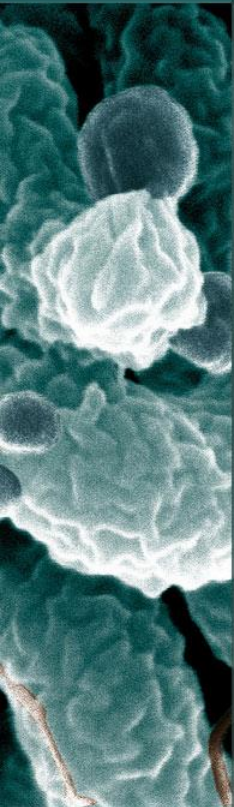


Fig. 3.7 El microscopio compuesto tiene tres lentes objetivos. En la imagen se muestra la bacteria *Bacillus subtilis* visto (probiótico utilizado para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales e infecciones en el tracto urinario) con objetivo débil (100x), fuerte seco (400x) y el de inmersión (1000x)



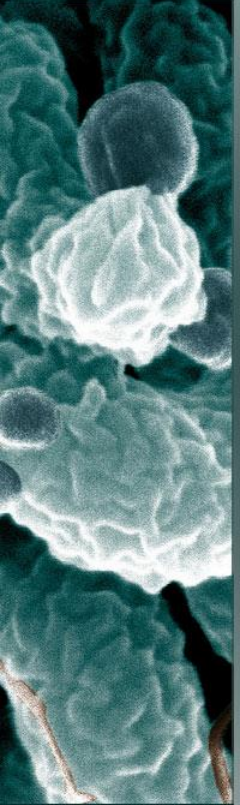
Métodos de estudio

- Casi todos los microorganismos requieren, antes de ser examinados en un microscopio óptico, una preparación especial esto debido a que poseen poco contraste natural.



Métodos de estudio

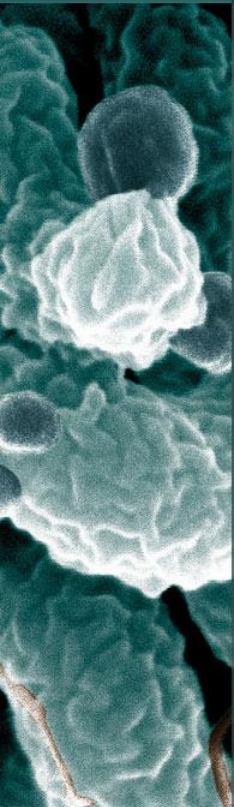
- La forma más simple de preparar un espécimen es hacer una ***preparación en fresco***.
- Las preparaciones en fresco se utilizan para observar microorganismos vivos.
- Ejemplo: ***Trichomonas vaginalis***, en secreciones vaginales.
- Este protozoo de gran movilidad causa inflamación de la vagina y la uretra.



Métodos de estudio

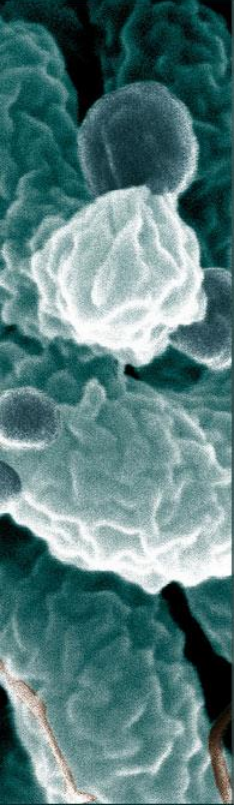


Trichomonas vaginalis



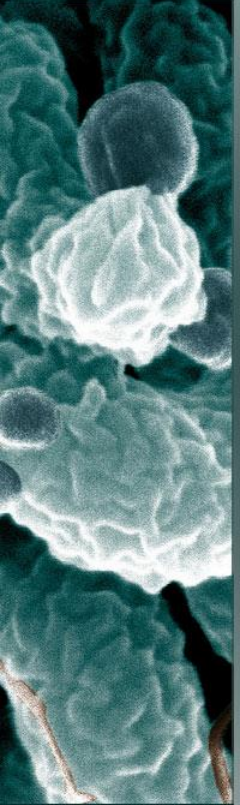
Métodos de estudio

- La preparación o tinción (tratamiento con colorante) de un espécimen son fundamentales si se desea obtener buenas imágenes.
- **Tinción** es colorear los microorganismos con un colorante que destaque ciertas estructuras.
- La tinción es un método sencillo de aumentar el contraste.



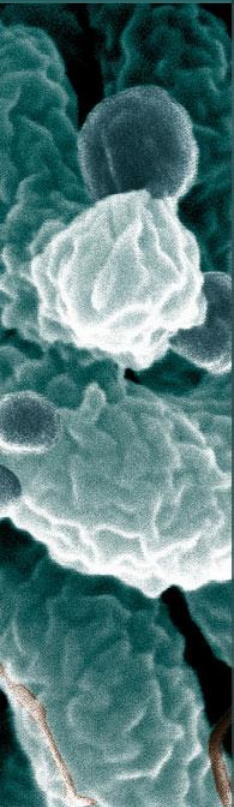
Métodos de estudio

- Antes de teñir microorganismos se les debe ***fijar*** (adherir) al portaobjeto o laminilla.
- El ***proceso de fijación*** produce la muerte simultánea de los microorganismos y su adherencia al portaobjeto.
- También preserva diversas partes de los microbios en su estado natural con una distorsión mínima.



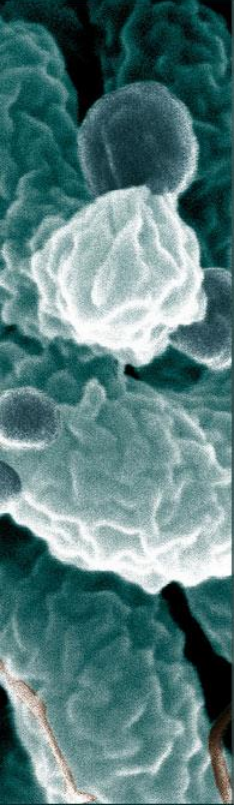
Métodos de estudio

- ***Tinciones***
- Se pueden usar colorantes para teñir las células y facilitar su observación.
- Los ***colorantes*** son compuestos orgánicos y cada tipo de colorante tiene afinidad por determinados componentes celulares.



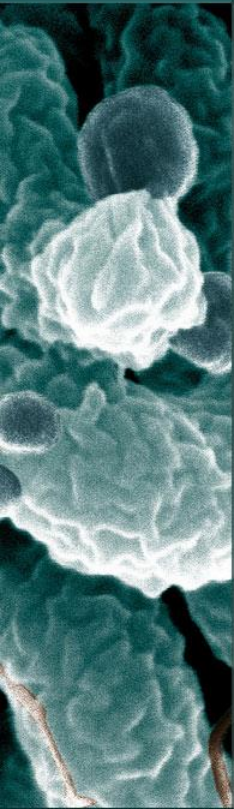
Métodos de estudio

- ***Tipos de colorantes***
- Casi todos son sales, compuestos formados por iones cargados.
- Los ***colorantes básicos*** son aquellos en los cuales el agente que tiñe es el ion cargado positivamente, mientras que los ácidos, el colorante es el ion cargado negativamente.



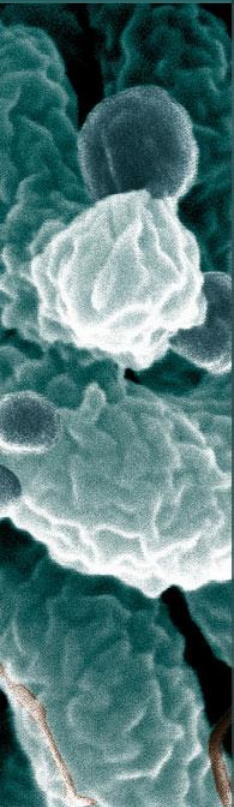
Métodos de estudio

- ***Tipos de colorantes***
- Los colorantes más usados son el de tipo básico.
- Entre los *colorantes básicos* más comunes se encuentran ***la safranina, la fucsina básica, el cristal violeta y azul de metileno.***



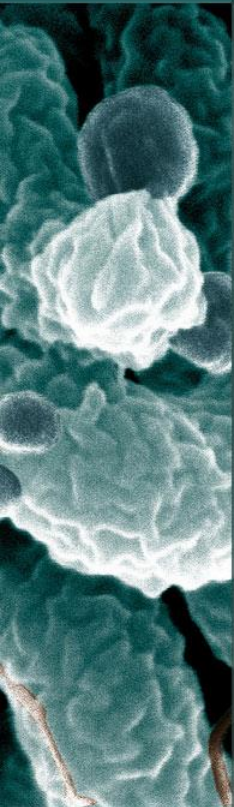
Métodos de estudio

- ***Tipos de colorantes***
- Los ***colorantes ácidos*** se unen las partes de la células cargadas positivamente.
- Se utilizan para teñir tejidos animales, infectados con microorganismos.
- Entre los más frecuentes se encuentra la ***eosina, la fucsina ácida y el rojo Congo.***



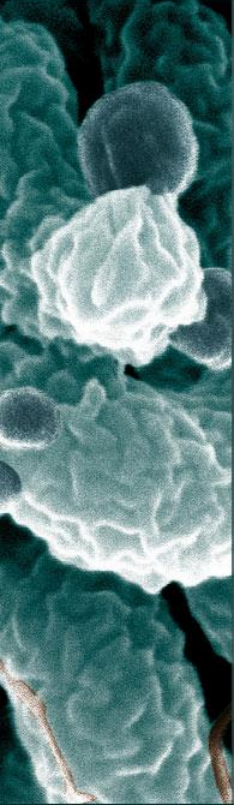
Métodos de estudio

- ***Tipos de colorantes***
- La mayoría de los colorantes son solamente efectivos después que el microorganismo haya sido fijado, es decir, se encuentren muertos y adheridos al portaobjeto.



Métodos de estudio

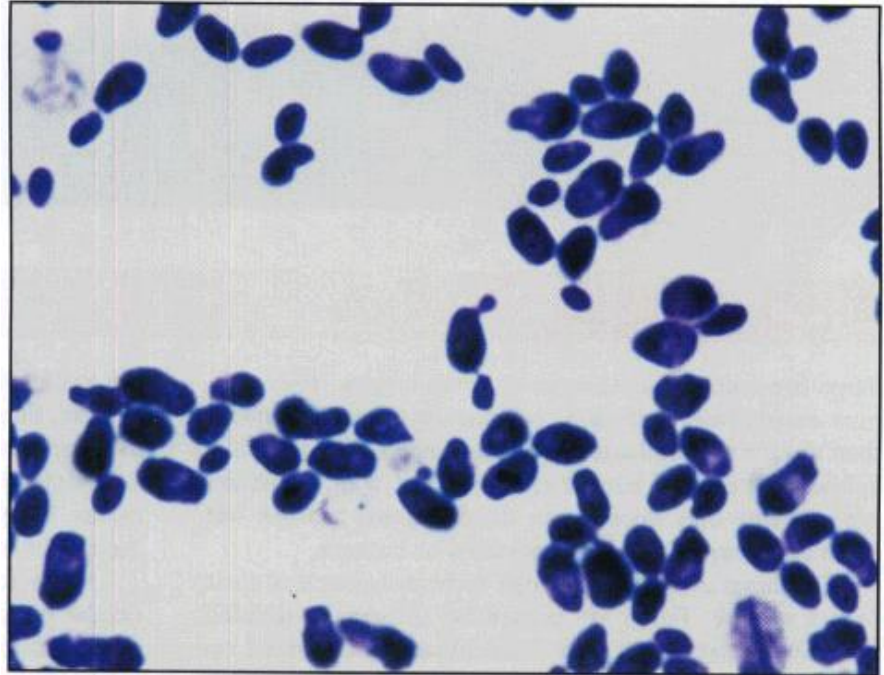
Video Tinciones



https://www.youtube.com/watch?v=5sgrp_5eqNU&t=16s

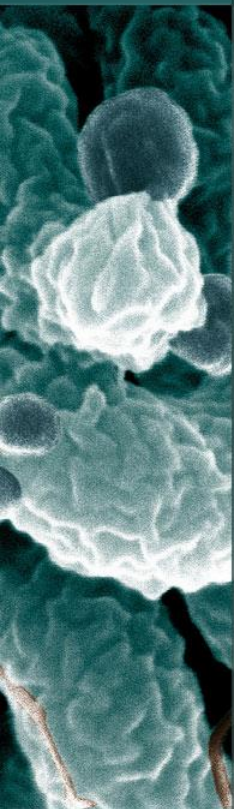
Tinciones

- ***Tinción simple***
- Se realizan sobre preparaciones previamente secadas.
- Usa un solo colorante.
- El propósito principal de una tinción simple es destacar el microorganismo completo para que se vean las formas y las estructuras celulares básicas.



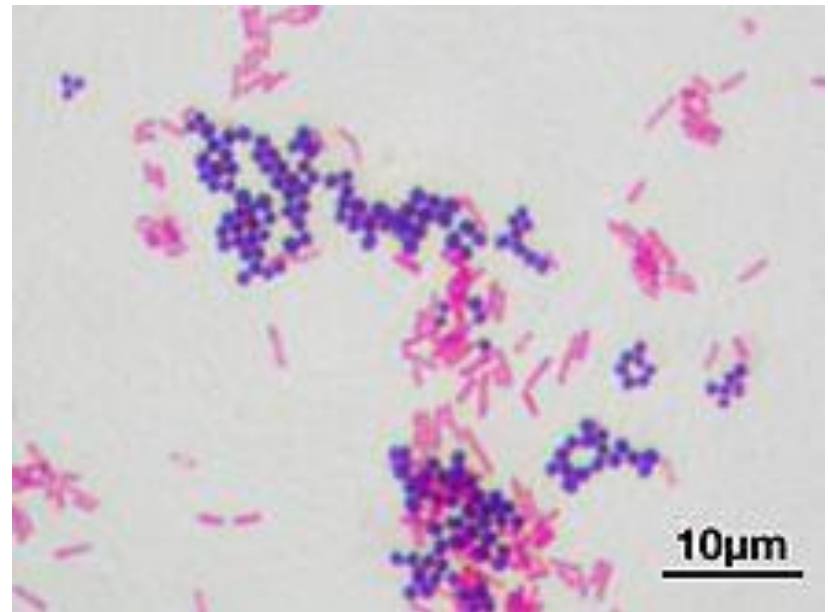
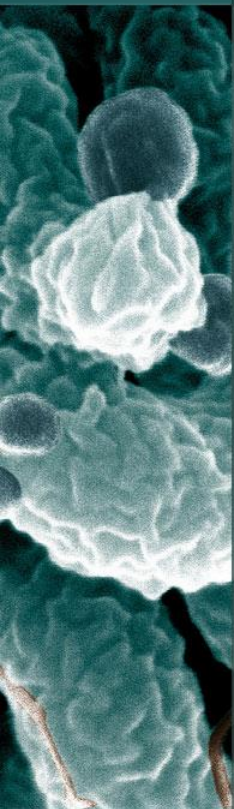
Tinciones

- ***Tinción simple***
- En ocasiones se agrega una sustancia química a la solución para intensificar la coloración, este aditivo se denomina ***mordiente***.
- Una de las funciones del mordiente es aumentar la afinidad de una muestra biológica por un colorante.
- Otra es cubrir una estructura (como un flagelo) para darle mayor espesor y facilitar la observación después del teñido.

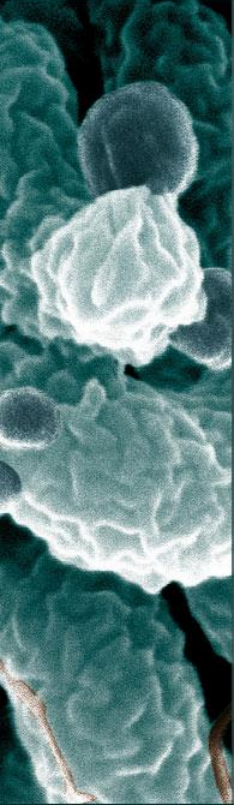


Tinciones

- ***Tinciones diferenciales***
- ***Tinción Gram***
- Se usa dos o más colorantes.
- Se distingue entre bacterias Gram positivas y Gram negativas.



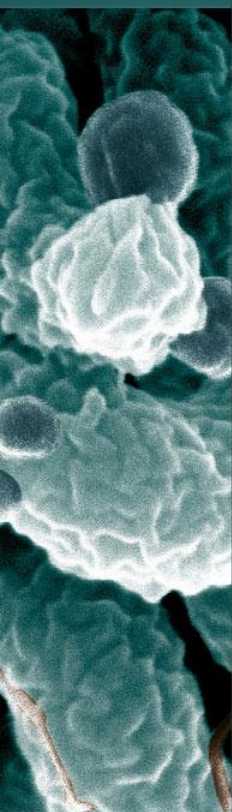
Tinción Gram



<https://www.youtube.com/watch?v=FceD8FFhuew&t=6s>

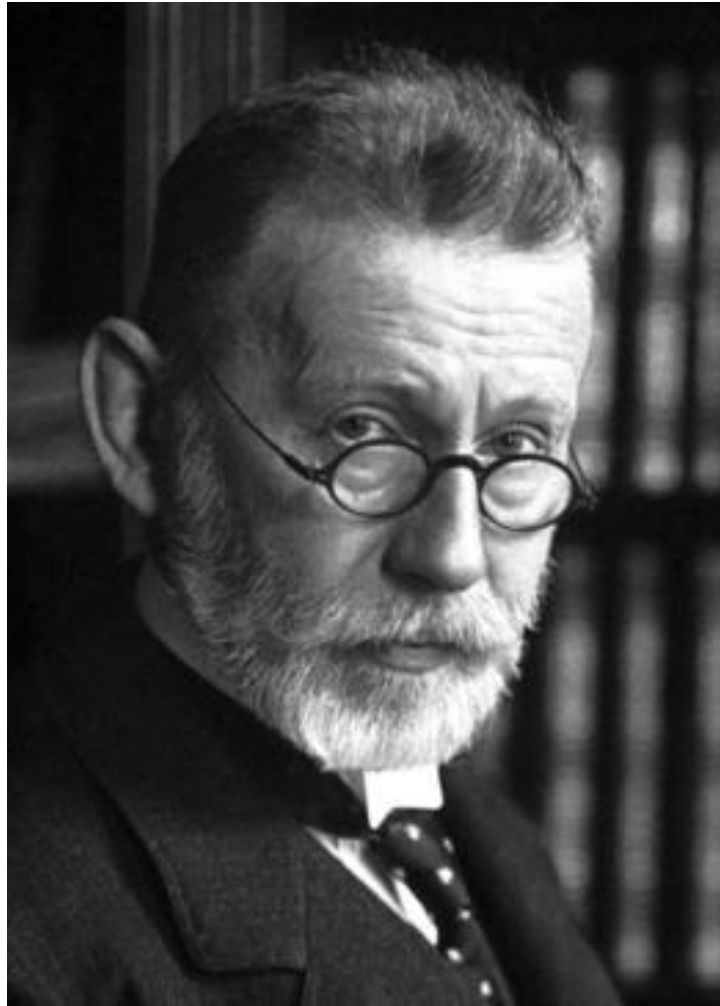
Tinciones diferenciales

- ***Tinción Gram***
- Técnica desarrollada por el bacteriólogo danés Christian Gram en 1884.
- Esta tinción de clasifica en dos grupos: Gram positivas y Gram negativas.
- El distinto comportamiento frente a los colorantes de las bacterias Gram + y Gram –, se debe a las diferencias existentes en sus superficies externas.



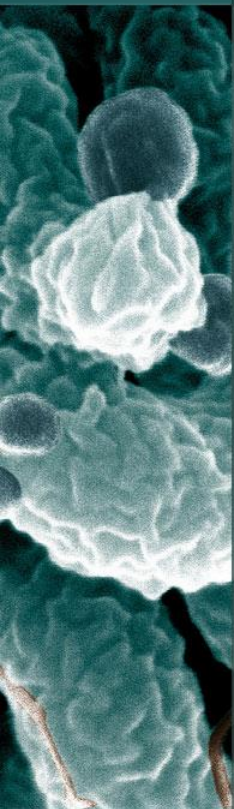
Tinciones

- **Christian Gram**



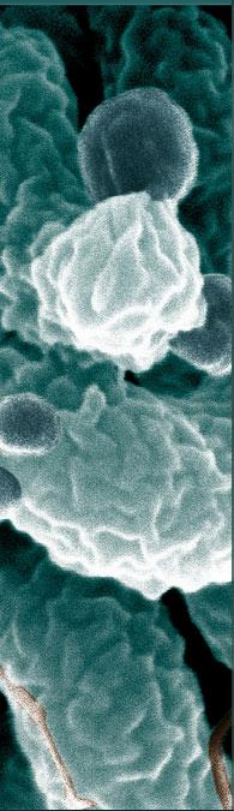
Tinciones

- ***Tinción Gram***
- Es una de las técnicas de tinción más importante en la microbiología médica, pero sus resultados no pueden aplicarse de modo universal porque algunas células bacterianas se tiñen de modo diferentes o no se tiñen.
- Los resultados de la tinción Gram son más uniformes cuando se utiliza en bacterias jóvenes, en etapa de crecimiento.



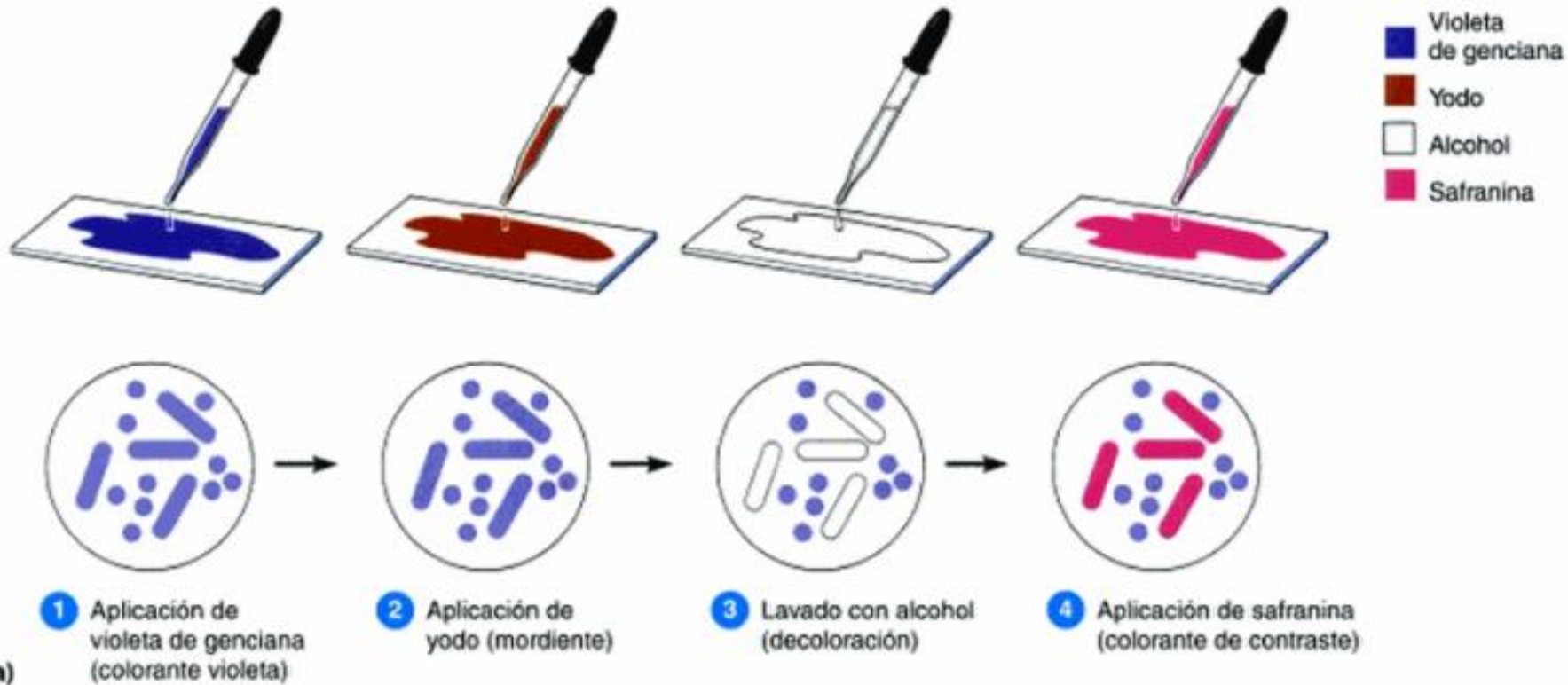
Tinciones

- **Tinción Gram**
- Las ***bacterias grampositivas*** suelen ser destruidas con facilidad por las penicilinas y las cefalosporinas.
- Las ***bacterias gramnegativas***, por lo general, son más resistentes porque los antibióticos no pueden atravesar la capa de lipopolisacáridos.



Tinciones

- **Tinción Gram**



El colorante violeta y el yodo se combinan en el citoplasma de cada bacteria y lo colorean de violeta oscuro o púrpura.

Paso 1

Resultado:

Todas las células se tiñen de color violeta



Tinción del frotis, fijado a la llama, con cristal violeta durante 1 minuto

Paso 2

Resultado:

Todas las células permanecen de color violeta

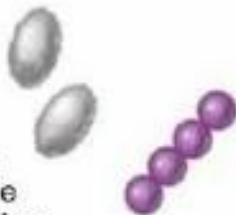


Adición de la solución yodo-yodurada de Lugol durante 1 minuto

Paso 3

Resultado:

Las células grampositivas permanecen de color violeta y las gramnegativas se decoloran

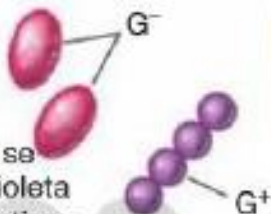


Decoloración breve con alcohol (alrededor de 20 segundos)

Paso 4

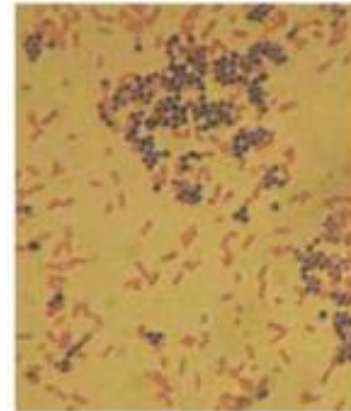
Resultado:

Las células grampositivas se ven de color violeta y las gramnegativas de color rosa

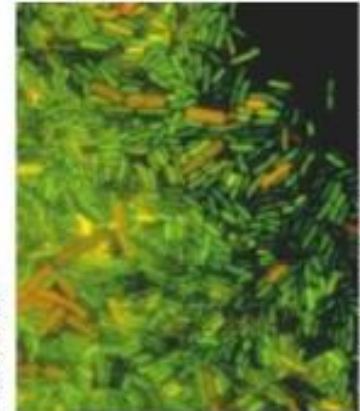


Tinción de contraste con safranina durante 1-2 minutos

(a)



(b)



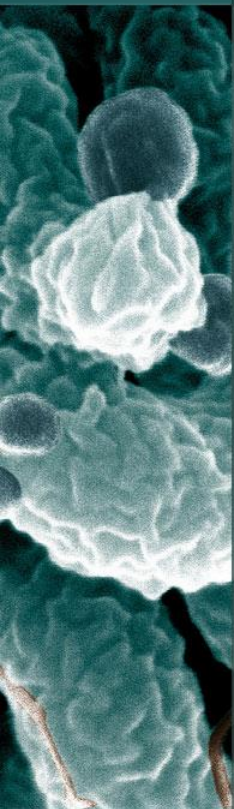
(c)

Figura 2.4 La tinción de Gram. (a) Pasos en la tinción de Gram. (b) Bacterias grampositivas (moradas) y gramnegativas (rosas) que se corresponden con *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, respectivamente. (c) Células de *Pseudomonas aeruginosa* (gramnegativa, verde) y de *Bacillus cereus* (grampositiva, naranja) teñidas por un método fluorescente de un solo paso. Este método permite la diferenciación de células grampositivas y gramnegativas mediante una única tinción.

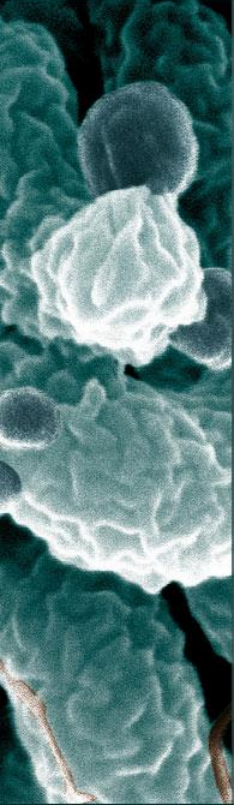
Tinción Gram

Tinciones

- Otras tinciones diferenciales son:
- ***Tinción ácido-alcohol resistencia (Ziehl-Neelsen)***
- Se usan dos colorantes.
- Desarrollada por Paul Ehrlich en 1882 y modificada recibiendo el nombre Ziehl-Neelsen.
- Esta tinción sirve para teñir bacterias del género ***Mycobacterium***, el resto de las bacterias se tiñe de azul por el contraste del colorante.



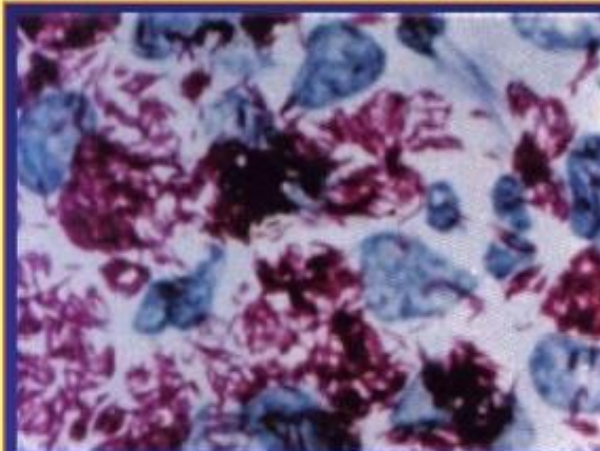
Tinciones ácido-alcohol



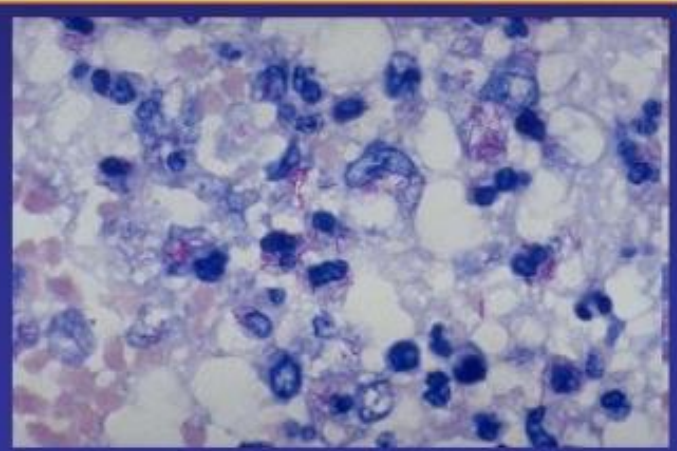
<https://www.youtube.com/watch?v=BTYu-HWZvgc>

Tinciones

Tinción de Ziehl-Neelsen (ácido-alcohol resistencia)

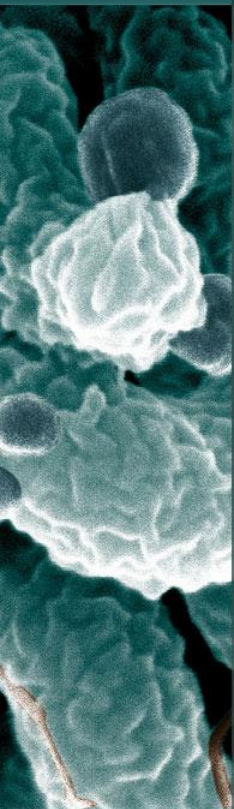


Mycobacterium leprae



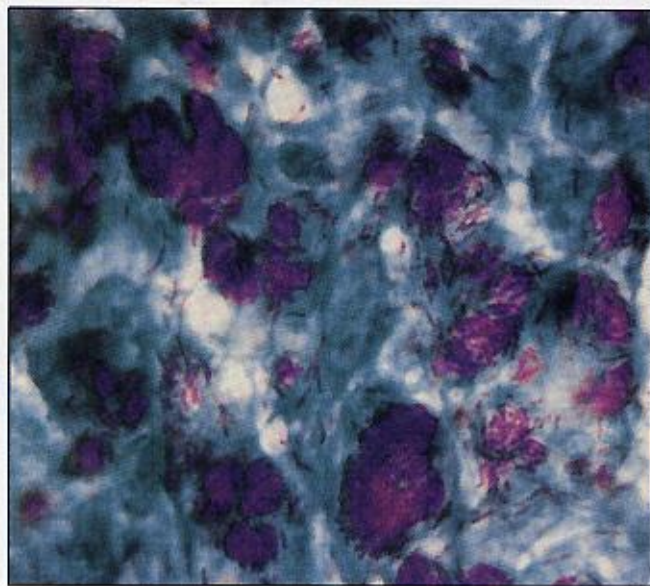
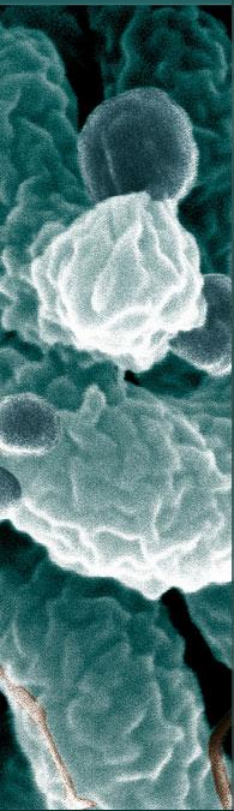
Mycobacterium tuberculosis

Es un tipo especial de tinción que permite la identificación de microorganismos de los grupos *Mycobacterium* y *Nocardia* de gran relevancia clínica



Tinciones

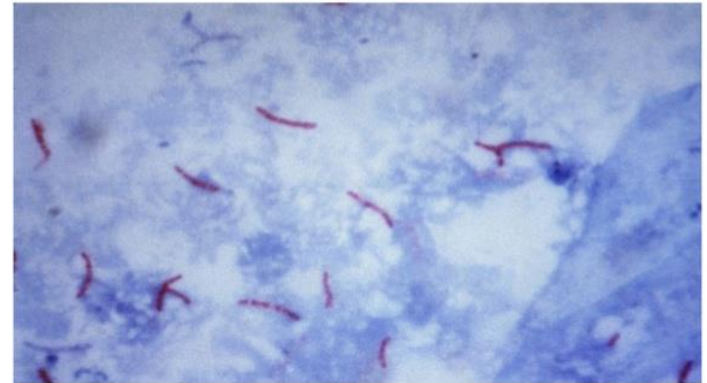
- *M. tuberculosis*, causante de la tuberculosis y *M. leprae*, causante de la lepra o enfermedad de Hansen, se identifican mediante esta tinción.



10 μ m

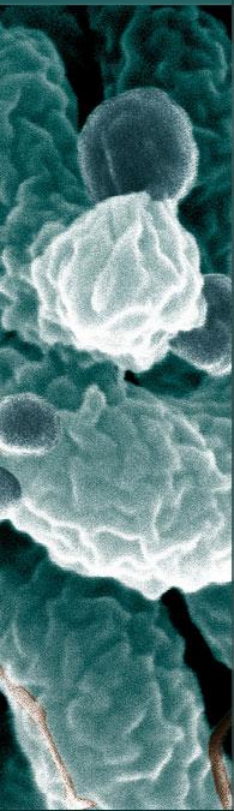
Mycobacterium leprae

Mycobacterium tuberculosis - Ziehl-Neelsen Staining



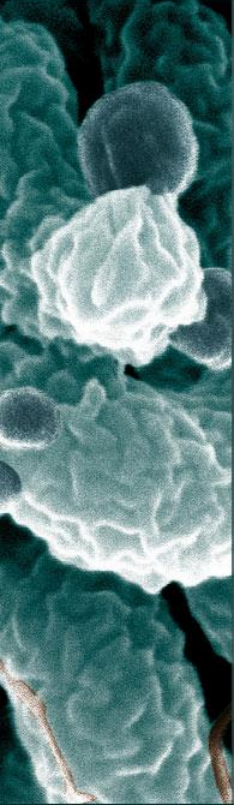
Tinciones especiales

- Las tinciones especiales se utilizan para colorear y aislar partes específicas de microorganismos, como endosporas y flagelos y para detectar cápsulas.
- **Tinción Negativa para cápsulas**
- **Tinción para endosporas**
- **Tinción para flagelos**



Tinciones especiales

Tinción endosporas



<https://www.youtube.com/watch?v=AVZPbzdF8fE>

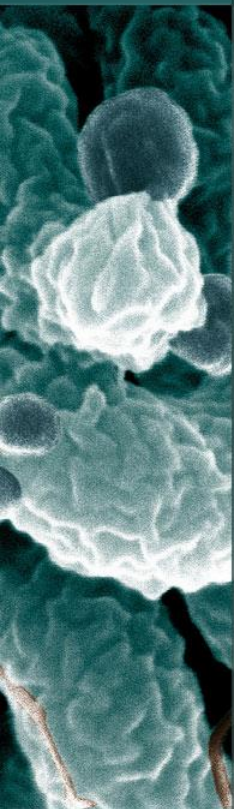
CUADRO 3.3

Resumen de diversas tinciones y sus usos

Tinción	Usos principales
Simple (azul de metileno, carbolfucsina, violeta de genciana, safranina)	Utilizada para destacar microorganismos a fin de determinar las formas y las disposiciones celulares. Las células se tiñen con una solución acuosa o alcohólica de un colorante básico solo. (Algunas veces se agrega un mordiente para intensificar la tinción.)
Diferencial Gram	Utilizada para distinguir entre clases diferentes de bacterias. Clasifica las bacterias en dos grandes grupos: grampositivas y gramnegativas. Las bacterias grampositivas retienen el color del colorante violeta de genciana aparecen violáceas. Las bacterias gramnegativas no retienen el colorante violeta de genciana y permanecen incoloras hasta que se aplica la safranina como colorante de contraste y entonces se tornan rosadas.
Coloración de ácido-alcohol resistencia	Utilizada para distinguir especies de <i>Mycobacterium</i> y algunas especies de <i>Nocardia</i> . Las bacterias ácido-alcohol resistentes, una vez teñidas con carbolfucsina y tratadas con ácido-alcohol, retienen el colorante y aparecen de color rojo. Las bacterias que no son ácido-alcohol resistentes, cuando se las tiñe y se las trata de la misma manera y después se las tiñe con azul de metileno, aparecen de color azul porque pierden el colorante carbolfucsina y entonces pueden aceptar el colorante azul de metileno.
Especial	Utilizada para colorear y aislar varias estructuras, como cápsulas, endosporas y flagelos; a veces se la utiliza como herramienta diagnóstica.
Negativa	Utilizada para demostrar la presencia de cápsulas. Como estas no aceptan la mayoría de los colorantes aparecen como halos no teñidos alrededor de las células bacterianas y se destacan contra un fondo que contrasta.
Endosporas	Utilizada para detectar la presencia de endosporas en las bacterias. Cuando se aplica verde de malaquita sobre un extendido de células bacterianas fijadas con calor, el colorante penetra en el interior de las endosporas y las tiñe de verde. Cuando a continuación se aplica safranina (roja), tiñe el resto de las células de rojo o rosado.
Flagelos	Utilizada para demostrar la presencia de flagelos. Se usa un mordiente para aumentar los diámetros de los flagelos hasta que puedan visualizarse por microscopía cuando se tiñan con carbolfucsina.

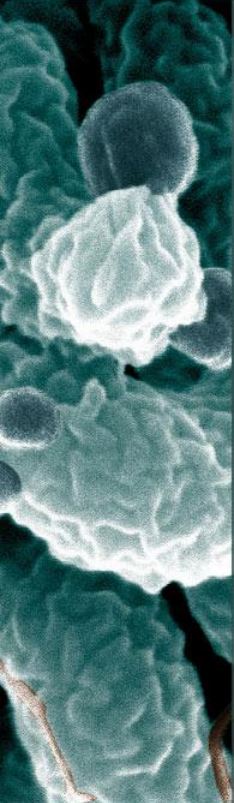
Medios de cultivos

- Los microorganismos, por lo general, pueden vivir y multiplicarse sobre substratos nutritivos preparados en el laboratorio, denominados ***medios de cultivos***.

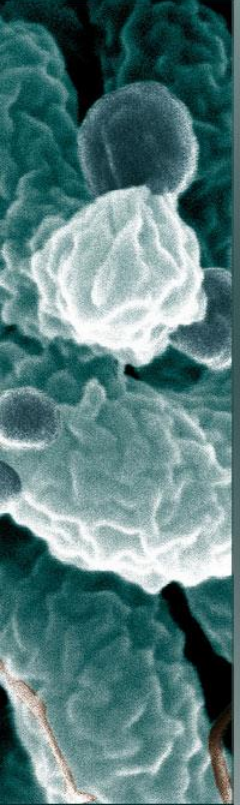


Medios de cultivos

- Los medios de cultivos son preparados estériles y contienen sustancias necesarias para el desarrollo de los microorganismos.



Medios de cultivos



<https://www.youtube.com/watch?v=miga09gVMyY&t=1s>

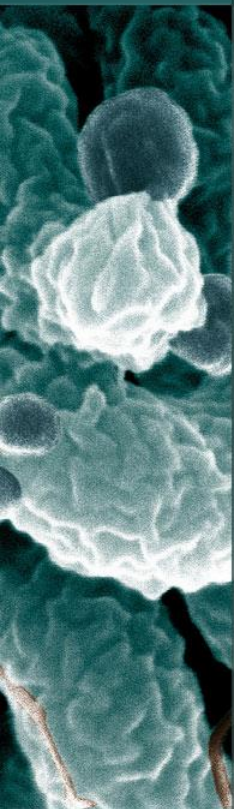
Condiciones de los medios de cultivos

Contener sustancias nutritivas necesarias para el desarrollo de los microorganismos (tales como aminoácidos, carbohidratos, polialcoholes, vitaminas, minerales).

Tener un pH que permita un desarrollo óptimo, por lo general las bacterias patógenos necesitan un pH neutro o ligeramente alcalino (7.0-7.4), en cambio las levaduras y hongos requieren un pH ácido (5.0)

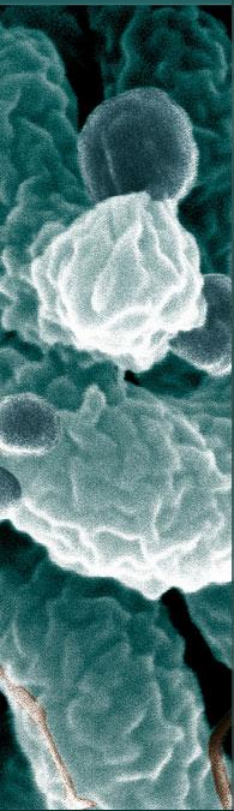
Estar previamente esterilizados o preparados en condiciones asépticas. (se reduce la posibilidad de que microorganismos entren al cuerpo durante procedimientos clínicos.)

Estar protegidos de la contaminación ambiental por tapones de algodón cardé, tapones de goma, tapas metálicas o roscas.



Utilidad de los medios de cultivos

1. Aislamiento de bacterias desde una muestra o material patógeno (secreción purulenta, orina, órgano, fecas, etc.)
2. Estudio morfológico de las colonias.
3. Conservación de cepas identificadas.
4. Clasificación y tipificación de bacterias por estudio de sus propiedades bioquímicas en medios diferenciales.
5. Obtención de toxinas o investigación de sus características.
6. Cultivo y cosecha de bacterias para la elaboración de productos biológicos (vacunas, antígenos, bacterinas, toxoides.)



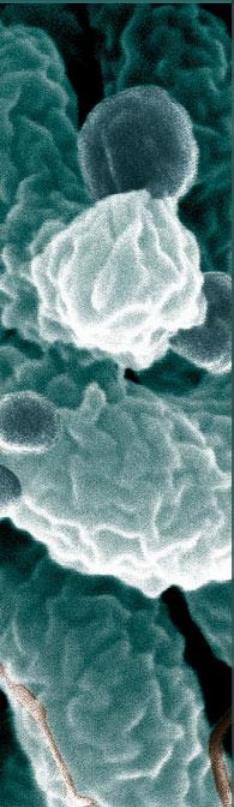
Clasificación de los medios de cultivo

Según su estado físico

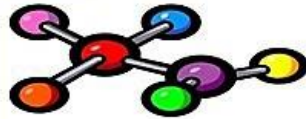
- ***Medios líquidos*** – se utilizan preferentemente para favorecer el desarrollo bacteriano de células estresadas.

Ejemplos:

- **Agua peptonada**
- **Caldo común**
- **Caldo Cerebro Corazón**
- **Caldo Saboureaud**



Clasificación de los medios de cultivo



CHEMICAL & IÓNICOS
ASOCIADOS, C.A.
R.I.F. J30716845-5

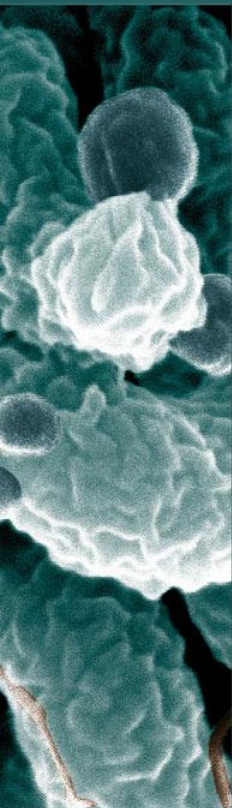
Agua Peptonada (Tamponada)

Para el enriquecimiento preliminar no selectivo de bacterias, particularmente enterobacterias patógenas, para la detección en alimentos, agua y otros materiales.

Este medio de cultivo cumple con las especificaciones de la Norma ISO 6785.

Solo para uso en laboratorios de microbiología.

Envase de 240 c.c.



Clasificación de los medios de cultivo



Caldo común

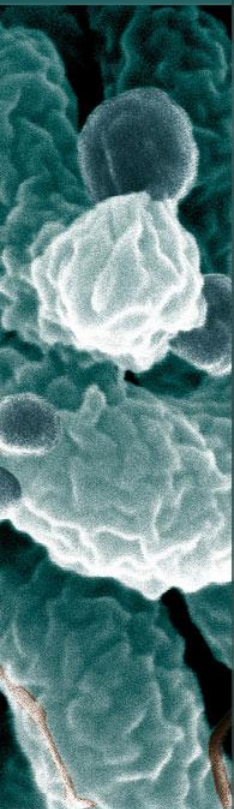


Tubos sin y con rápido crecimiento



Caldo Saboureaud

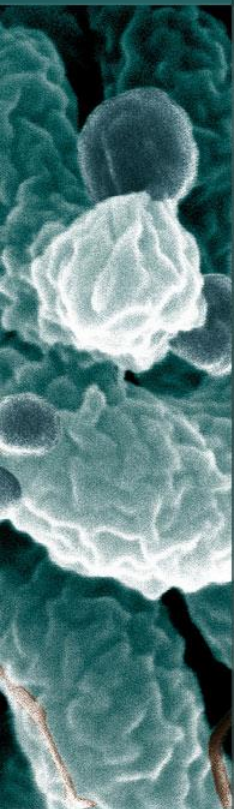
Caldo cerebro de corazón



Clasificación de los medios de cultivo

Según su estado físico

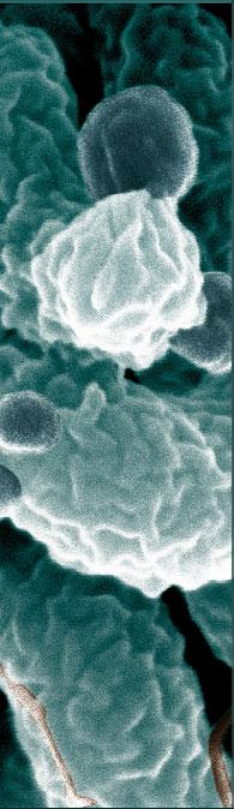
- **Medios sólidos** – se utilizan para obtener bacterias aisladas por la formación de colonias sobre la superficie del medio de cultivo y para el estudio de la morfología de las colonias, lo que no permiten los medios líquidos.
- Se diferencian porque tienen una sustancia de sostén que puede ser agar-agar.



Clasificación de los medios de cultivo

¿Qué es un agar?

El *agar* o *agar-agar* es una sustancia gelatinosa no animal de origen marino. Es un polisacárido sin ramificaciones obtenido de la pared celular de varias especies de algas de los géneros *Gelidium*, *Eucheama* y *Gracilaria*, entre otros, resultando, según la especie, de un color característico.



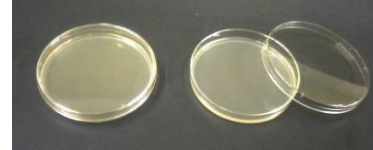
Clasificación de los medios de cultivo

Según su estado físico

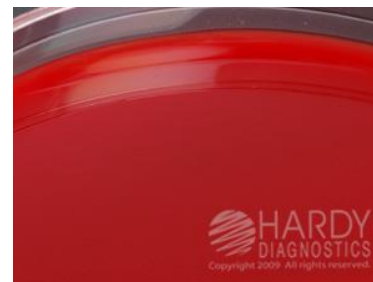
- *Medios sólidos*

Ejemplos:

- Agar común
- Agar SS
- Agar Cerebro Corazón
- Agar Saboureaud



SS Agar Plate
(Salmonella-Shigella Agar)



Clasificación de los medios de cultivo

- *Medios Semisólidos* – se utilizan para estudiar la movilidad de las bacterias.
- Tienen un menor porcentaje de agar, por lo que no solidifican totalmente a temperatura ambiente.

Ejemplos:

- Agar MIO
- Agar SIM



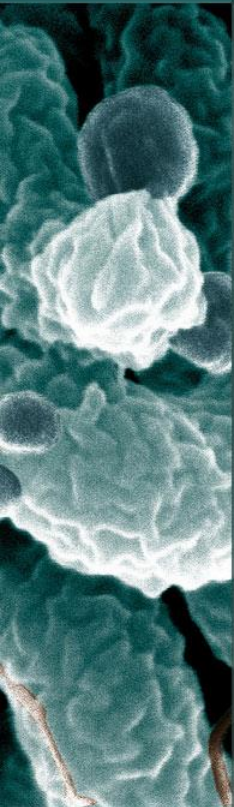
Clasificación de los medios de cultivo

Según su utilidad práctica

- **Medios corrientes** – son aquellos medios apropiados para el cultivo y mantención de la mayoría de las bacterias.
- Sirven de base para la preparación de los medios especiales.

Ejemplos:

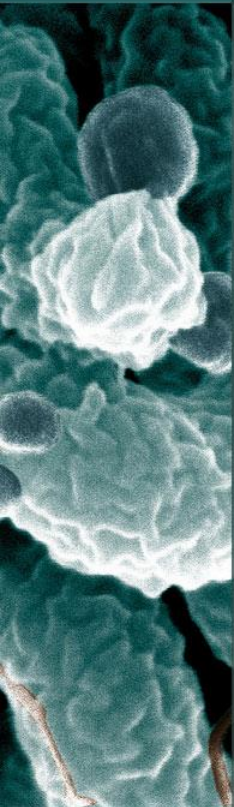
- **Caldo común**
- **Agua peptonada**
- **Agar nutritivo**



Clasificación de los medios de cultivo

Según su utilidad práctica

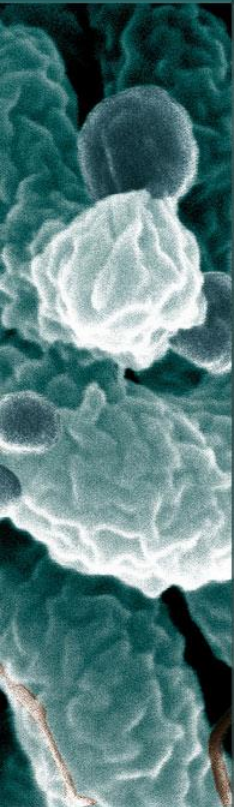
- ***Medios especiales*** – son aquellos medios apropiados para el cultivo que por su riqueza nutritiva, sirven para el cultivo de bacterias muy exigentes.



Clasificación de los medios de cultivo

Los medios especiales se clasifican en:

- *Medios mejorados*
- *Medios selectivos*
- *Medios indicadores o diferenciales*



Clasificación de los medios de cultivo

- *Medios mejorados* – se obtienen añadiendo a los medios corrientes sustancias de mayor valor nutritivo, que tienen efecto de proporcionar condiciones favorables para el cultivo de bacterias exigentes. (Ej. *Streptococos*, *Corynebacterium*)

Ejemplos:

- Agar Sangre
- Agar Cerebro Corazón

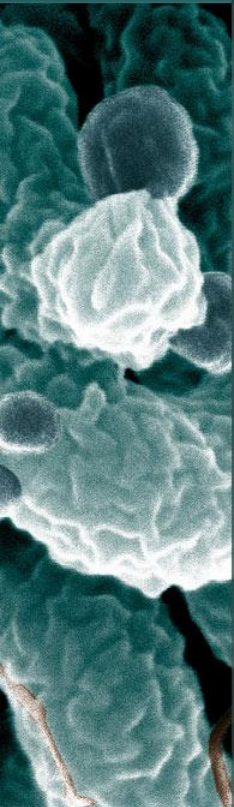


Clasificación de los medios de cultivo

- ***Medios selectivos*** – generalmente el microorganismo patógeno causante del cuadro infeccioso que se desea aislar, no se encuentra puro sino que convive con otras especies.

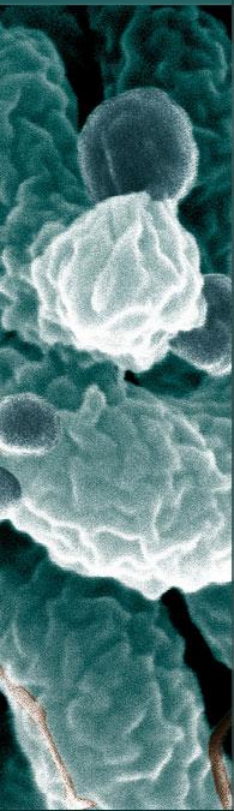
Ejemplos:

- **Agar Brucella**
- **Caldo Selenito Cistina**



Clasificación de los medios de cultivo

- ***Medios indicadores o diferenciales*** – son medios comunes o mejorados, con adición de ciertas sustancias que ponen de manifiesto determinadas propiedades bioquímicas, inherentes a algunas especies bacterianas, como por ejemplo: producción de gas, H₂S (ácido sulfúrico), de ácidos y sustancias alcalinas.

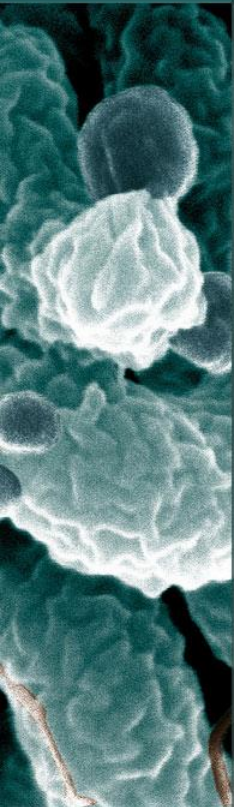


Clasificación de los medios de cultivo

- *Medios indicadores o diferenciales*

Ejemplos:

- Agar Baird Parker
- Agar Rambach



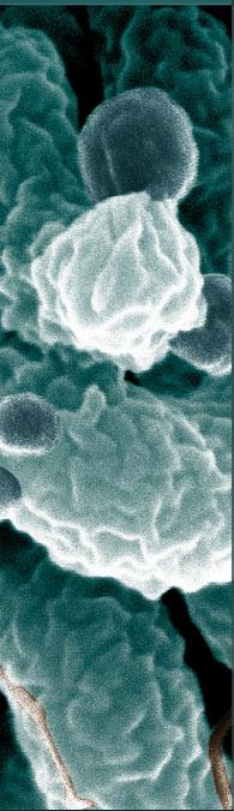
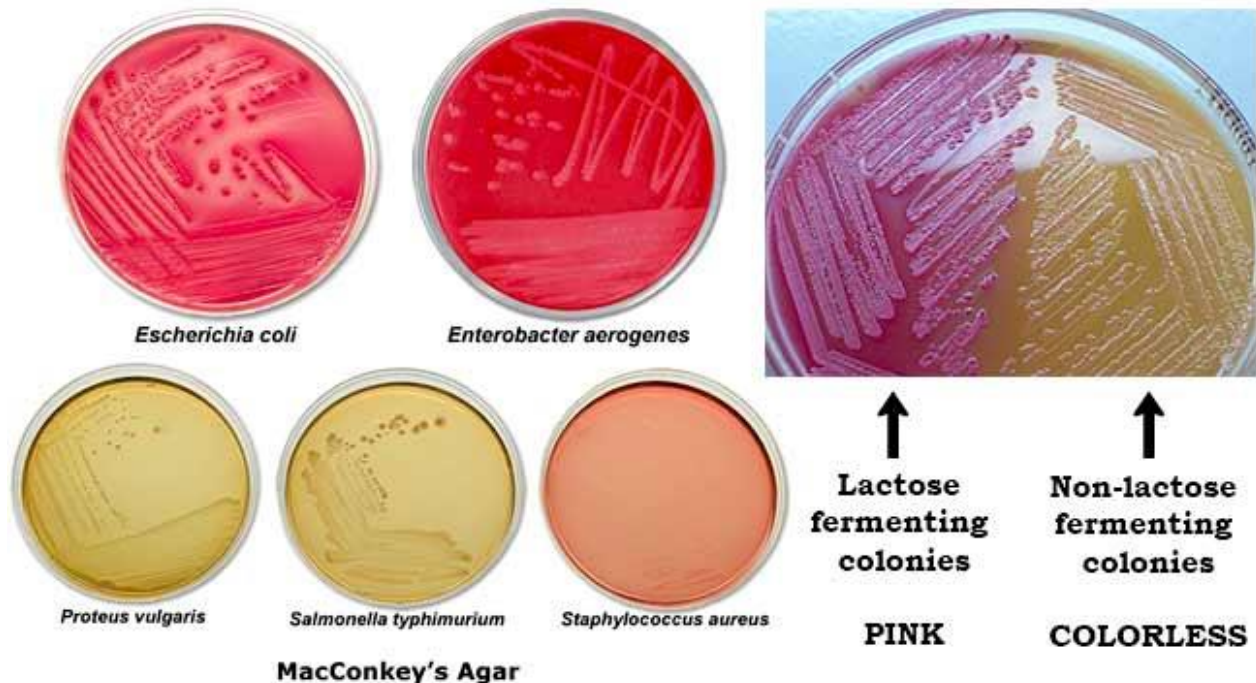
3 months 15°C / 25°C Room temperature storage



Clasificación de los medios de cultivo

Medios indicadores o diferenciales

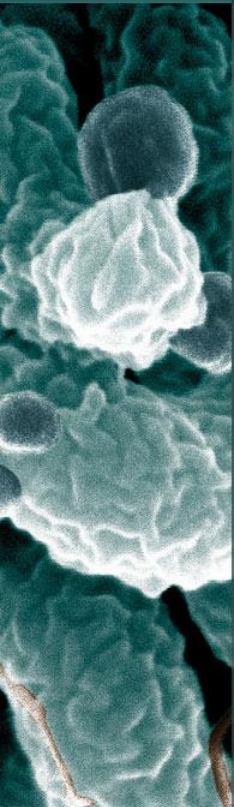
- **Agar Mac Conckey** – se utiliza para aislamiento e identificación de *Escherichia coli*. Es un medio mejorado ya que tiene Cristal Violeta y Sales Biliares que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas.



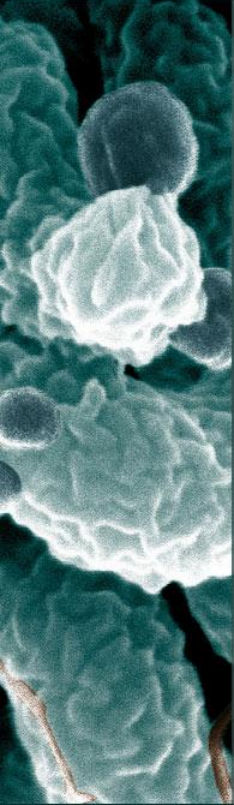
Clasificación de los medios de cultivo

Medios indicadores o diferenciales

- **Caldo Tripticasa Soya** – es un medio corriente, ya que permite el desarrollo de una amplia variedad de bacterias. Puede hacerse más selectivo para el desarrollo de *Staphylococcus aureus*, si se agrega un 10% de NaCl.



Clasificación de los medios de cultivo



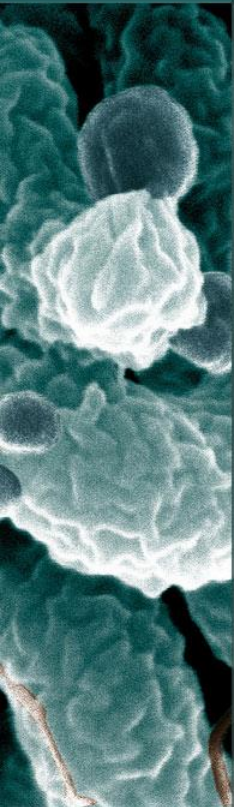
<https://www.youtube.com/watch?v=6pNF8nrQMvQ>

Clasificación de los medios de cultivo

Según su origen

- ***Origen animal*** (Caldo Cerebro Corazón)
- ***Origen vegetal*** (Caldo papa, Caldo Levadura)
- ***Sintéticos*** (Medios deshidratados)

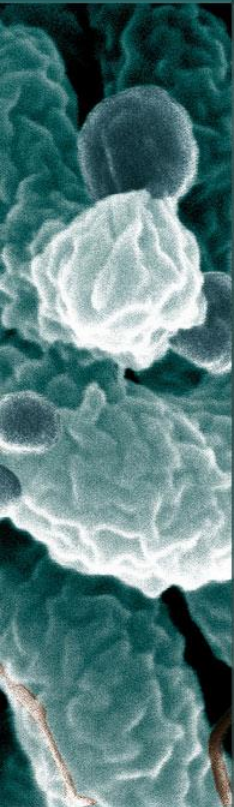
Los medios de cultivo comerciales deshidratados son productos los cuales se le ha eliminado el agua y todas las interferencias de tipo químico, con un pH ajustado, que se han controlado física, química y bacteriológicamente. Es decir, es un producto estandarizado.



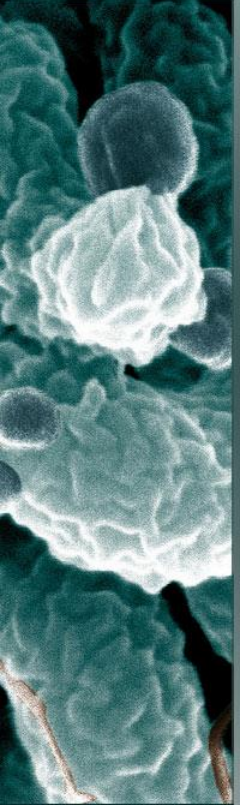
Composición de los medios cultivivos

Los medios de cultivo pueden tener en su composición los siguientes ingredientes:

- **Aminoácidos, hidrolizados de proteínas (peptonas)**
- **Extractos**
- **Productos biliados**
- **Carbohidratos**
- **Productos bioquímicos**
- **Colorantes e indicadores**

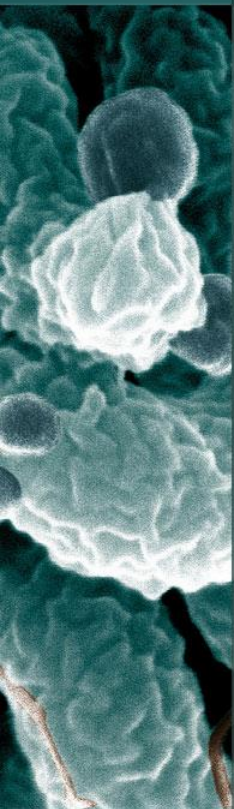


Morfología de las bacterias



Morfología

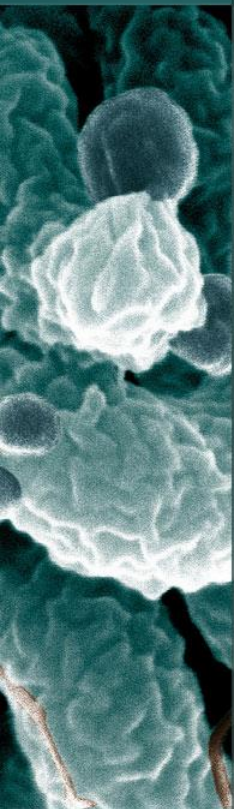
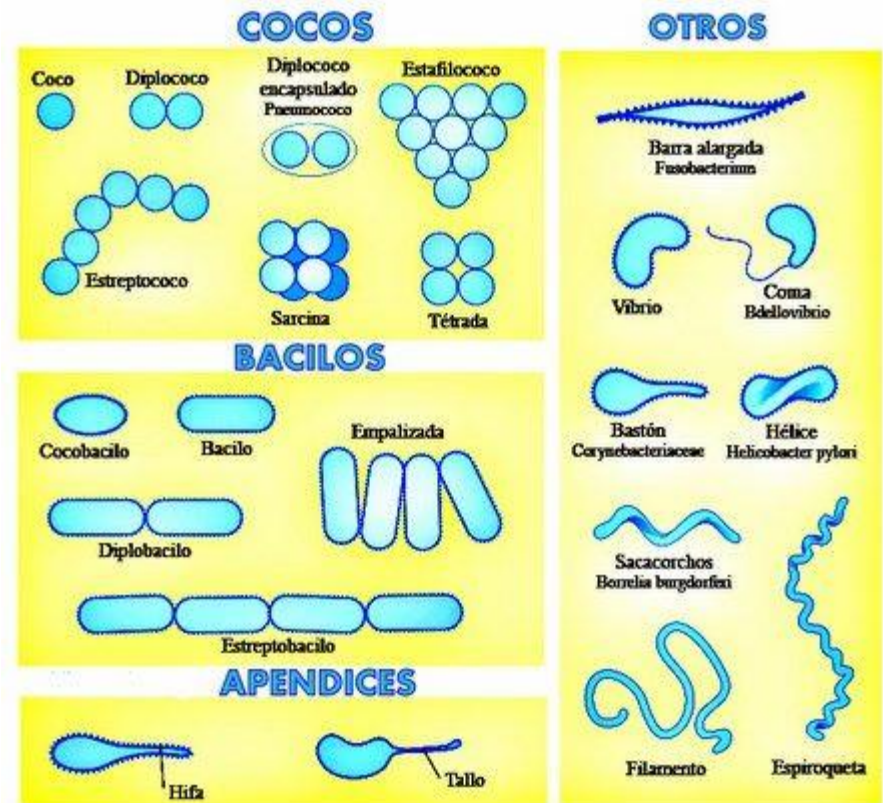
- Las bacterias son microorganismos unicelulares capaces de duplicarse por si solo a expensas del medio que los rodea.
- Carecen de núcleo y mitocondrias.
- Tienen una estructura compleja: pared celular que rodea el citoplasma.
- El número de especies bacterianas es abundante, suelen encontrarse en la naturaleza: suelo, agua, aire, hombre y animales.
- Algunas especies pueden causar enfermedades.



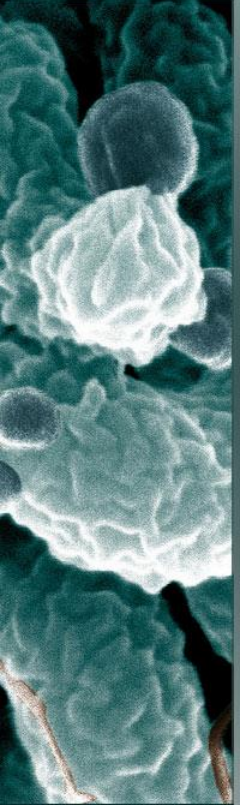
Morfología

Las bacterias se presentan en tres tipos morfológicos:

- **Cocos o esféricas**
- **Bastones o bacilos**
- **Curvos y espiral o espirilos**



Morfología

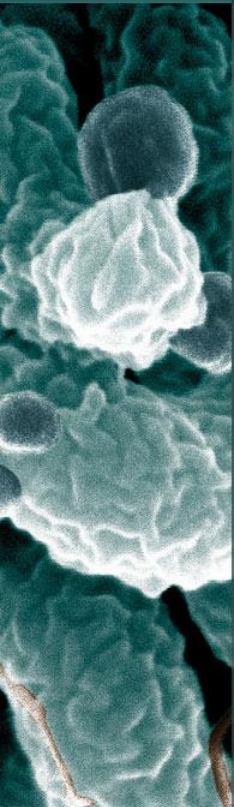


<https://www.youtube.com/watch?v=3NgmvvuDfJc>

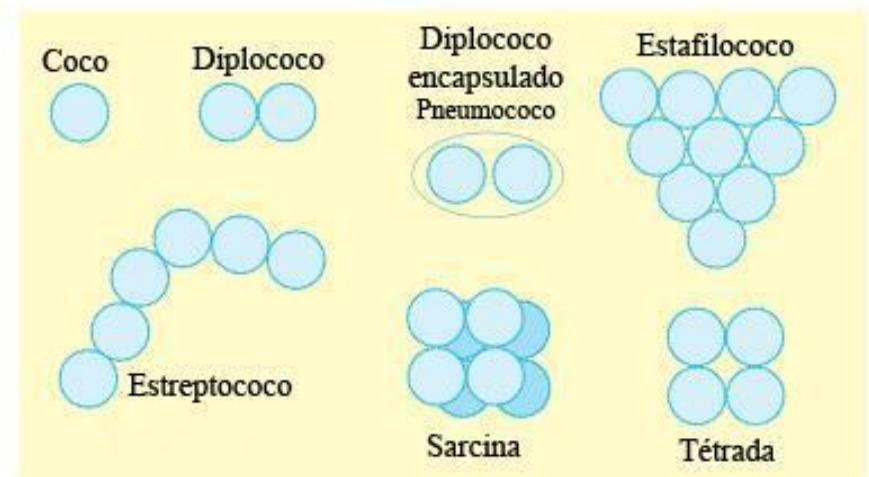
Morfología

Cocos

- En general, son redondos pero pueden ser ovalados, elongados o con uno de sus lados aplanados.
- Cuando se dividen para reproducirse las células permanecen unidas entre sí.



Cocos

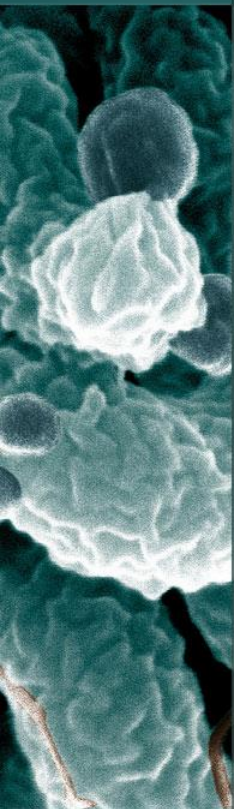


Morfología

Cocos

Los cocos adquieren diversas disposiciones luego de dividirse:

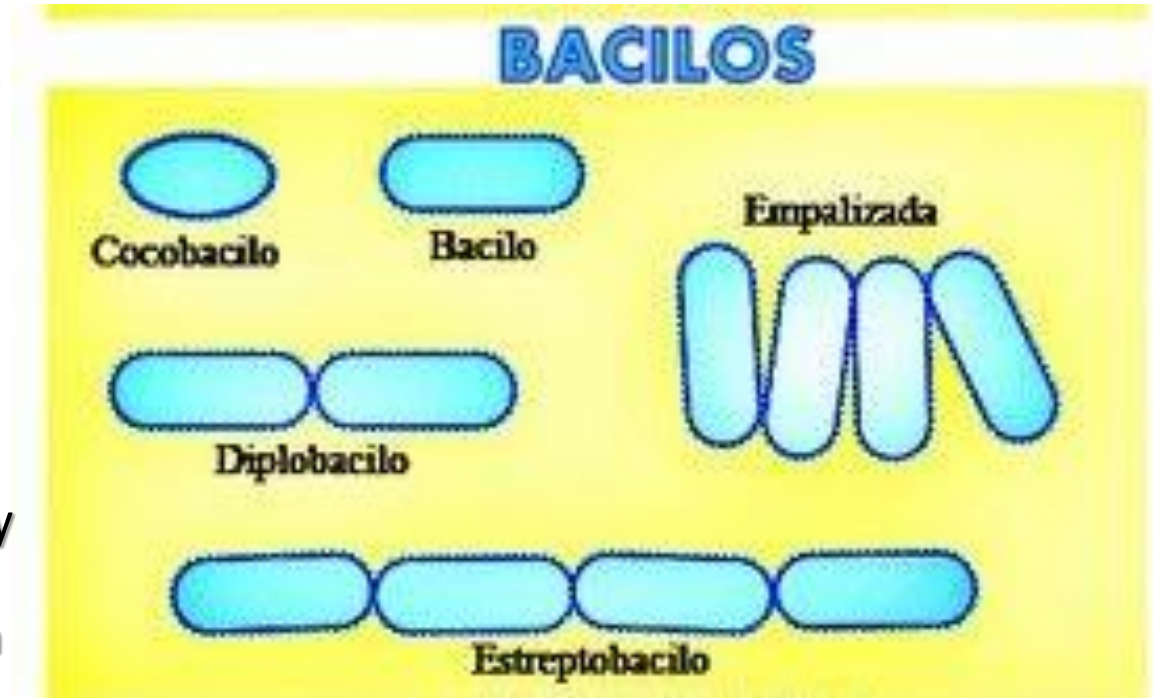
- ***Diplococos*** – agrupados en pares.
- ***Streptococos*** - unidos en forma de cadenas.
- ***Tétradas*** – se dividen en dos planos y permanecen unidos en grupos de cuatro.
- ***Sarcinas*** – se dividen en tres planos y permanecen unidos en grupos de configuración cúbica.
- ***Estafilococos*** – se dividen en planos múltiples y forman grupos similares a racimos de uva.



Morfología

Bacilos

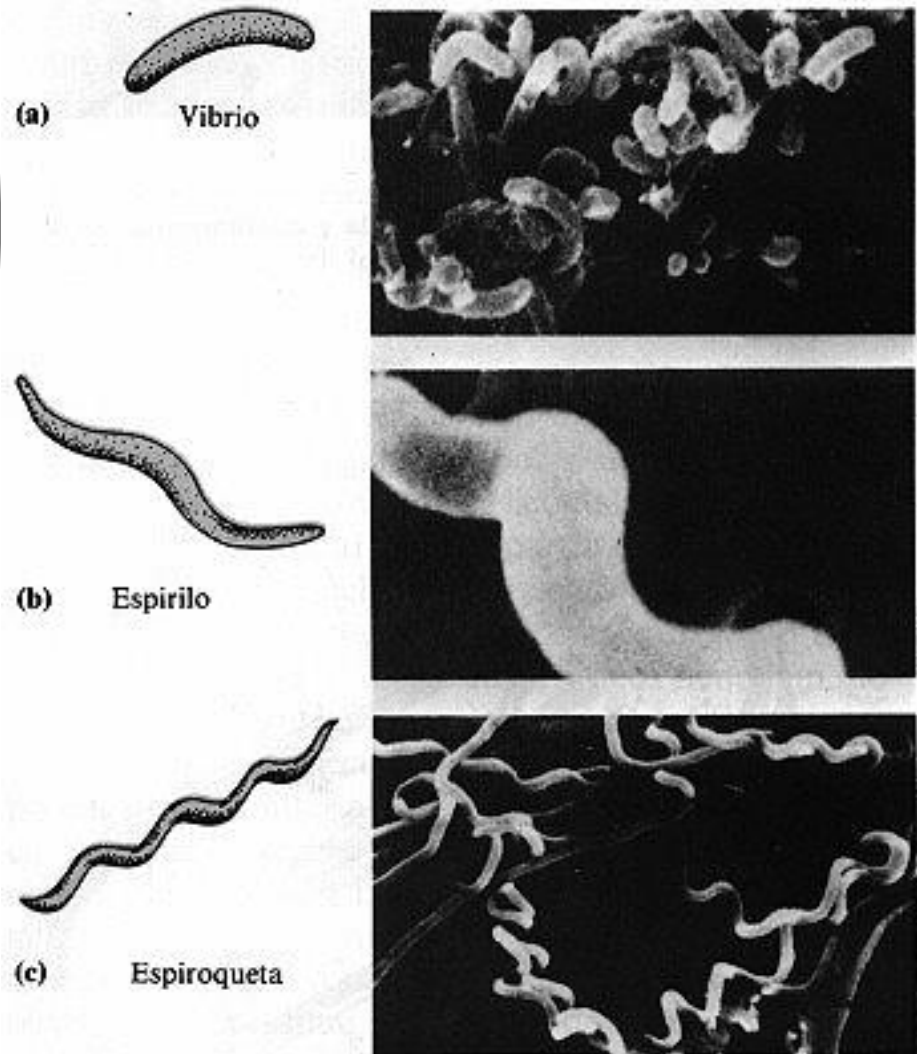
- Suelen presentarse en forma aislada.
- La mayoría de los bacilos se observan como bastones aislados.
- **Diplobacilos** – permanecen unidos en pares.
- **Streptobacilos** – forman cadenas.
- Otros bacilos son ovalados y se parecen mucho a los cocos, por lo que recibieron el nombre de cocobacilos.



Morfología

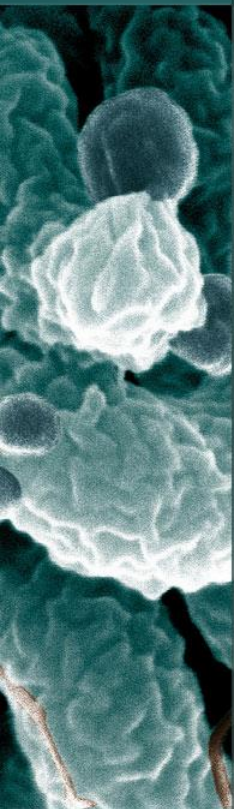
Espirilos

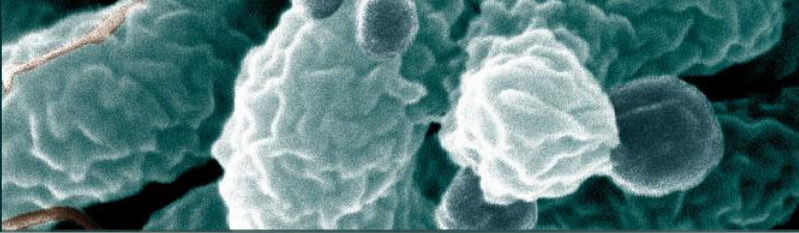
- Poseen una sola curva, en forma de coma (Vibrio) o un número variable de ondulaciones suaves o apretadas que les dan aspecto de sacacorchos (espirilos y espiroquetas)



Tamaño

- El tamaño de las bacterias varia de acuerdo con la especie, desde 0.2 hasta 30 μm
- Los cocos se miden por su diámetro y los bacilos por su longitud y anchura.
- El tamaño de la mayor parte de las bacterias se encuentra entre 1 a 8 μm .





REFERENCIAS

- **Carmona, O. Gómez, M.J, Montes. T., Marcano, C., Marino, F. (1997), *Microbiología Médica de Divo* (5ta ed.), Mexico, Mc GrawHill-Interamericana**
- **Prescott L.M., Harley J.P. and Klein G.A. (2004), *Microbiología*, (5ta ed). Madrid, México, Mc GrawHill-Interamericana.**
- **Tortora, G., & Funke, B. (2007). *Introducción a la microbiología* (9a ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.**