

BIOGRAM ECO KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

**Komplet od četiri reagensa za identifikaciju bakterija prema Gramu, ne sadrži fenol
Za diferencijaciju Gram pozitivnih od Gram negativnih bakterija**

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: BGRE-K-100 (2x50 mL + 4x100 mL) BGRE-K-500 (2x250 mL + 4x500 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 Eco komplet ne sadrži fenol i minimalizira izlaganje štetnim kemikalijama. Sastoji se od: Gram Crystal Violet, reagensa bez fenola, Gram Natrijev hidrogenkarbonat otopine, stabilizirane Gram Lugolove otopine, Gram dekolorizator otopine 2 (dvostruko pakiranje) i Gram Safranin otopine.

Opis proizvoda:

- **BIOGRAM ECO KOMPLET** - Komplet od 5 reagensa u 6 pakovanja za diferencijaciju bakterija prema Gramu.

Komplet sadrži:	2x50 mL + 4x100 mL (BGRE-K-100)	2x250 mL + 4x500 mL (BGRE-K-500)
Gram Crystal Violet, reagens bez fenola	50 mL (GCF-OT-50)	250 mL (GCF-OT-250)
Gram Natrijev hidrogenkarbonat, otopina	50 mL (GNHK-OT-50)	250 mL (GNHK-OT-250)
Gram Lugol otopina, stabilizirana	100 mL (GLS-OT-100)	500 mL (GLS-OT-500)
Gram Dekolorizator otopina 2	2x100 mL (GD2-OT-100)	2x500 mL (GD2-OT-500)
Gram Safranin otopina	100 mL (GSF-OT-100)	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 imeriziju poput Imerzijskog ulja i Imerzijskih ulja tipova 37, A 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 jednom od metoda:
 1. U ručnoj metodi bojenja nakapati nekoliko kapi fiksacijskog sredstva na uzorak i ostaviti da djeluje 1-2 minute.
Nastavi postupak bojenja ručno ili u automatskom bojaču.
 2. Fiksirati preparat pomoću Bunsenovog plamenika kratko provlačeći predmetno staklo kroz konus plamena 2-3 puta. Ohladiti predmetno staklo i krenuti s postupkom bojenja.
 3. Prilikom ručnog bojenja, fiksirati uzorak nanošenjem nekoliko kapi metanola. Ostaviti da djeluje 1-2 minute pa nastaviti s ručnim ili automatskim bojenjem.

Priprema radne otopine

Pomiješati u zasebnoj posudi Gram Crystal Violet, reagens bez fenola i Gram Natrijev hidrogenkarbonat, otopinu, u omjeru 1:1. Otopina se može čuvati 2 dana na sobnoj temperaturi, a na +4°C do 4 dana u zatvorenoj posudi. Izračunati neophodan volumen radne otopine sukladno broju stakalaca, ako se računa da je za bojenje jednog stakalca potrebno 3 ml radne otopine.

Postupak ručnog bojenja uzorka

1.	Obojiti preparat radnom otopinom (u potpunosti prekriti uzorak reagensom)	1 min
2.	Lagano isprati preparat s destiliranom/demineraliziranom vodom	5 sekundi
3.	Nanijeti 1-2 mL Gram Lugol otopine, stabilizirane na preparat	1 min
4.	Lagano ispirati preparat s 2 mL destilirane/demineralizirane vode	5 sekundi
5.	Tretirati preparat s 1-2 mL Gram Dekolorizator otopine 2. Lagano tresti stakalce, prekinuti inkubaciju nakon što najgušći dio uzorka prestane otpuštati plavkastu boju	5-10 sekundi
6.	Brzo isprati preparat s 3-5 mL destilirane/demineralizirane	5 sekundi
7.	Tretirati preparat s Gram Safranin otopinom	15-30 sekundi
8.	Pažljivo isprati preparat s destiliranom/demineraliziranom vodom	5 sekundi
9.	Osušiti preparat na zraku ili u termostatu	
10.	Nanijeti imerzijsko ulje i mikroskopirati	

Rezultat

Gram-pozitivne bakterije - plavo ljubičasta boja

Gram-negativne bakterije – ružičasta 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.

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

Literatura

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

BGRE-X, V5, 18.07.2022., KB/IŠP

 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

