

IVD MEDICO-DIAGNOSTICO IVD IN VITRO **NOME** **KIT de GRAM – Hücker****Nomenclatura europea dei dispositivi medici (EMDN) W0104080203 GRAM POSITIVO
- IDENTIFICAZIONE MANUALE
W0104080201 GRAM NEGATIVO -
IDENTIFICAZIONE MANUALE
(ISTOLOGIA/CITOLOGIA)****Imballaggio disponibile****454441 Kit de GRAM Confezioni 4X250 ml****Destinazione d'uso**

Colorante di contrasto nella colorazione di Gram, colorante per batteriologia, per l'identificazione di batteri Gram+ e Gram-.

Principio

Nella diagnostica batteriologica, la colorazione di Gram può essere considerata uno dei metodi colorimetrici più importanti. Nella reazione, i coloranti all'anilina sono fissati dalle successive azioni dello iodio nelle cellule batteriche. La presenza di lipoproteine Gram+, come componenti della struttura e quindi della permeabilità della parete cellulare, è di importanza decisiva. Sulla base di questo metodo di colorazione, è possibile dividere tutti i batteri in due gruppi: Gram-positivi e Gram-negativi. Nelle sostanze contenenti lipoproteine Gram-positive non è più possibile sciogliere la sostanza complessa, colorante/iodica che si era formata con agenti sbiancanti come l'alcol o l'acetone: la cellula rimane blu-violacea. Nei batteri Gram-negativi, cioè batteri che non contengono lipoproteine nella parete cellulare, è possibile sciogliere il complesso cambiando il colore della cellula da rosa a rosso. Hücker ha inserito i cristalli di ossalato viola al posto del violetto di genziana (il violetto di genziana è una miscela di coloranti) e di safranina al posto della fucsina per migliorare l'affinità per i costituenti cellulari coinvolti. L'utilizzo del polivinilpirrolidone nel liquido Lugol migliora le fasi di colorazione e sbiancamento e permette una migliore conservazione del Lugol.

Componenti del kit: 4 flaconi da 250 ml

Cristalli di ossalato viola	Codice 491561	Cristalli viola in soluzione idroalcolica
Liquido di Lugol	Codice 458751	PVP-Iodio ioduro di potassio in soluzione alcolica
Candeggiare	Codice 444131	Miscela di alcol etilico e acetone
Soluzione di safranina	Codice 477241	Soluzione acquosa di safranina

Procedimento

- 1) In un terreno sterile, applicare il materiale da esaminare: liquido biologico, pus, coltura solida o liquida su un vetrino precedentemente sgrassato.
- 2) Fissare mediante riscaldamento corto o freddo con etanolo a 95°
- 3) Lasciate raffreddare
- 4) Coprire con la soluzione di ossalato viola cristallino per 1 minuto
- 5) Lavare accuratamente con acqua per tracce di colorante in eccesso
- 6) Coprire completamente il substrato con il liquido di Lugol per 1 minuto
- 7) Lavare accuratamente sotto l'acqua corrente
- 8) Candeggiare rapidamente con la candeggina finale, fino a quando il campione appare grigio-blu
- 9) Lavare con acqua
- 10) Coprire con la soluzione di Safranina per un tempo che varia da 10 secondi a 1 minuto
- 11) Risciacquare con acqua e lasciare asciugare
- 12) Osservare al microscopio



Risultati

Batteri Gram+	Blu-Viola
Batteri Gram -	Rosso-Arancio

Osservazione

In caso di dubbi sul risultato dell'analisi, ripetere la procedura di cui sopra

Nota

È importante lavare accuratamente i cristalli viola e il Lugol, poiché troppo colorante può causare un rischio di cristallizzazione.

L'età delle colture è un fattore importante, le colture più vecchie scoloriscono più facilmente.

Il contrasto dei colori dipende dal modo in cui sono state effettuate le colorazioni e le decolorazioni, i tempi indicati devono essere adattati alle particolarità di ogni vetrino.

La colorazione di Gram fornisce solo un'identificazione preliminare e non sostituisce la coltura del campione.

Avvertimento

Una volta aperti, i reagenti hanno una durata di conservazione di 2 anni se conservati bene e a temperatura ambiente. A temperature inferiori a 15°C possono formarsi precipitati nelle soluzioni coloranti: in questo caso, possono essere risolti riscaldandoli a 60°C a bagnomaria per alcuni minuti. La formazione di uno "specchio" sulle pareti della bottiglia indica che il prodotto è invecchiato e quindi è consigliabile sbarazzarsene.

Stabilità

Il prodotto è stabile in normali condizioni di conservazione. Non vi è alcun rischio particolare di reazione con altre sostanze in normali condizioni d'uso.

Durata di conservazione del prodotto

Il prodotto ha una durata di conservazione di 2 anni, in confezioni chiuse e correttamente conservate.

Chiudere il flacone dopo l'uso.

Dopo la prima apertura, il prodotto può essere utilizzato per 6 mesi o entro la durata totale di conservazione.

Condizioni di conservazione

I prodotti sono confezionati in appositi contenitori, con tappo sigillato; Vanno tenuti ben chiusi, al riparo dalla luce, in un luogo fresco e asciutto.

Intervallo di temperatura consigliato per la conservazione: 5-30°C

Attenzione: In caso di precipitazione dei coloranti, la soluzione può essere ripristinata riscaldandola a bagnomaria per alcuni minuti a 60°C; la formazione di uno "specchio" sulle pareti della bottiglia indica che il prodotto è invecchiato ed è quindi consigliabile eliminarlo.

Smaltimento dei rifiuti

Per ulteriori informazioni sullo smaltimento, fare riferimento alla scheda di sicurezza. Si consiglia di seguire adeguate precauzioni di sicurezza durante la manipolazione, la lavorazione e lo smaltimento di tutti i campioni clinici, poiché potrebbero essere presenti organismi patogeni

Referenze

Procedure di colorazione – A cura di G.Clark 4a ed. – Williams & Wilkins Baltimora/Londra
H.J. Conn's, Biological Stains – R.D. Lillie, M.D.

Versione Italiana

Rev. 01 – Giugno 2024

