

LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

TÉCNICA DE COLORAÇÃO DE GRAM



INTRODUÇÃO:

Corantes são substâncias que possuem a propriedade de transmitir sua cor a outros corpos. Preparações coradas são comumente usadas no exame microscópico de bactérias em microbiologia, nas quais esfregaços do material são submetidos à ação de um ou mais corantes, após fixação.

OBJETIVO DESTA ATIVIDADE

Esta prática busca familiarizar o aluno com os procedimentos empregados em um laboratório para coloração de bactéria pelo método de Gram e apreciação e identificação de bactérias pela morfologia e pela assimilação de corantes

MATERIAIS

- Colônias pré-preparadas
- Bico de gás (bico de Bunsen)
- Alça de platina
- Microscópio
- Lâminas para microscopia
- Violeta cristal
- Lugol
- Safranina
- Álcool etílico

TÉCNICA

1º Passo- Preparo do esfregaço: Com a alça de platina aplicar uma gota de água destilada sobre uma lâmina de microscópio. Com a alça novamente flambada, colher parte de uma colônia já cultivada (com cuidado para não trazer na alça parte do ágar).

Espalhar as bactérias com a alça de platina sobre a lâmina. Deixar o material secar e, em seguida, fixá-lo com calor, aquecendo rapidamente a lâmina acima da chama

2º Passo- Aplicação do corante primário: Gotejar o corante violeta cristal sobre a lâmina e esperar por 1 minuto. Enxaguar a lâmina sob um fio de água da torneira para remover o excesso de corante.

3º Passo- Aplicação do fixador: Gotejar o lugol sobre a lâmina cobrindo toda a amostra e esperar 1 minuto , enxaguar a lâmina sob um fio de água da torneira para remoção do excesso

4º Passo- Descoloração: Com a lâmina inclinada, despejar algumas gotas de álcool para remover o violeta cristal das bactérias Gram-negativas , enxaguar a lâmina sob um fio de água da torneira.

5º Passo- Aplicação do corante secundário: Despejar o corante Fucsina básica sobre a lâmina cobrindo toda a amostra e esperar 30 segundos, enxaguar a lâmina sob um fio de água da torneira.

6º Passo- microscopia: Examinar a lâmina

Freitas