

# Bactérias



## Coloração de Gram

# Classificação de bactérias

- Análise do ácido nucléico: sequência do DNA do rRNA; conservado entre espécies
- Análise de propriedades bioquímicas e características de crescimento

Características morfológicas (forma, flagelos)

# Classificação de bactérias

- **Testes bioquímicos e fisiológicos**
  - **Gram**
  - **Motilidade**
  - Produção de ácido a partir de carboidrato
  - Oxidação/fermentação de glicose
  - Asparagina como única fonte de carbono e nitrogênio
  - Produção de pigmento verde-fluorescente
  - Teste de oxidase
  - Produção de 3-cetolactose
  - Produção de inclusões de poli- $\beta$ -hidroxibutirato

# Coloração de Bactérias

**Direta:** A bactéria fica colorida

- ✓ Simples
- ✓ Gram (diferencial)

**Corantes:** Safranina ou Fucsina

**Indireta:** A lâmina fica colorida

**Corantes:** Nankin ou Nigrosina

# Teste Gram

## Sequência de corantes



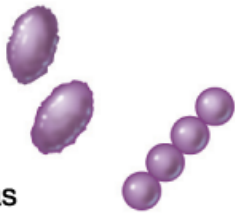
Professor Hans Christian Gram  
Bacteriologista Dinamarquês

Desenvolveu o método de  
coloração em Berlin, 1884

Após a fixação do esfregaço:

1. Cristal violeta (1 min)
2. Lavar com água
3. Solução lugol (1 min)
4. Lavar com álcool absoluto por 30 seg
5. Lavar com água
6. Safranina (30 seg)
7. Lavar com água
8. Secar
9. Observar

### Etapa 1

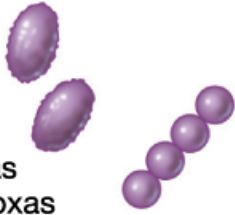


Cobrir o esfregaço fixado pelo calor com cristal violeta, por 1 min.

### Resultado:

Todas as células coram-se em roxo

### Etapa 2

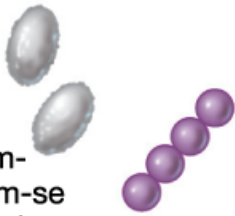


Adicionar a solução de iodo, por 1 min.

### Resultado:

Todas as células permanecem roxas

### Etapa 3

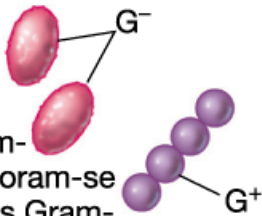


Descorar rapidamente com álcool – cerca de 20 seg.

### Resultado:

As células Gram-positivas coram-se em roxo; as células Gram-negativas apresentam-se incolores

### Etapa 4

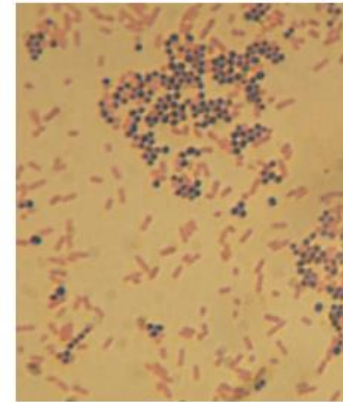


Coloração de contraste com safranina por 1-2 min.

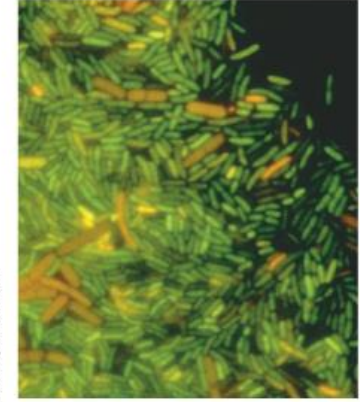
### Resultado:

As células Gram-positivas ( $G^+$ ) coram-se em roxo; células Gram-negativas ( $G^-$ ) coram-se em róseas a vermelhas

(a)



(b)

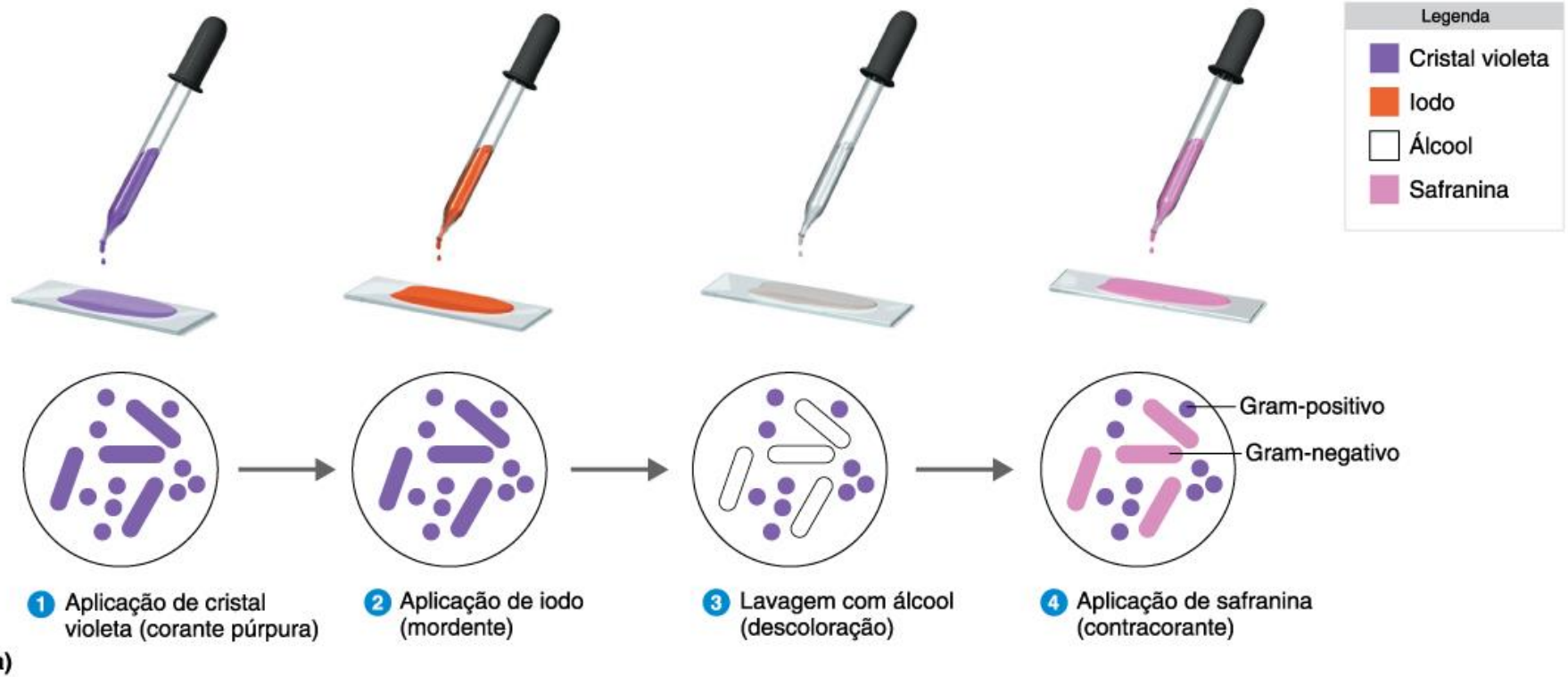


(c)

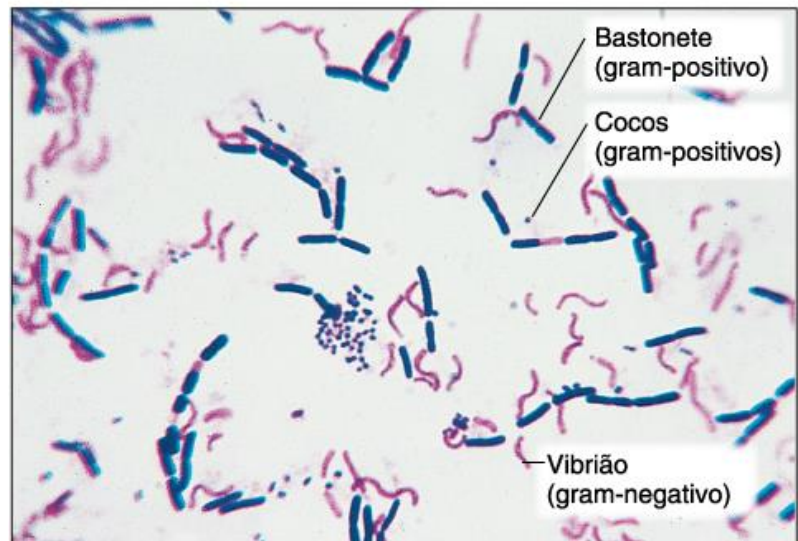
Leon J. Lebeau

Molecular Probes, Inc., Eugene, Oregon

**Figura 2.4 Coloração de Gram.** (a) Etapas do procedimento de coloração de Gram. (b) *Bacteria* coradas por coloração de Gram que são Gram-positivas (roxo) e Gram-negativas (rosa). As espécies são, respectivamente, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. (c) Células de *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativas, em verde) e *Bacillus cereus* (Gram-positivas, em laranja), submetidas a um método de coloração fluorescente de etapa única. Esse método permite a diferenciação de células Gram-positivas e Gram-negativas em uma única etapa de coloração.



(a)



(b)

MO | 5 µm

**Figura 3.12 Coloração de Gram.** (a) Procedimento. (b) Micrografia de bactérias coradas pelo Gram. Os bastonetes e os cocos (roxo) são gram-positivos, e os vibriões (rosa) são gram-negativos.

**P** Como a reação de Gram pode ser útil na prescrição de um tratamento com anti-bióticos?



# O resultado da coloração de Gram depende do tipo de parede celular

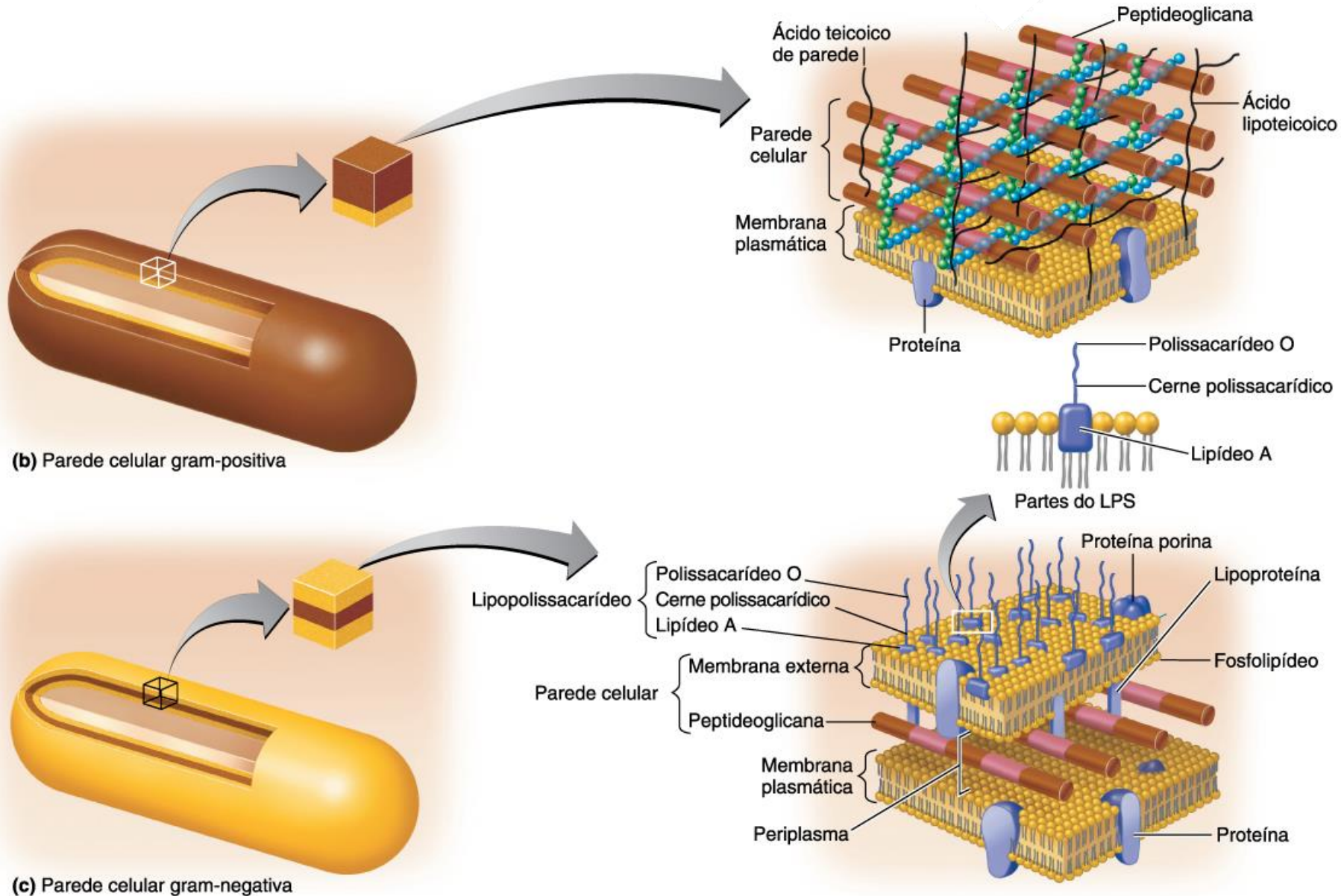
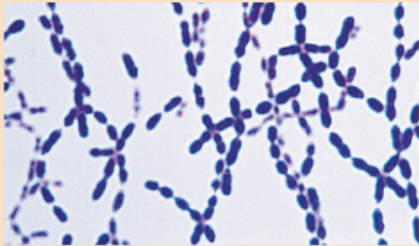
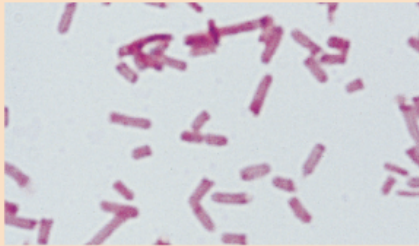




Tabela 4.1

Algumas características comparativas das bactérias gram-positivas e gram-negativas

Característica	Gram-Positiva	Gram-Negativa
		
	MO 4 µm	MO 4 µm
<b>Reação de Gram</b>	Retém o corante cristal violeta e cora-se de violeta-escuro ou púrpura	Pode ser descorada e aceitar o contracorante (safranina) e cora-se de rosa ou vermelho
<b>Parede de peptidoglicana</b>	Espessa (camadas múltiplas)	Fina (camada única)
<b>Ácidos teicoicos</b>	Presentes em muitas	Ausentes
<b>Espaço periplasmático</b>	Ausente	Presente
<b>Membrana externa</b>	Ausente	Presente
<b>Conteúdo de lipopolissacarídeo (LPS)</b>	Nenhum	Alto
<b>Conteúdo de lipídeos e lipoproteínas</b>	Baixo (as bactérias álcool-ácido resistentes possuem lipídeos ligados à peptidoglicana)	Alto (devido à presença da membrana externa)
<b>Estrutura flagelar</b>	Dois anéis no corpo basal	Quatro anéis no corpo basal
<b>Toxinas produzidas</b>	Exotoxinas	Endotoxinas e exotoxinas
<b>Resistência à ruptura física</b>	Alta	Baixa
<b>Ruptura da parede celular por lisozimas</b>	Alta	Baixa (requer tratamento para desestabilizar a membrana externa)
<b>Sensibilidade à penicilina e às sulfonamidas</b>	Alta	Baixa
<b>Sensibilidade à estreptomicina, ao cloranfenicol e à tetraciclina</b>	Baixa	Alta
<b>Inibição por corantes básicos</b>	Alta	Baixa
<b>Sensibilidade a detergentes aniônicos</b>	Alta	Baixa
<b>Resistência à azida sódica</b>	Alta	Baixa
<b>Resistência ao ressecamento</b>	Alta	Baixa

# Murcha de *Curtobacterium* em feijoeiro

*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*

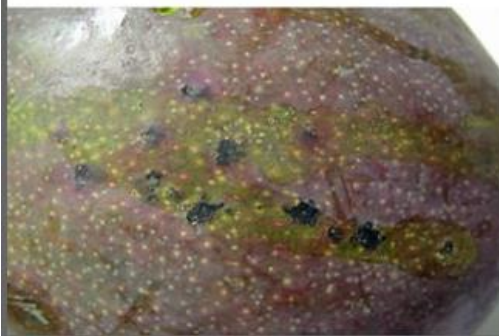


- Gram positiva
- Coloniza o xilema
- Sobrevivência:
  - Sementes
  - Solo
- Controle:
  - Resistência
  - Sementes sadias
  - Rotação de culturas

Sintomas de murcha, queima e encarquilhamento foliar em variedades de feijoeiro

# Mancha angular da mangueira

*Xanthomonas campestris* pv *mangiferaeindicae*



- Gram negativa
- Disseminação: vento, chuva, insetos
- Penetração: aberturas naturais e ferimentos
- Controle:
  - Mudas saudáveis
  - Escolha do local
  - Proteção com cúpricos e mancozebe