



QEEL - QUÍMICA ESPECIALIZADA ERICH LTDA.

VIOLETA GENCIANA FENICADA SEG. GRAM "SOMENTE PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO"

- **Marca:** QEEL

- **Finalidade:**

Produto somente para uso "in vitro".

Para coloração de bactérias Gram positivas e/ou Gram negativas em esfregaços de material colhido em áreas diversas (cavidade bucal, secreção vaginal, superfícies com infecção bacteriana, secreções, etc) Utilizado também no processo de identificação de colônias bacterianas isoladas em meios de cultura sólidos ou líquidos.

- **Princípio:**

Considerando-se a constituição das membranas das células bacterianas, podemos observar, basicamente, dois grupos de bactérias. Em um grupo predominam ácidos teicóicos e no outro, lipopolissacarídeos.

Em 1984, Christian Gram desenvolveu uma técnica de coloração onde um grupo de bactérias se corava de azul escuro, enquanto outro grupo permanecia incolor, ou se corava por um segundo corante.

As bactérias gram positivas possuem grande quantidade de ácidos teicóicos na membrana. Após coloração por violeta de genciana, seguida de tratamento com solução de iodo (Iugol), forma-se um complexo corado, cor escura, entre a violeta de genciana e o iodo. Essa coloração é fortemente retida pelas bactérias, não sendo facilmente removida após tratamento com álcool.

As demais bactérias descoradas (gram negativas), são reveladas com solução de Fucsina e apresentam coloração avermelhada.

Fungos e famílias bacterianas são, em geral, gram positivos. Protozoários e células animais são gram negativos.

- **Reagentes:**

Violeta Genciana	9 g/L
Álcool Etílico 99,5%	90 mL/L
Fenol Líquido	40 mL/L
Água Deionizada qsp	

- **Apresentação:** 1 x 1000mL

- **Materiais necessários não inclusos:**

- Suporte para coloração
- Lâminas para coloração
- Etanol 96° GL
- Lugol Segundo Gram
- Fucsina Fenicada Segundo Gram

- **Condições de Armazenamento/Transporte:**

As datas de vencimento aparecem no rótulo de cada embalagem. Não utilizar reagentes cuja data de validade tenha expirado. O material deve ser armazenado de acordo com os dizeres do rótulo. No caso deste produto, a condição de armazenagem é a temperatura ambiente (15 a 30°C)



Para manter a integridade do produto, o transporte a longas distâncias deverá ser feito em embalagens que mantenham a temperatura ideal.

- Precauções:

- A) Não se tem conhecimento de alterações nas características do produto.
- B) Evitar contato do produto com a pele e mucosa; em caso de contato com a pele lavar a área afetada com água corrente abundante por pelo menos 15 minutos.
- C) Não ingerir o produto, caso a ingestão ocorra procurar orientação médica.
- D) Não reaproveitar a embalagem.
- E) Descartar em local apropriado para dejetos potencialmente contaminados.
- F) Após a mistura com amostras de material biológico, devem ser observados os procedimentos padronizados de Boas Práticas de Laboratório para o descarte deste tipo de material.

- Cuidados com a amostra:

- A) A amostra deve ser de esfregaços feitos a partir de colônias bacterianas, esfregaços de secreções colhidas em diversas áreas do organismo ou esfregaços de sedimento urinário.
- B) A coleta deve ser realizada com cuidado e as amostras devem ser utilizadas frescas.
- C) Ter em mente que as amostras utilizadas são materiais biológicos e pedem por cuidados especiais no manuseio; tomar os cuidados normais de manuseio de laboratório.
- D) Evitar contato do produto com a pele e mucosa; em caso de contato com a pele lavar a área afetada com água corrente.
- E) Não ingerir o produto, caso a ingestão ocorra procurar orientação médica.
- F) Utilizar sempre luvas.
- G) Utilizar óculos de segurança
- H) Utilizar aventais de proteção
- I) O material deve ser descartado em um recipiente com uma solução à 0,5% de hipoclorito de sódio,
É importante ressaltar que para a confecção dos esfregaços, as lâminas devem encontrar-se limpas e isentas de gordura.

- Preparação dos reagentes:

- A) VIOLETA GENCIANA FENICADA SEG.GRAM
O reagente se apresenta pronto para uso. É estável até a data de vencimento indicado no rótulo se armazenado em temperatura ambiente (15 a 30°C).

B) PROCEDIMENTO

1. Fixar os esfregaços através das técnicas usuais.
2. Dispor as lâminas em um suporte de coloração
3. Cobrir as lâminas com a solução de Violeta Genciana durante 1 minuto.
4. Escorrer a solução de violeta de genciana e lavar rapidamente a lâmina em água (tirar o excesso do corante).
5. Cobrir a lâmina com solução de Lugol, durante 1 minuto. Drenar a solução de Lugol e lavar com água corrente.
6. Cobrir a lâmina com etanol 96°GL, completamente, durante 1 minuto.
7. Lavar a lâmina com água e observá-la. Se ainda tiver manchas de cor violeta, repetir o processo com álcool por 15 a 30 segundos. Lavar com água.
8. Cobrir a lâmina com solução de Fucsina de Gram diluída 1:10, durante 20 segundos. Escorrer e lavar rapidamente com água, deixando-a secar ao ar, em posição vertical
Não são conhecidos procedimentos adicionais senão os já descritos neste manual.

- Informações sobre limitações do produto:



QEEL - QUÍMICA ESPECIALIZADA ERICH LTDA.

Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração poderá levar a resultados errôneos.

Não usar detergente à base de fosfato

- Informações sobre controle interno de qualidade:

1. O controle de qualidade em microscopia de esfregaço bacteriológico depende diretamente da formação e da experiência do profissional que avaliará a qualidade dos esfregaços, coloração, etc.
2. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
3. A água usada na limpeza deve ser de boa qualidade.
4. Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, aminas e agentes oxidantes, o que provoca o deterioramento dos reagentes.
5. As lâminas devem encontrar-se limpas e isentas de gordura.

- Valores de referência:

As bactérias gram positivas coram-se de roxo. As bactérias gram negativas assumem a coloração de fundo, um tom avermelhado definido pela Fucsina.

- Características de desempenho do produto:

Repetitividade

Doze esfregaços de uma mistura de bactérias gram positivas (estafilococos) e bactérias gram negativas (E. coli) foram corados segundo Gram. Observou-se que os cocos foram corados de maneira homogênea pelo complexo "violeta de genciana/lugol" em todos os esfregaços. As bactérias gram negativas não se coraram pela violeta de genciana.

O procedimento técnico seguiu rigorosamente as instruções de uso, havendo assim, total concordância das características tintoriais das bactérias gram positivas e gram negativas. Observamos que a repetitividade do corante está relacionada com sua correta utilização, de acordo com as instruções de uso, sendo decisivas as etapas de fixação do esfregaço e os tempos de coloração.

Estabilidade

Durante 12 meses consecutivos em esfregaços bacteriológicos de culturas gram positivas e gram negativas, confeccionados e corados em condições ideais, houve concordância das características tintoriais das bactérias gram positivas e gram negativas.

É importante ressaltar que para a confecção dos esfregaços, as lâminas devem encontrar-se limpas e isentas de gordura.

- Referências Bibliográficas:

- 1- Otto Bier: Bacteriologia e imunologia, 19ª edição, 1978.
- 2- Who: Manual of basic techniques for a health laboratory 1980
- 3- Balous A.; Hausler W.J.; Hermann K.L.; Isenberg H.D; Shadomy HJ: Manual of clinical microbiology, 1289 a 1314; 1991
- 4- Howard B.J.: Clinical and pathogenic microbiology, 107-112; 1994

- Indicação ao consumidor:

A QEEL Química Especializada Erich Ltda garante a qualidade de seus produtos, desde que todas as normas de bom desempenho, descritas neste manual de instruções de uso sejam seguidas a risca.



QEEL - QUÍMICA ESPECIALIZADA ERICH LTDA.

- Fabricante:

Nome: QEEL - Química Especializada Erich Ltda. **CNPJ:** 64.822.885/0001-97

Endereço: Rua Afonso Vidal, 192 - São Paulo - CEP: 05723-330

- Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC)

Em caso de dúvida ligue para o sistema de atendimento ao consumidor:

Fone: (011) 3742-5113 - Fax: (011) 3772-7246

E-mail: vendas@qeelquimica.com.br

www.qeelquimica.com.br

Nº Registro no Ministério da Saúde: 80127400006

Responsável Técnica: Sabrina Thomaz Vicente CRQ Nº 04200279

Revisão: 01 (08/2012)