



GRAM STAIN KIT

PRINCIPIO DEL TEST

Nella diagnostica batteriologica si può considerare la colorazione di Gram come uno dei metodi colorimetrici più importanti. Nella reazione i coloranti all'Anilina si fissano in base alla successiva azione dello Iodio nelle cellule dei batteri. La presenza di lipoproteidi, come componenti della struttura e quindi della permeabilità della parete cellulare, ha un'importanza decisiva. In base a questo metodo di colorazione è possibile suddividere tutti i batteri in due gruppi: Gram-positivi e Gram-negativi. Nei Gram-positivi contenenti lipoproteine non è più possibile disciogliere il complesso sostanza colorata/iodio una volta formato, mediante i decoloranti come Alcool o Acetone: la cellula rimane blu-viola. Nei Gram-negativi, cioè batteri che non contengono lipoproteine nella parete cellulare, è possibile sciogliere il complesso facendo virare la colorazione della cellula dal rosa al rosso. Hucker ha inserito il Cristalvioletto al posto del Violetto Genziana fenata (miscela di coloranti) che non necessita di filtrazione e la Safranina al posto della Fucsina per migliorare l'affinità verso i costituenti cellulari coinvolti.

L'uso del Polivinilpirrolidone nel liquido di Lugol migliora le fasi di colorazione e decolorazione e permette una miglior conservazione del Lugol stesso.

CONFEZIONAMENTO

CODICE: TC55400 4 x 250 ml

CND: W0104010804

RDM: 1451772/R

COMPOSIZIONE DEL KIT

➤ Cristalvioletto di Hucker (Reattivo A):	Violetto Cristalli in soluzione idroalcolica	250 ml
➤ Lugol soluzione (Reattivo B):	PVP-Iodio e Potassio Joduro in soluzione alcolica	250 ml
➤ Decolorante (Reattivo C):	Miscela di Alcool Etilico e Acetone	250 ml
➤ Safranina (Reattivo D):	Safranina in soluzione acquosa	250 ml
➤ 1 Istruzioni per l'uso		

CONSERVAZIONE

Non fumare, né bere, né mangiare, durante la manipolazione; lavarsi le mani dopo l'uso. I prodotti devono essere conservati ben chiusi, al riparo dalla luce, in luogo fresco ed asciutto. Conservare i prodotti tra 5-30°C. richiudere il flacone dopo l'uso.

Stabilità: 24 mesi dalla data di produzione nelle normali condizioni di impiego e di stoccaggio. Non vi sono particolari pericoli di reazione con altre sostanze nelle normali condizioni di impiego. A temperature inferiori ai 15°C si possono formare dei precipitati nelle soluzioni dei coloranti: in questo caso si possono ridisciogliere per riscaldamento a 60°C a bagno maria per alcuni minuti/ore ed eventuale successiva filtrazione. La formazione di uno "specchio" sulle pareti del flacone indica che il prodotto è invecchiato e pertanto si consiglia di smaltirlo.

AVVERTENZE

Il Cristalvioletto sec. Hucker:

H226: Liquido e vapori infiammabili.

H351: Sospettato di provocare il cancro.

H373: Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

H319: Provoca grave irritazione oculare.

H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P201: Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.

P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.

P273: Non disperdere nell'ambiente.

P280: Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.

P233: Tenere il recipiente ben chiuso

P303+P361+P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati.

Sciacquare la pelle / fare una doccia.

Il Liquido di Lugol:

H334: Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

H317: Può provocare una reazione allergica cutanea.

P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

P304+P341: In caso di inalazione: se la respirazione è difficile, trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.

P342+P311: In caso di sintomi respiratori; contattare un centro antiveneni o un medico.

P302+P352: In caso di contatto con la pelle: lavare abbondantemente con acqua e sapone.

P333+P313: In caso di irritazione o di eruzione della pelle, consultare un medico.

Il Decolorante:

H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H319: Provoca grave irritazione oculare.

H371: Può provocare danni agli organi.

P210: Tenere lontano da fonti di calore/ scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. Non fumare.

P233: Tenere il recipiente ben chiuso.

P280: Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.

P305+351+338: In caso di contatto con gli occhi: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P303+361+353: In caso di contatto con la pelle (o i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/fare una doccia.

P309+311: In caso di esposizione o di malessere, contattare un centro antiveneni o un medico.

La Safranina:

Non è classificato pericoloso ai sensi delle disposizioni della Direttiva 1999/45/CE (e successive modifiche e adeguamenti) e ai sensi delle disposizioni di cui al Regolamento (CE) 1272/2008 (CLP) (e successive modifiche ed adeguamenti).

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

I batteri da analizzare con il metodo di Gram vengono ricavati generalmente da campioni a stato solido o liquido: liquidi biologici, essudati, pus, colture solide o liquide.





PRECAUZIONI KIT DIAGNOSTICO IN VITRO

Non usare oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.

Il prodotto è destinato all'utilizzo di personale tecnico specializzato.

Il prodotto è pronto all'uso e riservato a tecniche manuali di colorazione.

PROCEDIMENTO

1. Applicare, con ansa sterile, il materiale in esame: liquidi biologici, essudati, pus, colture solide o liquide, su un vetrino portaoggetti sgrassato preventivamente;
2. Fissare per breve riscaldamento o a freddo con Alcool Etilico 95°;
3. Lasciare raffreddare;
4. Ricoprire con la soluzione di **Cristalvioletto sec. Hucker** per 1 minuto;
5. Lavare con abbondante acqua per eliminare le tracce di colorante in eccesso;
6. Ricoprire interamente il portaoggetti con **Liquido di Lugol** per 1 minuto;
7. Lavare abbondantemente con acqua corrente;
8. Decolorare rapidamente con il **Decolorante** fino a che lo striscio appare grigio-blu;
9. Lavare con acqua;
10. Ricoprire con soluzione di **Safranina** da 10 secondi ad 1 minuto;
11. Risciacquare con acqua e lasciare asciugare;
12. Osservare al microscopio usando l'obiettivo ad immersione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Batteri GRAM-POSITIVI	BLU-VIOLA
Batteri GRAM-NEGATIVI	ROSSO-ARANCIO

NOTA BENE

In caso di risultati dubbi dell'analisi, ripetere il procedimento sopra riportato.

LIMITI DEL METODO

E' importante lavare bene il Violetto Cristalli e il Lugol, perché un eccesso di colorante può causare rischi di cristallizzazione. L'età delle colture è un fattore importante, le colture vecchie decolorano più facilmente.

Il contrasto delle colorazioni dipende da come vengono condotte le colorazioni e le decolorazioni, i tempi riportati devono essere adattati alle particolarità di ciascun vetrino.

La colorazione Gram fornisce solo informazioni preliminari e non sostituisce la coltura del campione.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Per informazioni riguardanti lo smaltimento si rimanda alla scheda di sicurezza. e' opportuno seguire appropriate misure di sicurezza nel maneggiare, processare ed eliminare tutti i campioni clinici, perché potrebbero essere presenti organismi patogeni.

NOTA

Come per tutti i test diagnostici, una diagnosi definitiva non può essere basata sul risultato di un singolo test ma deve essere confermata da altri parametri clinici, valutando l'anamnesi del paziente.

BIBLIOGRAFIA

H.J.Conn's, Biological Stains - R.D.Lillie, M.D.
Staining Procedures ed.by G.Clark - Williams & Wilkins

PRODUTTORE

Dyaset s.r.l.
Via A. Grandi, 3
44015 Portomaggiore (Ferrara)
Tel. +390532814820
Fax. +390532683910
e-mail: dyaset@dyaset.com
website: <http://www.dyaset.com>

LEGENDA SIMBOLI

	Per esclusivo uso diagnostico in vitro
	Lotto di fabbricazione
	Codice di catalogo
	intervallo di temperatura per la conservazione
	Data di scadenza (anno-mese)
	Consultare le istruzioni operative
	Rischio biologico

ELENCO MODIFICHE		
N. REV.	DESCRIZIONE	DATA
0.0	CREAZIONE SCHEDA	23/03/2008
0.1	INSERIMENTO AVVERTENZE	27/04/2008
0.2	MODIFICA PROCEDURA	16/05/2008
0.3	MODIFICA PROCEDURA	09/09/2008
0.4	REVISIONE SCHEDA	07/07/2015
0.5	INSERITO CODICE CND	13/01/2016
0.6	INSERITO COD. RDM	28/07/2016
0.7	INSERIMENTO AVVERTENZE IN RIF. AL REGOLAMENTO 1272/2008 (CLP)	05/04/2017
0.8	REV. AVVERTENZE	21/02/2019

