

BIOMÉRIEUX

REF 55542 / 55545 / 55546 /
55548 / 423963

057942 - 03 - 2024-01

RO

Color Gram 2 (COLOR GRAM 2 - F)

IVD

Sumar și explicație

Aceste culori sunt folosite pentru colorarea microorganismelor bacteriene și fungice în vederea examinării directe, folosind metoda Gram.

Principiu

Membrana celulară a organismelor este colorată în violet cu oxalat de violet de geșiană (R1).

Iodul stabilizat cu PVP (R2) fixează violetul de geșiană.

Complexul iod-violet de geșiană rezultat este eliminat în timpul decolorării cu alcool-acetonă (R3) numai pentru organismele Gram-negative, datorită compoziției chimice a membranei celulare.

Safranina (R4) acționează apoi ca și colorant de contrast: organismele Gram-negative devin roz, organismele Gram- pozitive care nu au fost decolorate rămân violet⁽¹⁾.

Conținutul kitului

Pachet Color Gram 2 (COLOR GRAM 2 - F) care conține:

REF	Unități/Pachet	Denumirea prescurtată
55542	1 x 240 ml	R1
	1 x 240 ml	R2
	1 x 240 ml	R3
	1 x 240 ml	R4

Pachete individuale Color Gram 2:

REF	Unități/Pachet	Denumirea prescurtată
55545	1 x 2 l	R1 (COLOR GRAM 2 R1-F)
55546	1 x 2 l	R2 (COLOR GRAM 2 R2-F)
423963	1 x 1 l	R3 (COLOR GRAM 2 R3-F)
55548	1 x 2 l	R4 (COLOR GRAM 2 R4-F)

1 insert tehnic, care poate fi descărcat de pe www.biomerieux.com.

Compoziție

Formulă teoretică pentru 1 litru:

Tabel 1. R1 Soluție de violet de geșiană cu oxalat ^(a)

Cristal violet* (Nr. CAS 548-62-9 - Nr. CI 42555)	18 g
Etanol 95	200 ml
Oxalat de amoniu	8 g
Apă demineralizată	800 ml

Tabel 2. R2 Soluție Lugol stabilizată cu PVP (b)

Iod* (Nr. CAS 7553-56-2)	13 g
Iodură de potasiu*	20 g
PVP (polivinilpirolidonă)*	100 g
Apă demineralizată	970 ml

Tabel 3. R3 Decolorant (c)

Etanol 95	500 ml
Acetonă	500 ml

Tabel 4. R4 Soluție de safranină (d)

Safranină O* (Nr. CAS 477-73-6 - Nr. CI 50240)	2,4 g
Etanol 95	100 ml
Apă demineralizată	900 ml

*Materie primă critică

(a) Cuvânt de avertizare: **ATENȚIE**

H226 / H351 / H412 / P210 / P273 / P280 / P302 + P352 / P308 + P313

(b) Cuvânt de avertizare: **ATENȚIE**

H373 / P260 / P314

(c) Cuvânt de avertizare: **PERICOL**

H225 / H319 / H336 / P210 / P261 / P280 / P302 + P352 / P305 + P351 + P338

(d) Cuvânt de avertizare: **ATENȚIE**

H226 / P210 / P280 / P302 + P352 / P305 + P351 + P338

Fraze de pericol

- H225: Lichid și vapori foarte inflamabili.
- H226: Lichid și vapori inflamabili.
- H319: Provoacă o iritare gravă a ochilor.
- H336: Poate provoca somnolență sau amețea.
- H351: Susceptibil de a provoca cancer.
- H373: În caz de expunere prelungită sau repetată, poate provoca leziuni ale organelor.
- H412: Nociv pentru viața acvatică, cu efecte pe termen lung.

Fraze de precauție

- P210: A se păstra departe de surse de căldură, suprafețe fierbinți, scânteii, flăcări și alte surse de aprindere. Fumatul interzis.
- P260: Nu inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/spray-ul.
- P261: Evitați să inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/spray-ul.

- P273: Evitați dispersarea în mediu.
- P280: Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.
- P302 + P352: ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA: spălați cu multă apă și săpun.
- P305 + P351 + P338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.
- P308 + P313: În caz de expunere sau de posibilă expunere: consultați medicul.
- P314: Consultați medicul, dacă nu vă simțiți bine.

Pentru mai multe informații, consultați Fișa Tehnică de Securitate.

Atenționări și măsuri de precauție

- **Destinat numai diagnosticării *in vitro*.**
- **A se utiliza numai de către personal calificat.**
- Consultați frazele de pericol „H” și frazele de precauție „P” indicate mai sus.
- Toate speciile, culturile microbiene și produsele inoculate trebuie să fie considerate infecțioase și manipulate în mod corespunzător. Pe tot parcursul acestei proceduri trebuie respectate tehnicile aseptice și măsurile de precauție obișnuite pentru manipularea grupului de bacterii studiat. Consultați documentul „CLSI M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections (Protejarea personalului de laborator împotriva infecțiilor contactate la locul de muncă); Norme aprobate - Revizia curentă”. Pentru măsuri de precauție suplimentare privind manipularea, consultați „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Biosecuritatea în laboratoarele de microbiologie și biomedicină) - CDC/NIH - Cea mai recentă ediție” sau reglementările aflate în vigoare în fiecare țară.
- Nu folosiți reactivii după data expirării.
- Înainte de utilizare, asigurați-vă că sigiliile de pe capacele sticlelor sunt intacte.
- Atunci când reactivul se apropie de data de expirare, pe fundul sticlei cu violet de gențiană (R1) pot apărea sedimente, însă acest lucru nu afectează performanța produsului.
- Datele de performanță prezentate au fost obținute prin folosirea procedurii indicate în acest insert tehnic. Orice schimbare sau modificare a acestei proceduri poate afecta rezultatele.
- Rezultatele testului trebuie interpretate luând în considerare istoricul medical al pacientului și rezultatele oricăror alte teste efectuate.

Materiale necesare, dar nefurnizate

- Vase pentru colorare
 - Lame din sticlă curate și degresate
 - Bloc termic
 - Ulei de imersie
 - Microscop cu obiectiv cu ulei de imersie
 - Robinete pentru sticle de 2 l (Ref. 55541)
- Observație:** Aceste robinete nu sunt compatibile cu sticlele de 1 l.

Condiții de păstrare

- Păstrați reactivii în cutia lor, la temperaturi între +15 °C și +25 °C până la data de expirare.
- Produsele trebuie păstrate în ambalajul original până la utilizare.
- A se păstra în poziție verticală.

Specimene

Pot fi utilizate toate tipurile de specimene.

Trebuie respectate bunele practici de laborator privind recoltarea și transportul și trebuie adaptate fiecărui tip de specimen.

Aceste culori pot fi utilizate și pentru examinarea directă a tulpinilor izolate dintr-o cultură.

Procedura

Pregătirea și fixarea probei⁽²⁾:

1. Aplicați un strat subțire din proba de examinat pe o lamă curată.
2. Uscați.
3. Fixați cu căldură (folosind un bloc termic sau trecând rapid lama prin flacăra) sau cu metanol (acoperiți lama cu alcool și așteptați 10-15 minute până când alcoolul se evaporează complet).

Colorare⁽²⁾:

1. Acoperiți frotiul cu violet de gențiană (R1).
2. Lăsați în contact timp de 1 minut.
3. Clătiți cu atenție cu apă.
4. Acoperiți cu Lugol (R2).
5. Lăsați în contact timp de 1 minut.
6. Clătiți cu atenție cu apă.
7. Decolorați cu alcool acetonă (R3).
8. Clătiți cu atenție cu apă.
9. Acoperiți cu safranină (R4).
10. Lăsați în contact timp de 1 minut.
11. Clătiți cu atenție cu apă.
12. Uscați.

Observație: Se recomandă standardizarea duratei pentru fiecare dintre diferitele etape ale procedurii.

Rezultatele și interpretarea

- A se observa la microscop (obiectiv cu ulei de imersie, mărire X 1000):
 - Microorganismele Gram-pozitive au culoarea violet.
 - Microorganismele Gram-negative au culoarea roz.
- Pentru stabilirea unui diagnostic trebuie utilizate tehnici suplimentare (cultură, identificare etc.).

Controlul de calitate

Protocol:

Prin examinarea directă se poate observa aspectul microorganismelor folosind următoarele tulpini:

- *Escherichia coli* ATCC® 25922™
- *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™

Gama rezultatelor preconizate:

Tulpină	Rezultatele
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	Bacili Gram-negativi de culoare roz
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923™	Coci Gram-pozitivi de culoare violet

Observație: Este responsabilitatea utilizatorului să efectueze controlul de calitate, luând în considerare destinația utilizării culorilor, precum și în conformitate cu orice reglementări locale aplicabile (frecvență, număr de tulpini etc.).

Limitările testului și interferențe relevante

- Procesul de colorație Gram trebuie efectuat pe culturi tinere (24-48 ore), deoarece culturile mai vechi se decolorează mai ușor ⁽²⁾.
- Tratatamentul cu antibiotice poate face bacteriile Gram-pozitive mai susceptibile la decolorare.
- Dacă specimenul conține o concentrație scăzută de microorganisme, examinarea directă poate fi negativă.

Performanța

Performanța a fost evaluată utilizând:

- 22 tulpini de bacterii (bacterii Gram-pozitive și Gram-negative)
- 3 drojdii (*Candida* și *Saccharomyces*)

Toate tulpinile Gram-pozitive și drojdiile au devenit violet.

Toate bacteriile Gram-negative au devenit roz.

Îndepărtarea deșeurilor

Reactivii neutilizați trebuie eliminați respectând procedurile pentru deșeurii chimice periculoase.











Eliminați reactivii utilizați, precum și orice alte materiale de unică folosință contaminate respectând procedurile pentru produse infecțioase sau potențial infecțioase.

Este responsabilitatea fiecărui laborator de a manipula deșeurile și scurgerile produse conform tipului și gradului de pericolozitate al acestora și de a le trata și elimina (sau de a dispune tratarea și eliminarea acestora) în conformitate cu orice reglementări aplicabile.

Bibliografie

1. MAGEE C.M., RODEHEAVER G., EDGERTON M.T. *et al.* – A more reliable gram staining technic for diagnosis of surgical infections – *Am. J. Surg.*, 1975, vol. 130, p. 341-346.
2. VASTEL C. – Coloration de gram – Description technique – *Le Technicien Biologiste*, 1978, vol. 5, p. 243-245.
3. BARTHOLOMEW J.W. – Variables influencing results and the precise definition of steps in Gram staining as a means of standardizing the results obtained – *Stain Technol.*, 1962, vol. 37, p. 139-155.
4. SPENGLER M., RODEHEAVER G., RICHTER L. *et al.* – The Gram stain - The most important diagnostic test of infection – *Journal of the American College of Emergency Physicians*, 1978, vol. 7, No. 12, p. 434-438.

Index al simbolurilor

Simbol	Semnificație
	Număr de catalog
	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>In Vitro</i>
	Producător
	Limitare de temperatura
	A se utiliza pana la data de
	Cod lot
	A se consulta instrucțiunile de utilizare
	Data fabricației
	Cu această parte în sus
	Reciclabil

Garanție limitată

bioMérieux garantează performanța produsului pentru destinația de utilizare menționată cu condiția ca toate procedurile referitoare la utilizare, depozitare și manipulare, durata de depozitare (dacă este cazul) și măsuri de precauție să fie urmate cu strictețe, conform descrierii din Instrucțiunile de utilizare.

Cu excepția celor expres menționate mai sus, bioMérieux declină prin prezenta orice garanții, incluzând orice garanții implicite de vandabilitate și compatibilitate pentru un anumit scop sau o anumită utilizare, și declină orice responsabilitate directă, indirectă sau pe cale de consecință, pentru orice utilizare a reactivului, aplicației software, a instrumentului și consumabilelor („Sistemul”) diferită de cea exprimată în Instrucțiunile de utilizare.

Istoricul reviziilor

Categoriile tipurilor de modificări

N/A	Neaplicabil (Prima publicare)
Corectură	Corectarea anomaliilor de documentare
Modificare tehnică	Completări, revizuirii și/sau îndepărtarea de informații legate de produs
Administrativă	Implementarea de schimbări non-tehnice importante pentru utilizator

Notă: Modificările minore de tipar, gramaticale sau de format nu sunt incluse în istoricul reviziilor.

Data versiunii	Cod componentă	Tipul modificării	Sumarul modificărilor
2024-01	057942-03	Modificare tehnică	Compoziție
2022-03	057942-02	Administrativă	Conformitatea cu regulamentul IVDR (UE) 2017/746 Conținutul kitului
		Modificare tehnică	Compoziție / Condiții de păstrare
2021-03	057942-01	Administrativă	S-au folosit elemente noi de branding S-a folosit un model nou
		Modificare tehnică	Referința 55547 a fost înlocuită cu referința 423963 Conținutul kitului Materiale necesare, dar nefurnizate Index al simbolurilor Garanție limitată Condiții de păstrare
2015-01	01373M	Administrativă	Crearea istoricului revizuirilor Index al simbolurilor
		Modificare tehnică	Compoziție, Atenționări și măsuri de precauție

BIOMÉRIEUX și logo-ul BIOMÉRIEUX sunt mărci comerciale utilizate, înregistrate și/sau în curs de înregistrare, care aparțin bioMérieux sau uneia dintre filialele sau companiile sale.

Marca și denumirea comercială ATCC și orice numere de catalog ATCC sunt mărci comerciale ale American Type Culture Collection.

CLSI este o marcă comercială aparținând Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Oricare altă denumire sau marcă comercială aparține proprietarului respectiv.

Pentru utilizatorii din Uniunea Europeană (Regulamentul (UE) 2017/746) și din țările cu cerințe similare: În cazul apariției unui incident grav în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, vă rugăm să raportați acest incident producătorului și/sau reprezentantului autorizat al acestuia, precum și autorității dvs. naționale.