Solución de Oxalato y Cristal Violeta

Cat. 5062

Soluciones de coloración, fijación y decoloración para clasificación bacteriana según tinción de Gram.

Información práctica

Aplicaciones	Categorias
Diferenciación	Bacterias Gram-positivas
Diferenciación	Bacterias Gram-negativas

Principios y usos

La Tinción de Gram diferencia a los microorganismos en dos grupos, los que retienen el tinte primario (Gram-positivos) y los que pierden el tinte primario, debido a la estructura de su pared celular, y toman el color de la contratinción (Gram-negativos).

El procedimiento necesita cuatro reactivos: colorante primario (solución de cristal violeta), solución de yodo (Lugol), decolorante (decolorante de acetona etanol) y la contratinción (solución de safranina).

Fórmula en g/L

Oxalato amónico	7,5	Cristal violeta	5,5
Etanol	200	Agua	787

Instrucciones de uso

Preparar un frotis y fijar con calor calentando suavemente con la llama.

1- Cubrir el frotis con cristal violeta. Dejar reposar durante 1 minuto.
2- Eliminar el exceso enjuagando con agua corriente.
3- Cubrir con Lugol y dejar reposar durante 1 min.
4- Decantar y enjuagar con agua corriente.
5- Decolorar con el decolorante de acetona etanol hasta que el decolorante residual sea incoloro.
6- Enjuagar con agua corriente.
7- Contrarrestar la tinción con solución de safranina durante 1 min.
8- Enjuagar con agua corriente y secar al aire.

Examinar bajo un objetivo empleando aceite de inmersión.

El procedimiento se puede modificar de acuerdo con las preferencias del usuario para lograr una intensidad de color más débil o más fuerte, cambiando los tiempos de tinción, lavado, etc.

Los frotis o cultivos viejos podrían dar resultados atípicos, es por esto que se recomiendan utilizar cultivos o frotis recientes (18-24 horas).

Es muy importante controlar la fijación por calor (unos pocos segundos), cualquier exceso de calentamiento podría producir resultados erróneos.

El agua del grifo altamente clorada podría debilitar la contratinción.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25ºC)
Sin restos	Líquido	N/A	N/A	N/A

Test microbiológico

Microrganismos	Especificación

Bacterias Gram-positivas	Colonias color violeta oscuro
Bacterias Gram-negativas	Colonias color rojo anaranjadas

Almacenamiento

Temp. Min.:15 ºC
Temp. Max.:30 ºC

Bibliografía

Clark, G. (1981) “Staining Procedures”, 4th ed,Williams&Willkins.
Bartholomew J.M., Mitwer, T. (1952), Bacteriol. Rev., 16, 1-29.