



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CAMPUS SOBRAL**  
**CURSO DE ODONTOLOGIA**

**LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA**

**MICROSCOPIA DE GRAM**

ORIENTADOR (A): \_\_\_\_\_  
ALUNO (A): \_\_\_\_\_

**INTRODUÇÃO**

A parede celular de bactérias Gram-positivas difere-se das bactérias Gram-negativas pela presença de uma espessa camada de peptidoglicano e pela ausência de uma membrana externa. Esta diferença de constituição da parede celular é a base da coloração de Gram, uma técnica primordial no diagnóstico microbiológico, visto que através dela se definem características morfológicas e tintoriais da bactéria em pesquisa.

A coloração de Gram consiste em tratar bactérias sucessivamente com cristal violeta, lugol, álcool-acetona e fucsina (ou safranina). O cristal violeta e o lugol formam um complexo denominado iodopararosanilina, o qual confere coloração roxa tanto pelas bactérias Gram-positivas, quanto as Gram-negativas. Com a adição de álcool-acetona, as bactérias Gram-negativas liberam o complexo formado, pois a camada de peptidoglicano é de pequena espessura, enquanto que as Gram-positivas retêm o complexo, permanecendo roxas. A adição de fucsina (ou safranina) não altera a cor das Gram-positivas, mas confere a cor avermelhada as bactérias Gram-negativas, que foram descoloridas pelo álcool-acetona.

**Técnicas:**

**-Esfregaço da cultura bacteriana líquida:**

- 1- Flambe uma alça, deixe esfriar, mantendo-a próximo a chama.
- 2- Retire uma amostra da cultura com a alça e deposite no centro da lâmina.
- 3- Espalhe o material com a alça em movimento circular, obtendo um esfregaço de forma oval, uniforme e fino.
- 4- Fixe o esfregaço, passando a lâmina na chama do bico de Bunsen, como se cortando a chama, repetindo este procedimento 3 vezes, para que o material fique bem aderido.

**-Esfregaço de cultura bacteriana sólida:**

- 1- Flambe uma alça, deixe esfriar, mantendo-a próximo a chama.
- 2- Retire uma gota da água estéril e deposite sobre a lâmina.
- 3- Flambe novamente a alça, espere esfriar, e retire uma amostra da cultura sólida.
- 4- Leve a amostra até a gota de água depositada sobre a lâmina, e homogeneíze com movimentos circulares, para obter um esfregaço de forma oval, uniforme e fino.
- 5- Fixe o esfregaço, passando a lâmina na chama do bico de Bunsen, como se cortando a chama, repetindo este procedimento 3 vezes, para que o material fique bem aderido.

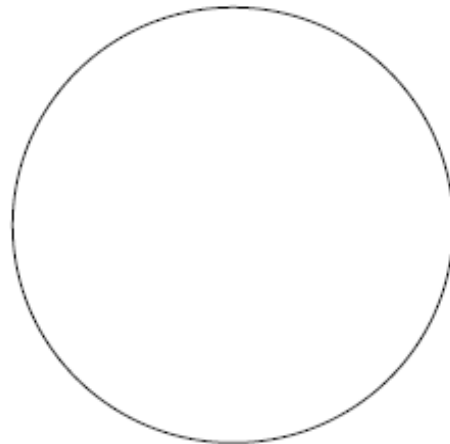
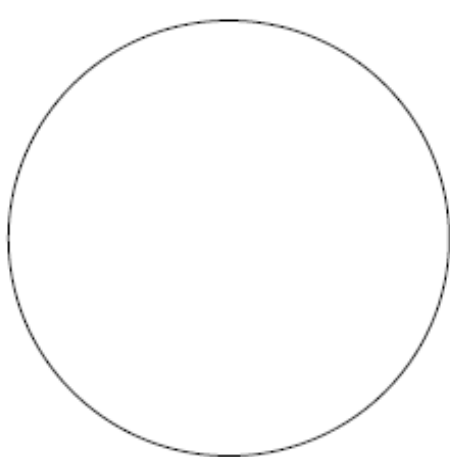
## COLORAÇÃO DE GRAM:

### PROCEDIMENTO TÉCNICO:

- a) fazer um bom esfregaço e fixá-lo ao fogo;
- b) cobrir o esfregaço com a solução de cristal-violeta, **por 1 minuto**;
- c) escorrer o corante após o tempo determinado;
- d) cobrir o esfregaço com a solução de iodo, **por 1 minuto**;
- e) escorrer o corante após o tempo determinado;
- f) decolorar a lâmina com a mistura álcool-acetona, até que o solvente escorra incolor;
- g) lavar com água corrente;
- h) cobrir o esfregaço com a solução de fucsina fenicada diluída, por cerca de **30 segundos**;
- i) escorrer o corante após o tempo determinado e lavar com água corrente;
- j) deixar secar ao ar e observar em microscópio óptico sob imersão.

Responda as perguntas abaixo e entregue ao seu professor de laboratório.

- 1- Faça um desenho esquemático do que foi visualizado no microscópio, mostrando a morfologia bacteriana e a reação tintorial.



- 2- Fale sobre o fundamento da técnica de Gram.

---

---

---

---

---

---