

# 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, as quais possuem parede celular formada principalmente por ácidos teicóicos e as bactérias gram negativas, que possuem parede celular formada principalmente por lipídeos. A coloração de Gram é baseada nesta classificação, 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 descorante e são reveladas posteriormente com solução de fucsina e apresentam-se de coloração rósea a avermelhada.

## REAGENTES E APRESENTAÇÃO:

Solução de violeta cristal 0,5% ----- 500 mL  
Solução de lugol (iodo 0,5% + KI 1%) ----- 500 mL  
Solução descorante (álcool + acetona) ----- 500 mL  
Solução de fucsina 0,05% ----- 500 mL

## MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS:

- Suporte para coloração

## 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 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 descorante por 10 a 20 segundos;
8. Lavar a lâmina com água;
9. Cobrir a lâmina com solução de fucsina por 30 segundos;
10. Escorrer e lavar rapidamente a lâmina e deixar secar.

## RESULTADOS ESPERADOS:

As bactérias gram positivas coram-se de roxo. As bactérias gram negativas assumem coloração rosa a 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:** Foram corados, segundo Gram, 10 esfregaços de uma mistura de bactérias gram negativas e gram positivas. Observou-se que as bactérias gram positivas coraram-se de roxo e as gram negativas assumiram coloração rosa a avermelhada. É importante ressaltar que a repetitividade está diretamente relacionada ao 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:

sac@renylab.ind.br

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: 80002670066

Revisão: julho 2017

**RenyLab**   
Química e Farmacêutica