

# Sposób stosowania BBS-instrukcja obsługi

205 South 600 West Logan, Utah 84323, Stany Zjednoczone Ameryki – Tel. (800) 729-8350 – Tel. (435) 755-9848 – Faks: (435) 755-0015 – www.scytek.com Wersja 4, 19.07.2022

## Zestaw barwień Grama (Zmodyfikowany Brown & Brenn)

### Opis i zasada

Zestaw Gram Stain Kit (Modified Brown & Brenn) jest przeznaczony do demonstracji i różnicowania bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Fiolek gencjanowy wraz z jodem Lugola tworzy jezioro barwnikowe barwiące zarówno organizmy Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne. Bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne różnicują się ze względu na różnice w składzie ściany komórkowej. Kompleks fioletu gencjanowego i jodu jest usuwany z bakterii Gram-ujemnych, podczas gdy bakterie Gram-dodatnie zatrzymują plamę. Safranina O jest następnie stosowana jako barwnik przeciwny dla zróżnicowanych bakterii Gram-ujemnych.

### Oczekiwane rezultaty

Bakterie Gram-dodatnie:	Niebieski
Bakterie Gram-ujemne:	Czerwony
Tło:	Żółty
Jądra:	Czerwony

### Zawartość zestawu

Zawartość zestawu	Składowanie
1. Roztwór fioletu goryczkowego	18-25°C
2. Płyn Lugola	18-25°C
3. Roztwór odbarwiacza Grama	18-25°C
4. Roztwór Safraniny O (do barwienia metodą Grama)	18-25°C
5. Kwas pikrynowy - roztwór acetonu (0,1%)	18-25°C.

### Sugerowane elementy sterujące (brak w zestawie)

Rozmaz tkankowy lub komórkowy zawierający zarówno organizmy Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne

### Zastosowania/ograniczenia

Wyłącznie do diagnostyki in vitro.

Nie używać, jeśli odczynniki zmętnieją lub wytrąca się

Nie używaj przeterminowanej daty ważności.

Należy zachować ostrożność podczas obchodzenia się z odczynnikami.

Niesterylne

Przeznaczony do odcinków FFPE ciętych z prędkością 5-10µm.

Ta procedura nie została zoptymalizowana pod kątem zamrożonych sekcji.

Zamrożone sekcje mogą wymagać modyfikacji protokołu.

### Składowanie

Przechowuj zestaw i wszystkie elementy w temperaturze pokojowej (18-25°C).

### Bezpieczeństwo i środki ostrożności

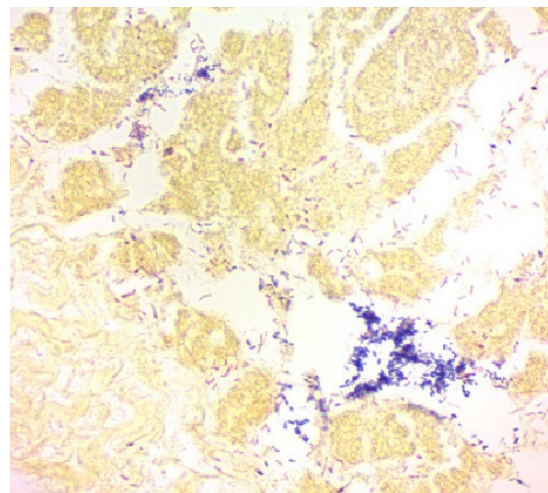
Prosimy o zapoznanie się z aktualnymi kartami charakterystyki (SDS) dla tego produktu i komponentów, klasyfikacją GHS, piktogramami i pełnymi zwrotami wskazującymi rodzaj zagrożenia/środkami ostrożności.

### Procedura

1. W razie potrzeby odparafinować skrawki i uwodnić do wody destylowanej.
2. Nałóż roztwór fioletu goryczkowego na wycinek tkanki na 2 minuty.
3. Oplucz szkiełko w wodzie destylowanej, aby usunąć nadmiar plam.

4. Nałóż płyn Lugola na wycinek tkanki na 1 minutę.

5. Oplucz szkiełko w wodzie destylowanej, aby usunąć nadmiar roztworu.



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

6. Ostrożnie nałóż kroplami Gram's Decolorizer, aż kolor przestanie spływać z sekcji. Uwaga: Stosowanie tego odbarwiacza na dłużej niż 5 sekund może usunąć plamy z bakterii Gram-dodatnich.

7. Szybko splucz szkiełko w wodzie destylowanej.

8. Nałóż roztwór Safranin O na wycinek tkanki przez 4 minuty.

9. Oplucz szkiełko w wodzie destylowanej, aby usunąć nadmiar plam.

**Uwaga:** Alkohol i kwas pikrynowy-aceton (kroki 11-12) są wymagane do usunięcia czerwonej plamy z tła, ale nadmierna inkubacja z tymi roztworami może również usunąć plamę z bakterii.

10. Zanurz szkiełko raz w alkoholu bezukwitowym, a następnie usuń nadmiar alkoholu ze szkiełka przez osuszenie.

11. Ostrożnie nanieś kilka kropli roztworu kwasu pikrynowego - acetonu (0,1%), delikatnie mieszając przez 2-10 sekund, a następnie natychmiast i krótko splukać szkiełko w bezalkoholowym roztworze. Jeśli tkanka jest nadal silnie zaczerwieniona, powtarzaj krok 12, aż stanie się w większości żółta – odcień czerwieni może pozostać spowodowany obecnością jąder lub dużych ilości bakterii Gram(-).

12. Pozostaw szkiełko do wyschnięcia na powietrzu.

13. Wyczyść i zamontuj w żywicy syntetycznej.

### Odwołania

1. Isenberg, J.H. Podręcznik procedur mikrobiologii klinicznej. Amerykańskie Towarzystwo Mikrobiologii, 1992.
2. Sheehan, DC., Hrapchak, BB. teoria i praktyka histotechniki; 1980, strona 235.

3. Brown, J.H., Brenn, L. Metoda różnicowego barwienia bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych w skrawkach tkanek. Biuletyn Szpitala Johna Hopkinsa, 1931, tom 48, strony 69-73.

4. Gram, C. Fostchr. Med., tom 2, strona 185, 1884.



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



Emergo Europe  
Prinsessegracht 20  
2514 AP The Hague, The Netherlands