

Departamento de Ciencia y Tecnología
MICROBIOLOGÍA GENERAL

SEMINARIO Nº 2

1. MICROSCOPIA

- 1) Diga si las siguientes afirmaciones son verdaderas o falsas. Justifique su respuesta
 - a) El microscopio de contraste de fase se utiliza principalmente para estudiar la estructura interna de las células.
 - b) Las células vivas no pueden ser estudiadas en ningún tipo de microscopio electrónico, ya que todo el sistema funciona en vacío y los tratamientos que sufren las células afectan su viabilidad.
 - c) Para observar la morfología de las células sin teñir se utiliza el microscopio de campo claro, ya que las células y el medio que las rodea tienen índices de refracción muy distintos.
 - d) El microscopio de campo oscuro se utiliza para observar la motilidad de los microorganismos.
 - e) El uso de un filtro, en la fuente de luz, que solo deja pasar luz roja aumenta la resolución del microscopio óptico
- 2) Que tipo de microscopio sería el más adecuado para observar las siguientes muestras.
 - a) Un extendido de bacteria teñidas
 - b) Bacterias de tamaño pequeño, no teñidas. Cuando no se requiere demasiado detalle
 - c) Tejido vivo no teñido, cuando se desean algunos detalles intracelulares
 - d) Una muestra que emite luz cuando es irradiada con UV
 - e) Detalles intracelulares de una célula de un $1\mu\text{m}$ de longitud.
- 3) ¿Cuál es límite superior de magnificación de un microscopio óptico?
- 4) ¿De qué factores depende el poder de resolución?
- 5) ¿Qué representa la apertura numérica de un lente?
- 6) ¿Cuál es el efecto del uso del condensador en un microscopio óptico?
- 7) En un microscopio óptico de campo oscuro los microorganismos se ven brillantes sobre un fondo oscuro. ¿A qué se debe esto?, ¿Cuáles son las diferencias con el microscopio de campo claro?
- 8) ¿Por qué son retrasados los rayos de luz al pasar por una célula?, ¿Cómo se utiliza este efecto en el microscopio de contraste de fases?
- 9) ¿Cuál es objetivo de inmersión o húmedo y por qué recibe ese nombre?
- 10) ¿En el microscopio de fluorescencia cuál es la fuente de luz?
- 11) ¿Cuál es la diferencia entre el microscopio electrónico de Barrido y el de Transmisión ?
- 12) ¿Por qué los microscopios electrónicos poseen mayor resolución que los ópticos?
- 13) Usando un microscopio óptico de un poder de resolución de $0.3\mu\text{m}$, lentes oculares 10X y objetivo de inmersión 100X. Usted sería capaz de discernir, ¿Dos objetos separados por $3\mu\text{m}$, $0.3\mu\text{m}$ o $300\mu\text{m}$?

2. TINCIONES

- 1) ¿Para qué se utilizan las tinciones en Microbiología?
- 2) ¿Cuál es la diferencia entre una tinción diferencial y una simple?
- 3) ¿Cuál es la importancia de la fijación al realizar una tinción? ¿Qué métodos de fijación conoces?
- 3) ¿Qué sucede si a un cultivo envejecido de *Bacillus* sp. se le realiza una tinción de Gram?
- 4) ¿Cómo espera observar las bacterias luego de la tinción de Gram si se olvida de realizar el paso de decoloración ?.
- 5) ¿Qué sucederá si no se calienta en presencia del colorante en las tinciones de ácido resistencia y esporas?.
- 6) ¿Por qué no se tiñen las células ácido alcohol resistentes por la coloración de Gram?.
- 7) ¿Qué características debe tener un colorante para ser empleado en una tinción negativa?.
- 8) Las tinciones de Gram, esporas y Ziehl Neelsen (Ácido Alcohol resistentes) permiten determinar diferencias estructurales en células de distintos géneros. ¿Cuáles son esas diferencias y cuál es el paso de cada coloración que las pone en evidencia ? . ¿Qué tipos de colorantes se utilizan en cada caso ?.

9) *Bacillus subtilis* presenta color violeta al microscopio óptico luego de una tinción de Gram y color rosado al efectuarse una coloración de esporas. ¿ Por qué motivo el cristal violeta en el primer caso y la safranina en el segundo tiñen la bacteria de esa manera ?.

10) Indique cual o cuales de las tinciones realizadas en los trabajos prácticos ponen en evidencia diferencias estructurales de la pared bacteriana. Explique brevemente.

11) Diga si las siguientes afirmaciones son verdaderas o falsas y justifique su respuesta.

a) En una tinción negativa los colorantes utilizados tienen afinidad sólo por la pared bacteriana.

b) En la tinción de esporas el verde de malaquita no tiñe el citoplasma celular porque es removido por los solventes orgánicos que se utilizan en el paso de decoloración.

c) Las células Gram negativas no se tiñen con cristal violeta porque el mordiente no puede atravesar la pared de peptidoglicano.

d) El calentamiento en la coloración de ácido resistencia permite que la fucsina fenolada se combine con el ácido micólico presente en la pared bacteriana.

12) Se dispone de un kit de Gram y un frasco de verde de malaquita. Con estos colorantes podría realizar una tinción para determinar la ubicación de las esporas en una especie de *Bacillus* que se quiere identificar?. Explique.

13) ¿Cuál es el propósito de utilizar un contra colorante?

14) Usted esta tratando de identificar una bacteria Gram negativa desconocida. Cuales de las siguientes tinciones no son necesarias?

a) tinción negativa

b) ácido alcohol resistente

c) tinción de Flagelo

d) tinción de esporas