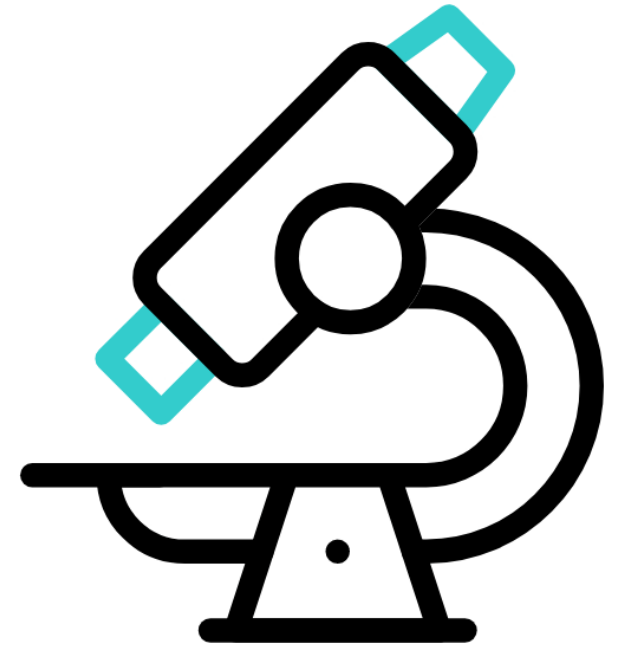




# TEMA 10

## Coloración bacteriana



# ¿Por qué colorear?



Cocos



Estreptococos



Bacilos



Vibrios



Espirilos

- Visualizar los microorganismos o las estructuras que lo componen



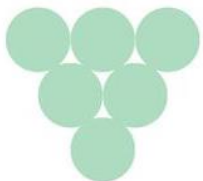
Coco



Diplococo



Estreptococo



Estafilococo



Tétrada



Sarcina



# Clasificación

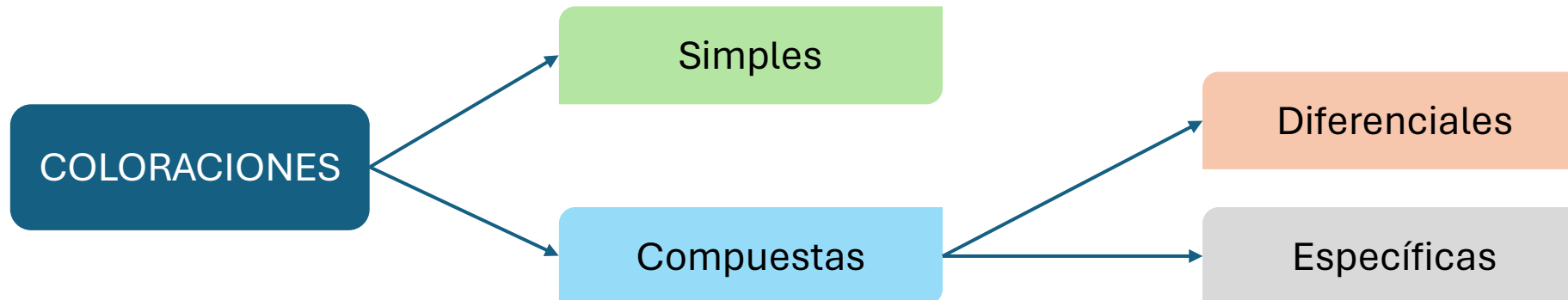
## Colorante

Sustancia capaz de dar color a células, tejidos, fibras, etc.

→ Naturales o Artificiales

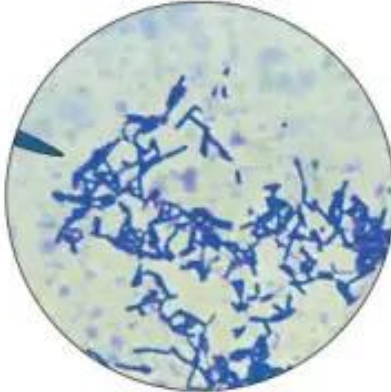
Funciones:

- Permiten hacer visibles a los objetos microscópicos y transparentes
- Revelan su forma y tamaño
- Muestran la presencia de estructuras internas y externas
- Producen reacciones químicas específicas



# Clasificación

Simple Stains



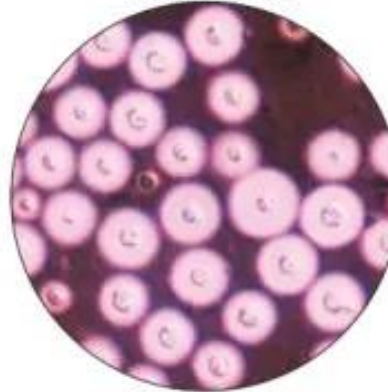
(a) Crystal violet stain of *Escherichia coli*

Differential Stains

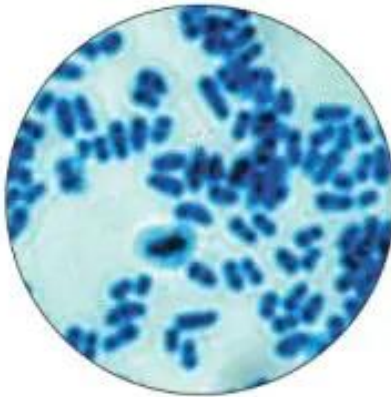


(c) Gram stain  
Purple cells are gram positive.  
Red cells are gram negative.

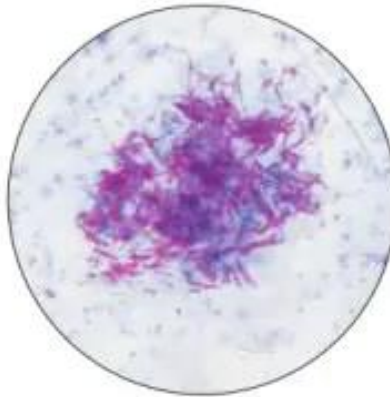
Special Stains



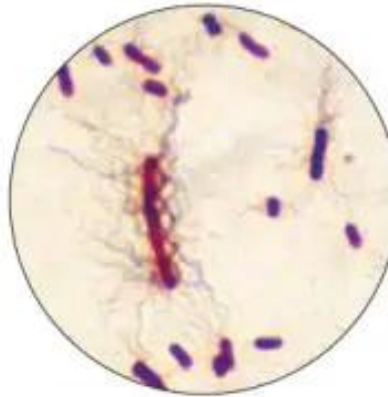
(f) India ink capsule stain of *Cryptococcus neoformans*



(b) Methylene blue stain of *Corynebacterium*



(d) Acid-fast stain  
Red cells are acid-fast.  
Blue cells are non-acid-fast.



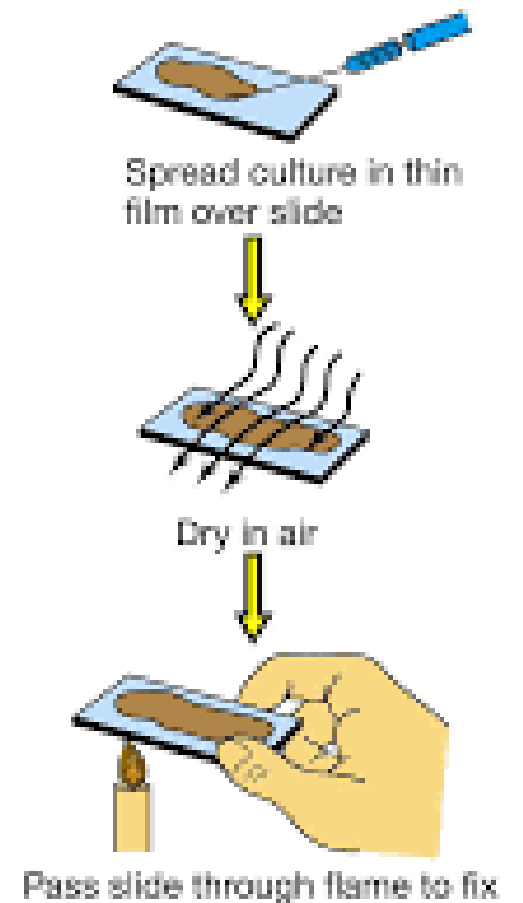
(g) Flagellar stain of *Proteus vulgaris*.  
A basic stain was used to build up the flagella.

# Pre-tinción

Fijación → Preservar la arquitectura estructural y química de las células

Físicos: desecación  
calor seco  
calor húmedo  
ultrasonido  
microondas

Químicos: oxidantes (óxido crómico, ácido acético, ácido pícrico, acetona, dicromato de potasio)  
reductores (formaldehído, glutaraldehído, etanol, metanol, paraldehído)



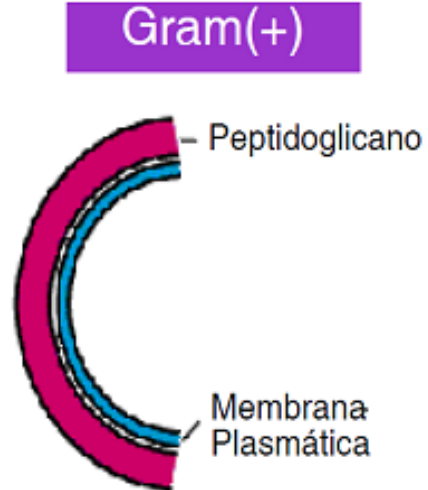
# Coloración de Gram

Tinción diferencial que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos:  
Gram-positivos y Gram-negativos

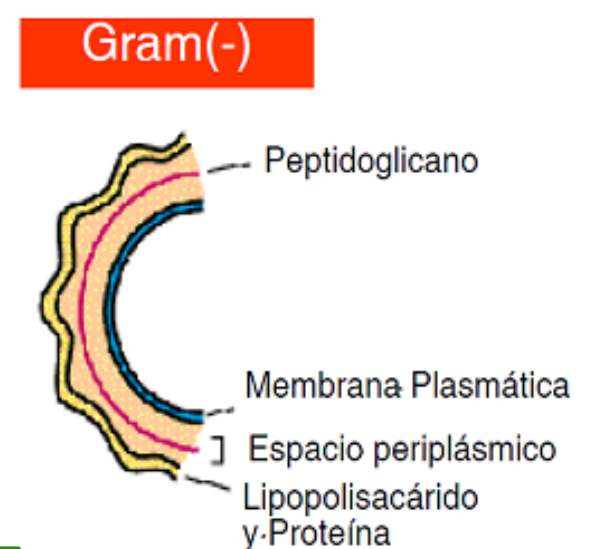
Económico  
Sencillo  
Eficaz

Principio de funcionamiento → Características de la pared celular

- Pared celular gruesa con peptidoglicano
- Sin membrana celular externa



- Capa fina de peptidoglicano
- Membrana celular externa



La composición química y contenido de peptidoglicano en la pared explica y determina las características tutoriales

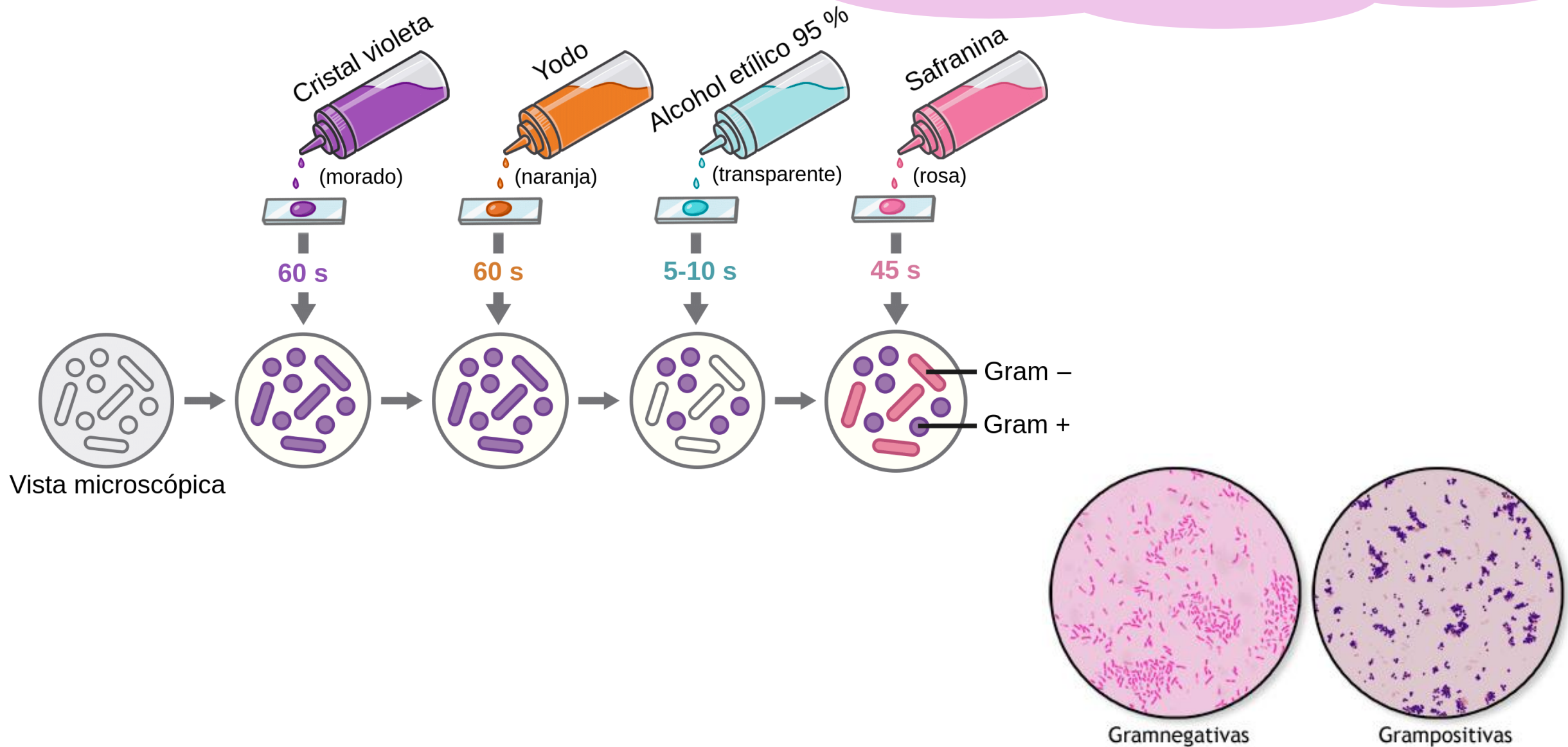
# Coloración de Gram

1. Cristal Violeta → Colorante primario → afinidad por el peptidoglicano
2. Lugol → Mordiente → impide la salida del cristal violeta (complejo cristal violeta-yodo). Satura los espacios del peptidoglicano
3. Alcohol-acetona → deshidrata y cierra los poros // destruye membrana externa de bacterias Gram-negativas
4. Safranina → colorante secundario (contraste o contratinción) → teñir bacterias que no retuvieron el complejo cristal violeta-yodo





# Coloración de Gram





# Coloración de Ziehl-Neelsen

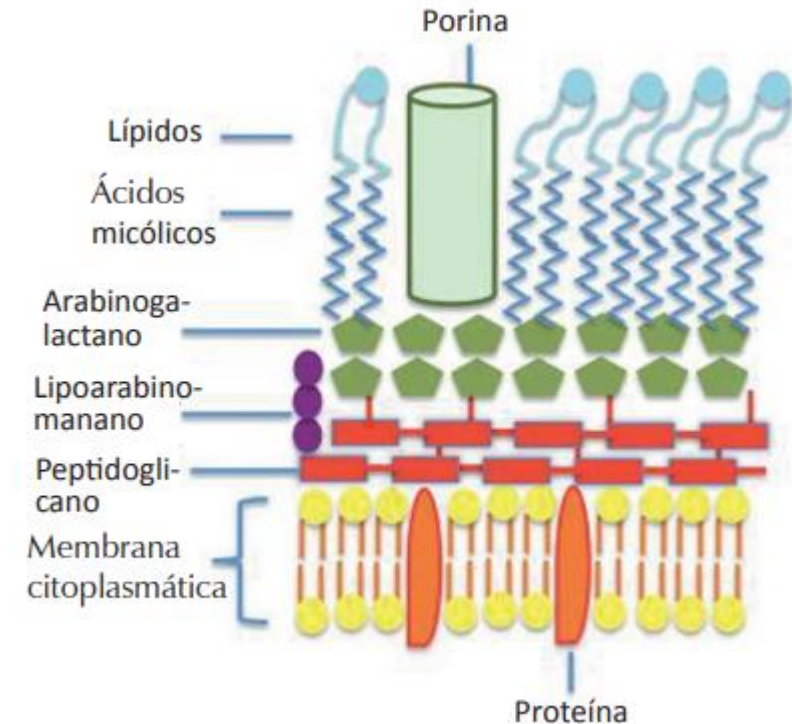
Técnica rutinariamente utilizada en diagnóstico rutinario de tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*)

Rápida  
Fácil  
Económica

Permite diferenciar las bacterias en dos grupos: capaces de resistir la decoloración con alcohol-ácido y aquellas que no lo son

La pared celular de las micobacterias es extremadamente compleja en cuanto a su composición bioquímica → característica para la tinción de Ziehl-Neelsen

Ácidos micólicos + lípidos libres → barrera hidrofóbica



# Coloración de Ziehl-Neelsen

1. Carbol-fucsina → colorante primario → Afinidad por los ácidos micólicos
2. Calentar suavemente → solubiliza ceras, lípidos y AG → paso libre del colorante
3. Enfriar con agua → solidifica componentes de la pared → resistencia de la acción del alcohol-ácido
4. Decolorar con alcohol-ácido → hasta color rosado
5. Lavado con agua
6. Azul de metileno → Colorante secundario → Contraste

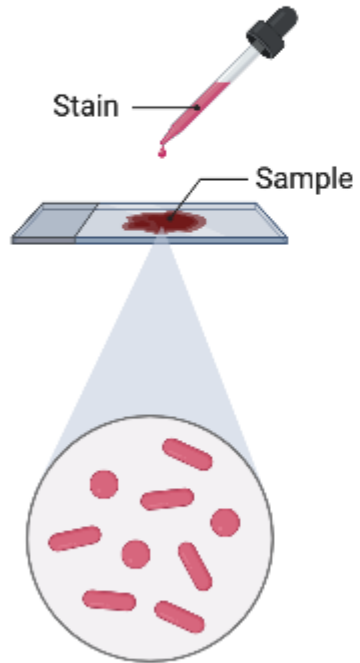
| AAR +                                                                                 | Pasos                                       | AAR -                                                                                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|    | Fijación                                    |    |
|    | Colorante principal:<br>fuchina             |    |
|    | Decoloración:<br>alcohol/HCl                |    |
|  | Colorante de contraste:<br>Azul de metileno |  |

# Coloración de Ziehl-Neelsen

## Step 1

### Carbolfuchsin

Application of primary stain to specimen smear

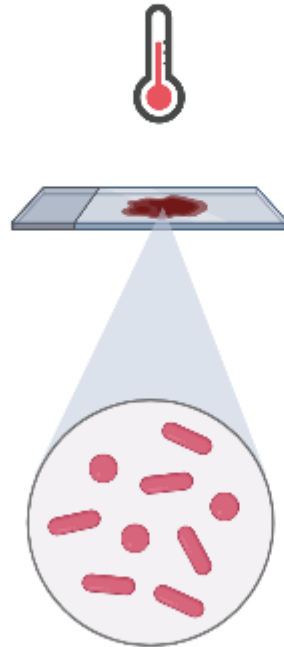


➤ Acid-fast positive (+): pink  
● Acid-fast negative (-): pink

## Step 2

### Heat

Application of heat to fixate the sample

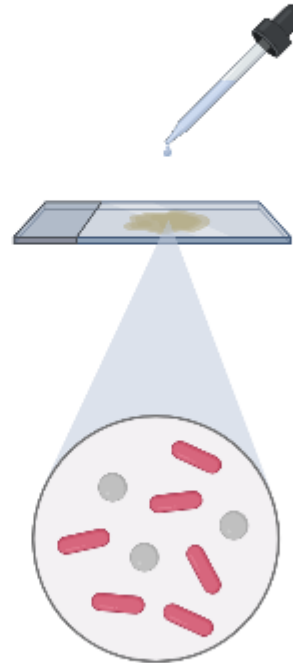


➤ Acid-fast positive (+): pink  
● Acid-fast negative (-): pink

## Step 3

### Alcohol

Decolorization of the sample with acid-alcohol

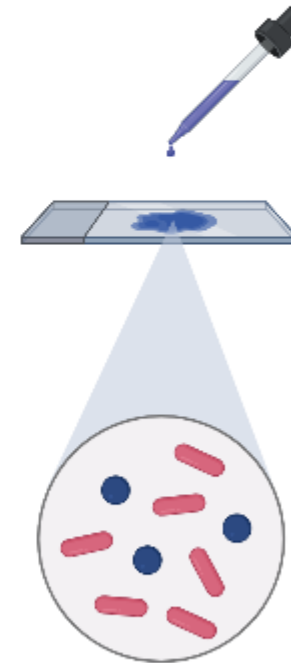


➤ Acid-fast positive (+): pink  
● Acid-fast negative (-): colorless

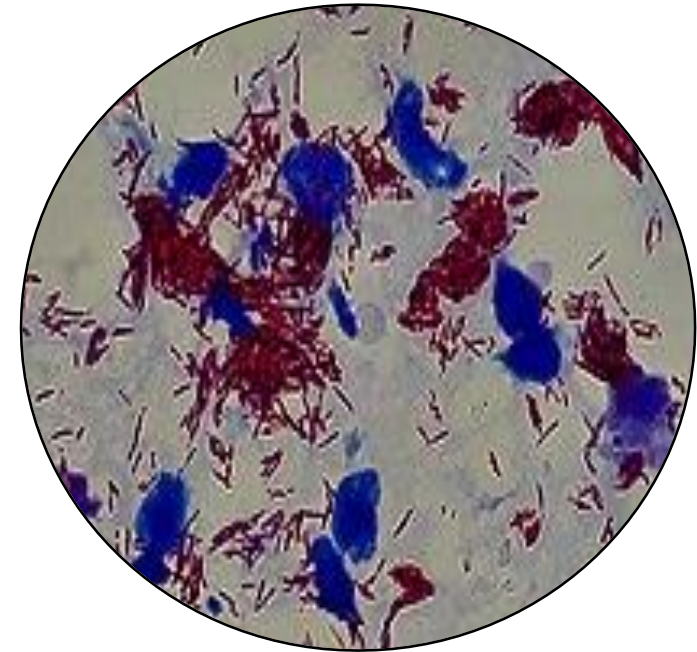
## Step 4

### Methylene blue

Application of counterstain to the sample

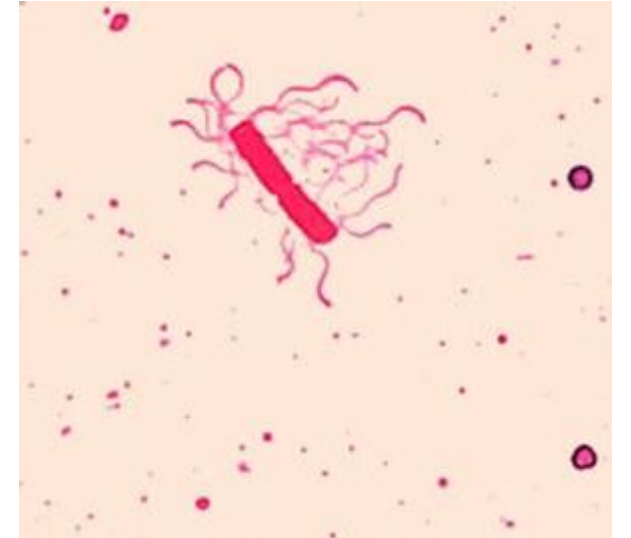
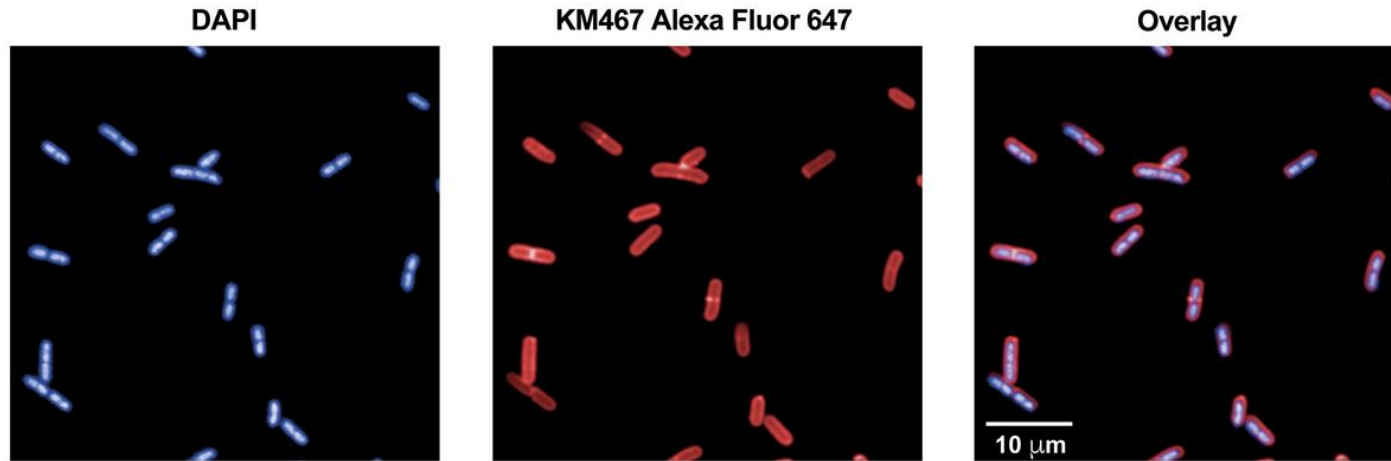


➤ Acid-fast positive (+): pink  
● Acid-fast negative (-): blue

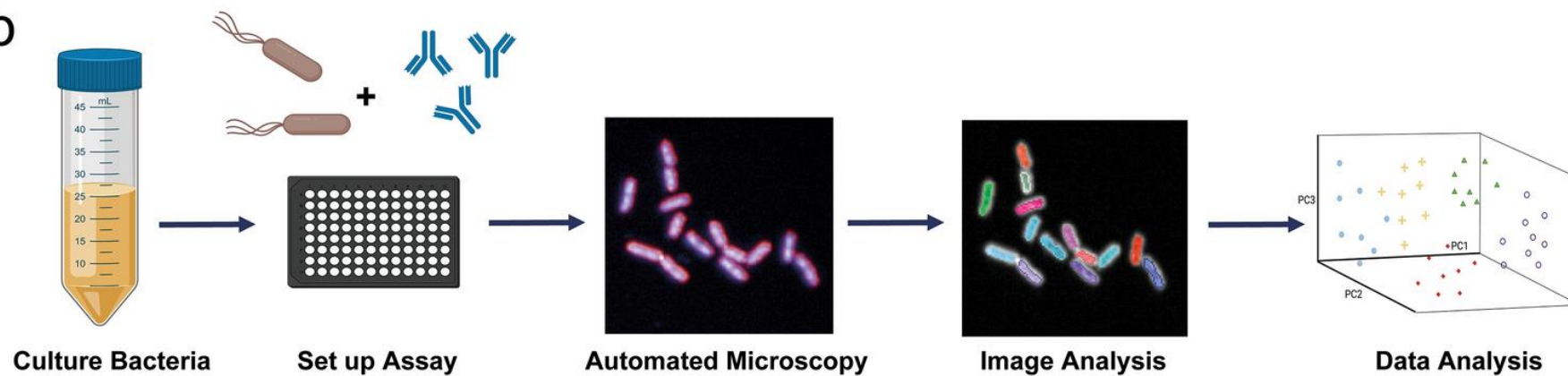


# Tinciones específicas

a

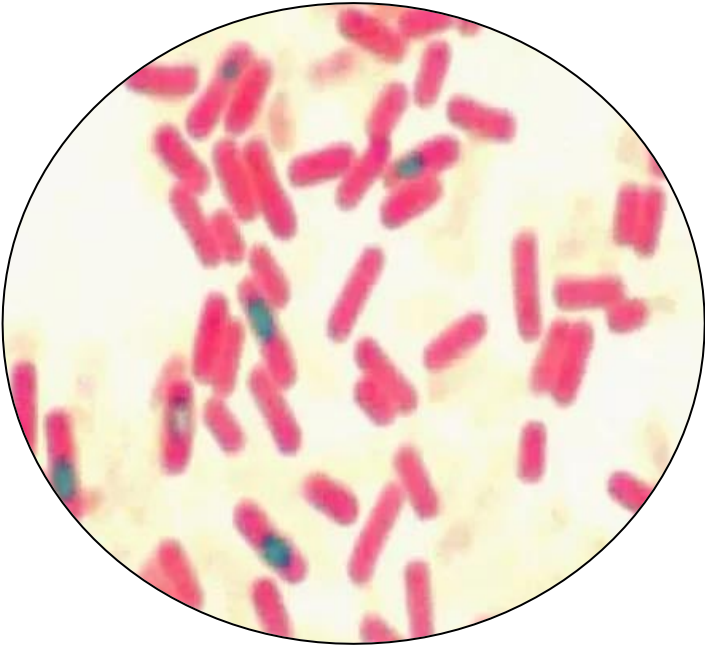


b



# Tinciones específicas

## Tinción de Endosporas – Tinción de Wirtz-Conklin

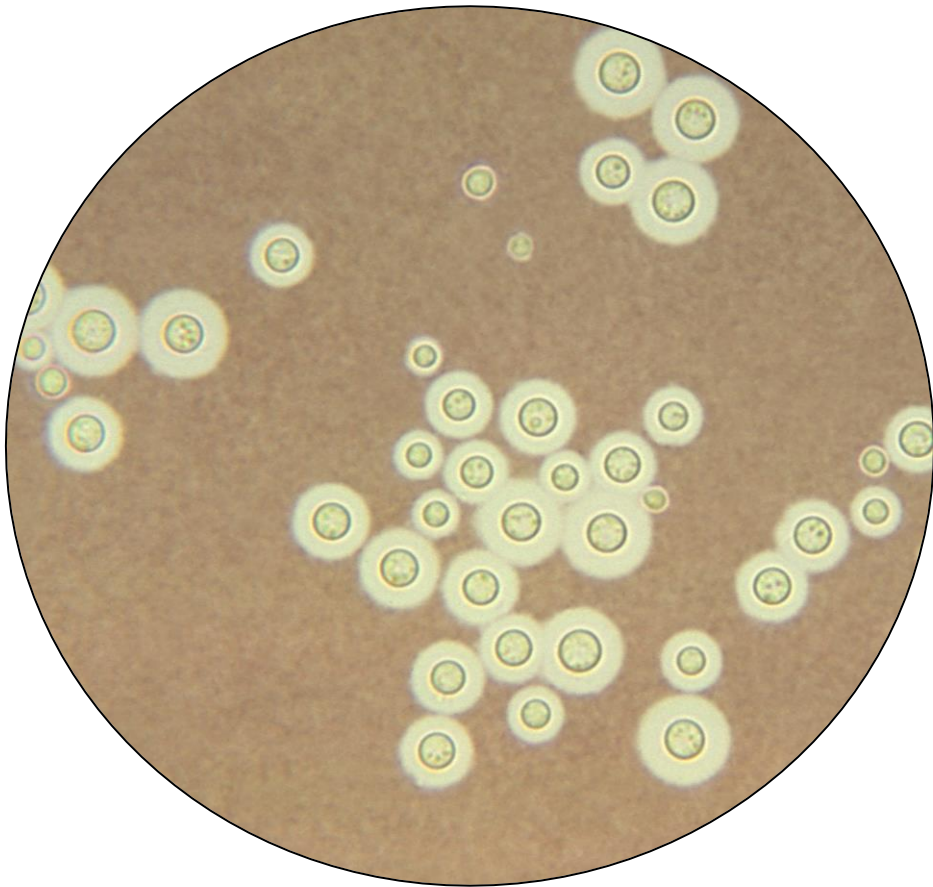


1. Verde de malaquita → Colorante primario → Tiñe esporas en caliente
2. Calentar (sin hervir)
3. Lavar con agua
4. Safranina → colorante secundario (contraste o contratinción)



# Tinciones específicas

## Tinción de cápsula – Tinción negativa



*Cryptococcus neoformans* revelados por medio de una tinción negativa con tinta china.

# MUCHAS GRACIAS!!

