

GRAM IODINE

REF	R40056, Gram Iodine.....	250 ml/Btl, EA
REF	R40057, Gram Iodine.....	250 ml/Btl, 5/Pk
REF	R40077, Gram Iodine.....	Gallon

1. INTENDED USE

A reagent/set of reagents used in a technique for the differentiation of Gram-negative and Gram-positive microorganisms.

The device is for professional use only and is not intended for self-testing

2. SUMMARY AND EXPLANATION

The Gram stain method was developed in 1884 by the Danish bacteriologist, Christian Gram to differentiate bacterial cells from infected tissue.¹ Later it was discovered that the bacterial cell wall composition was the key to the Gram stain and would differentiate bacteria into two groups based on cell color after staining. Since that time there have been many modifications of the original technique.^{2,3}

3. PRINCIPLE

The primary stain is crystal violet, a basic dye taken up by all bacteria due to its ability to rapidly permeate the cell wall. It stains the protoplast of bacteria purple. The potassium-iodine mixture is the mordant which complexes with the primary stain in the cell. In gram-positive cells, the crystal violet-iodine complex is trapped in the cell due to a decrease in cell wall permeability caused by alcohol dehydration. Gram-positive cells are stained purple. In gram-negative cells, the complex is removed by the decolorizer due to an increase in permeability caused by solubility of the lipids in alcohol. The counterstain used must be a contrasting color to the primary stain and, in this case, it is safranin which stains gram-negative cells red.

4. REAGENTS

Potassium Iodide (CAS 7681-11-0).....	6.6 g
Iodine (CAS 7553-56-2).....	3.3 g
Demineralized Water (CAS 7732-18-5).....	990.0 ml

5. PRECAUTIONS

This product is for *in vitro* diagnostic use and should be used by properly trained individuals. Precautions should be taken against the dangers of microbiological hazards by properly sterilizing specimens, containers, and media after use. Directions should be read and followed carefully. Refer to Safety Data Sheet for additional information.

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the relevant regulatory authority in which the user and/or the patient is established.

6. STORAGE

Store product in its original container at 20-25°C until used.

7. PRODUCT DETERIORATION

This product should not be used if (1) the color has changed from yellow-red, (2) the expiration date has passed, or (3) there are other signs of deterioration.

8. SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORT

Specimens should be collected and handled following recommended guidelines.^{4,5}

9. MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

(1) Loop sterilization device, (2) Inoculating loop, swabs, collection containers, (3) Incubators, alternative environmental systems, (4) Supplemental media, (5) Quality control organisms, (6) Gram Crystal Violet (R40052), (7) Gram Decolorizer (R40054), (8) Gram Safranin (R40058), (9) Glass slides, (10) Bunsen burner or slide warmer, (11) Microscope, immersion oil, (12) Staining rack, (13) Methanol (optional).

10. PROCEDURE

Add Gram Iodine concentrate to diluent. To each 250 ml bottle of diluent, add one 2.5 ml tube of concentrate. To each gallon of diluent, add one 40 ml tube of concentrate. Mix well. Use Gram Iodine within 3 months after reconstitution.

- 10.1 Make a thin smear of the material for study on a glass slide. Allow the slide to air-dry completely or use a slide warmer. Fix the slide by passing 3 or 4 times through the flame of a Bunsen burner or flood the smear with methanol and allow it to evaporate.
- 10.2 Place the slide on a staining rack and overlay with Gram Crystal Violet for 1 minute.
- 10.3 Wash thoroughly with water and overlay with Gram Iodine mordant for 1 minute.

10.4 Flood with Gram Decolorizer until the solvent flows colorless from the slide (10-30 seconds).

10.5 Rinse with water and overlay with Gram Safranin for 30 seconds.

10.6 Rinse with water and allow to air-dry.

11. INTERPRETATION

Gram-positive organisms stain purple.

Gram-negative organisms stain red.

12. QUALITY CONTROL

All lot numbers of Gram Iodine have been tested and found to yield acceptable stain results as listed in the Interpretation section. Positive and negative control slides should be tested prior to use of new lot numbers of stains and decolorizing reagent and at least weekly thereafter. If aberrant quality control results are noted, patient results should not be reported.

13. LIMITATIONS

- 13.1 Test positive and negative controls with each new lot number of stains and weekly thereafter to verify reagent efficacy and ensure the decolorization procedure is performed correctly.⁵
- 13.2 To obtain the most reliable results, remove clinical specimen isolates from an 18-24 hour culture growing on nonselective medium.⁵
- 13.3 Do not overheat smears when fixing slides. Excessive heating will cause atypical staining.⁵
- 13.4 Gram-positive organisms contained in a specimen may appear gram-negative if the patient is on antimicrobial therapy.⁵
- 13.5 Precipitated crystal violet can appear as coccoid shapes or fungal elements, as well as other artifacts or background material.⁵

14. BIBLIOGRAPHY

1. Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
2. Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
3. Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
5. Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. SYMBOL LEGEND

REF	Catalogue Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Consult Instructions for Use (IFU)
	Temperature Limitations (Storage temp.)
	Contains sufficient for <N> tests
	Do not use if package is damaged
LOT	Batch Code (Lot Number)
	Use By (Expiration Date)
	Keep away from sunlight
UDI	Unique Device Indicator
EC REP	Authorized representative in the European Community
UK CA	UK Conformity Assessed
CE	European Conformity Assessment
	Manufacturer



12076 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215, USA
www.thermofisher.com/microbiology
(800) 255-6730 International: (913) 888-0939

For technical information contact your local distributor.
CAS (Chemical Abstracts Service Registry No.)

Manufactured for Remel Inc.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

IFU R40056, Revised July 2022

UK **CA** **CE**

Printed in the U.S.A.

REF R40056, jod po Gramu 250 ml/Btl, EA
 REF R40057, jod po Gramu..... 250 ml/Btl, 5/Pk
 REF R40077, jod po Gramu.....Galon

1. NAMJENA

Reagens/skup reagensa koji se koristi u tehnici za diferencijaciju Gram-negativnih i Gram-pozitivnih mikroorganizama.

Uredaj je samo za profesionalnu uporabu i nije namijenjen za samotestiranje.

2. SAŽETAK I OBJAŠNJENJE

Metodu bojenja po Gramu razvio je 1884. danski bakteriolog Christian Gram za razlikovanje bakterijskih stanica od zaraženog tkiva.¹ Kasnije je otkriveno da je sastav bakterijske stanične stijenke bio ključ za bojenje po Gramu i da bi razlikoval bakterije u dvije skupine na temelju boje stanica nakon bojenja. Od tog vremena bilo je mnogo modifikacija izvorne tehnike.^{2,3}

3. NAČELO

Primarna boja je kristalno ljubičasta, osnovna boja koju preuzimaju sve bakterije zbog sposobnosti da brzo prodiru kroz staničnu stijenkiju. Ona boji protoplast bakterije ljubičasto. Mješavina kalija i joda je sredstvo za nagrizanje koje stvara kompleks s primarnom bojom u stanici. U Gram-pozitivnim stanicama kompleks kristalno ljubičastog-joda zarobljen je u stanici zbog smanjenja propusnosti stanične stijenke uzrokovane dehidracijom alkohola. Gram-pozitivne stanice obojene su ljubičasto. U Gram-negativnim stanicama, dekolorizator uklanja kompleks zbog povećanja propusnosti uzrokovane topljivošću lipida u alkoholu. Korištena protuobraja mora biti kontrastne boje u odnosu na primarnu boju i, u ovom slučaju, safranin je taj boji Gram-negativne stanice u crveno.

4. REAGENSI

Kalijev jodid (CAS 7681-11-0).....	6,6 g
Jod (CAS 7553-56-2).....	3,3 g
Demineralizirana voda (CAS 7732-18-5).....	990,0 ml

5. MJERE OPREZA

Ovaj proizvod služi za *in vitro* dijagnostičku uporabu i trebaju ga koristiti odgovarajuće obučene osobe. Potrebno je poduzeti mjere opreza po pitanju opasnosti od mikrobioloških rizika ispravnom sterilizacijom uzorka, spremnika i medija nakon uporabe. Potrebno je pročitati upute i pažljivo ih se pridržavati. Dodatne informacije potražite u sigurnosno-tehničkom listu.

Svaki ozbiljan štetni događaj do kojeg je došlo vezano uz proizvod treba prijaviti proizvođaču i relevantnom regulatornom tijelu države u kojoj se korisnik i/ili bolesnik nalazi.

6. SKLADIŠTENJE

Čuvajte proizvod u njegovom izvornom pakiranju na 20 – 25 ° C do uporabe.

7. SLABLJENJE KVALITETE PROIZVODA

Ovaj se proizvod ne smije koristiti ako (1) se boja promjenila iz ljubičaste u neku drugu, (2) je istekao rok valjanosti ili (3) postoje drugi znakovi kvarenja.

8. PRIKUPLJANJE, ČUVANJE I PRIJEVOZ UZORKA

Uzorke treba prikupiti i s njima postupati pridržavajući se preporučenih smjernica.^{4,5}

9. POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU ISPORUČENI

(1) Uredaj za sterilizaciju s petljom, (2) Petlja za inokulaciju, brisevi, spremnici za prikupljanje, (3) Inkubatori, alternativni okolišni sustavi, (4) Dodatni mediji, (5) Organizmi za kontrolu kvalitete, (6) Gram Crystal Violet (R40052), (7) Dekolorizator po Gramu (R40054), (8) Safranin po Gramu (R40058), (9) Predmetna stakla, (10) Bunsenov plamenik ili grijač za predmetna stakalca, (11) Mikroskop, ulje za uranjanje, (12) Stalak za bojenje, (13) Metanol (neobavezno).

10. POSTUPAK

Dodatajte koncentrat joda po Gramu u razrjeđivač. U svaku bočicu razrjeđivača od 250 ml dodajte jednu tubu koncentrata od 2,5 ml. Svakom galonu razrjeđivača dodajte jednu tubu koncentrata od 40 ml. Dobro promiješajte. Upotrijebite jod po Gramu unutar 3 mjeseca nakon rekonstitucije.

- 10.1 Na predmetnom stakalcu napravite tanak razmaz materijala za proučavanje. Ostatite predmetno stakalce da se potpuno osuši na zraku ili upotrijebite grijač za predmetno stakalce. Fiksirajte predmetno stakalce prolazeći 3 ili 4 puta kroz plamen Bunsenovog plamenika ili prelijite razmaz metanolom i ostavite da ispari.
- 10.2 Stavite stakalce na stalak za bojenje i prekrijte bojom Gram Crystal Violet na 1 minutu.
- 10.3 Temeljito operite vodom i prelijite sredstvom za nagrizanje joda po Gramu 1 minutu.
- 10.4 Preljite s Gram dekolorizatorom dok bezbojno otapalo ne poteče s predmetnog stakalca (10-30 sekundi).

10.5 Isprati vodom i premazati Safraninom po Gramu tijekom 30 sekundi.

10.6 Isperite vodom i ostavite da se osuši na zraku.

11. TUMAČENJE

Gram-pozitivni organizmi boje se ljubičasto.

Gram-negativni organizmi boje se crveno.

12. KONTROLA KVALITETE

Svi brojevi serija joda po Gramu su testirani i utvrđeno je da daju prihvatljive rezultate bojenja kao što je navedeno u odjeljku Tumačenje. Pozitivna i negativna kontrolna predmetna stakalca treba testirati prije uporabe novih brojeva boja i reagensa za dekolorizaciju, a nakon toga najmanje jednom tjedno. Ako se zabilježe nepravilni rezultati kontrole kvalitete, ne bi se trebali prijaviti rezultati bolesnika.

13. OGRANIČENJA

- 13.1 Testirajte pozitivne i negativne kontrole sa svakom novom serijom boja i nakon toga jednom tjedno kako biste provjerili učinkovitost reagensa i osigurali da je postupak dekolorizacije pravilno izveden.⁵
- 13.2 Kako biste dobili najpouzdanije rezultate, uklonite izolate kliničkih uzoraka iz 18-24-satne kulture koja raste na neselektivnom mediju.⁵
- 13.3 Nemojte pregrijavati razmaze prilikom fiksiranja predmetnih stakalaca. Pretjerano zagrijavanje uzrokovat će netipične mrlje.^{5,6}
- 13.4 Gram-pozitivni organizmi sadržani u uzorku mogu izgledati kao Gram-negativni ako je pacijent na antimikrobnoj terapiji.⁵
- 13.5 Precipitirana kristalno ljubičasta boja može se pojaviti kao kokoidni oblici ili gljivočni elementi, kao i drugi artefakti ili pozadinski materijal.⁵

14. BIBLIOGRAFIJA

1. Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
2. Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
3. Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.
5. Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. KAZALO SIMBOLA

REF	Kataloški broj
IVD	In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Proučite upute za uporabu (IFU)
	Ograničenja temperature (temp. skladištenja)
	Sadrži dovoljno za <N> testova
	Ne upotrebljavati ako je pakiranje oštećeno
LOT	Broj serije (serijski broj)
	Rok valjanosti
	Čuvati podalje od sunčeve svjetlosti
UDI	Jedinstvena identifikacija uređaja
EC REP	Ovlašteni zastupnik u Europskoj zajednici
UK CA	Ocjenvivanje sukladnosti u Ujedinjenoj Kraljevini
CE	Europska ocjena sukladnosti
	Proizvođač



12076 Santa Fe Trail Drive
 Lenexa, KS 66215, SAD
www.thermofisher.com/microbiology
 (800) 255-6730 Međunarodni: (913) 888-0939

Za tehničke informacije obratite se svom lokalnom distributeru.
 CAS (Registracijski broj u Bazi podataka kemijskih tvari, eng. CAS)

Proizvedeno za Remel Inc.

©2022. Thermo Fisher Scientific Inc. Sva prava pridržana.

Svi ostali zaštitni znakovi vlasništvo su društva Thermo Fisher Scientific Inc. i njegovih podružnica.

IFU R40056, revidirano srpnja 2022



Tiskano u SAD-u

REFR40056, Gramův jód 250 ml/lahev, EA
 REFR40057, Gramův jód 250 ml/lahvička, 5/balení
 REFR40077, Gramův jód gallon

1. ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Reagencie / sada reagencí používaná v technice na differenciaci gramnegativních a grampozitivních mikroorganismů.

Prostředek je určen pouze pro profesionální použití a není určen pro vlastní testování.

2. SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Metodu Gramova barvení vyvinul v roce 1884 dánský bakteriolog Christian Gram k differenciaci bakteriálních buněk od infikované tkáně.¹ Později bylo zjištěno, že klíčem ke Gramovu barvení je složení bakteriální buněčné stěny, která po obarvení umožní diferencovat bakterie do dvou skupin na základě barvy buněk. Od té doby došlo k mnoha modifikacím původní techniky.^{2,3}

3. PRINCIP

Základním barvivem je krystalová violet, základní barvivo, které je díky své schopnosti rychle prostupovat buněčnou stěnou přijímáno všemi bakteriemi. Barví protoplast bakterií na fialovo. Směs draslíku a jódů je mořidlo, které v buňce vytváří komplexy s primárním barvivem. U grampozitivních buněk je komplex krystalové violeti a jódů zachycen v buňce v důsledku snížení propustnosti buněčné stěny způsobené dehydratací alkoholem. Grampozitivní buňky se barví fialově. U gramnegativních buněk je komplex odstraněn odbarvovačem v důsledku zvýšení propustnosti způsobené rozpustností lipidů v alkoholu. Použité kontrastní barvivo musí mít kontrastní barvu k základnímu barvivu a v tomto případě se jedná o safranin, který barví gramnegativní buňky červeně.

4. REAGENCIE

Jodiddráselný (CAS 7681-11-0) 6,6 g
 Jód (CAS 7553-56-2) 3,3 g
 Demineralizovaná voda (CAS 7732-18-5) 990,0 ml

5. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Tento produkt je určen pro diagnostické použití *in vitro* a měl by být používán řádně vyškolenými osobami. Je třeba přijmout opatření proti nebezpečí mikrobiologických rizik řádnou sterilizaci vzorků, nádob a médií po použití. Prostudujte si návod a přesně ho dodržujte. Další informace najeznete v bezpečnostním listu.

Každá závažná událost, ke které došlo v souvislosti s prostředkem, se musí nahlásit výrobci a příslušnému správnímu orgánu, pod který uživatel a/nebo pacient spadá.

6. SKLADOVÁNÍ

Produkt až do jeho použití skladujte v původním obalu při teplotě 20–25°C.

7. POKLES KVALITY VÝROBKU

Tento produkt by se neměl používat, pokud (1) se změnila barva ze žlutočervené, (2) uplynula doba použitelnosti nebo (3) existují jiné známky poškození.

8. ODBĚR, SKLADOVÁNÍ A PŘEPRAVA VZORKŮ

Vzorky je třeba odebírat a zacházet s nimi podle doporučených pokynů.^{4,5}

9. POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ DODÁVKY

(1) Smyčkové sterilizační zařízení, (2) inokulační klička, tampony, sběrné nádoby, (3) inkubátory, alternativní environmentální systémy, (4) doplňková média, (5) organizmy kontroly kvality, (6) Gramova krystalová violet (R40052), (7) Gramův odbarvovač (R40054), (8) Gramův safranin (R40058), (9) podložní sklička, (10) Bunsenův hořák nebo ohřívač skliček, (11) mikroskop, imerzní olej, (12) stojan na barvení, (13) methanol (volitelný).

10. POSTUP

Do ředitla přidejte koncentrátný Gramův jód. Na každou 250ml lahev ředitla přidejte jednu 2,5ml zkumavku koncentrátu. Na každých gallon ředitla přidejte jednu 40ml zkumavku koncentrátu. Dobře promíchejte. Gramův jód použijte do 3 měsíců po rekonstituci.

- 10.1 Na podložním skličku vytvořte tenký nátěr zkoumaného materiálu. Nechte skličko zcela vyschnout na vzduchu nebo použijte ohřívač skliček. Skličko zafixujte tak, že jej 3krát nebo 4krát projedete plamenem Bunsenova hořáku, nebo nátěr zalijte methanolem a nechte jej odparit.
- 10.2 Umístěte skličko na stojan na barvení a na dobu 1 minuty přetřete Gramovou krystalovou violetí.
- 10.3 Důkladně omýjte vodou a na dobu 1 minuty přetřete mořidlem Gramův jód.
- 10.4 Zalávejte Gramovým odbarvovačem, dokud rozpouštědlo vytékající z podložního sklička není bezbarvé (10–30 sekund).

- 10.5 Opláchněte vodou a na dobu 30 sekund přetřete Gramovým safraninem.
- 10.6 Opláchněte vodou a nechte vyschnout na vzduchu.

11. INTERPRETACE

Grampozitivní organismy se barví na fialovo.

Gramnegativní organismy se barví na červeno.

12. KONTROLA KVALITY

Všechna čísla šarží Gramova jádu byla testována a bylo zjištěno, že poskytuje přijatelné výsledky barvení, jak je uvedeno v části Interpretace. Pozitivní a negativní kontrolní sklička by měla být testována před použitím nových čísel šarží barviv a odbarvovací reagencie a poté alespoň jednou týdně. Jsou-li zaznamenány odchylné výsledky kontroly kvality, výsledky pacientů nelze použít.

13. OMEZENÍ

- 13.1 Testujte pozitivní a negativní kontroly s každým novým číslem šarže barviv a poté každý týden, abyste ověřili účinnost reagencie a zajistili správné provedení odbarvovacího postupu.⁵
- 13.2 Chcete-li získat co nejspolehlivější výsledky, odebrírejte izoláty z klinických vzorků z 18–24 hodinové kultury rostoucí na neselektivním médiu.⁵
- 13.3 Při fixaci skliček nátěry nepřehřívejte. Nadmerné zahřívání způsobí atypické zbarvení.^{5,6}
- 13.4 Grampozitivní organismy obsažené ve vzorku se mohou jevit jako gramnegativní, podstupuje-li pacient antimikrobiální léčbu.⁵
- 13.5 Vysrážená krystalová violet se může jevit v podobě kokovitých útváří či plísňových elementů, stejně jako jiných artefaktů nebo podkladového materiálu.⁵

14. LITERATURA

1. Bartholomew, J.W. a T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
2. Mittwer, T., J.W. Bartholomew a B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
3. Bartholomew J.W. a T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm a A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
5. Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Mangels, J.I., M.E. Cox a L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. LEGENDA SYMBOLŮ

	Katalogové číslo
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	Přečtěte si návod k použití (IFU)
	Omezení teploty (skladovací teplota)
	Obsahuje dostatečné množství pro <N> testů.
	Nepoužívejte, pokud je obal poškozen
	Kód dávky (číslo šarže)
	Spotřebujte do data (doba použitelnosti)
	Chraňte před slunečním zářením
	Jedinečný indikátor prostředku
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství
	Posouzení shody ve Spojeném království
	Evropské posuzování shody
	Výrobce

 12076 Santa Fe Trail Drive
 Lenexa, KS 66215, USA
www.thermofisher.com/microbiology
 (800) 255-6730 Mezinárodní: (913) 888-0939

Potřebujete-li technickou pomoc, obraťte se na místního distributora.
 CAS (registrační číslo služby chemických abstraktů)

Vyrobeno pro společnost Remel Inc.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Všechna práva vyhrazena.

Všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Thermo Fisher Scientific Inc. a její dceřiných společností.



Návod k použití R40056, revidován v červenci 2022

Vytisknuto v USA

REF R40056, Gram Iodine.....250 ml/flaske, pr. stk.
 REF R40057, Gram Iodine..... 250 ml/flaske, 5/pakke
 REF R40077, Gram Iodine.....Gallon

1. TILSIGTET BRUG

Et reagens/reagenssæt, der anvendes i en teknik til differentiering af gramnegative og grampositive mikroorganismær.

Anordningen er kun til professionel brug og er ikke beregnet til selvtestning.

2. RESUMÉ OG FORKLARING

Gramfarvningemetoden blev udviklet i 1884 af den danske bakteriolog Christian Gram for at differentiere bakterieceller fra inficeret væv.¹ Senere blev det opdaget, at sammensætningen af den bakterielle cellevæg var nøglen til Gram-farvningen og ville differentiere bakterier i to grupper ud fra cellefarve efter farvningen. Siden da har der været mange ændringer af den oprindelige teknik.^{2,3}

3. PRINCIP

Den primære farve er krystalviolet, et basisfarvestof, der optages af alle bakterier pga. dets evne til hurtigt at trænge gennem cellevæggen. Den farver protoplasten i bakterier lilla. Kalium-jod-blandingen er bejdsemidlet, som danner kompleks med den primære farve i cellen. I grampositive celler er krystalviolet-jod-komplekset fanget i cellen pga. et fald i cellevægspermeabilitet forårsaget af alkoholdehydrering. Grampositive celler farves lilla. I gramnegative celler fjernes komplekset af affarvningsmidlet pga. en stigning i permeabiliteten forårsaget af opløseligheden af lipiderne i alkohol. Den anvendte modfarve skal have en kontrastfarve i forhold til den primære farve, og i dette tilfælde er det safranin, der farver gramnegative celler røde.

4. REAGENSER

Potassium Iodide (CAS 7681-11-0).....6,6 g
 Iodine (CAS 7553-56-2).....3,3 g
 Demineraliseret vand (CAS 7732-18-5).....990,0 ml

5. FORHOLDSREGLER

Dette produkt er til *in vitro*-diagnostisk brug og skal anvendes af korrekt uddannede personer. Nødvendige forholdsregler skal træffes mod mikrobiologiske farer ved hjælp af grundig sterilisering af prøver, beholdere og medier efter brug. Sørg for at følge de gældende retningslinjer. Se sikkerhedsdatabladet for yderligere oplysninger.

Alle alvorlige hændelser, der opstår i forbindelse med anordningen, skal rapporteres til fremstilleren og den relevante myndighed, hvor brugeren og/eller patienten er bosiddende.

6. OPBEVARING

Opbevar produktet i den medfølgende beholder ved 20-25 °C, indtil det skal bruges.

7. FORRINGELSE AF PRODUKTET

Dette produkt må ikke anvendes, hvis (1) farven er ændret fra gul-rød, (2) udløbsdatoen er overskredet, eller (3) der er andre tegn på nedbrydning.

8. PRØVEINDSAMLING, -OPBEVARING OG -TRANSPORT

Prøverne skal indsamles og håndteres i henhold til de anbefalede retningslinjer.^{4,5}

9. NØDVENDIGE MATERIALER, SOM IKKE MEDFØLGER

(1) Løkkesteriliseringseenhed, (2) Inokuleringsløkke, podepinde, opsamlingsbeholdere, (3) Inkubatorer, alternative miljøsystemer, (4) Supplerende medier, (5) Kvalitetskontrolorganismer, (6) Gram Crystal Violet (R40052), (7) Gram Decolorizer (R40054), (8) Gram Safranin (R40058), (9) Objektglas, (10) Bunsenbrænder eller objektglasvarmer, (11) Mikroskop, immersionsolie, (12) Farvningssstativ, (13) Methanol (valgfrit).

10. FREMGANGSMÅDE

Tilsæt Gram Iodine-koncentrat til fortyndingsmidlet. For hver flaske med 250 ml fortyndingsmiddel tilsættes et glas med 2,5 ml koncentrat. For hver gallon (3,8 liter) fortyndingsmiddel tilsættes et glas med 40 ml koncentrat. Bland godt. Brug Gram Iodine inden for 3 måneder efter rekonstituering.

- 10.1 Lav en tynd strygning af materialet til undersøgelse på et objektglas. Lad objektglasset lufttørre helt, eller brug en objektglasvarmer. Fastgør objektglasset ved at passere 3 eller 4 gange gennem flammen på en bunsenbrænder eller oversvømme strygningen med methanol og lade den fordampe.
- 10.2 Placer objektglasset på et farvningssstativ, og overlæg med Gram Crystal Violet i 1 minut.
- 10.3 Vask grundigt med vand, og overlæg med Gram Iodine-bejdsemiddel i 1 minut.
- 10.4 Oversvøm med Gram Decolorizer, indtil opløsningsmidlet flyder farveløst fra objektglasset (10-30 sekunder).
- 10.5 Skyl med vand, og overlæg med Gram Safranin i 30 sekunder.
- 10.6 Skyl med vand, og lad lufttørre.

11. FORTOLKNING

Grampositive organismer farves lilla.

Gramnegative organismer farves røde.

12. KVALITETSKONTROL

Alle lotnumre af Gram Iodine er blevet testet og fundet at give acceptable farveresultater som angivet i afsnittet Fortolkning. Positive og negative kontrolobjektglas skal testes før brug af nye farve-lotnumre og affarvningsreagens og mindst én gang om ugen derefter. Hvis der konstateres atypiske kvalitetskontrolresultater, bør patientresultater ikke rapporteres.

13. BEGRÆNSNINGER

- 13.1 Test positive og negative kontroller med hvert nyt farve-lotnummer og ugentlig derefter for at verificere reagenseffektiviteten og sikre, at affarvningsproceduren udføres korrekt.⁵
- 13.2 For at opnå de mest pålidelige resultater skal du fjerne kliniske prøveisolater fra en 18-24 timers kultur, der vokser på ikke-selektivt medium.⁵
- 13.3 Overvarm ikke strygninger, når objektglassene fastgøres. Overdreven opvarmning vil forårsage atypisk farvning.^{5,6}
- 13.4 Grampositive organismer indeholdt i en prøve kan virke gramnegative, hvis patienten er i antimikrobiel behandling.⁵
- 13.5 Udfældet krystalviolet kan fremstå som kokkoide former eller svampelementer såvel som andre artefakter eller baggrundsmateriale.⁵

14. LITTERATUR

1. Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
2. Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
3. Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
5. Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. SYMBOLFORKLARING

REF	Katalognummer
IVD	In vitro-diagnostisk medicinsk udstyr
	Se brugsanvisningen (IFU)
	Temperaturbegrænsninger (opbevaringstemp.)
	Tilstrækkeligt indhold til <N> tests
	Må ikke bruges, hvis pakningen er beskadiget
LOT	Batchkode (lotnummer)
	Sidste anvendelsesdato (udløbsdato)
	Holdes væk fra sollys
UDI	Unik udstyrsidentifikation
EC REP	Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab
UK CA	UK-overensstemmelse vurderet
CE	Europæisk overensstemmelsesvurdering
	Fremstiller



12076 Santa Fe Trail Drive
 Lenexa, KS 66215, USA
www.thermofisher.com/microbiology
 +1 (800) 255-6730 Internationalt: (913) 888-0939

Kontakt din lokale distributør for at få tekniske oplysninger.

CAS (Kemisk Abstrakt Serviceregistreringsnummer)

Fremstillet for Remel Inc.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

Alle andre varemærker tilhører Thermo Fisher Scientific Inc. og dets datterselskaber.

IFU R40056, revideret juli 2022



Trykt i USA.

RÉF R40056, iodé de Gram..... 250 ml/flacon, EA
 RÉF R40057, iodé de Gram..... 250 ml/flacon, 5/emballage
 RÉF R40077, iodé de Gram..... Gallon

1. UTILISATION PRÉVUE

Réactif/ensemble de réactifs utilisé dans une technique de différenciation des micro-organismes à gram négatif et à gram positif.

Ce produit est destiné à un usage professionnel uniquement et n'est pas destiné à l'autodiagnostic.

2. RÉSUMÉ ET DESCRIPTION

La méthode de coloration de Gram a été mise au point en 1884 par le bactériologue danois Christian Gram pour différencier les cellules bactériennes des tissus infectés.¹ Plus tard, on a découvert que la composition de la paroi cellulaire bactérienne était la clé de la coloration de Gram et permettait de différencier les bactéries en deux groupes selon la couleur des cellules après coloration. Depuis lors, de nombreuses modifications ont été apportées à la technique originale.^{2,3}

3. PRINCIPE

La coloration primaire est le cristal violet, un colorant basique absorbé par toutes les bactéries en raison de sa capacité à traverser rapidement la paroi cellulaire. Il colore le protoplaste des bactéries en violet. Le mélange potassium-iodé est le mordant qui forme un complexe avec la coloration primaire de la cellule. Dans les cellules à gram positif, le complexe cristal violet-iodé est piégé dans la cellule en raison d'une diminution de la perméabilité de la paroi cellulaire causée par la déshydratation de l'alcool. Les cellules à gram positif sont colorées en violet. Dans les cellules à gram négatif, le complexe est éliminé par le décolorant en raison d'une augmentation de la perméabilité due à la solubilité des lipides dans l'alcool. La contre-coloration utilisée doit être d'une couleur contrastante avec la coloration primaire et, dans ce cas, c'est la safranine qui colore en rouge les cellules à gram négatif.

4. RÉACTIFS

Iodure de potassium (CAS 7681-11-0).....	6,6 g
Iode (CAS 7553-56-2).....	3,3 g
Eau déminéralisée (CAS 7732-18-5).....	990,0 ml

5. PRÉCAUTIONS

Ce produit est destiné au diagnostic *in vitro* et son usage est réservé à des personnes dûment formées. Des précautions contre les risques microbiologiques potentiels doivent être prises par la stérilisation appropriée des échantillons, des récipients et du milieu après leur utilisation. Les instructions doivent être lues et respectées scrupuleusement. Reportez-vous à la Fiche de données de sécurité pour plus d'informations.

Tout incident grave survenu en relation avec le dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité réglementaire compétente dont dépendent l'utilisateur et/ou le patient.

6. CONSERVATION

Le produit doit être stocké dans son récipient d'origine à une température comprise entre 20 et 25 °C jusqu'à utilisation.

7. DÉTÉRIORATION DU PRODUIT

Ce produit ne doit pas être utilisé si (1) couleur a viré du jaune au rouge, (2) la date d'expiration est dépassée ou (3) d'autres signes de détérioration sont présents.

8. PRÉLÈVEMENT, CONSERVATION ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons doivent être prélevés et manipulés conformément aux directives recommandées.^{4,5}

9. MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

(1) Dispositif de stérilisation de l'anse, (2) anse d'ensemencement, écouvillons, récipients de prélevement, (3) Incubateurs, systèmes générateurs d'atmosphère, (4) Milieux de supplémentation, (5) Organismes de contrôle de qualité, (6) Cristal violet de Gram (R40052), (7) Décolorant Gram (R40054), (8) safranine de Gram (R40058), (9) Lames de verre, (10) Bec Bunsen ou chauffe-lame, (11) Microscope, huile d'immersion, (12) Support de coloration, (13) Méthanol (facultatif).

10. PROCÉDURE

Ajouter le concentré d'iodé de Gram au diluant. À chaque flacon de 250 ml de diluant, ajoutez un tube de 2,5 ml de concentré. À chaque gallon de diluant, ajoutez un tube de 40 ml de concentré. Bien mélanger. Utiliser l'iodé de Gram dans les 3 mois suivant la reconstitution.

- 10.1 Faites un frottis fin du matériel à étudier sur une lame de verre. Laissez la lame sécher complètement à l'air libre ou utilisez un chauffe-lame. Fixez la lame en la passant 3 ou 4 fois dans la flamme d'un bec Bunsen ou inondez le frottis de méthanol et laissez-le s'évaporer.
- 10.2 Placez la lame sur un support de coloration et recouvrez-la de cristal violet de Gram pendant 1 minute.
- 10.3 Laver abondamment à l'eau et recouvrir de mordant à l'iodé de Gram pendant 1 minute.
- 10.4 Inonder avec le décolorant Gram jusqu'à ce que le solvant s'écoule incolore de la lame (10 à 30 secondes).

10.5 Rincer à l'eau et recouvrir de safranine de Gram pendant 30 secondes.

10.6 Rincer à l'eau et laisser sécher à l'air libre.

11. INTERPRÉTATION

Les organismes à gram positif se colorent en violet.

Les organismes à gram négatif se colorent en rouge.

12. CONTRÔLE QUALITÉ

Tous les numéros de lot de l'iodé de Gram ont été testés et ont donné des résultats de coloration acceptables, comme indiqué dans la section Interprétation. Les lames de contrôle positif et négatif doivent être testées avant l'utilisation de nouveaux numéros de lot de colorants et de réactif décolorant et au moins une fois par semaine par la suite. Si des résultats aberrants de contrôle qualité sont obtenus, les résultats du patient ne doivent pas être signalés.

13. LIMITES

- 13.1 Testez les contrôles positifs et négatifs avec chaque nouveau numéro de lot de colorants et chaque semaine par la suite pour vérifier l'efficacité du réactif et s'assurer que la procédure de décoloration est effectuée correctement.⁵
- 13.2 Pour obtenir les résultats les plus fiables, prélevez des isolats d'échantillons cliniques à partir d'une culture de 18 à 24 heures sur un milieu non sélectif.⁵
- 13.3 Ne pas surchauffer les frottis lors de la fixation des lames. Un chauffage excessif provoquera une coloration atypique.^{5,6}
- 13.4 Les organismes à gram positif contenus dans un échantillon peuvent apparaître comme étant à gram négatif si le patient est sous traitement antimicrobien.⁵
- 13.5 Le cristal violet précipité peut se présenter sous la forme de formes cocoïdes ou d'éléments fongiques, ainsi que d'autres artefacts ou matériaux de base.⁵

14. BIBLIOGRAPHIE

1. Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
2. Mittwer, T., JW Bartholomew, and B.J. Kalman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
3. Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
5. Garcia, L.S. 2010. Manuel de procédures de microbiologie clinique. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. SYMBOLES

REF	Référence catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Consulter les instructions d'utilisation
	Limites de température (temp. de stockage)
	Contenu suffisant pour <N> tests
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
LOT	Code de lot (Numéro de lot)
	Utiliser avant (Date de péremption)
	Tenir à l'abri de la lumière directe du soleil
UDI	Indicateur de dispositif unique
EC REP	Représentant agréé pour la Communauté européenne
UK CA	Conformité pour le Royaume-Uni évaluée
	Évaluation de la conformité européenne
	Fabricant



12076 Santa Fe Trail Drive
 Lenexa, KS 66215, USA
www.thermofisher.com/microbiology
 (800) 255-6730 International : (913) 888-0939

Pour obtenir des informations techniques, contactez le distributeur local.
 CAS (numéro de registre Chemical Abstracts Service)

Fabriqué pour Remel Inc.

© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Tous droits réservés.

Toutes les autres marques sont la propriété de Thermo Fisher Scientific Inc. et de ses filiales.

IFU R40056, Révisé Juillet 2022

UK
CA

Imprimé aux États-Unis

REF R40056, Gram-Jod.....250 ml/Btl, EA
 REF R40057, Gram-Jod.....250 ml/Btl, 5/Pk
 REF R40077, Gram-Jod.....Gallone

1. VERWENDUNGSZWECK

Ein Reagenz bzw. eine Reihe von Reagenzien, die in einem Verfahren zur Differenzierung von gramnegativen und grampositiven Mikroorganismen verwendet werden.

Das Produkt ist nur für den professionellen Gebrauch und nicht für Selbsttests vorgesehen.

2. ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die Gram-Färbemethode wurde 1884 von dem dänischen Bakteriologen Christian Gram entwickelt, um bakterielle Zellen von infiziertem Gewebe zu unterscheiden.¹ Später entdeckte man, dass die Zusammensetzung der bakteriellen Zellwand der Schlüssel zur Gram-Färbung war und die Bakterien anhand der Zelfarbe nach der Färbung in zwei Gruppen unterschieden werden konnten. Seitdem hat es viele Modifikationen der ursprünglichen Technik gegeben.^{2,3}

3. PRINZIP

Die primäre Färbung ist Kristallviolett, ein basischer Farbstoff, der von allen Bakterien aufgenommen wird, da er die Zellwand schnell durchdringen kann. Es färbt den Protoplasten der Bakterien violett. Das Kalium-Jod-Gemisch ist das Beizmittel, das sich mit dem Primärfarbstoff in der Zelle verbindet. In grampositiven Zellen ist der Kristallviolett-Jod-Komplex in der Zelle gefangen, weil die Zellwand durch Alkoholtrocknung weniger durchlässig ist. Grampositive Zellen sind violett gefärbt. In gramnegativen Zellen wird der Komplex durch den Entfärbär entfernt, da die Permeabilität durch die Löslichkeit der Lipide in Alkohol erhöht wird. Die verwendete Gegenfärbung muss einen Farbkontast zur Primärfärbung aufweisen. In diesem Fall ist es Safranin, das gramnegative Zellen rot färbt.

4. REAGENZIEN

Kaliumjodid (CAS 7681-11-0).....	6,6 g
Jod (CAS 7553-56-2).....	3,3 g
Demineralisiertes Wasser (CAS 7732-18-5).....	990,0 ml

5. VORSICHTSMASSNAHMEN

Dieses Produkt ist für die *In-vitro-Diagnostik* bestimmt und sollte von entsprechend geschulten Personen verwendet werden. Es sollten Vorsichtsmaßnahmen gegen mikrobiologische Gefahren getroffen werden, indem Proben, Behälter und Medien nach der Verwendung ordnungsgemäß sterilisiert werden. Die Gebrauchsanweisung sollte sorgfältig gelesen und befolgt werden. Weitere Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt.

Jeder schwerwiegende Zwischenfall im Zusammenhang mit dem Produkt ist dem Hersteller und der zuständigen Aufsichtsbehörde, in deren Zuständigkeitsbereich der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist/sind, zu melden.

6. LAGERUNG

Lagern Sie das Produkt bis zur Verwendung in seinem Originalbehälter bei 20–25 °C.

7. PRODUKTVERSCHLECHTERUNG

Dieses Produkt sollte nicht verwendet werden, wenn (1) sich die Farbe von gelb-rot verändert hat, (2) das Verfallsdatum überschritten ist oder (3) andere Anzeichen von Verfall vorliegen.

8. ENTNAHME, LAGERUNG UND TRANSPORT VON PROBEN

Die Proben sollten gemäß den empfohlenen Richtlinien entnommen und behandelt werden.^{4,5}

9. ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

(1) Sterilisationsösse, (2) Impföse, Tupfer, Sammelbehälter, (3) Inkubatoren, alternative Umgebungssysteme, (4) Zusatzmedien, (5) Qualitätskontrollorganismen, (6) Gram-Kristallviolett (R40052), (7) Gram-Entfärbär (R40054), (8) Gram-Safranin (R40058), (9) Objekträger aus Glas, (10) Bunsenbrenner oder Objekträgerwärmer, (11) Mikroskop, Immersionsöl, (12) Färbegestell, (13) Methanol (optional).

10. VERFAHREN

Geben Sie das Gram-Jod-Konzentrat in das Verdünnungsmittel. Geben Sie zu jeder 250-ml-Flasche Verdünnungsmittel ein 2,5-ml-Röhrchen Konzentrat hinzu. Geben Sie zu jeder Gallone Verdünnungsmittel ein 40-ml-Röhrchen Konzentrat hinzu. Gut mischen. Verwenden Sie Gram-Jod innerhalb von 3 Monaten nach der Rekonstitution.

- 10.1 Machen Sie einen dünnen Abstrich von dem zu untersuchenden Material auf einem Objekträger. Lassen Sie den Objekträger vollständig an der Luft trocknen oder verwenden Sie einen Objekträger-Wärmer. Fixieren Sie den Objekträger, indem Sie ihn 3 oder 4 Mal durch die Flamme eines Bunsenbrenners führen, oder füllen Sie den Ausschnitt mit Methanol und lassen Sie es verdampfen.
- 10.2 Legen Sie den Objekträger auf ein Färbegestell und überlagern Sie ihn 1 Minute lang mit Gram-Kristallviolett.
- 10.3 Gründlich mit Wasser waschen und 1 Minute lang mit Gram-Jod-Beize überlagern.
- 10.4 Mit Gram-Entfärbär auffüllen, bis das Lösungsmittel farblos vom Objekträger fließt (10–30 Sekunden).

- 10.5 Spülen Sie mit Wasser und überlagern Sie es 30 Sekunden lang mit Gram-Safranin.
- 10.6 Mit Wasser abspülen und an der Luft trocknen lassen.

11. INTERPRETATION

Grampositive Organismen färben sich violett.

Gramnegative Organismen färben sich rot.

12. QUALITÄTSKONTROLLE

Alle Chargennummern von Gram-Jod wurden getestet und ergaben akzeptable Färbeergebnisse, wie im Abschnitt Interpretation aufgeführt. Positiv- und Negativ-Kontroll-Objekträger sollten vor der Verwendung neuer Chargennummern von Färbemitteln und Entfärbungsreagens und danach mindestens wöchentlich getestet werden. Wenn abweichende Qualitätskontrollergebnisse festgestellt werden, sollten die Patientenergebnisse nicht gemeldet werden.

13. EINSCHRÄNKUNGEN

- 13.1 Testen Sie Positiv- und Negativkontrollen mit jeder neuen Chargennummer von Färbemitteln und danach wöchentlich, um die Wirksamkeit des Reagenzes zu überprüfen und sicherzustellen, dass das Entfärbungsverfahren korrekt durchgeführt wird.⁵
- 13.2 Um die zuverlässigsten Ergebnisse zu erhalten, entnehmen Sie klinische Proben isolat aus einer 18–24 Stunden dauernden Kultur, die auf einem nicht-selektiven Medium wächst.⁵
- 13.3 Überhitzen Sie die Abstriche beim Fixieren der Objekträger nicht. Übermäßiges Erhitzen führt zu atypischen Färbungen.^{5,6}
- 13.4 Grampositive Organismen in einer Probe können gramnegativ erscheinen, wenn der Patient eine antimikrobielle Therapie erhält.⁵
- 13.5 Ausgefäßtes Kristallviolett kann als kokkoide Formen oder Pilzelemente sowie als andere Artefakte oder Hintergrundmaterial erscheinen.⁵

14. BIBLIOGRAPHIE

1. Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
2. Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
3. Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
5. Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. SYMBOLLEGENDE

REF	Katalognummer
IVD	Medizinprodukt zum In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Temperaturbeschränkungen (Lagertemp.)
	Enthält ausreichend für <N> Tests
	Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist
LOT	Chargencode (Losnummer)
	Verwendung bis (Verfallsdatum)
	Vom Sonnenlicht fernhalten
UDI	Eindeutige Gerätekennung
EC REP	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft
	Britische Konformität geprüft
	Europäische Konformitätsbewertung
	Hersteller

12076 Santa Fe Trail Drive
 Lenexa, KS 66215, USA
www.thermofisher.com/microbiology
 (800) 255-6730 International: (913) 888-0939

Für technische Informationen wenden Sie sich bitte an Ihren örtlichen Händler.
 CAS (Chemical Abstracts Service Registry No.)

Hergestellt für Remel Inc.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle Rechte vorbehalten.

Alle anderen Marken sind Eigentum der Thermo Fisher Scientific Inc. und ihrer Tochtergesellschaften.

Gebrauchsanweisung R40056, überarbeitet Juli 2022



Gedruckt in den USA.

GRAM IODINE

REFR40056, Gramlodine.....250ml/flakon,EA
 REFR40057, Gramlodine.....250ml/flakon,5/csomag
 REFR40077, Gramlodine.....Gallon

1. RENDELTELÉSSZERŰ HASZNÁLAT

A Gram-negatív és Gram-pozitív mikroorganizmusok megkülönböztetésére szolgáló technikában használt reagens/reagenskészlet.

Az eszköz kizárálag professzionális használatra, és nem önenellenőrzésre szolgál.

2. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MAGYARÁZAT

A Gram-festés módszerét 1884-ben Christian Gram dán bakteriológus fejlesztette ki a baktériumsejtek megkülönböztetésére a fertőzött szövetektől.¹ Később felfedezték, hogy a Gram-festés kulcsa a baktérium sejtfalának összetétele, amely a festést követően a sejtek színe alapján két csoportba sorolva különbözteti meg a baktériumokat. Azóta az eredeti technikán számos módosítást végeztek.^{2,3}

3. ALAPELV

Az elsőleges festék a kristályibolya, egy bázikus festék, amelyet minden baktérium felvesz, mivel képes gyorsan áthatolni a sejtfalon. A bakteriumok protoplazmáját liliára színezi. A kálium-jód keverék a pácanagy, amely komplex vegyületet képez a sejtbén lévő elsőleges festékkel. Gram-pozitív sejtekben a kristályibolya-jód-komplex a sejtfal áteresztőképességének az alkoholos dehidratáció okozta csökkenése miatt a sejtbén reked. A Gram-pozitív sejtek liliára festődnek. A Gram-negativ sejtekben a komplex vegyületet a színtelenítőszerek eltávolítja a lipidek alkoholban való oldhatósága miatt megnövekedett permeabilitás miatt. Az alkalmazott kontrasztfestéknél az elsőleges festékkel kontrasztos színűnek kell lennie, és ebben az esetben ez a szafrainin, amely a Gram-negativ sejteket vörösre festi.

4. REAGENSEK

Kálium-jodid(CAS7681-11-0).....6,6g
 Jód(CAS7553-56-2).....3,3g
 Demineralizáltvíz(CAS7732-18-5).....990,0ml

5. ÓVINTÉZKEDÉSEK

A termék kizárálag *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szolgál, és kizárálag megfelelően képzett személyek által használható. A mikrobiológiai veszélyek ellen óvintézkedéseket kell tenni a minták, tartalyok és táptalajok megfelelő sterilizálásával a használatot követően. Az utasításokat gondosan el kell olvasni és követni kell. További információkért lásd a biztonsági adatlapot.

A készülékkal kapcsolatban bekövetkezett minden súlyos eseményt jelenteni kell a gyártónak és a felhasználó és/vagy a beteg lakhelye szerinti állam illetékes szabályozó hatóságának.

6. TÁROLÁS

A terméket felhasználásig eredeti csomagolásában, 20–25 °C-on tárolja.

7. TERMÉKKÁROSODÁS

Jelen termék nem használható fel, ha (1) a színe sárgás-vörösről megváltozott, (2) a lejáratú dátumot követően, vagy (3) a károsodás egyéb jelei mutatkoznak.

8. MIINTAVÉTEL, TÁROLÁS ÉS SZÁLLÍTÁS

A mintákat az ajánlott iránymutatások szerint kell gyűjteni és kezelni.^{4,5}

9. SZÜKSÉGES, DE NEM MELLÉKELT ANYAGOK

(1) Kacs-sterilizáló eszköz, (2) Oltókacs, mintavező pálcák, gyűjtőedények, (3) Inkubátorok, alternatív környezeti rendszerek, (4) Kiegészítő táptalajok, (5) Minőséggellenőrzési mikroorganizmusok, (6) Gram Crystal Violet (R40052), (7) Gram Decolorizer (R40054), (8) Gram Safranin (R40058), (9) Tárgylemezek, (10) Bunsen-égő vagy tárgylemez-melegítő, (11) Mikroszkóp, immerziós olaj, (12) Festőállvány, (13) Metanol (opcionális).

10. ELJÁRÁS

Adjon Gram Iodine koncentrátumot a hígítóhoz. minden 250 ml-es hígítószeres palackhoz adjon egy 2,5 ml-es koncentrátum flakon tartalmát. A hígító minden gallonjához adjon egy 40 ml koncentrátum flakon tartalmát. Jól keverje össze. A Gram Iodine készítményt a visszaállítást követő 3 hónapon belül használja fel.

10.1 Készítsen vékony keretet a vizsgalandó anyagból egy tárgylemezre. Hagyja a tárgylemezet teljesen megszáradni a levegőn, vagy használjon tárgylemez-melegítőt. Fixálja a tárgylemezet úgy, hogy 3–4-szer áthúzza egy Bunsen-égő lángja felett, vagy öntsön a keretre metanol, és hagyja elpárologni.

10.2 Helyezze a tárgylemezet a festőállványra, és 1 percre öntse le a Gram Crystal Violet termékkel.

10.3 Alaposan mosza le vízzel, és majd öntse le 1 percre Gram Iodine páfifestékkel.

10.4 Csorgasson rá Gram Decolorizer (Gram színtelenítő) szert, amíg az oldószer színtelenül folyik le a tárgylemeztől (10–30 másodperc).

10.5 Öblítse le vízzel, és 30 másodpercre öntse le Gram Safraninnal.

10.6 Öblítse le vízzel, és hagyja megszáradni a levegőn.

11. ÉRTELMEZÉS

A Gram-pozitív mikroorganizmusok liliára festődnek.

A Gram-negativ mikroorganizmusok vörösre festődnek.

12. MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

A Gram Iodine valamennyi tételszámát megvizsgálták, és megállapították, hogy elfogadható festés eredményeket adnak az Ertelmezés szakaszban leírtak szerint. A pozitív és negatív kontroll tárgylemezeket a festékek és a színtelenítő reagens új tételszámainak használata előtt, majd azt követően legalább hetente meg kell vizsgálni. Rendelles minőség-ellenőrzési eredmények esetén a beteg eredményei nem jelenthetők.

13. KORLÁTOZÁSOK

13.1 A pozitív és negatív kontrollokat minden egyes új festéktételszámmal, majd ezt követően hetente tesztelje a reagens hatékonyiságának ellenőrzése és a színtelenítési eljárás helyes végrehajtásának biztosítása érdekében.⁵

13.2 A legmegbízhatóbb eredmények elérése érdekében a klinikai minták izolátumát olyan 18–24 órás tenyészetből vegye, amely nem szelektív táptalajon szaporodik.⁵

13.3 Ne hevítse túl a kereteket a tárgylemezek rögzítésekor. A túlzott hevítés atipikus elszíneződést okoz.^{5,6}

13.4 A mintában található Gram-pozitív mikroorganizmusok Gram-negativnak tünhetnek, ha a beteg antimikrobiális kezelést kap.⁵

13.5 A kicsapódott kristályibolya megjelenhet coccoid alakzatok vagy gombás elemek, valamint egyéb műtermékek vagy háttéranyag formájában.⁵

14. BIBLIOGRÁFIA

- Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
- Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
- Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
- Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
- Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. SZIMBÓLUM-MAGYARÁZAT

REF	Katalógusszám
IVD	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Tekintse meg a használati utasítást (IFU)
	Hőmérsékleti korlátozások (tárolási hőmérséklet)
	Elegendőt tartalmaz <N> vizsgálatoz
	Ne használja, ha a csomagolás sérült
LOT	Tételkód (tételszám)
	Felhasználhatósági idő (lejáratú dátum)
	Napfénytől védve tárolja.
UDI	Egyedi eszközjelző
EC REP	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségen
UK CA	Brit megfelelőséggel rendelkezik
CE	Európai megfelelőségértékelés
	Gyártó

12076 Santa Fe Trail Drive
 Lenexa, KS 66215, Egyesült Államok
www.thermofisher.com/microbiology
 +1 800 255 6730 Nemzetközi: (913) 888-0939

Műszaki információkért forduljon a helyi forgalmazóhoz.
 CAS (A Chemical Abstracts Service nyilvántartási száma)

A Remel Inc. számára gyártva.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. minden jog fenntartva.

Minden más védjegy a Thermo Fisher Scientific Inc. és leányvállalatai tulajdonát képezi.

IFU R40056, Felülvizsgálva: 2022. július Nyomtatva az Egyesült Államokban.



REF R40056, Gram Iodine.....	250 ml/Btl, EA
REF R40057, Gram Iodine.....	250 ml/Btl, 5/conf
REF R40077, Gram Iodine.....	Gallone

1. USO PREVISTO

Reagente/set di reagenti utilizzati in una tecnica per la differenziazione di organismi Gramnegativi e Gram-positivi.

Il dispositivo è solo per uso professionale e non è destinato all'autotest.

2. RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

Il metodo della colorazione di Gram è stato sviluppato nel 1884 dal batteriologo danese Christian Gram per differenziare le cellule batteriche dal tessuto infetto.¹ Successivamente si è scoperto che la composizione della parete cellulare batterica era la chiave per la colorazione di Gram e avrebbe consentito la differenziazione dei batteri in due gruppi in base al colore cellulare dopo la colorazione. Da quel momento ci sono state molte modifiche alla tecnica originale.^{2,3}

3. PRINCIPIO

Il colorante principale è il cristalvioletto, un colorante di base assorbito da tutti i batteri grazie alla sua capacità di permeare rapidamente la parete cellulare. Colora di viola il protoplasma dei batteri. La miscela di potassio-iodio è il mordente che si complesso con il colorante primario nella cellula. Nelle cellule Gram-positive, il complesso cristalvioletto-iodio è intrappolato nella cellula a causa di una diminuzione della permeabilità della parete cellulare causata dalla disidratazione dell'alcol. Le cellule Gram-positive assumono un colore viola. Nelle cellule Gram-negative, il complesso viene rimosso dal decolorante a causa di un aumento della permeabilità causato dalla solubilità dei lipidi in alcol. La colorazione di contrasto utilizzata deve essere di colore contrastante rispetto alla colorazione primaria, in questo caso, è la safranina che colora di rosso i globuli Gram-negativi.

4. REAGENTI

Ioduro di potassio (CAS 7681-11-0).....	6,6 g
Iodio (CAS 7553-56-2).....	3,3 g
Acqua demineralizzata (CAS 7732-18-5).....	990,0 ml

5. PRECAUZIONI

Questo prodotto è per uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato da persone adeguatamente qualificate. È necessario prendere precauzioni contro i pericoli dei rischi microbiologici sterilizzando adeguatamente campioni, contenitori e terreni dopo l'uso. Leggere e attenersi scrupolosamente alle istruzioni. Fare riferimento alla scheda di dati di sicurezza per ulteriori informazioni.

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente del Paese in cui risiedono l'utilizzatore e/o il paziente.

6. CONSERVAZIONE

Conservare il prodotto nel contenitore originale a 20-25 °C fino al suo utilizzo.

7. DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO

Questo prodotto non deve essere utilizzato se (1) il colore è cambiato dal giallo-rosso, (2) è passata la data di scadenza o (3) sono presenti altri segni di deterioramento.

8. RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI

I campioni devono essere raccolti e maneggiati seguendo le linee guida raccomandate.^{4,5}

9. MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

(1) Dispositivo per la sterilizzazione dell'ansa, (2) Ansa da inoculo, tamponi, contenitori di raccolta, (3) Incubatori, sistemi ambientali alternativi, (4) Terreni supplementari, (5) Organismi di controllo della qualità, (6) Gram Crystal Violet (R40052), (7) Gram Decolorizer (R40054), (8) Gram Safranin (R40058), (9) Vetrini, (10) Becco Bunsen o scaldavetrini, (11) Microscopio, olio per immersione, (12) Contenitore di colorazione, (13) Metanolo (opzionale).

10. PROCEDURA

Aggiungere il concentrato di Gram Iodine al diluente. A ogni flacone da 250 ml di diluente, aggiungere una provetta da 2,5 ml di concentrato. A ogni gallone di diluente, aggiungere una provetta da 40 ml di concentrato. Mescolare bene. Utilizzare Gram Iodine entro 3 mesi dalla ricostituzione.

- Preparare un sottile striscio del materiale per lo studio su un vetrino. Lasciare asciugare completamente il vetrino o usare uno scaldavetrini. Fissare il vetrino facendo passare 3 o 4 volte attraverso la fiamma di un becco Bunsen o inondare lo striscio con metanolo e farlo evaporare.
- Posizionare il vetrino su un contenitore di colorazione e coprirlo con Gram Crystal Violet per 1 minuto.
- Lavare accuratamente con acqua e ricoprire con il mordente Gram Iodine per 1 minuto.

10.4 Inondare con Gram Decolorizer fino a quando il solvente scorre senza colore dal vetrino (10-30 secondi).

10.5 Sciacquare con acqua e coprire con Gram Safranin per 30 secondi.

10.6 Sciacquare con acqua e lasciare asciugare all'aria.

11. INTERPRETAZIONE

Gli organismi Gram-positivi si colorano di viola.

Gli organismi Gram-negativi si colorano di rosso.

12. CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i numeri di lotto di Gram Iodine sono stati testati e si è riscontrato che forniscono risultati di colorazione accettabili come elencato nella sezione Interpretazione. I vetrini di controllo positivo e negativo devono essere testati prima dell'uso di nuovi numeri di lotto di coloranti e di reagente decolorante e in seguito con cadenza almeno settimanale. Se si notano risultati di controllo qualità aberranti, i risultati del paziente non devono essere riportati.

13. LIMITAZIONI

- Testare i controlli positivi e negativi con ogni nuovo numero di lotto di colorazioni e successivamente ogni settimana per verificare l'efficacia del reagente e assicurarsi che la procedura di decolorazione sia eseguita correttamente.⁵
- Per ottenere i risultati più affidabili, rimuovere gli isolati del campione clinico da una coltura di 18-24 ore su terreno non selettivo.⁵
- Non surriscaldare gli strisci durante il fissaggio dei vetrini. Un riscaldamento eccessivo causerà una colorazione atipica.^{5,6}
- Gli organismi Gram-positivi contenuti in un campione possono apparire Gram-negativi se il paziente è sotto terapia antimicrobica.⁵
- Il cristalvioletto precipitato può apparire come forme coccoidi o elementi fungini, così come altri artefatti o materiale di base.⁵

14. BIBLIOGRAFIA

- Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
- Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
- Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
- Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
- Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. LEGENDA DEI SIMBOLI

REF	Numero di catalogo
IVD	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Limiti di temperatura (temp. di conservazione)
	Contiene una quantità sufficiente per <N> test
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata
LOT	Codice lotto (numero di lotto)
	Usare entro (data di scadenza)
	Tenere lontano dalla luce del sole
UDI	Indicatore dispositivo unico
EC REP	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
UK CA	Valutazione di conformità UK
CE	Valutazione di conformità europea
	Fabbricante

 12076 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215, USA
www.thermofisher.com/microbiology
(800) 255-6730 Internazionale: (913) 888-0939

Per informazioni tecniche, contattare il proprio distributore locale.
CAS (n. di registro Chemical Abstracts Service)

Prodotto per Remel Inc.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Tutti i diritti riservati.

Tutti gli altri marchi sono di proprietà di Thermo Fisher Scientific Inc. e delle sue consociate.
IFU R40056, revisione luglio 2022



Stampato negli U.S.A.

REF R40056, Gramo jodas..... 250 ml/Btl, EA
 REF R40057, Gram jodas..... 250 ml/Btl, 5/Pk
 REF R40077, Gramo jodas..... galonas

1. PASKIRTIS

Reagentas ar reagentų partija, naudojama gramneigiamų ir gramteigiamų mikroorganizmų differencijavimo technikoje.

Priemonė skirta naudoti tik profesionalams ir neturėtų būti naudojama savitikrai.

2. SUVESTINĖ IR PAAIŠKINIMAS

Gramo dažymo metodą 1884 m. sukūrė danų bakteriologas Christianas Gramas, siekdamas atskirti bakterijų ląstelės nuo užkrėsto audinio.¹ Vėliau išsiaiškinta, kad bakterijų ląstelės sienelės sudėtis yra esminis Gramo dažymo metodo veiksny, leidžiantis po dažymo suskirstyti bakterijas į dvi grupes pagal ląstelių spalvą. Nuo to laiko pradinė technika buvo nemažai modifikuota.^{2,3}

3. PRINCIPAS

Pagrindinis dažas yra kristalviolečias. Tai yra jprastas dažiklis, kurį sugeria visas bakterijos, nes jis greitai prasiskverbia pro ląstelės sienelę. Jis nudažo bakterijų protoplastą violetine spalva. Kalio ir jodo mišinys yra dažą fiksuojanti medžiaga, kuri veikia kompleksiškai su pirmiu dažu ląstelėje. Gramteigiamose ląstelėse kristalvioleto ir jodo kompleksas sulaukamas ląstelėje dėl sumažėjusio ląstelės sienelės pralaidumo, kuri sukelia dehydratacija alkoholiui. Gramteigiamos ląstelės nudažo violetine spalva. Gramneigiamose ląstelėse dėl padidėjusio sienelės pralaidumo, kurį sukelia lipidų tirpumas alkoholyje, kompleksas pašalinamas daža šalinimo priemone. Naudojamas kontrastinis dažas turi būti skirtinges spalvos nei pirminis dažas. Šiuo atveju tai yra safraninas, kuris gramneigiamas ląstelės nudažo raudonai.

4. REAGENTAI

Kalio jodidas (CAS 7681-11-0)..... 6,6 g
 Jodas (CAS 7553-56-2)..... 3,3 g
 Demineralizuotas vanduo (CAS 7732-18-5)..... 990,0 ml

5. ATSARGUMO PRIEMONĖS

Šis gaminys skirtas *in vitro* diagnostikai ir jį turėtų naudoti tinkamai išmokyti asmenys. Norint išvengti mikrobiologinių pavojų, reikia imtis atsargumo priemonių – panaudojus tinkamai sterilizuotus mėginius, talpyklės ir terpę. Būtina perskaityti ir atidžiai laikytis nurodymų. Daugiau informacijos rasite saugos duomenų lape.

Apie bet kokį pavojingą incidentą, susijusį su priemone, būtina pranešti gamintojui ir atitinkamai šalies, kurioje registruotas naudotojas ir (arba) pacientas, reguliavimo institucijai.

6. LAIKYMAS

Kol nenaudojate, laikykite gaminį originalioje talpyklėje 20–25 °C temperatūroje.

7. GAMINIO GEDIMAS

Šio gaminio negalima naudoti, jei 1) spalva nebéra geltona-raudona, 2) pasibaigę galiojimo laikas arba 3) yra kitų sugedimo požymių.

8. MĖGINIŲ PAËMIMAS, LAIKYMAS IR GABENIMAS

Mėginius reikia imti ir naudoti pagal rekomenduojamas gaires.^{4,5}

9. REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAIGOS

1) Kilpinis sterilizavimo įtaisas, 2) inokuliavimo kilpelė, tamponėliai, paëmimo talpyklės, 3) inkubatoriai, alternatyvios aplinkos sistemos, 4) papildomos terpės, 5) kokybės kontrolės organizmai, 6) Gramo kristalviolečias (R40052), 7) Gramo dažo šalinimo priemonė (R40054), 8) Gramo safraninas (R40058), 9) stikeliai, 10) Bunzeno degiklis ar stikelių šildymo įtaisas, 11) mikroskopas, imersinis aliejus, 12) dažymo stovas, 13) metanolis (pasirinktinai).

10. PROCEDŪRA

Į skiediklį įpilkite Gramo jodo koncentrato. Į kiekvieną 250 ml skiediklio buteliuką įpilkite po vieną 2,5 ml koncentrato mėgintuvėlį. Į kiekvieną skiediklio galoną įpilkite po vieną 40 ml koncentrato mėgintuvėlį. Gerai išmaisykite. Sunaudokite Gramo jodą per 3 mėnesius po ištirpymo.

- Užtepkite ploną tiriamosios medžiagos tepinėlį ant stiklelio. Leiskite stikleliui visiškai išdžiūti arba naudokite stikelių šildymo įtaisą. Užfiksukite stiklelių 3 ar 4 kartus perleisdami per Bunzeno degiklio liepsnų arba užpilkite tepinėlį metanoliu ir leiskite jam išgaruoti.
- Išdėkite stiklelių dažymo stovą ir 1 minutę palaikykite uždengę Gramo kristalviolečiu.
- Kruopščiai nuplaukite vandeniu ir 1 minutę palaikykite uždengę Gramo jodo dažą fiksuojančia medžiaga.
- Pilkite Gramo dažo šalinimo priemonę, kol iš stiklelio pradės tekėti bespalvis tirpiklis (10–30 sek.).

10.5 Nuplaukite vandeniu ir 30 sekundžių palaikykite uždengę Gramo safraninu.

10.6 Nuplaukite vandeniu ir leiskite išdžiūti ore.

11. INTERPRETAVIMAS

Gramteigiami organizmai nusidažo violetine spalva.

Gramneigiami organizmai nusidažo raudona spalva.

12. KOKYBĖS KONTROLĖ

Ištyrus visus Gramo jodo partijų numerius nustatyta, kad dažymo rezultatai yra priimtini, kaip nurodyta skyriuje „Interpretavimas“. Teigiamai ir neigiamai kontroliniai stikeliai turi būti ištirti prieš naudojant naujus dažų partijos numerius ir spalvos šalinimo reagentą, o vėliau – bent kartą per savaitę. Pastebėjė nejprastus kokybės kontrolės rezultatus, pacientų rezultatų neskelbkite.

13. APRIBOJIMAI

- Ištirkite teigiamus ir neigiamus kontrolinius mėginius kiekvieną kartą pradėjė naudoti naujų dažų partijos numerį ir vėliau kas savaitę, kad patikrintumėte reagento veiksmingumą ir išsitinkumėte, jog spalvos pašalinimo procedūra atliekama teisingai.⁵
- Norédami gauti patikimiausius rezultatus, išimkite klinikinių mėginių izoliatus iš 18–24 val. kultūros, augančios neselektyviojoje terpéje.⁵
- Fiksuodami stikelius neperkaitinkite tepinėlių. Dél per didelės kaitros susidarys atipinis nusidažymas.^{5,6}
- Méginyje esantys gramteigiamai mikroorganizmai gali pasirodyti gramneigiamai, jei pacientui taikomas antimikrobinis gydymas.⁵
- Nusédės kristalviolečias gali atrodyti kaip kokinės formos arba grybelinių elementai, taip pat gali būti matomi kiti artefaktai arba foninė medžiaga.⁵

14. LITERATŪRA

- Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
- Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
- Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
- Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
- Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. SIMBOLIŲ PAAIŠKINIMAS

REF	Katalogo numeris
IVD	In Vitro diagnostinė medicininė priemonė
	Vadovaukitės naudojimo instrukcijomis (IFU)
	Temperatūros riba (laikymo temp.)
	Pakanka <N> bandymų
	Nenaudokite, jei pažeista pakuočė
LOT	Partijos kodas (partijos numeris)
	Galiojimo laikas (galiojimo pabaigos data)
	Saugoti nuo saulės spinduliu
UDI	Unikalus priemonės indikatorius
EC REP	Igaliotasis atstovas Europos Bendrijoje
UK CA	JK atitikties įvertinimas
CE	Europos atitikties įvertinimas
	Gamintojas

12076 Santa Fe Trail Drive
 Lenexa, KS 66215, JAV
www.thermofisher.com/microbiology
 (800) 255-6730 Tarptautinis: (913) 888-0939

Dėl techninės informacijos kreipkitės į vietos platintoją.
 CAS (Cheminių medžiagų santrumpų tarnybos registro Nr.)

Pagaminta „Remel Inc.“ užsakymu

© „Thermo Fisher Scientific Inc.“, 2022 m. Visos teisės saugomos.

Visi kiti prekių ženklai yra „Thermo Fisher Scientific Inc.“ ir jos patronuojamų įmonių nuosavybė.

R40056 naudojimo instrukcijos, peržiūrėta 2022 m. liepos mėn.

Išspausdinta JAV



REF R40056, Jod do metody Grama.....250 ml/butelkę,
 REF R40057, Jod do metody Grama.....250 ml/butelkę, 5/op.
 REF R40077, Jod do metody Grama.....Galon

1. PRZEZNACZENIE

Odczynnik/zestaw odczynników stosowany w technice różnicowania drobnoustrojów Gram-ujemnych i Gram-dodatnich.

Wyrób służy wyłącznie do użytku profesjonalnego i nie jest przeznaczony do samodzielnego wykonywania testów.

2. PODSUMOWANIE I WYJAŚNIENIE

Metoda barwienia metodą Grama została opracowana w 1884 roku przez duńskiego bakteriologa Christiana Grama w celu odróżnienia komórek bakteryjnych od zakażonej tkanki¹. Później odkryto, że skład ściany komórkowej bakterii był kluczem do barwienia metodą Grama i umożliwiał różnicowanie bakterii na dwie grupy na podstawie koloru komórek po barwieniu. Od tego czasu dokonano wielu modyfikacji oryginalnej techniki^{2,3}.

3. ZASADA

Pierwotnym barwnikiem jest fiolet krystaliczny, podstawowy barwnik wchłaniany przez wszystkie bakterie ze względu na jego zdolność do szybkiego przenikania przez ścianę komórkową. Zabarwia protoplast bakterii na fioletowo. Mieszanina potasowo-jodowa jest zaprawą, która tworzy związek kompleksowy z barwnikiem pierwotnym w komórce. W komórkach gram-dodatnich kompleks fiolet krystaliczny-jod jest uwieziony z powodu mniejszej przepuszczalności ściany komórkowej na skutek dehydracji alkoholu. Komórki Gram-dodatnie są zbarwione na fioletowo. W komórkach Gram-ujemnych kompleks jest usuwany przez dekoloryzator ze względu na wzrost przepuszczalności spowodowany rozpuszczalnością lipidów w alkoholu. Stosowany barwnik kontrastowy musi mieć kontrastujący kolor w stosunku do barwnika pierwotnego i w tym przypadku to safranina barwi komórki Gram-ujemne na czerwono.

4. ODCZYNNIKI

Jodekpotasu(CAS7681-11-0).....6,6 g
 Jod (CAS 7553-56-2).....3,3 g
 Woda demineralizowana (CAS 7732-18-5).....990,0 ml

5. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Ten produkt jest przeznaczony do diagnostyki *in vitro* i powinien być używany przez odpowiednio przeszkolone osoby. Należy przedsiewziąć środki ostrożności zapobiegające zagrożeniom mikrobiologicznym poprzez odpowiednią sterylizację próbek, pojemników i podłoży po użyciu. Należy uważnie przeczytać instrukcję i postępować zgodnie z nimi. Dodatkowe informacje można znaleźć w Karcie Charakterystyki Substancji Niebezpiecznej.

Każde poważne zdarzenie, które miało miejsce w związku z wyrobem, należy zgłaszać producentowi i odpowiedniemu organowi regulacyjnemu właściwemu użytkownikowi i/lub pacjentowi.

6. PRZECZYWYWARZ

Przechowywać produkt w oryginalnym pojemniku w temperaturze 20–25°C do momentu użycia.

7. POGORSZENIE JAKOŚCI PRODUKTU

Nie należy stosować tego produktu, jeśli (1) zmienił się jego żółto-czerwony kolor, (2) upłynął termin ważności lub (3) widoczne są inne oznaki zepsucia.

8. ZBIERANIE, PRZECZYWYWARZ I TRANSPORT PRÓBEK

Próbki należy pobierać i obchodzić się z nimi zgodnie z zalecanymi wytycznymi^{4,5}.

9. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

(1) Urządzenie do sterylizacji pętli, (2) Eza do zaszczepiania, waciuki, pojemniki zbiorcze, (3) Inkubatory, alternatywne systemy środowiskowe, (4) Pożywki uzupełniające, (5) Organizmy do kontroli jakości, (6) Krystaliczny fiolet do metody Grama (R40052), (7) Dekoloryzator do metody Grama (R40054), (8) Safranina do metody Grama (R40058), (9) Szklane preparaty, (10) Palnik Bunsena lub podgrzewacz preparatów, (11) Mikroskop, olejek imersyjny, (12) Statwy do barwienia, (13) Metanol (opcjonalny).

10. PROCEDURA

Dodać koncentrat jodu do metody Grama do rozcieracznika. Do każdej butelki 250 ml rozcieracznika dodać jedną tubkę koncentratu o pojemności 2,5 ml. Do każdego galonu rozcieracznika dodać jedną tubkę koncentratu o pojemności 40 ml. Dobrze wymieszać. Użyć jodu do metody Grama w ciągu 3 miesięcy po rekonstytucji.

- Zrobić cienką smugę materiału do badania na szklanym szkiełku. Pozostawić szkiełko do całkowitego wyschnięcia na powietrzu lub użyć podgrzewacza. Utrwalić preparat, przepuszczając 3 lub 4 razy przez płomień palnika Bunsena lub zalać rozmaz metanolem i pozostawić do odparowania.
- Umieścić szkiełko na statwie do barwienia i pokryć fioletem krystalicznym do metody Grama na 1 minutę.
- Umyć dokładnie wodą i pokryć zaprawą jodową do metody Grama na 1 minutę.

10.4 Zalewać dekoloryzatorem do metody Grama, aż wypływający ze szkiełka rozpuszczalnik stanie się bezbarwny (10–30 sekund).

10.5 Splukać wodą i nałożyć safraninę do metody Grama na 30 sekund.

10.6 Splukać wodą i pozostawić do wyschnięcia na powietrzu.

11. INTERPRETACJA

Bakterie Gram-dodatnie barwią się na fioletowo.

Bakterie Gram-ujemne barwią się na czerwono.

12. KONTROLA JAKOŚCI

Wszystkie numery partii jodu do metody Grama zostały przetestowane i stwierdzono, że umożliwiają uzyskanie akceptowalnych wyników barwienia, jak podano w części „Interpretacja”. Szkiełki kontroli dodatniej i ujemnej należy testować przed użyciem nowych numerów serii barwników i odczynnika odbarwiającego, a następnie co najmniej raz w tygodniu. W przypadku odnotowania nieprawidłowych wyników kontroli jakości nie należy zgłaszać wyników pacjentów.

13. OGROŃCZENIA

- Kontrole dodatnie i ujemne należy testować z każdą nową serią barwników, a następnie co tydzień, aby zweryfikować skuteczność odczynników i upewnić się, że procedura odbarwiania jest prowadzona prawidłowo⁵.
- Aby uzyskać najbardziej wiarygodne wyniki, należy usunąć izolaty próbek klinicznych z 18–24 godzinnej hodowli rosnącej na pożywce nieselektywnej⁵.
- Nie przegrzewać rozmazów podczas utrwalania preparatów. Nadmiernie ogrzewanie spowoduje nietypowe barwienie^{5,6}.
- Zawarte w próbce drobnoustroje Gram-dodatnie mogą wydawać się Gram-ujemne, jeśli pacjent stosuje terapię przeciwdrobnoustrojową⁵.
- Wytrącony fiolet krystaliczny może przybierać kształt ziarenkowca lub elementów grzybów, a także innych artefaktów lub materiału tła⁵.

14. BIBLIOGRAFIA

- Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
- Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
- Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
- Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
- Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. LEGENDA SYMBOLI

REF	Numer katalogowy
IVD	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Zapoznać się z instrukcją użytkowania
	Ograniczenia temperatury (temp. przechowywania)
	Zawartość wystarcza na <N> testów
	Nie używać w przypadku uszkodzonego opakowania
LOT	Kod partii (numer serii)
	Użyć przed (termin ważności)
	Trzymać z dala od światła słonecznego
UDI	Unikalny wskaźnik urządzenia
EC REP	Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej
UK CA	Oceniono zgodność w Wielkiej Brytanii
CE	Europejska ocena zgodności
	Producent

 12076 Santa Fe Trail Drive
 Lenexa, KS 66215, USA
www.thermofisher.com/microbiology
 (800) 255-6730 Międzynarodowy: (913) 888-0939

Aby uzyskać informacje techniczne, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem.
 CAS (numer rejestru Chemical Abstracts Service)

Wyprodukowano dla Remel Inc.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Wszystkie inne znaki towarowe są własnością
 Thermo Fisher Scientific Inc. i jej spółek zależnych.

IFU R40056, Zaktualizowano w lipcu 2022 r.



Wydrukowano w USA.

REF. R40056, Iodo de Gram.....250 ml/frasco, EA
 REF. R40057, Iodo de Gram.....250 ml/frasco, 5/embalagem
 REF. R40077, Iodo de Gram.....galão

1. UTILIZAÇÃO PREVISTA

Reagente/conjunto de reagentes utilizado numa técnica para a diferenciação de microrganismos Gramnegativos e Gram-positivos

O dispositivo destina-se apenas a utilização profissional e não foi concebido para autoteste.

2. RESUMO E EXPLICAÇÃO

O método de coloração de Gram foi desenvolvido em 1884 pelo bacteriologista dinamarquês Christian Gram, para diferenciar as células bacterianas de tecido infetado.¹ Mais tarde, descobriu-se que a composição da parede celular bacteriana era a chave para a coloração de Gram e servia para diferenciar as bactérias em dois grupos com base na cor das células após a coloração. Desde então, a técnica original sofreu muitas modificações.^{2,3}

3. PRINCÍPIO

A coloração primária é o violeta de cristal, um corante básico absorvido por todas as bactérias devido à sua capacidade de permear rapidamente a parede celular. Cora o protoplasto das bactérias de cor roxa. A mistura de potássio-iodo é o mordente que forma complexos com o corante primário na célula. Em células gram-positivas, o complexo de cristal violeta-iodo fica preso na célula devido a uma diminuição na permeabilidade da parede celular causada pela desidratação do álcool. As células gram-positivas adquirem a coloração roxa. Nas células gram-negativas, o complexo é removido pelo descolorante devido ao aumento da permeabilidade causado pela solubilidade dos lípidos em álcool. A contracoloração utilizada deve ser de cor contrastante com a coloração primária e, neste caso, é a safranina que cora de vermelho as células gram-negativas.

4. REAGENTES

Iodeto de potássio (CAS 7681-11-0).....6,6 g
 Iodo (CAS 7553-56-2).....3,3 g
 Água desmineralizada (CAS 7732-18-5).....990,0 ml

5. PRECAUÇÕES

Este produto destina-se a utilização em diagnóstico *in vitro* e deve ser utilizado por indivíduos com a formação adequada. Devem ser tomadas precauções contra os perigos dos riscos microbiológicos, esterilizando adequadamente as amostras, os recipientes e os meios após a utilização. As instruções devem ser lidas e seguidas com cuidado. Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter informações adicionais.

Qualquer ocorrência de um incidente grave relacionada com o dispositivo deverá ser comunicada ao fabricante e à autoridade reguladora relevante no local em que o utilizador e/ou doente reside.

6. ARMAZENAMENTO

Armazenar o produto no seu recipiente original a 20–25 °C até à sua utilização.

7. DETERIORAÇÃO DO PRODUTO

Este produto não deve ser utilizado se (1) a cor tiver deixado de ser amarelo ou vermelho, (2) a data de validade tiver expirado ou (3) se existirem outros sinais de deterioração.

8. COLHEITA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

As amostras devem ser colhidas e manuseadas seguindo as diretrizes recomendadas.^{4,5}

9. MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

(1) Dispositivo de esterilização de ansas, (2) ansa de inoculação, zaragatoas, recipientes de colheita, (3) Incubadoras, sistemas ambientais alternativos, (4) meios suplementares, (5) microrganismos de controlo de qualidade, (6) Violeta cristal de Gram (R40052), (7) Descolorante de Gram (R40054), (8) Safranina de Gram (R40058), (9) lâminas de vidro, (10) bico de Bunsen ou aquecedor de lâminas, (11) microscópio, óleo de imersão, (12) suporte de coloração, (13) metanol (opcional).

10. PROCEDIMENTO

Adicione o concentrado de iodo de Gram ao diluente. A cada frasco de 250 ml de diluente, adicione um tubo de 2,5 ml de concentrado. A cada galão de diluente, adicione um tubo de 40 ml de concentrado. Misture bem. Utilize iodo de Gram no prazo de 3 meses após a reconstituição.

- 10.1 Faça um esfregaço fino do material para estudo sobre uma lâmina de vidro. Deixe a lâmina secar completamente ao ar ou utilize um aquecedor de lâminas. Fixe a lâmina passando 3 ou 4 vezes pela chama de um bico de Bunsen ou inunde o esfregaço com metanol e deixe evaporar.
- 10.2 Coloque a lâmina num suporte de coloração e cubra com Violeta cristal de Gram por 1 minuto.
- 10.3 Lave bem com água e cubra com mordente de iodo de Gram por 1 minuto.

10.4 Inunde com Descolorante de Gram até que o solvente flua incolor da lâmina (10-30 segundos).

10.5 Enxague com água e cubra com Safranina de Gram por 30 segundos.

10.6 Enxague com água e deixe secar ao ar.

11. INTERPRETAÇÃO

Os microrganismos Gram-positivos adquirem a coloração roxa.

Os microrganismos Gram-negativos adquirem a coloração vermelha.

12. CONTROLO DE QUALIDADE

Todos os números de lote de iodo de Gram foram testados e apresentaram resultados de coloração aceitáveis, conforme listado na secção Interpretação. As lâminas de controlo positivo e negativo devem ser testadas antes da utilização de novos números de lote de corantes e reagente descolorante e pelo menos semanalmente a partir daí. Se forem observados resultados de controlo de qualidade aberrantes, os resultados do doente não devem ser reportados.

13. LIMITAÇÕES

- 13.1 Teste os controlos positivos e negativos com cada novo número de lote de corantes e semanalmente a partir daí para verificar a eficácia do reagente e garantir que o procedimento de descoloração é realizado corretamente.⁵
- 13.2 Para obter os resultados mais fiáveis, retire os isolados de amostras clínicas de uma cultura de 18-24 horas realizada em meio não seletivo.⁵
- 13.3 Não aqueça excessivamente os esfregaços ao fixar as lâminas. O aquecimento excessivo causará uma coloração atípica.⁵
- 13.4 Os microrganismos Gram-positivos contidos numa amostra podem parecer Gram-negativos se o doente estiver a receber uma terapêutica antimicrobiana.⁵
- 13.5 O cristal violeta precipitado pode apresentar formas coccoides ou elementos fúngicos, bem como outros artefactos ou material de fundo.⁵

14. BIBLIOGRAFIA

1. Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
2. Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
3. Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
5. Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. LEGENDA DOS SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Consultar as Instruções de utilização (IFU)
	Limits de temperatura (temperatura de armazenamento)
	Contém quantidade suficiente para <N> testes
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada
LOT	Código do lote (número do lote)
	Prazo de validade
	Manter afastado da luz solar
UDI	Indicador de dispositivo exclusivo
EC REP	Mandatário na Comunidade Europeia
UK CA	Conformidade do Reino Unido avaliada
CE	Avaliação de Conformidade Europeia
	Fabricante



12076 Santa Fe Trail Drive
 Lenexa, KS 66215, EUA
www.thermofisher.com/microbiology
 (800) 255-6730 Internacional: (913) 888-0939

Para obter informações técnicas, contacte o seu distribuidor local.
 CAS (N.º do Chemical Abstracts Service Registry)

Fabricado para Remel Inc.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos os direitos reservados.

Todas as outras marcas comerciais são propriedade da Thermo Fisher Scientific Inc. e respetivas subsidiárias.

IFU R40056, Revisto em julho de 2022

UK **CA** **CE**

Impresso nos E.U.A.

GRAM IODINE

REF R40056, Gramovjód.....	250 ml/fľaša, EA
REF R40057, Gramovjód.....	250 ml/fľaša, 5/balenie
REF R40077, Gramovjód.....	3,785 l

1. URČENÉ POUŽITIE

Činidlo/súprava činidiel používané v technike na diferenciáciu gram-negatívnych a gram-pozičívnych mikroorganizmov.

Pomôcka je určená len na profesionálne použitie a nie je určená na samotestovanie.

2. ZHRNUTIE A VYSVETLENIE

Metodu farbenia podľa Grama vyvinul v roku 1884 dánsky bakteriológ Christian Gram na odlišenie bakteriálnych bunkiek od infikovaného tkaniva.¹ Neskôr sa zistilo, že zloženie bakteriálnej bunkovej steny bolo kľúčom k farbeniu podľa Grama a po farbení sa rozlíšili baktérie na dve skupiny na základe farby bunkiek. Odvtedy došlo k mnohým modifikáciám pôvodnej techniky.^{2,3}

3. PRINCÍP

Primárnym farbivom je kryštálová violet, základné farbivo, ktoré prijímajú všetky baktérie vďaka svojej schopnosti rýchlo prenikať cez bunkovú stenu. Farbí protoplast baktérií do fialova. Zmes draslika a jód je moridlo, ktoré vytvára v bunke komplexy s primárnym farbivom. V gram-pozičívnych bunkách je komplex kryštálovej violeti a jódu zachytený v bunke v dôsledku zníženia prieplustnosti bunkovej steny spôsobeného alkoholovou dehydratáciou. Gram-pozičívne bunky sú sfarbené do fialova. V gram-negatívnych bunkách je komplex odstránený odfarbovačom v dôsledku zvýšenia prieplustnosti spôsobenej rozpustnosťou lipidov v alkohole. Použité kontrastné farbivo musí mať kontrastnú farbu k primárному farbivu a v tomto prípade je to safranín, ktorý farbí gram-negatívne bunky na červeno.

4. ČINIDLÁ

Jodid draselný (CAS 7681-11-0).....	6,6 g
Jód (CAS 7553-56-2).....	3,3 g
Demineralizovaná voda(CAS7732-18-5).....	990,0 ml

5. BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

Tento produkt je určený na diagnostické použitie *in vitro* a mal by ho používať riadne vyškolené osoby. Po použíti by sa mali priať preventívne opatrenia proti nebezpečenstvám súvisiacim s mikrobiologickými rizikami, a to správnu sterilizáciu vzoriek, nádob a médií. Starostlivo si prečítajte a dodržiavajte pokyny. Ďalšie informácie nájdete v karte bezpečnostných údajov.

Akákoľvek závažná udalosť, ktorá sa vyskytla v súvislosti s pomôckou, sa musí označiť výrobcovi a príslušnému regulačnému orgánu, ku ktorému patrí sídlo používateľa alebo pacienta.

6. UCHOVÁVANIE

Produkt až do použitia uchovávajte v pôvodnej nádobe pri teplote 20 – 25 °C.

7. ZNEHODNOTENIE PRODUKTU

Tento produkt sa nemá používať, ak (1) sa zmenila farba z žltu-červenej, (2) uplynul dátum expirácie alebo (3) sú prítomné iné známky znehodnotenia.

8. ODBER, UCHOVÁVANIE A PREPARA VZORIEK

Vzorky by sa mali odoberať a malo by sa s nimi zaobchádzať podľa odporúčaných smerníc.^{4,5}

9. MATERIÁLY POŽADOVANÉ, ALE NEDODÁVANÉ

(1) pomôcka na sterilizáciu slučiek, (2) očkovacia slučka, tampóny, odberové nádoby, (3) inkubátory, alternatívne environmentálne systémy, (4) doplnkové médiá, (5) organizmy na kontrolu kvality, (6) Gramova kryštálová violet (R40052), (7) Gramov odfarbovač (R40054), (8) Gramov safranín (R40058), (9) podložné sklička, (10) Bunsenov horák alebo ohrievač skličok, (11) mikroskop, imerzívny olej, (12) stojan na farbenie, (13) metanol (voliteľne).

10. POSTUP

Pridajte koncentrát Gramovho jódu do rozpúšťadla. Do každej 250 ml fľašky s rozpúšťadlom pridajte jednu 2,5 ml skúmavku koncentrátu. Do každého 3,785 l rozpúšťadla pridajte jednu 40 ml skúmavku koncentrátu. Dobre premiešajte. Gramov jód použite do 3 mesiacov po rekonštitúcii.

- 10.1 Vytvorte tenký náter skúmaného materiálu na podložné skličko. Nechajte skličko úplne vyschnúť na vzduchu alebo použite ohrievač skličok. Zafixujte skličko tak, že 3- alebo 4-krát prejdete cez plameň Bunsenovho horáka alebo zalejte náter metanolom a necháte ho odpariť.
- 10.2 Umiestnite skličko na stojan na farbenie a naneste naň Gramovu kryštálovú violet na 1 minútu.
- 10.3 Dôkladne umyte vodou a na 1 minútu naneste moridlo Gramov jód.

- 10.4 Zalejte Gramovým odfarbovačom, pokým rozpúšťadlo vtekajúce z podložného sklička nie je bezfarebné (10 – 30 sekúnd).
- 10.5 Opláchnite vodou a pretrite Gramovým safranínom na 30 sekúnd.
- 10.6 Opláchnite vodou a nechajte uschnúť na vzduchu.

11. INTERPRETÁCIA

Gram-pozičívne organizmy sa farbia do fialova.

Gram-negatívne organizmy sa farbia do červena.

12. KONTROLA KVALITY

Všetky čísla šarží Gramovho jódú sa testovali a zistilo sa, že poskytujú prijateľné výsledky farbenia, ako je uvedené v časti Interpretácia. Pozitívne a negatívne kontrolné sklička by sa mali testovať pred použitím nových čísel šarží farbív a odfarbovacieho činidla a následne aspoň raz týždenne. Ak sa zistia odchýlky vo výsledkoch kontroly kvality, výsledky pacientov nie je možné použiť.

13. OBMEDZENIA

- 13.1 Testujte pozitívne a negatívne kontroly s každým novým číslom šarže farbív a následne každý týždeň, aby ste overili účinnosť činidla a zaistili, že sa postup odfarbovania vykonáva správne.⁵
- 13.2 Ak chcete získať najspôsoblivejšie výsledky, izoláty z klinických vzoriek odstráňte z 18 – 24-hodinovej kultúry rastúcej na neselektívnom médiu.⁵
- 13.3 Pri fixácii skličok neprehrievajte nátery. Nadmerné zahrievanie spôsobí atypické zafarbenie.^{5,6}
- 13.4 Gram-pozičívne organizmy obsiahnuté vo vzorke sa môžu javiť ako gram-negatívne, ak je pacient na antimikrobiálnej liečbe.⁵
- 13.5 Vyzrážaná kryštálová violet sa môže javiť v podobe kokoidných tvarov alebo hubových elementov, ako aj iných artefaktov či podkladového materiálu.⁵

14. ZDROJE

1. Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
2. Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
3. Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
5. Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. VYSVETLENIE SYMBOLOV

REF	Katalógové číslo
IVD	Diagnostická zdravotnícka pomôcka <i>in vitro</i>
	Pozrite si návod na použitie
	Teplotný limit (Teplota uchovávania)
	Obsah dostatočný pre <N> testov
	Nepoužívajte, ak je balenie poškodené
LOT	Kód šarže (Číslo šarže)
	Dátum spotreby (Dátum expirácie)
	Chráňte pred slnečným svetlom
UDI	Jedinečný indikátor pomôcky
EC REP	Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve
UK CA	Posudzovanie zhody v Spojenom kráľovstve
CE	Európske posudzovanie zhody
	Výrobca

12076 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215, USA
www.thermofisher.com/microbiology
(800) 255-6730 Medzinárodné: (913) 888-0939

Ak potrebujete technické informácie, kontaktujte svojho miestneho distribútoru. CAS (Registračné číslo služby chemických abstraktov)

Vyrobené pre spoločnosť Remel Inc.

© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Všetky práva vyhradené.

Všetky ostatné ochranné známky sú vlastníctvom spoločnosti Thermo Fisher Scientific Inc. a jej pridružených spoločností.

Návod na použitie R40056, revidovaný v júli 2022



Vytlačené v USA

REF R40056, Yodo de Gram..... 250 ml/frasco, EA
 REF R40057, Yodo de Gram..... 250 ml/frasco, 5/paquete
 REF R40077, Yodo de Gram..... galón

1. USO PREVISTO

Reactivos/conjunto de reactivos que se utiliza en una técnica destinada a diferenciar los microorganismos grampositivos y gramnegativos.

El dispositivo es solo para uso profesional y no está destinado al autodiagnóstico.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El método de tinción de Gram fue desarrollado en 1884 por el bacteriólogo danés Christian Gram para diferenciar las células bacterianas del tejido infectado¹. Más tarde, se descubrió que la composición de la pared celular bacteriana era la clave de la tinción de Gram y servía para diferenciar las bacterias en dos grupos según el color de las células después de la tinción. Desde ese momento, se han introducido muchas modificaciones en la técnica original^{2,3}.

3. PRINCIPIO

La tinción principal se realiza con violeta cristal, un tinte básico que tiñe todas las bacterias por su capacidad para permear rápidamente la pared celular. Tiñe el protoplasma de las bacterias de color púrpura. La mezcla de potasio y yodo es el mordente que forma complejos con el tinte principal en las células. En las células grampositivas, el complejo de violeta cristal y yodo queda atrapado en la célula a causa de la disminución de la permeabilidad de la pared celular provocada por la deshidratación del alcohol. Las células grampositivas se tiñen de color púrpura. En las células gramnegativas, el decolorante elimina el complejo a causa de un aumento de la permeabilidad debido a la solubilidad de los lípidos en alcohol. Es necesario utilizar la contratinción con un color que contraste con el de la tinción principal. En este caso, se utiliza safranina, que tiñe las células gramnegativas de color rojo.

4. REACTIVOS

Yoduro de potasio (CAS 7681-11-0)..... 6,6 g
 Yodo (CAS 7553-56-2)..... 3,3 g
 Agua desmineralizada (CAS 7732-18-5)..... 990,0 ml

5. PRECAUCIONES

Este producto es para uso diagnóstico *in vitro* y debe ser utilizado por personas con formación adecuada. Es necesario tomar precauciones contra los peligros microbiológicos mediante la esterilización correcta de las muestras, los envases y los medios después del uso. Es necesario leer las instrucciones y seguir las atentamente. Consulte la Hoja de datos de seguridad para obtener más información.

Cualquier incidente grave que se produzca en relación con el producto se debe notificar al fabricante y a la autoridad reguladora pertinente donde esté establecido el usuario o el paciente.

6. ALMACENAMIENTO

Almacenar el producto en su envase original a 20-25 °C hasta que se vaya a utilizar.

7. DETERIORO DEL PRODUCTO

Este producto no se debe utilizar si (1) el color ha cambiado respecto al amarillo rojizo; (2) se ha superado la fecha de caducidad; o (3) se observan otros signos de deterioro.

8. RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE MUESTRAS

Es necesario recoger y manipular las muestras según las directrices recomendadas^{4,5}.

9. MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

(1) Dispositivo de esterilización de asas; (2) asa de inoculación, hisopos, recipientes de recogida; (3) incubadoras, sistemas ambientales alternativos; (4) medios suplementarios; (5) organismos de control de calidad; (6) violeta cristal de Gram (R40052); (7) decolorante de Gram (R40054); (8) safranina de Gram (R40058); (9) portaobjetos de vidrio; (10) mechero Bunsen o calentador de portaobjetos; (11) microscopio, aceite de inmersión; (12) gradilla de tinción; (13) metanol (opcional).

10. PROCEDIMIENTO

Añada concentrado de yodo de Gram al diluyente. Añada un tubo de 2,5 ml de concentrado a cada frasco de 250 ml de diluyente. Añada un tubo de 40 ml de concentrado a cada galón de diluyente. Mezcle bien. Utilice el yodo de Gram dentro del plazo de 3 meses después de la reconstrucción.

- 10.1 Frote el material que deseé estudiar sobre un portaobjetos de vidrio para depositar una película fina. Deje secar el portaobjetos al aire completamente o utilice un calentador de portaobjetos. Fije el portaobjetos pasándolo 3 o 4 veces por la llama de un mechero Bunsen o inunde el frotis con metanol y deje que se evapore.
- 10.2 Coloque el portaobjetos en una gradilla de tinción y cúbralo con violeta cristal de Gram durante 1 minuto.
- 10.3 Lávolo a fondo con agua y recúbralo con mordente de yodo de Gram durante 1 minuto.
- 10.4 Inunde con decolorante de Gram hasta que el solvente fluya incoloro del portaobjetos (10-30 segundos).

10.5 Enjuague con agua y recubra con safranina de Gram durante 30 segundos.

10.6 Enjuague con agua y deje secar al aire.

11. INTERPRETACIÓN

Los organismos grampositivos se tiñen de color púrpura.

Los organismos gramnegativos se tiñen de color rojo.

12. CONTROL DE CALIDAD

Todos los números de lote de yodo de Gram han sido probados y se ha encontrado que dan lugar a resultados de tinción aceptables tal como se describe en la sección Interpretación. Es necesario probar portaobjetos de control positivos y negativos antes de usar nuevos números de lote de reactivos de tinción y decoloración y al menos una vez por semana a partir de entonces. Si se observan resultados de control de calidad anómalos, no se deben notificar resultados de los pacientes.

13. LIMITACIONES

- 13.1 Pruebe controles positivos y negativos con cada nuevo número de lote de las tinciones y semanalmente a partir de entonces para comprobar la eficacia de los reactivos y garantizar que se realiza el procedimiento de decoloración correctamente⁵.
- 13.2 Para obtener los resultados más fiables, retire los aislados de muestras clínicas de un cultivo de 18-24 horas realizado sobre un medio no selectivo⁵.
- 13.3 No caliente en exceso los frotis al fijar los portaobjetos. Un calentamiento excesivo provocará una tinción atípica^{5,6}.
- 13.4 Los organismos grampositivos de una muestra pueden parecer gramnegativos si el paciente está siguiendo un tratamiento antimicrobiano⁵.
- 13.5 El violeta cristal precipitado puede presentar formas cocoides o de elementos fúngicos y otros artefactos o material de fondo⁵.

14. BIBLIOGRAFÍA

1. Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
2. Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
3. Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
5. Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. LEYENDA DE SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo
IVD	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
i	Consulte las instrucciones de uso (IFU)
N	Límites de temperatura (temperatura de almacenamiento)
	Contiene la cantidad suficiente para <N> pruebas
	No utilizar si el paquete está dañado
LOT	Código de lote (número de lote)
	Fecha de caducidad
	Mantener alejado de la luz solar
UDI	Identificador único de dispositivo
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea
UK CA	Conformidad del Reino Unido evaluada
CE	Evaluación de conformidad europea
	Fabricante

12076 Santa Fe Trail Drive
 Lenexa, KS 66215, EE. UU.
www.thermofisher.com/microbiology
 (800) 255-6730 Internacional: (913) 888-0939

Para obtener información técnica, póngase en contacto con su distribuidor local.
 CAS (N.º del Chemical Abstracts Service Registry)

Fabricado para Remel Inc.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Reservados todos los derechos.

Todas las demás marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific Inc. y sus subsidiarias.

IFU R40056, Revisión julio de 2022

UK **CA** **CE**

Impreso en EE. UU.

Art.nr R40056, gramjod.....	250 ml/flaska, styck
Art.nr R40057, gramjod.....	250 ml/flaska, 5/förpackning
Art.nr R40077, gramjod.....	Gallon

1. AVSEDD ANVÄNDNING

Ett reagens/en reagensuppsättning som används i en teknik för differentiering av gramnegativa och grampositiva mikroorganismer.

Mediet är endast avsett för professionellt bruk och är inte avsett för självtestning.

2. SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Gramfärgningsmetoden utvecklades 1884 av den danske bakteriologen Christian Gram för att differentiera bakterieceller från infekterad vävnad.¹ Senare upptäcktes det att den bakteriella cellväggens sammansättning var nyckeln till gramfärgningen och skulle differentiera bakterier i två grupper baserat på cellfärg efter färgning. Sedan dess har det skett många modifieringar av den ursprungliga tekniken.^{2,3}

3. PRINCIP

Den primära färgen är kristallviolet, ett grundläggande färgämne som tas upp av alla bakterier tack vare dess förmåga att snabbt tränga igenom cellväggen. Det färgar protoplasten hos bakterier lila. Kalium-jodblandningen är betningsmedlet som komplexbindar med den primära färgen i cellen. I grampositiva celler fängas kristallviolet-jodkomplexet i cellen på grund av en minskning av cellväggens permeabilitet orsakad av alkoholdehydrering. Grampositiva celler färgas lila. I gramnegativa celler avlägsnas komplexet av avfärgningsmedlet på grund av en ökning av permeabiliteten orsakad av lösligheten av lipiderna i alkohol. Motfärgen som används måste vara en kontrasterande färg till den primära färgen och i detta fall är det safranin som färgar gramnegativa celler röda.

4. REAGENS

Kaliumjodid (CAS 7681-11-0).....	6,6 g
Jod (CAS 7553-56-2).....	3,3 g
Avmineraliserat vatten (CAS 7732-18-5).....	990,0 ml

5. FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Den här produkten är avsedd för *in vitro*-diagnostik och ska användas av korrekt utbildade personer. Försiktighetsåtgärder bör vidtas mot farorna med mikrobiologiska risker genom noggrann sterilisering av prover, behållare och medier efter användning. Instruktioner ska läsas och följas noggrant. Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information.

Eventuella allvarliga incidenter som inträffar i samband med användning av produkten ska rapporteras till tillverkaren och relevant tillsynsmyndighet i det område där användaren och/eller patienten är etablerad.

6. FÖRVARING

Förvara produkten i originalbehållaren vid 20–25 °C tills den ska användas.

7. FÖRSÄMRING AV PRODUKTEN

Den här produkten ska inte användas om (1) färgen inte längre är gulröd, (2) utgångsdatumet har passerat eller (3) det finns andra tecken på försämrings.

8. INSAMLING, FÖRVARING OCH TRANSPORT AV PROVER

Prover ska samlas in och hanteras enligt rekommenderade riktlinjer.^{4,5}

9. MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE TILLHANDAHÄLLS

(1) Steriliseringssutrustning för öglor, (2) inkokuleringsöglor, provpinnar, insamlingsbehållare, (3) inkubatorer, alternativa miljösystem, (4) kompletterande medier, (5) mikroorganismer för kvalitetskontroll, (6) gramkristallviolet (R40052), (7) gramavfärgningsmedel (R40054), (8) gramsafranin (R40058), (9) objektglas, (10) bunsenbrännare eller objektglasvärmare, (11) mikroskop, immersionsolja, (12) färgningsrack och (13) metanol (valfritt).

10. FÖRFARANDE

Tillsätt gramjodkoncentrat till spädningsmedlet. Tillsätt ett 2,5 ml rör med koncentrat i varje 250 ml flaska med spädningsmedel. Tillsätt ett 40 ml rör med koncentrat i varje gallon med spädningsmedel. Blanda väl. Använd gramjod inom 3 månader efter beredning.

- 10.1 Gör ett tunt utstryk av det aktuella materialet på en glasskiva. Låt objektglaset lufttorka helt eller använd en objektglasvärmare. Fixera objektglaset genom att låta det passera genom lågan på en bunsenbrännare 3 eller 4 gånger eller fyll cellprovet med metanol och låt det avdunsta.
- 10.2 Placera objektglaset på ett färgningsrack och överlägg med gramkristallviolet i 1 minut.
- 10.3 Tvätta noggrant med vatten och överlägg med gramjodbetningsmedel i 1 minut.
- 10.4 Fyll på med gramavfärgningsmedel tills lösningsmedlet rinner färglös från objektglaset (10–30 sekunder).
- 10.5 Skölj med vatten och överlägg med gramsafranin i 30 sekunder.
- 10.6 Skölj med vatten och låt lufttorka.

11. TOLKNING

Grampositiva organismer färgas lila.

Gramnegativa organismer färgas röda.

12. KVALITETSKONTROLL

Alla partinummer av gramjod har testats och visat sig ge acceptabla färgningsresultat enligt listan i avsnittet Tolknings. Positiva och negativa kontrollobjektsglas bör testas före användning av nya partinummer av färger och avfärgningsreagens samt minst en gång i veckan därefter. Om avvikande kvalitetskontrollresultat noteras ska patientresultat inte rapporteras.

13. BEGRÄNSNINGAR

- 13.1 Testa positiva och negativa kontroller med varje nytt partinummer av färgningar och varje vecka därefter för att verifiera reagenseffektiviteten och säkerställa att avfärgningsförfarandet utförs korrekt.⁵
- 13.2 Avlägsna kliniska provisolat från en 18–24 timmars odling som växer på icke-selektivt medium för att erhålla de mest tillförlitliga resultaten.⁵
- 13.3 Överhetta inte cellprover vid fixering av objektglas. Överdriven uppvärmning orsakar atypisk färgning.^{5,6}
- 13.4 Grampositiva organismer som finns i ett prov kan verka gramnegativa om patienten genomgår antimikrobiell behandling.⁵
- 13.5 Utfälld kristallviolet kan uppträda som kokoidformer eller svampelement, såväl som andra artefakter eller bakgrundsmaterial.⁵

14. BIBLIOGRAFI

1. Bartholomew, J.W. and T. Mittwer. 1952. Bacteriol. Rev. 16:1-29.
2. Mittwer, T., J.W. Bartholomew, and B.J. Kallman. 1950. Stain Technol. 25:169-179.
3. Bartholomew J.W. and T. Mittwer. 1951. Stain Technol. 26:231-240.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO
5. Garcia, L.S. 2010. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Mangels, J.I., M.E. Cox, and L.H. Lindberg. 1984. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2:129-137.

15. SYMBOLFÖRKLARING

REF	Katalognummer
IVD	Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Läs bruksanvisningen
	Temperaturbegränsning (förvaringstemperatur)
	Innehåller tillräckligt för <n> tester
	Använd inte om förpackningen är skadad
LOT	Batchkod (partinummer)
	Använd senast (utgångsdatum)
	Skyddas från solljus
UDI	Unik enhetsindikator
EC REP	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen
UK CA	Bedömning av överensstämmelse i Storbritannien utförd
	CE-märkning
	Tillverkare



12076 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215, USA
www.thermofisher.com/microbiology
USA: (800) 255-6730, internationellt: (913) 888-0939

Kontakta din lokala distributör för teknisk information.

CAS (Chemical Abstracts Service Registry No.)

Tillverkad för Remel Inc.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Med ensamrätt.

Alla övriga varumärken tillhör Thermo Fisher Scientific Inc. och dess dotterbolag.

IFU R40056, reviderad i juli 2022



Tryckt i USA