



Istruzioni per l'uso

Istruzioni per l'uso

GSK

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 6, 19/7/2022

Kit per la colorazione di Gram

Descrizione e principio

Il kit per la colorazione di Gram è destinato alla dimostrazione e alla differenziazione di batteri Gram-positivi e Gram-negativi a causa di differenze nella composizione della parete cellulare batterica. I batteri Gram-positivi e Gram-negativi hanno entrambi pareti cellulari composte da peptidoglicano e lipoproteine, i batteri Gram-positivi possiedono una parete cellulare di peptidoglicano molto più spessa rispetto ai batteri Gram-negativi.

La violetta di genziana e lo iodio formano un complesso colorante che inizialmente colora sia i batteri gram-positivi che quelli gram-negativi. Il complesso cristallovioletto-iodio viene rimosso dai batteri gram-negativi utilizzando la soluzione decolorante di Gram, mentre il colorante viene trattenuto nella spessa parete cellulare del peptidoglicano dei batteri gram-positivi. La carbol fucsina viene applicata per contrastare la colorazione dei batteri gram-negativi e la tartrazina per colorare il tessuto di fondo.

Risultati attesi

Batteri Gram positivi:	Blu
Batteri Gram negativi:	Dal rosa al rosso
Altri tessuti:	Giallo
Nuclei:	Rosso

Contenuto del kit

1. Soluzione di violetta di genziana
2. Soluzione di iodio di Lugol
3. Soluzione decolorante di Gram
4. Contromacchia Carbol Fuchsin
5. Soluzione di tartrazina

Immagazzinamento

- | |
|---------|
| 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.

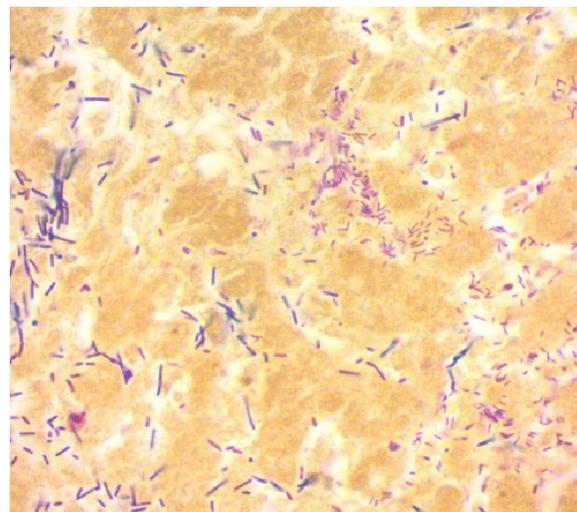
Procedimento:

1. Deparaffinare le sezioni se necessario e idratarle in acqua distillata.
2. Incubare il vetrino nella soluzione di violetta di genziana per 1 minuto.

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

4. Incubare il vetrino nella soluzione di iodio di Lugol per 1 minuto.

5. Sciacquare il vetrino con acqua di rubinetto che scorre delicatamente per rimuovere lo iodio in eccesso.



Gram stain on Avian Liver demonstrating gram-positive and gram-negative bacteria viewed at 63x

6. Posizionare il vetrino nel decolorante di Gram fino a quando il colore non fuoriesce più dalla sezione. Nota: la decolorazione per più di 5 secondi può rimuovere la macchia dai batteri gram positivi.

7. Sciacquare rapidamente il vetrino in acqua di rubinetto che scorre delicatamente.

8. Incubare il vetrino nel colorante di contrasto Carbol Fuchsin per 1-2 minuti.

9. Sciacquare rapidamente il vetrino in acqua di rubinetto per rimuovere le macchie in eccesso.

10. Incubare il vetrino nella soluzione di tartrazina per 15 secondi.

11. Sciacquare il vetrino 1 volta in alcool assoluto.

12. Disidratare rapidamente il vetrino in 3 cambi di alcol assoluto. Nota: la disidratazione negli alcoli è necessaria per rimuovere la contromacchia di fondo, ma deve essere eseguita rapidamente per prevenire un'eccessiva decolorazione dei batteri.

13. Chiaro in 2 cambi di xilene o sostituto dello xilene e montare in resina sintetica.

Altre note: I batteri Gram positivi che stanno morendo, sono morti o sono trattati con antibiotici possono colorarsi in modo variabile (rosso).

Referenze

1. Sheehan, DC., Hrapchak, BB. Teoria e pratica dell'istotecnologia; 1980, pagina 235.
2. Su, R.J., Wang, P. Ruolo della colorazione di Gram nei laboratori microbiologici con risorse limitate. Recensioni in Microbiologia Medica. Luglio 2011, Volume 22, Numero 3: pagine 41-44. DOI: 10.1097/MRM.0b013e3283478a08.
3. Marira, J., Surekha, Y, Asangi, K.S., Suresh, B.S., Ramesh, S. Valutazione della colorazione di Gram dell'espettorato in relazione alla coltura dell'espettorato per le infezioni del tratto respiratorio in un ospedale di assistenza terziaria. Giornale di ricerca clinica e diagnostica. Dicembre 2011, volume 5(8): pagine 1699-1700.



ScyTek 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