

Observação microscópica e distinção de bactérias usando o método de coloração Gram.

Como corar bactérias e qual será o seu aspecto?

Como se classificam as bactérias quanto ao tipo de Gram?

Qual a relação entre esta classificação e a estrutura e composição química das suas paredes celulares?

Objectivo:

Observação de células procarióticas. Utilização da técnica de coloração de Gram. Identificação de bactérias utilizando técnica de coloração de Gram.

Introdução

“A observação de microrganismos reveste-se de dificuldades não só devido à sua reduzida dimensão mas, também, porque estes são transparentes e praticamente incolores. Com o propósito de estudar as suas propriedades e/ou de diferenciar os microrganismos em grupos específicos para fins taxonómicos e de diagnóstico, recorre-se normalmente a técnicas de coloração.

A coloração de Gram, desenvolvida em 1884 pelo médico dinamarquês Christian Gram, é um dos métodos de coloração mais aplicados em Bacteriologia. Trata-se de um método de coloração diferencial, dado que permite dividir as bactérias em duas classes - Gram negativas e Gram positivas. É pois uma ferramenta essencial na classificação e diferenciação de bactérias.

Esta diferenciação baseia-se na diferente estrutura e composição, nomeadamente no diferente teor lipídico, da parede celular de bactérias Gram positivas e Gram negativas.”

In <http://www.e-escola.pt>

Procedimento experimental

Recomendações

Ter sempre em conta as regras de funcionamento de laboratório.

É importante guardar o solução de Lugol apropriadamente, de modo a que não fique em contacto com a luz, assegurando assim a eficácia deste reagente para futuras utilizações.

Uma vez que serão utilizados corantes, há ainda a referir que toda a experiencia deve ser feita junto do tabuleiro fornecido, e todos os desperdícios líquidos devem ser mantidos no gobelé.

Materiais necessários

- logurte natural
- Película de vinagre
- Violeta de genciana ou violeta de cristal (corante básico)
- Solução de lugol ou agua iodada (mordente)
- Água
- Mistura de álcool e acenona (4/1) (agente descorante)
- Fuchina básica ou solução de safranina (agente contrastante)
- Lamparina
- Ansa de inoculação ou agulha lanceolada
- MOC

7 de Novembro de 2008

- Gobelé

Métodos

1. Efectuar três preparações, com os seguintes materiais:
 - a. Bactérias de iogurte;
 - b. Bactérias de película de vinagre;
 - c. Mistura de ambas.
2. Colocar uma gota de água destilada em cada uma das lâminas.
3. Com uma agulha lanceolada, retirar uma porção de material a observar e dispor na lâmina, sob a gota de água, para formar o esfregaço.
4. Passar levemente, até secar, todas as preparações pela chama da lamparina.
5. Proceder á coloração de Gram em cada uma das preparações anteriores:
 - a. Cobrir o esfregaço com o corante básico durante 1 minuto;
 - b. Lavar com água corrente evitando fazer incidir o jacto directamente sobre o esfregaço;
 - c. Cobrir com a solução mordente durante 1 minuto;
 - d. Lavar de igual modo;
 - e. Cobrir com o agente descorante durante 20-30 segundos;
 - f. Lavar de igual modo;
 - g. Cobrir com o agente contrastante durante 40-50 segundos;
 - h. Lavar de igual modo.
6. Secar suavemente sobre papel absorvente.
7. Observar ao microscópio, sem usar lamela, com as objectivas de menor ampliação.
8. Registar as observações, em esquema simples.
9. Colocar uma gota de óleo de imersão sobre a preparação.
10. Observar com a objectiva de 100x.
11. Fazer um esquema de registo da observação, devidamente legendado.
12. Construir o “Vê de Gowin”, como relatório da actividade laboratorial.