

Istruzioni per l'uso

Istruzioni per l'uso

BBS

205 South 600 West Logan, Utah 84323, U.S.A. – Tel. (800) 729-8350 – Tel. (435) 755-9848 – Fax (435) 755-0015 – www.scytek.com Revisione 4, 19/7/2022

Kit per la colorazione di Gram

(Brown & Brenn modificato)

Descrizione e principio

Il Gram Stain Kit (Modified Brown & Brenn) è destinato alla dimostrazione e alla differenziazione di batteri Gram-positivi e Gram-negativi.

La violetta di genziana insieme allo iodio di Lugol forma un lago colorante che colora sia gli organismi gram-positivi che gram-negativi. I batteri Gram-positivi e Gram-negativi si differenziano a causa delle differenze nella composizione della parete cellulare. Il complesso violetto-iodio di genziana viene rimosso dai batteri gram-negativi mentre i batteri gram-positivi mantengono la macchia. La safranina O viene quindi applicata come colorante di contrasto per i batteri gram-negativi differenziati.

Risultati attesi

Batteri Gram positivi:	Blu
Batteri Gram negativi:	Rosso
Sfondo:	Giallo
Nuclei:	Rosso

Contenuto del kit

Contenuto del kit	Immagazzinamento
1. Soluzione di violetta di genziana	18-25°C
2. Soluzione di iodio di Lugol	18-25°C
3. Soluzione decolorante di Gram	18-25°C
4. Soluzione di safranina O (per la colorazione di Gram)	18-25°C
5. Acido picrico - Soluzione di acetone (0,1%)	18-25°C.

Controlli suggeriti (non forniti)

Striscio di tessuto o cellula contenente microrganismi Gram-positivi e Gram-negativi

Usi/Limitazioni

Solo per uso diagnostico in vitro.

Non utilizzare se i reagenti diventano torbidi o precipitano

Non utilizzare la data di scadenza precedente.

Prestare attenzione quando si maneggiano i reagenti.

Non sterile

Destinato a sezioni FFPE tagliate a 5-10µm.

Questa procedura non è stata ottimizzata per le sezioni congelate.

Le sezioni bloccate potrebbero richiedere una modifica del protocollo.

Immagazzinamento

Conservare il kit e tutti i componenti a temperatura ambiente (18-25°C).

Sicurezza e precauzioni

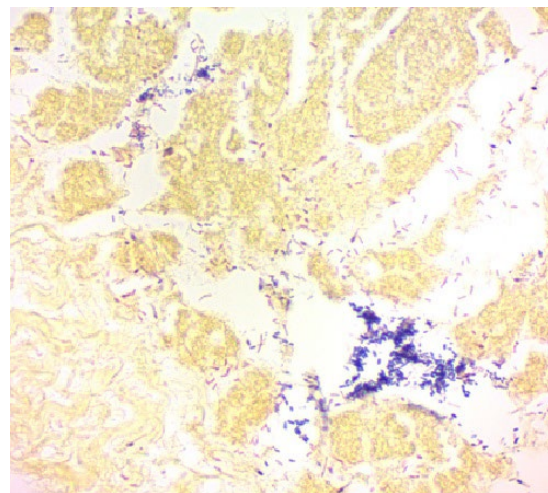
Si prega di consultare le schede di sicurezza (SDS) aggiornate per questo prodotto e componenti Classificazione GHS, pittogrammi e dichiarazioni complete di pericolo/precauzione.

Procedimento

1. Deparaffinare le sezioni se necessario e idratarle in acqua distillata.
2. Applicare la soluzione di violetta di genziana sulla sezione di tessuto per 2 minuti.
3. Sciacquare il vetrino in acqua distillata per rimuovere le macchie in eccesso.

4. Applicare la soluzione di iodio di Lugol sulla sezione di tessuto per 1 minuto.

5. Sciacquare il vetrino in acqua distillata per rimuovere la soluzione in eccesso.



Gram stain on Avian Liver demonstrating gram-positive and gram-negative bacteria. Magnification 400X

6. Applicare con cautela il decolorante di Gram goccia a goccia fino a quando il colore non sbiadisce più dalla sezione. NOTA: L'applicazione di questo decolorante per più di 5 secondi può rimuovere le macchie dai batteri gram positivi.

7. Sciacquare rapidamente il vetrino in acqua distillata.

8. Applicare la soluzione di Safranin O sulla sezione di tessuto per 4 minuti.

9. Sciacquare il vetrino in acqua distillata per rimuovere le macchie in eccesso.

Nota: l'alcol e l'acido picrico-acetone (passaggi 11-12) sono necessari per rimuovere la macchia rossa dallo sfondo, ma un'incubazione eccessiva con queste soluzioni può anche rimuovere la macchia dai batteri.

10. Immergere il vetrino una volta nell'alcol assoluto e quindi rimuovere l'alcol in eccesso dal vetrino tamponando.

11. Applicare con cura alcune gocce di acido picrico - soluzione di acetone (0,1%) agitando delicatamente per 2-10 secondi, quindi risciacquare immediatamente e brevemente con alcool assoluto. Se il tessuto è ancora fortemente rosso, ripetere il passaggio 12 fino a quando non è per lo più giallo: può rimanere una sfumatura di rosso a causa della presenza di nuclei o di grandi quantità di batteri gram(-).

12. Lasciare asciugare il vetrino all'aria.

13. Trasparente e montaggio in resina sintetica.

Referenze

1. Isenberg, Sua Santità Manuale delle procedure di microbiologia clinica. Società americana di microbiologia, 1992.
2. Sheehan, DC., Hrapchak, BB. Teoria e pratica dell'istotecnologia; 1980, pagina 235.
3. Brown, J.H., Brenn, L. Un metodo per la colorazione differenziale di batteri gram-positivi e gram-negativi in sezioni di tessuto. Bollettino John Hopkins Hospital, 1931, volume 48, pagine 69-73.
4. Grammo, C. Fosttchr. Med., Volume 2, pagina 185, 1884.



SeyTek Laboratories, Inc.
205 South 600 West
Logan, UT 84321
435-755-9848
U.S.A.



EC REP

Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands