

Ala Conceptual

Filosofia

O conhecimento científico sobre a natureza repousa na observação e na experimentação baseada em teorias que organizam os factos e o raciocínio do Homem, aprofundando a sua compreensão.

Teoria

As bactérias são seres procariontes unicelulares e pertencem ao reino Monera. Podem ser encontradas em diferentes habitats. Estes seres têm dimensões reduzidas, podendo apresentar formas muito distintas, tais como: cocos, bacilos, vibriões e espirilos. Como todas as células procarióticas, não apresentam núcleo, o seu DNA encontra-se sob a forma circular e disperso no citoplasma e ainda, não possuem organelos membranares. As bactérias podem viver isoladas ou em grupo.

Princípios/Leis

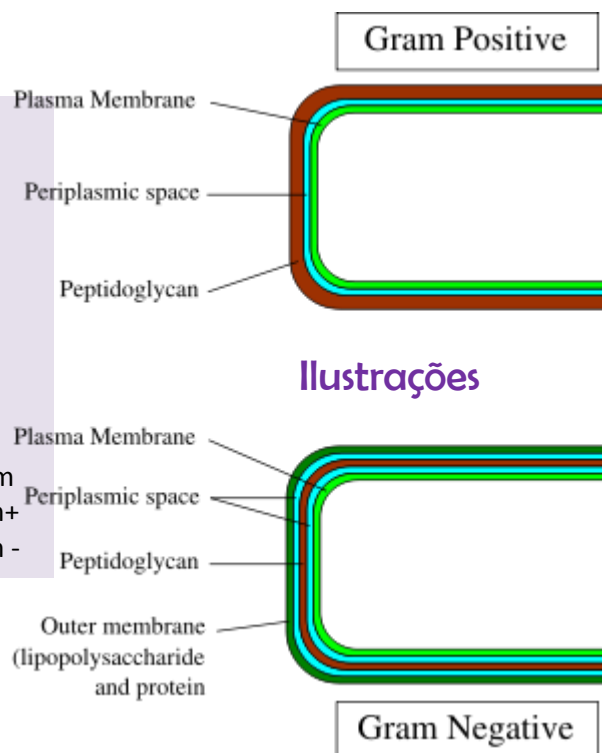
A Técnica de Gram é um dos métodos de coloração mais aplicados em bacteriologia, essencial para a classificação e diferenciação de bactérias.

Trata-se de um método de coloração diferencial, permitindo classificar as bactérias em Gram+ e Gram - .

A coloração de Gram é útil para avaliar a presença ou não de determinados microrganismos.

Conceitos

- Célula
- Reino Monera
- Procariontes
- Cocos
- Bacilo
- Parede celular
- Membrana plasmática
- Peptidoglicano
- Esfregaço
- Coloração Gram
- Bactérias Gram+
- Bactérias Gram -



Ilustrações

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?

Procedimentos

1. Efectuar três preparações, com os seguintes materiais:
 1. Bactérias de iogurte;
 2. Bactérias de película de vinagre;
 3. 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 à 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. Registrar as observações, em esquema simples.
9. Observar com a objectiva de 40 x.

Ala Metodológica

Juízos de valor

- Os resultados obtidos não permitiram uma boa distinção entre os diferentes tipos de bactérias porque:
 - A lavagem com etanol pode não ter sido eficiente, devido ao tempo de actuação ser, possivelmente, insuficiente;
 - O lugol poderia não se encontrar nas condições adequadas para fixar e intensificar a cor da solução de violeta-de-cristal;
 - A concentração da solução de violeta-de-cristal poderia não estar na proporção adequada para corar as células bacterianas em estudo.
- A lavagem com etanol é um passo muito importante, dada a sua acção sobre os lípidos e sobre a parede celular. Ou seja, é o passo de diferenciação entre bactérias Gram + e Gram - .
- A observação das bactérias foi facilitada pela coloração das preparações, que ajudou a individualizá-las do meio. Além disso foi muito importante, pois o reduzido tamanho das bactérias dificulta a sua visualização ao microscópio. (caso o resultado da experiência fosse positivo).

Juízos cognitivos

- De acordo com a coloração de Gram, as bactérias classificam-se em Gram + e Gram - .
- As bactérias Gram + possuem uma parede celular mais espessa e com menor concentração de lípidos que as Gram - .
- O etanol tem duas funções: dissolver os lípidos da parede celular e desidratá-la.
- A parede das Gram+ apresenta uma menor concentração de lípidos, que ao serem dissolvidos formam pequenos poros, que posteriormente serão fechados por desidratação. Este facto impossibilita a saída da solução de violeta-de-cristal e entrada da solução de fucsina, daí a cor violeta nas células destas bactérias. Nas Gram - , cuja parede apresenta uma maior concentração de lípidos, formam-se poros de grandes dimensões, que por desidratação não fecham completamente. Então, neste caso, a solução de violeta-de-cristal sai das células, ficando estas coradas apenas com a solução de fucsina.
- O soluto de Lugol fixa e intensifica a cor da solução de violeta de cristal. Formam um complexo iodo-violeta de cristal, que tem uma cor mais intensa e que é mais difícil de remover das células.
- As bactérias Gram + (iogurte) coram de púrpura, enquanto que as bactérias Gram - coram de vermelho (esfregaço bucal). NOTA: o esfregaço pode conter células eucarióticas.
- O método de Gram é útil para diferenciar seres procariontes através das estruturas da parede celular.

Resultados

No que respeita à preparação só com iogurte, apenas se observaram pequenos aglomerados de coloração púrpura, conclui-se que no iogurte apenas existem bactérias Gram + . Na preparação que apenas continha o esfregaço bucal foram dificilmente observados aglomerados de células coradas de vermelho, concluindo-se que existem células Gram negativas na nossa boca. Finalmente, na preparação que continha a mistura de ambos, só se observaram células Gram + (devido ao excesso de iogurte), mas deveriam existir dos dois tipos.