

GRAM LUGOL OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod **CE**

Nestabilizirana Lugolova otopina

Otopina za primjenu u mikrobiologiji kod bojenja prema Gramu

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: GL-OT-100 (100 mL)

GL-OT-250 (250 mL)

GL-OT-500 (500 mL)

GL-OT-1L (1000 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 stijenki tih dviju skupina, točnije spodobnosti zadržavanja boje. Toj sposobnosti doprinosi i BioGnostova Gram Lugol otopina, koja je po svom sastavu vodena otopina joda i kalijeva jodida. Ona u postupku Gram bojenja omogućava ulazak boje u bakterijsku stanicu i stvaranje netopivih kompleksa joda i primarne boje. Takvim svojim djelovanjem omogućuje zadržavanje boje i kasniju identifikaciju Gram pozitivnih bakterija.

Opis proizvoda:

GRAM LUGOL OTOPINA – Otopina za primjenu u mikrobiologiji kod bojenja prema Gramu.

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrebljeni u metodi:

- Otopina primarne boje za diferencijalno bojenje prema Gramu poput BioGnostove Gram Crystal Violet 1%
- Otopina joda za primjenu u postupcima diferencijalnog bojenja prema Gramu poput BioGnostove Gram Lugol otopine, stabilizirane
- 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

- Pomoći sterilizirane mikrobiološke eze prenijeti uzorak na čisto predmetno staklo.
Napomena: Uzorak mogu biti tjelesne tekućine, iscjedak, gnoj i tekuća ili čvrsta bakterijska kultura.
- Ravnomjerno 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.	• Pažljivo isprati preparat Gram Lugolovom otopinom (moguće koristiti i stabiliziranu Gram Lugol otopinu)	
4.	Fiksirati boju tretiranjem preparata stabiliziranim Gram Lugolovom otopinom (moguće koristiti i stabiliziranu Gram Lugol otopinu)	1 minuta
5.	• Pažljivo isprati preparat destiliranim/demineraliziranim vodom	5 sekundi
6.	• Tretirati preparat Gram Dekolorizator otopinom 2 • Prestati s postupkom kada preparat poprimi sivkasto-plavu boju	10-15 sekundi
	Napomena: Moguća je upotreba Gram Dekolorizator otopina 1 i 3. Oprez! Gram Dekolorizator otopina 3 izrazito je brzog djelovanja. Prekomjernim tretiranjem otopinom dekolorizatora isprati će se boja i iz Gram-pozitivnih bakterija.	
7.	• Pažljivo isprati preparat destiliranim/demineraliziranim vodom	5 sekundi
8.	• Tretirati preparat Gram Safranin otopinom	1 minuta
9.	• Pažljivo isprati preparat destiliranim/demineraliziranim 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 uzorka. 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 uzorka 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 laboratoriјa. 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 Lugol 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*, 3rd ed., Chicago: ASCP Press
2. Kiernan, J. A. (2008): *Histological and Histochemical Methods*, 4th ed., Bloxham: Scion Publishing Ltd

GL-OT-X, V11, 21.02.2017., AK/VR

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

