

# COLORAZIONE GRAM-HUCKER

---

## Principio

La colorazione di Gram-Hucker è la colorazione più comunemente utilizzata in microbiologia per differenziare i batteri Gram-negativi da quelli Gram-positivi sulla base della loro ritenzione della colorazione. I microrganismi colorati con il primo colorante (Crystal Violet) sono detti Gram-positivi. I microrganismi colorati con il colorante di contrasto (Safranin O) sono Gram-negativi. Il kit per la colorazione di Gram-Hucker (in forma di contagocce) contiene tutti i reagenti necessari per questa colorazione.

## Materiale

Campioni biologici (espettorato, pus, cellule batteriche coltivate).

## Reagenti

| Codice | Descrizione del prodotto   |
|--------|--|
| 256649 | Kit di colorazione di Gram-Hucker (contagocce) per la diagnosi clinica (*) |
| 251622 | Safranin O (C.I. 50240) per la diagnosi clinica (*)                        |
| 251086 | Etanolo assoluto per la diagnosi clinica (*)                               |
| 251002 | Olio per immersione per diagnosi clinica (*)                               |

## Componenti del kit

| Codice | Descrizione  |
|--------|--|
| 251803 | Alcool-acetone 7:3 per la diagnosi clinica (*)                                   |
| 251774 | Liquore di Lugol con 0,4% di iodio (diluito) per la diagnosi clinica (*)         |
| 252531 | Soluzione di Gram-Hucker Safranin O per la diagnosi clinica (*)                  |
| 252532 | Soluzione di Gram-Hucker cristallo violetto ossalato per la diagnosi clinica (*) |

Tutti questi elementi possono essere acquistati anche separatamente.

## Preparazione delle soluzioni

- Se si utilizza la safranina O (C.I. 50240), la soluzione di Gram-Hucker deve essere preparata come indicato di seguito:
  - Safranin O 0,25 g
  - Etanolo assoluto 10 ml
  - Acqua (q.s.p.) 100 ml

### **Procedura**

1. Fissare lo striscio microbico riscaldando con attenzione per non bruciare il preparato. Eseguire brevi passaggi, controllando la temperatura del vetrino mediante contatto manuale con il dorso.
2. Coprire il preparato con una soluzione di ossalato e cristalli di violetto di Gram-Hucker per 1 minuto.
3. Lavare delicatamente il colorante in eccesso sotto acqua corrente.
4. Coprire il preparato con il liquido di Lugol per 1 minuto.
5. Sciacquare nuovamente con acqua.
6. Decolorare, goccia a goccia e per un massimo di un minuto, con alcol-acetone 7:3.
7. Risciacquare nuovamente con acqua.
8. Ricoprire il preparato con una soluzione di safranina O secondo Gram-Hucker per 1 minuto.
9. Lavare con acqua.
10. Lasciare asciugare.
11. Osservare al microscopio con l'obiettivo a immersione.

### **Risultati**

|                              |              |
|------------------------------|--------------|
| <b>Batteri Gram-positivi</b> | Blu violaceo |
| <b>Batteri Gram-negativi</b> | Rosso rosato |

### **Nota tecnica**

Il microscopio utilizzato deve soddisfare i requisiti di un laboratorio di diagnostica clinica; se si utilizza un coloratore automatico, è necessario tenere conto delle istruzioni per l'uso e del software del produttore.

### **Preparazione del campione**

Tutti i campioni devono essere trattati secondo lo stato della tecnologia. Tutti i campioni devono essere etichettati in modo inequivocabile.

### **Diagnostica**

El diagnóstico sólo debe ser realizado por personal autorizado y cualificado. Cada aplicación debe someterse a las comprobaciones oportunas para excluir resultados erróneos.

### **Immagazzinamento**

La soluzione colorante deve essere conservata a una temperatura compresa tra +15 e +25°C.

### **Scadenza**

Se conservato alla temperatura indicata e in un contenitore ben chiuso, il prodotto può essere utilizzato fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

### **Note sull'uso**

Per evitare errori, la colorazione deve essere eseguita da personale specializzato. Solo per uso professionale. È necessario rispettare le direttive nazionali sulla sicurezza sul lavoro e sulla garanzia di qualità.

### **Consigli sullo smaltimento dei rifiuti**

Le soluzioni usate e scadute devono essere smaltite come rifiuti pericolosi e devono essere rispettate le norme locali sullo smaltimento dei rifiuti. Per ulteriori domande sullo smaltimento, inviare un'e-mail a [info.es@itwreagents.com](mailto:info.es@itwreagents.com). All'interno dell'UE, i requisiti basati sulla Direttiva 67/548/CEE del Consiglio concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari e amministrative relative alla classificazione, all'imballaggio e all'etichettatura delle sostanze pericolose sono validi nella versione pertinente.

### **Classificazione delle sostanze pericolose**

Osservare la classificazione delle sostanze pericolose riportata sull'etichetta e le informazioni contenute nella scheda di sicurezza.

### **Produttore**

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

---

(\*) Certificato CE secondo IVDR 2017/746, per uso professionale.

