

## PRÁCTICA : Observación de bacterias: Tinción de Gram

**Fundamento:** Nesta tinción fórmase un complexo violeta-yodo, insoluble dentro da célula, que somentes é extraído polo alcohol nas bacterias Gram-. As bacterias Gram+ teñen unhas paredes celulares moi grosas que deshidrántanse polo alcohol, o que pecha os seus poros evitando que os complexos violeta-yodo saian das células.

### Material

#### Iogur

Solución de cristal violeta

Mecheiro de alcol

Lugol

Porta e cubreobxetos

Etanol 95%

Palillos

Safranina

Microscopio

### Procedemento

- 1. Nunhas gotas de auga colocadas sobre un portaobxetos, dissolve unha pequena cantidade de iogur coa axuda dun paliño hixiénico. Fai o mesmo coa mostra de serrapio dental extraído da boca de alguén.*
- 2. Prepara unha fina extensión (frotis), noutros portas, deixándoos secar.*
- 3. Fixa este frotis dándolle varios pases aos portas sobre a chama do mecheiro, coa mostra cara enriba.*
- 4. Cubre ambos frotis con cristal violeta durante 3 min. Retírase o colorante mediante un suave lavado con auga, deslizando o auga sobre o porta, para non desprender a mostra. Cúbrese agora con Lugol durante 1 min., e despois realízase outro lavado suave. Tódalas células tinguiranse de violeta.*

*5. Retira o colorante co etanol, goteándoo polo portaobxetos, ata que as gotas que saen non teñan casi cor. As células Gram- perden o colorante violeta e quedarán incoloras. As Gram+ seguirían violeta.*

*6. Añade unha gota de auga á preparación e cubre as preparacións 2 min. con safranina (colorante de contraste). Finalmente, lava o colorante con auga. Este colorante só entrará nas bacterias Gram-, que quedarán roxas. As Gram+ seguirán violetas.*

**7. Seca as preparacións sobre papel de filtro e observaas co microscopio utilizando o obxectivo de inmersión. En esta tinción diferencial as bacterias Gram- aparecen roxas e as Gram+ violeta.**