

GRAM CRYSTAL VIOLET, REAGENS BEZ FENOLA

IVD *In vitro* dijagnostički medicinski proizvod

CE

Za primjenu kod bojenja u BioGram Eco kompletu UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: GCF-OT-50 (50 mL)

GCF-OT-250 (250 mL)

Uvod:

Gram Crystal Violet, reagens bez fenola sastavni je dio BioGram Eco kompleta koji se koristi za diferencijalno bojenje Gram pozitivnih od Gram negativnih bakterija. 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 sposobnosti zadržavanja boje. Toj sposobnosti doprinosi i BioGnostova Gram Lugol otopina, stabilizirana, 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 CRYSTAL VIOLET, REAGENS BEZ FENOLA** – reagens za primjenu u mikrobiologiji kod bojenja prema Gramu.

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrebljeni u metodi:

- Otopina Gram Natrijevog hidrogenkarbonata za pripremu radne otopine
- 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 BioGnostove Gram Dekolorizacijske otopine 2
- 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 umeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

Priprema uzorka za bojenje

- Pomoću sterilne 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.

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 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 umerzijsko ulje i mikroskopirati	

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 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. Kieman, J. A. (2008): *Histological and Histochemical Methods*, 4th ed., Bloxham: Scion Publishing Ltd

GCF-OT-X, V1, 23.5.2022., KB/ŠP

	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

