

### FINALIDAD

Equipo de colorantes para diagnóstico clínico de microorganismos positivos o negativos a la tinción de Gram, mediante el método de coloración diferencial en frotis.

Solo para uso de diagnóstico *in vitro*.

### FUNDAMENTO

El procedimiento para la tinción diferencial de Gram distingue 2 grupos de células, las que retienen el colorante primario son llamadas **Gram (+) Positivas** y las que pierden el color primario y toman el color del colorante de contraste, las cuales son llamadas **Gram (-) Negativas**.

El mecanismo se basa en las características fisicoquímicas de las estructuras de la pared celular de los microorganismos. Una probable teoría del mecanismo de acción es la siguiente: El colorante básico entra al microorganismo, donde forma con el yodo una laca insoluble en el agua. El alcohol acetona empleado para aclarar, deshidrata las paredes de los microorganismos Gram (+) positivos, tratados con mordiente forman una barrera que la laca no puede atravesar.

En las células Gram (-) Negativas, los lípidos de la pared mas abundantes que en las células Gram (+) Positivas se disuelven por este tratamiento, lo que permite el escape de complejo de cristal violeta con yodo.

### CONTENIDO

Producto	Cat.	Presentación			
		83	166	332	666
1 Violeta de Genciana	6269	125 mL	250 mL	500 mL	1 L
2 Yodo de Gram	724	125 mL	250 mL	500 mL	1 L
3 Acetona Alcohol mezcla	901	125 mL	250 mL	500 mL	1 L
4 Safranina	826	125 mL	250 mL	500 mL	1 L

### ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

1. Almacene a temperatura de 15 – 30 °C en el frasco original, bien cerrado y protegido de la luz.
2. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad, indicada en la etiqueta.

### EQUIPO Y MATERIAL REQUERIDO NO INCLUIDO

1. Aceite de inmersión **Cat. 64287**
2. Porta Objetos **Cat. 75511**

### PREPARACIÓN DE REACTIVOS

1. Los reactivos están listos para su uso, Si se forma precipitado filtrarlos con papel filtro para mejor apreciación de las células.
2. No trasvase la solución, separe la cantidad requerida y no regrese la solución para evitar contaminación.

### MANEJO DE LA MUESTRA

1. Preferentemente el espécimen deberá ser tomado previo a la tinción.
2. Realizar una extensión en un porta objetos desengrasado con suficiente muestra y seque en posición vertical a temperatura ambiente.
3. Fijar la muestra con calor.

### MODO DE EMPLEO:

Egfvn los enjuagues de agua corriente, puede sustituir por agua destilada para evitar la adherencia de partículas y sales duras.

Causas de precipitados en la placa: Lavado inadecuado, dejar que el colorante seque sobre la lamina o portaobjetos sucio.

1. Coloque una placa en una gradilla de tinción.
2. Cubra el frotis con colorante Violeta de Genciana y espere **1 minuto**.
3. Escuffa el colorante de violeta de Genciana sin enjuagar, cubra con solución Yodo Gram y espere **1 minuto**.
4. Lave con solución de Acetona Alcohol mezcla para decolorar, deje actuar de 5 – 15 seg. en frotis delgados y de 15 – 60 seg. en frotis gruesos.
5. Enjuagar para remover restos del decolorante.
6. Cubra el frotis con colorante Safranina y espere **1 minuto**.
7. Lavar repetidas veces con agua corriente o destilada hasta aclarar.
8. Secar al aire y observar al microscopio con objetivo 100 X.

### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Bacterias	Color
Gram positivas (+)	Morado azulado
Gram Negativas (-)	Rojo

### BIBLIOGRAFIA

1. STAINING PROCEDURES Fourth edition 1980, pag 375 – 378, Clark George.
2. METODOS DE LABORATORIO 2a edición 1978, Lynch, Raphael, Melhor, Spare & Inwood.

FABRICADO Y ACONDICIONADO POR: HYCEL DE MÉXICO, S.A. DE C.V.

[www.hycel.com.mx](http://www.hycel.com.mx)