

Fast Differentiator (alkohol/acetone)

Diferenciální barvení buněčných struktur

Pro použití v laboratoři vyškoleným personálem. In Vitro diagnostické zařízení.

1 – Použití

Fast Differentiator (alkohol/acetone) se používá v kombinaci s ostatními gram barvami pro diferenciální barvení buněčných struktur před mikroskopováním.

2 – Princip stanovení

Fast Differentiator je možné použít ve dvou metodách. Gram-Hücker s Crystal Violet Oxalate, Lugol PVP-stabilised a Safraninem a Gram-Nicolle s Carbolic Gential Violet, Lugol PVP-stabilised a Ziehl Carbolic Fuchsin 1/10.

Obě metody barvení jsou založeny na propustnosti a struktuře bakteriální buněčné stěny. Lugol s Crystal Violet Oxalate nebo Carbolic Gential Violet vytvoří vnitrobuněčný komplex, který se u gram-negativních bakterií rozpustí pomocí alkoholu. Safranin nebo Ziehl Carbolic Fuchsin 1/10 pak obarví buňku do oranžovo-růžova nebo do růžova. Gram-pozitivní bakterie zůstávají fialkové.

3 – Reagencie

Fast Differentiator (alkohol/acetone)

Čirá, bezbarvá tekutina

361510-1000 1 x 1 l

361510-2500 1 x 2,5 l

Ostatní reagencie pro uvedené metody:

Gram-Hücker		Gram-Nicolle	
Crystal Violet Oxalate	361490	Carbolic Gential Violet	320960
Safranin	361500	Ziehl Carbolic Fuchsin 1/10	364540
Lugol PVP-stabilised	367400		

Pro fixaci vzorku můžete použít SUREFIX (336000-0050).

4 – Skladování a manipulace

Výše uvedené reagencie skladujte při pokojové teplotě (15 – 25°C), mimo přímé sluneční světlo.

Datum expirace před a po otevření jsou uvedeny na obalu.



Veškerá manipulace se vzorky a reagensy musí být prováděna vyškoleným personálem dle relevantních norem. Při manipulaci používejte správná ochranná zařízení pro jednotlivce i pro pracoviště dle příslušných regulací.

Výrobce: RAL Diagnostics – Site Montesquieu – 33650 Martillac – Francie
Ral-diagnostics.fr – cellavision.com

Personál musí být obeznámen s klasifikací nebezpečí materiálu. Viz bezpečnostní list pro uvedené reagensy.

Měření musí být provedeno autorizovaným personálem dle platných laboratorních řádů.

5 – Příprava vzorku

Manipulujte se vzorky dle laboratorních norem.

Vzorek z tekuté kultury:

Do mikroskopavky přelijte mezi 300 a 400 µl tekutého media pro kultury (s několika kuličkami, pokud možno) a vložte do centrifugy na 1 minutu při 10000 rpm. Odstraňte supernatant.

Pak přidejte 2 až 3 kapky fyziologického roztoku a promíchejte. Vzorek je nyní připraven na nátěr.

Manuální bakteriální nátěr:

Vytvořte tenký nátěr bakteriálního vzorku a nechte uschnout při pokojové teplotě. Nátěr pak zafixujte buď zahřátím nebo chemickým fixativem (metanol, etanol, kyselina octová atd).

Nikdy nefixujte plamenem vzorky, které nejsou suché. Vzorky pak mohou být oškvařené a bakterie mohou uniknout do okolí jako aerosol.

Dle potřeby mohou být fixační metody kombinovány.

Manuální bakteriální nátěr z tekuté nebo pevné kultury:

Aplikujte kapku SUREFIX na sklíčko a na tu kapku pak vložte vzorek z tekuté nebo pevné kultury. SUREFIX a vzorek na sklíčku promíchejte a vytvořte nátěr. Nechte nátěr uschnout na vzduchu nebo teplem 30 minut při 80°C.

7 – Příprava reagensů a nástrojů

Reagensy jsou připraveny k použití.

8 – Protokoly

Protokoly pro barvení jsou k dispozici v příbalových letácích daných metod.

9 – Předpokládané výsledky

Gram-Hücker		Gram-Nicolle	
Gram-pozitivní bakterie	Fialková	Gram-pozitivní bakterie	Fialková
Gram-negativní bakterie	Oranžovo-růžová	Gram-negativní bakterie	Růžová

Pokud se výsledky liší od předpokladu, kontaktujte prosím výrobce nebo jeho zástupce.

10 - Charakteristika

Analytická validita reagensů je zaručena CE certifikací. Pro optimální výsledky používejte čisté a suché laboratorní příslušenství. Laboratoř je zodpovědná za kontaktování výrobce nebo jeho zástupce při jakékoliv závažné příhodě.

Dle tloušťky nátěru může být zapotřebí prodloužit čas odbarvovacího kroku.

Zelený barevný filtr na mikroskopu, nebo žlutý na modrém, může vylepšit kontrast při diferenciaci.

11 – Kontrola kvality

Uživatelé jsou zodpovědní za provedení kontroly kvality, její procedury a návaznosti s příslušnými laboratorními řády.

Stabilita barvy:



Kvalita a reprodukovatelnost barvení závisí na správném použití produktů. Barvení dle výše uvedených doporučení je stabilní po dobu několik dní.

12 – Bezpečnostní údaje

Se všemi vzorky biologického původu by se mělo manipulovat jako s potenciálně infekčními. Likvidaci provádějte dle místních platných regulací.

Chemický a biologický odpad musí být shromážděn a likvidován registrovanými společnostmi.

Fast Differentiator (alkohol/acetone)

Nebezpečí		 
H225	Vysoce hořlavá tekutina a páry.	
H319	Způsobuje vážné podráždění očí.	
H336	Může způsobit ospalost nebo mráčky.	
P210	Skladujte mimo zdroje tepla, jiskření, otevřeného ohně a dalších zdrojů vzplanutí.	
P261	Nevdechujte páry, mlhu, výpary.	
P280	Při manipulaci používejte vhodné ochranné prostředky – rukavice, ochrana očí a obličeje.	
P312	Pokud se necítíte dobře, volejte lékaře nebo Toxikologické Středisko.	
P337+313	Pokud přetrvává podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc.	

Obsahuje: CH₃COCH₃; butan-2-jedna; isopropyl alkohol

13 – Reference

CLARK G., *Staining procedures, Williams & Wilkins, 4th éd.*, 1981, p. 377-379.

GENEVA WORLD HEALTH ORGANIZATION, *Manual of basic techniques for a health laboratory*, n°39, 1982, p. 231-234.

LANGERON M., *Précis de microscopie*, Masson & Cie, 6ème éd., 1942, p. 553-556.

RICHARD C., *Gram et la collaboration de Gram*, Ass. Anc. El. Inst. Pasteur, vol. 33, n°129, 1991, p. 15-19.

VASTEL C.L., *Coloration Gram-Hücker, Le Tech. Biol.*, n°5, 1978, p. 243-245.

Revize: 05_2023