

# METHYL VIOLET 10B boja u prahu, C.I. 42555

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Metil ljubičasto, Gencijan violet, Basic violet 3, heksametil pararosanilin Za bojenje bakterija prema Gram metodi

### UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: MV10B-P-25 (25 g) MV10B-P-50 (50 g)

#### Uvod

Histologija, citologija i druge srodne znanstvene discipline proučavaju mikroskopsku anatomiju tkiva i stanica. Kako bi se postigla dobra vizualizacija tkivnih i staničnih struktura, potrebno ih je pravilno obojiti. Methyl Violet 10B boja u prahu namijenjena je rutinskom bojenju prema Gram metodi, za bojenje bakterijskih komponenti i za bojenje amiloida. Često se koristi i u polikromnom bojenju preparata u epoksi smolama, za vijabilno bojenje neurona u staničnoj kulturi i za analizu mejotskih struktura.

#### Opis proizvoda

- **METHYL VIOLET 10B** - boja u prahu za pripremu otopina za bojenje bakterija prema Gram metodi.

#### Primjer primjene Methyl Violet 10B boje kao komponente Gram bojenja

#### Ostali preparati i reagensi koji se koriste za izradu otopina boja i u postupku bojenja

- Kemikalije: amonijev oksalat, jod, kalijev jodid, aceton
- Boje u prahu: Safranine O
- Sredstvo za dehidraciju/rehidraciju poput BioGnostovih alkoholnih otopina: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100
- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih predmetnih stakala
- Sredstvo za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakala poput BioGnostovih BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount C, BioMount Aqua
- VitroGnost pokrovnostakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm

#### Priprema otopina boja:

##### Primarna otopina

Otopina A

- Otopiti 2 g Methyl Violet 10B boje u prahu u 20 mL 95%-tne alkoholne otopine (Histanol 95).

Otopina B

- Otopiti 0,8 g amonijevog oksalata u 80 mL destilirane (demi) vode.
- Pomiješati otopine A i B, pustiti da odstoji 24 h pa filtrirati prije upotrebe.

##### Otopina Gram joda:

- Smrviti 1 g joda i 2 g kalijevog jodida u tarioniku. Polako dodavati vodu uz kontinuirano miješanje dok se jod potpuno ne otopi (dodati ukupno 300 mL destilirane (demi) vode). Držati u smeđoj staklenoj boci.

##### Dekolorizacijska otopina:

- Pomiješati 50 mL acetona i 50 mL 95%-tne alkoholne otopine (Histanol 95). Držati u staklenoj boci.

##### Kontrastna otopina

Stock otopina

- Otopiti 2,5 g Safranin O boje u 100 mL 95%-tne alkoholne otopine (Histanol 95).

Radna otopina

- Pomiješati 10 mL stock otopine s 90 mL destilirane (demi) vode.

#### 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.
- 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.

**NAPOMENA:** Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

#### Postupak bojenja uzorka

1.	Obojiti preparat primarnom otopinom	1 minuta
2.	Odliti višak boje s preparata	
3.	Lagano isprati preparat pod indirektnim mlazom vodovodne vode	2 sekunde
4.	Tretirati preparat otopinom Gram joda	1 minuta
5.	Lagano isprati preparat pod indirektnim mlazom vodovodne vode	2 sekunde
6.	Tretirati preparat dekoloziracijskom otopinom; prestati s postupkom kada preparat poprimi sivkasto-plavu boju	10-15 sekundi
	Napomena: Prekomjernim tretiranjem dekoloziracijskom otopinom isprati će se boja i iz Gram-pozitivnih bakterija	
7.	Obojiti preparat radnom kontrast otopinom	30 sekundi-1 minuta
8.	Pažljivo isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom	5 sekundi
9.	Preparat posušiti filter papirom ili ostaviti da se osuši na zraku	

10.	Na preparat dodati kap umerzijskog ulja (Cedrovo ulje ili Imerzijsko ulje)	
11.	Pregledati preparat pod umerzijskim objektivom	

### Rezultat

Gram-pozitivne bakterije - plavo ljubičasta boja

Gram-negativne bakterije - crvena boja

### Napomena

Navedena formulacija samo je jedan od načina pripreme otopine boje. Boja Methyl Violet 10B najčešće se koristi za bojanje prema Gramu. Ovisno o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorija, otopina boje može se pripremiti i prema drugim protokolima.

### Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi najsuvremenijom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojanja i postavljanje 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 dostupnim na zahtjev.

### Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Methyl Violet 10B boju u prahu čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15°C do +25°C. Držati na suhom, ne zamrzavati i izbjegavati izlaganje direktnoj sunčevoj svjetlosti. Rok valjanosti je otisnut na etiketi proizvoda.

### Literatura

1. Conn, J. (1977): Biological Stains, 9th ed., Baltimore: Williams and Wilkins Co.
2. Carson, F. L., Hladik, C. (2009): Histotechnology: A Self-Instructional Text, 3rd ed., Chicago: ASCP Press.
3. Smith, A.C., i Hussey, M.A. (2005): Gram Stain Protocols, American Society for Microbiology Conference for Undergraduate Educators

MV10B-X, V1, 21.11.2019., 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

