

OBSERVACIÓN DE BACTERIAS: TINCIÓN DE GRAM (SERRAPIO DENTAL, IOGUR)

Fundamento teórico:

Nesta tinción fórmase un complexo violeta-iodo, insoluble dentro da célula, que só é extraído polo alcohol nas bacterias Gram -. As bacterias Gram + teñen unhas paredes celulares moi grosas que se deshidratan polo alcohol, o que pecha os seus poros evitando que os complexos violeta-iodo saian das células.

Comprobase que máis que a composición química é a estrutura física da parede a que confire a característica Gram + ou Gram -. Así os lévedos que teñen unha grossa parede celular, con composición química diferente á das bacterias, tamén son organismos Gram +.

Material:

- | | |
|---------------------------------|-------------------------------|
| ■ Microscopio | ■ Solución de cristal violeta |
| ■ Mechero de alcohol | ■ Lugol |
| ■ Portaobxectos e cubreobxectos | ■ Etanol 95% |
| ■ Escarvantes | ■ Safranina |

Método:

Prepara as mostras seguindo estes pasos:

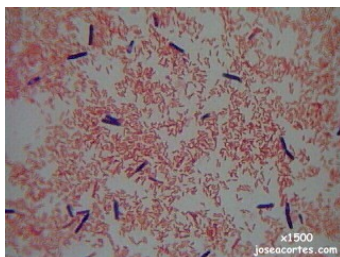
a) *Obtención e fixación da mostra*

1. Nunhas gotas de auga colocadas sobre un portaobxectos, dissolve unha pequena cantidade de iogur coa axuda dun escarvantes. Fai o mesmo coa mostra de serrapio dental extraído da boca de alguén.
2. Prepara unha fina extensión (*frotis*), noutros portaobxectos, deixándoos secar.
3. Fixa este frotis dándolle varios pases aos portaobxectos sobre a chama do mechero, coa mostra cara arriba.

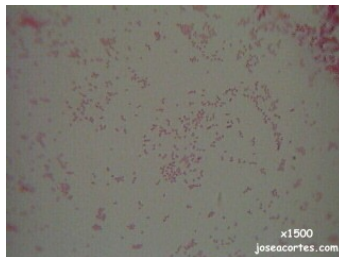
b) *Tinción*: tinxe agora os frotis fixados mediante os seguintes pasos:

1. Cobre ambos frotis con cristal violeta durante 3 min. Retira o colorante mediante un suave lavado con auga, deslizando a auga sobre o porta, para non desprender a mostra. Cobre agora con Lugol durante 1 min., e despois realiza outro lavado suave. Todas as células tinxíranse de violeta.
2. Retira o colorante co etanol, goteándoo polo portaobxectos, ata que as gotas que saen non teñan case cor. As células Gram - perden o colorante violeta e quedarán incoloras. As Gram + seguirán violetas.
3. Engade unha gota de auga á preparación e cobre as preparacións 2 min. con safranina (colorante de contraste). Finalmente, lava o colorante con auga. Este colorante só entrará nas bacterias Gram negativas, que quedarán vermellas. As Gram + seguirán violetas.

Seca as preparacións sobre papel de filtro e obsérvaaas co microscopio utilizando o obxectivo de inmersión. Nesta tinción diferencial as bacterias Gram - aparecen vermellas e as Gram + violeta.



Gram mixta



Gram negativas



Gram positivas