

1.01603.0001 **REF**

Microscopy

Gram-Color modified (phenol-free)

staining kit for Gram staining method on bacteriological smears

For professional use only

IVD In Vitro Diagnostic Medical Device



Intended purpose

This "Gram-Color modified (phenol-free) - staining kit for Gram staining method on bacteriological smears" is used for human-medical cell diagnosis and serves the purpose of the bacteriological investigation of sample material of human origin. It is a ready-to-use staining kit that when used together with other *In Vitro* diagnostic products from our portfolio makes target structures evaluable for diagnostic purposes (Gram-positive or Gram-negative bacteria) by fixing, staining, counterstaining, mounting in bacteriological specimen materials, for example smears of body fluids.

Gram-Color modified is a staining kit which is used for a modified Gram staining.

The Gram-Color modified solutions are modified and designed in such a way that staining can be carried out on the staining rack.

Unstained structures are relatively low in contrast and are extremely difficult to distinguish under the light microscope. The images created using the staining solutions help the authorized and qualified investigator to better define the form and structure in such cases. Further tests must be carried out according to recognized, valid methods to reach a definitive diagnosis.

Principle

In bacteriology, the Gram staining allows a fast differentiation of bacteria in Gram-positive and Gram-negative.

The mureine structure of the bacteria wall is the basis of the color affinity. In the first step, bacteria will be stained with crystal violet, an aniline dye. After the treatment with iodine solution (Lugol's solution), a dye-iodine complex will form. During the decolorizing step, this complex stays in the multi-layer mureine structure of the cell wall of Gram-positive bacteria - they will appear dark blue.

Gram-negative bacteria, by contrast, have a cell wall consisting of a single-layered murein structure, and correspondingly re-release the staining dye with the decolorizing solution. Gram-negative bacteria will be counterstained with fuchsin solution and will then appear red.

Sample material

Body fluids, exudate, pus, liquid or solid cultures

Reagents

Cat. No. 1.01603.0001

Gram-Color modified (phenol-free)

staining kit for Gram staining method on bacteriological smears

Package components:

The staining kit contains

Reagent 1a:	Crystal violet solution	100 ml
Reagent 1b:	Sodium hydrogen carbonate solution	100 ml
Reagent 1c:	Bottle for Reagent 1c (of 1a und 1b)	
Reagent 2:	Lugol's solution, stabilized	190 ml
Reagent 3:	Decolorizing solution	190 ml
Reagent 4:	Fuchsin solution, (phenol-free)	190 ml

Sample preparation

The sampling must be performed by qualified personnel.

Apply the specimen material to a clean and grease-free slide using an annealed loop. Then smear the material either directly onto the slide or first mix with 1 - 2 drops of physiological saline solution (Ringer's solution). Air-dry and then heat-fix by slowly drawing the slide (smear side facing up) through the upper part of the Bunsen-burner flame for three times. Subsequently, allow to cool and stain.

The air-dried smears must be heat-fixed very carefully. This prevents the risk of infections and reduces the dissolution of specimen material and thus, the contamination of solutions and other slides.

All samples must be treated using state-of-the-art technology.

All samples must be clearly labeled.

Suitable instruments must be used for taking samples and their preparation. Follow the manufacturer's instructions for application / use.

When using the corresponding auxiliary reagents, the corresponding instructions for use must be observed.

Reagent preparation

The reagents 2, 3, and 4 of the Gram-Color modified (phenol-free) - staining kit for Gram staining method on bacteriological smears are ready-to-use, dilution of the solutions is not necessary and merely produces a deterioration of the staining result and their stability.

Staining solution (Reagent 1c)

Mix reagent 1a (Crystal violet solution) and reagent 1b (Sodium hydrogen carbonate solution) 1+1 in the bottle provided (1c).

This mixture is sufficient for approximately 65 - 70 specimens and can be stored at room temperature for 10 days and refrigerated 14 days, respectively. If this amount appears to be too large for this period of time, it is advisable to prepare a smaller quantity (approx. 3 ml are needed per microscopic slide).

Procedure

Staining on the staining rack

The stated times should be adhered to in order to guarantee an optimal staining result.

Slide with fixed smear		
Reagent 1c (self-prepared staining solution)	cover completely and leave to react	1 min
Distilled water	rinse carefully	5 sec
Reagent 2 (Lugol's solution, stabilized)	cover completely and leave to react	1 min
Distilled water	rinse carefully	5 sec
Reagent 3 (decolorizing solution)	cover completely	5 - 10 sec
Distilled water	rinse carefully	5 sec
Reagent 4 (fuchsin solution, phenol-free)	cover completely and leave to react	15 - 30 sec
Distilled water	rinse carefully	5 sec
Air-dry (e.g. over night or at 50 °C in the drying cabinet)		

Covering with non-aqueous mounting media (e.g. Neo-Mount™, Entellan™, or DPX new) and a cover glass is recommended for the storage of bacteriological specimens for several months. For this purpose, the stained specimens must be dried very well.

The use of immersion oil is recommended for the analysis of stained slides with a microscopic magnification >40x.

Result

Gram-positive microorganisms	dark blue
Gram-negative microorganisms	red

Trouble-shooting

Fixation of smear samples

A sufficient degree of heat-fixing using a Bunsen burner or in a heating cabinet is essential to prevent the infectious potential of the specimens and further proliferation of the bacteria.

No staining of the gram-positive bacteria

The critical stage of the Gram-staining procedure is the decolorizing step, which can be influenced by the thickness of the smear. In addition, a fresh decolorizing solution is highly reactive, which is why the result should be evaluated with care. During the decolorizing step, the user should stick to the exact incubation times described in the protocol, since otherwise false-negative results may result.

Technical notes

The microscope used should meet the requirements of a medical diagnostic laboratory.

When using automatic staining systems, please follow the instructions for use supplied by the supplier of the system and software. Remove surplus immersion oil before filing.

Analytical performance characteristics

"Gram-Color modified (phenol-free) - Staining kit" stains and thereby visualizes biological structures, as described in the "Result" chapter of this IFU. The use of the product is only to be carried out by authorized and qualified persons, this includes, among other things, sample and reagent preparation, sample handling, decisions regarding suitable controls and more.

The analytical performance of the product is confirmed by testing each production batch. The successful participation in international interlaboratory tests on a regular basis provide an additional and unaffiliated confirmation of analytical specificity and repeatability.

For the following stains, the analytical performance was confirmed in terms of specificity, sensitivity and repeatability of the product with a rate of 100 %:

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
Gram staining				
Gram-positive microorganisms	12/12	12/12	8/8	8/8
Gram-negative microorganisms	12/12	12/12	8/8	8/8

Analytical performance results

Intra- (performed on the same batch) and inter-assay (performed on different batches) data list the number of correctly stained structures in relation to the number of performed assays.

Clinical performance characteristics

The Gram-Color modified (phenol-free) - Staining kit has been successfully used in the clinical setting for decades in a high number of applications.

The clinical performance of the Gram-Color modified (phenol-free) - Staining kit in particular was determined by establishing its sensitivity and specificity in an in-house study:

Gram-positive microorganisms

	Gram Staining
Sensitivity	14/15
Specificity	15/15

Sensitivity: 14 samples out of 15: 93.3 %

Specificity: 15 samples out of 15: 100 %

Gram-negative microorganisms

	Gram Staining
Sensitivity	15/15
Specificity	14/15

Sensitivity: 15 samples out of 15: 100 %

Specificity: 14 samples out of 15: 93.3 %

The results of this Performance Evaluation confirms that the product is suitable for the intended use and performs reliably.

The diagnostic interpretation of the staining results, however, is to be carried out by qualified and authorized professionals, taking into account patient anamnesis, morphology, the use of adequate controls, and additional diagnostic tests, if appropriate. This method can be supplementarily used in human diagnostics.

Diagnostics

Diagnoses are to be made only by authorized and qualified personnel.

Valid nomenclatures must be used.

This method can be supplementarily used in human diagnostics.

Further tests must be selected and implemented according to recognized methods.

Suitable controls should be conducted with each application in order to avoid an incorrect result.

The staining set may be controlled with Gram-positive bacteria and Gram-negative bacteria.

Bacteria taken from a culture medium after 18 - 24 hours of incubation should be used.

Storage

Store the Gram-Color modified (phenol-free) - staining kit for Gram staining method on bacteriological smears at +15 °C to +25 °C.

At temperatures below 15 °C a colored precipitate may settle out of the dye solutions. If precipitation has occurred, place the bottle for 2 - 3 hours in a water bath set at approx. 60 °C. This will re-dissolve most of the precipitate. Subsequently, filter the staining solutions through a paper filter.

Shelf-life

The Gram-Color modified (phenol-free) - staining kit for Gram staining method on bacteriological smears can be used until the stated expiry date.

After first opening of the bottle, the contents can be used up to the stated expiry date when stored at +15 °C to +25 °C.

The bottles must be kept tightly closed at all times.

Reagent 1c (self-prepared staining solution) can be used up to 10 days when stored at +15 °C to +25 °C and 14 days when stored at +2 °C to +8 °C.

Capacity

The package is sufficient for 65 - 70 applications.

Additional instructions

For professional use only.

In order to avoid errors, the application must be carried out by qualified personnel only.

National guidelines for work safety and quality assurance must be followed. Microscopes equipped according to the standard must be used.

If necessary use a standard centrifuge suitable for medical diagnostic laboratory.

Protection against infection

Effective measures must be taken to protect against infection in line with laboratory guidelines.

Instructions for disposal

The package must be disposed of in accordance with the current disposal guidelines.

Used solutions and solutions that are past their shelf-life must be disposed of as special waste in accordance with local guidelines. Information on disposal can be obtained under the Quick Link "Hints for Disposal of Microscopy Products" at www.microscopy-products.com. Within the EU the currently applicable REGULATION (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006 applies.

Auxiliary reagents

Cat. No. 1.00579	DPX new non-aqueous mounting medium for microscopy	500 ml
Cat. No. 1.04699	Immersion oil for microscopy	100-ml dropping bottle, 100 ml, 500 ml
Cat. No. 1.07961	Entellan™ new rapid mounting medium for microscopy	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. No. 1.09016	Neo-Mount™ anhydrous mounting medium for microscopy	100-ml dropping bottle, 500 ml
Cat. No. 1.15525	RINGER tablets for the preparation of RINGER'S solution	100 tabs

Hazard classification

Cat. No. 1.01603.0001

Please observe the hazard classification printed on the label and the information given in the safety data sheet.

The safety data sheet is available on the website and on request.

CAUTION! Contains CMR substances. Please observe the corresponding safety instructions given in the safety data sheet.

Main components of the products

Cat. No. 1.01603.0001

Reagent 1a

C.I. 42555 10 g/l

1 l = 0.99 kg

Reagent 1b

NaHCO₃ 25 g/l

Reagent 2

PVP-Iodine 50 g/l

KI 10 g/l

1 l = 1.02 kg

Reagent 3

C₂H₆O 634 g/l

C₃H₆O 159 g/l

1 l = 0.79 kg

Reagent 4

C.I. 42510 or 42520* 0.9 g/l

C₂H₆O 79 g/l

* Both dyes can be used for preparing the solution, the staining result has the identical sensitivity and specificity.

General remark

If during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorised representative and to your national authority.

Literature

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Highly flammable liquid and vapor.

H318: Causes serious eye damages.

H336: May cause drowsiness or dizziness.

H351: Suspected of causing cancer.

H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.

P202: Do not handle until all safety precautions have been read and understood.

P210: Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.

P233: Keep container tightly closed.

P273: Avoid release to the environment.

P280: Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P308 + P313: IF exposed or concerned: Get medical advice/ attention.

Reagent 1a:

H226: Flammable liquid and vapor.

H319: Causes serious eye irritation.

H351: Suspected of causing cancer.

H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Reagent 2:

H318: Causes serious eye damages.

H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Reagent 3:

H225: Highly flammable liquid and vapor.

H319: Causes serious eye irritation.

H336: May cause drowsiness or dizziness.

Reagent 4:

H226: Flammable liquid and vapor.

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Jul-22	Initial version with the introduction of Revision History



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2024-Jul-22

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. Merck and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly available resources.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Mikroskopie****Gram-Color modifiziert
(phenolfrei)**Färbeset für die Gram-Färbung von
bakteriologischen Präparaten**Nur für professionelle Anwendung****IVD**

In Vitro Diagnostikum

**Zweckbestimmung**

Das vorliegende „Gram-Color modifiziert (phenolfrei) - Färbeset für die Gram-Färbung von bakteriologischen Präparaten“ wird für die human-medizinische Zelldiagnostik verwendet und dient der bakteriologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um ein gebrauchsfertiges Färbeset, welches zusammen mit anderen *In Vitro* Diagnostika aus unserem Portfolio Zielstrukturen (Gram-positive bzw. Gram-negative Bakterien) mittels Fixieren, Anfärben, Gegenfärben, Eindecken in bakterio-logischem Untersuchungsgut, wie z. B. Ausstrichen von Körperflüssigkeiten, für die Diagnostik auswertbar macht.

Gram-Color modifiziert ist ein Färbeset, mit dem eine modifizierte Gram-Färbung durchgeführt wird.

Die Gram-Color modifiziert Lösungen sind so konzipiert, dass auf der Färbekbank gefärbt werden kann.

Ungefärbte Strukturen sind relativ kontrastarm und lassen sich kaum lichtmikroskopisch differenzieren. Durch die mit Hilfe der Färbelösungen erzeugten Bilder, kann die Form und Struktur durch einen autorisierten und qualifizierten Untersucher besser erkannt werden. Für eine abschließende Diagnostik sind weiterführende Tests nach anerkannten, validen Methoden durchzuführen.

Prinzip

Die Gram-Färbung erlaubt eine rasche Differenzierung von Bakterien in Gram-positiv und Gram-negativ.

Das färberische Verhalten der Bakterien wird durch den Aufbau der Bakterienzellwände bestimmt.

Die Bakterien werden in der Gram-Färbung mit Kristallviolett, einem Anilinfarbstoff, angefärbt. Nach der Behandlung mit Iodlösung (Lugols Lösung) entsteht ein Farbstoff-Iod-Komplex. Das mehrschichtige Mureingerüst der Zellwände Gram-positiver Bakterien verhindert das Auswaschen des Farbstoff-Iod-Komplexes beim Entfärbeschritt, die Bakterien bleiben dunkelblau gefärbt.

Im Gegensatz dazu haben Gram-negative Bakterien eine Zellwand aus einem einschichtigen Mureingerüst, sie geben daher mit der Entfärbelösung den Farbstoff wieder ab. Die Gram-negativen Bakterien werden durch eine Gegenfärbung mit Fuchsinlösung rot angefärbt.

Probenmaterial

Körperflüssigkeiten, Exsudate, Eiter, flüssiges oder Koloniematerial

Reagenzien

Art. 1.01603.0001

Gram-Color modifiziert (phenolfrei)

Färbeset für die Gram-Färbung von bakteriologischen Präparaten

Bestandteile der Packung:

Das Färbeset enthält

Reagenz 1a: Kristallviolettlösung	100 ml
Reagenz 1b: Natriumhydrogencarbonatlösung	100 ml
Reagenz 1c: Flasche für Reagenz 1 (aus 1a und 1b)	
Reagenz 2: Lugols Lösung, stabilisiert	190 ml
Reagenz 3: Entfärbelösung	190 ml
Reagenz 4: Fuchsinlösung, phenolfrei	190 ml

Probenvorbereitung

Die Probenentnahme darf nur durch Fachpersonal erfolgen.

Das Untersuchungsmaterial wird mit ausgeglühter Öse auf einen fettfreien Objektträger aufgetragen. Dann wird es entweder direkt oder mit 1 - 2 Tropfen physiologischer Natriumchloridlösung (Ringer-Lösung) verrieben und ausgestrichen. Nach der Lufttrocknung wird die Hitze-fixierung vorgenommen, indem man den Ausstrich (Ausstrichseite oben) dreimal langsam durch den oberen Teil der Bunsenbrennerflamme zieht. Danach erkalten lassen und färben.

Die luftgetrockneten Ausstriche müssen sehr sorgfältig hitzefixiert werden. Dies verhindert die Gefahr von Infektionen und reduziert das Abschwimmen von Material und damit die Kontamination von Lösungen und anderen Objektträgern.

Alle Proben sind entsprechend dem Stand der Technik zu behandeln.

Alle Proben sind eindeutig zu kennzeichnen.

Geeignete Instrumente sind zur Probenentnahme und bei der Präparation zu verwenden, die Anweisungen des Herstellers für die Anwendung / den Gebrauch sind zu befolgen.

Bei Verwendung der entsprechenden Hilfsreagenzien sind die dazugehörigen Gebrauchsanweisungen zu beachten.

Reagenzvorbereitung

Die zur Färbung verwendeten Reagenzien 2, 3 und 4 des Gram-Color modifiziert (phenolfrei) - Färbeset für die Gram-Färbung von bakteriologischen Präparaten sind gebrauchsfertig, das Verdünnen der Lösungen ist nicht notwendig, mindert das Färbeergebnis und die Haltbarkeit.

Färbelösung (Reagenz 1c)

Reagenz 1a (Kristallviolettlösung) und Reagenz 1b (Natriumhydrogencarbonatlösung) werden im Mengenverhältnis 1+1 in der dafür vorgesehenen Flasche (1c) gemischt.

Diese Mischung ist ausreichend für ca. 65 - 70 Präparate, bei Raumtemperatur 10 Tage und im Kühlschrank 14 Tage haltbar. Sollte die Ansatzmenge für diesen Zeitraum zu groß sein, wird empfohlen eine kleinere Menge anzusetzen (pro Objektträger werden ca. 3 ml benötigt).

Durchführung**Färbung auf der Färbekbank**

Für ein optimales Färbeergebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

Objektträger mit fixiertem Ausstrich		
Reagenz 1c (selbst gemischte Färbelösung)	vollständig bedecken und einwirken lassen	1 min
Aqua dest.	vorsichtig spülen	5 sec
Reagenz 2 (Lugols Lösung stabilisiert)	vollständig bedecken und einwirken lassen	1 min
Aqua dest.	vorsichtig spülen	5 sec
Reagenz 3 (Entfärbelösung)	vollständig bedecken	5 - 10 sec
Aqua dest.	vorsichtig spülen	5 sec
Reagenz 4 (Fuchsinlösung, phenolfrei)	vollständig bedecken und einwirken lassen	15 - 30 sec
Aqua dest.	vorsichtig spülen	5 sec
Lufttrocknen (z. B. über Nacht oder bei 50 °C im Trockenschrank)		

Für die Lagerung von bakteriologischen Präparaten über mehrere Monate, wird das Eindecken mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z. B. Neo-Mount™, Entellan™ oder DPX Neu) und Deckglas empfohlen. Die gefärbten Präparate müssen dafür sehr gut getrocknet werden.

Für die Analyse von gefärbten Präparaten mit einer mikroskopischen Vergrößerung >40x wird die Verwendung von Immersionsöl empfohlen.

Ergebnis

Gram-positive Mikroorganismen

dunkelblau

Gram-negative Mikroorganismen

rot

Fehlerfindung**Fixierung der Ausstrichpräparate**

Eine ausreichende Hitze-fixierung mit dem Bunsenbrenner oder in einem Hitzeschrank sind wichtig, um das infektiöse Potential der Präparate und ein Weiterwachsen der Bakterien zu verhindern.

Keine Färbung von Gram-positiven Bakterien

Der kritische Schritt in der Gram-Färbung ist der Entfärbeschritt, welcher durch die Dicke des Ausstrichs beeinflusst werden kann. Des Weiteren ist eine frische Entfärbelösung sehr reaktiv, weshalb das Ergebnis sorgfältig ausgewertet werden sollte. Die hier angegebenen Zeiten sollten beim Entfärben genauestens eingehalten werden, da sonst falsch-negative Ergebnisse resultieren könnten.

Technische Hinweise

Das verwendete Mikroskop sollte den Anforderungen eines medizinisch-diagnostischen Labors entsprechen.

Werden Färbeautomaten verwendet, sind die Bedienungsanweisungen des Geräte- und Softwareherstellers zu beachten.

Überschüssiges Immersionsöl ist vor dem Archivieren zu entfernen.

Analytische Leistung

Das vorliegende „Gram-Color modifiziert (phenolfrei) - Färbeset“ färbt und visualisiert dadurch biologische Strukturen, wie im Kapitel „Ergebnis“ dieser Gebrauchsanweisung beschrieben. Die Anwendung des Produkts ist hierbei nur von autorisierten und qualifizierten Personen durchzuführen, dies umfasst, unter anderem, die Proben- und Reagenzvorbereitung, Probenbehandlung, die Entscheidung über geeignete Kontrollen und mehr.

Die analytische Leistung des Produkts wird durch die Testung jeder Produktionscharge sichergestellt. Dazu belegen die erfolgreichen Teilnahmen an internationalen Ringversuchen die analytische Spezifität und Wiederholbarkeit regelmäßig.

Für die folgenden Färbungen wurden die analytische Leistung in Form von Spezifität, Sensitivität und Wiederholbarkeit des Produkts mit einer Rate von 100 % bestätigt:

	Inter-assay Spezifität	Inter-assay Sensitivität	Intra-assay Spezifität	Intra-assay Sensitivität
Gram-Färbung				
Gram-positive Mikroorganismen	12/12	12/12	8/8	8/8
Gram-negative Mikroorganismen	12/12	12/12	8/8	8/8

Analytische Leistungsparameter

Die Daten der Intra- (durchgeführt an derselben Charge) und Inter-Assays (durchgeführt an verschiedenen Chargen) zeigen die Anzahl der erfolgreich angefärbten Strukturen im Verhältnis zur Gesamtzahl der durchgeführten Assays.

Klinische Leistung

Das Gram-Color modifiziert (phenolfrei) - Färbeset wird seit Jahrzehnten erfolgreich im klinischen Umfeld in einer hohen Zahl von Anwendungen genutzt.

Die klinische Leistung des Gram-Color modifiziert (phenolfrei) - Färbeset im Besonderen wurde durch die Ermittlung ihrer Sensitivität und Spezifität im Rahmen einer In-house Studie ermittelt:

Gram-positive Mikroorganismen

	Gram-Färbung
Sensitivität	14/15
Spezifität	15/15

Sensitivität: 14 Proben von 15: 93,3 %

Spezifität: 15 Proben von 15: 100 %

Gram-negative Mikroorganismen

	Gram-Färbung
Sensitivität	15/15
Spezifität	14/15

Sensitivität: 15 Proben von 15: 100 %

Spezifität: 14 Proben von 15: 93,3 %

Die Ergebnisse der Performance Evaluation belegen, dass dieses Produkt für die beschriebene Zweckbestimmung geeignet ist und verlässlich korrekte Ergebnisse liefert.

Die diagnostische Interpretation der Färbeargebnisse darf nur von qualifizierten und autorisierten Personen durchgeführt werden, welche Morphologie, die Verwendung adäquater Kontrollen, weitere diagnostische Tests, wenn angemessen, Patientenanamnese und andere Aspekte berücksichtigen müssen. Diese Methode kann dem entsprechend ergänzend zur Humandiagnose verwendet werden.

Diagnostik

Diagnosen sind nur von autorisierten und qualifizierten Personen zu erstellen. Gültige Nomenklaturen sind anzuwenden.

Diese Methode ist ergänzend in der Humandiagnostik anzuwenden.

Weiterführende Tests sind nach anerkannten Methoden auszuwählen und durchzuführen.

Geeignete Kontrollen sollten bei jeder Anwendung mitgeführt werden, um ein fehlerhaftes Ergebnis auszuschließen.

Die Kontrolle des Färbesets kann mit Gram-positiven Bakterien und Gram-negativen Bakterien durchgeführt werden. Dazu sind Kulturen von 18 - 24 Stunden lang bebrüteten Nährböden zu verwenden.

Lagerung

Gram-Color modifiziert (phenolfrei) - Färbeset für die Gram-Färbung von bakteriologischen Präparaten bei +15 °C bis +25 °C lagern.

Bei den Färbelösungen kann es bei einer Temperatur unter 15 °C zur Bildung von Farbstoffniederschlägen kommen. In einem solchen Fall sind die Flaschen 2 - 3 Stunden in ein etwa 60 °C warmes Wasserbad einzustellen. Dadurch löst sich der größte Teil der Farbstoffniederschläge wieder auf. Die Färbelösungen sind anschließend durch ein Papierfilter zu filtrieren.

Haltbarkeit

Gram-Color modifiziert (phenolfrei) - Färbeset für die Gram-Färbung von bakteriologischen Präparaten kann bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.

Nach dem ersten Öffnen der Flasche bei +15 °C bis +25 °C aufbewahrt bis zum Verfallsdatum verwendbar.

Die Flaschen sind stets gut geschlossen zu halten.

Reagenz 1c (selbst gemischte Färbelösung) ist bei +15 °C bis +25 °C 10 Tage und bei +2 °C bis +8 °C 14 Tage haltbar.

Kapazität

Die Packung ist für 65 - 70 Anwendungen ausreichend.

Gebrauchshinweise

Nur für professionelle Anwendung.

Um Fehler zu vermeiden, ist die Anwendung von Fachpersonal durchzuführen. Nationale Richtlinien für Arbeitssicherheit und Qualitätssicherung sind zu befolgen.

Entsprechend dem Standard ausgestattete Mikroskope sind zu verwenden. Bei Bedarf ist eine dem Laborstandard und den Anforderungen entsprechende Zentrifuge zu verwenden.

Infektionsschutz

Auf wirksamen Infektionsschutz entsprechend der Laborrichtlinien ist unbedingt zu achten.

Entsorgungshinweise

Die Packung ist entsprechend der gültigen Entsorgungsrichtlinien zu entsorgen. Gebrauchte Lösungen und Lösungen mit abgelaufener Haltbarkeit sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen, dabei ist den lokalen Entsorgungsrichtlinien zu folgen. Hinweise zur Entsorgung können unter dem Quick Link „Entsorgungshinweise für Mikroskopie-Produkte“ auf www.Mikroskopie-Produkte.com angefordert werden. Innerhalb der EU gilt die VERORDNUNG (EG) Nr. 1272/2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG), Nr. 1907/2006.

Hilfsreagenzien

Art. 1.00579	DPX Neu wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	500 ml
Art. 1.04699	Immersionsöl für die Mikroskopie	100-ml-Tropf- flasche, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Neu Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	100-ml-Tropf- flasche, 500 ml
Art. 1.15525	RINGER-Tabletten zur Herstellung von RINGER-Lösung	100 tabs

GefahrstoffEinstufung

Art. 1.101603.0001

Die GefahrstoffEinstufung auf dem Etikett und die Angaben im Sicherheitsdatenblatt sind zu beachten.

Das Sicherheitsdatenblatt ist erhältlich im Internet und auf Anfrage.

ACHTUNG! Enthält CMR-Substanzen. Bitte entsprechende Sicherheitshinweise im Sicherheitsdatenblatt beachten.

Hauptbestandteile der Produkte

Art. 1.101603.0001

Reagenz 1a	
C.I. 42555	10 g/l
1 l = 0,99 kg	
Reagenz 1b	
NaHCO ₃	25 g/l
Reagenz 2	
PVP-Iod	50 g/l
KI	10 g/l
1 l = 1,02 kg	
Reagenz 3	
C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1 l = 0,79 kg	
Reagenz 4	
C.I. 42510 oder 42520*	0,9 g/l
C ₂ H ₆ O	79 g/l

* Beide Farbstoffe können für den Ansatz einer Lösung verwendet werden, das Färbeargebnis hat die gleiche Sensitivität und Spezifität.

Allgemeiner Hinweis

Wenn während oder infolge des Gebrauchs ein schwerwiegender Vorfall aufgetreten ist, melden Sie diesen bitte dem Hersteller und / oder seinem Bevollmächtigten und Ihrer nationalen Behörde.

Literatur

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.

H318: Verursacht schwere Augenschäden.

H336: Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.

H351: Kann vermutlich Krebs erzeugen.

H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

P202: Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.

P210: Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen.

P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.

P280: Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz.

P305 + P351 + P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

P308 + P313: BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Reagenz 1a:

H226: Flüssigkeit und Dampf entzündbar.

H319: Verursacht schwere Augenreizung.

H351: Kann vermutlich Krebs erzeugen.

H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

Reagenz 2:

H318: Verursacht schwere Augenschäden.

H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

Reagenz 3:

H225: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.

H319: Verursacht schwere Augenreizung.

H336: Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.

Reagenz 4:

H226: Flüssigkeit und Dampf entzündbar.

Revisionshistorie

Version	Modifikationsanmerkung
2024-Jul-22	Erste Version mit der Einführung der Revisionshistorie



Gebrauchsanweisung
beachten



Hersteller



Katalognummer



Chargen-
code



Achtung, Begleitdoku-
mentation beachten



Verwendbar bis
JJJJ-MM-TT



Temperatur-
begrenzung

Status: 2024-Jul-22

Der Unternehmensbereich Life Science von Merck tritt in den USA und in Kanada als MilliporeSigma auf.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland und/oder Tochterunternehmen. Alle Rechte vorbehalten. Merck und Sigma-Aldrich sind Marken der Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland. Alle anderen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber. Ausführliche Informationen zu Markennamen sind über öffentlich zugängliche Informationsquellen erhältlich.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Microscopie****Gram-Color modifié (sans phénol)**

Kit de colorants pour la coloration selon Gram de préparations bactériologiques

Réservé à une utilisation professionnelle

IVDDispositif médical de diagnostic *In Vitro***Objectif prévu**

Le présent « Gram-Color modifié (sans phénol) - Kit de colorants pour la coloration selon Gram de préparations bactériologiques » est utilisé pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen bactériologique d'échantillons d'origine humaine. C'est un kit de coloration prêt à l'emploi, qui est utilisé conjointement avec d'autres diagnostics *In Vitro* de notre portefeuille pour rendre des structures cibles analysables pour le diagnostic (les bactéries Gram-positives ou Gram-négatives) par fixation, coloration, contre-coloration, montage dans des épreuves bactériologiques, telles que les frottis de liquides corporels, p.ex.

Gram-Color modifié est un kit de coloration qui permet d'effectuer une coloration de Gram modifiée.

Les solutions Gram-Color modifié sont modifiées et conçues de manière à pouvoir être utilisées sur un banc de coloration.

Les structures non colorées présentent des contrastes relativement faibles et ne peuvent à peine être différenciées par microscopie optique. Les images créées au moyen des solutions de coloration permettent à un examinateur formé et autorisé de mieux distinguer la forme et la structure. Pour un diagnostic final, il est nécessaire d'effectuer des examens supplémentaires selon des méthodes valides et reconnues.

Principe

La méthode de coloration de Gram permet d'obtenir rapidement une différenciation des bactéries entre Gram-positives et Gram-négatives.

La coloration des bactéries dépend de la structure de leurs parois cellulaires. Lors de la coloration de Gram, les bactéries sont colorées par du violet cristallin, un colorant aniline. Après traitement avec une solution iodée (solution de Lugol), on obtient un complexe colorant-iodé. Les multiples couches des chaînes de muréine des parois cellulaires Gram-positives empêchent que le complexe colorant-iodé disparaisse au lavage lors de l'étape de décoloration, et les bactéries conservent leur coloration bleue foncée.

Les bactéries Gram-négatives, en revanche, ont une paroi cellulaire composée d'une chaîne de muréine à une seule couche : c'est pourquoi le décolorant disparaît avec la solution de décoloration. Les bactéries Gram-négatives sont colorées en rouge par une contre-coloration effectuée à l'aide d'une solution de fuchsine.

Matériel des échantillons

Liquides corporels, exsudats, salive, produits liquides ou comportant des colonies

Réactifs

Art. 1.01603.0001

Gram-Color modifié (sans phénol)

Kit de colorants pour la coloration selon Gram de préparations bactériologiques

Composition d'emballage :

Le kit de coloration contient

Réactif 1a :	Violet cristallisé en solution	100 ml
Réactif 1b :	Sodium hydrogène carbonate en solution	100 ml
Réactif 1c :	Flacon pour réactif 1c (de 1a et 1b)	
Réactif 2 :	Solution de Lugol, stabilisée	190 ml
Réactif 3 :	Solution de décoloration	190 ml
Réactif 4 :	Fuchsine en solution, sans phénol	190 ml

Préparation des échantillons

Le prélèvement d'échantillons doit être effectué par du personnel qualifié. L'échantillon est placé sur un porte-objet exempt de toute trace de gras à l'aide d'une anse flambée. Il est ensuite frotté et étalé soit directement, soit avec une à deux gouttes de solution physiologique de chlorure de sodium (solution de Ringer). Après séchage à l'air, on procède à la fixation à la chaleur en faisant passer le frottis (côté frottis vers le haut) trois fois lentement dans le haut de la flamme d'un bec Bunsen. Laisser ensuite refroidir et colorer.

Les frottis séchés à l'air doivent être soigneusement fixés à la chaleur. Les frottis séchés à l'air doivent être soigneusement fixés à la chaleur afin d'éviter que de la matière se détache et contamine ainsi les solutions ou les autres porte-objets.

Tous les échantillons doivent être traités conformément aux règles de l'art. Tous les échantillons doivent être clairement identifiés.

Utiliser des instruments appropriés pour le prélèvement d'échantillons et la préparation, respecter les instructions du fabricant pour l'emploi / l'utilisation.

Lors de l'utilisation des réactifs auxiliaires adéquats, il y a lieu de respecter les consignes d'utilisation correspondantes.

Préparation du réactif

Les réactifs 2, 3 et 4 de Gram-Color modifié (sans phénol) - Kit de colorants pour la coloration selon Gram de préparations bactériologiques utilisés pour colorer sont prêts à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer les solutions étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.

Solution de coloration (réactif 1c)

Le réactif 1a (violet cristallisé en solution) et le réactif 1b (sodium hydrogène carbonate en solution) sont mélangés avec les proportions 1+1 dans le flacon prévu à cet effet (1 c).

Le mélange est suffisant pour env. 65 - 70 préparations et peut être conservé à température ambiante pendant 10 jours ou au réfrigérateur pendant 14 jours. Si la quantité initiale pour cette période est trop importante, nous recommandons la préparation d'une plus petite quantité (il faut env. 3 ml par porte-objet).

Mode opératoire**Coloration sur le banc de coloration**

Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

Porte-objet avec frottis fixé		
Réactif 1c (solution de coloration mélangée soi-même)	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Eau distillée	rincer avec précaution	5 secondes
Réactif 2 (solution de Lugol, stabilisée)	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Eau distillée	rincer avec précaution	5 secondes
Réactif 3 (solution de décoloration)	recouvrir complètement	5 - 10 secondes
Eau distillée	rincer avec précaution	5 secondes
Réactif 4 (fuchsine en solution, sans phénol)	recouvrir complètement et laisser agir	15 - 30 secondes
Eau distillée	rincer avec précaution	5 secondes
Sécher à l'air (p.ex. pendant toute une nuit, ou à 50 °C dans l'armoire de séchage)		

Si l'on souhaite stocker des préparations hématologiques pendant plusieurs mois, il est conseillé de les recouvrir d'un produit de montage anhydre (p.ex. Neo-Mount™, Entellan™ ou DPX néo) et d'une lamelle couvre-objet. Les préparations colorées doivent être alors parfaitement sèches.

Pour l'examen microscopique de préparations colorées avec un grossissement >40x, il est recommandé d'utiliser de l'huile d'immersion.

Résultat

Microorganismes Gram-positives	bleu foncé
Microorganismes Gram-négatives	rouge

Diagnostic d'erreurs**Fixation des préparations de frottis**

Il est important d'effectuer une fixation à la chaleur suffisante avec un bec Bunsen ou dans une étuve, afin d'empêcher le potentiel infectieux des préparations et une prolifération des bactéries.

Pas de coloration des bactéries Gram-positives

L'opération critique de la coloration de Gram est la décoloration, qui peut être influencée par l'épaisseur du frottis. De plus, une solution de décoloration fraîche est très réactive. C'est pourquoi le résultat doit être analysé très soigneusement. Lors de la décoloration, les temps indiqués ici doivent être respectés scrupuleusement, faute de quoi on risque d'obtenir des résultats faux-négatifs.

Remarques techniques

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d'un laboratoire de diagnostics médicaux.

En cas d'utilisation d'un automate de coloration, se conformer aux instructions du fabricant de l'appareil et du logiciel.

Éliminer l'excédent d'huile pour immersions avant l'archivage.

Caractéristiques de performance analytique

« Gram-Color modifié (sans phénol) - Kit de colorants » colore et permet donc la visualisation de structures biologiques, comme décrit dans le chapitre « Résultat » de ce mode d'emploi. Ce produit ne doit être utilisé que par des personnes agréées et qualifiées, ce qui englobe notamment la préparation des échantillons et des réactifs, la prise de décisions en matière de contrôles appropriés et autres.

La performance analytique du produit est confirmée via l'analyse de chaque lot de production. La participation réussie à des tests interlaboratoires internationaux réguliers est une confirmation supplémentaire et indépendante de la spécificité et de la répétabilité analytiques.

Pour les colorants suivants, la performance analytique a été confirmée au niveau des spécificité, sensibilité et répétabilité du produit avec un taux de 100 %:

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration de Gram				
Microorganismes Gram-positives	12/12	12/12	8/8	8/8
Microorganismes Gram-négatives	12/12	12/12	8/8	8/8

Résultats de la performance analytique

Les données des essais intra-lot (au sein du même lot) et inter-lot (sur différents lots) répertorient le nombre de structures dont la coloration est appropriée en relation avec le nombre d'essais effectués.

Caractéristiques de performance clinique

Le Gram-Color modifié (sans phénol) - Kit de colorants a été utilisé avec succès dans le contexte clinique pendant des décennies dans un grand nombre d'applications.

La performance clinique du Gram-Color modifié (sans phénol) - Kit de colorants en particulier a été définie en déterminant sa sensibilité et sa spécificité dans le cadre d'une étude interne :

Microorganismes Gram-positives

	Coloration de Gram
Sensibilité	14/15
Spécificité	15/15

Sensibilité : 14 échantillons sur 15 : 93,3 %

Spécificité : 15 échantillons sur 15 : 100 %

Microorganismes Gram-négatives

	Coloration de Gram
Sensibilité	15/15
Spécificité	14/15

Sensibilité : 15 échantillons sur 15 : 100 %

Spécificité : 14 échantillons sur 15 : 93,3 %

Les résultats de cette évaluation de performance confirment que le produit est approprié à l'usage prévu et peut être utilisé de manière fiable.

L'interprétation diagnostique des résultats de coloration doit cependant être réalisée par des professionnels qualifiés et agréés, en tenant compte des antécédents du patient, de la morphologie, de l'utilisation de contrôles adéquats et d'autres tests de diagnostic, le cas échéant. Cette méthode peut être utilisée dans le diagnostic chez l'être humain comme approche complémentaire.

Diagnostic

Les diagnostics doivent être exclusivement effectués par des personnes autorisées et qualifiées.

Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées.

Cette méthode doit être appliquée dans le diagnostic humain à titre complémentaire.

Des tests plus poussés seront choisis et réalisés selon des méthodes reconnues.

Chaque étape doit être effectuée sous contrôle, afin d'exclure toute possibilité de résultat erroné.

Le contrôle du kit de coloration peut être effectué avec des bactéries Gram-positives et des bactéries Gram-négatives. Pour ce faire, il faut utiliser des cultures sur milieux nutritifs incubées 18 à 24 heures.

Stockage

Stocker le Gram-Color modifié (sans phénol) - Kit de colorants pour la coloration selon Gram de préparations bactériologiques entre +15 °C et +25 °C.

A une température inférieure à +15 °C, on peut noter la formation de précipité de colorant dans les solutions de coloration. Dans ce cas, placer les flacons pendant 2 à 3 heures dans un bain marie chaud à env. 60 °C. De ce fait, la plus grande partie des précipités de colorant se dissout à nouveau.

Filtre ensuite les solutions de coloration à travers un papier filtre.

Stabilité

Le Gram-Color modifié (sans phénol) - Kit de colorants pour la coloration selon Gram de préparations bactériologiques peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée.

Après la première ouverture du flacon, conserver entre +15 °C et +25 °C et utiliser jusqu'à la date de péremption.

Tenir les flacons toujours bien fermés.

Le réactif 1c (solution de coloration mélangée soi-même), se conserve 10 jours à une température de +15 °C à +25 °C et 14 jours à une température de +2 °C à +8 °C.

Capacité

L'emballage suffit jusqu'à 65 - 70 applications.

Remarques sur l'utilisation

Réservé à une utilisation professionnelle.

Pour éviter les erreurs, l'application doit être effectuée par un personnel qualifié.

Respecter les directives nationales relatives à la sécurité au travail et à l'assurance de la qualité.

Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

En cas de besoin, utiliser une centrifugeuse conforme à la norme de laboratoire et aux critères.

Protection contre les infections

Veiller impérativement à une protection efficace conformément aux directives des laboratoires.

Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur.

Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets dangereux, en respectant les directives locales relatives à l'élimination des déchets. Pour commander les instructions sur l'élimination des déchets, cliquer sur le Quick Link « Hints for Disposal of Microscopy Products » sur www.microscopy-products.com. Au sein de l'UE s'applique le règlement CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

Réactifs auxiliaires

Art. 1.00579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie	500 ml
Art. 1.04699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 500 ml
Art. 1.15525	Comprimés de RINGER pour la préparation de solution de RINGER	100 tabs

Classification des matières dangereuses

Art. 1.01603.0001

Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité.

La fiche de données de sécurité est disponible sur le site web et sur demande. ATTENTION : contient des substances CMR. Veuillez respecter les consignes de sécurité dans la fiche de sécurité correspondante s.v.p.

Composants principaux des produits

Art. 1.01603.0001

Réactif 1a
C.I. 42555 10 g/l
1 l = 0,99 kg

Réactif 1b
NaHCO₃ 25 g/l

Réactif 2
PVP-Iode 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Réactif 3
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Réactif 4
C.I. 42510 ou 42520* 0,9 g/l
C₂H₆O 79 g/l

* Les deux colorants peuvent être utilisés pour préparer une solution, le résultat a la même sensibilité et spécificité.

Remarque générale

Si un incident grave s'est produit durant ou par suite de l'utilisation, veuillez informer de celui-ci le fabricant et/ou son mandataire et votre autorité nationale.

Littérature

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.

H318 : Provoque de graves lésions des yeux.

H336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges.

H351 : Susceptible de provoquer le cancer.

H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P202 : Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.

P210 : Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.

P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.

P280 : Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage.

P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P308 + P313 : EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: consulter un médecin.

Réactif 1a :

H226 : Liquide et vapeurs inflammables.

H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

H351 : Susceptible de provoquer le cancer.

H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Réactif 2 :

H318 : Provoque de graves lésions des yeux.

H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Réactif 3 :

H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.

H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

H336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges.

Réactif 4 :

H226: Liquide et vapeurs inflammables.

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Jul-22	Version initiale avec l'introduction de l'historique des révisions



Respectez les consignes d'utilisation



Fabricant



N° catalogue



Code de lot



Attention : observez la documentation complémentaire



Utilisable jusqu'au AAAA-MM-JJ



Limitation de température

Status: 2024-Jul-22

Aux États-Unis et au Canada, l'activité Life Science de Merck opère sous le nom de MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne et/ou ses sociétés affiliées. Tous droits réservés. Merck et Sigma-Aldrich sont des marques de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne. Toutes les autres marques citées appartiennent à leurs propriétaires respectifs. Des informations détaillées sur les marques sont disponibles via des ressources accessibles au public.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Microscopía****Gram-Color modificado (exento de fenol)**

kit de tinción para la tinción de Gram de preparados bacteriológicos

Solamente para uso profesional**IVD**Producto sanitario para diagnóstico *In Vitro***Finalidad prevista**

El presente "Gram-Color modificado (exento de fenol) - kit de tinción para la tinción de Gram de preparados bacteriológicos" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen bacteriológico de muestras de origen humano. Se trata de un kit de tinción listo para el uso que, junto con otros materiales de diagnóstico *In Vitro* pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino (bacterias Gram positivas y Gram negativas) mediante fijación, tinción, contratinción, montaje en material de examen bacteriológico, como pueden ser frotis de líquidos corporales.

Gram-Color modificado es un kit de tinción con el cual se realiza una tinción de Gram modificada.

Las soluciones de Gram-Color modificado están modificadas e ideadas de tal manera que la tinción pueda ser realizada en bancos de tinción.

Las estructuras sin teñir son relativamente pobres en contrastes y apenas si pueden diferenciarse bajo el microscopio óptico. Las imágenes generadas con ayuda de las soluciones de tinción permiten a un examinador autorizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Para un diagnóstico final deben realizarse pruebas más complejas según métodos reconocidos y válidos.

Principio

El método de tinción de Gram permite realizar con rapidez una diferenciación entre bacterias Gram positivas y Gram negativas.

El comportamiento de las bacterias respecto a la tinción depende de la estructura de las paredes celulares de las bacterias. Durante la tinción de Gram, las bacterias son teñidas con violeta cristal, un colorante de anilina. Después del tratamiento con solución de yodo (solución de Lugol) se produce un complejo de colorante y yodo. La red de mureína de varias capas que presentan las paredes celulares Gram positivas evita la lixiviación del complejo de colorante y yodo durante el paso de descoloración, las bacterias conservan su tinción azul oscura. Contrariamente a esto, las bacterias Gram negativas disponen de una pared celular compuesta por una red de mureína con una sola capa, por lo que devuelven el colorante con la solución de descoloración. Las bacterias Gram negativas son teñidas de color rojo por medio de una contratinción con solución de fucsina.

Material de las muestras

Líquidos corporales, exudados, pus, material de colonias líquido o sólido

Reactivos

Art. 1.01603.0001
Gram-Color modificado (exento de fenol)
kit de tinción para la tinción de Gram de preparados bacteriológicos

Componentes del envase:

El kit de tinción contiene

Reactivo 1a: Violeta cristal en solución	100 ml
Reactivo 1b: Sodio hidrogenocarbonato en solución	100 ml
Reactivo 1c: Frasco para reactivo 1c (de 1a y 1b)	
Reactivo 2: Solución de Lugol, estabilizada	190 ml
Reactivo 3: Solución decolorante	190 ml
Reactivo 4: Fucsina en solución, exento de fenol	190 ml

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado.

El material de ensayo es aplicado en un portaobjetos exento de grasa sirviéndose de un asa bacteriológica esterilizada al rojo vivo. A continuación se extiende y se le realiza un frotis, directamente o con 1 a 2 gotas de solución fisiológica de cloruro sódico (solución de Ringer). Después del secado al aire se efectúa la termofijación haciendo pasar el frotis (con el lado del frotis mirando hacia arriba) tres veces lentamente a través de la parte superior de la llama del mechero de Bunsen. Después, esperar hasta que se haya enfriado y teñir.

Los frotis secados al aire han de ser termofijados con gran esmero. Esto impide que haya peligro de infección y reduce el desplazamiento de material por flotación y, debido a esto, la contaminación de soluciones y otros portaobjetos.

Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología. Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.

Deben usarse instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación / el empleo.

Al usar los correspondientes reactivos auxiliares deberán tenerse en cuenta las respectivas instrucciones de empleo.

Preparación del reactivo

Los reactivos 2, 3 y 4 del Gram-Color modificado (exento de fenol) - kit de tinción para la tinción de Gram de preparados bacteriológicos utilizados para los procesos de tinción están listos para el uso, la dilución de las soluciones no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

Solución de tinción (reactivo 1c)

Los reactivos 1a (violeta cristal en solución) y 1b (sodio hidrogenocarbonato en solución) se mezclan en relación 1+1 en el frasco previsto (1 c). Esta mezcla es suficiente para unas 65 - 70 preparaciones y se mantiene estable durante 10 días a temperatura ambiente y durante 14 días en frigorífico. Si esta cantidad resulta demasiado grande para el periodo de estabilidad indicado se recomienda preparar una cantidad más pequeña (por portaobjetos se necesitan aprox. 3 ml).

Técnica**Tinción en el banco de tinción**

Para conseguir un óptimo resultado de tinción, deberían respetarse los periodos indicados.

Portaobjetos con frotis fijado		
Reactivo 1 (solución de tinción automezclada)	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Agua destilada	enjuagar con cuidado	5 segundos
Reactivo 2 (solución de Lugol, estabilizada)	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Agua destilada	enjuagar con cuidado	5 segundos
Reactivo 3 (solución decolorante)	cubrir completamente	5 - 10 segundos
Agua destilada	enjuagar con cuidado	5 segundos
Reactivo 4 (fucsina en solución, exento de fenol)	cubrir completamente y dejar actuar	15 - 30 segundos
Agua destilada	enjuagar con cuidado	5 segundos
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)		

Para el almacenamiento de preparados bacteriológicos durante varios meses se recomienda el montaje con medios de montaje anhidros (p.ej. Neo-Mount™, Entellan™ o DPX nuevo) y cubreobjetos. Para ello, los preparados han de ser secados con gran esmero.

Para el análisis de preparados teñidos con un aumento microscópico >40x se recomienda el uso de aceite de inmersión.

Resultado

Microorganismos Gram positivos	azul oscuro
Microorganismos Gram negativos	rojo

Localización de errores**Fijación de preparados de frotis**

Es importante realizar una termofijación suficiente por medio de un mechero Bunsen o en un armario de calor para eliminar el potencial infeccioso de los preparados y evitar que las bacterias sigan creciendo.

Ninguna tinción de bacterias Gram positivas

El paso crítico en la tinción de Gram es el paso de descoloración, que puede ser influenciado por el espesor del frotis. Por lo demás, una solución decolorante fresca es muy reactiva, por lo que el resultado debería ser evaluado cuidadosamente. Durante la descoloración, los tiempos indicados aquí deberían ser respetados con máxima exactitud, ya que de lo contrario se podrían presentar resultados incorrectamente negativos.

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.

Si se utilizan aparatos automáticos de tinción, deberán tenerse en cuenta las instrucciones de operación del fabricante, tanto del aparato como del software.

Eliminar el aceite de inmersión en exceso antes de archivar.

Características de rendimiento analítico

"Gram-Color modificado (exento de fenol) - Kit de tinción" tiñe y, por lo tanto, visualiza estructuras biológicas, como se describe en el capítulo "Resultado" de esta instrucción de uso. Solo deben utilizar el producto personas autorizadas y cualificadas. Esta utilización incluye, entre otras actividades, la preparación de muestras y reactivos, la manipulación de muestras, las decisiones relativas a los controles adecuados, etc.

El rendimiento analítico del producto se confirma analizando cada lote de producción. La participación satisfactoria en análisis interlaboratorios internacionales periódicos proporciona una confirmación adicional e independiente de la especificidad y repetibilidad analítica.

En el caso de las siguientes tinciones, se confirmó el rendimiento analítico en términos de especificidad, sensibilidad y repetibilidad del producto, con una tasa del 100 %:

	Especificidad interensayos	Especificidad interensayos	Especificidad intraensayos	Especificidad intraensayos
Tinción de Gram				
Microorganismos Gram positivos	12/12	12/12	8/8	8/8
Microorganismos Gram negativos	12/12	12/12	8/8	8/8

Resultados de rendimiento analítico

Los datos intraensayos (realizados en el mismo lote) e interensayos (realizados en diferentes lotes) enumeran las estructuras correctamente teñidas en relación con el número de ensayos realizados.

Características de rendimiento clínico

El Gram-Color modificado (exento de fenol) - Kit de tinción se ha usado con éxito en el ámbito clínico durante décadas en un gran número de aplicaciones.

El rendimiento clínico del Gram-Color modificado (exento de fenol) - Kit de tinción en particular se determinó estableciendo su sensibilidad y especificidad en un estudio interno:

Microorganismos Gram positivos

	Tinción de Gram
Sensibilidad	14/15
Especificidad	15/15

Sensibilidad: 14 muestras de 15: 93,3 %

Especificidad: 15 muestras de 15: 100 %

Microorganismos Gram negativos

	Tinción de Gram
Sensibilidad	15/15
Especificidad	14/15

Sensibilidad: 15 muestras de 15: 100 %

Especificidad: 14 muestras de 15: 100 %

Los resultados de esta evaluación de rendimiento confirman la aptitud del producto para el uso previsto, así como su fiabilidad de funcionamiento.

No obstante, la interpretación diagnóstica de los resultados de las tinciones la deben llevar a cabo profesionales cualificados y autorizados, teniendo en cuenta la anamnesis del paciente, la morfología, el uso de controles adecuados y otras pruebas diagnósticas, si procede. Este método puede complementar el diagnóstico humano.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas.

Deberán emplearse terminologías vigentes. Este método debe aplicarse complementariamente en el diagnóstico humano. Deberán elegirse y realizarse ensayos ulteriores según métodos reconocidos.

Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos.

Los controles del kit de tinción pueden realizarse con bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas. Para ello deben utilizarse cultivos procedentes de medios de cultivo incubados durante 18 - 24 horas.

Almacenamiento

Guardar el Gram-Color modificado (exento de fenol) - kit de tinción para la tinción de Gram de preparados bacteriológicos de +15 °C a +25 °C.

A temperaturas inferiores a 15 °C puede precipitar colorante de las soluciones de tinción. En tal caso han de colocarse los frascos durante 2 - 3 horas en un baño de agua aprox. 60 °C. De esta manera se redisuelve la mayor parte de los precipitados de colorantes. Las soluciones de tinción deben filtrarse seguidamente a través de un papel de filtro.

Estabilidad

El Gram-Color modificado (exento de fenol) - kit de tinción para la tinción de Gram de preparados bacteriológicos puede usarse hasta la fecha de caducidad indicada.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +15 °C y +25 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.

Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

El reactivo 1c (solución de tinción automezclada) se conserva durante 10 días a una temperatura de entre +15 °C y +25 °C, así como durante 14 días a una temperatura de entre +2 °C y +8 °C.

Capacidad

El envase es suficiente para hasta 65 - 70 aplicaciones.

Notas sobre el empleo

Solamente para uso profesional.

Para evitar errores, la aplicación debería ser realizada por personal especializado.

Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad.

Deben emplearse microscopios equipados de acuerdo con el estándar.

Si es necesario, deberá utilizarse una centrifugadora que corresponda al estándar de laboratorios y a las exigencias.

Protección contra infecciones

Debe observarse a toda costa una protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de laboratorio.

Indicaciones para la eliminación de residuos

El envase debe ser eliminado de acuerdo con las directivas válidas de eliminación de residuos.

Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación bajo el Quick Link "Hints for Disposal of Microscopy Products" en www.microscopy-products.com. Dentro de la UE tiene validez el REGLAMENTO (CE) Nº 1272/2008 sobre la clasificación, el etiquetado y el envasado de sustancias y mezclas, por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) Nº 1907/2006.

Reactivos auxiliares

Art. 1.00579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml
Art. 1.04699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml
Art. 1.15525	Tabletas de RINGER para preparar solución de RINGER	100 tabs

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.01603.0001

Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad.

La ficha de seguridad está disponible en el sitio web y a solicitud.

¡ATENCIÓN! Contiene sustancias CMR. Por favor, respete los avisos de seguridad correspondientes en la ficha de datos de seguridad.

Componentes principales de los productos

Art. 1.01603.0001

Reactivo 1a	
C.I. 42555	10 g/l
1 l = 0,99 kg	
Reactivo 1b	
NaHCO ₃	25 g/l
Reactivo 2	
PVP-Yodo	50 g/l
KI	10 g/l
1 l = 1,02 kg	
Reactivo 3	
C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1 l = 0,79 kg	
Reactivo 4	
C.I. 42510 o 42520*	0,9 g/l
C ₂ H ₆ O	79 g/l

* Ambos colorantes pueden ser utilizados para preparar una solución, el resultado de la tinción presenta la misma sensibilidad y especificidad.

Aviso general

Si se produce un incidente grave durante el uso o a causa del mismo, sírvase informar al fabricante y/o a su apoderado y a su autoridad nacional.

Literatura

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Líquido y vapores muy inflamables.

H318: Provoca lesiones oculares graves.

H336: Puede provocar somnolencia o vértigo.

H351: Se sospecha que provoca cáncer.

H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P202: No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.

P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.

P273: Evitar su liberación al medio ambiente.

P280: Llevar guantes/ ropa de protección/ equipo de protección para los ojos/ la cara.

P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

P308 + P313: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.

Reactivo 1a:

H226: Líquidos y vapores inflamables.

H319: Provoca irritación ocular grave.

H351: Se sospecha que provoca cáncer.

H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Reactivo 2:

H318: Provoca lesiones oculares graves.

H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Reactivo 3:

H225: Líquido y vapores muy inflamables.

H319: Provoca irritación ocular grave.

H336: Puede provocar somnolencia o vértigo.

Reactivo 4:

H226: Líquidos y vapores inflamables.

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Jul-22	Versión inicial con la introducción del Historial de revisiones



Observe las instrucciones de uso



Fabricante



Número de catálogo



Código del lote



Atención, observar la documentación pertinente



Utilizable hasta AAAA-MM-DD



Delimitación de la temperatura

Status: 2024-Jul-22

La división Life Science de Merck opera como MilliporeSigma en los Estados Unidos y en Canadá.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Alemania y/o sus filiales. Todos los derechos reservados. Merck y Sigma-Aldrich son marcas comerciales de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios. Tiene a su disposición información detallada sobre las marcas comerciales a través de recursos accesibles al público.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Microscopia****Gram-Color modificato (privo di fenolo)**

Set di colorazione per la colorazione di Gram di preparati batteriologici

Solo per uso professionale

IVD Dispositivo medico-diagnostico *In Vitro***Scopo previsto**

Il presente "Gram-Color modificato (privo di fenolo) - Set di colorazione per la colorazione di Gram di preparati batteriologici" è utilizzato per la diagnostica cellulare nell'uomo e serve per l'esame batteriologico di campioni di origine umana. È un kit di colorazione pronto all'uso che, congiuntamente ad altri prodotti diagnostici *In Vitro* del nostro portafoglio, consente l'analisi diagnostica delle strutture bersaglio (batteri Gram-positivi e Gram-negativi) mediante fissaggio, colorazione, controcolorazione, montaggio nei campioni batteriologici, quali ad esempio strisci di liquidi corporei.

Gram-Color modificato è un kit di colorazione con cui viene eseguita la colorazione di Gram modificata.

Le soluzioni Gram-Color modificato sono modificate e concepite in modo da poter eseguire la colorazione con il rastrello di colorazione.

Le strutture non colorate presentano un contrasto relativamente poco marcato e sono difficili da distinguere al microscopio ottico. In virtù delle immagini ottenute con le soluzioni di colorazione, il ricercatore autorizzato e qualificato è in grado di distinguere in modo più preciso la forma e la struttura. Per una diagnosi definitiva devono essere eseguiti ulteriori test avvalendosi di metodi validi e riconosciuti.

Principio

La colorazione di Gram consente di distinguere rapidamente i batteri tra Gram-positivi e Gram-negativi.

Il comportamento dei batteri alla colorazione è determinato dalla struttura delle pareti cellulari degli stessi.

Con la colorazione di Gram, i batteri vengono colorati con cristallo violetto, un colorante all'anilina. Dopo il trattamento con soluzione di iodio (soluzione di Lugol), si forma un complesso colorante-iodio. La parete cellulare composta da più strati di mureina dei batteri Gram-positivi impedisce lo scolorimento del complesso colorante-iodio nella fase di decolorazione e i batteri conservano la colorazione blu scuro.

Al contrario, i batteri Gram-negativi hanno una parete cellulare costituita da uno strato di mureina e possono sbiadirsi con la soluzione di decolorazione. I batteri Gram-negativi vengono colorati da rosso attraverso la contro-colorazione con soluzione di fucsina.

Materiale d'esame

Liquidi biologici, essudato, materiale purulento, altro materiale liquido o in colonie

Reattivi

Art. 1.01603.0001

Gram-Color modificato (privo di fenolo)

Set di colorazione per la colorazione di Gram di preparati batteriologici

Componenti della confezione:

Il kit di colorazione contiene

Reattivo 1a:	Cristallvioletto soluzione	100 ml
Reattivo 1b:	Sodio bicarbonato soluzione	100 ml
Reattivo 1c:	Flacone per reattivo 1c (di 1a ed 1b)	
Reattivo 2:	Soluzione Lugol, stabilizzata	190 ml
Reattivo 3:	Soluzione decolorante	190 ml
Reattivo 4:	Fucsina soluzione, privo di fenolo	190 ml

Preparazione dei campioni

Il campionamento deve essere effettuato da personale specializzato.

Il materiale da analizzare viene sparso con un'ansa sterile su un portaoggetti sgrassato. Poi viene distribuito e disteso, direttamente o con 1 - 2 gocce di soluzione fisiologica di cloruro di sodio (soluzione Ringer). Dopo aver lasciato asciugare all'aria si procede alla fissazione a caldo, la quale avviene passando lentamente per tre volte il vetrino attraverso la parte alta della fiamma del becco Bunsen (parte del vetrino portaoggetti col campione rivolta verso l'alto). In seguito lasciar raffreddare e colorare.

Gli strisci essiccati all'aria devono essere fissati molto accuratamente con il calore. In questo modo si previene il rischio di infezioni e si riduce l'allontanamento del materiale e la conseguente contaminazione delle soluzioni e di altri portaoggetti.

Tutti i campioni devono essere trattati secondo la tecnica standard vigente. Tutti i campioni vanno contrassegnati in modo tale da essere facilmente identificati.

Devono essere utilizzati strumenti adatti per il prelievo e la preparazione dei campioni; vanno osservate rigorosamente le indicazioni del produttore circa l'applicazione e le istruzioni d'uso.

Quando si utilizzano i reattivi ausiliari corrispondenti, osservare le relative istruzioni per l'uso.

Preparazione del reattivo

I reattivi 2, 3 e 4 di Gram-Color modificato (privo di fenolo) - Set di colorazione per la colorazione di Gram di preparati batteriologici utilizzati per la colorazione sono pronte all'uso, non è richiesta la diluizione delle soluzioni, poiché compromette la colorazione e ne riduce la stabilità.

Soluzione colorante (reattivo 1c)

I reattivi 1a (cristallo violetto soluzione) ed 1b (sodio bicarbonato soluzione) vengono miscelati in rapporto 1+1 nel flacone appositamente predisposto (1c). Questa miscela è sufficiente per circa 65 - 70 preparati e si mantiene stabile per 10 giorni se conservata a temperatura ambiente e per 14 giorni se conservata in frigorifero. Se per questo periodo di tempo la quantità di preparato dovesse risultare eccessiva, si consiglia di prepararne una quantità inferiore (sono necessari circa 3 ml per portaoggetti).

Esecuzione**Colorazione con rastrello di colorazione**

Per ottenere una colorazione ottimale si dovrebbero rispettare i tempi indicati.

Portaoggetti con striscio fissato		
Reattivo 1 (soluzione colorante miscelata autonomamente)	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Acqua distillata	sciogliere con precauzione	5 secondi
Reattivo 2 (soluzione Lugol, stabilizzata)	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Acqua distillata	sciogliere con precauzione	5 secondi
Reattivo 3 (soluzione decolorante)	coprire completamente	5 - 10 secondi
Acqua distillata	sciogliere con precauzione	5 secondi
Reattivo 4 (fucsina soluzione, privo di fenolo)	coprire completamente e lasciar agire	15 - 30 secondi
Acqua distillata	sciogliere con precauzione	5 secondi
Asciugare all'aria (ades. per una notte o a 50 °C nell'armadio di asciugatura)		

Per stoccare i preparati batteriologici per diversi mesi, si raccomanda il montaggio con un mezzo di montaggio anidro (ades., Neo-Mount™, Entellan™ DPX Neo) e un vetrino coprioggetti. I preparati colorati devono essere ben essiccati.

Per l'analisi dei preparati colorati con ingrandimento al microscopio >40x, si consiglia di utilizzare olio di immersione.

Risultato

Microorganismi Gram-positivi blu scuro

Microorganismi Gram-negativi rosso

Individuazione e soluzione di problemi**Fissaggio degli strisci**

È importante eseguire un fissaggio adeguato con il becco Bunsen o in un armadio di calore, in modo da prevenire le possibili infezioni dei preparati e l'ulteriore crescita batterica.

Nessuna colorazione dei batteri Gram-positivi

Il passo fondamentale della colorazione di Gram è la decolorazione, che può essere influenzata dallo spessore dello striscio. La soluzione decolorante fresca è inoltre molto reattiva e quindi è necessario valutare con attenzione il risultato. I tempi qui indicati per la decolorazione devono essere rigorosamente osservati, poiché in caso contrario si possono ottenere risultati falsi negativi.

Annotazioni tecnici

Il microscopio utilizzato deve soddisfare i requisiti previsti in un laboratorio medico diagnostico.

In caso di colorazione automatizzata, attenersi alle istruzioni per l'uso del produttore dello strumento e del software.

Eliminare l'olio di immersione in eccesso prima dell'archiviazione.

Caratteristiche delle prestazioni analitiche

„Gram-Color modificato (privo di fenolo) - Set di colorazione“ colora e pertanto permette di visualizzare strutture biologiche, come descritto nel capitolo „Risultato“ di questa IFU. Il prodotto deve essere utilizzato solo da persone autorizzate e qualificate; ciò include, a titolo esemplificativo, la preparazione del campione e del reagente, le decisioni relative ai controlli adeguati, ecc.

Le prestazioni analitiche del prodotto sono confermate per mezzo di test su ciascun lotto di produzione. La fruttuosa partecipazione a test interlaboratorio internazionali su base regolare fornisce una conferma aggiuntiva e indipendente della specificità e ripetibilità analitica.

Per le seguenti colorazioni, le prestazioni analitiche sono state confermate in termini di specificità, sensibilità e ripetibilità del prodotto con un tasso del 100 %:

	Specificità intersaggio	Specificità intersaggio	Specificità intrasaggio	Specificità intrasaggio
Colorazione di Gram				
Microrganismi Gram-positivi	12/12	12/12	8/8	8/8
Microrganismi Gram-negativi	12/12	12/12	8/8	8/8

Risultati delle prestazioni analitiche

I dati intrasaggio (eseguiti sullo stesso lotto) e intersaggio (eseguiti su lotti diversi) elencano il numero di strutture correttamente colorate in relazione al numero di saggi eseguiti.

Caratteristiche delle prestazioni cliniche

Il Gram-Color modificato (privo di fenolo) - Set di colorazione è stato utilizzato con successo in ambito clinico per decenni in un elevato numero di applicazioni.

In particolare, le prestazioni cliniche del Gram-Color modificato (privo di fenolo) - Set di colorazione sono state determinate stabilendo la sua sensibilità e specificità in uno studio interno:

Microrganismi Gram-positivi

	Colorazione di Gram
Sensibilità	14/15
Specificità	15/15

Sensibilità: 14 campioni su 15: 93,3 %

Specificità: 15 campioni su 15: 100 %

Microrganismi Gram-negativi

	Colorazione di Gram
Sensibilità	15/15
Specificità	14/15

Sensibilità: 15 campioni su 15: 100 %

Specificità: 14 campioni su 15: 93,3 %

I risultati di questa valutazione delle prestazioni confermano che il prodotto è adatto all'uso previsto e funziona in modo affidabile.

L'interpretazione diagnostica dei risultati della colorazione, tuttavia, deve essere effettuata da professionisti qualificati e autorizzati, tenendo conto dell'anamnesi del paziente, della morfologia, dell'uso di controlli adeguati e di ulteriori test diagnostici, se necessario. Questo metodo può essere utilizzato in modo supplementare nella diagnostica umana.

Diagnostica

Le diagnosi vanno eseguite solo da personale autorizzato e qualificato. Devono essere utilizzate nomenclature valide.

La presente metodologia deve essere utilizzata quale strumento integrativo per la diagnostica umana.

Ulteriori test vanno scelti ed eseguiti secondo metodi riconosciuti.

Per ogni applicazione devono essere eseguiti controlli appropriati, per escludere possibili risultati errati.

Il controllo del kit di colorazione può essere eseguito con batteri Gram-positivi e Gram-negativi. Utilizzare allo scopo brodculture incubate per 18 - 24 ore.

Conservazione

Il Gram-Color modificato (privo di fenolo) - Set di colorazione per la colorazione di Gram di preparati batteriologici va conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

Ad una temperatura inferiore ai 15 °C si possono infatti formare dei precipitati di colorante nelle corrispettive soluzioni. In tal caso i contenitori sono da mettere in un bagnomaria a circa 60 °C per 2 - 3 ore, in modo da sciogliere la maggior parte del precipitato di colorante. In seguito è necessario filtrare le soluzioni di colorazione attraverso carta da filtro.

Stabilità

Il Gram-Color modificato (privo di fenolo) - Set di colorazione per la colorazione di Gram di preparati batteriologici può essere utilizzato entro la data di scadenza indicata.

Una volta aperto il flacone, il contenuto si mantiene stabile fino alla data di scadenza indicata se conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

Conservare sempre i flaconi ben chiusi.

Il reattivo 1c (soluzione colorante miscelata autonomamente) si mantiene stabile per 10 giorni se conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C e per 14 giorni tra +2 °C e +8 °C.

Capacità

La confezione è sufficiente per 65 - 70 applicazioni.

Istruzioni per l'uso

Solo per uso professionale.

Per evitare errori, la applicazione deve essere eseguita da personale specializzato.

Vanno osservate le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e di assicurazione di qualità.

Vanno utilizzati microscopi conformi agli standard vigenti.

All'occorrenza utilizzare una centrifuga che soddisfi gli standard di laboratorio ed i rispettivi requisiti.

Protezione contro le infezioni

Vanno rigorosamente osservate le norme di laboratorio relative alla protezione contro le infezioni.

Istruzioni per lo smaltimento

La confezione deve essere smaltita nel rispetto delle vigenti direttive in materia.

Le soluzioni usate e le soluzioni scadute vanno smaltite come rifiuti pericolosi, in conformità alle disposizioni locali vigenti in materia di smaltimento dei rifiuti. Per richiedere informazioni sullo smaltimento selezionare il Quick link "Hints for Disposal of Microscopy Products" all'indirizzo www.microscopy-products.com. Nell'Unione europea trova applicazione il Regolamento (CE) n. 1272/2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006.

Reattivi ausiliari

Art. 1.00579	DPX Neo mezzo di montaggio anidro per microscopia	500 ml
Art. 1.04699	Olio di immersione per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Neo mezzo di montaggio rapido per microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ mezzo di montaggio anidro per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 500 ml
Art. 1.15525	Compresse RINGER preparazione della soluzione RINGER	100 tabs

Classificazione di sostanze pericolose

Art. 1.01603.0001

Osservare la classificazione delle sostanze pericolose riportata sull'etichetta e seguire le indicazioni della scheda di sicurezza.

La scheda di sicurezza è disponibile su sito Internet e su richiesta.

ATTENZIONE! Contiene sostanze CMR. Attenersi alle relative indicazioni di sicurezza riportate nella scheda di dati di sicurezza.

Componenti principali dei prodotti

Art. 1.01603.0001

Reattivo 1a

C.I. 42555 10 g/l
1 l = 0,99 kg

Reattivo 1b

NaHCO₃ 25 g/l

Reattivo 2

PVP-Iodio 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Reattivo 3

C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reattivo 4

C.I. 42510 o 42520* 0,9 g/l
C₂H₆O 79 g/l

* Per la preparazione della soluzione possono essere utilizzati entrambi i coloranti; il risultato presenta la stessa sensibilità e specificità.

Indicazione generale

Se durante o in seguito all'uso del dispositivo si verifica un incidente, segnalare l'evento al fabbricante e/o al suo mandatario e alle autorità nazionali.

Letteratura

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H318: Provoca gravi lesioni oculari.

H336: Può provocare sonnolenza o vertigini.

H351: Sospettato di provocare il cancro.

H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P202: Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.

P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.

P273: Non disperdere nell'ambiente.

P280: Indossare guanti/ indumenti protettivi/ proteggere gli occhi/ proteggere il viso.

P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P308 + P313: IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.

Reattivo 1a:

H226: Liquido e vapori infiammabili.

H319: Provoca grave irritazione oculare.

H351: Sospettato di provocare il cancro.

H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

Reattivo 2:

H318: Provoca gravi lesioni oculari.

H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

Reattivo 3:

H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H319: Provoca grave irritazione oculare.

H336: Può provocare sonnolenza o vertigini.

Reattivo 4:

H226: Liquido e vapori infiammabili.

Cronologia delle revisioni

Versione	Commento relativo alla modifica
2024-Jul-22	Versione iniziale con l'introduzione della Cronologia delle revisioni



Attenersi alle istruzioni per l'uso



Fabbricante



N. di catalogo



Codice del lotto



Attenzione, consultare la documentazione di accompagnamento



Data di scadenza
AAAA-MM-GG



Limiti di temperatura

Status: 2024-Jul-22

Negli USA e in Canada il comparto Life Science di Merck opera con il nome MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germania e/o sue affiliate. Tutti i diritti sono riservati. Merck e Sigma-Aldrich sono marchi di Merck KGaA, Darmstadt, Germania. Tutti gli altri marchi sono di proprietà dei legittimi detentori. Informazioni dettagliate sui marchi sono disponibili tramite risorse pubblicamente accessibili.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Μικροσκοπία****Gram-Color τροποποιημένης (χωρίς φαινόλες)**

Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram σε βακτηριολογικά επιχρίσματα

Για επαγγελματική χρήση μόνο

IVD

In Vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

**Προβλεπόμενος σκοπός**

Το «Gram-Color τροποποιημένης (χωρίς φαινόλες) - Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram σε βακτηριολογικά επιχρίσματα» χρησιμοποιείται για ιατρική κυτταρολογική διάγνωση στον άνθρωπο και προορίζεται για βακτηριολογική διερεύνηση υλικού δείγματος ανθρώπινης προέλευσης. Πρόκειται για ένα έτοιμο για χρήση κιτ χρώσης που, όταν χρησιμοποιείται μαζί με άλλα *in vitro* διαγνωστικά προϊόντα από το χαρτοφυλάκιό μας, κάνει τους ιστούς-στόχους (Gram-θετικά ή Gram-αρνητικά βακτήρια) με μονιμοποίηση, χρώση, αντιχρώση, στερέωση) σε υλικά βακτηριολογικών δειγμάτων, για παράδειγμα επιχρίσματα σωματικών υγρών, αξιολογήσιμους για διαγνωστικούς σκοπούς.

Το κιτ τροποποιημένης Gram-Color είναι ένα κιτ χρώσης που χρησιμοποιείται για τροποποιημένη χρώση Gram.

Τα διαλύματα τροποποιημένης Gram-Color είναι τροποποιημένα και σχεδιασμένα με τέτοιο τρόπο ώστε η χρώση να μπορεί να πραγματοποιείται στον δειγματοφορέα χρώσης.

Οι άβαφες βακτηριακές δομές παρουσιάζουν σχετικά χαμηλή αντίθεση και είναι εξαιρετικά δύσκολη η διάκρισή τους με το οπτικό μικροσκόπιο. Οι εικόνες που δημιουργούνται χρησιμοποιώντας τα διαλύματα χρώσης βοηθούν τον εξουσιοδοτημένο και εξειδικευμένο ερευνητή να προσδιορίσει καλύτερα τον τύπο και το βακτήριο σε αυτές τις περιπτώσεις. Πρέπει να διενεργούνται επιπλέον εξετάσεις σύμφωνα με αναγνωρισμένες και έγκυρες μεθόδους για την πραγματοποίηση της οριστικής διάγνωσης.

Αρχή της μεθόδου

Στη βακτηριολογία, η χρώση Gram επιτρέπει την ταχεία διαφοροποίηση των βακτηρίων σε Gram-θετικά και Gram-αρνητικά.

Η δομή μουρείνης στο βακτηριακό τοίχωμα είναι η βάση της χρωματολογικής συγγένειας.

Στο πρώτο βήμα, τα βακτήρια χρώνονται με κρυσταλλικό βιολετί, μια χρώση ανιλίνης. Μετά την επεξεργασία με ιωδιούχο διάλυμα (διάλυμα Lugol), θα σχηματιστεί ένα σύμπλεγμα χρωστικής-ιωδίου. Κατά το βήμα αποχρωματισμού, αυτό το σύμπλεγμα παραμένει στην πολυστρωματική δομή μουρείνης του κυτταρικού τοιχώματος Gram-θετικών βακτηρίων - θα εμφανίζονται σκούρο μπλε.

Τα Gram-αρνητικά βακτήρια, αντιθέτως, έχουν ένα κυτταρικό τοίχωμα που αποτελείται από μονοστρωματική δομή μουρείνης και αντιστοίχως ελευθερώνουν εκ νέου τη χρωστική χρώσης με το διάλυμα αποχρωματισμού.

Τα Gram-αρνητικά βακτήρια θα αντιχρώνονται με διάλυμα φουξίνης και θα εμφανίζονται τότε ερυθρά.

Υλικό δείγματος

Σωματικά υγρά, εξίδρωμα, πύον, υγρές ή στερεές καλλιέργειες

Αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου Gram-Color τροποποιημένης (χωρίς φαινόλες)
1.01603.0001 Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram σε βακτηριολογικά επιχρίσματα

Μέρη συσκευασίας:

Αυτό το κιτ χρώσης περιέχει

Αντιδραστήριο 1a: Διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί	100 ml
Αντιδραστήριο 1b: Διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου	100 ml
Αντιδραστήριο 1c: Φιάλη για Αντιδραστήριο 1c (από τα 1a και 1b)	
Αντιδραστήριο 2: Διάλυμα Lugol, σταθεροποιημένο	190 ml
Αντιδραστήριο 3: Διάλυμα αποχρωματισμού	190 ml
Αντιδραστήριο 4: Διάλυμα φουξίνης, χωρίς φαινόλες	190 ml

Προετοιμασία δείγματος

Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται από έμπειρο προσωπικό.

Εφαρμόστε το υλικό του δείγματος σε καθαρή και ελεύθερη από λίπος αντικειμενοφόρο πλάκα χρησιμοποιώντας μια αγκύλη πρόσδεσης. Κατόπιν επαλείψτε το υλικό είτε απευθείας στην αντικειμενοφόρο πλάκα ή αναμείξτε πρώτα με 1 - 2 σταγόνες φυσιολογικού αλατούχου διαλύματος (διάλυμα Ringer). Στεγνώστε στον αέρα και κατόπιν μονιμοποιήστε με θερμότητα τραβώντας αργά την αντικειμενοφόρο πλάκα (με την πλευρά του επιχρίσματος να αντικρίξει προς τα πάνω) μέσω του άνω μέρους φλόγας λύχνου Bunsen για τρεις φορές. Ακολουθώντας, αφήστε να κρυώσει και κάντε τη χρώση. Τα στεγνωθέντα στον αέρα επιχρίσματα πρέπει να μονιμοποιηθούν με θερμότητα πολύ προσεκτικά. Αυτό αποτρέπει τον κίνδυνο λοιμώξεων και μειώνει τη διάλυση του υλικού των δειγμάτων και επομένως τη μόλυνση των διαλυμάτων και άλλων αντικειμενοφόρων πλακών.

Όλα τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία με χρήση προηγμένης τεχνολογίας.

Όλα τα δείγματα πρέπει να φέρουν σαφή σήμανση.

Για τη λήψη και την προετοιμασία των δειγμάτων πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλα όργανα. Ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή για εφαρμογή / χρήση.

Κατά τη χρήση των αντίστοιχων βοηθητικών αντιδραστηρίων, πρέπει να τηρούνται οι αντίστοιχες οδηγίες χρήσης.

Προετοιμασία αντιδραστηρίου

Τα αντιδραστήρια 2, 3 και 4 του Gram-Color τροποποιημένης (χωρίς φαινόλες) - Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram σε βακτηριολογικά επιχρίσματα είναι έτοιμα για χρήση. Η αραιώση αυτών των διαλυμάτων δεν είναι αναγκαία και προκαλεί μόνο αλλοίωση του αποτελέσματος χρώσης και μείωση της σταθερότητάς τους.

Διάλυμα χρώσης (Αντιδραστήριο 1c)

Αναμείξτε το αντιδραστήριο 1a (διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί) και το αντιδραστήριο 1b (διάλυμα όξινου ανθρακικού νατρίου) 1+1 στη φιάλη που παρέχεται (1c).

Αυτό το μείγμα είναι επαρκές για περίπου 65 - 70 δείγματα και μπορεί να αποθηκευτεί σε θερμοκρασία δωματίου για 10 ημέρες και σε ψυγείο για 14 ημέρες αντίστοιχα. Εάν αυτή η ποσότητα φαίνεται πολύ μεγάλη για αυτό το χρονικό διάστημα, συνιστάται να προετοιμάσετε μικρότερη ποσότητα (απαιτούνται περίπου 3 ml ανά πλάκα μικροσκοπίου).

Διαδικασία**Χρώση στον δειγματοφορέα χρώσης**

Οι αναγραφόμενοι χρόνοι θα πρέπει να τηρούνται για τη διασφάλιση ενός βέλτιστου αποτελέσματος χρώσης.

Αντικειμενοφόρος πλάκα με μονιμοποιημένο επίχρισμα		
Αντιδραστήριο 1c (αυτοπαρασκευασμένο διάλυμα χρώσης)	καλύψτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	1 λεπτά
Απεσταγμένο νερό	εκπλύνετε προσεκτικά	5 δευτ.
Αντιδραστήριο 2 (διάλυμα Lugol, σταθεροποιημένο)	καλύψτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	1 λεπτά
Απεσταγμένο νερό	εκπλύνετε προσεκτικά	5 δευτ.
Αντιδραστήριο 3 (διάλυμα αποχρωματισμού)	καλύψτε πλήρως	5 - 10 δευτ.
Απεσταγμένο νερό	εκπλύνετε προσεκτικά	5 δευτ.
Αντιδραστήριο 4 (διάλυμα φουξίνης, χωρίς φαινόλες)	καλύψτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	15 - 30 δευτ.
Απεσταγμένο νερό	εκπλύνετε προσεκτικά	5 δευτ.
Στεγνώστε στον αέρα [π.χ. όλη τη νύχτα (8 ώρες) ή σε 50 °C στον θάλαμο ξήρανσης]		

Η κάλυψη με μη υδατικά μέσα στερέωσης (π.χ. Neo-Mount™, Entellan™ ή DPX new) και μια καλυπτρίδα συνιστώνται για τη φύλαξη των βακτηριολογικών δειγμάτων για αρκετούς μήνες. Για τον σκοπό αυτό, τα χρωσθέντα δείγματα πρέπει να στεγνώνονται πολύ καλά.

Η χρήση ελαίου εμβάπτισης συνιστάται για την ανάλυση πλακών που έχουν υποβληθεί σε χρώση με μεγέθυνση μικροσκοπίου >40x.

Αποτέλεσμα

Gram-θετικοί μικροοργανισμοί σκούρο μπλε
Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί κόκκινο

Αντιμετώπιση προβλημάτων

Μονιμοποίηση δειγμάτων επιχρίσματος

Επαρκής βαθμός μονιμοποίησης με θερμότητα με λύχνο Bunsen ή σε θάλαμο θέρμανσης είναι βασικής σημασίας για την αποφυγή πιθανότητας μόλυνσης των δειγμάτων και περαιτέρω πολλαπλασιασμού των βακτηρίων.

Μη χρώση των gram-θετικών βακτηρίων

Το κρίσιμο στάδιο της διαδικασίας χρώσης Gram είναι το στάδιο αποχρωματισμού, που μπορεί να επηρεαστεί από το πάχος του επιχρίσματος. Επιπλέον, ένα φρέσκο διάλυμα αποχρωματισμού είναι πολύ αντιδρόν. Ως εκ τούτου, το αποτέλεσμα πρέπει να αξιολογείται με προσοχή. Κατά το βήμα αποχρωματισμού, ο χρήστης θα πρέπει να τηρεί τους ακριβείς χρόνους επώασης, που περιγράφονται στο πρωτόκολλο, επειδή διαφορετικά μπορεί να προκύψουν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα.

Τεχνικές σημειώσεις

Το μικροσκόπιο που χρησιμοποιείται θα πρέπει να πληροί τις απαιτήσεις ενός ιατρικού διαγνωστικού εργαστηρίου.

Όταν χρησιμοποιούνται συστήματα αυτόματης χρώσης, παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης που παρέχονται από τον προμηθευτή του συστήματος και του λογισμικού.

Αφαιρέστε το επιπλέον έλαιο εμφάπισης πριν από την αρχειοθέτηση.

Χαρακτηριστικά αναλυτικής απόδοσης

Το «Gram-Color τροποποιημένης (χωρίς φαινόλες) - Σετ χρώσης» χρωματίζει και κατ' αυτόν τον τρόπο απεικονίζει βιολογικές δομές, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο «Αποτέλεσμα» αυτών των οδηγιών χρήσης. Το προϊόν περιέχει να χρησιμοποιείται μόνο από εξουσιοδοτημένα και εξειδικευμένα άτομα και η χρήση του περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, την προετοιμασία δειγμάτων και αντιδραστηρίων, τον χειρισμό δειγμάτων, τη λήψη αποφάσεων σχετικά με τους κατάλληλους μάρτυρες και άλλα.

Η αναλυτική απόδοση του προϊόντος επιβεβαιώνεται με τον έλεγχο κάθε παρτίδας παραγωγής. Η επιτυχής συμμετοχή σε διεθνείς διεργαστηριακές δοκιμές σε τακτική βάση παρέχει επιπρόσθετη και ανεξάρτητη επιβεβαίωση της αναλυτικής ειδικότητας και επαναληψιμότητας.

Για τις ακόλουθες χρώσεις επιβεβαιώθηκε η αναλυτική απόδοση όσον αφορά την ειδικότητα, την ευαισθησία και την επαναληψιμότητα του προϊόντος με ποσοστό 100%:

	Ειδικότητα μεταξύ προσδιορισμών	Ευαισθησία μεταξύ προσδιορισμών	Ειδικότητα εντός του προσδιορισμού	Ευαισθησία εντός του προσδιορισμού
Χρώση Gram				
Gram-θετικοί μικροοργανισμοί	12/12	12/12	8/8	8/8
Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί	12/12	12/12	8/8	8/8

Αποτελέσματα αναλυτικής απόδοσης

Τα δεδομένα εντός του προσδιορισμού (στην ίδια παρτίδα) και μεταξύ των προσδιορισμών (σε διαφορετικές παρτίδες) δείχνουν τον αριθμό των δομών που χρωματίστηκαν ορθά σε σχέση με τον αριθμό των προσδιορισμών που εκτελέστηκαν.

Χαρακτηριστικά κλινικής απόδοσης

Το Gram-Color τροποποιημένης (χωρίς φαινόλες) - Σετ χρώσης χρησιμοποιείται με επιτυχία στο κλινικό περιβάλλον εδώ και δεκαετίες σε μεγάλο αριθμό εφαρμογών.

Η κλινική απόδοση του Gram-Color τροποποιημένης (χωρίς φαινόλες) - Σετ χρώσης προσδιορίστηκε συγκεκριμένα με τον καθορισμό της ευαισθησίας και ειδικότητάς του σε μια εσωτερική μελέτη:

Gram-θετικοί μικροοργανισμοί

	Χρώση Gram
Ευαισθησία	14/15
Ειδικότητα	15/15

Ευαισθησία: 14 στα 15 δείγματα: 93,3%

Ειδικότητα: 15 στα 15 δείγματα: 100%

Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί

	Χρώση Gram
Ευαισθησία	15/15
Ειδικότητα	14/15

Ευαισθησία: 15 στα 15 δείγματα: 100%

Ειδικότητα: 14 στα 15 δείγματα: 93,3%

Τα αποτελέσματα από αυτήν την αξιολόγηση της απόδοσης επιβεβαιώνουν ότι το προϊόν είναι αξιόπιστο και κατάλληλο για τη χρήση για την οποία προορίζεται.

Ωστόσο, η διαγνωστική ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης πρέπει να πραγματοποιείται από εξειδικευμένους και εξουσιοδοτημένους επαγγελματίες, λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό του ασθενούς, τη μορφολογία, τη χρήση επαρκών μαρτύρων και επιπρόσθετες διαγνωστικές εξετάσεις, κατά περίπτωση. Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί συμπληρωματικά για τη διάγνωση στους ανθρώπους.

Διάγνωση

Οι διαγνώσεις θα πρέπει να γίνονται μόνο από αρμόδιο και εξουσιοδοτημένο προσωπικό.

Θα πρέπει να χρησιμοποιείται έγκυρη ονοματολογία.

Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί συμπληρωματικά για τη διάγνωση στους ανθρώπους.

Θα πρέπει να επιλεγούν και να εφαρμοστούν περισσότερες δοκιμασίες σύμφωνα με αναγνωρισμένες μεθόδους.

Κατάλληλοι έλεγχοι θα πρέπει να διεξάγονται με κάθε εφαρμογή για την αποφυγή λανθασμένου αποτελέσματος.

Το σετ χρώσης μπορεί να ελεγχθεί με Gram-θετικά βακτήρια και με Gram-αρνητικά βακτήρια.

Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται βακτήρια που λαμβάνονται από ένα μέσο καλλιέργειας μετά από 18 - 24 ώρες επώασης.

Φύλαξη

Να φυλάσσεται το Gram-Color τροποποιημένης (χωρίς φαινόλες) - Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram σε βακτηριολογικά επιχρίσματα για σε θερμοκρασία +15 °C έως +25 °C.

Σε θερμοκρασίες κάτω των 15 °C ένα χρωματιστό ίζημα μπορεί να σχηματιστεί από τα διαλύματα χρωστικής. Εάν σχηματιστεί ίζημα, τοποθετήστε τη φιάλη για 2 - 3 ώρες σε υδατόλουτρο ρυθμισμένο στους περίπου 60 °C. Αυτό θα προκαλέσει την εκ νέου διάλυση του μεγαλύτερου μέρους του ιζήματος. Ακολουθώντας, διηθήστε τα διαλύματα χρώσης μέσω ενός χάρτινου φίλτρου.

Διάρκεια ζωής

Το Gram-Color τροποποιημένης (χωρίς φαινόλες) - Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram σε βακτηριολογικά επιχρίσματα για μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.

Μετά το πρώτο άνοιγμα της φιάλης, το περιεχόμενο μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως και την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης όταν αποθηκεύεται σε θερμοκρασία +15 °C έως +25 °C.

Οι φιάλες πρέπει να διατηρούνται ερμητικά κλειστές συνεχώς.

Το Αντιδραστήριο 1c (αυτοπαρασκευασμένο διάλυμα χρώσης) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για έως και 10 ημέρες όταν αποθηκεύεται σε θερμοκρασία +15 °C έως +25 °C και 14 ημέρες όταν αποθηκεύεται σε θερμοκρασία +2 °C έως +8 °C.

Ικανότητα

Η συσκευασία επαρκεί για 65 - 70 εφαρμογές.

Πρόσθετες οδηγίες

Για επαγγελματική χρήση μόνο.

Για την αποφυγή σφαλμάτων, η εφαρμογή πρέπει να πραγματοποιείται μόνο από έμπειρο προσωπικό.

Θα πρέπει να ακολουθούνται οι εθνικές κατευθυντήριες γραμμές για την ασφάλεια στην εργασία και τη διασφάλιση ποιότητας.

Πρέπει να χρησιμοποιούνται μικροσκόπια εξοπλισμένα σύμφωνα με τα πρότυπα.

Εάν απαιτείται χρησιμοποιήστε μια πρότυπη φυγόκεντρο κατάλληλη για ιατρικό διαγνωστικό εργαστήριο.

Προστασία από λοίμωξη

Θα πρέπει να λαμβάνονται αποτελεσματικά μέτρα για την προστασία από λοίμωξη σύμφωνα με τις εργαστηριακές κατευθυντήριες γραμμές.

Οδηγίες απόρριψης

Η συσκευασία πρέπει να απορρίπτεται σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες απόρριψης.

Τα χρησιμοποιημένα διαλύματα και τα διαλύματα των οποίων η ημερομηνία λήξης έχει παρέλθει πρέπει να απορρίπτονται ως ειδικά απόβλητα σύμφωνα με τις τοπικές κατευθυντήριες γραμμές. Οι πληροφορίες για την απόρριψη παρέχονται στον σύνδεσμο «Hints for Disposal of Microscopy Products» (Συμβουλές για την απόρριψη των προϊόντων μικροσκοπίας) στη διεύθυνση www.micromicroscopy-products.com. Εντός της ΕΕ, ο τρεχόντως εφαρμοζόμενος ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ είναι ο κανονισμός (ΕΚ) Αρ. 1272/2008 για την ταξινόμηση, την επισήμανση και τη συσκευασία των ουσιών και των μειγμάτων, την τροποποίηση και την κατάργηση των Οδηγιών 67/548/ΕΟΚ και 1999/45/ΕΚ, και την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αρ. 1907/2006.

Βοηθητικά αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου 1.00579	DPX νέο μη υδατικό μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	500 ml
Αρ. καταλόγου 1.04699	Έλαιο εμφάπισης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.07961	Entellan™ νέο μέσο ταχείας στερέωσης για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 1 l
Αρ. καταλόγου 1.09016	Neo-Mount™ άνυδρο επικαλυπτικό μέσο για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.15525	Δισκία RINGER για παρασκευή διαλύματος RINGER	100 tabs

Ταξινόμηση κινδύνου

Αρ. καταλόγου 1.01603.0001

Παρακαλούμε ανατρέξτε στην ταξινόμηση κινδύνου που είναι εκτυπωμένη επί της ετικέτας και στις πληροφορίες που παρέχονται στο φύλλο δεδομένων ασφαλείας.

Το φύλλο δεδομένων ασφαλείας διατίθεται στον ιστότοπο και κατόπιν αιτήματος.

ΠΡΟΣΟΧΗ! Περιέχει ουσίες που είναι καρκινογόνες, μεταλλαξιογόνες ή τοξικές για την αναπαραγωγή (ΚΜΤ). Τηρείτε τις αντίστοιχες οδηγίες ασφαλείας που αναφέρονται στο δελτίο δεδομένων ασφαλείας.

Κύρια συστατικά των προϊόντων

Αρ. καταλόγου 1.01603.0001

Αντιδραστήριο 1a

C.I. 42555 20 g/l
1 l = 0,99 kg

Αντιδραστήριο 1b

NaHCO₃ 25 g/l

Αντιδραστήριο 2

Πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP)-Ιώδιο 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Αντιδραστήριο 3

C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Αντιδραστήριο 4

C.I. 42510 ή 42520* 0,9 g/l
C₂H₆O 79 g/l

* Αμφότερες οι χρωστικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή ενός διαλύματος. Η ευαισθησία και η ειδικότητα του αποτελέσματος χρώσης θα είναι η ίδια.

Γενική παρατήρηση

Εάν κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή εξαιτίας της χρήσης της, προκληθεί σοβαρό συμβάν, να το αναφέρετε στον κατασκευαστή και/ή στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του καθώς και στις εθνικές αρχές.

Δογοτεχνία

- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
- Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
- Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.

H318: Προκαλεί σοβαρή οφθαλμική βλάβη.

H336: Μπορεί να προκαλέσει υπνηλία ή ζάλη.

H351: Ύποπτο για πρόκληση καρκίνου.

H412: Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

P202: Μην το χρησιμοποιήσετε πριν διαβάσετε και κατανοήσετε τις οδηγίες προφύλαξης.

P210: Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνή φλόγα και άλλες πηγές ανάφλεξης. Μην καπνίζετε.

P273: Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.

P280: Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/ το πρόσωπο.

P305 + P351 + P338: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Αν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, αν είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

P308 + P313: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: Συμβουλευθείτε/ Επισκεφθείτε γιατρό.

Αντιδραστήριο 1a:

H226: Υγρό και ατμοί εύφλεκτα.

H319: Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

H351: Ύποπτο για πρόκληση καρκίνου.

H412: Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

Αντιδραστήριο 2:

H318: Προκαλεί σοβαρή οφθαλμική βλάβη.

H412: Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

Αντιδραστήριο 3:

H225: Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.

H319: Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

H336: Μπορεί να προκαλέσει υπνηλία ή ζάλη.

Αντιδραστήριο 4:

H226: Υγρό και ατμοί εύφλεκτα.

Ιστορικό αναθεώρησης

Έκδοση	Σχόλιο τροποποίησης
2024-Jul-22	Αρχική έκδοση με την εισαγωγή του ιστορικού αναθεώρησης

H Life Science Business της Merck λειτουργεί ως MilliporeSigma στις Η.Π.Α. και τον Καναδά

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany και/ή οι συνδεδεμένες αυτής εταιρείες. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Το Merck και το Sigma-Aldrich είναι εμπορικά σήματα της Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους. Λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τα εμπορικά σήματα είναι διαθέσιμες μέσω πόρων που διατίθενται δημοσίως.



Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης



Κατασκευαστής



Αριθμός καταλόγου



Κωδικός παρτίδας



Προσοχή, συμβουλευθείτε τα συνοδά έντυπα



Χρήση έως ΕΕΕΕ-ΜΜ-ΗΗ



Όρια θερμοκρασίας

Status: 2024-Jul-22



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF**

Mikroskopi

Gram-Color modifierad (fenolfri)

färgningskit för gramfärgning på bakteriologiska utstryk

Endast för yrkesmässig användning

IVDMedicinteknisk enhet för diagnostik *In Vitro*

Avsett syfte

"Gram-Color modifierad (fenolfri) - färgningskit för gramfärgning på bakteriologiska utstryk" används till humanmedicinsk celldiagnostik vid bakteriologisk undersökning av provmaterial av mänskligt ursprung. Det är en bruksfärdig färgningssats som, när den används tillsammans med andra produkter för in vitro-diagnostik från vår portfölj, gör målstrukturer (grampositiva och gramnegativa bakterier) genom fixering, färgning, montering och montering i bakteriologiska provmaterial, t.ex. utstryk av kroppsvätskor - vilket gör dem utvärderingsbara i diagnostiskt syfte.

Färgningssatsen används till modifierad gramfärgning. Lösningarna för modifierad gramfärgning modifieras och utformas på ett sådant sätt att färgningen kan utföras på färgningsställ.

Ofärgade strukturer har relativt låg kontrast och är extremt svåra att särskilja i ljusmikroskop. De bilder som skapas med färgningslösningen underlättar för den behöriga och kvalificerade forskaren att bättre definiera formen och strukturen i sådant fall. Ytterligare tester måste utföras enligt erkända, validerade metoder för att ställa en slutlig diagnos.

Princip

I bakteriologi möjliggör gramfärgning en snabb differentiering av grampositiva och gramnegativa bakterier.

Bakterieväggens mureinstruktur utgör färgaffinitetens grund. I det första steget färgas bakterierna med kristallviolett, ett anilinfärgämne. Efter behandling med jodlösning (Lugols lösning) bildas ett komplex av färgämne och jod. Under avfärgningssteget förblir detta komplex i den mureinstruktur med flera skikt som grampositiva bakteriers cellväggar består av - och får en mörkblå färg.

Gramnegativa bakterier har däremot en cellvägg som består av en mureinstruktur med ett skikt, varför färgningsämnet frisätts med avfärgningslösningen. Gramnegativa bakterier motfärgas med fuksinlösning och blir då röda.

Provmaterial

Kroppsvätskor, exsudat, pus, flytande eller fasta odlingar

Reagens

Kat.nr. Gram-Color modifierad (fenolfri)
1.01603.0001 färgningskit för gramfärgning på bakteriologiska utstryk

Paketinnehåll:

Färgningssatsen innehåller:

Reagens 1a: Kristallviolettlösning	100 ml
Reagens 1b: Natriumvätekarbonatlösning	100 ml
Reagens 1c: Flaska till reagens 1c (av 1a och 1b)	
Reagens 2: Lugols lösning, stabiliserad	190 ml
Reagens 3: Avfärgningslösning	190 ml
Reagens 4: Fuksinlösning, fenolfri	190 ml

Provberedning

Provtagningen måste utföras av kvalificerad personal.

Applicera provmaterialet på ett rent och fettfritt objektglas med en härdad loop. Stryk antingen ut materialet direkt på objektglaset eller blanda det först med 1-2 droppar fysiologisk saltlösning (Ringers lösning). Lufttorka och värmefixera sedan genom att långsamt dra objektglaset (utstrykssidan uppåt) genom den övre delen av en Bunsenbrännarens låga tre gånger. Låt svalna och infärgas.

Lufttorkade utstryk måste värmefixeras mycket noggrant. Det förebygger risken för infektioner och minskar provmaterialets upplösning och därigenom kontaminering av lösningar och andra objektglas.

Alla prover måste bearbetas med modern teknik.

Alla prover måste märkas tydligt.

Lämpliga instrument ska användas för provtagning och provberedning. Följ tillverkarens instruktioner för applicering/användning.

Vid användning av respektive hjälpreagenser måste respektive bruksanvisningar följas.

Reagensberedning

Reagensen 2, 3 och 4 i Gram-Color modifierad (fenolfri) - färgningskit för gramfärgning på bakteriologiska utstryk är bruksfärdiga. Spädning av lösningarna inte är nödvändig - det resulterar i ett försämrat färgningsresultat och en försämrad färgningsstabilitet.

Färgningslösning (Reagens 1c)

Blanda reagens 1a (kristallviolettlösningen) och reagens 1b (natriumvätekarbonatlösningen) 1 + 1 i den medföljande flaskan (1c).

Blandningen räcker till ca 65-70 prover och kan förvaras vid rumstemperatur i tio dagar. I kylskåp håller den 14 dagar. Om den mängden verkar vara onödigt stor kan du bereda en mindre mängd (ca 3 ml behövs per objektglas).

Förfarande

Färgning på färgningsställ

De angivna tiderna ska följas för att ett optimalt färgningsresultat ska kunna garanteras.

Objektglas med fixerat utstryk		
Reagens 1c (egenberedd färgningslösning)	täck fullständigt och låt reagera	1 min.
Destillerat vatten	skölj noggrant	5 s
Reagens 2 (Lugols lösning, stabiliserad)	täck fullständigt och låt reagera	1 min.
Destillerat vatten	skölj noggrant	5 s
Reagens 3 (avfärgande lösning)	täck fullständigt	5 - 10 s
Destillerat vatten	skölj noggrant	5 s
Reagens 4 (fuksinlösning, fenolfri)	täck fullständigt och låt reagera	15 - 30 s
Destillerat vatten	skölj noggrant	5 s
Lufttorka (t.ex. över natten eller vid 50 °C i torkskåp)		

Det rekommenderas att täcka med icke-vattenhaltiga monteringsmedier (t.ex. Neo-Mount™, Entellan™ eller DPX ny) och täckglas om de bakteriologiska proverna ska förvaras i flera månader. De infärgade proverna måste också torkas mycket ordentligt om så är fallet.

Det rekommenderas att immersionsolja används för analys av infärgade objektglas med en mikroskopisk förstoring på >40 x.

Resultat

Grampositiva mikroorganismer mörkblå

Gramnegativa mikroorganismer röda

Felsökning

Fixering av utstryksprover

Tillräcklig värmefixering med en Bunsenbrännare eller ett värmeskåp är viktigt för att förebygga provernas infektiösa potential såväl som ytterligare bakteriell proliferation.

Ingen färgning av grampositiva bakterier

Vid gramfärgning är avfärgningssteget det kritiska skedet då utstrykets tjocklek kan ha en inverkan. En färsk avfärgningslösning är mycket reaktiv, så resultatet ska utvärderas noggrant. Under avfärgningssteget måste användaren följa de exakta inkubationstiderna som anges i protokollet. Annars kan resultaten bli falskt negativa.

Tekniska anmärkningar

Mikroskopet som används ska uppfylla kraven för ett laboratorium för medicinsk diagnostik.

Om ett automatiskt färgningssystem används ska du följa bruksanvisningen från leverantören av systemet och programvaran

Ta bort överskott av immersionsolja före inmatningen.

Analytiska prestandaegenskaper

"Gram-Color modifierad (fenolfri) - färgningskit" infärgar och visualiserar därmed biologiska strukturer enligt beskrivningen i kapitlet "Resultat" i den här bruksanvisningen. Produkten får bara användas av behöriga och kvalificerade personer för bland annat prov- och reagenspreparering, provhantering, val av lämpliga kontroller med mera.

Produktens analytiska prestanda bekräftas genom att varje produktionssats testas. Regelbundet och framgångsrikt deltagande i internationella jämförande laboratorietester ger ytterligare och opartisk verifiering av analytisk specificitet och repeterbarhet.

För följande infärgningar verifierades analytiska prestanda avseende specificitet, känslighet och repeterbarhet hos produkten i 100 % av fallen:

	Specificitet mellan analyser	Känslighet mellan analyser	Specificitet inom en analys	Känslighet inom en analys
Gramfärgning				
Grampositiva mikroorganismer	12/12	12/12	8/8	8/8
Gramnegativa mikroorganismer	12/12	12/12	8/8	8/8

Analytiska prestandaresultat

Intradata (erhållna från samma sats) och interdata (erhållna från olika sats) anger antalet korrekt infärgade strukturer i förhållande till antalet genomförda analyser.

Kliniska prestandaegenskaper

Gram-Color modifierad (fenolfri) - färgningskit har använts med lyckat resultat i klinisk miljö i flera decennier inom många olika användningsområden.

I synnerhet har klinisk prestanda för Gram-Color modifierad (fenolfri) - färgningskit bestämts genom att fastställa känslighet och specificitet i en intern studie:

Grampositiva mikroorganismer

	Gramfärgning
Känslighet	14/15
Specificitet	15/15

Känslighet: 14 prover av 15: 93,3 %

Specificitet: 15 prover av 15: 100 %

Gramnegativa mikroorganismer

	Gramfärgning
Känslighet	15/15
Specificitet	14/15

Känslighet: 15 prover av 15: 100 %

Specificitet: 14 prover av 15: 93,3 %

Resultatet av prestandautvärderingen bekräftar att produkten är lämplig för den avsedda användningen och fungerar tillförlitligt.

Men den diagnostiska tolkningen av infärgningsresultatet ska utföras av kvalificerade och behöriga yrkesverksamma personer med hänsyn till patientanamnes, morfologi, användning av adekvata kontroller och eventuella andra diagnostiska test. Den här metoden kan användas som tillägg vid humandiagnostik.

Diagnostik

Diagnoser ska ställas av behörig och kvalificerad personal.

Giltiga nomenklaturer måste användas.

Den här metoden kan användas som tillägg vid humandiagnostik.

Ytterligare tester måste väljas och genomföras i enlighet med erkända metoder.

Lämpliga kontroller ska genomföras med varje applicering för att undvika ett felaktigt resultat.

Färgningsuppsättningen kan styras med grampositiva bakterier och gramnegativa bakterier.

Bakterier tagna från ett odlingsmedium efter 18–24 timmars inkubation ska användas.

Förvaring

Förvara Gram-Color modifierad (fenolfri) - färgningskit för gramfärgning på bakteriologiska utstryk vid +15 °C till +25 °C.

Vid temperaturer under +15 °C kan en färgad fällning sedimentera ut ur färgämneslösningarna. Om utfällning uppstår placerar du flaskan i ett vattenbad inställt på ca 60 °C under 2–3 timmar. På så vis upplöses det mesta av utfällningen. Filtrera därefter färgningslösningarna genom ett pappersfilter.

Hållbarhetstid

Gram-Color modifierad (fenolfri) - färgningskit för gramfärgning på bakteriologiska utstryk kan användas fram till angivet utgångsdatum.

När flaskan har öppnats för första gången kan innehållet användas fram till angivet utgångsdatum om den förvaras vid +15 °C till +25 °C.

Flaskorna måste alltid vara väl tillslutna.

Reagens 1c (egenberedd färgningslösning) kan användas i högst tio dagar om den förvaras vid +15 °C till +25 °C och 14 dagar om den förvaras vid +2 °C till +8 °C.

Kapacitet

Paketet räcker till 65–70 appliceringar.

Ytterligare instruktioner

Endast för yrkesmässig användning.

För att undvika fel får appliceringen endast utföras av kvalificerad personal. Nationella riktlinjer för arbetsskydd och kvalitetssäkring måste följas.

Mikroskop som används måste vara utrustade enligt standard.

Använd om nödvändigt en standardcentrifug som är lämplig i laboratorier för medicinsk diagnostik.

Skydd mot infektion

Effektiva åtgärder måste vidtas för att skydda mot infektion i linje med laboratoriets riktlinjer.

Instruktioner för avfallshantering

Paketet måste kasseras i enlighet med gällande riktlinjer för avfallshantering.

Använda lösningar och lösningar som passerat utgångsdatum måste tas om hand som farligt avfall i enlighet med lokala riktlinjer. Information om avfallshantering finns under snabbblänken "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Tips för kassering av mikroskopiproducter) på www.microscopy-products.com. Inom EU gäller förordning (EG) nr 1272/2008 om klassificering, märkning och förpackning av ämnen och blandningar, ändring och upphävande direktiv 67/548/EEG och 1999/45/EG och ändring av förordning (EG) nr 1907/2006 tillämpas.

Hjälpreagens

Kat.nr. 1.00579	DPX ny vattenfritt monteringsmedium för mikroskopi	500 ml
Kat.nr. 1.04699	Immersionssolja för mikroskopi	100 ml droppflaska, 100 ml, 500 ml
Kat.nr. 1.07961	Entellan™ ny snabbt monteringsmedium för mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr. 1.09016	Neo-Mount™ vattenfritt monteringsmedel för mikroskopi	100 ml droppflaska, 500 ml
Kat.nr. 1.15525	Ringer-tabletter för beredning av Ringers lösning	100 tabs

Faroklassificering

Kat.nr. 1.01603.0001

Observera faroklassificeringen på etiketten och uppgifterna i säkerhetsdatabladet.

Säkerhetsdatabladet finns på webbplatsen och går att få på begäran. VAR FÖRSIKTIG! Innehåller CMR-ämnen. Beakta respektive säkerhetsanvisningar i säkerhetsdatabladet.

Produkternas huvudsakliga beståndsdelar

Kat.nr. 1.01603.0001

Reagens 1a
Färgindex 45380 5,0 g/l
1 l = 0,99 kg

Reagens 1b
NaHCO₃ 25 g/l

Reagens 2
PVP-Jod 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Reagens 3
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reagens 4
Färgindex 42510 eller 42520* 0,9 g/l
C₂H₆O 79 g/l

* Båda färgämnen kan användas vid beredning av en lösning – färgningsresultatets sensitivitet och specificitet blir desamma.

Generell anmärkning

Om en allvarlig händelse inträffat vid eller som ett resultat av användning av den här enheten ska den rapporteras till tillverkaren eller dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Litteratur

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga.

H318: Orsakar allvarliga ögonskador.

H336: Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad.

H351: Misstänks kunna orsaka cancer.

H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

P202: Använd inte produkten innan du har läst och förstått säkerhetsanvisningarna.

P210: Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppen låga eller andra antändningskällor. Rökning förbjuden.

P273: Undvik utsläpp till miljön.

P280: Använd skyddshandskar/ skyddskläder/ ögonskydd/ ansiktsskydd.

P305 + P351 + P338: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

P308 + P313: Vid exponering eller misstanke om exponering. Sök läkarhjälp.

Reagens 1a:

H226: Brandfarlig vätska och ånga.

H319: Orsakar allvarlig ögonirritation.

H351: Misstänks kunna orsaka cancer.

H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

Reagens 2:

H318: Orsakar allvarliga ögonskador.

H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

Reagens 3:

H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga.

H319: Orsakar allvarlig ögonirritation.

H336: Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad.

Reagens 4:

H226: Brandfarlig vätska och ånga.

Revisionshistorik

Version	Ändringskommentar
2024-Jul-22	Första version med införande av revisionshistorik



Se bruksanvisningen



Tillverkare



Katalognummer



Satskod



Försiktighet, se medföljande dokument



Används före
ÅÅÅÅ-MM-DD



Temperaturbegränsning

Status: 2024-Jul-22

Life Science Business som tillhör Merck är verksamt som MilliporeSigma i US och Kanada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany och/eller dess dotterbolag. Med ensamrätt. Merck och Sigma-Aldrich är varumärken som tillhör Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Alla andra varumärken tillhör respektive ägare. Detaljer om varumärkena kan hittas i allmänt tillgängliga resurser.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Mikroskopie****Gram-Color modifikace (bez fenolu)**

barvicí souprava pro barvení dle Grama pro bakteriologické kultivační nátěry

Pouze pro profesionální použití**IVD**Zdravotnický prostředek pro diagnostiku *In Vitro***Zamýšlený účel**

Tato souprava „Gram-Color modifikace (bez fenolu) – barvicí souprava pro barvení dle Grama pro bakteriologické kultivační nátěry“ se používá k buněčné diagnostice v oblasti humánní medicíny a slouží k bakteriologickému vyšetření materiálu vzorků lidského původu. Jedná se o barvicí soupravu k přímému použití, která v případě použití společně s jinými výrobky pro diagnostiku *In Vitro* z našeho portfolia poskytuje v materiálu bakteriologického vzorku, například v nátěrech tělních tekutin, cílové struktury (grampozitivní nebo gramnegativní bakterie) po jejich fixaci, barvení, kontrastním barvení, montování, které lze hodnotit pro diagnostické účely.

Gram-Color modifikace je barvicí souprava, které se používá k modifikovanému barvení dle Grama.

Roztoky v soupravě Gram-Color modifikace jsou modifikovány a navrženy takovým způsobem, aby barvení bylo možné provádět v barvicím stojánku.

Nebarvené struktury mají naopak relativně nízký kontrast a je velmi obtížné je rozlišit pod světelným mikroskopem. V takových případech pomáhají autorizovanému a kvalifikovanému výzkumnému pracovníkovi lépe definovat formu a strukturu snímků získané použitím barvicích roztoků. Ke stanovení definitivní diagnózy je třeba provést další testy podle uznávaných platných metod.

Princip

V bakteriologii barvení dle Grama umožňuje rychlé rozlišení bakterií na grampozitivní a gramnegativní.

Mureinová struktura bakteriální buněčné stěny představuje základ pro afinitu k barvivu.

V prvním kroku se bakterie barví krystalovou violetí, což je anilínové barvivo. Po zalití roztokem jódu (Lugolovým roztokem) se vytvoří komplex barviva s jódem. Během odbarvovacího kroku tento komplex zůstane ve vícevrstvé mureinové struktuře buněčné stěny grampozitivní bakterie – tyto bakterie se jeví jako tmavě modré.

Gramnegativní bakterie naproti tomu mají buněčnou stěnu sestávající z jednovrstvé mureinové struktury a odbarvovací roztok tudíž barvivo z jejich stěny opět uvolní. Gramnegativní bakterie se kontrastně obarví roztokem fuchsínu a poté se jeví jako červené.

Materiál vzorku

Tělní tekutiny, exsudát, hnis, kultury v kapalných či na pevných médiích

Činidla

Kat. č. 1.01603.0001 Gram-Color modifikace (bez fenolu) barvicí souprava pro barvení dle Grama pro bakteriologické kultivační nátěry

Složky balení:

Obsah barvicí soupravy

Činidlo 1a:	Roztok krystalové violeti	100 ml
Činidlo 1b:	Roztok hydrogenuhličitanu sodného	100 ml
Činidlo 1c:	Lahvička pro činidlo 1c (sestavující z 1a a 1b)	
Činidlo 2:	Lugolův roztok, stabilizováno	190 ml
Činidlo 3:	Odbarvovací roztok	190 ml
Činidlo 4:	Roztok fuchsínu, bez fenolu	190 ml

Příprava vzorku

Odběr vzorku musí provést kvalifikovaný personál.

Materiál vzorku naneste vyžíhanou kličkou na čisté a odmaštěné sklíčko. Materiál poté rozetřete na sklíčko buď přímo, nebo jej nejprve smíchejte s 1–2 kapkami fyziologického roztoku (Ringerova roztoku). Ponechte volně uschnout a poté proveďte tepelnou fixaci trojnásobným pomalým protažením sklíčka (stranou s nátěrem směrem nahoru) horní částí plamene z Bunsenova kahanu. Sklíčko poté ponechte zchladnout a obarvěte.

Tepelnou fixaci volně uschlých nátěrů je nutno provést velmi pečlivě. Zabrání se tak riziku infekce a omezí se rozšíření materiálu vzorku a tedy kontaminace roztoků a dalších sklíček.

Se všemi vzorky je nutné nakládat za použití nejmodernější technologie. Všechny vzorky musejí být jasně označené.

K odběru vzorků a jejich přípravě je nutné použít vhodné nástroje. Dodržujte pokyny výrobce týkající se aplikace/použití.

Při použití odpovídajících pomocných činidel je třeba dodržovat příslušné pokyny k použití.

Příprava činidla

Činidla 2, 3 a 4 soupravy Gram-Color modifikace (bez fenolu) – barvicí soupravy pro barvení dle Grama pro bakteriologické kultivační nátěry jsou určena k přímému použití, ředění roztoků není nutné a pouze vede ke zhoršení výsledného obarvení a jeho stability.

Barvicí roztok (činidlo 1c)

V dodané lahvičce (1c) smíchejte činidlo 1a (roztok krystalové violeti) a činidlo 1b (roztok hydrogenuhličitanu sodného) v poměru 1+1. Tato směs stačí na přibližně 65–70 vzorků a lze ji skladovat 10 dní při pokojové teplotě, případně 14 dní v chladničce. Jestliže se dané množství jeví pro uvedené období jako příliš velké, doporučuje se připravit menší množství (na jedno mikroskopické sklíčko jsou potřeba přibližně 3 ml).

Postup**Barvení v barvicím stojánku**

Uvedené časy by měly být dodrženy, aby byl zaručen optimální výsledek barvení.

Sklíčko s fixovaným nátěrem		
Činidlo 1c (uživatelé připravují barvicí roztok)	úplně pokryjte a nechte reagovat	1 min
Destilovaná voda	pečlivě opláchněte	5 sekundy
Činidlo 2 (Lugolův roztok, stabilizováno)	úplně pokryjte a nechte reagovat	1 min
Destilovaná voda	pečlivě opláchněte	5 sekundy
Činidlo 3 (odbarvovací roztok)	úplně pokryjte	5–10 sekundy
Destilovaná voda	pečlivě opláchněte	5 sekundy
Činidlo 4 (roztok fuchsínu, bez fenolu)	úplně pokryjte a nechte reagovat	15–30 sekundy
Destilovaná voda	pečlivě opláchněte	5 sekundy
Ponechte volně uschnout (např. přes noc nebo v sušárně při 50 °C)		

V případě skladování bakteriologických vzorků po několik měsíců se doporučuje překrytí nevodným montovacím médiem (např. Neo-Mount™, Entellan™ nebo DPX nový) a použití krycího sklíčka. Pro tyto účely musejí být barvené vzorky velmi dobře vysušené.

Při analýze obarvených nátěrů pod mikroskopem při více než 40násobném zvětšení se doporučuje používat imerzní olej.

Výsledek

Grampozitivní mikroorganismy tmavě modré
Gramnegativní mikroorganismy červené

Odstraňování potíží**Fixace nátěrů vzorků**

Pro prevenci infekčního potenciálu vzorků a další proliferace bakterií je nezbytný dostatečný stupeň tepelné fixace pomocí Bunsenova kahanu nebo v horké komoře.

Nezbarvení grampozitivních bakterií

Kritickou fází postupu barvení dle Grama je krok odbarvení, který může být ovlivněn tloušťkou nátěru. Čerstvý odbarvovací roztok je navíc vysoce reaktivní, proto je třeba výsledky hodnotit s obezřetností. Během kroku odbarvení by uživatel měl přesně dodržovat doby inkubace popsané v protokolu, protože jinak by mohl získat falešně negativní výsledek.

Technické poznámky

Použitý mikroskop by měl splňovat požadavky zdravotnické diagnostické laboratoře.

Při používání automatizovaných barvicích systémů dodržujte prosím návod k použití poskytnutý dodavatelem systému a softwaru.

Před uložením odstraňte přebytek imerzního oleje.

Analytické výkonnostní parametry

„Gram-Color modifikace (bez fenolu) - barvicí souprava“ barví a tím vizualizuje biologické struktury, jak je popsáno v kapitole „Výsledek“ tohoto návodu k použití. Výrobek smejí používat pouze oprávněné a kvalifikované osoby, což platí mimo jiné pro přípravu vzorků a činidel, manipulaci se vzorky, rozhodnutí o vhodných kontrolách a další.

Analytické parametry výrobku jsou validovány testováním každé výrobní šarže. Další nezávislé potvrzení analytické specifičnosti a opakovatelnosti poskytuje pravidelná úspěšná účast v mezinárodních testech mezi laboratořemi.

U následujícího barvení byla potvrzena analytická výkonnost výrobku z hlediska specifičnosti, senzitivity a opakovatelnosti na 100 %:

	Specifičnost mezi testy	Senzitivita mezi testy	Specifičnost v rámci testu	Senzitivita v rámci testu
Gramovo barvení				
Gram pozitivní mikroorganismy	12/12	12/12	8/8	8/8
Gram negativní mikroorganismy	12/12	12/12	8/8	8/8

Výsledky testování analytických výkonnostních parametrů

Výsledky v rámci jednoho testu (provedeného na stejné šarži) a mezi testy (provedenými na různých šaržích) uvádějí počet správně obarvených struktur v poměru k počtu provedených testů.

Klinické výkonnostní parametry

Gram-Color modifikace (bez fenolu) - barvicí souprava se už desítky let úspěšně používá v klinickém prostředí ve velkém počtu aplikací.

Klinická účinnost Gram-Color modifikace (bez fenolu) - barvicí souprava byla stanovena zejména stanovením její senzitivity a specifičnosti v interní studii:

Gram pozitivní mikroorganismy

	Gramovo barvení
Senzitivita	14/15
Specifičnost	15/15

Senzitivita: 14 vzorků z 15: 93,3 %

Specifičnost: 15 vzorků z 15: 100 %

Gram negativní mikroorganismy

	Gramovo barvení
Senzitivita	15/15
Specifičnost	14/15

Senzitivita: 15 vzorků z 15: 100 %

Specifičnost: 14 vzorků z 15: 93,3 %

Výsledky tohoto hodnocení funkčnosti potvrzují, že výrobek je vhodný pro zamýšlené použití a spolehlivě funguje.

Diagnostickou interpretaci výsledků barvení však musejí provádět kvalifikovaní a oprávnění odborníci po zvážení pacientovy anamnézy, morfologie, použití vhodných kontrol a případně dalších diagnostických testů. Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí.

Diagnostika

Stanovení diagnóz může provádět pouze autorizovaní a kvalifikovaní personál.

Je nutné používat platné nomenklatury.

Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí.

Další testy je nutné vybírat a používat na základě uznaných metod.

Pro zamezení nesprávným výsledkům by se u každé aplikace měly provádět vhodné kontroly.

Barvicí soupravu lze zkontrolovat pomocí gram pozitivních bakterií a gram negativních bakterií.

Měly by se použít bakterie odebrané z kultivačního média po 18–24 hodinách inkubace.

Skladování

Soupravu Gram-Color modifikace (bez fenolu) – barvicí soupravu pro barvení dle Grama pro bakteriologické kultivační nátěry skladuje při teplotě +15 °C až +25 °C.

Při teplotách pod 15 °C se v roztocích barviv může usazovat barevná sraženina. Pokud dojde ke vzniku sraženiny, umístěte lahvičku na 2–3 hodiny do vodní lázně nastavené přibližně na 60 °C. Tím se většina sraženiny rozpustí. Barvicí roztoky poté přefiltrujte přes filtrační papír.

Doba použitelnosti

Soupravu Gram-Color modifikace (bez fenolu) – barvicí soupravu pro barvení dle Grama pro bakteriologické kultivační nátěry lze používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti.

Po prvním otevření lahvičky lze obsah používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti, je-li skladován při teplotě +15 °C až +25 °C.

Lahvičky musejí být vždy těsně uzavřené.

Činidlo 1c (uživatелеm připravený barvicí roztok) lze používat až 10 dní, je-li skladováno při teplotě +15 °C až +25 °C, a 14 dní, je-li skladováno při teplotě +2 °C až +8 °C.

Kapacita

Obsah balení stačí pro 65–70 aplikací.

Další pokyny

Pouze pro profesionální použití.

Aby nedocházelo k chybám, smí aplikaci provádět pouze kvalifikovaný personál.

Je nutno dodržovat vnitrostátní směrnice týkající se bezpečnosti práce a zajištění kvality.

Je nutno používat standardně vybavené mikroskopy.

V případě potřeby použijte standardní centrifugu vhodnou pro lékařskou diagnostickou laboratoř.

Ochrana před infekcí

Je nutno přijmout účinná opatření na ochranu před infekcí v souladu s laboratorními směrnici.

Pokyny ohledně likvidace

Balení musí být zlikvidováno v souladu se stávajícími směrnici týkajícími se likvidace.

Použité roztoky a roztoky po uplynutí doby použitelnosti je nutno likvidovat jako zvláštní odpad v souladu s místními směrnici. Informace ohledně likvidace lze získat pod rychlým odkazem „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Tipy pro likvidaci výrobků pro mikroskopii) na adrese www.microscopy-products.com. V rámci EU platí stávající příslušné NAŘÍZENÍ (ES) č. 1272/2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, měnící a rušící Směrnice 67/548/EHS a 1999/45/ES a měnící nařízení (ES) č. 1907/2006.

Pomocná činidla

Kat. č. 1.00579	DPX nový bezvodé montovací médium pro mikroskopii	500 ml
Kat. č. 1.04699	Imerzní olej pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 100 ml, 500 ml
Kat. č. 1.07961	Entellan™ nový rychlé zalévací médium pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodé montovací médium pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 500 ml
Kat. č. 1.15525	RINGERovy tablety pro přípravu Ringerova roztoku	100 tabs

Klasifikace rizik

Kat. č. 1.01603.0001

Řiďte se prosím klasifikacemi rizik vytisknutými na štítku a informacemi uvedenými v bezpečnostním listě.

Bezpečnostní list je dostupný na internetových stránkách a na požádání. POZOR! Obsahuje látky karcinogenní, mutagenní a/nebo toxické pro reprodukci. Dodržujte příslušné bezpečnostní pokyny v bezpečnostním listu.

Hlavní složky výrobku

Kat. č. 1.01603.0001

Činidlo 1a	
C.I. 42555	10 g/l
1 l = 0,99 kg	
Činidlo 1b	
NaHCO ₃	25 g/l
Činidlo 2	
PVP-jód	50 g/l
KI	10 g/l
1 l = 1,02 kg	
Činidlo 3	
C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1 l = 0,79 kg	
Činidlo 4	
C.I. 42510 nebo 42520*	0,9 g/l
C ₂ H ₆ O	79 g/l

* K přípravě roztoku lze použít obě barviva, citlivost a specifičnost výsledného barvení budou stejné.

Obecná poznámka

Pokud při používání tohoto zdravotnického prostředku nebo v důsledku jeho použití dojde k závažné nežádoucí příhodě, oznamte ji výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a příslušnému národnímu úřadu.

Literatura

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage



H225: Vysoce hořlavá kapalina a páry.

H318: Způsobuje vážné poškození očí.

H336: Může způsobit ospalost nebo závratě.

H351: Podezření na vyvolání rakoviny.

H412: Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

P202: Nepoužívejte, dokud jste si nepřečetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim.

P210: Chraňte před teplem, horkými povrchy, jiskrami, otevřeným ohněm a jinými zdroji zapálení. Zákaz kouření.

P273: Zabraňte uvolnění do životního prostředí.

P280: Používejte ochranné rukavice/ ochranný oděv/ ochranné brýle/ obličejový štít.

P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P308 + P313: PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

Činidlo 1a:

H226: Hořlavá kapalina a páry.

H319: Způsobuje vážné podráždění očí.

H351: Podezření na vyvolání rakoviny.

H412: Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

Činidlo 2:

H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.

H412: Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

Činidlo 3:

H225: Vysoce hořlavá kapalina a páry.

H319: Způsobuje vážné podráždění očí.

H336: Může způsobit ospalost nebo závratě.

Činidlo 4:

H226: Hořlavá kapalina a páry.

Historie revizí

Verze	Komentář k úpravám
2024-Jul-22	Původní verze s přidanou tabulkou historie revizí



Viz návod k použití



Výrobce



Katalogové číslo



Kód šarže



Pozor, přečtěte si
připojené dokumenty



Spotřebujte do
RRRR-MM-DD



Teplotní
omezení

Status: 2024-Jul-22

Divize Life Science společnosti Merck používá v USA a Kanadě název MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany, a/nebo její dceřiné a sesterské společnosti. Všechna práva vyhrazena. Merck a Sigma-Aldrich jsou ochranné známky společnosti Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách lze získat ve veřejně dostupných zdrojích.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Microscopie****Gram-Color modificată
(fără-fenol)**kit pentru colorare frotiuri bacteriologice
prin metoda Gram**Exclusiv pentru uz profesional****IVD**Dispozitiv medical pentru diagnostic *In Vitro***Scopul preconizat**

Acest kit „Gram-Color modificată (fără-fenol) - kit pentru colorare frotiuri bacteriologice prin metoda Gram” este utilizat pentru diagnosticul celulelor medicale umane și servește scopului de investigație bacteriologică a eșantioanelor de probă de origine umană. Acesta este un kit de colorare care, atunci când este utilizat împreună cu alte produse pentru diagnosticare *In Vitro* din portofoliul nostru, face posibilă evaluarea în scop de diagnostic a structurilor țintă din eșantioanele de probă bacteriologice, de exemplu frotiuri din fluide corporale (bacterii Gram-pozitive sau Gram-negative) prin fixare, colorare, contracolorare, montare.

Gram-Color modificată este un kit de colorare utilizat pentru o colorare Gram modificată.

Soluțiile pentru Gram-Color modificată sunt modificate și proiectate astfel încât colorarea să poată fi efectuată pe suportul de colorare.

Structurile necolorate au un contrast relativ scăzut și sunt extrem de dificil de distins sub microscopul optic. Imaginile create folosind soluțiile de colorare ajută investigatorul autorizat și calificat să definească mai bine forma și structura în astfel de cazuri. Testele suplimentare trebuie efectuate în conformitate cu metodele valide, recunoscute, pentru a ajunge la un diagnostic definitiv.

Principiu de funcționare

În bacteriologie, colorarea Gram permite o diferențiere rapidă între bacteriile Gram-pozitive și cele Gram-negative.

Structura din murein a peretelui bacteriei constituie baza pentru afinitatea culorii.

În prima fază, bacteria va fi colorată cu cristal-violet, un colorant pe bază de anilină. După tratarea cu soluție de iod (soluția Lugol), se va forma un complex colorant-iod. Pe parcursul fazei de decolorare, acest complex stă în structura cu straturi multiple din murein a peretelui celular al bacteriilor Gram-pozitive - acestea vor apărea albastru închis.

Prin contrast, bacteriile Gram-negative au un perete celular care constă dintr-o structură de murein într-un singur strat, și re-eliberează în mod corespunzător colorantul cu soluția de decolorare. Bacteriile Gram-negative vor fi contracolorate cu soluție de fucsină și apoi vor apărea în roșu.

Eșantion de probă

Fluide corporale, exsudat, puroi, culturi lichide sau solide

Reactivi

Cat. nr. Gram-Color modificată (fără-fenol)
1.01603.0001 kit pentru colorare frotiuri bacteriologice prin metoda Gram

Componentele pachetului:

Kitul de colorare conține

Reactiv 1a:	Cristal violet - soluție	100 ml
Reactiv 1b:	Soluție de hidrogen carbonat de sodiu	100 ml
Reactiv 1c:	Flacon pentru reactiv 1c (din 1a și 1b)	
Reactiv 2:	Soluție Lugol, stabilizată	190 ml
Reactiv 3:	Soluție de decolorare	190 ml
Reactiv 4:	Soluție de fucsină, fără-fenol	190 ml

Prepararea probelor

Prelevarea probelor trebuie efectuată de personal calificat.

Aplicați eșantionul de testat pe o lamă curată, fără urme de grăsime, cu ajutorul unei anse. Apoi întindeți eșantionul fie direct pe lamă, fie mai întâi amestecați cu 1-2 picături de ser fiziologic (soluția Ringer). Ușcați la aer și apoi fixați la căldură, extrăgând ușor lama (partea cu frotiu în sus) prin partea superioară a arzătorului Bunsen, de trei ori. După aceea, lăsați să se răcească și colorați.

Frotiurile uscate la aer trebuie fixate la căldură cu multă atenție. Aceasta previne riscurile de infectare și reduce dizolvarea eșantioanelor de testat și, astfel, contaminarea soluțiilor și a altor lame.

Toate probele vor fi tratate cu ajutorul tehnologiei de ultimă oră.

Toate probele vor fi etichetate clar.

Vor fi utilizate instrumente adecvate pentru prelevarea și pregătirea probelor. Vor fi respectate instrucțiunile producătorului privind aplicarea/utilizarea.

La utilizarea reactivilor auxiliari corespunzători, trebuie respectate instrucțiunile de utilizare corespunzătoare.

Prepararea reactivului

Reactivii 2, 3 și 4 din Gram-Color modificată (fără fenoli) - kit pentru colorare frotiuri bacteriologice prin metoda Gram sunt gata de utilizare, diluarea soluțiilor nu este necesară și mai degrabă provoacă o deteriorare a rezultatelor colorării și a stabilității lor.

Soluție de colorare (Reactiv 1c)

Amestecați reactivul 1a (soluție cristal-violet) și reactivul 1b (soluție de hidrogen carbonat de sodiu) 1+1 în flaconul furnizat (1c).

Acest amestec este suficient pentru aproximativ 65-70 de specimene și poate fi depozitat la temperatura camerei timp de 10 zile și la frigider timp de 14 zile. Dacă această cantitate pare prea mare pentru respectiva perioadă de timp, se recomandă prepararea unei cantități mai mici (pentru o lamă microscopică sunt necesari aprox. 3 ml).

Procedură**Colorarea pe suportul de colorare**

Trebuie respectate perioadele de timp specificate, pentru a garanta un rezultat optim al colorării.

Lamă cu frotiu fixat		
Reactiv 1c (soluție de colorare preparată personal)	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Apă distilată	clătiți cu atenție	5 sec.
Reactiv 2 (soluție Lugol, stabilizată)	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Apă distilată	clătiți cu atenție	5 sec.
Reactiv 3 (soluție de decolorare)	acoperiți complet	5 - 10 sec.
Apă distilată	clătiți cu atenție	5 sec.
Reactiv 4 (soluție de fucsină, fără-fenol)	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	15 - 30 sec.
Apă distilată	clătiți cu atenție	5 sec.
Uscare la aer (de ex. peste noapte sau la 50 °C în camera de uscare)		

Acoperirea cu medii de montare ne-apoase (de ex. Neo-Mount™, Entellan™ sau DPX nou) este recomandată pentru depozitarea speciimenelor bacteriologice pentru o perioadă de câteva luni. În acest scop, speciimenele colorate trebuie uscate foarte bine.

Utilizarea uleiului de imersie este recomandată pentru analiza lamelor colorate cu mărire microscopică >40x.

Rezultat

Microorganisme Gram-pozitive albastru închis
Microorganisme Gram-negative roșu

Depanarea**Fixarea probelor de frotiu**

Un grad suficient de fixare la căldură, folosind arzătorul Bunsen sau într-o cameră de încălzire, este esențial pentru a preveni potențialul infecțios al speciimenelor și proliferarea ulterioară a bacteriilor.

Nu există colorare a bacteriilor gram-pozitive

Faza critică a procedurii de colorare Gram este faza de decolorare, care poate fi influențată de grosimea frotiului. În plus, o soluție de decolorare proaspătă este înalt reactivă, motiv pentru care rezultatul trebuie evaluat cu atenție. Pe parcursul fazei de decolorare, utilizatorul trebuie să respecte perioadele exacte de incubare descrise în protocol, pentru că, în caz contrar, pot apărea rezultate fals-negative.

Observații tehnice

Microscopul utilizat trebuie să corespundă cerințelor laboratorului pentru diagnostic medical.

Atunci când folosiți sisteme pentru colorare automată, respectați instrucțiunile de utilizare oferite de furnizorul sistemului și al software-ului.

Înlăturați excesul de ulei de imersie înainte de umplere.

Caracteristici de performanță analitică

„Gram-Color modificată (fără-fenol) - kit de colorare” colorează și, prin urmare, vizibilizează structurile biologice, așa cum este descris în capitolul „Rezultat” al acestei IDU. Produsul trebuie utilizat numai de către persoane autorizate și calificate, utilizarea incluzând, printre altele, pregătirea probelor și a reactivilor, manipularea probelor, deciziile privind controalele adecvate și multe altele.

Performanța analitică a produsului este confirmată prin testarea fiecărui lot de producție. Participarea cu succes la testele interlaboratoare internaționale în mod regulat oferă o confirmare suplimentară și neafiliată a specificității analitice și repetabilității.

Pentru următoarele colorări, performanța analitică a fost confirmată din punct de vedere al specificității, sensibilității și repetabilității produsului cu o rată de 100%:

	Speci-ficitate inter-test	Senzi-tivitate inter-test	Speci-ficitate intra-test	Senzi-tivitate intra-test
Colorarea Gram				
Microorganisme Gram-pozitive	12/12	12/12	8/8	8/8
Microorganisme Gram-negative	12/12	12/12	8/8	8/8

Rezultate de performanță analitică

Datele intra- (efectuate pe același lot) și inter-test (efectuate pe loturi diferite) indică numărul de structuri colorate corect în raport cu numărul de teste efectuate.

Caracteristici de performanță clinică

Gram-Color modificată (fără-fenol) - kit de colorare a fost utilizat cu succes în contextul clinic de zeci de ani într-un număr mare de aplicații.

Performanța clinică a Gram-Color modificată (fără-fenol) - kit de colorare, în special, a fost determinată prin stabilirea sensibilității și specificității acesteia într-un studiu intern:

Microorganisme Gram-pozitive

	Colorarea Gram
Sensitivitate	14/15
Specificitate	15/15

Sensibilitate: 14 mostre din 15: 93,3%

Specificitate: 15 mostre din 15: 100%

Microorganisme Gram-negative

	Colorarea Gram
Sensitivitate	15/15
Specificitate	14/15

Sensibilitate: 15 mostre din 15: 100%

Specificitate: 14 mostre din 15: 93,3%

Rezultatele acestei evaluări de performanță confirmă faptul că produsul este potrivit pentru utilizarea prevăzută și funcționează fiabil.

Cu toate acestea, Interpretarea diagnostică a rezultatelor colorării trebuie efectuată de către profesioniști calificați și autorizați, luând în considerare anamneza pacientului, morfologia, utilizarea controalelor adecvate și teste de diagnostic suplimentare, dacă este cazul. Această metodă poate fi folosită suplimentar în diagnosticul uman.

Diagnostic

Diagnosticul trebuie stabilit doar de către personalul autorizat și calificat.

Va fi utilizată nomenclatura în vigoare.

Această metodă poate fi folosită suplimentar în diagnosticul uman.

Testele ulterioare vor fi selectate și implementate conform metodelor recunoscute.

Trebuie efectuat un control adecvat al fiecărei aplicații pentru a se evita rezultate incorecte.

Setul de colorare poate fi controlat cu bacterii Gram-pozitive și cu bacterii Gram-negative.

Trebuie utilizate bacterii luate dintr-un mediu de cultură după 18-24 ore de incubare.

Depozitarea

Depozitați kitul Gram-Color modificată (fără-fenol) - kit pentru colorare frotiuri bacteriologice prin metoda Gram la +15 °C până la +25 °C.

La temperaturi sub 15 °C, un precipitat colorat se poate sedimenta din soluțiile de colorare. Dacă a avut loc precipitarea, puneți flaconul într-o baie de apă, timp de 2-3 ore, la aprox. 60 °C. Aceasta va duce la re-dizolvarea celei mai mari părți din precipitat. După aceea, filtrați soluțiile de colorare printr-un filtru de hârtie.

Durata de depozitare

Kitul Gram-Color modificată (fără-fenol) - kit pentru colorare frotiuri bacteriologice prin metoda Gram poate fi utilizat până la termenul de valabilitate menționat.

După prima deschidere a flaconului, conținutul poate fi utilizat până la termenul de valabilitate menționat, dacă este depozitat la +15 °C până la +25 °C.

Flacoanele trebuie păstrate în permanență bine închise.

Reactivul 1c (soluție de colorare preparată personal) poate fi utilizat până la 10 zile dacă este depozitat la +15 °C până la +25 °C și până la 14 zile dacă este depozitat la +2 °C până la +8 °C.

Capacitatea

Pachetul este suficient pentru 65-70 de aplicații.

Instrucțiuni suplimentare

Exclusiv pentru uz profesional.

Pentru a evita erorile, aplicarea trebuie efectuată exclusiv de personal calificat.

Vor fi respectate recomandările naționale privind siguranța muncii și asigurarea calității.

Trebuie utilizate microscopie echipate conform standardelor.

Dacă este necesar, utilizați o centrifugă standard adecvată pentru laboratorul pentru diagnostic medical.

Protecția împotriva infecției

Vor fi luate măsuri active pentru protejarea împotriva infecției, conform recomandărilor laboratorului.

Instrucțiuni privind eliminarea

Ambalajul trebuie eliminat în conformitate cu reglementările locale.

Soluțiile utilizate și soluțiile expirate trebuie eliminate ca deșeurile speciale, în conformitate cu normele naționale. Informații privind eliminarea pot fi găsite sub opțiunea Legături Rapide „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Indicii privind eliminarea produselor de microscopie”) la www.microscopy-products.com. În cadrul UE, în prezent se aplică REGULAMENTUL (CE) Nr 1272/2008 privind clasificarea, etichetarea și ambalarea substanțelor și a amestecurilor, de modificare și de abrogare a Directivelor 67/548/CEE și 1999/45/CE, precum și de modificare a Regulamentului (CE) nr. 1907/2006.

Reactivi auxiliari

Cat. nr. 1.00579	DPX nou mediu de montare neapos, pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 1.04699	Ulei de imersie pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.07961	Entellan™ nou mediu de montare rapid pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. nr. 1.09016	Neo-Mount™ anhidru - mediu de montare pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.15525	Tablete RINGER pentru preparare soluție Ringer	100 tabs

Categoria de risc

Cat. nr. 1.01603.0001

Observați categoria de risc imprimată pe etichetă și informațiile oferite în fișa de informații de securitate.

Fișa de informații de securitate este disponibilă pe website și la cerere.

ATENȚIE! Conține substanțe CMR. Vă rugăm să respectați instrucțiunile de siguranță corespunzătoare oferite în fișa cu date de securitate.

Componentele principale ale produselor

Cat. nr. 1.01603.0001

Reactiv 1a

C.I. 42555 10 g/l
1 l = 0,99 kg

Reactiv 1b

NaHCO₃ 25 g/l

Reactiv 2

PVP-Iod 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Reactiv 3

C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reactiv 4

C.I. 42510 sau 42520* 0,9 g/l
C₂H₆O 79 g/l

* Ambii coloranți pot fi utilizați pentru prepararea unei soluții, sensibilitatea și specificitatea colorării rezultate vor fi identice.

Observație generală

Dacă în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a utilizării acestuia, a avut loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și/sau reprezentantului său autorizat și autorității naționale.

Literatură

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Lichid și vapori foarte inflamabili.

H318: Provoacă leziuni oculare grave.

H336: Poate provoca somnolență sau amețeală.

H351: Susceptibil de a provoca cancer.

H412: Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

P202: A nu se manipula decât după ce au fost citite și înțelese toate măsurile de securitate.

P210: A se păstra departe de surse de căldură, suprafețe fierbinți, scânteii, flăcări și alte surse de aprindere. Fumatul interzis.

P273: Evitați dispersarea în mediu.

P280: A se purta mănuși de protecție/ îmbrăcăminte de protecție/ echipament de protecție a ochilor/ echipament de protecție a feței.

P305 + P351 + P338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

P308 + P313: ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: consultați medicul.

Reactiv 1a:

H226: Lichid și vapori inflamabili.

H319: Provoacă o iritare gravă a ochilor.

H351: Susceptibil de a provoca cancer.

H412: Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

Reactiv 2:

H318: Provoacă leziuni oculare grave.

H412: Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

Reactiv 3:

H225: Lichid și vapori foarte inflamabili.

H319: Provoacă o iritare gravă a ochilor.

H336: Poate provoca somnolență sau amețeală.

Reactiv 4:

H226: Lichid și vapori inflamabili.

Istoric revizuire

Versiune	Comentariu privind modificarea
2024-Jul-22	Versiunea inițială cu introducerea istoricului revizuirilor



A se consulta
instrucțiunile de utilizare



Producător



Număr articol



Număr lot



Atenție, a se consulta
documentele însoțitoare



A se folosi până în
data de AAAA-LL-ZZ



Temperatura
limită

Status: 2024-Jul-22

The Life Science Business aparținând Merck operează ca MilliporeSigma în SUA și Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany și / sau afiliații săi. Toate drepturile rezervate. Merck și Sigma-Aldrich sunt mărci comerciale ale Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi. Informații detaliate despre mărci comerciale sunt disponibile prin resurse disponibile public.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Mikroskopi****Gram-Color modificeret
(phenolfri)**

farvningskit til gramfarvning af bakteriologiske udstrygninger

Kun til professionel brug**IVD** Medicinske anordning til *in vitro*-diagnose**Beregnet formål**

Dette "Gram-Color modificeret (phenolfri) - farvningskit til gramfarvning af bakteriologiske udstrygninger" bruges til humanmedicinsk cellediagnose og er beregnet til bakteriologisk undersøgelse af prøvemateriale fra mennesker. Det er et klar-til-brug farvningskit, som når det bruges til *in vitro*-diagnose sammen med andre produkter fra vores sortiment laver målstrukturer (gram-positive eller gram-negative bakterier) ved fiksering, farvning, kontrastfarvning, montering i bakteriologiske prøvematerialer, eksempelvis udstrygninger af kropsvæsker, der kan evalueres til diagnoseformål.

Gram-Color modificeret er et farvningskit, som anvendes til en modificeret form for gramfarvning.

Gram-Color modificeret-opløsninger er modificerede og designede på en sådan måde, at farvning kan udføres på farveracket.

Ufarvede strukturer har en relativ lav kontrast og er ekstremt vanskelige at skelne under lysmikroskopet. De dannede billeder med farveopløsninger hjælper autoriseret og kvalificerede undersøgere med bedre at definere formen og strukturen i sådanne tilfælde. Der skal udføres yderligere tests iht. anerkendte og gyldige metoder for at fastlægge en definitiv diagnose.

Princip

Inden for bakteriologi giver gramfarvning mulighed for hurtig differentiering af gram-positive og gram-negative bakterier.

Bakterievæggens mureinstruktur danner grundlag for farveaffiniteten. I det første trin farves bakterierne med krystalviolett, som er en basisk farve. Efter behandlingen med jodopløsning (Lugols opløsning) dannes et farvestof-jod-kompleks. Under affarvningstrinnet forbliver dette kompleks i den flerlagede mureinstruktur i gram-positive bakteriers cellevæg - de fremstår mørkeblå.

Gram-negative bakterier har derimod en cellevæg, der består af en enkeltlaget mureinstruktur, og de frigiver derfor farvestoffet sammen med affarvningsopløsningen. Gram-negative bakterier kontrastfarves med fuksinopløsning og fremstår derefter røde.

Prøvemateriale

Kropsvæsker, ekssudat, pus, væske eller faste kulturer

Reagenser

Varenr. 1.01603.0001

Gram-Color modificeret (phenolfri)

farvningskit til gramfarvning af bakteriologiske udstrygninger

Pakkens komponenter:

Farvesættet indeholder

Reagens 1a:	Krystalvioletoopløsning	100 ml
Reagens 1b:	Natriumhydrogencarbonatopløsning	100 ml
Reagens 1c:	Flaske til reagens 1c (af 1a og 1b)	
Reagens 2:	Lugols opløsning, stabiliseret	190 ml
Reagens 3:	Affarvningsopløsning	190 ml
Reagens 4:	Fuksinopløsning, phenolfri	190 ml

Forberedelse af prøverne

Prøveudtagningen skal udføres af faguddannet personale.

Påfør prøvematerialet på et rent og fedtfrit objektglas ved hjælp af en udglødet løkke. Stryg derefter enten materialet direkte på objektglasset, eller bland det først med 1-2 dråber fysiologisk saltvandsopløsning (Ringers opløsning). Lad udstrygningen lufttørre, og varmefikser den derefter ved at føre objektglasset (med udstrygningsssiden opad) gennem den øvre del af bunsenbrænderens flamme tre gange. Lad den derefter køle af, og farv den. De lufttørrede udstrygninger skal varmefikseres meget omhyggeligt. Dette forebygger risikoen for infektioner og reducerer opløsningen af prøvematerialet og dermed forurening af opløsninger og andre objektglas.

Alle prøver skal behandles ved hjælp af den nyeste teknologi.

Alle prøver skal forsynes med tydelige etiketter.

Der skal anvendes egnede instrumenter til prøveudtagning og forberedelse af prøverne. Følg producentens anvisninger med henblik på anvendelse/brug.

Når der anvendes tilhørende hjælpereagenser, skal man følge de tilhørende brugsanvisninger.

Forberedelse af reagenserne

Reagenserne 2, 3 og 4 i Gram-Color modificeret (phenolfri) - farvesættet til gramfarvning af bakteriologiske udstrygninger er klar-til-brug.

Fortyndning af opløsningerne er ikke nødvendigt og resulterer i forringelse af farveresultatet og opløsningernes stabilitet.

Farveopløsning (Reagens 1c)

Bland reagens 1a (krystalvioletoopløsning) og reagens 1b (natriumhydrogencarbonatopløsning) 1+1 i den medfølgende flaske (1c).

Denne blanding er tilstrækkelig til cirka 65-70 prøver og kan opbevares ved stuetemperatur i 10 dage og i køleskab i 14 dage. Hvis denne mængde synes at være for stor til dette tidsrum, anbefales det at fremstille en mindre mængde (der er brug for ca. 3 ml pr. objektglas).

Procedure**Farvning på farveracket**

De anførte tider skal overholdes for at sikre et optimalt resultat af farvningen.

Objektglas med fikseret udstrygning		
Reagens 1c (selvfremstillet farveopløsning)	Skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	1 min.
Destilleret vand	Skyl omhyggeligt	5 sek
Reagens 2 (Lugols opløsning, stabiliseret)	Skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	1 min.
Destilleret vand	Skyl omhyggeligt	5 sek
Reagens 3 (affarvningsopløsning)	Skal tildækkes fuldstændigt	5 - 10 sek
Destilleret vand	Skyl omhyggeligt	5 sek
Reagens 4 (fuksinopløsning, phenolfri)	Skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	15 - 30 sek
Destilleret vand	Skyl omhyggeligt	5 sek
Skal lufttørre (f.eks. natten over eller ved 50 °C i tørreskabet)		

Tildækning med ikke-vandige monteringsmedier (f.eks. Neo-Mount™, Entellan™ eller DPX ny) og et dækglass anbefales med henblik på opbevaring af bakteriologiske prøver i flere måneder. Til dette formål skal de farvede prøver tørres meget omhyggeligt.

Brugen af immersionsolie anbefales til analyse af farvede objektglas med en mikroskopforstørrelse på >40x.

Resultat

Gram-positive mikroorganismer	mørkeblå
Gram-negative mikroorganismer	rød

Fejlfinding**Fiksering af smear-prøver**

Tilstrækkelig varmefiksering ved hjælp af en bunsenbrænder eller i et varmeskab er vigtigt med henblik på at forhindre prøvernes infektionspotentialer og yderligere spredning af bakterierne.

Ingen farvning af de gram-positive bakterier

Det vigtigste trin i gramfarvningsproceduren er affarvningstrinnet, som kan påvirkes af udstrygnings tykkelse. Derudover har en frisk affarvningsopløsning yderst reaktiv, hvilket er grunden til, at resultatet skal evalueres omhyggeligt. Under affarvningstrinnet skal brugeren overholde de nøjagtige inkubationstider, der er beskrevet i protokollen. I modsat fald kan det resultere i falske negative resultater.

Tekniske bemærkninger

Det anvendte mikroskop skal leve op til kravene på et laboratorie til medicinsk diagnose.

Ved brug af automatiske farvesystemer skal brugervejledningen fra leverandøren af systemet og softwaren følges.

Fjern overskydende immersionsolie forud for arkivering.

Analytiske ydeevnekarakteristika

"Gram-Color modificeret (phenolfri) - farvningskit" farver og visualiserer derved biologiske strukturer, som beskrevet i kapitlet "Resultat" i denne brugsanvisning. Dette produkt må kun anvendes af autoriserede og kvalificerede personer, hvilket bl.a. inkluderer forberedelse af prøve og reagens, prøvehåndtering, afgørelser angående egnede kontroller med mere.

Produktets analytiske ydeevne bekræftes ved test af hvert produktionsparti. Den vellykkede regelmæssige deltagelse i internationale interlaboratorieundersøgelser giver en ekstra og uafhængig bekræftelse af den analytiske specificitet og repeatabilitet.

For de følgende farver blev den analytiske ydeevne bekræftet med henblik på specificitet, sensitivitet og repeatabilitet for produktet med en rate på 100 %:

	Inter-undersøgelse specificitet	Inter-undersøgelse sensitivitet	Intra-undersøgelse specificitet	Intra-undersøgelse sensitivitet
Gram-farvning				
Gram-positive mikroorganismer	12/12	12/12	8/8	8/8
Gram-negative mikroorganismer	12/12	12/12	8/8	8/8

Analytiske ydeevneresultater

Data fra intra- (udført på samme parti) og inter-undersøgelse (udført på forskellige partier) oplyser antallet af korrekt farvede strukturer i forhold til antallet af udførte undersøgelser.

Kliniske ydeevnekarakteristika

Gram-Color modificeret (phenolfri) - farvningskit er blevet anvendt med vellykket resultat i kliniske miljøer i årtier med et højt antal anvendelser.

Den kliniske ydeevne for Gram-Color modificeret (phenolfri) - farvningskit er isæt blevet konstateret ved at fastlægge dets følsomhed og specificitet i en intern undersøgelse:

Gram-positive mikroorganismer

	Gram-farvning
Sensitivitet	14/15
Specificitet	15/15

Sensitivitet: 14 prøver ud af 15: 93,3 %

Specificitet: 15 prøver ud af 15: 100 %

Gram-negative mikroorganismer

	Gram-farvning
Sensitivitet	15/15
Specificitet	14/15

Sensitivitet: 15 prøver ud af 15: 100 %

Specificitet: 14 prøver ud af 15: 93,3 %

Resultaterne af denne ydeevnevurdering bekræfter, at produktet er egnet til den beregnede brug og har en pålidelig ydeevne.

Den diagnostiske tolkning af farvningsresultaterne skal dog udføres af kvalificerede og autoriserede eksperter med henblik på patientens anamnese, morfologi, brugen af passende kontroller og yderligere diagnostiske tests, såfremt relevant. Denne metode kan anvendes som supplement inden for human diagnostik.

Diagnostik

Diagnoser må udelukkende stilles af autoriseret og kvalificeret personale. Der skal anvendes gyldige nomenklaturer.

Denne metode kan anvendes som supplement inden for human diagnostik. Yderligere test skal udvælges og udføres i henhold til anerkendte metoder.

Der skal udføres egnede kontroller ved hver anvendelse for at undgå forkerte resultater.

Farvesættet kan kontrolleres med gram-positive bakterier og gram-negative bakterier.

Der skal anvendes bakterier, som er udtaget fra et kulturmedium efter 18-24 timers inkubation.

Opbevaring

Gram-Color modificeret (phenolfri) - farvningskit til gramfarvning af bakteriologiske udstrygninger skal opbevares ved +15 °C til +25 °C.

Ved temperaturer under 15 °C kan der opstå farvet bundfald i farveopløsningerne. Hvis der er opstået bundfald, skal flasken anbringes i et vandbad, der er indstillet til ca. 60 °C i 2-3 timer. Dermed opløses det meste af bundfaldet igen. Derefter skal farveopløsningen filtreres gennem et papirfilter.

Holdbarhed

Gram-Color modificeret (phenolfri) - farvningskit til gramfarvning af bakteriologiske udstrygninger kan bruges indtil den anførte udløbsdato.

Efter åbning af flasken kan indholdet bruges indtil den anførte udløbsdato, hvis flasken opbevares ved +15 °C til +25 °C.

Flaskerne skal altid være forsvarligt lukkede.

Reagens 1c (selvfremstillet farveopløsning) kan bruges i op til 10 dage, når den opbevares ved +15 °C til +25 °C, og 14 dage, hvis den opbevares ved +2 °C til +8 °C.

Kapacitet

Pakken er tilstrækkelig til 65-70 anvendelser.

Yderligere anvisninger

Kun til professionel brug.

For at undgå fejl må produktet kun anvendes af faguddannet personale. Nationale bestemmelser vedrørende arbejdssikkerhed og kvalitetssikring skal overholdes.

Der skal anvendes mikroskoper, der udstyret i henhold til de gældende standarder.

Brug om nødvendigt en standardcentrifuge, der egner sig til brug på et laboratorie i forbindelse med medicinsk diagnostik.

Beskyttelse mod infektioner

Der skal træffes effektive foranstaltninger til beskyttelse mod infektioner i henhold til laboratoriets retningslinjer.

Bortskaffelse

Emballagen skal bortskaffes i overensstemmelse med de gældende bestemmelser for bortskaffelse.

Brugte opløsninger og opløsninger, hvor holdbarheden er udløbet, skal bortskaffes som særligt affald i overensstemmelse med de lokale bestemmelser. Oplysninger om bortskaffelse kan findes under linket "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Tip til bortskaffelse af produkter til mikroskopi) under www.microscopy-products.com. I EU skal den gældende FORORDNING (EF) nr. 1272/2008 om klassificering, mærkning og emballering af stoffer og blandinger og om ændring og ophævelse af direktiv 67/548/EØF og 1999/45/EF og om ændring af forordning (EF) nr. 1907/2006 overholdes.

Øvrige reagenser

Varenr. 1.00579	DPX ny vandfrit indstøbningsmiddel til mikroskopi	500 ml
Varenr. 1.04699	Immersionsolie til mikroskopi	100-ml pipetteflaske, 100 ml, 500 ml
Varenr. 1.07961	Entellan™ ny hurtigindstøbningsmiddel til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Varenr. 1.09016	Neo-Mount™ vandfri indstøbningsmiddel til mikroskopi	100-ml pipetteflaske, 500 ml
Varenr. 1.15525	RINGER-tabletter til fremstilling af RINGER-opløsning	100 tabs

Fareklassificering

Varenr. 1.01603.0001

Vær opmærksom på den fareklassificering, der er trykt på etiketten, og oplysningerne i sikkerhedsdatabladet.

Sikkerhedsdatabladet fås på hjemmesiden og ved forespørgsel. FORSIGTIG! Indeholder CMR-stoffer. Følg de pågældende sikkerhedsanvisninger, som findes i sikkerhedsdatabladet.

Produkternes hovedkomponenter

Varenr. 1.01603.0001

Reagens 1a	
C.I. 42555	10 g/l
1 l = 0,99 kg	
Reagens 1b	
NaHCO ₃	25 g/l
Reagens 2	
PVP-jod	50 g/l
KI	10 g/l
1 l = 1,02 kg	
Reagens 3	
C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1 l = 0,79 kg	
Reagens 4	
Farveindeks 42510 eller 42520*	0,9 g/l
C ₂ H ₆ O	79 g/l

* Begge farvestoffer kan bruges til fremstilling af en opløsning. Farveresultatets følsomhed og specificitet vil være det samme.

Generel bemærkning

Hvis der under brugen af dette apparat eller som følge af dets brug opstår en alvorlig hændelse, skal dette meddeles producenten og/eller dennes

autoriserede repræsentant og den nationale myndighed.

Litteratur

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Meget brandfarlig væske og damp.

H318: Forårsager alvorlig øjenskade.

H336: Kan forårsage sløvhed eller svimmelhed.

H351: Mistænkt for at fremkalde kræft.

H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.

P202: Anvend ikke produktet, før alle advarsler er læst og forstået.

P210: Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.

P273: Undgå udledning til miljøet.

P280: Bær beskyttelseshandsker/ beskyttelsestøj/ øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse.

P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.

P308 + P313: VED eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp.

Reagens 1a:

H226: Brandfarlig væske og damp.

H319: Forårsager alvorlig øjenirritation.

H351: Mistænkt for at fremkalde kræft.

H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.

Reagens 2:

H318: Forårsager alvorlig øjenskade.

H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.

Reagens 3:

H225: Meget brandfarlig væske og damp.

H319: Forårsager alvorlig øjenirritation.

H336: Kan forårsage sløvhed eller svimmelhed.

Reagens 4:

H226: Brandfarlig væske og damp.

Revisionshistorik

Version	Kommentar til modifikation
2024-Jul-22	Første version med introduktion af revisionshistorik



Se brugervejledningen



Producent



Varenummer



Partikode



Forsigtig: Se den medfølgende dokumentation



Skal bruges inden
ÅÅÅÅ-MM-DD



Tilladt
temperatur

Status: 2024-Jul-22

Life science-afdelingen hos Merck drives under navnet MilliporeSigma i US og Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany og/eller dennes tilknyttede selskaber. Alle rettigheder forbeholdes. Merck og Sigma-Aldrich er varemærker tilhørende Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere. Detaljerede oplysninger om varemærker kan findes via de offentligt tilgængelige ressourcer.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF**

Mikroskopija

Gram-Color modificirane (bez fenola)

komplet boja za metodu bojenja po Gramu na bakteriološkim razmazima

Samo za profesionalnu uporabu

IVD

In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Namjena

Ovaj „Gram-Color modificirane (bez fenola) - komplet boja za metodu bojenja po Gramu na bakteriološkim razmazima“ upotrebljava se za dijagnostiku ljudskih medicinskih stanica i služi za bakteriološko ispitivanje uzorka ljudskog podrijetla. Komplet za bojenje spreman je za uporabu, a kada se upotrebljava s drugim *in vitro* dijagnostičkim proizvodima iz naše ponude, moguće je procijeniti ciljne strukture (Gram pozitivne ili Gram negativne bakterije) fiksiranjem, bojenjem, protubojenjem, poklapanjem u bakteriološkim uzorcima, na primjer razmazima tjelesnih tekućina za dijagnostičke svrhe.

Gram-Color modificirane komplet je koji se upotrebljava za modificirano bojenje po Gramu.

Otopine za Gram-Color modificirane izmjenjuju se i dizajniraju na takav način da se bojenje može provesti na podlozi za bojenje.

Neobojene strukture imaju relativno niski kontrast i iznimno ih je teško razlikovati pod svjetlosnim mikroskopom. Slike dobivene uz primjenu otopina za bojenje ovlaštenom i kvalificiranom ispitivaču pomažu da u takvim slučajevima bolje definira oblik i strukturu. Daljnja ispitivanja moraju se provesti prema priznatim, valjanim metodama da bi se postavila konačna dijagnoza.

Princip

U bakteriologiji, bojenje po Gramu dopušta brzo razlikovanje bakterija na Gram pozitivne i Gram negativne.

Mureinska struktura bakterijskog zida osnova je afiniteta za boje. U prvom koraku bakterije se boje kristalno ljubičastom bojom, odn. anilinskom bojom. Nakon tretmana otopinom s jodom (Lugolova otopina), stvorit će se kompleks boje s jodom. Tijekom koraka uklanjanja boja, ovaj kompleks ostaje u višeslojnoj mureinskoj strukturi staničnog zida Gram pozitivnih bakterija i izgledat će tamno plave.

Gram negativne bakterije, kao kontrast, imat će stanični zid koji se sastoji od jednoslojne mureinske strukture i sukladno tome ponovno će ispuštati boju s otopinom za uklanjanje boje. Gram negativne bakterije bit će protubojojane fuksin otopinom i izgledat će crveno.

Uzorak

Tjelesne tekućine, eksudati, gnoj, tekuće i krute kulture

Reagensi

Kat. br. 1.01603.0001

Gram-Color modificirane (bez fenola)

komplet boja za metodu bojenja po Gramu na bakteriološkim razmazima

Komponente pakiranja:

Komplet za bojenje sadrži

Reagens 1a:	Kristalno ljubičasta otopina	100 ml
Reagens 1b:	Otopina natrijeva vodikova karbonata	100 ml
Reagens 1c:	Boca za reagens 1c (od 1a i 1b)	
Reagens 2:	Lugolova otopina, stabilizirana	190 ml
Reagens 3:	Oto za uklanjanje boje	190 ml
Reagens 4:	Fuksin otopina, bez fenola	190 ml

Priprema uzorka

Uzorkovanje mora provoditi kvalificirano osoblje.

Primijenite uzorak na čisto stakalce bez masnoća s pomoću žarene petlje. Zatim razmažite uzorak izravno na stakalce ili ga prvo pomiješajte s 1 do 2 kapi fiziološke otopine (Ringerova otopina). Osušite na zraku i zatim fiksirajte zagrijavanjem postupnim provlačenjem (strana s razmazom okrenuta prema gore) kroz gornji dio plamena Bunsenova plamenika tri puta. Nakon toga pustite da se ohladi i oboji.

Razmazi osušeni na zraku moraju se vrlo oprezno fiksirati toplinom. Time se sprječava opasnost od infekcija i smanjuje otapanje uzorka, a time i kontaminacija otopina te drugih stakalaca.

Svi uzorci moraju se obraditi vrhunskom tehnologijom.

Svi uzorci moraju se jasno označiti.

Prilikom uzimanja uzoraka i njihove pripreme moraju se upotrebljavati prikladni instrumenti. Slijedite upute proizvođača za primjenu/upotrebu.

Kada upotrebljavate odgovarajuće pomoćne reagens, treba se pridržavati njihovih uputa za uporabu.

Priprema reagensa

Reagensi 2, 3 i 4 Gram-Color modificirane (bez fenola) - komplet boja za metodu bojenja po Gramu na bakteriološkim razmazima spremni su za uporabu, dok razrjeđivanje otopina nije potrebno i samo pogoršava rezultate bojenja i njihovu stabilnost.

Otopina za bojenje (reagens 1c)

Pomiješajte reagens 1a (kristalno ljubičasta otopina) i reagens 1b (otopina natrijeva vodikova karbonata) 1+1 u priloženoj boci (1c).

Smjesa je dostatna za otprilike 65-70 uzoraka i može se pohraniti na sobnoj temperaturi na 10 dana ili, ako je rashlađena, na 14 dana. Ako je količina prevelika za potrošnju u tom vremenskom razdoblju, preporučuje se priprema manje količine (za mikroskopsko stakalce potrebno je pribl. 3 ml).

Postupak

Bojenje na podlozi za bojenje

Potrebno je pridržavati se navedenih vremena za optimalne rezultate bojenja.

Stakalce s fiksiranim razmazom		
Reagens 1c (samostalno pripremljena otopina za bojenje)	u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	1 min
Destilirana voda	oprezno isperite	5 s
Reagens 2 (Lugolova otopina, stabilizirana)	u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	1 min
Destilirana voda	oprezno isperite	5 s
Reagens 3 (otopina za uklanjanje boje)	u potpunosti pokrijte	5-10 s
Destilirana voda	oprezno isperite	5 s
Reagens 4 (fuksin otopina, bez fenola)	u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	15-30 s
Destilirana voda	oprezno isperite	5 s
Sušenje zrakom (npr. preko noći pri 50 °C u komori za sušenje)		

Pokrivanje s medijem za poklapanje bez vode (npr. Neo-Mount™, Entellan™ ili Novi DPX) i stakleni pokrov preporučuju se za pohranu bakterioloških uzoraka na nekoliko mjeseci. Obojani uzorci moraju se u tu svrhu vrlo dobro osušiti.

Upotreba imerzijskog ulja preporučuje se za analizu obojanih stakalaca s pomoću mikroskopskog povećanja > 40x.

Rezultat

Gram pozitivni mikroorganizmi

tamno plava

Gram negativni mikroorganizmi

crvena

Otklanjanje poteškoća

Fiksacija uzoraka razmaka

Neophodna je određena razina fiksiranja toplinom s pomoću Bunsenova plamenika da bi se spriječio zarazni potencijal uzorka i daljnje širenje bakterija.

Nema bojenja Gram pozitivnih bakterija

Kritični stadij postupka bojenja po Gramu jest korak uklanjanja boje na koji može utjecati debljina razmaza. Uz to, svježija otopina za obezbojenje vrlo je reaktivna, zbog čega se rezultat mora oprezno procijeniti. Tijekom koraka uklanjanja boje korisnik se mora pridržavati točnog vremena inkubacije opisanog u protokolu, jer u suprotnome može doći do lažno negativnih rezultata.

Tehničke napomene

Upotrebljavani mikroskop mora zadovoljavati preduvjete medicinskog dijagnostičkog laboratorija.

Prilikom upotrebe automatske opreme za bojenje slijedite upute za uporabu dobavljača sustava i softvera.

Prije punjenja uklonite suvišno imerzijsko ulje.

Značajke analitičke učinkovitosti

„Gram-Color modificirane (bez fenola) - komplet za bojenje“ boji i tako omogućava vizualizaciju bioloških struktura, kao što je opisano u poglavlju „Rezultat“ u ovim uputama za uporabu. Ovaj proizvod smiju upotrebljavati samo ovlaštene i kvalificirane osobe. To se, između ostaloga, odnosi na pripremu uzoraka i reagensa, rukovanje uzorcima, donošenje odluka o odgovarajućim kontrolama itd.

Analitička učinkovitost ovog proizvoda potvrđena je ispitivanjem svake proizvodne serije. Uspješno redovito sudjelovanje u međunarodnim među-laboratorijskim ispitivanjima pruža dodatnu i nezavisnu potvrdu analitičke specifičnosti i ponovljivosti.

Za sljedeće je postupke bojenja potvrđena 100 %-tna analitička učinkovitost proizvoda u pogledu specifičnosti, osjetljivosti i ponovljivosti:

	Specifičnost među ispitivanjima	Osjetljivost među ispitivanjima	Specifičnost unutar ispitivanja	Osjetljivost unutar ispitivanja
Gram bojenje				
Gram pozitivni mikroorganizmi	12/12	12/12	8/8	8/8
Gram negativni mikroorganizmi	12/12	12/12	8/8	8/8

Rezultati analitičke učinkovitosti

Podaci dobiveni unutar ispitivanja (provedeno na istoj seriji) i među ispitivanjima (provedena na različitim serijama) pokazuju broj ispravno obojenih struktura s obzirom na broj provedenih ispitivanja.

Značajke kliničke učinkovitosti

Gram-Color modificirane (bez fenola) - komplet za bojenje desetljećima se uspješno upotrebljava u kliničkom okruženju za velik broj primjena.

Klinička učinkovitost Gram-Color modificirane (bez fenola) - komplet za bojenje posebno je određena utvrđivanjem njegove osjetljivosti i specifičnosti internoj studiji:

Gram pozitivni mikroorganizmi

	Gram bojenje
Osjetljivost	14/15
Specifičnost	15/15

Osjetljivost: 14 uzoraka od 15: 93,3 %

Specifičnost: 15 uzoraka od 15: 100 %

Gram negativni mikroorganizmi

	Gram bojenje
Osjetljivost	15/15
Specifičnost	14/15

Osjetljivost: 15 uzoraka od 15: 100 %

Specifičnost: 14 uzoraka od 15: 93,3 %

Rezultati ove procjene učinkovitosti potvrđuju da je proizvod prikladan za predviđenu uporabu i da pouzdano djeluje.

Međutim, kvalificirani i ovlaštene stručnjaci moraju provesti dijagnostičko tumačenje rezultata bojenja, pri čemu prema potrebi trebaju uzeti u obzir pacijentovu anamnezu, morfologiju, primjenu odgovarajućih kontrola i dodatne dijagnostičke testove. Ova se metoda može koristiti kao dopuna u dijagnostici na ljudima.

Dijagnostika

Dijagnoze smije donositi jedino ovlašteno i kvalificirano osoblje.

Potrebno je upotrebljavati valjanu nomenklaturu.

Ova se metoda može koristiti kao dopuna u dijagnostici na ljudima.

Potrebno je odabrati i implementirati dodatne testove sukladno prepoznatim metodama.

Potrebno je provesti odgovarajuće kontrole prilikom svake primjene da bi se izbjegli neispravni rezultati.

Komplet za bojenje može se kontrolirati s pomoću Gram pozitivnih bakterija i Gram negativnih bakterija.

Potrebno je upotrebljavati bakterije uzete iz kulture nakon 18-24 sata inkubacije.

Skладиštenje

Pohranite Gram-Color modificirane (bez fenola) - komplet boja za metodu bojenja po Gramu na bakteriološkim razmazima na +15 °C do +25 °C.

Pri temperaturama ispod 15 °C obojeni precipitat može se nataložiti izvan otopine za bojenje. Ako je došlo do taloženja, ostavite bocu 2-3 sata u vodenj kupki na pribl. 60 °C. To će ponovno otopiti većinu nataloženog materijala. Nakon toga filtrirajte otopinu za bojenje kroz filter papir.

Rok uporabe

Gram-Color modificirane (bez fenola) - komplet boja za metodu bojenja po Gramu na bakteriološkim razmazima može se upotrebljavati do navedenog roka trajanja.

Nakon prvog otvaranja boce, sadržaj se može upotrebljavati do navedenog roka uporabe ako je pohranjen na +15 °C do +25 °C.

Boce moraju biti čvrsto zatvorene u svakom trenutku.

Reagens 1c (samostalno pripremljena otopina za bojenje) može se upotrebljavati do 10 dana ako se pohrani na +15 °C do +25 °C i 14 dana ako se pohrani na +2 °C do +8 °C.

Kapacitet

Paket je dostatan za 65-70 primjena.

Dodatne upute

Samo za profesionalnu uporabu.

Da bi se izbjegle pogreške, primjenu smije provoditi samo kvalificirano osoblje.

Potrebno je slijediti nacionalne smjernice za sigurnost na radu i osiguravanje kvalitete.

Potrebno je upotrebljavati mikroskope opremljene sukladno standardu. Ako je to potrebno, upotrebljavajte standardnu centrifugu prikladnu za medicinski dijagnostički laboratorij.

Zaštita od infekcije

Potrebno je poduzeti učinkovite mjere za zaštitu od infekcije sukladno smjernicama laboratorija.

Upute za odlaganje

Pakiranje se mora odložiti sukladno trenutnim smjernicama za odlaganje. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok uporabe moraju se odložiti kao poseban otpad sukladno lokalnim smjernicama. Informacije o odlaganju možete dobiti na broj poveznici „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Savjeti za odlaganje mikroskopskih proizvoda) na adresi www.microscopy-products.com. Unutar EU-a primjenjuje se trenutačno primjenjiva UREDBA (EZ) br. 1272/2008 o razvrstavanju, označavanju i pakiranju tvari i smjesa, o izmjeni i stavljanju izvan snage Direktive 67/548/EEZ i 1999/45/EZ i o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1907/2006.

Pomoćni reagensi

Kat. br. 1.00579	Novi DPX nevodni medij za poklapanje za mikroskopiju	500 ml
Kat. br. 1.04699	Imerziono ulje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.07961	Novi Entellan™ brzi medij za uklapanje za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. br. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodni medij za poklapanje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.15525	Tablete RINGER za pripremu otopine RINGER	100 tabs

Klasifikacija rizika

Kat. br. 1.01603.0001

Slijedite klasifikaciju rizika ispisanu na oznaci i informacije navedene na sigurnosno-tehničkom listu.

Sigurnosno-tehnički list dostupan je na web-mjestu i na zahtjev.

OPREZ! Sadržava CMR tvari. Pridržavajte se odgovarajućih uputa vezanih uz sigurnost navedenih u sigurnosno-tehničkom listu.

Glavne komponente proizvoda

Kat. br. 1.01603.0001

Reagens 1a		
C.I. 42555		10 g/l
1 l = 0,99 kg		
Reagens 1b		
NaHCO ₃		25 g/l
Reagens 2		
PVP-jod		50 g/l
KI		10 g/l
1 l = 1,02 kg		
Reagens 3		
C ₂ H ₆ O		634 g/l
C ₃ H ₆ O		159 g/l
1 l = 0,79 kg		
Reagens 4		
C.I. 42510 ili 42520*		0,9 g/l
C ₂ H ₆ O		79 g/l

* Objke boje mogu se upotrebljavati za pripremu otopine. Osjetljivost i specifičnost rezultata bojenja bit će jednaki.

Opća napomena

Ako se tijekom uporabe ovog uređaja ili zbog njegove uporabe dogodi ozbiljan štetni događaj, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlaštenom zastupniku te nacionalnom nadležnom tijelu.

Književnost

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Lako zapaljiva tekućina i para.

H318: Uzrokuje teške ozljede oka.

H336: Može izazvati pospanost ili vrtoglavicu.

H351: Sumnja na moguće uzrokovanje raka.

H412: Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima.

P202: Ne rukovati prije upoznavanja i razumijevanja sigurnosnih mjera predostrožnosti.

P210: Čuvati odvojeno od topline, vrućih površina, iskri, otvorenih plamena i ostalih izvora paljenja. Ne pušiti.

P273: Izbjegavati ispuštanje u okoliš.

P280: Nositi zaštitne rukavice/ zaštitno odijelo/ zaštitu za oči/ zaštitu za lice.

P305 + P351 + P338: U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one ako uklanjaju. Nastaviti ispirati.

P308 + P313: U SLUČAJU izloženosti ili sumnje na izloženost: zatražiti savjet/pomoć liječnika.

Reagens 1a:

H226: Zapaljiva tekućina i para.

H319: Uzrokuje jako nadraživanje oka.

H351: Sumnja na moguće uzrokovanje raka.

H412: Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima.

Reagens 2:

H318: Uzrokuje teške ozljede oka.

H412: Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima.

Reagens 3:

H225: Lako zapaljiva tekućina i para.

H319: Uzrokuje jako nadraživanje oka.

H336: Može izazvati pospanost ili vrtoglavicu.

Reagens 4:

H226: Zapaljiva tekućina i para.

Povijest revizija

Verzija	Komentar o izmjeni
2024-Jul-22	Izvorna verzija s uvodom u povijest revizija



Pročitajte upute za uporabu



Proizvođač



Kataloški broj



Kod serije



Oprez, pročitajte popratnu dokumentaciju



Upotrijebite do GGGG-MM-DD



Ograničenje temperature

Status: 2024-Jul-22

The Life Science Business tvrtke Merck posluje kao MilliporeSigma u SAD-u i Kanadi.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany i/ili društva-kćeri tog društva. Sva prava pridržana. Merck i Sigma-Aldrich u jarkim bojama zaštitni su znakovi društva Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Svi drugi zaštitni znakovi pripadaju odgovarajućim vlasnicima. Detaljne informacije o zaštitnim znakovima dostupne su putem javno dostupnih resursa.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Mikroskopia****Gram-Color zmodyfikowany
(wolny od fenolu)**zestaw do barwienia rozmazów
bakteriologicznych metodą Grama**Wyłącznie do użytku przez specjalistów****IVD**Wyrób medyczny do diagnostyki *In Vitro***Przeznaczenie**

„Gram-Color zmodyfikowany (wolny od fenolu) – zestaw do barwienia rozmazów bakteriologicznych metodą Grama” jest wykorzystywany w procesie medycznej diagnostyki komórek ludzkich i służy do bakteriologicznej oceny próbek pochodzenia ludzkiego. Jest to gotowy do użycia zestaw do barwienia, który w połączeniu z innymi dostępnymi w naszej ofercie wyrobami do diagnostyki *In Vitro* umożliwia przygotowanie docelowych struktur (bakterii Gram-dodatnich lub Gram-ujemnych) poprzez utrwalanie, barwienie, barwienie kontrastujące, zamykanie w preparatach bakteriologicznych, np. rozmazach lub płynach ustrojowych, do celów diagnostycznych.

Ten zestaw do barwienia służy do Gram-Color zmodyfikowany. Roztwory do Gram-Color zmodyfikowany zostały zmodyfikowane i dostosowane do wykorzystania na statywie do barwienia.

Niezabarwione struktury mają stosunkowo niski kontrast i są niezwykle trudne do odróżnienia pod mikroskopem świetlnym. Obrazy utworzone z użyciem roztworów barwiących pomagają upoważnionemu i wykwalifikowanemu badaczowi lepiej zdefiniować formę i strukturę w takich przypadkach. Aby postawić ostateczną diagnozę, należy wykonać dalsze badania, stosując uznane i sprawdzone metody.

Zasada działania

W bakteriologii barwienie metodą Grama umożliwia szybkie rozróżnienie bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.

Podstawę do wiązania barwników stanowi struktura mureinowa bakterii. W pierwszej kolejności bakterie są poddawane barwieniu z użyciem fioletu krystalicznego – barwnika anilinowego. Po zalaniu roztworem jodu (płynem Lugola) formują się kompleksy złożone z barwnika i jodu. Na etapie odbarwiania kompleksy te pozostają w wielowarstwowej strukturze mureinowej ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich – które mają barwę ciemnoniebieską.

Ściana komórkowa bakterii Gram-ujemnych składa się natomiast z jednowarstwowej struktury mureinowej, która uwalnia barwnik wraz z roztworem odbarwiającym. Bakterie Gram-ujemne są poddawane barwieniu kontrastującemu z użyciem roztworu fuksyny i przybierają czerwoną barwę.

Materiały do próbek

Płyny ustrojowe, wysięk, ropa, hodowle płynne lub stałe

Odczynniki

Nr kat. Gram-Color zmodyfikowany (wolny od fenolu)
1.01603.0001 zestaw do barwienia rozmazów bakteriologicznych metodą Grama

Zawartość opakowania:

Zestaw do barwienia zawiera

Odczynnik 1a:	Roztwór fioletu krystalicznego	100 ml
Odczynnik 1b:	Roztwór wodorowęglanu sodu	100 ml
Odczynnik 1c:	Butelka na odczynnik 1c (z 1a i 1b)	
Odczynnik 2:	Płyn Lugola, stabilizowany	190 ml
Odczynnik 3:	Roztwór odbarwiający	190 ml
Odczynnik 4:	Roztwór fuksyny, wolny od fenolu	190 ml

Przygotowywanie próbek

Próbki muszą być pobierane przez wykwalifikowany personel.

Należy materiał bakteriologiczny na czyste, wolne od tłuszczu szkiełko, używając wyżarzonej pętli. Następnie rozmazać materiał bezpośrednio na szkiełku lub uprzednio zmieszać z 1-2 kroplami roztworu soli fizjologicznej (roztworu Ringera). Osuszyć na powietrzu, a następnie utrwalić termicznie, powoli trzykrotnie przesuwając szkiełko (skierowane rozmazem do góry) przez stożek płomienia palnika Bunsena. Następnie pozostawić do ostygnięcia i przeprowadzić barwienie.

Suszone na powietrzu rozmazy muszą zostać bardzo ostrożnie utrwalone termicznie. Pozwala to uniknąć ryzyka infekcji i ogranicza rozpad materiału bakteriologicznego, a w rezultacie również ryzyko zanieczyszczenia roztworów i innych szkiełek.

Wszystkie próbki muszą być przetwarzane z użyciem najnowocześniejszych technologii.

Wszystkie próbki muszą być wyraźnie oznaczone.

Do pobierania i przygotowywania próbek należy używać odpowiednich instrumentów. Postępować zgodnie z instrukcjami producenta dotyczącymi zastosowania/użytkowania.

Podczas stosowania odpowiednich odczynników pomocniczych należy przestrzegać odpowiedniej instrukcji użytkowania.

Przygotowywanie odczynnika

Odczynniki 2, 3 i 4 wchodzące w skład Gram-Color zmodyfikowany (wolny od fenolu) – zestaw do barwienia rozmazów bakteriologicznych metodą Grama są gotowe do użycia. Nie wymagają rozcieńczenia, które prowadzi jedynie do pogorszenia rezultatów barwienia i stabilności odczynników.

Roztwór do barwienia (Odczynnik 1c)

Odczynnik 1a (roztwór fioletu krystalicznego) należy zmieszać z odczynnikiem 1b (roztworem wodorowęglanu sodu) w stosunku 1+1 w dołączonej butelce (1c).

Mieszanka wystarcza na ok. 65-70 preparatów i może być odpowiednio przechowywana w temperaturze pokojowej przez 10 dni lub w chłodziarce przez 14 dni. Jeżeli taka ilość jest zbyt duża w stosunku do okresu przechowywania, zaleca się sporządzenie mniejszej ilości mieszaniny (na jedno szkiełko przypadają ok. 3 ml).

Procedura**Barwienie na statywie do barwienia**

W celu zagwarantowania optymalnych rezultatów barwienia należy stosować się do zalecanych czasów.

Szkiełko z utrwalonym rozmazem		
Odczynnik 1c (samodzielnie sporządzony roztwór do barwienia)	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	1 min
Woda destylowana	ostrożnie spłukać	5 sek.
Odczynnik 2 (Płyn Lugola, stabilizowany)	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	1 min
Woda destylowana	ostrożnie spłukać	5 sek.
Odczynnik 3 (roztwór odbarwiający)	dokładnie przykryć	5 - 10 sek.
Woda destylowana	ostrożnie spłukać	5 sek.
Odczynnik 4 (roztwór fuksyny, wolny od fenolu)	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	15 - 30 sek.
Woda destylowana	ostrożnie spłukać	5 sek.
Osuszyć na powietrzu (np. przez noc lub w temp. 50°C w suszarce)		

Na potrzeby przechowywania preparatów bakteriologicznych przez kilka miesięcy zalecane jest użycie bezwodnego odczynnika do zamykania preparatów (np. Neo-Mount™, Entellan™ lub DPX nowy) i szkiełka nakrywkowego. W tym celu należy bardzo dokładnie osuszyć barwione preparaty.

Użycie olejku immersyjnego jest zalecane na potrzeby analizy barwionych preparatów przy powiększeniu mikroskopowym >40x.

Wynik

Mikroorganizmy Gram-dodatnie ciemnoniebieskie
Mikroorganizmy Gram-ujemne czerwone

Rozwiązywanie problemów**Utrwalanie próbek rozmazu**

Odpowiedni stopień utrwalenia preparatów za pomocą palnika Bunsena lub suszarki ma zasadnicze znaczenie dla zapobiegania infekcjom i dalszemu namnażaniu się bakterii.

Brak barwienia bakterii Gram-dodatnich

Krytyczne znaczenie dla procedury barwienia metodą Grama ma etap odbarwiania, na który może wpłynąć grubość rozmazu. Ponadto świeży roztwór do odbarwiania jest wysoce reaktywny, co oznacza, że wynik należy oceniać ostrożnie. Na etapie odbarwiania użytkownik powinien dokładnie przestrzegać czasów inkubacji wskazanych w protokole – w przeciwnym razie wynik może być fałszywie ujemny.

Uwagi techniczne

Używany mikroskop powinien spełniać wymogi laboratorium diagnostyki medycznej. Podczas korzystania z automatycznych systemów barwiących należy postępować zgodnie z instrukcjami dostarczonymi przez producenta systemu i oprogramowania. Przed przystąpieniem do przechowywania należy usunąć nadmiar oleju immersyjnego.

Parametry wydajności analitycznej

„Gram-Color zmodyfikowany (wolny od fenolu) - zestaw do barwienia” wybarwia i tym samym wizualizuje struktury biologiczne, jak opisano w rozdziale „Wynik” niniejszej Instrukcji obsługi (IFU). Produkt może być używany wyłącznie przez osoby upoważnione i wykwalifikowane. Dotyczy to między innymi przygotowania próbek i odczynników, postępowania z próbkami, decyzji dotyczących odpowiednich kontroli i innych.

Wydajność analityczna produktu jest potwierdzana poprzez testowanie każdej partii produkcyjnej. Regularny udział w międzynarodowych badaniach międzylaboratoryjnych stanowi dodatkowo, niezależne potwierdzenie swoistości i powtarzalności analizy.

Dla poniższych barwników, w zakresie paramterów analitycznych wymienionych poniżej, potwierdzono, że wskaźnik swoistości, czułości i powtarzalności produktu wynosi 100%:

	Swoistość międzyse-ryjna	Czułość międzyse-ryjna	Swoistość wewnątrz-seryjna	Czułość wewnątrz-seryjna
Barwienie metodą Grama				
Mikroorganizmy Gram-dodatnie	12/12	12/12	8/8	8/8
Mikroorganizmy Gram-ujemne	12/12	12/12	8/8	8/8

Wyniki analityczne

Dane wewnątrz- (wykonane na tej samej serii) i międzyseryjne (wykonane na różnych seriach) przedstawiają wiele prawidłowo wybarwionych struktur w stosunku do liczby wykonanych testów.

Parametry wydajności klinicznej

Gram-Color zmodyfikowany (wolny od fenolu) - zestaw do barwienia jest z powodzeniem wykorzystywany w wielu zastosowaniach w warunkach klinicznych od kiludziesięciu lat.

Wydajność kliniczna Gram-Color zmodyfikowany (wolny od fenolu) - zestaw do barwienia w szczególności została określona poprzez ustalenie jego czułości i swoistości w badaniu wewnątrzrym:

Mikroorganizmy Gram-dodatnie

	Barwienie metodą Grama
Czułość	14/15
Swoistość	15/15

Czułość: 14 z 15 próbek: 93,3%

Swoistość: 15 z 15 próbek: 100%

Mikroorganizmy Gram-ujemne

	Barwienie metodą Grama
Czułość	15/15
Swoistość	14/15

Czułość: 15 z 15 próbek: 100%

Swoistość: 14 z 15 próbek: 93,3%

Wyniki niniejszej Oceny Wydajności potwierdzają, że produkt jest odpowiedni do zamierzonego zastosowania i działa niezawodnie.

Interpretacja diagnostyczna wyników barwienia powinna być jednak przeprowadzona przez wykwalifikowanych i upoważnionych specjalistów, z uwzględnieniem wywiadu z pacjentem, morfologii, zastosowania odpowiednich kontroli oraz dodatkowych badań diagnostycznych, jeśli jest to wskazane. Metodę tą można dodatkowo stosować w diagnostyce ludzkiej.

Diagnostyka

Diagnozy może stawiać wyłącznie odpowiednio upoważniony i wykwalifikowany personel.

Należy stosować obowiązujące nazewnictwo.

Metodę tą można dodatkowo stosować w diagnostyce ludzkiej.

Należy wyznaczyć i przeprowadzić dalsze badania zgodnie z uznanymi metodami.

Podczas każdego zastosowania należy korzystać z materiałów kontrolnych w celu zweryfikowania wyników.

Do kontroli zestawu do barwienia można używać bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.

Należy używać bakterii pobranych z hodowli po 18-24 godz. inkubacji.

Przechowywanie

Gram-Color zmodyfikowany (wolny od fenolu) – zestaw do barwienia rozmazów bakteriologicznych metodą Grama należy przechowywać w temperaturze od +15°C do +25°C.

W temperaturze poniżej 15°C z roztworów do barwienia może wytrącać się kolorowy osad. W razie wytrącenia się osadu należy umieścić butelkę na 2-3 godziny w kąpielii wodnej o temp. ok. 60°C. Spowoduje to ponowne rozpuszczenie większości osadu. Następnie należy przefiltrować roztwory do barwienia za pomocą filtra papierowego.

Okres przydatności do użycia

Wyrobu Gram-Color zmodyfikowany (wolny od fenolu) – zestaw do barwienia rozmazów bakteriologicznych metodą Grama nie należy używać po upływie wskazanego terminu przydatności do użycia.

Po otwarciu butelki po raz pierwszy zawartość nadaje się do użycia do wskazanego terminu przydatności do użycia, jeżeli wyrób jest przechowywany w temperaturze od +15°C do +25°C.

Podczas przechowywania butelki powinny zawsze pozostawać szczelnie zamknięte.

Odczynnik 1c (samodzielnie sporządzony roztwór do barwienia) nadaje się do użycia przez 10 dni w przypadku przechowywania w temp. od +15°C do +25°C i przez 14 dni w przypadku przechowywania w temp. od +2°C do +8°C.

Pojemność

Opakowanie wystarcza na 65-70 zastosowań.

Dodatkowe instrukcje

Wyłącznie do użytku przez specjalistów.

W celu uniknięcia błędów wyrobu powinien używać wyłącznie wykwalifikowany personel.

Należy przestrzegać krajowych wytycznych w zakresie bezpieczeństwa pracy i kontroli jakości.

Należy używać mikroskopów, których wyposażenie odpowiada obowiązującym normom.

W razie potrzeby należy użyć standardowej wirówki odpowiadającej wymogom laboratorium diagnostyki medycznej.

Ochrona przed zakażeniem

Należy stosować skuteczne środki ochrony przed zakażeniami zgodne z wytycznymi laboratoryjnymi.

Instrukcje dotyczące utylizacji

Opakowanie należy zutylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi usuwania odpadów.

Zużyte roztwory i roztwory po terminie przydatności do użycia należy zutylizować zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi odpadów specjalnych. Informacje dotyczące utylizacji można znaleźć, korzystając z łącza „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Wskazówki dotyczące utylizacji produktów do mikroskopii”) w witrynie www.microscopy-products.com. Na terenie UE obowiązuje obecnie rozporządzenie (WE) nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006.

Odczynniki pomocnicze

Nr kat. 1.00579	DPX nowy bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	500 ml
Nr kat. 1.04699	Olejek immersyjny do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 100 ml, 500 ml
Nr kat. 1.07961	Entellan™ nowy środek do szybkiego zamykania preparatów mikroskopowych	100 ml, 500 ml, 1 l
Nr kat. 1.09016	Neo-Mount™ bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 500 ml
Nr kat. 1.15525	Tabletki RINGERA do przygotowania roztworu Ringera	100 tabs

Klasyfikacja zagrożeń

Nr kat. 1.01603.0001

Należy stosować się do klasyfikacji zagrożeń wydrukowanej na etykiecie i informacji podanych w karcie charakterystyki substancji chemicznej.

Karta charakterystyki substancji chemicznej jest dostępna w witrynie internetowej i na żądanie.

UWAGA! Zawiera substancje CMR. Należy przestrzegać odpowiednich wskazań bezpieczeństwa podanych w karcie charakterystyki.

Główne składniki produktów

Nr kat. 1.01603.0001

Odczynnik 1a

C.I. 42555 10 g/l
1 l = 0,99 kg

Odczynnik 1b

NaHCO₃ 25 g/l

Odczynnik 2

PVP-jod 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Odczynnik 3

C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Odczynnik 4

C.I. 42510 lub 42520* 0,9 g/l
C₂H₆O 79 g/l

* Do sporządzenia roztworu można użyć obu barwników, czułość i swoistość barwienia pozostanie bez zmian.

Uwaga ogólna

Jeśli podczas użytkowania tego urządzenia lub w wyniku jego użytkowania wystąpił poważny incydent, to należy zgłosić to producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz organowi krajowemu.

Literatura

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H318: Powoduje poważne uszkodzenie oczu.

H336: Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.

H351: Podejrzewa się, że powoduje raka.

H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

P202: Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.

P210: Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić.

P273: Unikać uwolnienia do środowiska.

P280: Stosować rękawice ochronne/ odzież ochronną/ ochronę oczu/ ochronę twarzy.

P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

P308 + P313: W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/ zgłosić się pod opiekę lekarza.

Odczynnik 1a:

H226: Łatwopalna ciecz i pary.

H319: Działa drażniąco na oczy.

H351: Podejrzewa się, że powoduje raka.

H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Odczynnik 2:

H318: Powoduje poważne uszkodzenie oczu.

H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Odczynnik 3:

H225: Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H319: Działa drażniąco na oczy.

H336: Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.

Działalność w segmencie Life Science firmy Merck odbywa się pod marką MilliporeSigma w USA i Kanadzie.

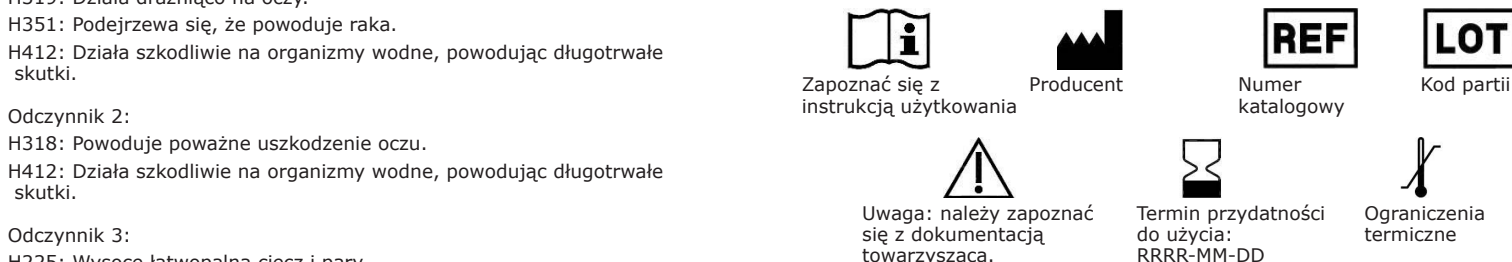
© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany i/lub jej spółki stowarzyszone. Wszelkie prawa zastrzeżone. Merck i Sigma-Aldrich to znaki towarowe firmy Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Wszystkie inne znaki towarowe należą do ich właścicieli. Szczegółowe informacje na temat znaków towarowych są dostępne w publicznie dostępnych zasobach.

Odczynnik 4:

H226: Łatwopalna ciecz i pary.

Historia zmian

Wersja	Komentarz do modyfikacji
2024-Jul-22	Pierwsza wersja z wprowadzoną historią zmian



Zapoznać się z instrukcją użytkowania

Producent

Numer katalogowy

Kod partii

Uwaga: należy zapoznać się z dokumentacją towarzyszącą.

Termin przydatności do użycia: RRRR-MM-DD

Ograniczenia termiczne

Status: 2024-Jul-22

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com**MERCK**

1.01603.0001 **REF****Microscopia****Gram-Color Kit de coloração modificado (isento de fenol)**

para o método de coloração de Gram em esfregaços bacteriológicos

Apenas para utilização profissional

IVDDispositivo Médico para Diagnóstico *In-Vitro***Finalidade prevista**

O presente "Gram-Color Kit de coloração modificado (isento de fenol) - para o método de coloração de Gram em esfregaços bacteriológicos" é utilizado para diagnóstico médico de célula humana e serve para investigação bacteriológica de material de amostra de origem humana. É um kit de coloração pronto a utilizar que, quando utilizado juntamente com outros produtos de diagnóstico *in-vitro* da nossa gama, tornam as estruturas-alvo (bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas) por fixação, coloração, contracoloração, montagem materiais de amostra bacteriológica. p. ex., esfregaços de líquidos corporais, avaliáveis para fins de diagnóstico.

O Gram-Color Kit de coloração modificado é um kit de coloração utilizado para uma coloração de Gram modificado. As soluções Gram-Color modificadas são modificadas e concebidas de forma a que a coloração possa ser realizada no rack de coloração.

As estruturas não coradas têm relativamente pouco contraste e são extremamente difíceis de distinguir no microscópio ótico. As imagens criadas utilizando as soluções de coloração ajudam o investigador autorizado e qualificado a definir melhor a forma e a estrutura, nestes casos. Têm de ser efetuados testes adicionais, de acordo com métodos válidos reconhecidos, para se obter um diagnóstico definitivo.

Princípio

Em bacteriologia, a coloração Gram permite diferenciar rapidamente bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

A estrutura de mureína da parede da bactéria é a base da afinidade da cor. No primeiro passo, as bactérias serão coloridas com violeta cristalino, um corante de anilina. Após o tratamento com solução de iodo (solução de Lugol), forma-se um complexo de corante por iodina. Durante o passo de descoloração, este complexo permanece na estrutura multicamadas de mureína da parede celular das bactérias Gram-positivas - que surgem azul-escuras.

Bactérias Gram-negativas, pelo contrário, têm uma parede celular composta por uma estrutura monocamada de mureína e voltam a libertar, correspondentemente, o corante de coloração com a solução descolorante. Bactérias Gram-negativas serão contracoloradas com solução de fucsina e adquirem depois a cor vermelho.

Material da amostra

Líquidos corporais, exsudados, pus, culturas líquidas ou sólidas

Reagents

Cat. n.º 1.01603.0001

Gram-Color Kit de coloração modificado (isento de fenol) para o método de coloração de Gram em esfregaços bacteriológicos

Componentes da embalagem:

O kit de coloração contém

Reagente 1a:	Solução de violeta cristal	100 ml
Reagente 1b:	Solução de hidrogenocarbonato de sódio	100 ml
Reagente 1c:	Frasco para o reagente 1c (de 1a e 1b)	
Reagente 2:	Solução de Lugol, estabilizada	190 ml
Reagente 3:	Solução descolorante	190 ml
Reagente 4:	Solução de fucsina (sem fenol)	190 ml

Preparação da amostra

A recolha da amostra tem de ser realizada por pessoal qualificado.

Aplique o material da amostra sobre uma lâmina limpa e sem gordura, usando um laço recozido. Aplique o esfregaço do material diretamente na lâmina ou misture primeiro com 1 - 2 gotas de solução fisiológica salina (solução de Ringer). Seque ao ar e depois fixe com calor, passando lentamente a lâmina (com o lado do esfregaço para cima) três vezes pela parte superior da chama do bico de Bunsen. Em seguida, deixe arrefecer e colorir. Os esfregaços secos ao ar têm de ser fixados com calor muito cuidadosamente. Isso evita o risco de infeções e reduz a dissolução do material da amostra e, assim, a contaminação de soluções e de outras lâminas.

Todas as amostras têm de ser tratadas usando a mais moderna tecnologia. Todas as amostras têm de ser inequivocamente rotuladas.

Têm de ser usados instrumentos adequados para retirada e preparação das amostras. Siga as instruções de aplicação / utilização do fabricante.

Ao utilizar os reagentes auxiliares correspondentes, têm de ser cumpridas as instruções de utilização correspondentes.

Preparação do reagente

Os reagentes 2, 3 e 4 utilizados para a coloração do Gram-Color Kit de coloração modificado (isento de fenol) - para o método de coloração de Gram em esfregaços bacteriológicos estão prontas a usar; não é necessária diluição das soluções, o que apenas causaria deterioração do resultado da coloração e da estabilidade.

Solução de coloração (reagente 1c)

Misture o reagente 1a (solução de violeta cristal) e o reagente 1b (solução de hidrogenocarbonato de sódio) numa proporção 1+1 no frasco fornecido (1c).

Esta mistura é suficiente para cerca de 65 a 70 amostras e pode ser armazenada à temperatura ambiente durante 10 dias e refrigerada durante 14 dias, respetivamente. Se esta quantidade for demasiado grande para este período, recomenda-se preparar uma quantidade menor (são necessários cerca de 3 ml por lâmina microscópica).

Procedimento**Coloração no rack de coloração**

Os tempos indicados devem ser cumpridos para garantir um resultado de coloração ideal.

Lâmina com esfregaço fixo		
Reagente 1c (solução de coloração autopreparada)	cubra completamente e deixe reagir	1 min.
Água destilada	enxague cuidadosamente	5 seg.
Reagente 2 (solução de Lugol, estabilizada)	cubra completamente e deixe reagir	1 min.
Água destilada	enxague cuidadosamente	5 seg.
Reagente 3 (solução descolorante)	cubra completamente	10 - 15 seg.
Água destilada	enxague cuidadosamente	5 seg.
Reagente 4 (solução de fucsina (sem fenol))	cubra completamente e deixe reagir	15 - 30 seg.
Água destilada	enxague cuidadosamente	5 seg.
Secar ao ar (p.,ex., durante a noite ou a 50°C na estufa de secagem)		

Recomenda-se a cobertura com meios de montagem não-aquosos (p.ex., Neo-Mount™, Entellan™ ou DPX novo) e com um vidro de cobertura, para armazenar amostras bacteriológicas durante vários meses. Para esse efeito, as amostras coloridas têm de ser muito bem secas.

A utilização de óleo de imersão é recomendada para análise de lâminas coloridas com ampliação microscópica de >40x.

Resultado

Microorganismos Gram-positivos	azul-escuro
Microorganismos Gram-negativos	vermelho

Resolução de anomalias**Fixação de amostras em esfregaço**

É essencial um determinado grau de termofixação com um bico de Bunsen ou numa estufa de calor, a fim de evitar o potencial infeccioso das amostras e demais proliferação das bactérias.

Sem coloração das bactérias Gram-positivas

A fase crítica do procedimento de coloração de Gram é o passo de descoloração, que pode ser influenciado pela espessura do esfregaço. Além disso, uma solução descolorante fresca é altamente reativa, razão pela qual o resultado deve ser avaliado com cautela. Durante o passo de descoloração, o utilizador deverá cumprir os tempos de incubação exatos descritos no protocolo, uma vez que, de contrário, podem surgir resultados falso-negativos.

Notas técnicas

O microscópio usado deverá cumprir os requisitos de um laboratório de diagnóstico médico.

Ao utilizar sistemas de coloração automática, por favor, siga as instruções de utilização disponibilizadas pelo fornecedor do sistema e do software. Retire o excedente do óleo de imersão antes de encher.

Características do desempenho analítico

"Gram-Color Kit de coloração modificado (isento de fenol)" cora e, por conseguinte, visualiza estruturas biológicas, tal como descrito no capítulo "Resultado" desta instrução de utilização. A utilização do produto deve ser efetuada apenas por pessoas autorizadas e qualificadas e isto inclui, entre outras coisas, preparação de amostras e reagentes, manuseamento de amostras, decisões relativamente a controlos adequados e mais.

O desempenho analítico do produto é confirmado através da testagem de todos os lotes de produção. A participação bem-sucedida em testes interlaboratoriais internacionais a intervalos regulares proporciona uma confirmação adicional e independente da especificidade analítica e da repetibilidade.

Para os seguintes corantes, o desempenho analítico foi confirmado em termos de especificidade, sensibilidade e repetibilidade do produto com uma taxa de 100 %:

	Especificidade inter-ensaio	Sensibilidade inter-ensaio	Especificidade intra-ensaio	Sensibilidade intra-ensaio
Coloração de Gram				
Microrganismos Gram-positivos	12/12	12/12	8/8	8/8
Microrganismos Gram-negativos	12/12	12/12	8/8	8/8

Resultados do desempenho analítico

Os dados intra-ensaio (efetuado com o mesmo lote) e inter-ensaio (efetuado com lotes diferentes) listam o número de estruturas coradas corretamente em relação ao número de ensaios efetuados.

Características do desempenho clínico

O Gram-Color Kit de coloração modificado (isento de fenol) foi utilizada durante décadas com sucesso em ambiente clínico num número elevado de aplicações.

O desempenho clínico do Gram-Color Kit de coloração modificado (isento de fenol) em particular foi determinado através do estabelecimento da sua sensibilidade e especificidade num estudo interno:

Microrganismos Gram-positivos

	Coloração de Gram
Sensibilidade	14/15
Especificidade	15/15

Sensibilidade: 14 amostras em 15: 93,3 %

Especificidade: 15 amostras em 15: 100 %

Microrganismos Gram-negativos

	Coloração de Gram
Sensibilidade	15/15
Especificidade	14/15

Sensibilidade: 15 amostras em 15: 100 %

Especificidade: 14 amostras em 15: 93,3 %

Os resultados desta avaliação do desempenho confirmam que o produto é adequado para a utilização prevista e que tem um desempenho fiável.

Contudo, a interpretação para diagnóstico destes resultados de coloração deve ser efetuada por profissionais qualificados e autorizados, levando em conta a anamnese do doente, a morfologia, a utilização de controlos adequados e testes de diagnóstico adicionais, se apropriado. Este método pode ser utilizado de forma complementar no diagnóstico em seres humanos.

Diagnóstico

Os diagnósticos devem ser feitos apenas por pessoal autorizado e qualificado.

Devem ser utilizadas nomenclaturas válidas.

Este método pode ser utilizado de forma complementar no diagnóstico em seres humanos.

Devem ser selecionados e implementados outros testes, de acordo com métodos reconhecidos.

Devem ser realizados controlos adequados a cada aplicação, a fim de evitar resultados incorretos.

O controlo pode ser executado com bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Devem ser usadas bactérias retiradas de um meio de cultura após 18 - 24 horas de incubação.

Armazenamento

Armazene o Gram-Color Kit de coloração modificado (isento de fenol) - para o método de coloração de Gram em esfregaços bacteriológicos entre +15°C e +25°C.

A temperaturas abaixo de 15°C, poderá ocorrer um depósito de precipitado colorido das soluções de coloração. Se tiver ocorrido precipitação, coloque o frasco durante 2 - 3 horas num banho de água aprox. a 60°C. Isso irá voltar a dissolver a maior parte do precipitado. Em seguida, filtre as soluções de coloração através de um filtro de papel.

Durabilidade

O Gram-Color Kit de coloração modificado (isento de fenol) - para o método de coloração de Gram em esfregaços bacteriológicos pode ser usada até expirar a data de validade.

Após a primeira abertura do frasco, o conteúdo pode ser usado até expirar a data de validade indicada, desde que conservado entre +15°C e +25°C.

Os frascos têm de ser sempre mantidos hermeticamente fechados.

O reagente 1c (solução de coloração autopreparada) pode ser utilizado até 10 dias quando armazenado entre +15 °C e +25 °C e até 14 dias quando armazenado entre +2 °C e +8 °C.

Capacidade

A embalagem é suficiente para 65 - 70 aplicações.

Instruções adicionais

Apenas para utilização profissional.

A fim de evitar erros, a aplicação apenas pode ser realizada por pessoal qualificado.

Têm de ser seguidas as diretrizes nacionais sobre segurança no trabalho e garantia de qualidade.

Têm de ser utilizados microscópios equipados de acordo com o padrão.

Se necessário, utilize uma centrífugadora padrão adequada a laboratórios de diagnóstico médico.

Proteção contra infeções

Deverão ser tomadas medidas eficazes para proteger contra infeções, em linha com as diretrizes laboratoriais.

Instruções para eliminação

A embalagem tem de ser eliminada de acordo com as atuais diretrizes sobre eliminação.

As soluções utilizadas e as soluções que excedam a durabilidade têm de ser eliminadas como resíduos especiais, de acordo com as diretrizes locais.

Informação sobre eliminação pode ser obtida através do link rápido

"Dicas para Eliminação de Produtos de Microscopia" em

www.microscopy-products.com. Dentro da UE, aplica-se o Regulamento

(CE) n.º 1272/2008 sobre classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.

Reagentes auxiliares

Cat. n.º	1.00579	DPX novo meio de montagem não aquoso para uso em microscopia	500 ml
Cat. n.º	1.04699	Óleo de imersão para microscopia	Frasco de instilação de 100 ml; 100 ml, 500 ml
Cat. n.º	1.07961	Entellan™ Novo meio de montagem rápido para microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. n.º	1.09016	Neo-Mount™ Meio de montagem anidro para microscopia	Frasco de instilação de 100 ml; 500 ml
Cat. n.º	1.15525	RINGER em comprimidos para a preparação da solução de RINGER	100 tabs

Classificação do perigo

Cat. n.º 1.01603.0001

Observe a classificação de perigo impressa no rótulo e a informação dada na ficha de dados de segurança.

A ficha de dados de segurança está disponível no site na Internet e por pedido.

CUIDADO! Contém substâncias CMR. Cumpra as instruções de segurança correspondentes fornecidas da ficha de dados de segurança.

Principais componentes dos produtos

Cat. n.º 1.01603.0001

Reagente 1a	
C.I. 42555	10 g/l
1 l =	0,99 kg
Reagente 1b	
NaHCO ₃	25 g/l
Reagente 2	
PVP-Iodo	50 g/l
KI	10 g/l
1 l =	1,02 kg
Reagente 3	
C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1 l =	0,79 kg
Reagente 4	
C.I. 42510 ou 42520*	0,9 g/l
C ₂ H ₆ O	79 g/l

* Ambos os corantes podem ser utilizados para a preparação de uma solução, o resultado da coloração possui a mesma sensibilidade e especificidade.

Comentário geral

Se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, queira comunicá-lo ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Literatura

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Líquido e vapores altamente inflamáveis.

H318: Provoca lesões oculares graves.

H336: Pode provocar sonolência ou vertigem.

H351: Suspeito de provocar câncer.

H412: Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados.

P202: Não manuseie o produto antes de ter lido e compreendido todas as precauções de segurança.

P210: Mantenha afastado do calor/ faísca/ chama aberta/ superfícies quentes.- Não fume.

P273: Evite a liberação para o meio ambiente.

P280: Use luvas protetoras/ roupas protetoras/ proteção para os olhos/ proteção para o rosto.

P305 + P351 + P338: EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água durante vários minutos. No caso de uso de lentes de contato, remova-as, se for fácil. Continue enxaguando.

P308 + P313: EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Consulte um médico.

Reagente 1a:

H226: Líquido e vapores inflamáveis.

H319: Provoca irritação ocular grave.

H351: Suspeito de provocar câncer.

H412: Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados.

Reagente 2:

H318: Provoca lesões oculares graves.

H412: Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados.

Reagente 3:

H225: Líquido e vapores altamente inflamáveis.

H319: Provoca irritação ocular grave.

H336: Pode provocar sonolência ou vertigem.

Reagente 4:

H226: Líquido e vapores inflamáveis.

Histórico de revisões

Versão	Comentário à modificação
2024-Jul-22	Versão inicial com a introdução do histórico de revisões



Consulte as instruções de utilização



Fabricante



Número de catálogo



Código do lote



Cuidado: consulte os documentos anexos



Usar até AAAA-MM-DD



Limite de temperatura

Status: 2024-Jul-22

O sector Life Science da Merck opera como MilliporeSigma nos EUA e Canadá.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany e/ou as suas sociedades afiliadas. Todos os direitos reservados. Merck e Sigma-Aldrich são marcas comerciais da Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Todas as outras marcas comerciais são propriedade dos seus respetivos proprietários. Para informações pormenorizadas em matéria de marcas comerciais consultar os recursos disponíveis ao público.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Микроскопия****Gram-Color модифициран
(несъдържащ фенол)**

набор за оцветяване за метод на оцветяване по Gram на бактериологични намазки

Само за професионална употреба**IVD**Медицинско изделие за *in vitro* диагностика**Предназначение**

Този „Gram-Color модифициран (несъдържащ фенол) - набор за оцветяване за метод на оцветяване по Gram на бактериологични намазки“ се използва за клетъчна диагностика в хуманната медицина и служи за бактериологично изследване на материал от проби от човешки произход. Той представлява готов за употреба кит, който при употреба заедно с други продукти за *in vitro* диагностика от нашия портфейл прави таргетни структури оценими за диагностични цели (Gram-положителни или Gram-отрицателни бактерии) чрез фиксиране, оцветяване, контраоцветяване, поставяне върху предметно стъкло в материали от бактериологични проби, например натривки от телесни течности.

Gram-Color модифициран е кит за оцветяване, който се използва за модифицирано оцветяване по Грам.

Разтворите по Gram-Color модифициран са модифицирани и са проектирани по такъв начин, че оцветяването може да се извърши на стойката за оцветяване.

Неоцветените структури са със сравнително слаб контраст и са изключително трудни за разграничаване под наблюдение със светлинен микроскоп. Изображенията, създадени с помощта на разтворите за оцветяване, помагат на упълномощения и квалифициран изследовател по-добре да определи формата и структурата в такива случаи. Трябва да се извършат допълнителни изследвания в съответствие с признати, валидни методи, за да се достигне до дефинитивна диагноза.

Принцип

В бактериологията оцветяването по Gram позволява бързо диференциране на бактериите на Gram-положителни и Gram-отрицателни.

Муреиновата структура на бактериалната стена е основата на афинитета към багрила.

В първата стъпка бактериите ще се оцветят с кристално виолетово, анилиново багрило. След третирането с йоден разтвор (луголов разтвор) ще се образува комплекс багрило-йод. По време на стъпката на обезцветяване този комплекс остава в многослойната муреинова структура на клетъчната стена на Gram-положителните бактерии - те ще изглеждат тъмносиньо.

Gram-отрицателните бактерии, за разлика от това, имат клетъчна стена, състояща се от еднослойна муреинова структура и съответно освобождават отново багрилото с разтвора за обезцветяване. Gram-отрицателните бактерии ще бъдат контраоцветени с разтвор на фуксинов и ще изглеждат червени.

Материал на пробите

Телесни течности, ексудат, гной, течни или твърди култури

Реагенти

Кат. № 1.01603.0001

Gram-Color модифициран (несъдържащ фенол)

набор за оцветяване за метод на оцветяване по Gram на бактериологични намазки

Компоненти в опаковката:

Китът за оцветяване съдържа

Реагент 1a:	Кристален виолетов разтвор	100 ml
Реагент 1b:	Разтвор на натриев хидроген карбонат	100 ml
Реагент 1c:	Бутилка за реагент 1c (от 1a и 1b)	
Реагент 2:	Луголов разтвор, стабилизан	190 ml
Реагент 3:	Обезцветяващ разтвор	190 ml
Реагент 4:	Фуксинов разтвор (без фенол)	190 ml

Подготовка на пробите

Вземането на проби трябва да се извършва от квалифициран персонал. Нанесете материала на пробата върху чисто предметно стъкло без мазнина с помощта на закалена примка. След това пригответе натривка от материала или директно върху предметното стъкло, или като първо смесите с 1 - 2 капки физиологичен разтвор (разтвор на Ringer). Изсушете на въздух и след това фиксирайте чрез загревяне, като бавно изтегляте предметното стъкло (с обърната нагоре страна с натривка) през горната

част на пламъка на горелката Bunsen трикратно. След това оставете да се охлади и оцветете.

Натривките, изсушени на въздух, трябва да се фиксират чрез загревяне много внимателно. Това предотвратява риска от инфекции и намалява разварянето на материала на пробите и следователно - контаминация на разтворите и на другите предметни стъкла.

Всички проби трябва да се третират с използване на най-актуалната технология.

Всички проби трябва ясно да се обозначат.

За вземане на проби и тяхната подготовка трябва да се използват подходящи инструменти. Следвайте инструкциите за приложение / употреба на производителя.

Когато се използват съответните помощни реагенти, трябва да се спазват съответните инструкции за употреба.

Подготовка на реагентите

Реагенти 2, 3 и 4 на кита за Gram-Color модифициран (несъдържащ фенол) - набор за оцветяване за метод на оцветяване по Gram на бактериологични намазки са готови за употреба, не се налага разреждане на разтворите и то само води до влошаване на резултата от оцветяването и тяхната стабилност.

Оцветяващ разтвор (Реагент 1c)

Смесете реагент 1a (кристален виолетов разтвор) и реагент 1b (разтвор на натриев хидроген карбонат) 1+1 в предоставената бутилка (1c).

Тази смес е достатъчна за приблизително 65 - 70 проби и може да се съхранява съответно 10 дни на стайна температура и 14 дни охладена. Ако това количество изглежда твърде голямо за този период от време, препоръчително е да се подготви по-малко количество (необходими са прилб. 3 ml на микроскопски препарат).

Процедура**Оцветяване на стойката за оцветяване**

Посочените времена трябва да се спазват, за да се гарантира оптимален резултат от оцветяването.

Предметно стъкло с фиксирана натривка		
Реагент 1c (самостоятелно приготвен оцветяващ разтвор)	покрийте напълно и оставете да протече реакция	1 min
Дестилирана вода	изплакнете внимателно	5 sec
Реагент 2 (луголов разтвор, стабилизан)	покрийте напълно и оставете да протече реакция	1 min
Дестилирана вода	изплакнете внимателно	5 sec
Реагент 3 (обезцветяващ разтвор по Gram)	покрийте напълно	5 - 10 sec
Дестилирана вода	изплакнете внимателно	5 sec
Реагент 4 (фуксинов разтвор, без фенол)	покрийте напълно и оставете да протече реакция	15 - 30 sec
Дестилирана вода	изплакнете внимателно	5 sec
Изсушете на въздух (напр. за денонощие или при 50 °C в шкафа за изсушаване)		

За съхранение на бактериологични проби за няколко месеца се препоръчва покриване с неводна среда за поставяне върху предметното стъкло (напр. Neo-Mount™, Entellan™ или DPX Ново) и с покривно стъкло. За тази цел оцветените проби трябва да се изсушат много добре.

Препоръчва се използване на имерсионно масло за анализ на оцветени предметни стъкла с микроскопско увеличение >40x.

Резултат

Gram-положителни микроорганизми	тъмносиньо
Gram-отрицателни микроорганизми	червено

Отстраняване на проблеми**Фиксиране на натривките от проби**

Достатъчното фиксиране чрез загревяне с помощта на горелка Bunsen или в загреващ шкаф е от основно значение за предотвратяване на инфекциозния потенциал на пробите и последващата пролиферация на бактериите.

Липса на оцветяване на Gram-положителните бактерии

Критичният етап на процедурата за оцветяване по Gram е стъпката за обезцветяване, която може да се повлияе от дебелината на натривката. В допълнение, пресният разтвор за обезцветяване е високо реактивен, поради което резултатът трябва да се оценява внимателно. По време на стъпката за обезцветяване потребителят трябва да се придържа към точните времена за инкубация, описани в протокола, тъй като в противен случай могат да се получат фалшиво отрицателни резултати.

Технически забележки

Използваният микроскоп трябва да отговаря на изискванията на медицинска диагностична лаборатория. Когато се използват автоматични системи за оцветяване, моля, следвайте инструкциите за употреба, предоставени от доставчика на системата и софтуера. Преди напълване отстранете излишното имерсионно масло.

Аналитични работни характеристики

„Gram-Color модифициран (несъдържащ фенол) - набор за оцветяване“ оцветява и следователно визуализира биологични структури, както е описано в главата „Резултат“ на настоящите инструкции за употреба. Продуктът трябва да се използва само от упълномощени и квалифицирани лица, това включва, освен другите неща, подготовка на пробите и реагентите, боравене с пробите, решения по отношение на подходящите контроли и други.

Аналитичните характеристики на продукта са потвърдени чрез тестване на всяка производствена партида. Успешното редовно участие в международни междулабораторни тестове осигурява допълнително и независимо потвърждение на аналитичните специфичност и повторямост.

Аналитичните характеристики са потвърдени за следните оцветявания по отношение на специфичност, чувствителност и повторямост на продукта на ниво 100 %:

	Специфичност между тестовите	Чувствителност между тестовите	Специфичност в рамките на теста	Чувствителност в рамките на теста
Оцветяване по Gram				
Gram-положителни микроорганизми	12/12	12/12	8/8	8/8
Gram-отрицателни микроорганизми	12/12	12/12	8/8	8/8

Аналитични работни резултати

Данните в рамките на теста (извършени върху една и съща партида) и между тестовите (извършени върху различни партиди) посочват броя правилно оцветени структури спрямо броя на извършените тестове.

Клинични работни характеристики

Gram-Color модифициран (несъдържащ фенол) - набор за оцветяване е използван успешно в клинична среда в продължение на десетилетия при голям брой приложения.

Клиничните характеристики на Gram-Color модифициран (несъдържащ фенол) - набор за оцветяване по-специално са определени чрез установяване на чувствителността и специфичността му в собствено проучване:

Gram-положителни микроорганизми

	Оцветяване по Gram
Чувствителност	14/15
Специфичност	15/15

Чувствителност: 14 от 15 проби: 93,3 %

Специфичност: 15 от 15 проби: 100 %

Gram-отрицателни микроорганизми

	Оцветяване по Gram
Чувствителност	15/15
Специфичност	14/15

Чувствителност: 15 от 15 проби: 100 %

Специфичност: 14 от 15 проби: 93,3 %

Резултатите на тази оценка на работните характеристики потвърждават че продуктът е подходящ за предназначението и функционира надеждно.

Въпреки това диагностичната интерпретация на резултатите от оцветяването трябва да се извършва от квалифицирани и упълномощени специалисти, като се вземат предвид анамнезата на пациента, морфологията, използването на подходящи контроли и допълнителни диагностични тестове, ако е подходящо. Този метод може да се използва допълнително в диагностиката при хора.

Диагностика

Диагнозите следва да се поставят само от упълномощен и квалифициран персонал. Трябва да се използва валидна номенклатура. Този метод може да се използва допълнително в диагностиката при хора. Трябва да се подберат и извършат допълнителни изследвания в съответствие с признати методи.

При всяко приложение трябва да се използват подходящи контроли, за да се избегне неправилен резултат. Китът за оцветяване може да се контролира с Gram-положителни бактерии и Gram-отрицателни бактерии. Трябва да се използват бактерии, взети от културна среда след 18 - 24 часа инкубация.

Съхранение

Съхранявайте Gram-Color модифициран (несъдържащ фенол) - набор за оцветяване за метод на оцветяване по Gram на бактериологични намазки при +15 °C до +25 °C.

При температури под 15 °C от разтворите за оцветяване може да се отдели оцветена утайка. Ако се е получило утаяване, поставете бутилката за 2 - 3 часа във водна баня, настроена на прибл. 60 °C. Това ще разтвори отново по-голямата част от утайката. След това филтрирайте разтворите за оцветяване през филтърна хартия.

Срок на годност

Разтвор по Gram-Color модифициран (несъдържащ фенол) - набор за оцветяване за метод на оцветяване по Gram на бактериологични намазки може да се използва до посочената дата на срок на годност.

След първото отваряне на бутилката съдържанието може да се използва до посочената дата на срок на годност, когато се съхранява при +15 °C до +25 °C.

Бутилките трябва винаги да се съхраняват плътно затворени.

Реагент 1с (самостоятелно приготвен оцветяващ разтвор) може да се използва до 10 дни при съхранение при +15 °C до +25 °C и 14 дни при съхранение при +2 °C до +8 °C.

Капацитет

Опаковката е достатъчна за 65 - 70 приложения.

Допълнителни инструкции

Само за професионална употреба

За да се избегнат грешки приложението трябва да се извършва самоот квалифициран персонал.

Трябва да се следват националните указания за осигуряване на безопасност и качество при работа.

Трябва да се използват микроскопи със стандартно оборудване.

Ако е необходимо, използвайте стандартна центрофуга, подходяща за медицинска диагностична лаборатория.

Защита от инфекция

Трябва да се вземат ефективни мерки за защита срещу инфекция в съответствие с лабораторните указания.

Инструкции за изхвърляне

Опаковката трябва да се изхвърли в съответствие с актуалните указания за изхвърляне.

Използваните разтвори и разтворите с изтекъл срок на годност трябва да се изхвърлят като специален отпадък в съответствие с местните указания. Информация за изхвърлянето може да се получи от бързия линк „Съвети за изхвърляне на продукти за микроскопия“ от www.microscopy-products.com. В рамките на ЕС е в сила приложимият понастоящем РЕГЛАМЕНТ (ЕК) № 1272/2008 за класификация, обозначаване и опаковане на вещества и смеси, поправящ и заместващ Директиви 67/548/ЕИО и 1999/45/ЕК, и поправящ Регламент (ЕК) № 1907/2006.

Спомагателни реагенти

Кат. №	1.00579 DPX Ново неводна среда за заливка при микроскопия	500 ml
Кат. №	1.04699 Имерсионно масло за микроскопия	100-ml бутилка за накапване, 100 ml, 500 ml
Кат. №	1.07961 Entellan™ new бърз среда за заливка за микроскопия	100 ml, 500 ml, 1 l
Кат. №	1.09016 Neo-Mount™ безводна среда за микроскопия	100-ml бутилка за накапване, 500 ml
Кат. №	1.15525 RINGER таблетки за приготвяне на разтвор на RINGER	100 tabs

Класификация на рисковете

Кат. № 1.01603.0001

Моля, спазвайте класификацията на рисковете, отпечатана на етикета, и информацията, дадена в листа с данни за безопасност.

Листът с данни за безопасност може да се намери в уебсайта и при поискване.

ВНИМАНИЕ! Съдържа CMR вещества. Моля, спазвайте съответните инструкции за безопасност от листа с данни за безопасност.

Основни компоненти на продуктите

Кат. № 1.01603.0001

Реагент 1a
C.I. 42555 10 g/l
1 l = 0,99 kg

Реагент 1b
NaHCO₃ 25 g/l

Реагент 2
PVP-йод 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Реагент 3
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Реагент 4
C.I. 42510 или 42520* 0,9 g/l
C₂H₆O 79 g/l

* И двете багрила могат да се използват за приготвяне на разтвора, в резултат се получава идентична чувствителност и специфичност на оцветяването.

Обща забележка

Ако по време на използването на това изделие или в резултат на употребата му възникне сериозен инцидент, моля, съобщете за него на производителя и/или на неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Литература

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Силно запалими течност и пари.

H318: Предизвиква сериозно увреждане на очите.

H336: Може да предизвика сънливост или световъртеж.

H351: Предполага се, че причинява рак.

H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект.

P202: Не използвайте преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност.

P210: Да се пази от топлина, нагорещени повърхности, искри, открит пламък и други източници на запалване. Тютюнопушенето забранено.

P273: Да се избягва изпускане в околната среда.

P280: Използвайте предпазни ръкавици/ предпазно облекло/ предпазни очила/ предпазна маска за лице.

P305 + P351 + P338: ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването.

P308 + P313: ПРИ явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/ помощ.

Реагент 1a:

H226: Запалими течност и пари.

H319: Предизвиква сериозно дразнене на очите.

H351: Предполага се, че причинява рак.

H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект.

Реагент 2:

H318: Предизвиква сериозно увреждане на очите.

H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект.

Реагент 3:

H225: Силно запалими течност и пари.

H319: Предизвиква сериозно дразнене на очите.

H336: Може да предизвика сънливост или световъртеж.

Реагент 4:

H226: Запалими течност и пари.

Хронология на редакциите

Версия	Коментар за модификацията
2024-Jul-22	Първоначална версия с въвеждането на хронология на редакциите

Лифе Сциенце подразделение на Merck функционира като MilliporeSigma в САЩ и Канада.

© 2024 Merck KGaA, Дармшат, Германия и/или техните филиали. Всички права запазени. Merck и Sigma-Aldrich са търговски марки на Merck KGaA, Дармшат, Германия. Всички други търговски марки са притежание на съответните им собственици. Подробна информация за търговските марки може да се намери в публично достъпните източници.



Направете справка в инструкциите за употреба



Производител



Каталожен номер



Код на партида



Внимание, направете справка в придружаващите документи



Срок на годност ГГГГ-ММ-ДД



Ограничение за температура

Status: 2024-Jul-22



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Mikroszkópia****Gram-Color módosított (fenolmentes)**

festőkészlet bakteriológiai kenetek GRAM festéséhez

Csak professzionális használatra

IVD *In vitro* diagnosztikai orvostechnikai eszköz**Rendeltetés**

Ez az "Gram-Color módosított (fenolmentes) - festőkészlet bakteriológiai kenetek GRAM festéséhez" embergyógyászati sejtidiagnózisra használatos és célja humán eredetű mintaanyag bakteriológiai vizsgálata. Ez használatra kész színező készlet, amely terméksorunk más *in vitro* diagnosztikai termékeivel együtt használva diagnosztikai célokra értékelhetővé teszi a célstruktúrákat (Gram-pozitív vagy Gram-negatív baktériumok) bakteriológiai mintaanyagok (pl. testnedvek kenetei) rögzítése, színezése, kontraszt-színezése, felrakása révén.

A módosított Gram-Color módosított Gram színezésre használatos színező készlet.

A Gram-Color módosított oldatok módosítottak és olyan módon vannak kialakítva, hogy a színezés végrehajtható színező állványon.

Nem színezett struktúrák viszonylag alacsony kontrasztúak és fénymikroszkópban rendkívül nehezen megkülönböztethetőek. Ilyen esetekben a színező oldatokkal létrehozott képek segítik az engedélyezett és képzett vizsgálót az alak és a struktúrák jobb meghatározásában. További vizsgálatokat kell végezni elismert, érvényes módszerek szerint, definitív diagnózis felállítása céljából.

Elv

A bakteriológiában a Gram-színezés lehetővé teszi a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok gyors megkülönböztetését.

A baktériumfal murein szerkezete a színaffinitás alapja.

Az első lépésben a baktérium színezése a kristályibolya anilinfestékkel történik. Jódoldattal (Lugol-féle oldat) való kezelés után festék-jód komplex képződik. A színtelenítési lépésben ez a komplex a Gram-pozitív baktérium sejtfal többrétegű murein szerkezetében marad - ezek sötétkék színben jelennek meg.

Ezzel szemben a Gram-negatív baktériumok sejtfala egyrétegű murein struktúrából áll, és ennek megfelelően a színtelenítő oldattal kioldódik a színező festék. A Gram-negatív baktériumokat kontrasztszínezik fukszin oldattal és ezután piros közötti színben fognak megjelenni.

Mintaanyag

Testnedvek, váladék, genny, folyékony vagy szilárd kultúrák

Reagensok

Kat. sz. 1.01603.0001

Gram-Color módosított (fenolmentes) festőkészlet bakteriológiai kenetek GRAM festéséhez

A csomag összetevői:

A színező készlet az alábbiakat tartalmazza

Reagens 1a:	Kristályibolya oldat	100 ml
Reagens 1b:	Nátrium-hidrogénkarbonát oldat	100 ml
Reagens 1c:	Palack (1a és 1b) 1c reagenséhez	
Reagens 2:	Lugol-oldat, stabilizált	190 ml
Reagens 3:	Színtelenítő oldat	190 ml
Reagens 4:	Fukszin oldat, (fenolmentes)	190 ml

Minta-előkészítés

A mintavételt kiképzett személyzetnek kell végrehajtani.

Hőkezelt hurok használatával alkalmazza a mintaanyagot tiszta és zsírmentes tárgylemezre. Ezután kenje az anyagot közvetlenül a tárgylemezre vagy először keverjen hozzá 1 - 2 csepp fiziológiai sóoldatot (Ringer-oldat). Szárítsa levegőn, majd rögzítse hővel oly módon, hogy háromszor lassan áthúzza a tárgylemezt (kenetes oldalával felfelé) a Bunsen-égő lángjának felső részén. Ezt követően hagyja lehűlni, majd színezze.

A levegőn szárított kenetek hőrögzítését nagyon gondosan kell végezni. Ez megakadályozza a fertőzés kockázatát és csökkenti a mintaanyag leoldódását, és ily módon az oldatok és más tárgylemezek szennyeződését.

Minden mintát a legkorszerűbb technológiával kell kezelni.

Minden mintát világosan fel kell címkézni.

Megfelelő műszereket kell használni mintavételhez és előkészítéshez. Kövesse a gyártó utasításait az alkalmazásra / használatra vonatkozóan.

A megfelelő kisegítő reagens használatkor be kell tartani a megfelelő utasításokat.

Reagens-előkészítés

A Gram-Color módosított (fenolmentes) - festőkészlet bakteriológiai kenetek GRAM festéséhez, 2, 3 és 4 számú reagens használatra kész, az oldatok hígítása nem szükséges és az csak a színezési eredmény és a stabilitás rosszabbodását eredményezi.

Színező oldat (reagens 1c)

Keverje össze az reagens 1a (kristályibolya oldat) és az reagens 1b (nátrium-hidrogénkarbonát oldat) 1+1 arányban a mellékelt palackban (1c). Ez a keverék elegendő körülbelül 65 - 70 mintához, és 10 napig tárolható szobahőmérsékleten, illetve 14 napig hűtve. Ha ez a mennyiség túl soknak tűnik erre az időtartamra, tanácsos kisebb mennyiséget készíteni (körülbelül 3 ml szükséges mikroszkóp-tárgylemezenként).

Eljárás**Színezés a színező állványon**

A megadott időket be kell tartani az optimális színezési eredmény garantálása céljából.

Tárgylemez rögzített kenettel		
Reagens 1c (saját készítésű színező oldat)	fedje le teljesen és hagyja reagálni	1 perc
Desztillált víz	öblítse gondosan	5 sec
Reagens 2 (Lugol-oldat, stabilizált)	fedje le teljesen és hagyja reagálni	1 perc
Desztillált víz	öblítse gondosan	5 sec
Reagens 3 (Színtelenítő oldat)	fedje le teljesen	5 - 10 sec
Desztillált víz	öblítse gondosan	5 sec
Reagens 4 (Fukszin oldat, fenolmentes)	fedje le teljesen és hagyja reagálni	15 - 30 sec
Desztillált víz	öblítse gondosan	5 sec
Levegőn szárítás (pl. egy éjszakán át vagy 50°C-on szárítószekrényben)		

Bakteriológiai minták több hónapos tárolása esetén ajánlott a lefedés nem vízalapú felrakó közeggel (pl. Neo-Mount™, Entellan™ vagy DPX új) és fedő üveglappal. Ennek céljából a színezett mintákat nagyon jól meg kell szárítani.

Immerziós olaj használata javasolt a színezett tárgylemezek elemzésére >40x mikroszkópos nagyítás mellett.

Eredmény

Gram-pozitív mikroorganizmusok	sötétkék
Gram-negatív mikroorganizmusok	piros

Hibaelhárítás**Kenetminták rögzítése**

Megfelelő mértékű hőrögzítés (Bunsen-égő használatával vagy fűtőszekrényben) szükséges a minták fertőző potenciáljának és baktériumok szaporodásának megelőzéséhez.

Gram-pozitív baktériumok nincsenek színezve

A Gram-színezési eljárás kritikus szakasza a színtelenítési lépés, amit befolyásolhat a kenet vastagsága. Ráadásul a friss színtelenítő oldat rendkívül reakcióképes, ezért az eredményt gondosan kell értékelni. A színtelenítési lépés alatt a felhasználók be kell tartásuk a protokollban leírt pontos inkubációs időket, egyébként hamis negatív eredményeket kaphatnak.

Műszaki megjegyzések

A használt mikroszkóp meg kell feleljen az orvosi diagnosztikai laboratórium követelményeinek.

Kérjük, automatikus színezési rendszerek használata esetén kövesse a rendszer és a szoftver gyártójának utasításait.

Feltöltés előtt távolítsa el a többlet immerziós olajat.

Analitikai teljesítményjellemzők

"Gram-Color módosított (fenolmentes) - festőkészlet" színezi és ezáltal láthatóvá teszi a biológiai struktúrákat, amint ismertetjük ezen Használati utasítás "Eredmény" c. fejezetében. Csak engedélyezett és kiképzett személyek hajthatják végre a termék használatát, többek között a minta- és reagens-előkészítést, a mintafeldolgozást, és hozhatnak a megfelelő kontrollokra vonatkozó döntéseket és még sok mást.

A termék analitikai teljesítményét meg kell erősíteni minden termékfürdő ellenőrzésével. A rendszeres, sikeres részvétel nemzetközi laboratóriumok közötti tesztekben az analitikai specificitás és reprodukálhatóság további és független megerősítést adja.

Az alábbi színezékekre 100%-os arányban megerősítést nyert a termék analitikai teljesítménye a specificitás, érzékenység és reprodukálhatóság vonatkozásában:

	Inter-assay specificitás	Inter-assay érzékenység	Intra-assay specificitás	Intra-assay érzékenység
Gram-féle színezés				
Gram-pozitív mikroorganizmusok	12/12	12/12	8/8	8/8
Gram-negatív mikroorganizmusok	12/12	12/12	8/8	8/8

Analitikai teljesítmény eredmények

Intra- (ugyanabban az adagban végrehajtva) és inter-assay (különböző adagokban végrehajtva) adatok megadják a helyesen színezett struktúrák számát a végrehajtott vizsgálatok számának arányában.

Klinikai teljesítményjellemzők

A Gram-Color módosított (fenolmentes) - festőkészlet évtizedek óta sikeresen használják klinikai környezetben nagyszámú alkalmazásban.

Különösképpen a Gram-Color módosított (fenolmentes) - festőkészlet vonatkozóan egy házon belüli vizsgálatban megállapították az érzékenységet és a specificitást a klinikai teljesítmény meghatározásához:

Gram-pozitív mikroorganizmusok

	Gram-féle színezés
Érzékenység	14/15
Specificitás	15/15

Érzékenység: 14 minta 15 közül: 93,3 %

Specificitás: 15 minta 15 közül: 100 %

Gram-negatív mikroorganizmusok

	Gram-féle színezés
Érzékenység	15/15
Specificitás	14/15

Érzékenység: 15 minta 15 közül: 100 %

Specificitás: 14 minta 15 közül: 93,3 %

Ezen teljesítményértékelés megerősíti, hogy a termék alkalmas a rendeltetés szerinti használatra és megbízhatóan teljesít.

A színezési eredmények diagnosztikai értelmezését azonban képzett és jóváhagyott szakemberek kell végezzék, figyelembe véve a beteg anamnézisének, a morfológiájának, a megfelelő kontrollok használatát, valamint a további diagnosztikai tesztekkel, ha vannak ilyenek. Ez a módszer kiegészítésként használható a humán diagnosztikában.

Diagnosztika

Diagnózist csak engedélyezett és kiképzett személyzet készíthet.

Érvényes nomenklatúrákat kell használni.

Ez a módszer kiegészítésként használható a humán diagnosztikában.

További vizsgálatokat kell kiválasztani és bevezetni elismert módszerek szerint.

Megfelelő kontrollokat kell végezni minden alkalmazásnál, a helytelen eredmény elkerülése végett.

A színező készlet kontrollálható Gram-pozitív baktériumokkal és Gram-negatív baktériumokkal.

A kultúráközegből 18 - 24 óra inkubáció után kivett baktériumok használhatóak.

Tárolás

Tárolja a Gram-Color módosított (fenolmentes) - festőkészlet bakteriológiai kenetek GRAM festéséhez +15 °C - +25 °C-on.

15 °C alatti hőmérsékletű oldatok esetén a színezett precipitátum kiválhat a színező oldatokból. Ha precipitáció történt, helyezze a palackot 2 - 3 órára kb. 60 °C hőmérsékletű vízfürdőbe. Ez fel fogja oldani a precipitátum nagy részét. Ezt követően szűrje át a színező oldatot papírszűrőn.

Élettartam

A Gram-Color módosított (fenolmentes) - festőkészlet bakteriológiai kenetek GRAM festéséhez használható a megadott lejárati ideig.

A palack első felnyitása után a tartalom használható a megadott lejárati ideig, ha a tárolás +15 °C - +25 °C hőmérsékleten történt.

A palackokat mindig szorosan lezárva kell tartani.

Kapacitás

A csomag tartalma 65 - 70 alkalmazásra elegendő.

További utasítások

Csak professzionális használatra.

Hibák elkerülése végett az alkalmazást csak kiképzett személyzet hajthatja végre.

A munka biztonságára és a minőségbiztosításra vonatkozó országos útmutatókat be kell tartani.

A szabványnak megfelelően felszerelt mikroszkópokat kötelező használni.

Ha szükséges, használjon orvosi diagnosztikai laboratóriumban alkalmazható, szokásos centrifugát.

Fertőzés elleni védelem

Hatékony intézkedéseket kell tenni a fertőzés elleni védelemre, a laboratóriumi útmutatókkal összhangban.

Megsemmisítési utasítások

A csomagot az aktuális megsemmisítési útmutatókkal összhangban kell megsemmisíteni.

A használt oldatokat, illetve a lejárt szavatossági idejű oldatokat speciális hulladékként kell megsemmisíteni, a helyi útmutatásokkal összhangban.

Megsemmisítésre vonatkozó információ kapható a www.microscopy-products.com oldalról, a "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Ötletek mikroszkópiai termékek megsemmisítésére) gyors hivatkozás alatt. Az EU jelenleg érvényes, anyagok és keverékek osztályozására, címkézésére és csomagolására vonatkozó, 1272/2008. sz RENDELETE (EC) van érvényben, amely javítja és hatályon kívül helyezi a 67/548/EEC és 1999/45/EC direktívákat, és javítja az (EC) 1907/2006. sz rendeletet.

Kiegészítő reagensok

Kat. sz.	1.00579 DPX új nem-vizes rögzítőszer mikroszkópiai célra	500 ml
Kat. sz.	1.04699 Immerziós olaj mikroszkópiai célra	100 ml-es csepegtető palackban, 100 ml, 500 ml
Kat. sz.	1.07961 Entellan™ new gyorsfedőanyag a mikroszkópiához	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. sz.	1.09016 Neo-Mount™ vízmentes fedőanyag mikroszkópiai célra	100 ml-es csepegtető palackban, 500 ml
Kat. sz.	1.15525 Ringer tableta RINGER-oldat készítéséhez	100 tabs

Veszélyminősítés

Kat. sz. 1.01603.0001

Kérjük, vegye figyelembe a címkére nyomtatott veszélyminősítést és a biztonsági adatlapon megadott információt.

A biztonsági adatlap megtalálható a webhelyen, illetve megkapható kérésre. VIGYÁZAT! CMR-anyagokat tartalmaz. Kérjük, tartsa be a biztonsági adatlapon megadott, megfelelő biztonsági utasításokat.

A termékek fő összetevői

Kat. sz. 1.01603.0001

Reagens 1a
C.I. 42555 10 g/l
1 l = 0,99 kg

Reagens 1b
NaHCO₃ 25 g/l

Reagens 2
PVP-jód 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Reagens 3
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reagens 4
C.I. 42510 vagy 42520* 0,9 g/l
C₂H₆O 79 g/l

* Mindkét festék használható oldat előállítására, a színezés eredményének azonos az érzékenysége és specificitása.

Általános megjegyzés

Ha ezen eszköz használata során vagy használata eredményeképpen súlyos incidens történt, kérjük, jelentse a gyártónak és/vagy jóváhagyott képviselőnek, illetve az országos hatóságoknak.

Irodalom

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H318: Súlyos szemkárosodást okoz.

H336: Álmosságot vagy szédülést okozhat.

H351: Feltehetően rákot okoz.

H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

P202: Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.

P210: Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó. Tilos a dohányzás.

P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280: Védőkesztyű/ védőruha/ szemvédő/ arcvédő/ hallásvédelem.

P305 + P351 + P338: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

P308 + P313: Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni.

Reagens 1a:

H226: Tűzveszélyes folyadék és gőz.

H319: Súlyos szemirritációt okoz.

H351: Feltehetően rákot okoz.

H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

Reagens 2:

H318: Súlyos szemkárosodást okoz.

H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

Reagens 3:

H225: Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H319: Súlyos szemirritációt okoz.

H336: Álmosságot vagy szédülést okozhat.

Reagens 4:

H226: Tűzveszélyes folyadék és gőz.

Felülvizsgálati előzmények

verzió	Módosítással kapcsolatos megjegyzé
2024-Jul-22	A Felülvizsgálati előzmények bevezetésével készült első változat



Nézze meg a
használati utasítást



Gyártó



Katalógus szám



Tételkód



Vigyázat, olvassa el a mel-
lékelt dokumentumokat



Lejáratási idő:
ÉÉÉÉ-HH-NN



Hőmérsék-
lethatár

Status: 2024-Jul-22

A Merck Life Science üzletága az USA-ban és Kanadában MilliporeSigma néven működik.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Németország és/vagy leányvállalatai. Minden jog fenntartva. Merck és Sigma-Aldrich a Merck KGaA, Darmstadt, Németország, védjegyei. Minden más védjegy megfelelő tulajdonosa birtokában van. A védjegyekre vonatkozó információ rendelkezésre áll nyilvánosan elérhető forrásokból.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF**

Mikroskopija

Gram-Color modificētais (fenolu nesaturošais)

krāsošanas komplekts bakterioloģisko iztriepju krāsošanai pēc Grama metodes

Tikai profesionālai lietošanai

IVD *in vitro* diagnostikas medicīniska ierīce



Paredzētais pielietojums

Šo "Gram-Color modificētais (fenolu nesaturošais) - krāsošanas komplekts bakterioloģisko iztriepju krāsošanai pēc Grama metodes" izmanto cilvēka šūnu diagnostikā, lai veiktu cilvēka izcelsmes parauga materiāla bakterioloģisko izmeklēšanu. Tas ir lietošanai gatavs krāsošanas komplekts, kas kopā ar citiem mūsu piedāvātajiem *in vitro* diagnostikas izstrādājumiem nodrošina mērķa struktūru izvērtēšanu diagnostiskos nolūkos (grampozitīva vai gramnegatīva baktērija), veicot fiksāciju, krāsošanu, kontrastkrāsošanu, nostiprināšanu bakterioloģiskā parauga materiālam, piemēram, ķermeņa šķidrumu iztriepēm.

Gram-Color modificētais ir krāsošanas komplekts, ko izmanto krāsošanai pēc modificētās Grama metodes. Gram-Color modificētais šķīdumi ir modificēti un izstrādāti tā, lai krāsošanu varētu veikt uz krāsošanas statīva.

Nekrāsotām struktūrām ir relatīvi neliels kontrasts, un tās ir ārkārtīgi grūti atšķirt gaismas mikroskopā. Šādos gadījumos ar krāsošanas šķīdumiem iekrāsoti preparāti palīdz pilnvarotam un kvalificētam speciālistam labāk noteikt formu un struktūru. Lai noteiktu galīgo diagnozi, jāveic papildu izmeklējumi, izmantojot atzītas un validētas metodes.

Princips

Bakterioloģiskajā izmeklēšanā krāsošana pēc Grama metodes nodrošina ātru grampozitīvo un gramnegatīvo baktēriju diferencēšanu.

Krāsu afinitāti nosaka atšķirīgā peptidoglikānu struktūra baktēriju sienā. Pirmās darbības laikā baktērijas krāso ar anilīna krāsu - kristālvioleto. Pēc apstrādes ar joda šķīdumu (Lugola šķīdums) veidojas krāsvielas-joda komplekss. Atkrāsošanas darbības laikā šis komplekss saglabājas grampozitīvo baktēriju šūnas sienas daudzslāņainajā peptidoglikānu slānī - tās iekrāsojas tumši zili krāsā.

Turpretī gramnegatīvo baktēriju šūnas siena sastāv no viena peptidoglikānu slāņa un, līdz ar to, krāsvielas atbrīvojas, apstrādājot ar atkrāsošanas šķīdumu. Gramnegatīvo baktēriju kontrastkrāsošanai izmanto fuksīna šķīdumu, un pēc tam tās iekrāsojas sarkanā krāsā.

Parauga materiāls

Ķermeņa šķidrumi, eksudāti, strutas, šķidrās vai cietās barotnes

Reaģenti

Kat. nr. 1.01603.0001

Gram-Color modificētais (fenolu nesaturošais)

krāsošanas komplekts bakterioloģisko iztriepju krāsošanai pēc Grama metodes

Iepakojuma sastāvdaļas:

Krāsošanas komplektā iekļauts

Reaģents 1a:	Kristālvioleto šķīdums	100 ml
Reaģents 1b:	Nātrija hidroģenkarbonāta šķīdums	100 ml
Reaģents 1c:	Pudele Reaģents 1c (sagatavo no 1a un 1b)	
Reaģents 2:	Lugola šķīdums, stabilizēts	190 ml
Reaģents 3:	Atkrāsošanas šķīdums	190 ml
Reaģents 4:	Fuksīna šķīdums (fenolu nesaturošs)	190 ml

Parauga sagatavošana

Paraugs jāpaņem kvalificētam personālam.

Izmantojot rūdīta metāla cilpu, uzlieciet parauga materiālu uz tīra un attaukota priekšmetstikliņa. Tad vai nu tūlīt izsmērējiet materiālu uz priekšmetstikliņa, vai arī vispirms sajauciet ar 1 - 2 pilieniem fizioloģiskā šķīduma (Ringera šķīdums). Nožāvējiet gaisā un pēc tam fiksējiet ar karstumu, trīs reizes lēnām pārvietojot priekšmetstikliņu (ar iztriepes pusi uz augšu) caur Bunsena degļa liesmas augšējo daļu. Pēc tam ļaujiet atdzist un krāsojiet. Gaisā nožāvētās iztriepes ar karstumu jāfiksē ļoti rūpīgi. Šī fiksācija darbojas kā infekciju profilakse un samazina parauga materiāla krāsas izmaiņas un, līdz ar to - šķīdumu un citu priekšmetstikliņu piesārņojumu.

Strādājot ar visiem paraugiem, jāizmanto modernākās tehnoloģijas.

Visi paraugi skaidri jāmarķē.

Paraugu paņemšanai un sagatavošanai jāizmanto piemēroti instrumenti. Ievērojiet ražotāja norādījumus par pielietojumu/lietošanu.

Ja izmantojat atbilstošus papildu reaģentus, jāievēro atbilstošā lietošanas instrukcija.

Reaģentu sagatavošana

Krāsošanai izmantotā Gram-Color modificētais (fenolu nesaturošais) - krāsošanas komplekts bakterioloģisko iztriepju krāsošanai pēc Grama metodes reaģenti 2., 3. un 4. ir gatavi lietošanai, šķīdumu atšķaidīšana nav nepieciešama un tikai pasliktina krāsošanas rezultātu un krāsojuma stabilitāti.

Krāsošanas šķīdums (reaģents 1c)

Sajauciet reaģents 1a (kristālvioleto šķīdums) un reaģents 1b (nātrija hidroģenkarbonāta šķīdums) 1+1 komplektam pievienotajā pudelē (1c). Šī maisījuma daudzums ir pietiekams aptuveni 65 - 70 paraugiem, un to var uzglabāt istabas temperatūrā 10 dienas, bet ledusskapī - attiecīgi 14 dienas. Ja daudzums ir pārāk liels šim laika periodam, ieteicams sagatavot mazāku daudzumu (mikroskopa priekšmetstikliņam ir nepieciešami apm. 3 ml).

Procedūra

Krāsošana uz krāsošanas statīva

The stated times should be adhered to in order to guarantee an optimal staining result.

Priekšmetstikliņš ar fiksētu iztriepi		
Reaģents 1c (pašpagatavotais krāsošanas šķīdums)	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	1 min.
Destilēts ūdens	rūpīgi noskalojiet	5 sek.
Reaģents 2 (Lugola šķīdums, stabilizēts)	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	1 min.
Destilēts ūdens	rūpīgi noskalojiet	5 sek.
Reaģents 3 (atkrāsošanas šķīdums)	pilnībā pārklājiet	5 - 10 sek.
Destilēts ūdens	rūpīgi noskalojiet	5 sek.
Reaģents 4 (fuksīna šķīdums, fenolu nesaturošs)	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	15 - 30 sek.
Destilēts ūdens	rūpīgi noskalojiet	5 sek.
Nožāvējiet gaisā (piem., atstājot žāvēties uz nakti, vai žāvējiet 50°C temperatūrā žāvēšanas skapī)		

Lai bakterioloģiskos paraugus uzglabātu vairākus mēnešus, ieteicams tos pārklāt ar ūdeni nesaturošu nostiprināšanas vidi (piem., Neo-Mount™, Entellan™ vai DPX new) un segstikliņu. Šim nolūkam nokrāsotie priekšmetstikliņi ļoti labi jānožāvē.

Krāsoto priekšmetstikliņu analīzei ar mikroskopa palielinājumu > 40 x ieteicams izmantot imersijas eļļu.

Rezultāts

Grampozitīvi mikroorganismi	tumši zili
Gramnegatīvi mikroorganismi	sarkanā

Traucējumu novēršana

Iztriepes paraugu fiksācija

Lai likvidētu paraugu infekciozitāti un novērstu turpmāku baktēriju vairošanos, ļoti svarīgi ir pietiekami ilgi fiksēt paraugu ar karstumu, izmantojot Bunsena degli vai karstuma skapi.

Grampozitīvo baktēriju neiekrašanās

Krāsošanas pēc Grama metodes kritiskais posms ir atkrāsošana, kuru var ietekmēt iztriepes biežums. Turklāt svaigs atkrāsošanas šķīdums ir īpaši efektīvs, kas nozīmē, ka rezultāts jāvērtē piesardzīgi. Atkrāsošanas darbības laikā lietotajam precīzi jāievēro šajā protokolā norādītie inkubācijas laiki, pretējā gadījumā var iegūt viltus negatīvus rezultātus.

Tehniskās piezīmes

Izmantotajam mikroskopam jāatbilst medicīniskās diagnostiskās laboratorijas prasībām.

Ja izmantojat automātiskās krāsošanas ierīces, ievērojiet iekārtu un programmatūru piegādātāja lietošanas instrukcijas.

Pirms uzpildīšanas notīriet imersijas eļļas atliekas.

Analitiskās veiktspējas raksturojums

"Gram-Color modificētais (fenolu nesaturošais) - krāsošanas komplekts" nokrāso un tādējādi vizualizē bioloģiskās struktūras, kā aprakstīts šīs lietošanas instrukcijas nodaļā „Rezultāts”. Šo izstrādājumu drīkst lietot tikai pilnvarotas un kvalificētas personas; lietošana ietver (bet ne tikai) paraugu un reaģentu sagatavošanu, rīkošanos ar paraugu, lēmumu pieņemšanu par piemērotu kontroļu uzņemšanu u.c.

Izstrādājuma analītiskā veiktspēja ir apstiprināta, pārbaudot katru izstrādājuma sēriju. Veiksmīga un regulāra piedalīšanās starptautiskos starplaboratoriju testos nodrošina papildu un neatkarīgu analītiskā specifiskuma un atkārtojamības apstiprinājumu.

Turpmāk minētajām krāsvielām apstiprinātais izstrādājuma analītiskās veiktspējas specifiskums, jutība un atkārtojamība ir 100%:

	Specifiskums starp analīzes sērijām	Jutīgums starp analīzes sērijām	Specifiskums vienā analīzes sērijā	Jutīgums vienā analīzes sērijā
Krāsošana pēc Grama metodes				
Grampozitīvi mikroorganismi	12/12	12/12	8/8	8/8
Gramnegatīvi mikroorganismi	12/12	12/12	8/8	8/8

Analītiskās veiktspējas rezultāti

Datos, kas iegūti, analizējot vienu analīzes sēriju un dažādas analīzes sērijas, norādīts pareizi iekrāsoto struktūru skaits attiecībā pret veikto analīžu skaitu.

Klīniskās veiktspējas raksturojums

Gram-Color modificētais (fenolu nesaturošais) - krāsošanas komplekts ir vairākas desmitgades veiksmīgi un ļoti bieži izmantots klīniskajā vidē.

Gram-Color modificētais (fenolu nesaturošais) - krāsošanas komplekts klīniskā veiktspēja tika izvērtēta, nosakot analīzes jutīgumu un specifiskumu uzņēmuma iekšējā pētījumā:

Grampozitīvi mikroorganismi

	Krāsošana pēc Grama metodes
Jutīgums	14/15
Specifiskums	15/15

Jutīgums: 14 paraugi no 15: 93,3%

Specifiskums: 15 paraugi no 15: 100%

Gramnegatīvi mikroorganismi

	Krāsošana pēc Grama metodes
Jutīgums	15/15
Specifiskums	14/15

Jutīgums: 15 paraugi no 15: 100%

Specifiskums: 14 paraugi no 15: 93,3%

Šie veiktspējas novērtējuma rezultāti apstiprina, ka izstrādājums ir piemērots paredzētajam pielietojumam un tā darbība ir uzticama.

Krāsošanas rezultātu diagnostiskā interpretācija tomēr ir jāveic kvalificētiem un pilnvarotiem speciālistiem, ņemot vērā pacienta anamnēzi, morfoloģiju, atbilstošu kontroļu izmantošanu un papildu diagnostiskos izmeklējumus, ja nepieciešams. Šo metodi var izmantot kā papildmetodi diagnozes noteikšanai cilvēkiem.

Diagnostika

Diagnoze jānosaka tikai pilnvarotam un kvalificētam personālam.

Jāizmanto apstiprināta terminoloģija.

Šo metodi var izmantot kā papildmetodi diagnozes noteikšanai cilvēkiem. Jāizvēlas un jāveic papildu izmeklējumi, izmantojot atzītas metodes.

Katrā lietošanas reizē jāizmanto piemērotas kontroles, lai izvairītos no nepareiza rezultāta iegūšanas.

Kā krāsošanas komplekta kontroles var izmantot grampozitīvas un gramnegatīvas baktērijas.

Jāizmanto baktērijas, kas iegūtas no barotnes pēc 18 – 24 stundu inkubācijas perioda.

Uzglabāšana

Gram-Color modificētais (fenolu nesaturošais) - krāsošanas komplekts bakterioloģisko iztriepju krāsošanai pēc Grama metodes uzglabājiet no +15°C līdz +25°C temperatūrā.

Temperatūrā, kas zemāka par 15°C, krāsošanas šķīdumus var izgulsnēties krāsu precipitāti. Ja vērojama precipitācija, uz 2 – 3 stundām ievietojiet pudeli ūdens vannā, kas uzsildīta līdz apm. 60°C. Tas izšķīdinās vairumu precipitātu. Pēc tam filtrējiet krāsošanas šķīdumus caur papīra filtru.

Derīguma termiņš

Gram-Color modificētais (fenolu nesaturošais) - krāsošanas komplekts bakterioloģisko iztriepju krāsošanai pēc Grama metodes drīkst lietot līdz norādītajam derīguma termiņam.

Pēc pirmās pudeles atvēršanas tās saturu drīkst lietot līdz norādītajam derīguma termiņam, ja to uzglabā no +15°C līdz +25°C temperatūrā.

Pudeles vienmēr jāuzglabā cieši noslēgtas.

Reaģents 1c (pašpagatavotais krāsošanas šķīdums) var izmantot līdz 10 dienām, ja uzglabā +15°C līdz +25°C temperatūrā, vai 14 dienas, ja uzglabā +2°C līdz +8°C temperatūrā.

Ietilpība

Iepakojuma tilpums ir pietiekams 65 - 70 lietošanas reizēm.

Papildu norādījumi

Tikai profesionālai lietošanai.

Lai izvairītos no kļūdām, lietot drīkst tikai kvalificēts personāls.

Jāievēro valsts norādījumi par darba drošību un kvalitātes nodrošināšanu.

Jālieto mikroskopi ar standartam atbilstošu aprīkojumu.

Ja nepieciešams, izmantojiet standarta centrifūgu, kas piemērota medicīniskām diagnostiskām laboratorijām.

Aizsardzība pret infekcijām

Jāizmanto efektīvi pasākumi aizsardzībai pret infekcijām atbilstoši laboratorijas vadlīnijām.

Norādījumi par likvidēšanu

Iepakojums jālikvidē atbilstoši spēkā esošajām vadlīnijām par likvidēšanu. Izlietotie šķīdumi un šķīdumi, kuriem beidzies derīguma termiņš, jālikvidē kā speciālie atkritumi atbilstoši vietējām vadlīnijām. Informāciju par likvidēšanu skatiet tīmekļa vietnē www.microscopy-products.com, noklikšķinot uz ātrās saites „Hints for Disposal of Microscopy Products” (Ieteikumi mikroskopiskai izmeklēšanai izmantoto izstrādājumu likvidēšanai). ES šobrīd ir spēkā REGULA (EK) Nr. 1272/2008 par vielu un maisījumu klasificēšanu, marķēšanu un iepakojšanu un ar ko groza un atceļ Direktīvas 67/548/EEK un 1999/45/EK un groza Regulu (EK) Nr. 1907/2006.

Papildu reaģenti

Kat. nr.	1.00579	DPX new ūdeni nesaturoša nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml
Kat. nr.	1.04699	Imersijas eļļa mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml pilināšanas pudele, 100 ml, 500 ml
Kat. nr.	1.07961	Entellan™ new ātrās nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. nr.	1.09016	Neo-Mount™ ūdeni nesaturoša nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml pilināšanas pudele, 500 ml
Kat. nr.	1.15525	RINGER tabletes RINGERA šķīduma pagatavošanai	100 tabs

Bīstamības klasifikācija

Kat. nr. 1.01603.0001

Lūdzu, ievērojiet marķējumā norādīto bīstamības klasifikāciju un drošības datu lapā sniegto informāciju.

Drošības datu lapa ir pieejama tīmekļa vietnē un pēc pieprasījuma. UZMANĪBU! Satur kancerogēnas, mutagēnas vai toksiskas reprodūktīvajai sistēmai (CMR) vielas. Ievērojiet atbilstošos norādījumus par drošību, kas sniegti drošības datu lapā.

Galvenās izstrādājumus sastāvdaļas

Kat. nr. 1.01603.0001

Reaģents 1a	
C.I. 42555	10 g/l
1 l = 0,99 kg	
Reaģents 1b	
NaHCO ₃	25 g/l
Reaģents 2	
PVP-jods	50 g/l
KI	10 g/l
1 l = 1,02 kg	
Reaģents 3	
C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1 l = 0,79 kg	
Reaģents 4	
C.I. 42510 vai 42520*	0,9 g/l
C ₂ H ₆ O	79 g/l

* Abas krāsvielas var izmantot šķīduma pagatavošanai, krāsošanas rezultātam ir identiska jutība un specifiskums.

Vispārēja piezīme

Ja šīs ierīces lietošanas laikā vai lietošanas rezultātā rodas nopietns negatīvs ziņojums par to ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim, kā arī vietējai regulējošai iestādei.

Literatūra

- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
- Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
- Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage



H225: Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

H318: Izraisa nopietnus acu bojājumus.

H336: Var izraisīt miegainību vai reiboņus.

H351: Ir aizdomas, ka var izraisīt vēzi.

H412: Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.

P202: Neizmantot pirms nav izlasīti un saprasti visi apzīmējumi.

P210: Sargāt no karstuma, karstām virsmām, dzirkstelēm, atklātas uguns un citiem aizdegšanās avotiem. Nesmēķēt.

P273: Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.

P280: Izmantot aizsargcimdus/ aizsargapģērbu/ acu aizsargus/ sejas aizsargus.

P305 + P351 + P338: SASKARĒ AR ACĪM: Uzmanīgi izskalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to var vienkārši izdarīt. Turpināt skalot.

P308 + P313: Ja nokļūst saskarē vai saistīts ar to: lūdziet medicīnu palīdzību.

Reaģents 1a:

H226: Uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

H319: Izraisa nopietnu acu kairinājumu.

H351: Ir aizdomas, ka var izraisīt vēzi.

H412: Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.

Reaģents 2:

H318: Izraisa nopietnus acu bojājumus.

H412: Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.

Reaģents 3:

H225: Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

H319: Izraisa nopietnu acu kairinājumu.

H336: Var izraisīt miegainību vai reiboņus.

Reaģents 4:

H226: Uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

Pārskatījumu vēsture

Versija	Izmaiņu komentārs
2024-Jul-22	Sākotnējā versija ar pārskatījumu vēstures pievienošanu



Skatīt lietošanas instrukciju



Ražotājs



Kataloga numurs



Sērijas kods



Uzmanību! Skatīt pievienotos dokumentus



Izlietot līdz GGGG-MM-DD



Temperatūras ierobežojums

Status: 2024-Jul-22

ASV un Kanādā uzņēmums Merck uzņēmējdarbību, kas saistīta ar Life Science, veic kā uzņēmums MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Vācija un/vai tā meitasuzņēmumi. Visas tiesības aizsargātas. Merck un Sigma-Aldrich ir uzņēmuma Merck KGaA, Darmstadt, Vācija preču zīmes. Pārējās preču zīmes ir attiecīgo īpašnieku īpašums. Sīkāka informācija par preču zīmēm ir pieejama publiski pieejamos avotos.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Mikroskopija****Gram-Color modifikuotas (be fenolio)**

dažymo rinkinys, skirtas bakteriologinių tepinėlių dažymui Gramo metodu

Tik profesionaliam naudojimui**IVD** *In vitro* diagnostikos medicinos priemonė**Numatytoji paskirtis**

Šis „Gram-Color modifikuotas (be fenolio) - dažymo rinkinys, skirtas bakteriologinių tepinėlių dažymui Gramo metodu“ naudojamas žmogaus ir medicininių ląstelių diagnostikai ir skirtas bakteriologiniam žmogaus kilmės mėginio medžiagos tyrimui. Tai paruoštas naudoti dažymo rinkinys, kurį naudojant kartu su kitais *in vitro* diagnostikos produktais iš mūsų asortimento, tikslinės struktūros gali būti vertinamos diagnostikos tikslais (gramteigiamos arba gramneigiamos bakterijos) fiksuojant, dažant, kontrastuojant, dengiant bakteriologinių mėinių medžiagose, pavyzdžiui, kūno skysčių tepinėliuose.

Gram-Color modifikuotas yra dažymo rinkinys, naudojamas modifikuotam Gramo dažymui.

Gram-Color modifikuotas tirpalai yra modifikuoti ir sukurti taip, kad dažyti būtų galima dažymo stove.

Nedažytos struktūros yra palyginti mažai kontrastingos ir jas labai sunku atskirti šviesiniu mikroskopu. Vaizdai, sukurti naudojant dažymo tirpalus, padeda įgaliotam ir kvalifikuotam tyrėjui tokiais atvejais geriau nustatyti formą ir struktūrą. Tam, kad būtų nustatyta galutinė diagnozė, reikia atlikti papildomus tyrimus taikant pripažintus ir galiojančius metodus.

Principas

Bakteriologijoje Gramo dažymas leidžia greitai atskirti gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas.

Bakterijų sienelių mureino struktūra lemia spalvinį afinitetą. Pirmajame etape bakterijos bus dažomos kristaliniu violetu – anilino dažais. Apdorojus jodo tirpalu (Lugol tirpalu), susidaro dažų ir jodo kompleksas. Per spalvos šalinimo etapą šis kompleksas lieka daugiasluoksniėje gramteigiamų bakterijų ląstelės sienelės mureino struktūroje – jos atrodys tamsiai mėlyna spalvos.

O gramneigiamų bakterijų ląstelės sienelę sudaro vienasluoksni mureino struktūra, todėl jos vėl išskiria dažančiąją medžiagą, kai naudojamas spalvos šalinimo tirpalas. Gramneigiamos bakterijos bus nuspalvintos fuksinu tirpalu ir atrodys nuo raudonos spalvos.

Mėginių medžiaga

Kūno skysčiai, eksudatas, pūliai, skystos ar kietos kultūros

Reagentai

Kat. Nr. 1.01603.0001

Gram-Color modifikuotas (be fenolio) dažymo rinkinys, skirtas bakteriologinių tepinėlių dažymui Gramo metodu

Pakuotės komponentai:

Dažymo rinkinio sudėtis

Reagentas 1a: Kristalinio violeto tirpalas	100 ml
Reagentas 1b: Natrio hidrokarbonato tirpalas	100 ml
Reagentas 1c: Buteliukas Reagentas 1c (skirtam 1a ir 1b)	
Reagentas 2: Lugol tirpalas, stabilizuotas	190 ml
Reagentas 3: Spalvos šalinimo tirpalas	190 ml
Reagentas 4: Fuksinu tirpalas, (be fenolio)	190 ml

Mėginių paruošimas

Mėginius turi paimti kvalifikuoti darbuotojai.

Ant švares ir neriebaluoto stiklėlio uždėkite mėginio medžiagą, naudodami atkaitintą kilpelę. Tada užtepkite medžiagą tiesiai ant stiklėlio arba iš pradžių sumaišykite su 1–2 lašais fiziologinio druskos tirpalo (Ringerio tirpalo). Išdžiovinkite ore ir tada termiškai užfiksuokite, tris kartus lėtai traukdami stiklėlį (tepinėlio puse į viršų) per viršutinę Bunseno degiklio liepsnos dalį. Tada leiskite atvėsti ir nudažykite.

Ore išdžiovintus tepinėlius reikia labai kruopščiai termiškai fiksuoti. Taip išvengiama infekcijų pavojaus ir sumažinamas mėginio medžiagos išstipimas, o kartu ir tirpalų bei kitų stiklėlių užteršimas.

Visi mėginiai turi būti apdorojami naudojant pažangiausias technologijas.

Visi mėginiai turi būti aiškiai sužymėti.

Mėginiams imti ir ruošti turi būti naudojami tinkami instrumentai. Laikykitės gamintojo pateiktą taikymo ir naudojimo instrukcijų.

Naudojant atitinkamus pagalbinius reagentus, būtina laikytis atitinkamų naudojimo instrukcijų.

Reagentų paruošimas

Dažymo reagentai 2, 3 ir 4 iš Gram-Color modifikuotas (be fenolio) - dažymo rinkinys, skirtas bakteriologinių tepinėlių dažymui Gramo metodu, yra paruošti naudoti, tirpalų skiesti nereikia, dėl to tik pablogėja dažymo rezultatas ir jų stabilumas.

Dažymo tirpalas (reagentas 1c)

Pateiktame buteliuke (1c) sumaišykite reagentus 1a (kristalinio violeto tirpalas) ir reagentus 1b (natrio hidrokarbonato tirpalas) 1+1. Šio mišinio užtenka maždaug 65–70 mėinių ir jį galima laikyti kambario temperatūroje 10 dienų, o šaldytuve – 14 dienų. Jei šis kiekis atrodo per didelis, patartina paruošti mažesnę kiekį (vienam mikroskopavimo stiklėliui reikia maždaug 3 ml).

Procedūra**Dažymas ant dažymo stovo**

Norint užtikrinti optimalų dažymo rezultatą, reikia laikytis nurodyto laiko.

Stiklėlis su fiksuotu tepinėliu		
Reagentas 1c (savarankiškai paruoštą dažomąjį tirpalą)	visiškai uždenkite ir palikite, kad vyktų reakcija	1 min
Distiliuotas vanduo	atidžiai skalaukite	5 sek
Reagentas 2 (Lugol tirpalas, stabilizuotas)	visiškai uždenkite ir palikite, kad vyktų reakcija	1 min
Distiliuotas vanduo	atidžiai skalaukite	5 sek
Reagentas 3 (spalvos šalinimo tirpalas)	visiškai uždenkite	5 - 10 sek
Distiliuotas vanduo	atidžiai skalaukite	5 sek
Reagentas 4 (fuksinu tirpalas, be fenolio)	visiškai uždenkite ir palikite, kad vyktų reakcija	15 - 30 sek
Distiliuotas vanduo	atidžiai skalaukite	5 sek
Džiovinkite ore (pvz., per naktį arba 50 °C temperatūroje džiovinimo spintoje)		

Bakteriologinius mėinius rekomenduojama uždenkti ne vandenine dengimo terpe (pvz., Neo-Mount™, Entellan™ arba DPX new) ir uždenkti dengiamuoju stiklu, jei norite juos laikyti kelis mėnesius. Jei ketinate tai daryti, nudažytus mėinius reikia labai gerai išdžiovinti.

Analizuojant dažytus stiklėlius, kurių mikroskopinis didinimas >40x, rekomenduojama naudoti imersinę alyvą.

Rezultatas

Gramteigiami mikroorganizmai

tamsiai mėlyna

Gramneigiami mikroorganizmai

raudona

Trikčių šalinimas**Tepinėlių mėginių fiksavimas**

Norint išvengti mėinių infekcinio potencialo ir tolesnio bakterijų dauginimosi, būtina juos pakankamai termiškai fiksuoti naudojant Bunseno degiklį arba kaitinimo spintoje.

Gramteigiamos bakterijos nenusidažo

Lemiamas Gramo dažymo procedūros etapas yra spalvos šalinimo etapas, kuriam įtakos gali turėti tepinėlio storis. Be to, šviežias spalvos šalinimo tirpalas yra labai reaktyvus, todėl rezultatą reikia vertinti atsargiai. Per spalvos šalinimo etapą naudotojas turi tiksliai laikytis protokole aprašyto inkubavimo laiko, nes priešingu atveju gali būti gauti klaidingai neigiami rezultatai.

Techninės pastabos

Naudojamas mikroskopas turi atitikti medicininės diagnostikos laboratorijos reikalavimus.

Naudodami automatines dažymo sistemas, laikykitės sistemos ir programinės įrangos tiekėjo pateiktų naudojimo instrukcijų.

Prieš pildami pašalinkite imersinės alyvos perteklių.

Analitinio veiksmingumo savybės

„Gram-Color modifikuotas (be fenolio) - dažymo rinkinys“ nudažo ir taip vizualizuoja biologines struktūras, kaip aprašyta šios naudojimo instrukcijos skyriuje „Rezultatai“. Gaminį gali naudoti tik įgalioti ir kvalifikuoti asmenys, įskaitant, be kita ko, mėginių ir reagentų ruošimą, mėginių tvarkymą, sprendimus dėl tinkamų kontrolės priemonių ir kt.

Gaminio analitinis veiksmingumas patvirtinamas tiriant kiekvieną pagamintą partiją. Sėkmingas nuolatinis dalyvavimas tarptautiniuose tarplaboratoriniuose tyrimuose yra papildomas ir nešališkas analitinio specifiškumo ir pakartojamumo patvirtinimas.

Toliau išvardytiems dažymo atvejams gaminio specifiškumo, jautrumo ir pakartojamumo analitinis veiksmingumas buvo patvirtintas 100 %:

	Tyrimų tarpusavio specifiškumas	Tyrimų tarpusavio jautrumas	Tyrimo vidinis specifiškumas	Tyrimo vidinis jautrumas
Gramo dažymas				
Gramteigiami mikroorganizmai	12/12	12/12	8/8	8/8
Gramneigiami mikroorganizmai	12/12	12/12	8/8	8/8

Analitinio veiksmingumo rezultatai

Duomenys apie teisingai nudažytų struktūrų skaičių, palyginti su atliktų tyrimų skaičiumi, pateikiami tyrimo viduje (su ta pačia partija) ir tarp tyrimų (su skirtingomis partijomis).

Klinikinio veiksmingumo savybės

Gram-Color modifikuotas (be fenolio) - dažymo rinkinys ištikus dešimtmečius sėkmingai ir įvairiai naudojamas klinikinėje praktikoje.

Klinikinis Gram-Color modifikuotas (be fenolio) - dažymo rinkinys veiksmingumas buvo nustatytas atlikus vidinį tyrimą ir nustačius jo jautrumą ir specifiškumą:

Gramteigiami mikroorganizmai

	Gramo dažymas
Jautrumas	14/15
Specifiškumas	15/15

Jautrumas: 14 mėginių iš 15: 93,3 %

Specifiškumas: 15 mėginių iš 15: 100 %

Gramneigiami mikroorganizmai

	Gramo dažymas
Jautrumas	15/15
Specifiškumas	14/15

Jautrumas: 15 mėginių iš 15: 100 %

Specifiškumas: 14 mėginių iš 15: 93,3 %

Šio veiksmingumo vertinimo rezultatai patvirtina, kad gaminy yra tinkamas naudoti pagal paskirtį ir veikia patikimai.

Tačiau diagnostinę dažymo rezultatų interpretaciją turi atlikti kvalifikuoti ir įgalioti specialistai, atsižvelgdami į paciento anamnezę, morfologiją, tinkamą kontrolę ir, jei reikia, papildomus diagnostinius tyrimus. Šis metodas gali būti papildomai naudojamas žmonių diagnostikai.

Diagnostika

Diagnozę turi nustatyti tik įgalioti ir kvalifikuoti darbuotojai.

Turi būti naudojamos tinkamos klasifikacijos.

Šis metodas gali būti papildomai naudojamas žmonių diagnostikai.

Papildomi tyrimai turi būti parenkami ir atliekami pagal pripažintus metodus.

Kad būtų išvengta neteisingų rezultatų, kiekvieno naudojimo metu turėtų būti taikomi tinkami kontrolės metodai.

Dažymo rinkinys gali būti kontroliuojamas naudojant gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas.

Turi būti naudojamos bakterijos, paimtos iš terpės po 18–24 valandų inkubacijos.

Laikymas

Laikykite Gram-Color modifikuotas (be fenolio) - dažymo rinkinys, skirtas bakteriologinių tepinėlių dažymui Gramo metodu nuo +15 °C iki +25 °C temperatūroje.

Esant žemesnei nei 15 °C temperatūrai, iš dažomųjų tirpalų gali nusėsti spalvotos nuosėdos. Jei susidarė nuosėdos, pastatykite buteliuką 2–3 valandoms į maždaug 60 °C temperatūros vandens vonelę. Taip didžioji dalis nuosėdų vėl ištirps. Paskui dažymo tirpalus filtruokite per popierinį filtrą.

Tinkamumo laikas

Gram-Color modifikuotas (be fenolio) - dažymo rinkinys, skirtas bakteriologinių tepinėlių dažymui Gramo metodu galima naudoti iki nurodyto tinkamumo naudoti termino pabaigos.

Pirmą kartą atidarius buteliuką, laikant nuo +15 °C iki +25 °C temperatūroje, turinį galima naudoti iki nurodyto tinkamumo naudoti termino pabaigos. Buteliukai visada turi būti sandariai uždaryti.

Reagentas 1c (savaranikiškai paruoštą dažomąjį tirpalą) galima naudoti iki 10 dienų, jei jis laikomas nuo +15 °C iki +25 °C temperatūroje, ir 14 dienų, jei jis laikomas nuo +2 °C iki +8 °C temperatūroje.

Išėiga

Pakuotės užtenka 65 - 70 panaudojimui.

Papildomos instrukcijos

Tik profesionaliam naudojimui.

Tam, kad būtų išvengta klaidų, naudoti turi tik kvalifikuotas personalas.

Būtina laikytis nacionalinių darbo saugos ir kokybės užtikrinimo gairių.

Turi būti naudojami pagal standartus įrengti mikroskopai.

Jei reikia, naudokite standartinę centrifugą, tinkamą medicinos diagnostikos laboratorijai.

Apsauga nuo infekcijos

Reikia imtis veiksmingų priemonių apsaugoti nuo infekcijos pagal laboratorijos rekomendacijas.

Šalinimo instrukcijos

Pakuotę reikia išmesti laikantis galiojančių šalinimo gairių.

Panaudoti tirpalai ir tirpalai, kurių tinkamumo naudoti terminas pasibaigęs, turi būti šalinami kaip specialiosios atliekos pagal vietos gaires. Informacijos apie šalinimą galima rasti pasinaudojus greitąja nuoroda „Hints for Disposal of Microscopy Products“ adresu www.microscopy-products.com. ES taikomas šiuo metu galiojantis REGLAMENTAS (EB) Nr. 1272/2008 dėl cheminių medžiagų ir mišinių klasifikavimo, ženklavimo ir pakavimo, iš dalies keičiantis ir panaikinantis Direktyvas 67/548/EEB bei 1999/45/EB ir iš dalies keičiantis Reglamentą (EB) Nr. 1907/2006.

Pagalbiniai reagentai

Kat. Nr. 1.00579	DPX new nevandeninė dengimo terpė mikroskopijai	500 ml
Kat. Nr. 1.04699	Imersinė alyva, skirta mikroskopijai	100 ml lašavimo buteliukas, 100 ml, 500 ml
Kat. Nr. 1.07961	Entellan™ new greito dengimo terpė mikroskopijai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. Nr. 1.09016	Neo-Mount™ bevandenė dengimo terpė mikroskopijai	100 ml lašavimo buteliukas, 500 ml
Kat. Nr. 1.15525	RINGER tabletės skirtos RINGER tirpalui ruošti	100 tabs

Pavojingumo klasifikacija

Kat. Nr. 1.01603.0001

Laikykites etiketėje išspausdintos pavojingumo klasifikacijos ir saugos duomenų lape pateiktos informacijos.

Saugos duomenų lapą galima rasti svetainėje arba specialiai paprašyti.

PERSPĖJIMAS! Sudėtyje yra CMR medžiagų. Laikykites atitinkamų saugos instrukcijų, pateiktų saugos duomenų lape.

Pagrindiniai gaminių komponentai

Kat. Nr. 1.01603.0001

Reagentas 1a	
C.I. 42555	10 g/l
1 l = 0,99 kg	
Reagentas 1b	
NaHCO ₃	25 g/l
Reagentas 2	
PVP-jodas	50 g/l
KI	10 g/l
1 l = 1,02 kg	
Reagentas 3	
C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1 l = 0,79 kg	
Reagent 4	
C.I. 42510 vai 42520*	0,9 g/l
C ₂ H ₆ O	79 g/l

* Tirpalui ruošti galima naudoti abu dažus, o dažymo rezultatai pasižymi vienu jautrumu ir specifiškumu.

Bendro pobūdžio pastaba

Jei naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko rimtas incidentas, praneškite apie tai gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui bei savo šalies kompetentingai institucijai.

Literatūra

- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
- Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
- Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Labai degūs skystis ir garai.

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

H336: Gali sukelti mieguistumą arba galvos svaigimą.

H351: Įtariama, kad sukelia vėžį.

H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

P202: Nenaudoti, jeigu neperskaityti ar nesuprasti visi saugos įspėjimai.

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/ dėvėti apsauginius drabužius/ naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

P308 + P313: Esant sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: kreiptis į gydytoją.

Reagentas 1a:

H226: Degūs skystis ir garai.

H319: Sukelia smarkų akių dirginimą.

H351: Įtariama, kad sukelia vėžį.

H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

Reagentas 2:

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

Reagentas 3:

H225: Labai degūs skystis ir garai.

H319: Sukelia smarkų akių dirginimą.

H336: Gali sukelti mieguistumą arba galvos svaigimą.

Reagentas 4:

H226: Degūs skystis ir garai.

Peržiūrų istorija

Versija	Pakeitimo komentaras
2024-Jul-22	Pradinė versija su peržiūrų istorijos įžanga



Žiūrėkite naudojimo instrukciją



Gamintojas



Katalogo numeris



Partijos kodas



Perspėjimas, susipažinkite su pridėtais dokumentais



Naudoti iki MMMM-MM-DD



Temperatūros apribojimas

Status: 2024-Jul-22

„Merck“ Life Science verslas JAV ir Kanadoje veikia pavadinimu „MilliporeSigma“.

© 2024 „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija ir (arba) jos filialai. Visos teisės saugomos. „Merck“ ir „Sigma-Aldrich“ yra „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija, prekių ženklai. Visi kiti prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė. Išsamios informacijos apie prekių ženklus galima rasti vietai prieinamuose šaltiniuose.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF**

Mikroskopi

Gram-Color modifisert (fenolfritt)

fargesett for Grams fargemetode på bakteriologiske utstryk

Kun til profesjonell bruk

IVDMedisinsk enhet til *in vitro*-diagnostikk

Tiltenkt formål

Denne "Gram-Color modifisert (fenolfritt) – fargesett for Grams fargemetode på bakteriologiske utstryk" brukes til medisinsk cellediagnostisering hos mennesker og bidrar til bakteriologisk undersøkelse av prøvemateriale fra mennesker. Det er et bruksklart fargingssett som, når den brukes sammen med andre produkter til *in vitro*-diagnostikk fra vår portefølje, gjør at målstrukturer kan evalueres til diagnostiske formål (grampositive eller gramnegative bakterier) ved hjelp av fiksering, farging, kontrastfarging, montering i bakteriologiske og histologiske prøvematerialer, for eksempel utstryk fra kroppsvæsker.

Gram-Color modifisert er et fargingssett som brukes til modifisert gramfarging.

Gram-Color modifisert løsningene er modifisert og utformet slik at fargingen kan utføres på fargingsstativet.

Ufargede strukturer har relativt lav kontrast og er ekstremt vanskelige å skjelve under lysmikroskopet. Bildene som opprettes ved bruk av fargingsløsningene hjelper den autoriserte og kvalifiserte forskeren med bedre å definere formen og strukturen i slike tilfeller. Ytterligere tester må utføres i samsvar med anerkjente, gyldige metoder for å oppnå en definitiv diagnose.

Prinsipp

I bakteriologi muliggjør gramfarging rask differensiering av grampositive og gramnegative bakterier.

Bakterieveggenes murine struktur er grunnlaget for fargeaffiniteten. I det første trinnet farges bakteriene med krystallfiolet, et anilinfargestoff. Etter behandling med jodløsning (Lugols løsning), dannes et farge-/jodkompleks. I løpet av avfargingstrinnet blir dette komplekset værende i murinstrukturen med flere lag i celleveggene til grampositive bakterier – som vises med mørkeblå farge.

Motsetningsvis har celleveggen til gramnegative bakterier en cellevegg som består av en mureinstruktur med ett lag, og frigjør dermed fargestoffet med avfargingsløsningen. Gramnegative bakterier kontrastfarges med fuksinløsning og vises deretter med rød farge.

Prøvemateriale

Kroppsvæsker, sårvæske, puss, væske eller faste kulturer

Reagenser

Kat.nr. 1.01603.0001

Gram-Color modifisert (fenolfritt)

fargesett for Grams fargemetode på bakteriologiske utstryk

Komponenter i pakningen:

Fargingssettet inneholder

Reagens 1a:	Krystallfiolettløsning	100 ml
Reagens 1b:	Natriumhydrogenkarbonatløsning	100 ml
Reagens 1c:	Flaske til reagens 1c (av 1a og 1b)	
Reagens 2:	Lugols løsning, stabilisert	190 ml
Reagens 3:	Avfargingsløsning	190 ml
Reagens 4:	Fuksinløsning (fenolfri)	190 ml

Prøvetilberedning

Prøvetakingen skal utføres av kvalifisert personell.

Påfør prøvematerialet på et rent og fettfritt objektglass ved bruk av en herdet trådløkke. Stryk deretter materialet enten direkte på objektglasset eller bland først med 1–2 dråper fysiologisk saltløsning (Ringers løsning). La det lufttørke, og varmefikser deretter ved å dra objektglasset langsomt (med utstryksiden vendt opp) gjennom den øvre delen av bunsenbrennerflammen tre ganger. Deretter lar du det kjøles ned og farger det. De lufttørkede utstrykene skal varmefikses svært forsiktig. Dette forebygger risiko for infeksjoner og reduserer oppløsning av prøvemateriale og påfølgende kontaminasjon av løsninger og andre objektglass.

Alle prøver skal behandles ved bruk av den nyeste teknologien.

Alle prøver skal merkes tydelig.

Egnede instrumenter skal brukes for å ta og tilberede prøver. Følg instruksjonene fra produsenten for applisering/bruk.

Ved bruk av de tilsvarende hjelpereagensene må den tilsvarende bruksanvisningen følges.

Tilberedning av reagens

Reagens 2, 3 og 4 i Gram-Color modifisert (fenolfritt) – fargesett for Grams fargemetode på bakteriologiske utstryk brukt til farging er bruksklare. Fortynning av løsningene er ikke nødvendig, og vil bare medføre dårligere fargingsresultat og stabilitet.

Fargingsløsning (reagens 1c)

Bland reagens 1a (krystallfiolettløsning) og reagens 1b (natriumhydrogenkarbonatløsning) 1+1 i den medfølgende flasken (1c).

Denne blandingen rekker til ca. 65–70 prøver og kan oppbevares henholdsvis i romtemperatur i 10 dager og nedkjølt i 14 dager. Hvis denne mengden ser ut til å være for stor for dette tidsrommet, er det anbefalt å tilberede en mindre mengde (ca. 3 ml er nødvendig for hvert mikroskopobjektglass).

Prosedyre

Farging på fargingsstativet

De angitte tidene skal overholdes for å garantere et optimalt fargingsresultat.

Objektglass med fiksert utstryk		
Reagens 1c (selvtilberedt fargeløsning)	dekk helt og la reaksjonen inntreffe	1 minutt
Destillert vann	skyll grundig	5 sekunder
Reagens 2 (Lugols løsning, stabilisert)	dekk helt og la reaksjonen inntreffe	1 minutt
Destillert vann	skyll grundig	5 sekunder
Reagens 3 (avfargingsløsning)	dekk helt	5 - 10 sekunder
Destillert vann	skyll grundig	5 sekunder
Reagens 4 (fuksinløsning, fenolfri)	dekk helt og la reaksjonen inntreffe	15 - 30 sekunder
Destillert vann	skyll grundig	5 sekunder
Lufttørk (f.eks. over natten eller ved 50 °C i tørkeskapet)		

Dekking med ikke-vannholdig monteringsmedium (f.eks. Neo-Mount™, Entellan™ eller DPX ny) og et dekkglass er anbefalt for lagring av bakteriologiske prøver i flere måneder. Til dette formålet må de fargede prøvene tørkes svært godt.

Bruk av bløtleggingsolje er anbefalt for analysering av fargede objektglass med en mikroskopforstørrelse på > 40x.

Resultat

Grampositive mikroorganismer	mørkeblå
Gramnegative mikroorganismer	rosa til rød

Feilsøking

Fiksering av utstryksprøver

En tilstrekkelig grad av varmefiksering ved bruk av en bunsenbrenner eller i et varmeskap er avgjørende for å forhindre infeksjonspotensiale i prøvene og ytterligere spredning av bakterier.

Ingen farging av de grampositive bakteriene

Det avgjørende stadiet i gramfargingsprosedyren er avfargingstrinnet, som kan påvirkes av utstrykets tykkelse. I tillegg er en fersk avfargingsløsning svært reaktiv, og resultatet må derfor evalueres med omhu. I løpet av avfargingstrinnet skal brukeren overholde inkubasjonstidene som beskrives i protokollen nøyaktig, siden det ellers kan oppstå falskt negative resultater.

Tekniske merknader

Det anvendte mikroskopet skal oppfylle kravene til et medisinsk diagnostisk laboratorium.

Ved bruk av automatiske fargingsystemer må du følge bruksanvisningen fra leverandøren av systemet og programvaren. Fjern overflødig bløtleggingsolje før fylling.

Analytiske ytelsesegenskaper

"Gram-Color modifisert (fenolfritt) – fargesett" farger og synliggjør dermed biologiske strukturer, som beskrevet i kapitlet "Resultat" i denne bruksanvisningen. Produktet skal kun brukes av autoriserte og kvalifiserte personer, inkludert bl.a. tilberedning av prøver og reagenser, prøvebehandling, beslutninger om egnede kontroller osv.

Den analytiske ytelsen av produktet bekreftes ved å teste hvert produksjonsparti. Vellykket deltakelse i jevnlig internasjonale tester mellom ulike laboratorier gir en ekstra og objektiv bekreftelse av analytisk spesifisitet og repeterbarhet.

For følgende farginger ble analytisk ytelse bekreftet med tanke på produktets spesifisitet, sensitivitet og repeterbarhet med en et resultat på 100 %:

	Spesifisitet mellom analyser	Sensitivitet mellom analyser	Spesifisitet innen analyse	Sensitivitet innen analyse
Grams farging				
Grampositive mikroorganismer	12/12	12/12	8/8	8/8
Gramnegative mikroorganismer	12/12	12/12	8/8	8/8

Analytiske ytelsesresultater

Data fra intraanalyser (utført på samme parti) og interanalyser (utført på forskjellige partier) lister opp antallet korrekt fargede strukturer sammenlignet med antallet utførte analyser.

Kliniske ytelsesegenskaper

Det Gram-Color modifisert (fenolfritt) – fargesett har blitt brukt med suksess i det kliniske miljøet i flere tiår i mange ulike bruksområder.

Den kliniske ytelsen til det Gram-Color modifisert (fenolfritt) – fargesett i særdeleshet ble bestemt ved å fastslå dens sensitivitet og spesifisitet i en intern studie:

Grampositive mikroorganismer

	Grams farging
Sensitivitet	14/15
Spesifisitet	15/15

Sensitivitet: 14 av 15 prøver: 93,3 %

Spesifisitet: 15 av 15 prøver: 100 %

Gramnegative mikroorganismer

	Grams farging
Sensitivitet	15/15
Spesifisitet	14/15

Sensitivitet: 15 av 15 prøver: 100 %

Spesifisitet: 14 av 15 prøver: 93,3 %

Resultatene av denne ytelseevalueringen bekrefter at produktet er egnet for den tiltenkte bruken og har pålitelig ytelse.

Den diagnostiske tolkingen av fargingsresultatene skal imidlertid utføres av kvalifisert og autorisert personell med hensyn til pasientens anamnese, morfologi, bruk av tilstrekkelige kontroller og ytterligere diagnostiske tester, ved behov. Denne metoden kan brukes som et supplement i diagnostikk hos mennesker.

Diagnostikk

Diagnoser skal kun stilles av autorisert og kvalifisert personell.

Gyldig terminologi må benyttes.

Denne metoden kan brukes som et supplement i diagnostikk hos mennesker.

Ytterligere tester må velges og implementeres i samsvar med anerkjente metoder.

Egnede kontroller skal utføres med hver applisering for å unngå et feilaktig resultat.

Fargingssettet kan kontrolleres med grampositive bakterier og gramnegative bakterier.

Bakterier fra et kulturmedium etter 18–24 timers inkubasjon skal benyttes.

Oppbevaring

Oppbevar Gram-Color modifisert (fenolfritt) – fargesett for Grams fargemetode på bakteriologiske utstryk ved +15 °C til +25 °C.

Ved temperaturer under 15 °C kan et farget bunnfall utfelles fra fargingsløsningene. Hvis det oppstår bunnfall, må du plassere flasken i et vannbad i 2–3 timer ved ca. 60 °C. Dette vil løse opp mesteparten av bunnfallet. Deretter filtrerer du fargingsløsningene gjennom et papirfilter.

Holdbarhet

Gram-Color modifisert (fenolfritt) – fargesett for Grams fargemetode på bakteriologiske utstryk kan brukes frem til den angitte utløpsdatoen.

Etter anbrudd av flasken kan innholdet brukes frem til den angitte utløpsdatoen når det oppbevares ved +15 °C til +25 °C.

Flaskene må holdes godt lukket til enhver tid.

Reagens 1c (selvtilberedt fargeløsning) kan brukes i opptil 10 dager når den oppbevares ved +15 °C til +25 °C og 14 dager når den oppbevares ved +2 °C til +8 °C.

Kapasitet

Pakningen er tilstrekkelig til opptil 65-70 appliseringer.

Ytterligere instruksjoner

Kun til profesjonell bruk.

For å unngå feil må applisering kun utføres av kvalifisert personell. Nasjonale retningslinjer for arbeidssikkerhet og kvalitetssikring må følges. Mikroskopene som brukes må være utstyrt i samsvar med standarden. Ved behov må du bruke en standard sentrifuge som er egnet for et medisinsk diagnostisk laboratorium.

Beskyttelse mot infeksjon

Effektive tiltak må tas for å beskytte mot infeksjon i samsvar med laboratoriets retningslinjer.

Instruksjoner for kassering

Pakningen skal kasseres i samsvar med gjeldende retningslinjer for kassering.

Brukte løsninger og løsninger som har gått ut på dato må kasseres som spesialavfall i samsvar med lokale retningslinjer. Informasjon om kassering kan skaffes under hurtigkoblingen "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Tips for kassering av mikroskopiprodukter) på www.microscopy-products.com. I EU gjelder den nåværende FORORDNING (EF) nr. 1272/2008 om klassifisering, merking og emballering av stoffer og blandinger, endring og avskaffing av direktiv 67/548/EØF og 1999/45/EF og endring av forordning (EF) nr. 1907/2006.

Hjelpereagenser

Kat.nr.	1.00579	DPX ny vannfritt monteringsmedium for mikroskopi	500 ml
Kat.nr.	1.04699	Immerjonsolje for mikroskopi	100 ml pipetteflaske, 100 ml, 500 ml
Kat.nr.	1.07961	Entellan™ ny hurtig monteringsmedium for mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr.	1.09016	Neo-Mount™ vannfritt monteringsmedium for mikroskopi	100 ml pipetteflaske, 500 ml
Kat.nr.	1.15525	RINGER tabletter for tilberedning av RINGERS løsning	100 tabs

Fareklassifisering

Kat.nr. 1.01603.0001

Overhold fareklassifikasjonen som er trykt på etiketten og informasjonen i sikkerhetsdatabladet.

Sikkerhetsdatabladet er tilgjengelig på nettstedet og på anmodning.

FORSIKTIG! Inneholder CMR-stoffer. Følg de relevante sikkerhetsinstruksjonene som er gitt i sikkerhetsdatabladet.

Hovedkomponenter i produktene

Kat.nr. 1.01603.0001

Reagens 1a	
C.I. 42555	10 g/l
1 l = 0,99 kg	
Reagens 1b	
NaHCO ₃	25 g/l
Reagens 2	
PVP-jod	50 g/l
KI	10 g/l
1 l = 1,02 kg	
Reagens 3	
C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1 l = 0,79 kg	
Reagens 4	
C.I. 42510 eller 42520*	0,9 g/l
C ₂ H ₆ O	79 g/l

* Begge fargestoffer kan brukes for å tilberede løsningen, med identisk sensitivitet og spesifisitet som resultat av fargingen.

Generell merknad

Hvis en alvorlig hendelse oppstår under bruk av denne enheten eller som følge av denne bruken, må det rapporteres til produsenten og/eller dens autoriserte representant, samt til dine nasjonale myndigheter.

Litteratur

- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
- Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
- Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Meget brannfarlig væske og damp.

H318: Gir alvorlig øyeskade.

H336: Kan forårsake døsighet eller svimmelhet.

H351: Mistenkes for å kunne forårsake kreft.

H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

P202: Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.

P210: Holdes vekk fra varme, varme overflater, gnister, åpen ild og andre antenningskilder. Røyking forbudt.

P273: Unngå utslipp til miljøet.

P280: Bruk vernehansker/ verneklær/ øyebeskyttelse/ ansiktsbeskyttelse.

P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.

P308 + P313: Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.

Reagens 1a:

H226: Brannfarlig væske og damp.

H319: Gir alvorlig øyeirritasjon.

H351: Mistenkes for å kunne forårsake kreft.

H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

Reagens 2:

H318: Gir alvorlig øyeskade.

H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

Reagens 3:

H225: Meget brannfarlig væske og damp.

H319: Gir alvorlig øyeirritasjon.

H336: Kan forårsake døsighet eller svimmelhet.

Reagens 4:

H226: Brannfarlig væske og damp.

Revisjonshistorikk

Versjon	Endringskommentar
2024-Jul-22	Opprinnelig versjon med innføring av revisjonshistorikk



Se bruksanvisningen



Produsent



Katalognummer



Partikode



Forsiktig, se medfølgende dokumenter



Brukes innen DD.MM.ÅÅÅÅ



Temperaturbegrensning

Status: 2024-Jul-22

Life Science-virksomheten til Merck drives under navnet MilliporeSigma i USA og Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland og/eller deres samarbeidspartnere. Med enerett. Merck og Sigma-Aldrich er varemerker for Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland. Alle andre varemerker tilhører deres respektive eiere. Detaljert informasjon om varemerker er tilgjengelig via offentlig tilgjengelige ressurser.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Microscopy****Gram-Color, modifikovaný (bez fenolu),**

farbiaca súprava na farbenie bakteriologických náterov Gramovou metódou

Iba na profesionálne použitie**IVD**Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro***Určený účel**

Tento „Gram-Color, modifikovaný (bez fenolu) - farbiaca súprava na farbenie bakteriologických náterov Gramovou metódou“ je určený na humánno-medicínsku bunkovú diagnostiku a slúži na bakteriologické vyšetrenie vzoriek ľudského pôvodu. Ide o farbiaci roztok pripravený na použitie, ktorý pri použití spolu s ďalšími *in vitro* diagnostickými produktmi z nášho portfólia, umožňuje vyhodnocovať cieľové štruktúry pre diagnostické účely (grampozitívne alebo gramnegatívne baktérie) fixáciou, vložением, farbením, kontrastným farbením, uchytением v bakteriologických vzorkách, napríklad v sterých telesných tekutinách.

Gram-Color, modifikovaný je farbiaca súprava, ktorá sa používa na modifikované Gramové farbenie.

Gram-Color, modifikovaný roztoky sú modifikované a navrhnuté tak, aby sa mohlo farbenie vykonávať na farbiacom stojane.

Nesfarbené štruktúry sú relatívne málo kontrastné a pod svetelným mikroskopom ich možno veľmi ťažko rozlíšiť. Snímky vytvorené použitím farbiacich roztokov pomáhajú autorizovanému a kvalifikovanému odborníkovi v týchto prípadoch lepšie definovať tvar a štruktúru. Na stanovenie konečnej diagnózy je potrebné vykonať ďalšie testy podľa uznaných a platných metód.

Princíp

V bakteriológii umožňuje Gramovo farbenie rýchle rozlišovanie baktérií na grampozitívne a gramnegatívne.

Základom farebnej afinity je mureínová štruktúra bakteriálnej steny. V prvom kroku sú baktérie sfarbené kryštálovou fialovou, anilínovým farbivom. Po ošetrení jódomým roztokom (Lugolov roztok) sa vytvorí komplex farbiva a jódu. Počas kroku dekolorizácie zostáva tento komplex vo viacvrstvovej mureínovej štruktúre bunkovej steny grampozitívnych baktérií - tie sa zobrazia ako tmavomodré.

Oproti tomu gramnegatívne baktérie majú bunkovú stenu vytvorenú z jednovrstvovej mureínovej štruktúry a zodpovedajúcim spôsobom opätovne uvoľňujú farbivo s dekoloračným roztokom. Gramnegatívne baktérie sa sfarbia fuchsínovým roztokom a následne sa sfarbia do červena.

Materiál vzorky

Telesné tekutiny, exsudát, hnis, tekuté alebo pevné kultivačné médium

Reagencie

Kat. č. 1.01603.0001

Gram-Color, modifikovaný (bez fenolu)

farbiaca súprava na farbenie bakteriologických náterov Gramovou metódou

Komponenty balenia:

Obsah súpravy na farbenie

Reagencia 1a: Roztok kryštálovej violeti	100 ml
Reagencia 1b: Roztok hydrogénuhličitanu sodného	100 ml
Reagencia 1c: Fľaša na reagentiu 1c (z 1a a 1b)	
Reagencia 2: Lugolov roztok, stabilizovaný	190 ml
Reagencia 3: Odfarbovací roztok	190 ml
Reagencia 4: Roztok fuchsínu (bez fenolu)	190 ml

Príprava vzorky

Odber vzoriek musí robiť kvalifikovaný personál.

Pomocou žihacej slučky naneste materiál vzorky na čisté a odmastené sklíčko. Materiál následne naneste buď priamo na podložné sklíčko, alebo ho najprv zmiešajte s 1 - 2 kvapkami fyziologického roztoku (Ringerov roztok). Vysušte na vzduchu a potom trikrát tepelne fixujte pomalým ťahaním sklíčka (stranou so sterom nahor) cez hornú časť plameňa Bunsenovho horáka. Nakoniec nechajte vychladnúť a zafarbiť.

Stery vysušené na vzduchu je potrebné veľmi opatrne tepelne fixovať. Takto sa zabráni riziku vzniku infekcií a zníži sa rozpúšťanie materiálu vzorky, a teda aj kontaminácia roztokov a iných podložných sklíčok.

Všetky vzorky sa musia spracovávať použitím najmodernejšej technológie. Všetky vzorky sa musia jasne označiť.

Pri odbere a príprave vzoriek sa musia používať vhodné prístroje. Pri aplikácii/používaní dodržujte pokyny výrobcu.

Pri používaní príslušných pomocných reagentií je potrebné dodržiavať príslušné návody na používanie.

Príprava reagentie

Reagencie 2, 3 a 4 farbiacej súpravy Gram-Color, modifikovaný (bez fenolu) - farbiaca súprava na farbenie bakteriologických náterov Gramovou metódou používané na farbenie sú pripravené na použitie, nie je potrebné riedenie roztokov, ktoré len zhoršuje výsledok farbenia a stabilitu.

Farbiaci roztok (reagencia 1c)

Zmiešajte reagentiu 1a (roztok kryštálovej violeti) a reagentiu 1b (roztok hydrogénuhličitanu sodného) v pomere 1+1 v dodanej fľaši (1c). Táto zmes vystačí na približne 65 - 70 vzoriek a je možné ju skladovať pri izbovej teplote 10 dní a v chladničke 14 dní. Ak sa toto množstvo zdá byť príliš veľké na toto časové obdobie, odporúča sa pripraviť menšie množstvo (na jedno mikroskopické sklíčko sú potrebné asi 3 ml).

Postup**Farbenie vo farbiacej kyvete**

Uvedené časy je potrebné dodržať, aby bol zaručený optimálny výsledok sfarbenia.

Podložné sklíčko s fixovaným sterom		
Reagencia 1c (samostatne pripravený farbiaci roztok)	úplne zakryte a nechajte reagovať	1 min
Destilovaná voda	starostlivo opláchnite	5 sek
Reagencia 2 (Lugolov roztok, stabilizovaný)	úplne zakryte a nechajte reagovať	1 min
Destilovaná voda	starostlivo opláchnite	5 sek
Reagencia 3 (odfarbovací roztok)	úplne zakryte	5 - 10 sek
Destilovaná voda	starostlivo opláchnite	5 sek
Reagencia 4 (roztok fuchsínu, bez fenolu)	úplne zakryte a nechajte reagovať	15 - 30 sek
Destilovaná voda	starostlivo opláchnite	5 sek
Sušte na vzduchu (napr. cez noc alebo pri teplote 50 °C v sušiackej komore)		

Pre skladovanie bakteriologických vzoriek na dobu niekoľkých mesiacov sa odporúča vzorky zakryť bezvodým fixačným médiom (napr. Neo-Mount™, Entellan™ alebo DPX new) a krycím sklíčkom. Pre tento účel je potrebné sfarbené vzorky dôkladne vysušiť.

Pri analýze sfarbených podložných sklíčok s mikroskopickým zväčšením > 40x sa odporúča používať imerzný olej.

Výsledok

Grampozitívne mikroorganizmy

tmavo modrá

Gramnegatívne mikroorganizmy

červena

Odstraňovanie problémov**Fixácia vzoriek sterov**

Aby sa zabránilo infekčnému potenciálu vzoriek a ďalšiemu množeniu baktérií, je potrebný dostatočný stupeň tepelnej fixácie pomocou Bunsenovho horáka alebo v ohrievacej skrini.

Žiadne sfarbenie grampozitívnych baktérií

Kritickou fázou postupu Gramovho farbenia je krok dekolorizácie, ktorý môže byť ovplyvnený hrúbkou steru. Čerstvý odfarbovací roztok je navyše vysoko reaktívny, preto by sa mal výsledok hodnotiť opatrne. Počas kroku dekolorizácie by používateľ mal dodržiavať presné inkubačné doby uvedené v protokole, pretože v opačnom prípade môže dôjsť k falošne negatívnym výsledkom.

Technické poznámky

Použitý mikroskop musí spĺňať požiadavky lekárskeho diagnostického laboratória.

Pri používaní automatických farbiacich systémov postupujte podľa návodu na používanie od dodávateľa systému a softvéru.

Pred plnením odstráňte prebytočný imerzný olej.

Analytické výkonnostné charakteristiky

„Gram-Color, modifikovaný (bez fenolu) - farbiaca súprava“ vyfarbí a tým vizualizuje biologické štruktúry, ako je opísané v kapitole „Výsledok“ tohto návodu na používanie. Používanie tohto produktu môžu vykonávať len autorizované a kvalifikované osoby, čo medzi iným zahŕňa prípravu vzoriek a reagentií, manipuláciu so vzorkami, rozhodnutia týkajúce sa vhodných kontrol a podobne.

Analytická výkonnosť produktu sa potvrdzuje testovaním každej výrobnjej šarže. Pravidelná aktívna účasť na medzinárodných medzilaboratórnych testoch poskytuje dodatočné a nezávislé potvrdenie analytickej špecificity a opakovateľnosti.

U nasledujúcich sfarbení sa potvrdila analytická výkonnosť z hľadiska špecificity, citlivosti a opakovateľnosti produktu s percentuálnou hodnotou 100 %:

	Špecificita medzi testami	Citlivosť medzi testami	Špecificita v rámci testu	Citlivosť v rámci testu
Farbenie Gram				
Grampozitívne mikroorganizmy	12/12	12/12	8/8	8/8
Gramnegatívne mikroorganizmy	12/12	12/12	8/8	8/8

Výsledky analytickej výkonnosti

Údaje v rámci jedného testu (vykonané na tej istej šarži) a medzi testami (vykonané na rôznych šaržach) udávajú počet správne sfarbených štruktúr v pomere k počtu vykonaných testov.

Klinické výkonnostné charakteristiky

Gram-Color, modifikovaný (bez fenolu) - farbiaca súprava sa už celé desaťročia s úspechom používa v klinickom prostredí pri veľkom počte aplikácií.

Klinická účinnosť Gram-Color, modifikovaný (bez fenolu) - farbiaca súprava sa určila najmä stanovením jeho citlivosti a špecificity štúdiu v rámci vlastného pracoviska:

Grampozitívne mikroorganizmy

	Farbenie Gram
Citlivosť	14/15
Špecificita	15/15

Citlivosť: 14 vzoriek z 15: 93,3 %

Špecificita: 15 vzoriek z 15: 100 %

Gramnegatívne mikroorganizmy

	Farbenie Gram
Citlivosť	15/15
Špecificita	14/15

Citlivosť: 15 vzoriek z 15: 100 %

Špecificita: 14 vzoriek z 15: 93,3 %

Výsledky tohto hodnotenia výkonnosti potvrdzujú, že produkt je vhodný na zamýšľané použitie a spoľahlivo funguje.

Diagnostickú interpretáciu výsledkov sfarbenia však majú vykonať kvalifikovaní a autorizovaní odborníci s ohľadom na anamnézu pacienta, morfológiu, použitie adekvátnych kontrol a prípadné ďalšie diagnostické testy. Táto metóda sa môže doplnkovo použiť v oblasti humánnej diagnostiky.

Diagnostika

Diagnostiku môže vykonávať len autorizovaný a kvalifikovaný personál. Musí sa používať platné názvoslovie.

Táto metóda sa môže doplnkovo použiť v oblasti humánnej diagnostiky. Ďalšie testy je potrebné vybrať a vykonať podľa uznaných metód.

Pri každej aplikácii je potrebné vykonať vhodné kontroly, aby sa zamedzilo nesprávnemu výsledku.

Farbiaca súprava sa môže kontrolovať pomocou grampozitívnych a gramnegatívnych baktérií.

Je potrebné použiť baktérie odobraté z kultivačného média po 18 - 24 hodinách inkubácie.

Skladovanie

Gram-Color, modifikovaný (bez fenolu) - farbiaca súprava na farbenie bakteriologických náterov Gramovou metódou skladujte pri teplote +15 °C až +25 °C.

Pri teplotách nižších ako 15 °C sa z farbiacich roztokov môže vytvoriť farebný precipitát. Ak došlo k precipitácii, fľašu vložte na 2 - 3 hodiny do vodného kúpeľa nastaveného na teplotu približne 60 °C. Takto sa znovu rozpustí podstatná časť precipitátu. Farbiace roztoky sa následne prefiltrujú cez papierový filter.

Doba použiteľnosti

Gram-Color, modifikovaný (bez fenolu) - farbiaca súprava na farbenie bakteriologických náterov Gramovou metódou je možné používať až do uvedeného dátumu expirácie.

Po prvom otvorení fľaše je možné obsah používať až do uvedeného dátumu expirácie za predpokladu, že sa skladuje pri teplote +15 °C až +25 °C.

Fľaše musia byť vždy tesne uzavreté.

Reagenciu 1c (samostatne pripravený farbiaci roztok) možno používať až 10 dní pri uskladnení pri teplote +15 °C až +25 °C a 14 dní pri uskladnení pri teplote +2 °C až +8 °C.

Kapacita

Balenie vystačí na 65 - 70 aplikácií.

Ďalšie pokyny

Iba na profesionálne použitie.

Aby sa zamedzilo chybám, aplikáciu musí vykonávať iba kvalifikovaný personál.

Je potrebné dodržiavať národné smernice týkajúce sa bezpečnosti práce a zabezpečenia kvality.

Musia sa používať mikroskopy so zodpovedajúcim vybavením podľa normy. V prípade potreby použite štandardnú odstredivku určenú pre lekárske diagnostické laboratórium.

Ochrana pred infekciou

Na ochranu pred infekciou je potrebné prijať účinné opatrenia v súlade s laboratórnymi smernicami.

Pokyny týkajúce sa likvidácie

Obal musí byť zlikvidovaný v súlade s platnými pokynmi na likvidáciu. Použitie roztoky a roztoky, ktorým uplynula doba použiteľnosti, sa musia likvidovať ako špeciálny odpad v súlade s miestnymi smernicami. Informácie o likvidácii možno získať pod odkazom „Hints for Disposal of Microscopy Products“ na webovej stránke www.microscopy-products.com. V rámci EU sa aktuálne uplatňuje nariadenie (ES) č. 1272/2008 o klasifikácii, označovaní a balení látok a zmesí, o zmene, doplnení a zrušení smerníc 67/548/EHS a 1999/45/ES a o zmene a doplnení nariadenia (ES) č. 1907/2006.

Pomocné reagensie

Kat. č.	1.00579	DPX new nevodné fixačné médium pre mikroskopiu	500 ml
Kat. č.	1.04699	Imerzný olej pre mikroskopiu	fľaša na kvapkanie s objemom 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.07961	Entellan™ new médium pre rýchlu fixáciu, pre mikroskopiu	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č.	1.09016	Neo-Mount™ bezvodé fixačné médium pre mikroskopiu	fľaša na kvapkanie s objemom 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.15525	Ringerove tablety na prípravu Ringerovho roztoku	100 tabs

Klasifikácia nebezpečenstva

Kat. č. 1.01603.0001

Dodržiavajte klasifikáciu nebezpečenstva vytlačenú na etikete a informácie uvedené v bezpečnostných listoch.

Bezpečnostný list je k dispozícii na webových stránkach a na vyžiadanie. POZOR! Obsahuje CMR látky. Dodržiavajte príslušné bezpečnostné pokyny uvedené v bezpečnostných listoch.

Hlavné komponenty produktov

Kat. č. 1.01603.0001

Reagencia 1a	
C.I. 42555	10 g/l
1 l = 0,99 kg	
Reagencia 1b	
NaHCO ₃	25 g/l
Reagencia 2	
PVP-jód	50 g/l
KI	10 g/l
1 l = 1,02 kg	
Reagencia 3	
C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1 l = 0,79 kg	
Reagencia 4	
C.I. 42510 alebo 42520*	0,9 g/l
C ₂ H ₆ O	79 g/l

* Na prípravu roztoku sa môžu použiť obe farbivá, pričom výsledok farbenia má rovnakú citlivosť a špecificitu.

Všeobecná poznámka

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne závažný incident, nahláste ho výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu vnútroštátnemu orgánu.

Literatúra

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary.

H318: Spôsobuje vážne poškodenie očí.

H336: Môže spôsobiť ospalosť alebo závraty.

H351: Podozrenie, že spôsobuje rakovinu.

H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

P202: Nepoužívajte, kým si neprečítate a nepochopíte všetky bezpečnostné opatrenia.

P210: Uchovávajte mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčite.

P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.

P280: Noste ochranné rukavice/ ochranný odev/ ochranné okuliare/ ochranu tváre.

P305 + P351 + P338: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

P308 + P313: Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/ starostlivosť.

Reagencia 1a:

H226: Horľavá kvapalina a pary.

H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí.

H351: Podozrenie, že spôsobuje rakovinu.

H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

Reagencia 2:

H318: Spôsobuje vážne poškodenie očí.

H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

Reagencia 3:

H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary.

H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí.

H336: Môže spôsobiť ospalosť alebo závraty.

Reagencia 4:

H226: Horľavá kvapalina a pary.

História revízií

Verzia	Poznámka k úprave
2024-Jul-22	Prvá verzia s uvedením časti História revízií



Prečítajte si návod na používanie



Výrobca



Katalógové číslo



Kód šarže



Pozor, pozrite si sprievodnú dokumentáciu



Použitie do RRRR-MM-DD



Teplotné obmedzenia

Status: 2024-Jul-22

Life Science spoločnosť Merck pôsobí v USA a Kanade pod názvom MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko a/alebo jej pobočky. Všetky práva vyhradené. Merck a Sigma-Aldrich sú ochranné známky spoločnosti Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko. Všetky ostatné ochranné známky sú majetkom príslušných vlastníkov. Detailné informácie o ochranných známkach sú dostupné z verejne dostupných zdrojov.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.01603.0001 **REF****Microscopy****Gram-Color modifiye (fenolsüz)**

bakteriyolojik yayma üzerinde Gram boyama yöntemi için boyama kiti

Yalnızca profesyonel kullanım içindir

IVD In vitro Tanısal Tıbbi Cihaz**Kullanım amacı**

Bu "Gram-Color modifiye (fenolsüz) - bakteriyolojik yayma üzerinde Gram boyama yöntemi için boyama kiti", insanlarda tıbbi hücre tanılamasında kullanılır ve insan kaynaklı numune materyalinin bakteriyolojik incelemesi amacıyla hizmet eder. Portföyümüzdeki diğer *in vitro* tanısal ürünlerle birlikte kullanıldığında bakteriyolojik numune materyallerinde (örn. vücut sıvısı yaymaları) fiksasyon, boyama, karşıt boyama ve kapatma yoluyla hedef yapıları (Gram pozitif veya Gram negatif bakteriler) tanı amaçlı değerlendirilebilir hale getiren, kullanıma hazır bir boyama solüsyonudur.

Modifiye Gram-Color, modifiye Gram boyama için kullanılan bir boyama kitidir.

Gram-Color modifiye çözeltisi, boyama işleminin boyama rafında yapılabileceği bir şekilde modifiye edilmiş ve tasarlanmıştır.

Boyanmamış yapıların kontrastı görece düşüktür ve ışık mikroskobu altında ayırt edilmeleri son derece zordur. Boyama solüsyonlarının kullanılmasıyla oluşturulan görüntüler, yetkili ve kalifiye araştırmacının bu gibi durumlarda form ve yapıyı daha iyi tanımlamasına yardımcı olur. Kesin tanıya ulaşmak için bilinen ve geçerli yöntemlere uygun şekilde ileri testler yapılmalıdır.

Prensip

Bakteriyolojide Gram boyama, bakterilerin Gram pozitif ve Gram negatif olarak hızlı bir şekilde farklılaşmasına olanak tanır.

Bakteri duvarının mürein yapısı, renk afinitesinin temelidir.

İlk adımda, bakteriler bir anilin boyası olan kristal viyole ile boyanır. İyot solüsyonu (Lugol solüsyonu) ile yapılan muameleden sonra bir boya-iyot kompleksi oluşacaktır. Renk giderme adımı sırasında, bu kompleks Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının çok katmanlı mürein yapısında kalır ve koyu mavi görünürler.

Gram negatif bakteriler ise aksine, tek katmanlı bir mürein yapısından oluşan bir hücre duvarına sahiptir ve dolayısıyla boyayı renk giderici solüsyon ile tekrar serbest bırakır. Gram negatif bakteriler fuksin solüsyonuyla karşıt boyanacak ve ardından kırmızı olarak görünecektir.

Numune materyali

Vücut sıvıları, eksüda, pus, sıvı veya katı kültürler

Reaktifler

Kat. No. 1.01603.0001

Gram-Color modifiye (fenolsüz)

bakteriyolojik yayma üzerinde Gram boyama yöntemi için boyama kiti

Paket içeriği:

Boyama kiti şunları içerir

Reaktif 1a:	kristal viyole çözeltisi	100 ml
Reaktif 1b:	Sodyum hidrojen karbonat solüsyonu	100 ml
Reaktif 1c:	Reaktif 1c (1a ve 1b'den) için şişe	
Reaktif 2:	Lugol solüsyonu, stabilize	190 ml
Reaktif 3:	Dekolorize çözeltisi	190 ml
Reaktif 4:	Fuksin solüsyonu, (fenolsüz)	190 ml

Numunelerin hazırlanması

Numuneler kalifiye personel tarafından alınmalıdır.

Tavlanmış bir halka kullanarak, numune malzemesini temiz ve yağsız bir lama uygulayın. Ardından materyali ya doğrudan lamen üzerine sürün ya da önce 1-2 damla fizyolojik salin solüsyonu (Ringer solüsyonu) ile karıştırın. Havayla kurutun ve ardından lami (yayma tarafı yukarı bakacak şekilde) Bunsen brülör alevinin üst kısmından üç kez yavaşça geçirek ısıyla sabitleyin. Daha sonra soğumaya ve boyanmaya bırakın. Havada kurutulmuş yaymalar çok dikkatli bir şekilde ısı ile sabitlenmelidir. Bu, enfeksiyon riskini önleyerek ve numune materyalinin çözünmesini azaltarak, solüsyonların ve diğer lamların kontaminasyonunu azaltır.

Tüm numuneler en son teknoloji kullanılarak işlem görmelidir.

Tüm numuneler açıkça etiketlenmelidir.

Numunelerin alınması ve hazırlanması için uygun aletler kullanılmalıdır.

Üreticinin uygulama/kullanım talimatlarını izleyin.

İlgili yardımcı reaktifleri kullanırken ilgili kullanım talimatlarına uyulmalıdır.

Reaktifin hazırlanması

Gram-Color modifiye (fenolsüz) - bakteriyolojik yayma üzerinde Gram boyama yöntemi için boyama kiti boyama için kullanılan reaktifleri 2, 3 ve 4 kullanıma hazırdır, solüsyonların seyreltilmesi gereksizdir ve sadece boyama sonucunun ve stabilitenin bozulmasına neden olur.

Boyama solüsyonu (Reaktif 1c)

Reaktif 1a'yı (Kristal viyole solüsyon) ve reaktif 1b'yi (Sodyum hidrojen karbonat solüsyonu) 1+1 sağlanan şişede (1c) karıştırın.

Bu karışım yaklaşık 65-70 numune için yeterlidir ve oda sıcaklığında 10 gün, buzdolabında 14 gün saklanabilir. Bu miktar bu süre için çok büyük görünüyorsa, daha küçük bir miktar hazırlanması önerilir (mikroskopik lam başına yaklaşık 3 ml gereklidir).

Prosedür**Boyama rafında boyama**

Optimum bir boyama sonucunu garanti etmek için belirtilen sürelerle uyulmalıdır.

Sabitlemiş yaymalı lam		
Reaktif 1c (kendiliğinden hazırlanan boyama solüsyonu)	tümüyle kapatın ve tepki-meye bırakın	1 dk
Distile su	dikkatle yıkayın	5 sn
Reaktif 2 (Lugol solüsyonu, stabilize)	tümüyle kapatın ve tepki-meye bırakın	1 dk
Distile su	dikkatle yıkayın	5 sn
Reaktif 3 (dekolorize çözeltisi)	cover completely	5 - 10 sn
Distile su	dikkatle yıkayın	5 sn
Reaktif 4 (fuksin solüsyonu, fenolsüz)	tümüyle kapatın	15 - 30 sn
Distile su	dikkatle yıkayın	5 sn
Hava ile kurutun (örn. gece boyunca veya kurutma kabinde 50°C'de)		

Bakteriyolojik numunelerin birkaç ay süreyle saklanması için susuz montaj ortamı (örn. Neo-Mount™, Entellan™ veya DPX yeni) ve bir lamel ile kapatma önerilir. Bunun için boyanan numuneler çok iyi kurutulmalıdır.

Mikroskopik büyütme > 40x olan boyalı lamların analizi için daldırma yağı kullanılması önerilir.

Sonuç

Gram pozitif mikroorganizmalar

koyu mavi

Gram negatif mikroorganizmalar

kırmızı

Sorun giderme**Yayma numunelerinin fiksasyonu**

Numunelerin bulaşıcı potansiyelini ve bakterilerin daha fazla çoğalmasını önlemek için bir Bunsen brülörü veya bir ısıtma kabini kullanılarak yeterli derecede ısı fiksasyonu şarttır.

Gram pozitif bakterilerde boyanma yok

Gram boyama prosedürünün kritik aşaması, yaymanın kalınlığından etkilenilecek olan renk giderme aşamasıdır. Ayrıca, taze bir renk giderici solüsyon yüksek düzeyde reaktif olduğundan sonucun dikkatle değerlendirilmesi gerekir. Renk giderme adımı sırasında kullanıcı protokolde açıklanan inkübasyon sürelerine harfiyen bağlı kalmalıdır, aksi takdirde yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir.

Teknik notlar

Kullanılan mikroskop, bir tıbbi tanı laboratuvarının gereksinimlerini karşılamalıdır.

Otomatik boyama sistemleri kullanırken lütfen sistem ve yazılım tedarikçisi tarafından verilen kullanım talimatlarına uyun.

Doldurmadan önce fazla daldırma yağını çıkarın.

Analitik performans karakteristikleri

"Gram-Color modifiye (fenolsüz) - boyama kiti", bu Kullanma Kılavuzunun "Sonuç" bölümünde de açıklandığı gibi biyolojik yapıları boyar ve görselleştirir. Ürünün kullanımı sadece yetkili ve kalifiye kişiler tarafından gerçekleştirilmelidir ve buna numune ve reaktif hazırlama, numune elleçleme, uygun kontrollere ilişkin kararlar ve daha fazlası dahildir.

Ürünün analitik performansı, her bir üretim partisinin test edilmesiyle onaylanmıştır. Uluslararası laboratuvarlar arası testlere düzenli olarak başarılı katılım, analitik özgüllük ve tekrarlanabilirlik açısından ek ve bağımsız bir doğrulama sağlar.

Şu boyalar için ürünün özgülüğü, duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği açısından analitik performans %100 oranında doğrulandı:

	Testler Arası Öz-güllük	Testler Arası Duyarlılık	Test İçi Özgülük	Test İçi Duyarlılık
Gram boyama				
Gram pozitif mikroorganizmalar	12/12	12/12	8/8	8/8
Gram negatif mikroorganizmalar	12/12	12/12	8/8	8/8

Analitik performans sonuçları

Test içi (aynı parti üzerinde gerçekleştirilen) ve testler arası (farklı partiler üzerinde gerçekleştirilen) veriler, yapılan test sayısına göre doğru şekilde boyanmış yapıların sayısını listeler.

Klinik performans karakteristikleri

Gram-Color modifiye (fenolsüz) - boyama kiti klinik ortamlarda onlarca yıldır çok sayıda uygulamada başarıyla kullanılmaktadır.

Özellikle Gram-Color modifiye (fenolsüz) - boyama kiti klinik performansı, kurum içi bir çalışmada solüsyonun duyarlılığı ve özgülüğü ölçülerek belirlendi:

Gram pozitif mikroorganizmalar

	Gram boyama
Duyarlılık	14/15
Özgüllük	15/15

Duyarlılık: 15 numuneden 14'ü: %93,3

Özgüllük: 15 numuneden 15'i: %100

Gram negatif mikroorganizmalar

	Gram boyama
Duyarlılık	15/15
Özgüllük	14/15

Duyarlılık: 15 numuneden 15'ü: %100

Özgüllük: 15 numuneden 14'i: %93,3

Bu Performans Değerlendirmesinin sonuçları, ürünün amaçlanan kullanıma uygun olduğunu ve güvenilir şekilde çalıştığını doğrular.

Ancak boyama sonuçlarının tanısız yorumu, hasta anamnezi, morfolojisi, uygun kontrollerin kullanımı ve uygunsa ek tanı testleri dikkate alınarak kalifiye ve yetkili profesyoneller tarafından yapılmalıdır. Bu yöntem, insan teşhislerinde tamamlayıcı olarak kullanılabilir.

Tanımlama

Tanımlama sadece yetkili ve kalifiye personel tarafından yapılmalıdır. Geçerli isimlendirmeler kullanılmalıdır.

Bu yöntem, insan teşhislerinde tamamlayıcı olarak kullanılabilir. Daha ileri testler, tanınmış yöntemlere göre seçilmeli ve uygulanmalıdır.

Hatalı bir sonuçtan kaçınmak için her uygulamayla birlikte uygun kontroller gerçekleştirilmelidir.

Boyama seti Gram pozitif bakteriler ve Gram negatif bakterilerle kontrol edilebilir.

18-24 saatlik inkübasyondan sonra bir kültür ortamından alınan bakteriler kullanılmalıdır.

Saklama

Gram-Color modifiye (fenolsüz) - bakteriyolojik yayma üzerinde Gram boyama yöntemi için boyama kiti +15 °C ila +25 °C'de saklayın.

15 °C'nin altındaki sıcaklıklarda, boyama solüsyonlarında renkli bir çökelti oluşabilir. Çökeltme meydana gelirse, şişeyi yaklaşık 2-3 saat süreyle 60 °C'de su banyosuna yerleştirin. Bu, çökeltinin çoğunu yeniden çözecektir. Ardından, boyama solüsyonlarını bir kağıt filtreden süzün.

Raf ömrü

Gram-Color modifiye (fenolsüz) - bakteriyolojik yayma üzerinde Gram boyama yöntemi için boyama kiti, belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Şişenin ilk açılışından sonra, içeriği +15 °C ile +25 °C arasında saklandığında belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Şişeler her zaman sıkıca kapalı durumda tutulmalıdır.

Reaktif 1c (kendiliğinden hazırlanan boyama solüsyonu) +15 °C ila +25 °C'de saklandığında 10 güne kadar ve +2 °C ila +8 °C'de saklandığında 14 güne kadar kullanılabilir.

Kapasite

Paket 65 - 70 uygulamaya yeterlidir.

Diğer talimatlar

Yalnızca profesyonel kullanım içindir.

Hatalardan kaçınmak için uygulama sadece kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.

İş güvenliği ve kalite güvencesi ile ilgili ulusal yönergelerle uyulmalıdır. Standarda uygun şekilde donatılmış mikroskoplar kullanılmalıdır.

Gerekirse tıbbi tanı laboratuvarına uygun standart bir santrifüj kullanın.

Enfeksiyona karşı korunma

Laboratuvar yönergeleri doğrultusunda, enfeksiyona karşı korunmak için etkili önlemler alınmalıdır.

İmha talimatları

Paket, yürürlükteki imha yönergelerine uygun şekilde imha edilmelidir. Kullanılmış ve raf ömrü dolmuş olan solüsyonlar yerel yönergelerle uygun şekilde özel atık olarak atılmalıdır. İmha ile ilgili bilgiler, www.microscopy-products.com adresinde "Mikroskopi Ürünlerinin İmhasına İlişkin İpuçları" Hızlı Bağlantısı altında verilmiştir. AB içinde şu anda, maddelerin ve karışımların sınıflandırılması, etiketlenmesi ve paketlenmesine ilişkin olarak, 67/548/EEC ve 1999/45/EC Yönergelerinin değiştirilmesi ve yürürlükten kaldırılması ve 1907/2006 Sayılı Yönetmeliğin (EC) değiştirilmesi ile, 1272/2008 Sayılı (AT) YÖNETMELİK geçerlidir.

Yardımcı reaktifler

Kat. No.	1.00579	DPX yeni susuz kapama ortamı mikroskopi için	500 ml
Kat. No.	1.04699	İmmersiyon yağı mikroskopi için	100 ml'lik damlatma şişesi, 100 ml, 500 ml
Kat. No.	1.07961	Entellan™ new hızlı destek besiyeri mikroskopi için	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. No.	1.09016	Neo-Mount™ susuz destek besiyeri mikroskopi için	100 ml'lik damlatma şişesi, 500 ml
Kat. No.	1.15525	RINGER tabletleri RINGER çözeltisi preparasyonu için	100 tabs

Tehlike sınıflandırması

Kat. No. 1.01603.0001

Lütfen etikette yazılı olan tehlike sınıflandırmasına ve güvenlik bilgi formunda verilen bilgilere uyun.

Güvenlik bilgi formu web sitesinde ve talep üzerine mevcuttur.

DİKKAT! CMR maddeleri içerir. Lütfen güvenlik bilgi formunda belirtilen ilgili güvenlik talimatlarına uyun.

Ürünlerin ana bileşenleri

Kat. No. 1.01603.0001

Reaktif 1a

C.I. 42555 10 g/l
1 l = 0,99 kg

Reaktif 1b

NaHCO₃ 25 g/l

Reaktif 2

PVP-İyot 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Reaktif 3

C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reaktif 4

C.I. 42510 veya 42520* 0,9 g/l
C₂H₆O 79 g/l

* Her iki boya da bir solüsyon hazırlamak için kullanılabilir; boyama sonuçları aynı boyama duyarlılığına ve özgülüğüne sahip olacaktır.

Genel açıklama

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse, lütfen bunu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal makama bildirin.

Literatür

1. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
3. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Kolay alevlenir sıvı ve buhar.

H318: Ciddi göz hasarına yol açar.

H336: Rehavete veya baş dönmesine yol açabilir.

H351: Kansere yol açma şüphesi var.

H412: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki.

P202: Bütün önlem ifadeleri okunup anlaşılmeden elleçlemeyin.

P210: Isıdan, sıcak yüzeylerden, kıvılcımdan, açık alevden ve diğer tutuşma kaynaklarından uzak tutun. - Sigara içilmez.

P273: Çevreye verilmesinden kaçının.

P280: Koruyucu eldiven/ koruyucu giysi/ göz koruyucu/yüz koruyucu.

P305 + P351 + P338: GÖZLERDE İSE: birkaç dakika su ile dikkatlice durulayın. Kontakt lens varsa ve kolaysa çıkartın. Durulamaya devam edin.

P308 + P313: Maruz kalınma veya etkileşme halinde İSE: Tıbbi yardım/ bakım alın.

Reaktif 1a:

H226: Alevlenir sıvı ve buhar.

H319: Ciddi göz tahrişine yol açar.

H351: Kansere yol açma şüphesi var.

H412: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki.

Reaktif 2:

H318: Ciddi göz hasarına yol açar.

H412: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki.

Reaktif 3:

H225: Kolay alevlenir sıvı ve buhar.

H319: Ciddi göz tahrişine yol açar.

H336: Rehavete veya baş dönmesine yol açabilir.

Reaktif 4:

H226: Alevlenir sıvı ve buhar.

Revizyon Geçmişi

Sürüm	Değişiklik Yorumu
2024-Jul-22	Revizyon Geçmişi girişiyle birlikte ilk sürüm.



Kullanım talimatlarına başvurun



Üretici



Katalog numarası



Parti kodu



Dikkat, beraberindeki belgelere bakın



Son kullanma tarihi: YYYY-AA-GG



Sıcaklık sınırlaması

Status: 2024-Jul-22

Merck'in Life Science bölümü, ABD ve Kanada'da MilliporeSigma olarak faaliyet göstermektedir.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Almanya ve/veya bağlı şirketleri. Tüm Hakları Saklıdır. Merck ve Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Almanya'nın ticari markalarıdır. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerine aittir. Ticari markalarla ilgili ayrıntılı bilgiler kamuoyuna açık kaynaklarda mevcuttur.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK