

# Návod k použití

<b>Název</b>	<b>Krystalová violeť 1000ml (Gram)</b>
<b>Kód</b>	<b>98229</b>
<b>Zkratka</b>	<b>R-GRAM1</b>
<b>Základní UDI-DI</b>	<b>85941999298229CB</b>

**Použití** Barvicí roztok pro Gramovo barvení.

<b>Obecné informace</b>	Forma produktu	Tekutý roztok v skleněné láhvi
	Plnicí objem	500 ml ± 5%
	Barva media	tmavě fialová
	Doba použitelnosti	730 dnů
	Ochranný obal	1 kusů v ochranné fólii
	Balení	2 kusů v balení

## Upozornění a omezení

Pouze pro profesionální použití.

Gramovo barvení poskytuje informace pouze na základě nepřímé identifikace a nemá nahrazovat kultivační studie. Výsledky Gramova barvení je nutné ověřit dalšími postupy, například přímými testy antigenů nebo kultivací na médiu.

Pro barvení podle Grama se doporučuje používat mladé 18-24 hodinové kultury, aktivně rostoucí na neselektivních růstových médiích.

Pro kultivaci bakterií je nutné používat média, která neobsahují antibiotika, zejména ta, která narušují buněčnou stěnu (peniciliny, cefalosporin, karbapenemy, vankomycin).

Při práci noste laboratorní plášť a používejte ochranné rukavice.

Dbejte bezpečnostních pokynů uvedených v SDS listech.

Nepoužívat, pokud produkt vykazuje známky kontaminace, změny zabarvení, homogenity nebo jiné známky poškození.

K identifikaci izolovaných kmenů je nutné provést doplňující testy.

Jakákoliv závažná nežádoucí příhoda, ke které došlo v souvislosti s prostředkem, musí být hlášena výrobci a příslušnému orgánu členského státu ([www.sukl.cz](http://www.sukl.cz)).

Barvicí roztok uchovávejte v tmavé láhvi, při teplotě 18-25°C, mimo přímé sluneční záření. Po prvním otevření je roztok stabilní do data použitelnosti, při skladování v tmavé láhvi, při teplotě 18-25°C, mimo přímé sluneční záření.

Pro provedení Gramova barvení použijte kombinaci prostředků:

- Krystalová violeť 98229
- Lugolův roztok 98230
- Karbolfuchsin 98231

Volba vzorku závisí na lékaři/odborném laboratorním personálu.

## Likvidace

Pro likvidaci prostředku se řiďte pokyny uvedenými v bezpečnostním listě k prostředku.

## Princip

Barvení dle Grama využívá rozdílného složení a struktury buněčné stěny gram pozitivních a gram negativních bakterií. Při barvení Gramovou metodou se v protoplastu vytváří komplex violeti a jódu. Gram pozitivní mikroorganismy se i po odbarvení tento komplex uchovávají, gram negativní mikroorganismy se odbarví (a následně dobarví kontrastní barvou).

## Teoretické složení

Krystalová violeť (CAS 548-62-9)	5,0
Ethanol (CAS 64-17-5)	200,0 ml
Štavelan amonný (CAS 6009-70-7)	8,0

## Pracovní postup

Roztok je připraven k přímému použití dle standardního postupu.

K barvení dle Grama je roztok používán v kombinaci s dalšími roztoky.

- Tenký nátěr vzorku se usuší na vzduchu
- Vzorek se fixuje plamenem a sklíčko se nechá vychladnout
- Preparát se polije/převrství roztokem krystalové violeti a nechá se 20 sekund působit. (Roztok krystalové violeti se slije a) sklíčko se opláchne vodou.
- Preparát se polije/převrství Lugolovým roztokem a nechá se 20 sekund působit. (Lugolův roztok se slije a) sklíčko se opláchne vodou.

- Preparát se odbarvuje odbarvovacím roztokem (např. aceton), dokud stéká barvivo, přibližně 10 sekund; ne déle než 20 sekund. Sklíčko se následně opláchně vodou. Odbarvovací prostředek se kape na šikmo položené sklíčko. Barvivo musí stékat stejným směrem jako při slévání/oplachování krystalové violeti a Lugolova roztoku.
- Sklíčko se polije/převrství kontrastním barvivem (karbofuchsinem nebo safraninem) a nechá působit 30-60 sekund. (Kontrastní barvivo se slije a) sklíčko se dobře opláchně vodou.
- Preparát je připraven k prohlížení pod mikroskopem s použitím imerzního oleje.
- Časy barvení, resp. fixace se mohou mírně lišit dle různých modifikací Gramova barvení.

## Interpretace výsledků

Grampozitivní organizmy – modré až fialové zbarvení

Gramnegativní organizmy – růžové až červené zbarvení

## Kontrola kvality

*Escherichia coli* CCM 2024

růžové až červené – gramnegativní – tyčinky

*Staphylococcus aureus* CCM 4516

modré až fialové – grampozitivní – koky

Stáří kultury, pH kultivačního média a kvalita nátěru může mít vliv na výsledky barvení.

## Kontrola kvality prováděná výrobcem

Všechny používané suroviny jsou kontrolovány kompletním systémem kontroly kvality začínajícím od přijetí až po výrobu produktu. Každá šarže je podrobena kontrole kvality a je uvolněna na trh pouze tehdy, jestliže odpovídá stanoveným kritériím. Dokumentace týkající se výroby a kontroly každé jednotlivé šarže je uchovávána u společnosti Viamar International s.r.o.

## Literatura


- [1] National Center for Biotechnology Information (2022), "Compound Summary for CID 11057," 2022. .
- [2] R. A. McPherson and M. R. Pincus, Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods E-book. Elsevier Health Sciences, 2021.
- [3] A. R. Brown, R. A. Gordon, S. N. Hyland, M. S. Siegrist, and C. L. Grimes, "Chemical Biology Tools for Examining the Bacterial Cell Wall," Cell Chem. Biol., vol. 27, no. 8, pp. 1052–1062, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2020.07.024>.
- [4] R. B. Moyes, J. Reynolds, and D. P. Breakwell, "Differential staining of bacteria: gram stain.," Curr. Protoc. Microbiol., vol. Appendix 3, p. Appendix 3C, Nov. 2009, doi: 10.1002/9780471729259.mca03cs15.
- [5] O. Sizar and C. G. Unakal, "Gram Positive Bacteria.," Treasure Island (FL), 2022.
- [6] E. R. Rojas et al., "The outer membrane is an essential load-bearing element in Gram-negative bacteria," Nature, vol. 559, no. 7715, pp. 617–621, 2018.
- [7] D. M. Livermore, "Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens.," Korean J. Intern. Med., vol. 27, no. 2, pp. 128–142, Jun. 2012, doi: 10.3904/kjim.2012.27.2.128.
- [8] G. K. Auer and D. B. Weibel, "Bacterial Cell Mechanics.," Biochemistry, vol. 56, no. 29, pp. 3710–3724, Jul. 2017, doi: 10.1021/acs.biochem.7b00346.
- [9] J. Barenfanger and C. A. Drake, "Interpretation of Gram Stains for the Nonmicrobiologist," Lab. Med., vol. 32, no. 7, pp. 368–375, Jul. 2001, doi: 10.1309/C55D-B4A8-M06V-2KK3.


## Symboly


 Pozorně si přečtete návod k použití

 Diagnostický zdravotnický prostředek *in-vitro*

 Teplotní limit

 Číslo šarže


 Vhodné pro <n> použití

 Materiálová identifikace obalu


 Upřesnění výrobní dávky


 Křehké


 Použijte před


 Kód výrobku

 Výrobce

 Označení shody CE

 Chránit před světlem

 Jedinečný identifikátor prostředku

 VIAMAR INTERNATIONAL, s.r.o. U Habrovky 247/11 • 14000 Praha 4, ČR • [www.viamar.cz](http://www.viamar.cz) • [viamar@volny.cz](mailto:viamar@volny.cz)

