



# I Encontro Estadual de Monitoria do Alto Sertão Paraibano e o III Encontro de Monitoria do CFP/UFCG

A monitoria e a formação docente e profissional

## IDENTIFICAÇÃO DE *Escherichia coli* IN VITRO SOB O MÉTODO DE GRAM: PRÁTICA E MÉTODOS NA MONITORIA DE MICROBIOLOGIA

Gildoberg Nunes da Silva<sup>1</sup>; Geiza Rolim Lisboa<sup>2</sup>; José Cezario de Almeida<sup>3</sup>;

- 1- Discente do Curso de Graduação em Ciências Biológicas Universidade Federal de Campina Grande – UFCG Centro de Formação de Professores – CFP  
Email: bergnunes22@gmail.com
- 2- Discente do curso de Graduação em Enfermagem Universidade Federal de Campina Grande – UFCG Centro de Formação de Professores – CFP  
Email: geiza\_tfpb@hotmail.com
- 3- Prof. Dr. José Cezario de Almeida – Orientador e professor da disciplina Universidade Federal de Campina Grande – UFCG Centro de Formação de Professores – CFP

### RESUMO

A Bacteriologia é o estudo das bactérias teve início a partir das primeiras observações dos raspados de dentes de Van Leeuwenhoeke ainda hoje são encontradas novas bactérias patogênicas (TORTORA, 2012). Há evidências de que a vida microbiana existe há 3,6 bilhões de anos (VERMELHO et al, 2007). Estes seres são procarióticos, não possuindo todas as estruturas internas das células eucarióticas, sendo mais simples em todos os níveis, menos no seu envoltório celular. *Escherichia coli* trata-se de um bacilo predominante dentre os organismos anaeróbios facultativos da microbiota intestinal de alguns animais, sendo em sua maioria inofensivas e ligadas a produção de vitamina K. Microrganismos patogênicos são aqueles capazes de causar doenças e o grau de patogenicidade é chamado de virulência, e envolve duas características: infecciosidade (capacidade de poder iniciar uma infecção) e a gravidade da infecção (Silva, 2017). Todavia, alguns tipos podem causar toxinfecções alimentares, sendo estes caracterizados como um dos organismos mais estudados por ser facilmente cultivados em laboratório, a baixo custo e com reprodução rápida, reunindo assim características que faz da *E. coli* modelo padrão para estudos com genes, populações entre outros. Quando organizado e firmemente aderido à parede celular, o glicocálice é descrito como uma cápsula, que em certas espécies, são importantes para a contribuição da virulência bacteriana (medida do grau com que um patógeno causa doença), pois as protegem as da fagocitose realizada pelas células do hospedeiro (TORTORA, 2012). O método de coloração



# I Encontro Estadual de Monitoria do Alto Sertão Paraibano e o III Encontro de Monitoria do CFP/UFCG

A monitoria e a formação docente e profissional

mais utilizado e importante em laboratórios para identificação de bactérias é denominado de Coloração de Gram que consiste em utilizar técnicas por meio do uso de lâminas, sendo essas: passo 1. Fixar o esfregaço; passo 2. Colocar as lâminas no suporte de coloração; passo 3. Cobrir as lâminas com solução de violeta genciana por 1 minuto; passo 4. Escorrer e lavar rapidamente em água; passo 5. Cobrir a lâmina com a solução de lugol por 1 minuto; passo 6. Escorrer e lavar rapidamente em água; passo 7. Cobrir a lâmina com álcool 96°GL por 1 minuto; passo 8. Lavar a lâmina com água; passo 9. Cobrir a lâmina com solução de fucsina por 30 segundos; passo 10. Escorrer e lavar rapidamente em água e deixar secar. (COLORAÇÃO DE GRAM 2009), após esse processo é só analisar no microscópio óptico 400x. A identificação in vitro de bactérias, consiste em observar em microscópio, analisar e comparar o material fixado para só então confirmar a que gênero pertence. Existem bactérias chamadas Gram-negativas, por apresentarem uma fração menor do total da parede em relação às Gram-positivas (NOGUEIRA & MIGUEL, 2009). Esse trabalho teve como objetivo identificar e classificar bactérias do tipo *Escherichia coli* através do método de coloração de Gram. O presente trabalho foi desenvolvido a partir de amostras providas da mucosa de doadores, onde as mesmas foram cultivadas em meio de cultura do tipo ágar Mueller-Hinton, seguindo indicações do fabricante, que sugerem adicionar a cada 100° ML de água destilada 38 gramas de ágar para um meio padrão (MUELLER and HINTON 2000). O meio de cultura já pronto é difundido em placas de Petri descartáveis e estéreis de 90mm x 15mm. Posteriormente, essas placas contendo o meio de cultura, foram deixadas em temperatura ambiente até a formação das colônias. Passado esse período as amostras de bactérias foram selecionadas para compor um esfregaço com suspensão oral em lâmina, para assim iniciar o método de coloração e identificação. O método de coloração de Gram consiste em uma série de técnicas já citadas que são especificadas na bula do kit, que foram utilizadas para realizar a coloração e que foram seguidas como padrão. Tais procedimentos realizados seguiram rigorosamente as normas universais restritas para laboratório para evitar eventuais contaminações. A Biossegurança envolve todas as ações voltadas para a prevenção e proteção do trabalhador, diminuição de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços que visem à saúde do homem, dos



# I Encontro Estadual de Monitoria do Alto Sertão Paraibano e o III Encontro de Monitoria do CFP/UFCG

A monitoria e a formação docente e profissional

animais, preservação do meio ambiente (TEIXEIRA & VALLE, 1996). Todo laboratório tem por obrigação adotar um manual de segurança, que identifique perigos conhecidos e potenciais e que especifique as práticas e as normas para evitar os riscos de contaminação (BRASIL, 2004). Em laboratórios a proteção individual é realizada através do uso de vestimentas adequadas, aventais, sapatos fechados, máscaras, óculos de proteção sempre que for necessário proteger os olhos e regiões afins para evitar salpicos, impactos de objetos e raios artificiais ultravioletas além do uso de luvas. Após utilização, as luvas devem ser retiradas de forma asséptica e as mãos devem ser bem lavadas após o manuseio de material infeccioso e antes de sair das áreas de trabalho do laboratório. Técnicas inadequadas podem comprometer a saúde do profissional de laboratório. Dessa forma, se faz muito importante o uso das normas laboratoriais, evitando assim possíveis contaminações. Todo acidente ou exposição efetiva/potencial a materiais infecciosos deve ser notificado ao supervisor do laboratório, assim como se deve manter um registro escrito de acidentes e incidentes (BRASIL, 2004). No trabalho foi possível verificar que 85% das colônias analisadas apresentaram coloração roxa, o que remete que são gram-negativas e os 15% gram-positivas não foram identificadas uma vez que o enfoque do trabalho eram apenas as gram-negativas do gênero *E. coli*. De acordo com os dados obtidos neste trabalho, podemos afirmar que as bactérias gram-negativas encontradas eram em sua maioria *E. coli*, o que poderia causar infecções nos hospedeiros que forneceram a amostra biológica analisada, uma vez que a quantidade de microrganismos identificados foi bastante relevante.

**Palavras chave:** bactérias, técnicas e biossegurança.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. Organização Mundial da Saúde. **Manual de segurança biológica em laboratório**. 3 ed. Genebra: OMS, 2004. 215 p.

COLORAÇÃO DE GRAM. Barbacena MG: renylabquim.farm. ltda.2009. Bula do kit.

MUELLER and HINTON.: Soc. Exp. Biol. and Med., 48: 330, 1941. 8. Oplustil, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., e Sinto, S.I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, Sarvier, São Paulo, 2000.



# I Encontro Estadual de Monitoria do Alto Sertão Paraibano e o III Encontro de Monitoria do CFP/UFCG

A monitoria e a formação docente e profissional

NOGUEIRA, J. M. da R.; MIGUEL, L. de. F. S. Bacteriologia. In: **Conceitos e Métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Volume 04. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009. p. 221 – 397.

SILVA, C. P. S. MICROBIOLOGIA. Prospecção Microbiológica em Cadáveres não Reclamados Sob a Condição de Laboratório, Cajazeiras: 2017. 20 p.

TEIXEIRA, P.; VALLE, S. **Biossegurança**: uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1996.

TORTORA, G. J. **Microbiologia**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p.

\_\_\_\_\_. 10 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 967 p.

VERMELHO, Q. B., BASTOS, M. do. C. de. F., SÁ, M. H. B. de. **Bacteriologia geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 582 p.

## ELABORAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE APOSTILA DE AULA PRÁTICA NO CURSO DE MEDICINA: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA

Maria Stela Gomes Oliveira, Graduada em Medicina CFP/UFCG, stela\_tud@hotmail.com  
Raquel Fragoso Pereira, Técnica de laboratório UACV/CFP/UFCG, ljneto@hotmail.com  
Prof. LuízJardelino de Lacerda Neto, Professor UACV/CFP/UFCG, luizjardelino@gmail.com

**Palavras-chave:** Apostila, Bioquímica, Monitoria Acadêmica.

## INTRODUÇÃO