



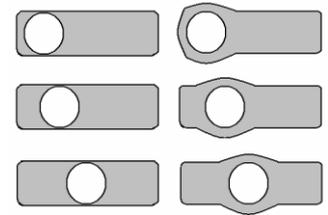
MÉTODO DE COLORAÇÃO DE GRAM

Introdução:

Os métodos de coloração são muito importantes em bacteriologia, pois facilitam a visualização das bactérias ao microscópio de luz. Alguns métodos são denominados de diferenciais, isto é permitem a classificação das bactérias em “grupos”. Um método de coloração diferencial muito importante em bacteriologia é o Método de Gram que classifica a maioria das bactérias em Gram positivas e Gram negativas.

O objetivo desta aula é executar o Método de Coloração de Gram. Este diferencia as bactérias em relação a sua capacidade de resistir a remoção do complexo corante iodopararosanilina (reação do corante cristal violeta e com o iodo do mordente lugol) por uma solução de descorante orgânico (álcool etílico, acetona, ...). As bactérias que retêm o complexo corante (reação positiva) se apresentam coradas em **ROXO** e são chamadas de “**Gram positivas**”. As que não conseguem reter o complexo corante (reação negativa) se apresentam coradas em **ROSA** e são chamadas de “**Gram negativas**”.

Outro detalhe muito importante é que os endósporos bacterianos não se coram neste método. Isto decorre da impermeabilidade dos seus envoltórios. Deste modo eles se apresentam como áreas sem coloração, arredondadas ou ovais, bem delimitadas dentro da célula bacteriana e que podem estar na posição central, subterminal ou terminal, deformando ou não o corpo bacteriano.



Objetivo da Aula:

Nesta aula o aluno irá executar o método de coloração de Gram, em esfregaços já previamente preparados e fixados pelo calor.

Além disso, o aluno aprenderá a fazer a visualização dos esfregaços corados no microscópio de luz empregando a objetiva de imersão, deverão ser capazes de caracterizar a morfologia individual da célula bacteriana, a formação de agrupamentos, a sua reação tintorial e a presença ou não de endósporos.

Procedimento do Método de Coloração de Gram:

- Cobrir o esfregaço com a **Solução de Cristal Violeta** por **1 minuto**;
- Desprezar o corante e lavar a lâmina com água corrente (**não deixar que o jato de água incida diretamente sobre o esfregaço**);
- Cobrir o esfregaço com o **Solução de Lugol** (iodo + iodeto de potássio) por **1 minuto**;
- Desprezar o mordente e lavar a lâmina com água corrente;
- Cobrir o esfregaço com o **Solução Descorante**, imprimir movimentos ondulares à lâmina por **alguns segundos**;
- Desprezar o descorante e lavar a lâmina com água corrente;
- Cobrir o esfregaço com a **Solução de Contracorante** (safranina ou da fucsina de Ziehl-Neelsen **diluída**) por **30 segundos**;
- Desprezar o contracorante e lavar a lâmina com água corrente;
- Secar a lâmina e observar ao microscópio óptico com objetiva de imersão.