

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHIAPAS

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

LABORATORIO DE BIOLOGIA CELULAR

PRACTICA No. 3

TINCIONES

Alumnos(as): Karla Ayde Sánchez Guillen
Erika Vanessa Molina Murillo
Yatzeny Gpe. Ruiz Molina
Tomas Alejandro López Escobar
Obet Maza Nafate
Daniel Iván Capetillo Guillen
Eddie Geovanny López Martínez

Profesor(a): Dra. Ana Olivia Cañas Urbina

Grupo: Segundo Semestre

Escuela

Facultad de Ciencias Químicas ext. Ocozocoautla.

Fecha de Entrega: miércoles 22 de abril del 2015

Calificación:

CUADRO DE EVALUACIÓN		
Trabajo de Investigación		
Examen de laboratorio		
Reporte de Práctica		
Promedio		

REPORTE DE PRÁCTICA

Introducción

Para empezar las tinciones es una técnica auxiliar utilizada en microscopía para mejorar el contraste en la imagen vista al microscopio. Los colorantes y tinturas son sustancias que usualmente se utilizan en biología y medicina para resaltar estructuras en tejidos biológicos que van a ser observados. Existen de hecho antes que los medios de cultivos. Hoy en día siguen siendo una parte esencial en el diagnóstico microbiológico en la práctica totalidad de los laboratorios.

Los diferentes colorantes pueden ser utilizados para aumentar la definición y examinar grandes cortes de tejido (resaltando por ejemplo fibras musculares o tejido conectivo), poblaciones celulares (por ejemplo clasificando diferentes células sanguíneas) o incluso para resaltar organelos dentro de células individuales. Esta importante coloración diferencial fue descubierta por Hans Christian Gram en 1884. En este método de tinción, la extensión bacteriana se cubre con solución de uno de los colorantes de violeta de metilo, que se deja actuar durante un lapso determinado

Una tinción de Gram es un examen utilizado para identificar bacterias. Es una de las formas más comunes de diagnosticar rápidamente una infección bacteriana en el cuerpo. Utiliza varios colorantes (cristal violeta, Yodo lugol, lavado con alcohol-acetona, Safranina)

Yodo Lugol: para observar la forma en la que la membrana celular hace ósmosis, fagocitosis y difusión.

Violeta de metilo penetra en todas las células bacterianas (tanto gram positivas como gram negativas) a través de la pared bacteriana. La mezcla de alcohol-acetona que se agrega, sirve para realizar la decoloración, ya que en la misma es soluble el complejo I₂/cristal violeta. Los organismos gram positivos no se decoloran, mientras que los gram negativos sí lo hacen. En medicina, el violeta de metilo 10B es conocido como violeta de genciana y es el ingrediente activo en el colorante de Gram, usado para clasificar bacterias. El violeta de genciana destruye células, y es usado en desinfectante de intensidad moderada externo.

Alcoholes sirven frecuentemente como versátiles intermediarios en la síntesis orgánica.

Safranina es un colorante biológico, de contraste que se utiliza en la Tinción de Gram para proporcionar un color violeta más intenso a las bacterias Gram+ y tinte de rosa a las bacterias Gram- ; en histología y en citología. La safranina se usa como líquido de contraste en algunos protocolos de tinción, coloreando el núcleo celular de rojo. También para detectar cartílago, mucina y gránulos de mastocitos. Sirve para hacer una tinción de contraste que pone de manifiesto las bacterias gram negativas. Al término del protocolo, las gram positivas se verán azul-

violáceas y las gram negativas, se verán rosas (si no se hizo la tinción de contraste) o rojas (si se usó, por ejemplo, safranina).

Objetivo

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

Material

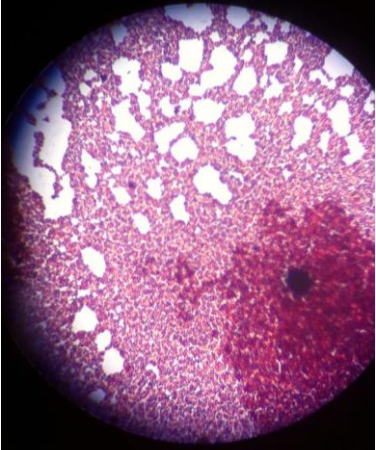
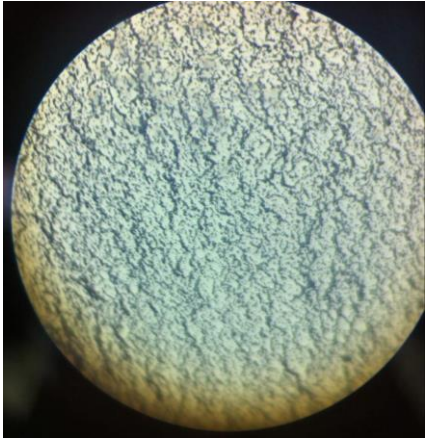
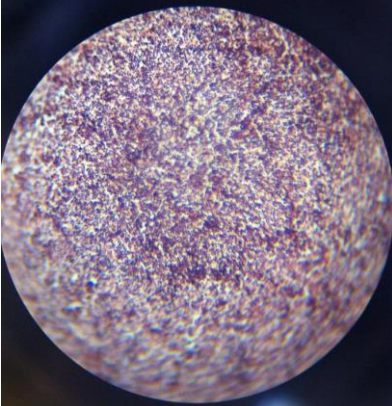
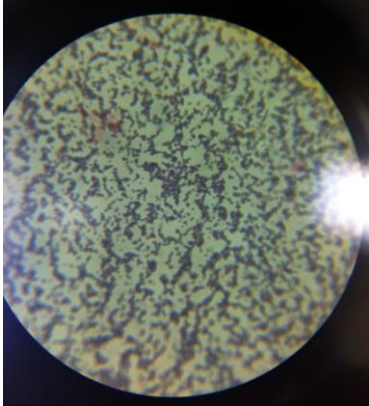
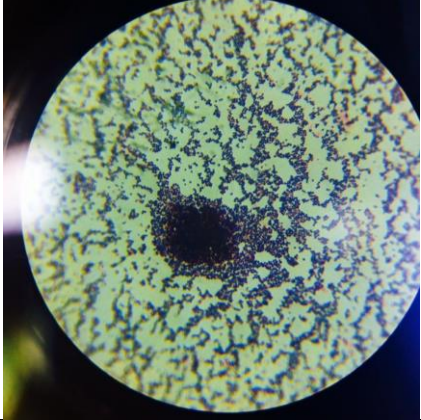
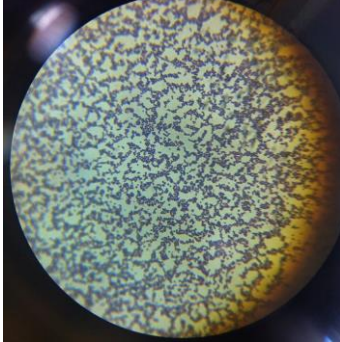
Asa de platino
Mechero
Porta objetos
Microscopio
Tubo de ensaye
Caja Petri (con cultivo)
Gotero

Colorantes

Solución salina
Azul- violeta
Lugol
Alcohol cetona
Safranina

Resultados

Se obtuvieron las siguientes tinciones, se puede notar la diferencia de algunos frotis y la manera en que se realizó la tinción, porque en algunos al momento de lograr un enfoque en el microscopio se nota la diferencia de los microorganismos juntos a otros muy separados y con mejor visualización de cada uno de ellos.

Muestra	Objetivo 40X	Objetivo 100X
<p>Tinción Microorganismos muy juntos</p>		
<p>Tinción Microorganismos Separados</p>		
		
		

Discusión de Resultados

Se obtuvieron diferentes tinciones, debido a la cantidad de muestra y sustancia salina que se aplicó al momento de hacer el frotis (porta objeto con muestra), también se debió en cómo se realizó cada paso de la tinción, respecto al tiempo de fijación (el cual se debió cuidar para no quemar la muestra y al mismo tiempo no dejarla poco fijada), se realizó un mal enjuague después de cada colorante, lo cual provocó que algunas tinciones se lograran ver en el microscopio microrganismos muy juntos y con reflejo del colorante anterior (en este caso reflejo del colorante safranina).

Las bacterias que logramos ver fueron *Estreptococos* Gram + las cuales al momento de teñirlas se tonan de color azul-violeta, esto se debe a que poseen pared celular gruesa de peptidoglucanos esto hace que el azul violeta sea detenido ahí.

Conclusiones

Se logró realizar una buena tinción de Gram, logrando aprender los pasos que esta conlleva, aunque se cometieron pequeños errores, el más común fue, colocar mucha muestra y mucha solución salina sobre el portaobjetos, pero al mismo tiempo hubo un mejor manejo del microscopio, debido al mejor uso de los objetivos así logrando un buen enfoque, en especial utilizando el objetivo 100X con aceite de inmersión, esto permitió una mejor visión en comparación a la última vez en la cual no utilizamos aceite de inmersión.

Referencias

Jaime Diaz , E. (s.f.). *Diagnostico de las infecciones en tiempo real*. Recuperado el 21 de abril de 2015, de <http://www.helicobacterspain.com/congresos/j-esteban.pdf>