



Instrucciones de uso

BBS-IFU

205 South 600 West Logan, Utah 84323, U.S.A. – Tel. (800) 729-8350 – Tel. (435) 755-9848 – Fax (435) 755-0015 – www.scytek.com Rev. 4, 7/19/2022

Kit de tinción de Gram

(Marrón y Brenn modificados)

Descripción y principio

El kit de tinción de Gram (Brown & Brenn modificado) está diseñado para la demostración y diferenciación de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.

La violeta de genciana, junto con el yodo de Lugol, forma un lago de colorante que tiñe organismos grampositivos y gramnegativos. Las bacterias grampositivas y gramnegativas se diferencian debido a las diferencias en la composición de la pared celular. El complejo de yodo violeta de genciana se elimina de las bacterias gramnegativas, mientras que las bacterias grampositivas retienen la mancha. A continuación, se aplica safranina O como contratinción para las bacterias gramnegativas diferenciadas.

Resultados esperados

Bacterias Gram Positivas:	Azul
Bacterias Gram negativas:	Rojo
Fondo:	Amarillo
Núcleos:	Rojo

Contenido del kit

1. Solución de violeta de genciana	18-25°C
2. Solución de yodo de Lugol	18-25°C
3. Solución decolorante de Gram	18-25°C
4. Solución de safranina O (para tinción de Gram)	18-25°C
5. Ácido pícrico - Solución de acetona (0,1%)	18-25°C.

Almacenamiento

Controles sugeridos (no incluidos)

Frotis de tejido o células que contienen organismos grampositivos y gramnegativos

Usos/Limitaciones

Solo para uso en diagnóstico in vitro.
No lo use si los reactivos se vuelven turbios o precipitan
No lo use después de la fecha de vencimiento.
Tenga cuidado al manipular reactivos.
No estéril
Diseñado para secciones FFPE cortadas a 5-10 µm.
Este procedimiento no se ha optimizado para secciones congeladas.
Las secciones congeladas pueden requerir una modificación del protocolo.

Almacenamiento

Guarde el kit y todos los componentes a temperatura ambiente (18-25 °C).

Seguridad y precauciones

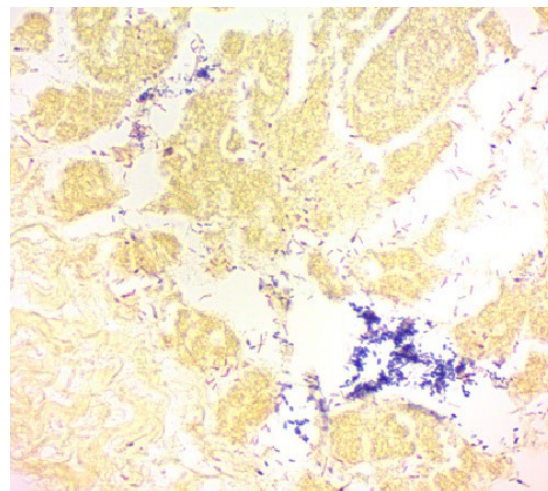
Consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) actuales para conocer la clasificación del SGA de este producto y componentes, los pictogramas y las declaraciones de peligro/precaución completas.

Procedimiento

1. Desparafinar secciones si es necesario e hidratar hasta obtener agua destilada.
2. Aplique la solución de violeta de genciana en la sección de pañuelos durante 2 minutos.
3. Enjuague el deslizador en agua destilada para eliminar el exceso de mancha.

4. Aplique la solución de yodo de Lugol a la sección de tejido durante 1 minuto.

5. Enjuague el portaobjetos en agua destilada para eliminar el exceso de solución.



Gram stain on Avian Liver demonstrating gram-positive and gram-negative bacteria. Magnification 400X

6. Aplique con cuidado el decolorador de Gram gota a gota hasta que el color ya no se desvanezca de la sección. Nota: La aplicación de este decolorante durante más de 5 segundos puede eliminar la mancha de bacterias grampositivas.

7. Enjuague el portaobjetos rápidamente en agua destilada.

8. Aplique la solución de Safranina O en la sección de tejido durante 4 minutos.

9. Enjuague el deslizador en agua destilada para eliminar el exceso de mancha.

Nota: Se requiere alcohol y ácido pícrico-acetona (pasos 11-12) para eliminar la mancha roja del fondo, pero el exceso de incubación con estas soluciones también puede eliminar la mancha de las bacterias.

10. Sumerja el portaobjetos una vez en alcohol absoluto y luego elimine el exceso de alcohol del portaobjetos mediante un secado.

11. Aplique cuidadosamente unas gotas de Solución de Ácido Pícrico - Acetona (0,1%) mientras agita suavemente durante 2-10 segundos, luego enjuague inmediata y brevemente el deslizador en alcohol absoluto. Si el tejido todavía está fuertemente rojo, repita el paso 12 hasta que esté mayormente amarillo: puede quedar un tinte rojo debido a la presencia de núcleos o grandes cantidades de bacterias gram(-).

12. Deje que la corredera se seque al aire.

13. Transparente y montaje en resina sintética.

Referencias

1. Isenberg, S.S. Manual de Procedimientos de Microbiología Clínica. Sociedad Americana de Microbiología, 1992.

2. Sheehan, DC., Hrapchak, BB. Teoría y Práctica de la Histotecnología; 1980, página 235.

3. Brown, J.H., Brenn, L. Método para la tinción diferencial de bacterias grampositivas y gramnegativas en secciones de tejido. Boletín John Hopkins Hospital, 1931, Volumen 48, páginas 69-73.

4. Gramo, C. Fostchr. Med., Tomo 2, página 185, 1884.



ScyTek Laboratories, Inc.
205 South 600 West
Logan, UT 84321
435-755-9848
U.S.A.



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands