

# 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 isolados 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:

Solução de violeta cristal 1% ----- 100 mL

Solução de lugol 0,5% ----- 100 mL

Solução descorante ----- 100 mL

Solução de fucsina 0,05% ----- 100 mL

## APRESENTAÇÃO:

Frascos com 100, 250 ou 500 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 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 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:

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: MAIO 2018

**Renylab**   
Química e Farmacêutica

# Coloração de Ziehl-Neelsen

## FINALIDADE:

Sistema para coloração de bactérias álcool-ácido resistentes em esfregaços de material colhido nas diversas áreas do organismo e esfregaços de meio de cultura.

## PRINCÍPIO:

As micobactérias apresentam grande quantidade de lipídeos em suas paredes celulares. Isto faz com que estas bactérias submetidas a uma coloração por solução de fucsina, se impregnem pelo corante. Após uma descoloração por solução de álcool-ácido, elementos celulares e outras bactérias se descoram, mas as micobactérias mantêm a coloração. Após a coloração pela fucsina de Ziehl, procede-se à coloração de fundo com a solução de Azul de Metileno.

## REAGENTES E APRESENTAÇÃO:

Solução de Fucsina Fenicada a 0,3% ----- 100 mL

Solução de Álcool-Ácido a 3 % ----- 100 mL

Solução de Azul de Metileno a 0,3 % ----- 100 mL

## APRESENTAÇÃO:

Frascos com 100, 250 ou 500 mL

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES:

Os corantes deve ser mantido no frasco original, bem vedado, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES:

As soluções corantes são para uso diagnóstico "in vitro". Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se o contato com a pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental lavar a área afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deve ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório.

Salvo as manchas provocadas pelos corantes, o produto não oferece risco ao meio ambiente ou pessoas, dentro das normas e condições de uso. Manter afastado do fogo e calor.

## AMOSTRAS:

Esfregaços feitos a partir de colônias bacterianas. Esfregaços de secreções das mais diversas partes do organismo. Esfregaços do sedimento urinário.

Toda amostra biológica deve ser considerada como potencialmente infectante.

## PROCEDIMENTO TÉCNICO:

1. Fixar o esfregaço;
2. Colocar as lâminas em suporte de coloração;
3. Cobrir as lâminas com Fucsina de Ziehl;
4. Aquecer as lâminas durante 5 minutos, permitindo a saída de vapores e evitando a fervura da fucsina;
5. Após 5 minutos, escorrer e lavar as lâminas delicadamente com água;
6. Descorar as lâminas com solução de álcool-ácido até que ela fique completamente clara;
7. Lavar as lâminas com água corrente;
8. Corar com Azul de Metileno por 1 minuto;
9. Lavar em água corrente e secar.

## RESULTADOS ESPERADOS

As bactérias álcool-ácido resistentes apresentam-se de cor avermelhada. As demais bactérias (não álcool-ácido resistentes), elementos celulares e detritos, coram-se em azul pela solução de azul de metileno.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS:

- Suporte para coloração;
- Lâminas.

## 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 realizados testes com o corante bacteriológico em 15 esfregaços de escarro de pacientes com tuberculose. Paralelamente 15 esfregaços de secreção de orofaringe foram corados com o corante. Observou-se que a repetitividade relaciona-se com o correto seguimento das instruções de uso, sendo decisiva as etapas de fixação, os tempos de coloração e a temperatura de aquecimento da fucsina.

**Reprodutividade:** durante 6 meses consecutivos foram realizados testes em esfregaços de culturas de bacilos álcool-ácido resistentes, utilizando-se o mesmo lote do produto. Durante todo o período, houve concordância das características tintoriais dos bacilos BAAR e dos bacilos não álcool-ácido resistentes.

## 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:

Otto Bier: Bacteriologia e imunologia, 19 edição, 1978.

Who: *Manual of basic techniques for a health laboratory*, 1980.

Stanley S. Raphael: *Lynch: Técnicas de laboratório*, 1986.

## Elaborado e fabricado por:

RENILAB 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: MAIO 2018

**RenyLab**  
Química e Farmacêutica