

# GRAM CRYSTAL VIOLET 1% OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Otopina za upotrebu u BioGram 4 kompletu za bojenje bakterija prema Gramu UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: GC1-OT-100 (100 mL) GC1-OT-250 (250 mL) GC1-OT-500 (500 mL) GC1-OT-1L (1000 mL) GC1-OT-2.5L (2500 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. BioGnostova Gram Crystal Violet 1% otopina primarna je boja u metodi po Gramu i njome se boje Gram pozitivne bakterije. Namijenjena je upotrebi u BioGram 4 kompletu. Svojim karakteristikama pruža optimalno obojenje bakterijskih vrsta te daje ujednačene rezultate.

### Opis proizvoda

- GRAM CRYSTAL VIOLET 1% OTOPINA - Otopina za identifikaciju Gram pozitivnih bakterija.

### Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrebljeni u metodi:

- Otopina joda za primjenu u postupcima diferencijalnog bojenja prema Gramu poput BioGnostove Gram Lugol otopine, stabilizirane ili Gram Lugol otopine
- Otopina za odbojavanje za primjenu u postupcima diferencijalnog bojenja prema Gramu poput BioGnostovih Gram Dekolorizacijskih otopina 1, 2 ili 3
- Otopina kontrastne boje za primjenu kod diferencijalnog bojenja prema Gramu poput BioGnostove Gram Safranin otopine
- 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 imerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

### 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.
- Ravnomierno 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.

### Postupak bojenja uzorka

1.	Obojiti preparat Gram Crystal Violet 1% otopinom	1 minuta
2.	Odliti višak boje s preparata.	
3.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pažljivo isprati preparat stabiliziranim Gram Lugolovom otopinom</li> </ul>	
4.	Fiksirati boju tretiranjem preparata stabiliziranim Gram Lugolovom otopinom	1 minuta
5.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pažljivo isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom</li> </ul>	5 sekundi
6.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tretirati preparat Gram Dekolorizator otopinom 2</li> <li>Prestati s postupkom kada preparat poprimi sivkasto-plavu boju</li> </ul>	10-15 sekundi
	Napomena: Prekomjernim tretiranjem otopinom dekolorizatora isprati će se boja i iz Gram-pozitivnih bakterija	
7.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pažljivo isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom</li> </ul>	5 sekundi
8.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tretirati preparat Gram Safranin otopinom</li> </ul>	1 minuta
9.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pažljivo isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom</li> </ul>	5 sekundi
10.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Preparat posušiti filter papirom ili ostaviti da se osuši na zraku</li> </ul>	
11.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Na preparat dodati kap imerzijskog ulja (Cedrovo ulje ili Imerzijsko ulje)</li> </ul>	
12.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pregledati preparat pod imerzijskim objektivom</li> </ul>	

### 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.

### 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 s obavijestima i znakovima upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda i u BioGnostovom Sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

## Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Gram Crystal Violet 1% otopinu čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na 15°C do 25°C. Držati na suhom, 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*, 3<sup>rd</sup> ed., Chicago: ASCP Press
2. Kiernan, J. A. (2008): *Histological and Histochemical Methods*, 4<sup>th</sup> ed., Bloxham: Scion Publishing Ltd

GC1-OT-X, V13, 13.02.2017., AK/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](http://www.biognost.com)

