

Observació de morfologia típica de bacteris esfèrics, bacils i endospores en bacils. Pràctiques 6, 7 i 8

Inici i final pràctiques:04-12-03 Lliurament:11-12-03 Oscar Javier Puerta

Pràctica 6

Objectiu:

Observar microscòpicament la morfologia dels bacteris esfèrics (coccs) en formació de tètades usant la tècnica de tinció Gram als bacteris *Micrococcus Luteus*.

Fonament teòric:

La tinció gram serveix per a diferenciar dos tipus de bacteris, aquells que són Gram + i aquells que són Gram -. Els gram + es veuen de color blau - violeta i els gram - es veuen de color vermell - rosa.

Un frotis serveix per a fixar la mostra a un lloc mitjançant calor per a la seva observació o posteriors mètodes de tinció i visió.

Material:

- Placa de cultiu de *Micrococcus luteus*.
- Portaobjectes
- Joc de tinció Gram
- Cubeta de tincions
- Paper secant
- Bec Bunsen
- Nansa de sembra o de Kohle
- Aigua destil·lada
- Microscopi i lent d'immersió
- Oli d'immersió

Procediment:

Primer es munta la pràctica i es comença elaborant el frotis, tenint en cura que es treballa en el radi d'asèpsia del bec Bunsen i que no toqui la tapa de la placa de petri a la taula per a no contaminar la mostra. Quan acabem de fer el frotis, comencem la tinció Gram posant primer el cristall violeta i que actui 1min. Després es treu l'excés amb aigua destil·lada. S'afegeix lugol durant 30seg./1min. Es decolora amb etanol i aigua destil·lada. S'afegeix el colorant de contrast, la safranina, durant 1min. Rentar amb aigua destil·lada, assecar la mostra i posar-la al microscopi amb l'oli d'immersió i l'objectiu de 100x.

Observació:

Cocs en forma de tètades

Tinció Gram i visió a 100x amb oli d'immersió.

Bacteris Gram +. (blau - violeta)

Resultat:

El resultat es una visió de les formes en que s'agrupen aquest tipus de cocs, en formes de quadrat o tetrade, encara que hi havia en formes més agrupades o més aïllades.

Pràctica 7

Objectiu:

Observar microscòpicament la morfologia dels bacils mitjançant la tinció àcid-resistent usant els bacils *Mycobacterium Phlei*.

Fonament teòric:

Aquesta tècnica permet diferenciar la resistència d'alguns bacteris a ser decolorats per una solució àcid-alcohol. Aquesta característica es deguda a la presència d'un elevat contingut de lípids anomenats àcids micòlics que es troben a la paret cel·lular i que fan disminuir la permeabilitat dels colorants.

Material:

- Cubeta de tincions
- Portaobjectes
- Nansa de sembra
- Paper de filtre o secant
- Placa de cultiu de *Mycobacterium Phlei*
- Bec Bunsen
- Pinces
- Colorant de fucsina
- Solució àcid-alcohol
- Blau de metilè
- Aigua destil·lada
- Microscopi i lent d'immersió (100x)
- Oli d'immersió

Procediment:

Primer es fa la preparació del frotis. Després es retalla un tros de paper de filtre a la mida del portaobjectes i es col·loca damunt el portaobjectes i el frotis. S'afegeixen unes gotes de fucsina durant 2min i es flameja fins que deixin de sortir vapors blancs (no confondre amb fums de que s'està cremant el paper o la mostra) i repetir el procés fins a 3 vegades.

Després es treu el paper de filtre i l'excés de colorant que quedi al portaobjectes amb la solució àcid-alcohol. Després s'afegeix blau de metilè durant 2-3min i es treu l'excés amb aigua destil·lada. S'asseca la mostra i es posa al microscopi amb l'oli d'immersió i l'objectiu de 100x.

Observació:

Surten amb coloració vermella (àcid-resistent)

Tinció àcid-resistent objectiu 100x i oli d'immersió

Resultat:

Tots els bacteris observats tenen coloració àcid-resistent i, per tant, podem dir que són àcid-resistents o

resistents a ser decolorats.

Pràctica 8

Objectiu:

Observar microscòpicament la morfologia i les endospores dels bacteris *Bacillus Sp.* Usant tinció Gram i tinció d'endospores.

Fonament teòric:

La tinció gram serveix per a diferenciar dos tipus de bacteris, aquells que són Gram + i aquells que són Gram -. Els gram + es veuen de color blau - violeta i els gram - es veuen de color vermell - rosa.

La tinció d'endospores consisteix en tenyir amb un colorant específic (verd de malaquita) i un colorant de contrast (safranina) per a observar la zona del bacteri on es troben les espores.

Material:

- Cubeta de tincions
- Nansa de sembra
- Bec Bunsen
- Paper de filtre
- Placa de cultiu de *Bacillus Sp.*
- Portaobjectes
- Verd de Malaquita
- Safranina
- Joc de tinció Gram
- Aigua destil·lada
- Microscopi i objectiu d'immersió (100x)
- Oli d'immersió

Procediment:

Tinció Gram

Primer es munta la pràctica i es comença elaborant el frotis, tenint en cura que es treballa en el radi d'asèpsia del bec Bunsen i que no toqui la tapa de la placa de petri a la taula per a no contaminar la mostra. Quan acabem de fer el frotis, comencem la tinció Gram posant primer el cristall violeta i que actui 1min. Després es treu l'excés amb aigua destil·lada. S'afegeix lugol durant 30seg./1min. Es decolora amb etanol i aigua destil·lada. S'afegeix el colorant de contrast, la safranina, durant 1min. Renta amb aigua destil·lada, assecar la mostra i posar-la al microscopi amb l'oli d'immersió i l'objectiu de 100x

Tinció d'endospores

Primer es fa el frotis. Després es retalla un tros de paper de filtre a mida del portaobjectes i es col·loca damunt del portaobjectes i la mostra. S'afegeix damunt del paper de filtre i deixar actuar 2min i flamejar fins que desapareguin els fums blancs. Es repeteix dues vegades més. Es treu el filtre i es renta amb aigua destil·lada i s'afegeix safranina durant 2-3min. Es renta amb aigua destil·lada i s'asseca la mostra. Es posa al microscopi i s'observa.

Observació:

Tinció Gram Tinció d'endospores

Bacteris Gram + Endospores

A 100x i oli d'immersió

Resultat:

En la tinció Gram són Gram + i en la d'endospores es veuen de color verd, tal i com indica el resultat teòric que hauria de sortir.

Conclusions:

En la pràctica 6 s'observen cocs, en la 7 bacils i en la 8, endospores. Per a poder observar-les hem tingut de fer tres tipus diferents de tincions, però els resultats són correctes respecte als resultats teòrics donats amb la pràctica.