

BIOGRAM 4 KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od četiri reagensa za identifikaciju bakterija prema Gramu Za diferencijaciju Gram pozitivnih od Gram negativnih bakterija

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: BGR4-100T (za 100 testiranja) BGR4-K-100 (5x100 mL) BGR4-K-250 (5x250 mL) BGR4-K-500 (5x500 mL)

Uvod:

Diferencijacijsko bojenje bakterijskih vrsta prema Gramu široko je poznata i korištena metoda u mikrobiologiji te predstavlja jednu od najčešće izvođenih dijagnostičkih metoda u bolničkim i kliničkim laboratorijima. Bojenjem prema Gramu bakterije se dijele na dvije skupine: Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije. Ta se podjela temelji na razlikama u strukturi bakterijskih membrana tih dviju skupina, točnije sposobnosti zadržavanja boje. Gram-pozitivne bakterije imaju deblju staničnu membranu koja, uz tretiranje otopinom joda odnosno stvaranjem netopivih kompleksa joda i primarne boje, omogućava zadržavanje boje unutar stanice. Gram-negativne bakterije posjeduju tanju membranu koja zbog svoje strukture nije u mogućnosti zadržati boju odnosno ona se kroz nju ispire te se tako, uz kontrastno bojenje, stvara temelj za razlikovanje te dvije skupine bakterija. BioGnostov BioGram 4 komplet sastoji se od Gram Crystal Violet 1% otopine, stabilizirane Gram Lugolove otopine, dva pakovanja Gram Dekolorizator otopine 2 i Gram Safranin otopine. Svojim karakteristikama pruža optimalno bojenje bakterijskih vrsta te daje ujednačene rezultate.

Opis proizvoda:

BIOGRAM 4 KOMPLET - Komplet od 4 reagensa u 5 pakovanja za diferencijaciju bakterija prema Gramu u četiri koraka.

Komplet sadrži:	za 100 testiranja (BGR4-100T)	5x100 mL (BGR4-K-100)	5x250 mL (BGR4-K-250)	5x500 mL (BGR4-K-500)
Gram Crystal Violet 1% otopina	30 mL (GC1-OT-30)	100 mL (GC1-OT-100)	250 mL (GC1-OT-250)	500 mL (GC1-OT-500)
Gram Lugol otopina, stabilizirana	30 mL (GLS-OT-30)	100 mL (GLS-OT-100)	250 mL (GLS-OT-250)	500 mL (GLS-OT-500)
Gram Dekolorizator otopina 2	2x30 mL (GD2-OT-30)	2x100 mL (GD2-OT-100)	2x250 mL (GD2-OT-250)	2x500 mL (GD2-OT-500)
Gram Safranin otopina	30 mL (GSF-OT-30)	100 mL (GSF-OT-100)	250 mL (GSF-OT-250)	500 mL (GSF-OT-500)

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrebljeni u metodi:

- Predmetna stakla za primjenu u mikrobiologiji poput VitroGnost ECONOMY GRADE ili predmetna stakla za primjenu u citologiji poput VitroGnost STANDARD GRADE ili predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili neka od 30-tak vrsta BioGnostovih predmetnih stakala
- BioGnostova sredstva za umeriziju poput Imerzijskog ulja, Cedrovog ulja, Imerzijskih ulja tipova 37, A, B ili FF

Priprema uzorka za bojenje

Pomoću sterilizirane mikrobiološke eze prenijeti uzorak na čisto predmetno staklo.

Napomena: Uzorak mogu biti tjelesne tekućine, iscjedak, gnoj i tekuća ili čvrsta bakterijska kultura.

Ravnomojno raširiti uzorak po predmetnom staklu uz pomoć 1-2 kapi fiziološke otopine.

Nakon sušenja na zraku, fiksirati uzorak iznad plamena Bunsenovog plamenika kratko provlačeći predmetno staklo kroz konus plamena 2-3 puta.

Ohladiti predmetno staklo i krenuti s postupkom bojenja.

NAPOMENA: Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Postupak bojenja uzorka

a) kompletom za 100 testiranja (BGR4-100T)

1.	Nakapati Gram Crystal Violet 1% otopinu (≥ 5 kapi)	1 minuta
2.	Odliti višak boje s preparata	
3.	Pažljivo isprati preparat stabiliziranim Gram Lugolovom otopinom	
4.	Nakapati i fiksirati boju tretiranjem preparata stabiliziranim Gram Lugolovom otopinom (≥ 5 kapi)	1 minuta
5.	Pažljivo isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom	5 sekundi
6.	Nakapati Gram Dekolorizator otopinu 2 (≥ 5 kapi) Prestati s postupkom kada preparat poprimi sivkasto-plavu boju Napomena: Prekomjernim tretiranjem otopinom dekolorizatora isprati će se boja i iz Gram-pozitivnih bakterija	10-15 sekundi
7.	Pažljivo isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom	5 sekundi
8.	Nakapati Gram Safranin otopinu	1 minuta
9.	Pažljivo isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom	5 sekundi
10.	Preparat posušiti filter papirom ili ostaviti da se osuši na zraku	
11.	Na preparat dodati kap umerzijskog ulja (Cedrovo ulje ili Imerzijsko ulje)	
12.	Pregledati preparat pod umerzijskim objektivom	

b) kompletom s četiri reagensa od 100, 250 i 500 mL (BGR4-K-100, BGR4-K-250 i BGR4-K-500)

1.	Obojiti preparat Gram Crystal Violet 1% otopinom	1 minuta
2.	Odliti višak boje s preparata.	

3.	Pažljivo isprati preparat stabiliziranom Gram Lugolovom otopinom	
4.	Fiksirati boju tretiranjem preparata stabiliziranom Gram Lugolovom otopinom	1 minuta
5.	Pažljivo isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom	5 sekundi
6.	Tretirati preparat Gram Dekolorizator otopinom 2 Prestati s postupkom kada preparat poprimi sivkasto-plavu boju	10-15 sekundi
	Napomena: Prekomjernim tretiranjem otopinom dekolizatora isprati će se boja i iz Gram-pozitivnih bakterija	
7.	Pažljivo isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom	5 sekundi
8.	Tretirati preparat Gram Safranin otopinom	1 minuta
9.	Pažljivo isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom	5 sekundi
10.	Preparat posušiti filter papirom ili ostaviti da se osuši na zraku	
11.	Na preparat dodati kap imerzijskog ulja (Cedrovo ulje ili Imerzijsko ulje)	
12.	Pregledati preparat pod imerzijskim objektivom	

Rezultat

Gram-pozitivne bakterije - plavo ljubičasta boja

Gram-negativne bakterije - crvena boja

Napomena:

Postupci bojenja u mikrobiologiji nisu standardizirani i ovise o standardnim operativnim postupcima pojedinih laboratorija i iskustvu djelatnika koji izvode bojenje uzoraka. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Ovisno o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorija, obrada uzorka i bojenje može se izvoditi i prema drugim protokolima. Isto tako moguća je i upotreba drugih Gram Dekolorizator otopina iz BioGnostove ponude. Ukoliko se u postupku bojenja koristi otopina nestabiliziranog joda, tj. Gram Lugol otopina, tada se preporučuje upotreba Gram Dekolorizator otopine 1. Ako je nužno vrlo brzo odbojavanje tada se preporučuje upotreba Gram Dekolorizator otopine 3.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje uzoraka i njihovu pripremu koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti proizvođačevu uputu za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak obrade uzorka i postavljanja dijagnoze mogu provoditi samo ovlaštene i stručno osposobljene osobe. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se prije primjene provesti pozitivnu i negativnu kontrolu.

Zaštita na radu i zaštita okoliša

Proizvodom rukovati u skladu sa smjernicama zaštite na radu i zaštite okoliša. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok trajanja moraju biti zbrinute kao poseban otpad u skladu s nacionalnim smjernicama. Kemikalije korištene u ovom postupku mogu predstavljati opasnost za ljudsko zdravlje. Ispitivani uzorci tkiva potencijalno su infektivni te je nužno poduzeti potrebne mjere zaštite ljudskog zdravlja u skladu sa smjernicama dobre laboratorijske prakse. Obavezno pročitati i postupati u skladu sa znakovima obavijesti i upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda i u BioGnostovom Sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

BioGram 4 komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na +15°C do +25°C. Ne držati na hladnom, ne zamrzavati i ne izlagati direktno sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

- Carson, F. L., Hladik, C. (2009): *Histotechnology: A Self-Instructional Text*, 3rd ed., Chicago: ASCP Press
- Kiernan, J. A. (2008): *Histological and Histochemical Methods*, 4th ed., Bloxham: Scion Publishing Ltd

BGR4-X, V12, 16.10.19., IŠP/VR

 Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	 Temperaturni raspon čuvanja	 Broj testova u pakovanju	 Kataloški broj	 Europska sukladnost
 Pročitati priloženu uputu	 Čuvati od topline i sunčevog svjetla	 Vrijedi do	 Broj serije	 Proizvođač
 Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu	 Čuvati na suhom	 Oprez lomljivo		

 BIOGNOST d.o.o.
Međugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com

