

Coloração de Gram

FINALIDADE:

Sistema para coloração de bactérias em esfregaços de material colhido em áreas diversas. Usado também como método de identificação de colônias isoladas em meios de cultura sólidos e líquidos.

PRINCÍPIO:

Levando-se em consideração a constituição da parede celular, podemos dividir as bactérias em dois grupos. Bactérias gram positivas, onde a parede celular é formada principalmente por ácidos teicóicos e as bactérias gram negativas, onde a parede celular é formada principalmente por lipídeos. Esta classificação baseia-se na coloração de Gram, onde as bactérias gram positivas, por possuírem grande quantidade de ácidos teicóicos, após coloração por solução de cristal violeta e tratamento com lugol formam um complexo corado azul intenso, que não é removido facilmente com álcool. As bactérias gram negativas não retêm a coloração após o tratamento com álcool e são reveladas posteriormente com solução de fucsina e apresentam-se de coloração avermelhada.

REAGENTES E APRESENTAÇÃO:

Violeta Cristal ----- 1 g
Oxalato de amônio ----- 0,8 g
Álcool etílico 95% ----- 20 ml
Água deionizada ----- 100 ml
Apresentação:
Frasco de 50, 500 e 1000 ml

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS:

- Suporte para coloração
- Solução de lugol
- Solução de fucsina
- Etanol 96° GL

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

O corante deve ser mantido no frasco original, bem vedado, armazenado à temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

PRECAUÇÕES:

- Os cuidados habituais de segurança devem ser tomados na manipulação do produto. Não ingerir ou aspirar. Evitar o contato com a pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental lavar a área afetada com água corrente.
- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Salvo as manchas provocadas pelos corantes o produto não oferece risco às pessoas ou ao meio ambiente dentro das condições de uso.

AMOSTRA:

Esfregaços feitos a partir de colônias bacterianas. Esfregaços de secreções colhidas nas diversas áreas do organismo. Toda amostra biológica deve ser considerada como potencialmente contaminada.

PROCEDIMENTO TÉCNICO:

1. Fixar o esfregaço;
2. Colocar as lâminas no suporte de coloração;
3. Cobrir as lâminas com solução de violeta genciana por 1 minuto;
4. Escorrer e lavar rapidamente em água;
5. Cobrir a lâmina com a solução de lugol por 1 minuto;
6. Escorrer e lavar rapidamente em água;
7. Cobrir a lâmina com álcool 96° GL por 1 minuto;

8. Lavar a lâmina com água;

9. Cobrir a lâmina com solução de fucsina por 30 segundos;

10. Escorrer e lavar rapidamente a lâmina em água e deixar secar.

RESULTADOS ESPERADOS:

As bactérias gram positivas coram-se de roxo. As bactérias gram negativas assumem coloração avermelhada.

CONTROLE DE QUALIDADE:

- Antes de serem liberadas para consumo as matérias primas e os reagentes são avaliados pelo Departamento de Controle de Qualidade da Renylab.
- A limpeza e secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos. Não usar detergentes à base de fosfato.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser de boa qualidade.
- As lâminas utilizadas devem ser completamente limpas, isentas de gordura.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO:

Repetitividade: 10 esfregaços de uma mistura de bactérias gram negativas e gram positivas foram corados segundo gram. Observou-se que as bactérias gram positivas coraram-se de roxo e as gram negativas não. Sendo que a repetitividade está diretamente relacionada com o correto seguimento das instruções de uso.

Reprodutividade: foram realizados testes em esfregaços bacteriológicos de culturas de bactérias gram positivas e gram negativas durante 6 meses consecutivos, onde foram seguidas estritamente as instruções de uso e utilizando-se o mesmo lote do corante em todos os testes. Observou-se concordância das características tintoriais de todas as bactérias.

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefax: (32) 3331-4489
Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE – VIDE RÓTULO

BIBLIOGRAFIA:

1. Otto Bier: *Bacteriologia e imunologia*, 19 edição, 1978.
2. Who: *Manual of basic techniques for a health laboratory*, 1980.
3. Stanley S. Raphael: *Lynch: Técnicas de laboratório*, 1986.

Elaborado e fabricado por:

RENYLAB QUIM. FARM. LTDA
Rodovia BR 040 Km 697 – Caiçaras
Barbacena – MG CEP:36205-666
Farm. Resp.: Renê Vaz de Mello CRF – MG: 2709
M.S: Violeta: 80002670013
Lugol: 80002670005
Fucsina: 80002670052
Álcool-acetona: isento
Revisão: dezembro 2009