

# COLORACIÓN DE GRAM

Reactivo de Diagnóstico in vitro [IVD]

## USO

La tinción de Gram fue desarrollada en 1884 por el danés Hans Christian Gram. Esta tinción es una herramienta básica y fundamental dentro del área de la microbiología ya que clasifica a las bacterias en dos grandes grupos:

Gram positivas y Gram negativas

## FUNDAMENTO

La tinción se basa en las características de la pared celular. Las bacterias Gram positivas tienen gran contenido de peptidoglucanos mientras que las Gram negativas solo tienen una fina capa de éstos, pero tienen mayor contenido de lípidos.

Los alcoholes y otros solventes orgánicos no penetran las paredes celulares deficientes en lípidos de las bacterias Gram positivas, permitiendo que retengan el colorante primario, cristal violeta (Violeta de Gram Albor).

## COMPONENTES

**VIOLETA GRAM Albor Ref.: 12214**

**LUGOL DE GRAM Albor Ref.: 12213**

**ETANOL CETONA Albor Ref.: 12211 FUCSINA**

**DE GRAM Albor Ref.: 12212 SAFRANINA DE**

**GRAM Albor Ref.: 12215**

## PRESENTACIONES

50 mL, 100 mL, 200 mL, 250 mL, 500 mL, y 1000 mL.

Reactivos listos para el uso.

## MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NOPROVISTOS

Los reactivos se pueden adquirir por separado.

Láminas portaobjetos, portaobjetos **LAMINAS CONTROL** positivo y negativo Albor (Ref. 52011), muestra, mechero, agua, microscopio, **ACEITE DE INMERSIÓN Albor Ref. 19401**.

## MUESTRA

El material de estudio puede proceder de: pus, exudado, líquido cefalorraquídeo,

Líquido pleural, secreción o de un cultivo microbiano puro.

## CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar a temperatura de +5 a +30°C, en su envase original, protegidos de la luz. Conservar el Lugol de Gram en frasco de vidrio ámbar o PVC ámbar.

Fecha de expiración indicada en la etiqueta.

## PROCEDIMIENTO

- Secar el frotis y fijarlo al calor
- Teñir el frotis durante 1 minuto con la VIOLETA DE GRAM ALBOR. Lavar con agua corriente y escurrir.
- Cubrir con la solución de LUGOL DE GRAM ALBOR y dejar 1 minuto. Lavar y escurrir.
- Cubrir con ETANOL CETONA ALBOR por 8 a 10 segundos. Lavar y escurrir.
- Cubrir con la coloración de contraste FUCSINA DE GRAM ALBOR o SAFRANINA DE GRAM ALBOR por 15 a 30 segundos. Lavar con agua corriente y limpiar el exceso de colorante.
- Dejar secar.
- Dispensar una gota de ACEITE DE INMERSIÓN ALBOR sobre la preparación y observar al microscopio.

## RECOMENDACIONES

- Utilizar muestras frescas o refrigeradas máximo 2 días y realizar extendidos con espesor adecuados.
- Filtrar semanalmente los colorantes.
- Estandarizar tiempos de coloración
- El tiempo de decoloración no debe exceder el sugerido, debido a que al dejar mucho tiempo expuesto el frotis al decolorante, se puede decolorar incluso las bacterias Gram positiva, tomarían el color del contraste y se observarían rojos.

## RESULTADO

Bacterias Gram positivas: color morado. Bacterias Gram negativas: color rosado a rojo. Morfología: bacilar, coco bacilar o cocoide.

Agrupación: pares, cadena, racimo o ninguna.

## CONTROL DE CALIDAD

Utilizar las láminas control de la coloración de Gram Albor, o cultivos puros de bacterias Gram positivas y Gram negativas.

## PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Consultar las fichas de seguridad de cada reactivo.

## BIBLIOGRAFÍA

PUMAROLA, A. 1992. Microbiología y parasitología médica, 2da. Ed. Masson. Barcelona, España.

Instituto nacional de salud. 1987. Manual de procedimientos. Bogotá.