

## 1. 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.

## 2. PRINCÍPIO DO MÉTODO:

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 a 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.

## 3. REAGENTES E APRESENTAÇÃO:

Kit contendo 4 frascos de 500mL (SOLUÇÃO DE CRISTAL VIOLETA; SOLUÇÃO DE FUCSINA; SOLUÇÃO DE LUGOL; SOLUÇÃO DESCORANTE):

APRESENTAÇÃO KIT	CÓDIGO	VOLUME
KIT 4X500ML - UNIDADE	67	4x500mL
EXP - KIT GRAM 4X250 ML	5210	4X250mL
KIT 4X500ML - CX C/ 8 KITS	5561	4x500mL
EXP - KIT GRAM - CX C/ 6 KITS	5601	4X250mL
EXP - KIT 4X500ML - CX C/ 8	5686	4x500mL

## 4. COMPOSIÇÃO:

### CRISTAL VIOLETA

COMPONENTE	%
CRISTAL VIOLETA -----	0,5%
ÁLCOOL 96 GL -----	10%
OXALATO DE AMÔNIO -----	0,3%
ÁGUA PURIFICADA Q.S.P -----	100%

### FUCSINA DILUÍDA

COMPONENTE	%
FUCSINA DE BÁSICA -----	0,05%
ÁLCOOL 96 GL -----	1%
FENOL P.A. -----	0,1%
ÁGUA PURIFICADA -----	100%

## LUGOL GRAM

COMPONENTE	%
ÍODO P.A. -----	0,5%
ÍODETO DE POTÁSSIO -----	1,0%
ÁGUA PURIFICADA Q.S.P	100%

## DESCORANTE GRAM

COMPONENTE	%
ÁLCOOL 96 GL -----	67%
ACETONA P.A. -----	33%

## 5. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES:

Para fins de transporte e armazenamento, o produto pode permanecer em temperatura ambiente. Conservar entre 15 e 30°C. Após aberto o produto deve ser mantido no frasco original, bem vedado, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Nessas condições, ele é estável até a data de validade impressa no rótulo.

## 6. AMOSTRAS:

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.

## 7. MATERIAIS NECESSÁRIOS (não fornecidos)

- Suporte para coloração

## 8. 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.

## 9. RESULTADOS

Bactérias gram negativas	Coram-se de roxo
Bactérias gram positivas	Rosa a avermelhada

## 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.

## 10. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- 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.
- Falha no procedimento de coloração podem gerar resultados incorretos e diferenciação inadequada.
- Falhas no procedimento de coleta (pré-analítico) podem gerar resultados incorretos e diferenciação inadequada.

## 11. PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Evitar o contato com pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental lavar a área afetada com água corrente.
- 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.
- Salvo as manchas provocadas pelos corantes o produto não oferece risco às pessoas ou ao meio ambiente dentro das condições de uso.
- Não usar após data de validade, produto avariados e/ou com embalagens violadas.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser de boa qualidade.
- Esfregaços muito espessos podem dificultar o processo de coloração.
- Descartar o produto e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Observar a correlação da versão das instruções de uso e o produto adquirido, conforme disponibilizado no site: [www.renylab.ind.br](http://www.renylab.ind.br).

## 12. GARANTIA DA QUALIDADE:

A RenyLab obedece ao disposto na Lei 8.078/90, Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário:

- Que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento.
- Que os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas.
- Que os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.
- Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento.
- Os certificados de análise de cada lote poderão ser obtidos no site [www.renylab.ind.br](http://www.renylab.ind.br).
- Em caso de dúvidas, problemas de origem técnica, ou necessidade de obtenção dos mesmos em formato impresso entrar em contato com o SAC (Serviço de Atendimento ao Consumidor) através do telefone (32) 3331-4489 ou pelo e-mail [sac@renylab.ind.br](mailto:sac@renylab.ind.br).
- Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da RenyLab, assim como o envio de documentos em formato não impresso, serão enviados sem custos adicionais ao cliente.

## 13. DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto: Telefax: (32) 3331-4489 [sac@renylab.ind.br](mailto:sac@renylab.ind.br)

Nº DO LOTE, DATA DE VALIDADE – VIDE RÓTULO

## 14. TERMO DE GARANTIA

A RenyLab garante a troca deste produto, desde que o mesmo esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado por sua Assessoria Técnica que não houve falhas na execução, manuseio e conservação deste produto. A RenyLab e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho de produtos sob essas condições.

## 15. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

## 16. FABRICADO E DISTRIBUÍDO POR:

RenyLab Química e Farmacêutica Ltda.

Rodovia BR 040 km 697 Caiçaras.

CEP: 36.205-666 - Barbacena - MG – Brasil. Tel.: 55 32 3331-4489  
CNPJ: 00.562.583/0001-44.

Site: [www.renylab.ind.br](http://www.renylab.ind.br)

Responsável técnico: Renata C. Vaz de Mello.

CRF-MG: 12126

## 17. SIMBOLOGIA

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Limite de temperatura (conservar a)
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Inflamável
	Irritante
	Corrosivo
	Tóxico
	Lesões oculares graves/irritação ocular