



**Nombre del alumno: Hernández Morales
Jazmín**

**Nombre del profesor: Gladys Elena
Gordillo Aguilar**

**Nombre del trabajo: Tipos de
Microscopias**

Materia: Microbiología

Grado: 2°B

TIPOS DE MICROSCOPIAS

La microscopia se utiliza en microbiología para dos fines básicos: la detección inicial de microorganismos y la identificación preliminar o definitiva de los mismos. El estudio microscópico de las muestras clínicas se utiliza para detectar células bacterianas, elementos fúngicos, parásitos (huevos, larvas o formas adultas) e inclusiones víricas presentes en las células infectadas.

Microscopia de campo claro (óptica)

Los componentes básicos de los microscopios ópticos son una fuente de luz que se utiliza para iluminar la muestra colocada en una platina, un condensador para enfocar la luz en la muestra y dos sistemas de lentes (lente del objetivo y lente del ocular) que se utilizan para ampliar la imagen de la muestra. En la microscopia de campo claro la muestra se ve mediante transiluminación, de manera que la luz procedente del condensador atraviesa la muestra. Después se amplía la imagen, primero por la lente del objetivo y después por la lente del ocular. La ampliación total de la imagen es el producto de las ampliaciones de las lentes del objetivo y del ocular. Habitualmente se utilizan tres lentes del objetivo diferentes: bajo aumento (aumento de 10 veces), que se puede utilizar para explorar una muestra; alto aumento en seco (40 veces), que se utiliza para buscar microorganismos grandes como parásitos y hongos filamentosos; e inmersión en aceite (100 veces), que se utiliza para observar bacterias, levaduras (fase unicelular de los hongos) y los detalles morfológicos de los microorganismos y las células de mayor tamaño. Las lentes del ocular pueden ampliar aún más la imagen (generalmente de 10 a 15 veces). La limitación de la microscopia de campo claro es la resolución de la imagen (es decir, la capacidad de distinguir que dos objetos están separados y que no son uno solo). La capacidad de resolución de un microscopio está determinada por la longitud de onda de la luz utilizada para iluminar el objeto y el ángulo de la luz que entra en la lente del objetivo (al que se denomina abertura numérica). La capacidad de resolución es máxima cuando se interpone aceite entre la lente del objetivo (habitualmente la lente de 100 ×) y la muestra, porque el aceite reduce la dispersión de la luz. Los mejores microscopios de campo claro tienen una capacidad de resolución de aproximadamente 0,2 μm, lo que permite ver la mayoría de las bacterias, pero no los virus. Aunque la mayoría de las bacterias y los microorganismos de mayor tamaño se pueden ver mediante microscopia de campo claro, los índices de refracción de los microorganismos y el fondo son similares. Por tanto, los microorganismos se deben teñir con un colorante para poder observarlos, o se debe utilizar un método microscópico alternativo.

Microscopia de campo oscuro

En los microscopios de campo oscuro se utilizan las mismas lentes del objetivo y del ocular que en los microscopios de campo claro; sin embargo, se utiliza un condensador especial que impide que la luz transmitida ilumine directamente la muestra. Sólo la luz oblicua y dispersa llega a la muestra y atraviesa los sistemas de las lentes, lo que hace que la muestra esté muy iluminada sobre un fondo negro. La ventaja de este método es que la capacidad de resolución de la microscopia de campo oscuro es significativamente mayor que la de la microscopia de campo claro (es decir, 0,02 mm en comparación con 0,2 mm), lo que posibilita la detección de bacterias muy delgadas, como *Treponema pallidum* (microorganismo causal de la sífilis) y el género *Leptospira* (leptospirosis). La desventaja de este método es que la luz pasa alrededor de los microorganismos y no los atraviesa, lo que dificulta ver detalles de su estructura interna.

Microscopia de contraste de fases

La microscopia de contraste de fases permite examinar los detalles internos de los microorganismos. En esta forma de microscopia, como se hacen pasar haces de luz paralelos a través de objetos de densidades diferentes, la longitud de onda de un haz se «desfasa» en relación con el otro haz de luz (es decir, el haz que atraviesa el material más denso se retrasa más que el otro). Mediante el uso de anillos anulares en el condensador y en las lentes del objetivo se amplifican las diferencias de fases, de modo que la luz en fase parece más brillante que la luz fuera de fase. Esto crea una imagen tridimensional del microorganismo o de la muestra y permite un análisis más detallado de las estructuras internas.

Microscopia f

Algunos compuestos, denominados fluorocromos, pueden absorber la luz ultravioleta o ultravioleta de longitud de onda corta y emitir energía con una longitud de onda visible y mayor. Aunque algunos microorganismos tienen fluorescencia natural (autofluorescencia), la microscopia fluorescente habitualmente supone la tinción de los microorganismos con colorantes fluorescentes, y después su estudio con un microscopio fluorescente una lámpara de vapor de mercurio, de un halógeno o de xenón a presión elevada que emite una longitud de onda de luz más corta que la que emiten los microscopios de campo claro tradicionales. Se utiliza una serie de filtros para bloquear el calor que genera la lámpara, eliminar la luz infrarroja y seleccionar la longitud de onda adecuada para excitar el fluorocromo. Posteriormente la luz que emite el fluorocromo se amplifica con las lentes del objetivo y del ocular tradicionales. Los microorganismos y las muestras teñidos con fluorocromos aparecen brillantes sobre un fondo oscuro,

aunque los colores varían dependiendo del fluorocromo seleccionado. El contraste entre el microorganismo y el fondo es suf grande como para que se pueda realizar una búsqueda rápida del microorganismo con bajo aumento y después el material se explora con mayor aumento, una vez que se ha detectado fluorescencia.

Microscopia electrónica

Al contrario que otras formas de microscopia, en los microscopios electrónicos se utilizan bobinas magnéticas (y no lentes) para dirigir un haz de electrones desde un filamento de tungsteno a través de una muestra y hacia una pantalla. Dado que la longitud de onda en este caso es mucho más corta que la de la luz, la resolución y la ampliación mejoran drásticamente. Con microscopia electrónica se pueden ver partículas víricas individuales (en contraposición con los cuerpos de inclusión víricos). Las muestras habitualmente se tiñen o se recubren con iones metálicos para crear contraste. Hay dos tipos de microscopios electrónicos: microscopios electrónicos de transmisión, en los cuales los electrones, igual que la luz en los microscopios ópticos, atraviesan directamente la muestra, y microscopios electrónicos de barrido, en los que los electrones rebotan en la superficie del determinado ángulo.