

# TINCIÓN DE GRAM-HUCKER

## **Principio**

La tinción de Gram-Hucker es la coloración más utilizada en microbiología para diferenciar bacterias Gram positivas de Gram negativas según la retención que presenta al colorante. Los microorganismos teñidos con el primer colorante (Violeta Cristal) son los denominados Gram-positivos.

Los microorganismos teñidos con el colorante de contraste (Safranina O) son los Gram-negativos. El Kit para tinción de Gram-Hucker (en gotero) se compone de todos los reactivos que intervienen en esta tinción.

## **Material**

Muestras biológicas (esputos, pus, células bacterianas cultivadas).

## **Reactivos**

| Código | Descripción                                                           |
|--------|-----------------------------------------------------------------------|
| 256649 | Kit para tinción Gram-Hucker (en gotero) para diagnóstico clínico (*) |
| 251622 | Safranina O (C.I. 50240) para diagnóstico clínico (*)                 |
| 251086 | Etanol absoluto para diagnóstico clínico (*)                          |
| 251002 | Aceite de Inmersión para diagnóstico clínico (*)                      |

## **Componentes del Kit**

| Código | Descripción                                                                     |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 251803 | Alcohol-Acetona 7:3 para diagnóstico clínico (*)                                |
| 251774 | Líquido de Lugol con 0,4 % de Yodo (diluido) para diagnóstico clínico (*)       |
| 252531 | Safranina O solución según Gram-Hucker para diagnóstico clínico (*)             |
| 252532 | Violeta Cristal Oxalato solución según Gram-Hucker para diagnóstico clínico (*) |

Todos estos componentes también pueden adquirirse por separado.

## **Preparación de las soluciones**

- Si se emplea Safranina O (C.I. 50240) debe prepararse la solución según Gram-Hucker como se indica a continuación:

Safranina O 0,25 g

Etanol Absoluto 10 ml

Agua (c.s.p) 100 ml

#### **Procedimiento:**

1. Fijar el frotis microbiano por calor con cuidado de no quemar la preparación. Hacer pases cortos controlando la temperatura del portaobjetos por contacto dorso mano.
2. Cubrir la preparación con Violeta Cristal Oxalato solución Gram-Hucker durante 1 minuto.
3. Lavar el exceso de colorante suavemente con agua corriente.
4. Cubrir la preparación con Líquido de Lugol durante 1 minuto.
5. Volver a lavar con agua.
6. Decolorar, gota a gota y no más de 1 minuto con Alcohol-Acetona 7:3.
7. Lavar de nuevo con agua.
8. Cubrir la preparación con Safranina O solución según Gram-Hucker durante 1 minuto.
9. Lavar con agua.
10. Dejar secar.
11. Observar al microscopio con objetivo de inmersión.

#### **Resultados**

|                                 |              |
|---------------------------------|--------------|
| <b>Bacterias Gram-positivas</b> | Azul-violeta |
| <b>Bacterias Gram-negativas</b> | Rojo-rosado  |

#### **Nota técnica**

El color del envase gotero, puede alterarse con el tiempo. No afecta a la tinción. El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico clínico. Si se utiliza un aparato automático de tinción, deben tenerse en cuenta las instrucciones de empleo del fabricante del aparato y del software.

#### **Preparación de las muestras**

Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología. Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.

#### **Diagnóstico**

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas. Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos.

#### **Almacenamiento**

La solución de tinción debe almacenarse a temperatura entre +15 y + 25°C.

#### **Caducidad**

El producto almacenado a la temperatura indicada y en envase bien cerrado, es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada en el envase.

#### **Notas sobre el empleo**

Para evitar errores, la tinción ha de ser realizada por personal especializado. Solamente para uso profesional. Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad.

#### **Indicaciones para la eliminación de residuos**

Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Si se presentan más preguntas acerca de la eliminación, éstas podrán ser tramitadas a través de E-Mail: [info.es@itwreagents.com](mailto:info.es@itwreagents.com). Dentro de la UE tienen validez las prescripciones basadas en la Directiva 67/548/CEE del Consejo relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas en materia de clasificación, embalaje y etiquetado de sustancias peligrosas, en la correspondiente versión vigente.

#### **Clasificación de sustancias peligrosas**

Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad.

#### **Fabricante**

Panreac Química S.L.U.  
an ITW Company  
C/Garraf, 2 – Polígono Pla de la Bruguera  
E-08211 Castellar del Vallès  
(Barcelona) España  
Tel. (+34) 937 489 400  
Fax (+34) 937 489 401

---

(\*) Producto sanitario para Diagnóstico In Vitro

