UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHIAPAS

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
CAMPUS IV
OCOZOCOAUTLA DE ESPINOZA.
LABORATORIO DE BIOLOGIA CELULAR

Catedrático:

Dra. Ana Olivia cañas Urbina.

PRACTICA No. 3:

TINCIONES

Equipo:

-Gómez Jiménez Marbella Guadalupe-

-López Ruiz Luis Daniel-

-Silias Farelo Cinthia del Rocio-

2° semestre grupo "A"

Fecha de Entrega: miércoles 22 de abril del 2015
Calificación:

Evaluación.		
Trabajo de Investigación		
Examen de laboratorio		
Reporte de Práctica		

Promedio		

REPORTE DE PRÁCTICA

Objetivo

Que el alumno aprenda a hacer una tinción, para poder observar células en el microscopio de una forma más clara.

Material

Asa de platino
Mechero
Porta objetos
Microscopio
Tubo de ensaye
Caja Petri (con cultivo)
Gotero

Colorante

s

Solución salina

Azul- violeta

Lugol

Alcohol cetona

Safranina.

INTRODUCCION

La tinción es una técnica en la que se utilizan diferentes colorantes, que son captados por las estructuras de las muestras biológicas que se observan al microscopio, siendo cada estructura a fin a un tipo determinado de colorante, por lo que se pigmentan de diferente color y se pueden diferenciar e identificar.

La mayoría de los colorantes son compuestos orgánicos que tienen alguna afinidad específica por los materiales celulares. Muchos colorantes utilizados con frecuencia son moléculas cargadas positivamente (cationes) y se combinan con intensidad con los constituyentes celulares cargados negativamente, tales como los ácidos nucleicos y los polisacáridos ácidos. Ejemplos de colorantes catiónicos son el azul de metileno, el cristal violeta y la safranina. Otros colorantes son moléculas cargadas negativamente (aniones) y se combinan con los constituyentes celulares cargados positivamente, tales como muchas proteínas. Esos colorantes incluyen la eosina, la fucsina ácida y el rojo Congo.

La tinción de Gram: Hans Cristian Gram en l884 inventó un método de tinción diferencial es uno de los métodos más importantes en el laboratorio Se utilizan varios colorantes combinados. Su utilidad práctica es indiscutible y en el trabajo microscópico de rutina del laboratorio de microbiología las referencias a la morfología celular bacteriana (cocos, bacilos, positivos y negativos) se basan en la tinción de Gram.

Las estructuras celulares se diferencian en función de los diferentes colorantes que fijan de acuerdo con su propia constitución química.
En lo relativo a la coloración, de microorganismos son Gram positivos cuando aparecen teñidos de color azul-violeta y de Gram negativo cuando se visualizan de color rojo-rosado.

¿Para qué sirve la tinción de GRAM?

Hans Christian Gram.

Es un prueba de laboratorio en donde los Químicos utilizamos diferentes colorantes para detectar e identificar bacterias en una muestra de materia fecal y en algunas veces la utilizamos para diagnóstico rápido de infecciones bacterianas. Donde las bacterias por las propiedades físicas de sus paredes celulares y química mediante la detección de peptidoglicano, que está presente en una capa espesa en las bacterias Gram positivas. Unos resultados Gram positivos en un color púrpura/azul, mientras que un resultado Gram negativos en color rosa/rojo.

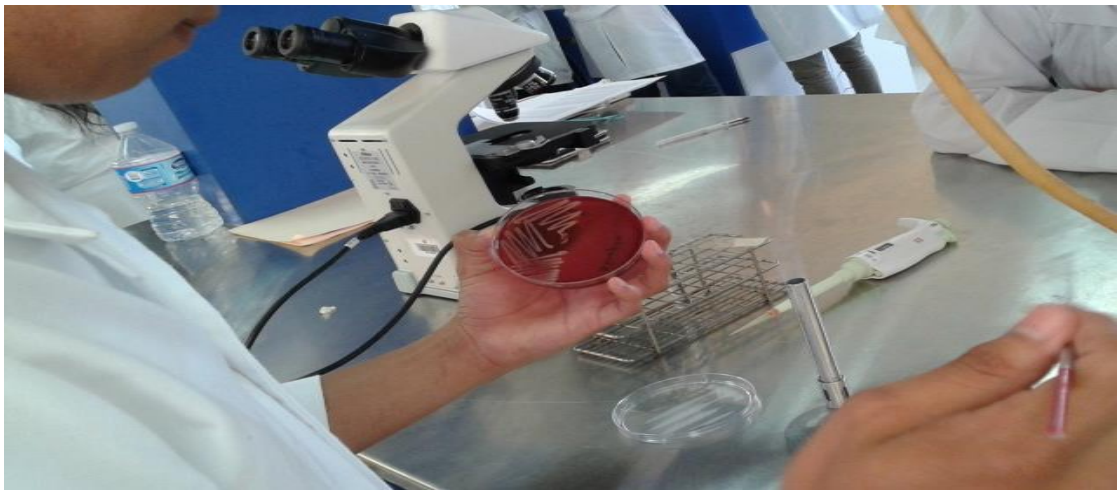
Procedimiento.

1. Limpia bien la laminilla con agua y jabón. Puedes utilizar unas pinzas para calentar la laminilla en el mechero.
2. Desinfecta el asa (aguja de inocular) en el mechero. Obtén el cultivo con los microorganismos:

Pueden estar sembrados en agar nutriente (placa Petricon medio que se ve sólido). Con el asa (desinfectada) obtén una gota de estos (si los mismos estan en un caldo nutriente) o puedes obtener con la aguja de inocular en punta una pequena muestra del cultivo si estan en agar. Transfiere a la laminilla limpia la muestra del cultivo. Desinfecta el asa nuevamente.

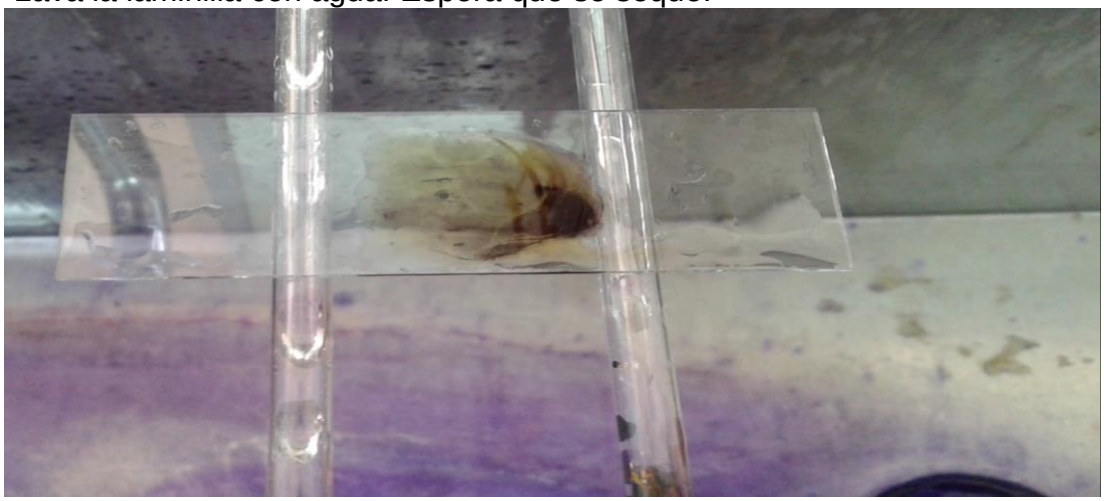
OJO: Si las bacterias entran en agar deberás hechar una gota de agua estéril a la laminilla antes de transferir las bacterias del agar a la laminilla.

Pasar la laminilla por la flama varias veces muy rápido y esperar que la muestra se seque.

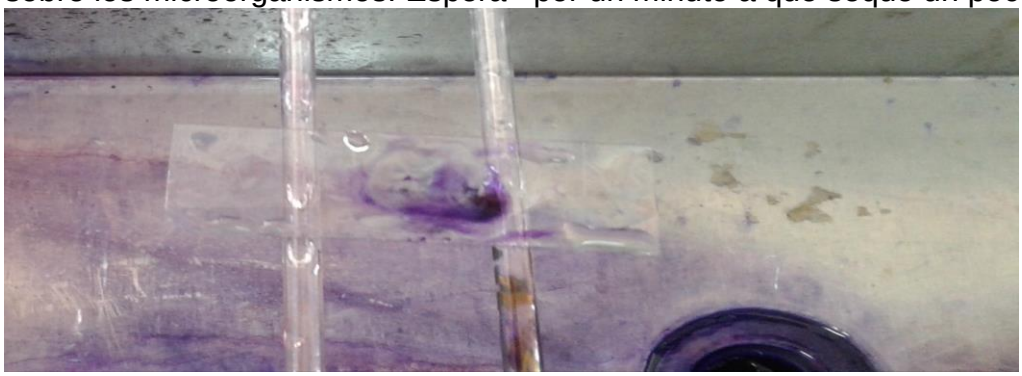


3. Obtener el cristal violeta y añadir una gota a la laminilla, sobre los microorganismos. Espera por un minuto a que seque un poco el tinte.
4. Lava la laminilla con agua. Espera que se seque.

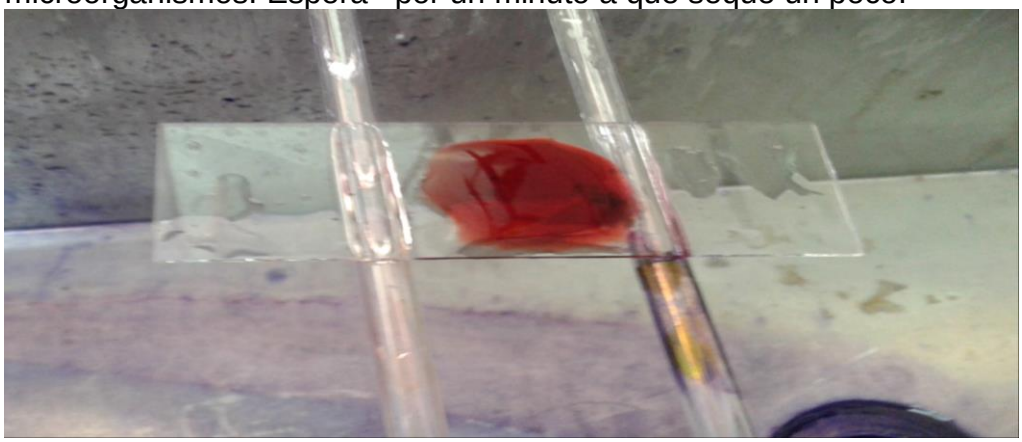
5. Obtener el tinte y colocar una gota sobre la laminilla, sobre los microorganismos. Espera por un minuto a que seque un poco el tinte.
6. Lava la laminilla con agua. Espera que se seque.



7. Obtener el Alcohol o descolorizante y colocar una gota sobre la laminilla, sobre los microorganismos. Espera por un minuto a que seque un poco.



8. Lava la laminilla con agua. Espera que se seque.
9. Obtener la safranina y colocar una gota sobre la laminilla, sobre los microorganismos. Espera por un minuto a que seque un poco.



10. Lavar con agua y esperar que seque. La laminilla esta lista para observarse por microscopio.

Resultados.

En esta práctica se realizó tinción Gram en el cual nos dio como resultado un Gram (+) ya que en las observaciones en el microscopio con los diferentes enfoques con los objetivos vimos que nos dio de un color azul- violeta y esto porque las Gram (+) se deshidratan los poros y se cierran y así retienen el complejo cristal violeta/yodo y por consiguiente este color (azul-violeta) Las bacterias que logramos ver fueron Estreptococos.

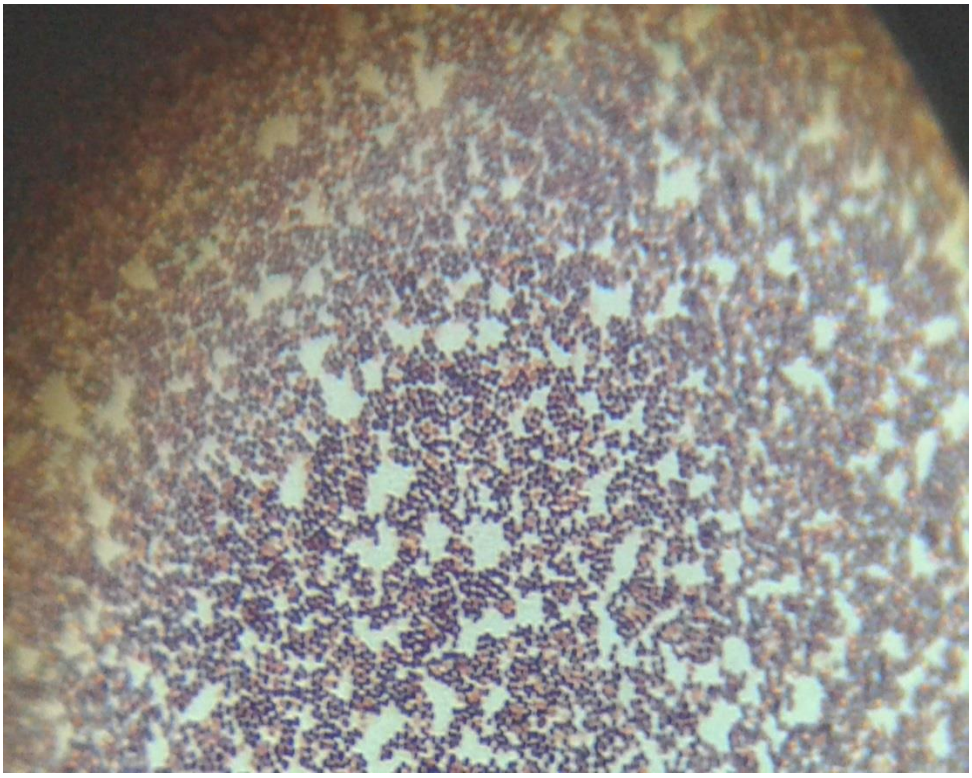


Imagen tomada desde un microscopio óptico a 40x con un celular SAMSUMG COREL 2.

En la primera imagen logramos observar a las células todas amontonadas, sin notar una diferencia de colores exacta entre ellas, como para diagnosticar que era un GRAM posiotivo (+) o negativo (-).

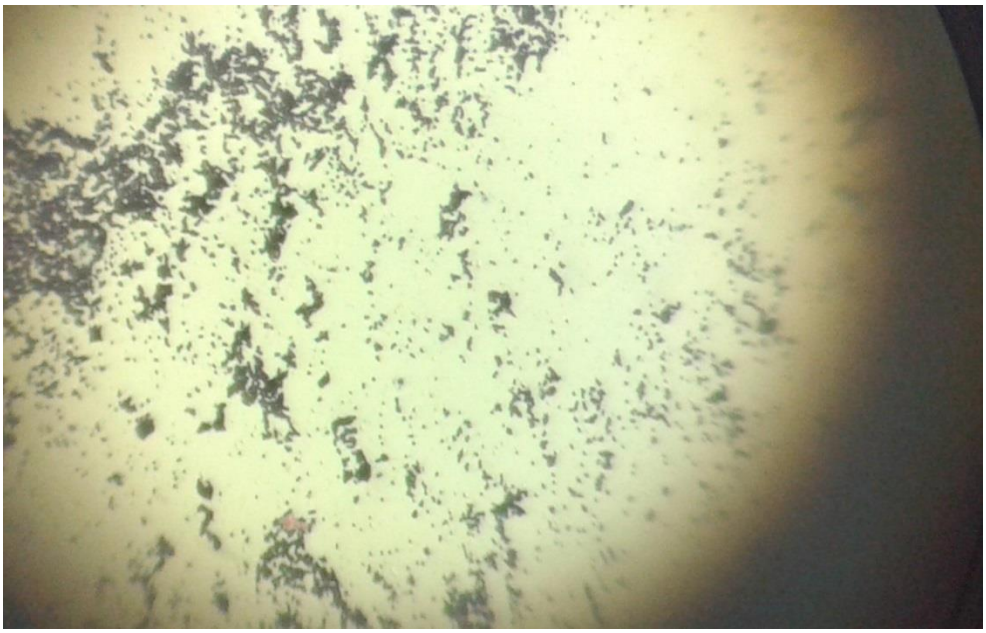


Imagen tomada desde un microscopio óptico a 100x con un celular SAMSUMG COREL 2.

En esta foto fue impresionante pues cambio de forma gradual de nuestra visión de los resultados, el color era más definido y las células estaban más separadas como para notar el color morado de las células. Ahora podemos dar con toda confianza que nuestros resultados son:

GRAM POSITIVO (+)

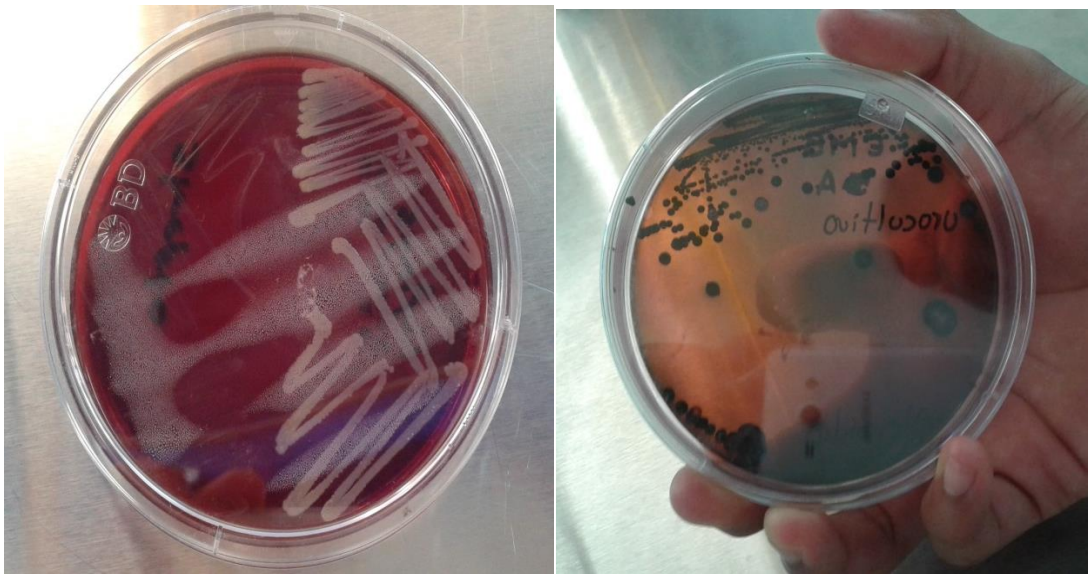


Imagen capturada con un telefono SAMSUMG COREL 2.

El primer cultivo es de donde obtuvimos nuestra muestra.

Discusión de resultados

Se debió cuidar la muestra para no quemar y al mismo tiempo no dejarla sin fijarla bien esto no llevo a que algunos compañeros se les juntaran grumos o no vieran nada en el microscopio. En el momento de lavado también hubo detalles ya que no llevan bien el control de tiempo pero al final si logramos nuestro objetico. Otro punto importante que resaltaremos es el aceite de inmersión que al velo con el objetivo de 100x nos permitió una mejor visión en comparación a la última vez en la cual no utilizamos este aceite.

Referencias:

UNAM. (S.F). Estructura microbiana. 22 de abril del 2015, de Departamento de Fisicoquímica de la UNAM Sitio web: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Estructura_13084.pdf

Universidad Bayamon. (S.F). Como elobrara una buena tincion de GRAM. 22 de abril del 2015, de Facultad de Bayamon Sitio web: http://facultad.bayamon.inter.edu/amlugo/biol2013/gram.htm

Mediplus. (2015). Tinción de Gram. 21 de abril del 2015, de Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU Sitio web: http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003757.htm

Todo lo que puedas saber para todos.. (S.F). Historia de la tinción de AGram. 21 de abril del 2015, de Todo lo que puedas saber para todos. Sitio web: http://lasaludfamiliar.com/caja-de-cerebro/conocimiento-124.html