

MEDIOS DE CULTIVO E TINGUIDURA GRAM

Materia: Bioloxía e Xeoloxía

Curso:

Nome: _____

Data: _____

1. Obxectivos da práctica

- Preparar un **medio de cultivo con agar-agar**.
- Realizar a **sementeira de bacterias** procedentes de diferentes superficies.
- Observar o **crecemento de colonias bacterianas**.
- Diferenciar **bacterias Gram positivas e Gram negativas** mediante tinguída.

2. Materiais

- Agar-agar
- Placas de Petri
- Auga destilada
- Bastonciños estériles
- Asa de sementeira
- Mecheiro ou esterilizador
- Portaobxectos e cubreobxectos
- Microscopio
- Reactivos para a tinguída de Gram
- Mostras de diferentes superficies (picaporte da porta do baño, saída de aire, teléfono móbil, etc.)

3. Procedemento

A) Preparación do medio de cultivo

1. Disolver o agar-agar en auga destilada.
2. Quentar a mestura ata que o agar se disolva completamente.
3. Esterilizar o medio (se é posible nun autoclave).
4. Verter o medio líquido en placas de Petri estériles.
5. Deixar arrefriar ata que o agar solidifique.

Pregunta 1:

Para que serve o agar-agar nun medio de cultivo?

B) Toma de mostras e sementeira

1. Recoller mostras con bastonciños estériles de distintas superficies:
 - Picaporte da porta do baño
 - Saída de aire
 - Teléfono móbil
 - Outra superficie: _____
2. Frotar o bastonciño sobre a superficie do agar na placa de Petri.
3. Pechar a placa e etiquetala.
4. Incubar as placas durante **24–48 horas**.

Pregunta 2:

Por que é importante etiquetar correctamente as placas?

Pregunta 3:

Que cres que ocorrerá despois da incubación?

C) Observación das colonias

Despois da incubación, observar as colonias formadas nas placas.

Superficie analizada Número de colonias Cor Forma

Picaporte do baño

Saída de aire

Móbil

Outra

Pregunta 4:

En que superficie observaches maior crecemento bacteriano?

Pregunta 5:

Por que cres que ocorreu isto?

D) Tinguadura de Gram

1. Preparar unha mostra bacteriana nun portaobxectos.
 2. Realizar a **tinguidura de Gram**.
 3. Observar ao microscopio.
- **Bacterias Gram positivas:** cor violeta.
 - **Bacterias Gram negativas:** cor rosa.

Pregunta 6:

Cal é a principal diferenza entre bacterias Gram positivas e Gram negativas?

Pregunta 7:

De que cor aparecen as bacterias Gram positivas?

Pregunta 8:

De que cor aparecen as bacterias Gram negativas?

4. Conclusións

Pregunta 9:

Que aprendizaches con esta práctica?

Pregunta 10:

Por que é importante lavar as mans e limpar as superficies que usamos diariamente?

Tinción de Gram

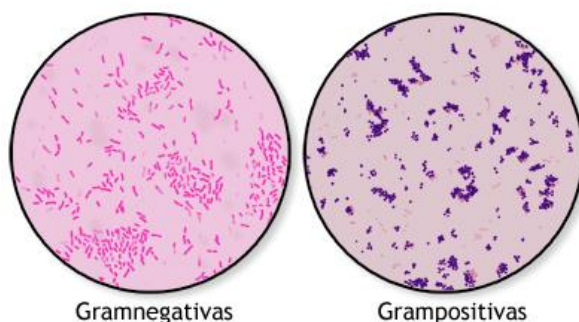
A tinción de Gram é unha técnica de laboratorio fundamental que clasifica bacterias en Gram positivas (violeta) ou Gram negativas (rosa/vermello) segundo a estrutura da súa parede celular. Utiliza cristal violeta, lugol, alcol-acetona e safranina para identificar rapidamente o tipo de bacteria, axudando a guiar o tratamento antibiótico inicial

Principios e Procedemento da Tinción de Gram

- **Fundamento:** Baséase na diferenza da parede celular. As bacterias Gram positivas teñen unha capa grosa de peptidoglicano que retén o complexo cristal violeta-iodo. As Gram negativas teñen unha capa fina e unha membrana externa rica en lípidos que se decolora co alcol-acetona.
- **Pasos Principais:**
 1. Tinción primaria: Cristal violeta (1 min) - tingue todas as células de violeta.
 2. Fixador (Mordente): Lugol (1 min) - forma un complexo co cristal violeta. Fixa tanto ás Gram+ como Gram-
 3. Decoloración: Alcool (etílico 95%) - acetona (segundos) - elimina a cor das Gram negativas. O alcohol dissolve a membrana externa e afecta ao peptidoglicano fino, permitindo que os complexos CV-I morados escapen da parede celular gram negativa. As bacterias gram positivas permanecen moradas tras ser lavadas con alcol, debido ao seu peptidoglicano groso e robusto, que resiste ao alcol e retén os complexos
 4. Tinción de contraste: Safranina (1 min) - tingue as células decoloradas de rosa/vermello.

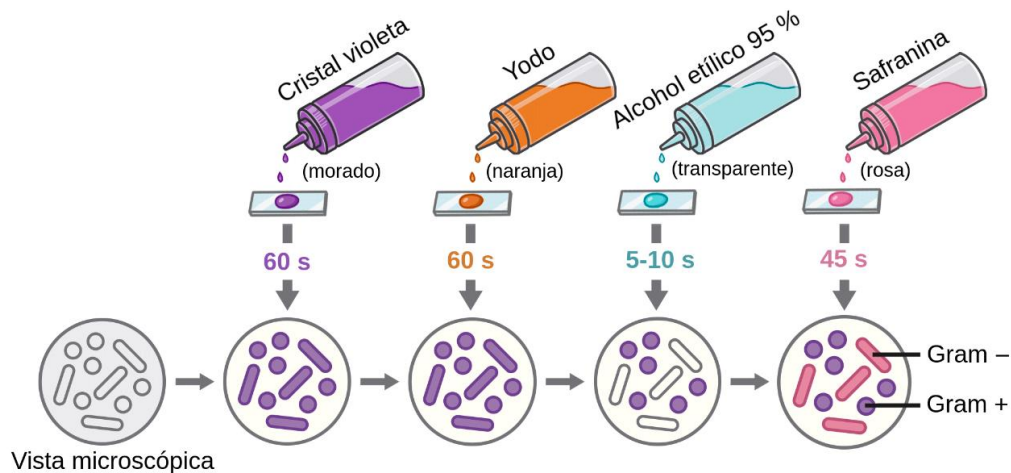
É importante aclarar con auga cada un dos compoñentes químicos despois de cada paso.

- **Resultados:**
 - Gram positivas: Cor violeta ou azul escuro.
 - Gram negativas: Cor rosa, vermello ou fucsia.



ADAM.

En la tinción de Gram se utilizan cuatro reactivos:



Aplicaciones Clínicas e Ejemplos

Esta prueba úsase en muestras como oríñes, sangue, pus ou esputo.

- Gram positivas: *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*.
- Gram negativas: *Escherichia coli* (*E coli*) e *Salmonella*.

La tinción de Gram también permite observar la forma de la bacteria: cocos (redondos) o bacilos (bastoncillos).

Antibiograma

Que é o antibiograma?

O antibiograma é unha proba microbiolóxica que permite determinar a sensibilidade ou resistencia dunha bacteria a distintos antibióticos. Esta análise é fundamental no campo da microbioloxía clínica para guiar o tratamento adecuado de infeccións bacterianas, especialmente no contexto do crecente problema das resistencias antimicrobianas. Seleccionar o antibiótico máis eficaz para tratar a infección, evitando así o uso inapropiado de antimicrobianos.

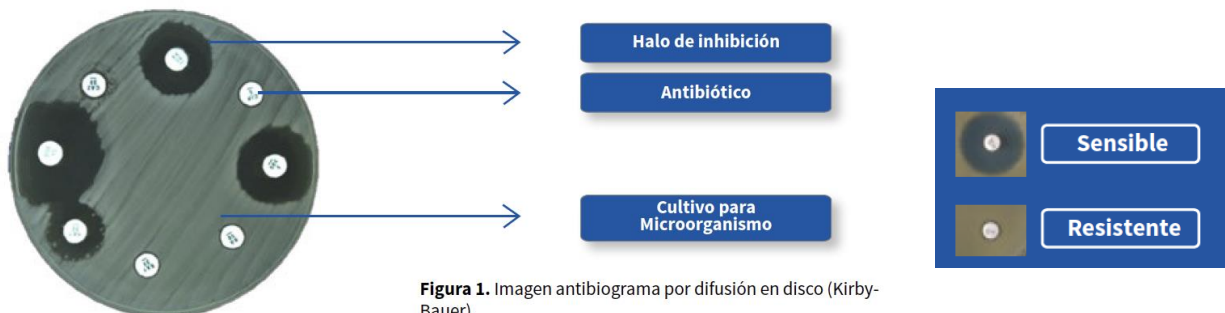


Figura 1. Imagen antibiograma por difusión en disco (Kirby-Bauer).