

Preparación de un frotis bacteriano

Se denomina frotis a la extensión que se realiza sobre un portaobjetos de una muestra o cultivo con objeto de separar lo más posible los microorganismos, ya que si aparecen agrupados en la preparación es muy difícil obtener una imagen clara y nítida. Este frotis debe ser posteriormente fijado al vidrio del portaobjetos para poder aplicar los métodos habituales de tinción que permiten la observación al microscopio de las bacterias sin que la muestra sea arrastrada en los sucesivos lavados. La fijación de una extensión bacteriana hace que las bacterias queden inactivadas y adheridas al vidrio alterando lo menos posible la morfología bacteriana y las posibles agrupaciones de células que pudiera haber.

Realización del frotis

Colocar una pequeña gota de agua en el centro de un portaobjetos limpio. Se necesita muy poca cantidad de agua, por lo que se puede usar el asa de siembra, ya que en el extremo curvo de su filamento queda retenida una mínima gota de agua, que resulta suficiente.

Flamear el asa de siembra, tomar, en condiciones asépticas, una colonia del cultivo bacteriano en medio sólido y transferirlo a la gota de agua. Remover la mezcla con el asa de siembra hasta formar una suspensión homogénea que quede bastante extendida para facilitar su secado.

Si la muestra se toma de un cultivo en medio líquido, no es necesario realizar los dos primeros pasos ya que basta con colocar y extender una gota de la suspensión bacteriana, que se toma con el asa de siembra, directamente sobre el portaobjetos.

Esperar hasta que el líquido se evapore o acelerar su evaporación acercando el porta a la llama del mechero. En este caso hay que tener mucha precaución de no calentar demasiado el porta pues las células pueden deformarse o romperse.

Fijación de las bacterias al portaobjetos

Por calor: Pasar tres veces el portaobjetos por la llama durante unos segundos. Dejar enfriar el porta entre los pases.

Con metanol (para bacterias procedentes de medio líquido). Añadir unas gotas de metanol sobre la extensión completamente seca. Golpear el portaobjetos por su canto con cuidado contra la mesa de trabajo para retirar de inmediato el exceso de metanol. Esperar a que el metanol se evapore completamente.

Una vez realizado el frotis y fijadas las bacterias, las preparaciones pueden ser observadas al microscopio, aunque carecen de contraste. Lo normal es continuar con el proceso de tinción