

1.10218.0500

1.10218.2500

Microscopie

Soluție de decolorare Gram

pentru colorare prin metoda Gram

Exclusiv pentru uz profesional**IVD**

Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro

**Scopul preconizat**

Această „Soluție de decolorare Gram - pentru colorare prin metoda Gram” este utilizată pentru diagnosticul celulelor medicale umane și servește scopului de investigație bacteriologică a eșantioanelor de probă de origine umană. Aceasta este o soluție gata de utilizare care, atunci când este utilizată împreună cu alte produse pentru diagnostic in vitro din portofoliul nostru, face posibilă evaluarea în scop de diagnostic a structurilor țintă bacteriene (bacterii Gram-pozitive sau Gram-negative) prin fixare, colorare, contracolorare, montare din eșantioanele bacteriologice de testat, de ex. frotiuri din fluide corporale.

Soluțiile Gram sunt modificate și proiectate astfel încât colorarea să poată fi efectuată în camere de colorare, pe suportul de colorare și, de asemenea, în sisteme automate de colorare.

Structurile necolorate au un contrast relativ scăzut și sunt extrem de dificil de distins sub microscopul optic. Imaginile create folosind soluțiile de colorare ajută investigatorul autorizat și calificat să definească mai bine forma și structura în astfel de cazuri. Testele suplimentare trebuie efectuate în conformitate cu metodele valide, recunoscute, pentru a ajunge la un diagnostic definitiv.

Principiu de funcționare

În bacteriologie, colorarea Gram permite o diferențiere rapidă între bacteriile Gram-pozitive și cele Gram-negative.

Structura din murein a peretelui bacteriei constituie baza pentru afinitatea culorii.

În prima fază, bacteria va fi colorată cu cristal-violet, un colorant pe bază de anilină. După tratarea cu soluție de iod (soluția Lugol), se va forma un complex colorant-iod. Pe parcursul fazei de decolorare, acest complex stă în structura cu straturi multiple din murein a peretelui celular al bacteriilor Gram-pozitive - acestea vor apărea albastru-violet.

Prin contrast, bacteriile Gram-negative au un perete celular care constă dintr-o structură de murein într-un singur strat, și re-eliberează în mod corespunzător colorantul cu soluția de decolorare. Bacteriile Gram-negative vor fi contracolorate cu soluție de safranină și apoi vor apărea în roz până la roșu.

Eșantion de probă

Frotiuri de probe bacteriologice care au fost uscate la aer și apoi fixate la căldură, de exemplu sputa, frotiurile din biopsii aspirative cu ac fin (FNAB), spălături, imprimări, scurgeri, puroi, exsudate, culturi lichide sau solide.

Reactivi

Cat. nr. 110218 Soluție de decolorare Gram pentru colorare prin metoda Gram 500 ml, 2,5 l

De asemenea, este necesar:

Cat. nr. 100567 Soluție Lugol stabilizată cu PVP pentru metoda de colorare Gram 1 l, 2,5 l

sau

Cat. nr. 109261 Soluție Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu) pentru metoda de colorare Gram 1 l, 2,5 l

Cat. nr. 109217 Safranină Gram - soluție pentru colorare prin metoda Gram 500 ml, 2,5 l

Cat. nr. 109218 Cristal violet Gram - soluție pentru colorare prin metoda Gram 500 ml, 2,5 l

Alternativ:

În locul combinării reactivilor unici, poate fi folosit kitul de colorare 1.11885.0001:

Cat. nr. 1.11885.0001 Gram-Color set pentru colorare prin metoda Gram 1 set

Prepararea probelor

Prelevarea probelor trebuie efectuată de personal calificat.

Aplicați eșantionul de testat pe o lamă curată, fără urme de grăsime, cu ajutorul unei anse. Apoi întindeți eșantionul fie direct pe lamă, fie mai întâi amestecați cu 1-2 picături de ser fiziologic (soluția Ringer). Uscați la aer și apoi fixați la căldură, extrăgând ușor lama (partea cu frotiu în sus) prin partea superioară a arzătorului Bunsen, de trei ori. După aceea, lăsați să se răcească și colorați.

Frotiurile uscate la aer trebuie fixate la căldură cu multă atenție. Aceasta previne riscurile de infectare și reduce dizolvarea eșantioanelor de testat și, astfel, contaminarea soluțiilor și a altor lame.

Toate probele vor fi tratate cu ajutorul tehnologiei de ultimă oră.

Toate probele vor fi etichetate clar.

Vor fi utilizate instrumente adecvate pentru prelevarea și pregătirea probelor.

Vor fi respectate instrucțiunile producătorului privind aplicarea/utilizarea.

La utilizarea reactivilor auxiliari corespunzători, trebuie respectate instrucțiunile de utilizare corespunzătoare.

Prepararea reactivului

Soluția de decolorare Gram - pentru colorare prin metoda Gram utilizată pentru colorare este gata de utilizare, diluarea soluției nu este necesară și mai degrabă provoacă o deteriorare a rezultatelor colorării și a stabilității lor.

Procedură**Colorarea în celula de colorare**

Se recomandă diluarea soluției Gram violet cristal 1:3 cu apă distilată, în cazul în care se folosește metoda de imersie.

Lamele trebuie introduse și mișcate în soluții, doar imersia simplă produce rezultate necorespunzătoare de colorare.

Ca măsură de prevenire a contaminării încrucișate nedorite a soluțiilor, lamele ar trebui lăuate să se scurgă bine după etapele de colorare individuală.

Trebuie respectate perioadele de timp specificate, pentru a garanta un rezultat optim al colorării.

Lamă cu frotiu fixat	
Cristal violet Gram - soluție	1:30 min
Jet de apă de la robinet	30 sec.
Soluție Lugol*	3 min
Jet de apă de la robinet	20 sec.
Soluție de decolorare Gram**	5 - 10 sec.
Jet de apă de la robinet	30 sec.
Safranină Gram - soluție	1 min
Jet de apă de la robinet	1 min
Uscare la aer (de ex. peste noapte sau la 50 °C în camera de uscare)	

* filtrați soluția Lugol după 3 cicluri

** eliminați soluția de decolorare Gram după 5 cicluri

Colorarea pe suportul de colorare

Lamă cu frotiu fixat		
Cristal violet Gram - soluție	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Soluție Lugol	clătiți rapid	
Soluție Lugol	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Apă distilată	spălați cu atenție	5 sec.
Soluție de decolorare Gram	roțiți lamele cu atenție până când nu se mai produc efecte noi de culoare, iar frotiul are o culoare gri-albastru	10 - 15 sec.
Apă distilată	spălați cu atenție	5 sec.
Safranină Gram - soluție	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Apă distilată	spălați cu atenție	5 sec.
Uscare la aer (de ex. peste noapte sau la 50 °C în camera de uscare)		

Acoperirea cu medii de montare ne-apoase (de ex. Neo-Mount®, Entellan® sau DPX nou) este recomandată pentru depozitarea speci­menelor bacterio­logice pentru o perioadă de câteva luni. În acest scop, speci­menele colorate trebuie uscate foarte bine. Dacă sunt lăsați nemontați, coloranții rămân stabili timp de aprox. 3 zile, iar dacă sunt acoperiți cu ulei de imersie, doar timp de câteva ore.

Utilizarea uleiului de imersie este recomandată pentru analiza lamelor colo­rate cu mărire microscopică >40x.

Colorarea în automatul de colorare

Colorarea în sistemele automate de colorare poate fi efectuată conform protocolului de colorare în camera de colorare.

Rezultat

Microorganismе Gram-pozitive	albastru până la violet
Microorganismе Gram-negative	roz până la roșu

Depanarea

Fixarea probelor de frotiu

Un grad suficient de fixare la căldură, folosind arzătorul Bunsen sau într-o cameră de încălzire, este esențial pentru a preveni potențialul infecțios al speci­menelor și proliferarea ulterioară a bacteriilor.

Nu există colorare a bacteriilor gram-pozitive

Faza critică a procedurii de colorare Gram este faza de decolorare, care poate fi influențată de grosimea frotiului. În plus, o soluție de decolorare proaspătă este înalt reactivă, motiv pentru care rezultatul trebuie evaluat cu atenție. Pe parcursul fazei de decolorare, utilizatorul trebuie să respecte perioadele exacte de incubare descrise în protocol, pentru că, în caz contrar, pot apărea rezultate fals-negative.

Observații tehnice

Microscopul utilizat trebuie să corespundă cerințelor laboratorului pentru diagnostic medical.

Atunci când folosiți sisteme pentru colorare automată, respectați instrucțiunile de utilizare oferite de furnizorul sistemului și al software-ului.

Înlăturați excesul de ulei de imersie înainte de umplere.

Diagnostic

Diagnosticul trebuie stabilit doar de către personalul autorizat și calificat. Va fi utilizată nomenclatura în vigoare.

Această metodă poate fi folosită suplimentar în diagnosticul uman.

Testele ulterioare vor fi selectate și implementate conform metodelor recu­noscute.

Trebuie efectuat un control adecvat al fiecărei aplicații pentru a se evita rezultate incorecte.

Setul de colorare poate fi controlat cu bacterii Gram-pozitive și cu bacterii Gram-negative. Trebuie utilizate bacterii luate dintr-un mediu de cultură după 18-24 ore de incubare.

Depozitarea

Depozitați Soluție de decolorare Gram - pentru colorare prin metoda Gram la +15 °C până la +25 °C.

La temperaturi sub 15 °C, un precipitat colorat se poate sedimenta din soluțiile de colorare. Dacă a avut loc precipitarea, puneți flaconul într-o baie de apă, timp de 2-3 ore, la aprox. 60 °C. Aceasta va duce la re-dizolvarea celei mai mari părți din precipitat. După aceea, filtrați soluțiile de colorare printr-un filtru de hârtie.

Durata de depozitare

Soluție de decolorare Gram - pentru colorare prin metoda Gram poate fi utilizată până la termenul de valabilitate menționat.

După prima deschidere a flaconului, conținutul poate fi utilizat până la termenul de valabilitate menționat, dacă este depozitat la +15 °C până la +25 °C.

Flacoanele trebuie păstrate în permanență bine închise.

Capacitatea

aprox. 250 de colorări/500 ml

Instrucțiuni suplimentare

Exclusiv pentru uz profesional.

Pentru a evita erorile, aplicarea trebuie efectuată exclusiv de personal calificat.

Vor fi respectate recomandările naționale privind siguranța muncii și asigu­rarea calității.

Trebuie utilizate microscop­e echipate conform standardelor.

Dacă este necesar, utilizați o centrifugă standard adecvată pentru laborato­rul pentru diagnostic medical.

Protecția împotriva infecției

Vor fi luate măsuri active pentru protejarea împotriva infecției, conform recomandărilor laboratorului.

Instrucțiuni privind eliminarea

Ambalajul trebuie eliminat în conformitate cu reglementările locale. Soluțiile utilizate și soluțiile expirate trebuie eliminate ca deșeuri speciale, în conformitate cu normele naționale. Informații privind eliminarea pot fi găsite sub opțiunea Legături Rapide „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Indicii privind eliminarea produselor de microscopie”) la www.microscopy-products.com. În cadrul UE, în prezent se aplică REGULAMENTUL (CE) Nr 1272/2008 privind clasificarea, etichetarea și ambalarea substanțelor și a amestecurilor, de modificare și de abrogare a Directivelor 67/548/CEE și 1999/45/CE, precum și de modificare a Regulamentului (CE) nr. 1907/2006.

Reactivi auxiliari

Cat. nr. 100567	Soluție Lugol stabilizată cu PVP pentru metoda de colorare Gram	1 l, 2,5 l
Cat. nr. 103699	Ulei de imersie Type N conf. cu ISO 8036 pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml
Cat. nr. 104699	Ulei de imersie pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 107961	Entellan® nou mediu de montare rapid pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. nr. 109016	Neo-Mount® anhidru - mediu de montare pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 109217	Safranină Gram - soluție pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 109218	Cristal violet Gram - soluție pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 109261	Soluție Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu) pentru metoda de colorare Gram	1 l, 2,5 l
Cat. nr. 111885	Gram-Color set pentru colorare prin metoda Gram	1 set

Categoria de risc

Cat. nr. 110218

Observați categoria de risc imprimată pe etichetă și informațiile oferite în fișa de informații de securitate.

Fișa de informații de securitate este disponibilă pe website și la cerere.

ATENȚIE! Conține substanțe CMR. Vă rugăm să respectați instrucțiunile de siguranță corespunzătoare oferite în fișa cu date de securitate.

Componentele principale ale produselor

Cat. nr. 110218

C₂H₆O 634 g/l

C₃H₆O 159 g/l

1 l = 0,79 kg

Alte produse pentru diagnostic in vitro

Cat. nr. 100497	AFB-Color modificat kit de colorare pentru detecție bacteriilor rezistente la acizi (AFB) prin metoda de colorare la cald	1 set
Cat. nr. 100579	DPX nou mediu de montare neapos pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 101603	Gram-Color modificată (fără-fenol) kit pentru colorare frotiuri bacteriologice prin metoda Gram	1 set
Cat. nr. 109093	AFB-Fluor kit de colorare pentru detecția microscopică fluorescentă a bacteriilor rezistente la acizi	6 x 500 ml
Cat. nr. 109843	Neo-Clear® (substituit de xilen) pentru microscopie	5 l
Cat. nr. 115525	Tablete RINGER pentru prepararea soluție RINGER	100 tablete
Cat. nr. 116450	AFB-Color - kit de colorare pentru investigare microscopică bacteriilor rezistente la acizi (AFB) (colorare la rece)	1 set
Cat. nr. 132450	Kit de colorare AFB pentru histologie pentru detectarea bacteriilor rezistente la acizi în țesutul histologic	1 set

Observație generală

Dacă în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a utilizării acestuia, a avut loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și/sau reprezentantului său autorizat și autorității naționale.

Literatură

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



A se consulta
instrucțiunile de utilizare



Producător



Număr articol



Număr lot



Atenție, a se consulta
documentele însoțitoare



A se folosi până în
data de AAAA-LL-ZZ



Temperatura
limită

Status: 2020-Jul-13

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.microscopy-products.com

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive
Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321
Sigma-Aldrich Canada Co. or Millipore (Canada) Ltd.
2149 Winston Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 6J8
Phone: +1 800-565-1400

