

USO PROPUESTO

Para su uso en el método de coloración Gram para la diferenciación inicial de bacterias grampositivas y gramnegativas.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El colorante Gram fue originalmente creado por Christian Gram en 1884. El método estándar de Gram puede usarse para diferenciar bacterias morfológicamente similares intactas en dos grupos. Se centra en el color de la pared celular tras utilizar el método de coloración. Además la forma de la célula, el tamaño y los detalles estructurales son evidentes.

PRINCIPIO

Se forma un compuesto de Crystal Violet-Iodine en el protoplasma de cualquier organismo colorado usando el proceso arriba indicado. Después de la descoloración, aquellos organismos que son capaces de retener este compuesto de color se clasifican como grampositivos. Aquellos organismos que están descoloridos y cogen el colorante de contraste se clasifican como gramnegativos.

Si se rompe o desaparece la pared celular, el protoplasma tanto de las células grampositivas como gramnegativas se puede descolorar, por lo tanto pierde el atributo gramnegativo. Así, el mecanismo de coloración Gram parece estar relacionado con la presencia de una pared celular intacta capaz de actuar como barrera para la descoloración del color primario. Generalmente, la pared celular no es selectivamente permeable. Está comprobado que durante el proceso de coloración Gram, la pared celular de las células grampositivas está deshidratada por el alcohol en el descolorizador y pierde permeabilidad, por lo tanto retiene la coloración primaria. En el caso de la pared celular de las células gramnegativas, debido al alto contenido en lípidos, la pared celular se convierte en más permeable cuando trata con alcohol, por lo tanto se pierde la coloración primaria, permitiendo así adoptar el último colorante de contraste.

REACTIVOS

Colorantes listos para su uso.

PL7000	Violeta cristal	500 ml
PL7001	Violeta cristal	1 litro
PL7002	Violeta cristal	2 litros
PL7000/25	Violeta cristal	250 ml
PL7003	Yodo de Gram	500 ml
PL7004	Yodo de Gram	1 litro
PL7005	Yodo de Gram	2 litros
PL7003/25	Yodo de Gram	250 ml
PL7006	Diferenciador de Gram	500 ml
PL7007	Diferenciador de Gram	1 litro
PL7008	Diferenciador de Gram	2 litros
PL7006/25	Diferenciador de Gram	250 ml
PL7009	Rojo neutro	500 ml
PL7010	Rojo neutro	1 litro
PL7011	Rojo neutro	2 litros
PL7009/25	Rojo neutro	250 ml
PL7012	Safranina	500 ml
PL7013	Safranina	1 litro
PL7014	Safranina	2 litros
PL7012/25	Safranina	250 ml
PL7015	Carbol Fucsina diluida	500 ml
PL7016	Carbol Fucsina diluida	1 litro
PL7017	Carbol Fucsina diluida	2 litros

PL7015/25	Carbol Fucsina diluida	250 ml
PL7052	Yodo de lugol	500 ml
PL7053	Yodo de lugol	1 litro
PL7053-2	Yodo de lugol	2 litros
PL7101	Fuctina básica / Rojo neutro	500 ml
PL7102	Fucsina básica / Rojo neutro	1 litro
PL7103	Fucsina básica / Rojo neutro	2 litros
PL7073	CV – Oxalato amónico	500 ml
PL7074	CV – Oxalato amónico	1 litro
PL7075	CV – Oxalato amónico	2 litros
PL7110	Colorante de Sandifords	500 ml
PL7111	Colorante de Sandifords	1 litro
PL7112	Colorante de Sandifords	2 litros
PL7113	Violeta metilo	500 ml
PL7114	Violeta metilo	1 litro
PL7115	Violeta metilo	2 litros
PL7116	Safranina / Rojo neutro	500 ml
PL7117	Safranina / Rojo neutro	1 litro
PL7118	Safranina / Rojo neutro	2 litros

Colorantes concentrados. Diluya hasta 1 litro con agua destilada antes de su uso.

PL8000	Violeta cristal	100 ml
PL8001	Yodo de Gram	100 ml
PL8002	Rojo neutro	100 ml
PL8003	Safranina	100 ml
PL8004	Carbol fucsina diluido	100 ml
PL8010	Yodo de lugol	100 ml
PL8011	Violeta metilo	100 ml

Colorantes concentrados. Diluya hasta 4 litros con agua destilada antes de su uso.

PL8000-4.0	Violeta cristal	400 ml
PL8001-4.0	Yodo de Gram	400 ml
PL8002-4.0	Rojo neutro	400 ml
PL8003-4.0	Safranina	400 ml
PL8004-4.0	Carbol fucsina diluido	400 ml
PL8010-4.0	Yodo de lugol	400 ml
PL8011-4.0	Violeta metilo	400 ml

Colorantes concentrados. Diluya hasta 5 litros con agua destilada antes de su uso.

PL8000-5.0	Violeta cristal	500 ml
PL8001-5.0	Yodo de Gram	500 ml
PL8002-5.0	Rojo neutro	500 ml
PL8003-5.0	Safranin	500 ml
PL8004-5.0	Carbol fucsina diluido	500 ml
PL8010-5.0	Yodo de lugol	500 ml
PL8011-5.0	Violeta de metilo	500 ml

Kits de coloración (Listos para su uso)

PL8055/25	Kit de coloración de Gram – Violeta cristal 250 ml, Yodo de Gram 250 ml, Diferenciador de Gram 250 ml, Safranina 250 ml.
PL8056/25	Kit de coloración de Gram – Violeta cristal 250 ml, Yodo de Gram 250 ml, Diferenciador de Gram 250 ml, Rojo Neutro 250 ml.
PL8057/25	Kit de coloración de Gram – Violeta Cristal 250 ml, Yodo de Gram 250 ml, Diferenciador de Gram 250 ml, Carbol fucsina diluido 250 ml.

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

- Los colorantes Gram PRO-LAB Diagnostics se ofrecen sólo como un material in vitro y no debe utilizarse bajo ningún concepto para un propósito curativo o profiláctico.
- Durante su uso y después del mismo, manipule todos los materiales de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio, considerando siempre que todos los materiales del test deben ser manipulados como potencia lmente biopeligrosos.
- El mecanismo no tiene más peligro medioambiental que el que tienen aquellas muestras clínicas que se usan con el mecanismo. Se deben tomar medidas de seguridad como si un organismo patógeno estuviera presente, cuando se manipulen, procesen y eliminen todas las muestras clínicas. Existe el impacto medioambiental y se aborda adecuadamente a través de una correcta eliminación.

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Temperatura ambiente. Fuera de fuentes de ignición. Fuera de la luz solar directa. Conservados en estas condiciones, los reactivos pueden ser usados hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del producto.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y PREPARACIÓN DE LOS CULTIVOS.

Consulte un texto estándar de microbiología.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS.

Portaobjetos de cristal limpios, asa estéril, llama / aire caliente, soporte de coloración, agua del grifo, aceite de inmersión, papel secante o sustituto equivalente.

PROCEDIMIENTO.

- Prepare un extensión fina, uniforme de muestra y seque al aire.
- Fije al calor y deje enfriar.
- Inunde el portaobjetos con Violeta Cristal o Violeta metilo y deje reposar durante 1 minuto. Aclárelo con agua.
- Inunde el portaobjetos con Yodo de Gram o de Lugol y deje reposar durante 1 minuto. Aclárelo con agua.
- Decolore suavemente con el Diferenciador durante aprox. 10 segundos. Aclárelo con agua.
- Inunde el portaobjetos con el colorante de contraste, durante 30 – 60 segundos.
- Aclárelo bien con agua, seque suavemente la mancha (extensión).
- Véase usando microscopia de inmersión en aceite.

CONTROL DE CALIDAD

La edad de los cultivos y el pH del medio en el que crecen las bacterias puede afectar notablemente su reacción a la coloración gram. Use cultivos recientes, de hasta 24 horas.

Cultivos de CC recomendados;

Escherichia coli NCTC 10418 (Bacilos gramnegativos de Rosa a Rojo)
Staphylococcus aureus de Oxford NCTC 6571 (Cocos grampositivos Azul a Malva)
Streptococcus hemolítico grupo A NCTC 8198 (Cocos grampositivos Azul a Malva)

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Organismos grampositivos – Azul a Malva.

Organismos gramnegativos – Rosa a Rojo.

LIMITACIONES

1. Se pueden ver resultados de coloración falsos grampositivos y gramnegativos si los restos celulares se coloran por medio de esta técnica. p.ej.,– El núcleo y protoplasma de las células sanguíneas blancas se coloran con el colorante de contraste. Pueden colorarse también partículas sólidas por el Violeta Cristal.
2. Los colorantes Gram sólo aportan información de identificación preliminar y no son un sustituto del cultivo de la muestra.

REFERENCIAS

1. Manual of Clinical Microbiology Lennette.
2. The Practice of Medical Microbiology. 12th Edition. V2. R.Cruickshank, J.P.Duguid, B.P.Marmion, R.H.A.Swain.

	= Fabricante
	= Dispositivo para diagnóstico médico In vitro
	= Limite de temperatura
	= Consultar las instrucciones de uso

Las instrucciones de uso se tradujeron de manera profesional del inglés. En caso de ambigüedad o discrepancia evidente, por favor, dirijase al servicio de atención al cliente de Pro-Lab.