

1.09217.0500

1.09217.2500

1.09217.9025

REF

Microscopy

Gram's safranine solution

for the Gram staining method

For professional use only



In vitro Diagnostic Medical Device



Intended purpose

This "Gram's safranine solution - for the Gram staining method" 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 solution that when used together with other *in vitro* diagnostic products from our portfolio makes bacterial target structures evaluable for diagnostic purposes (Gram-positive or Gram-negative bacteria) by fixing, staining, counterstaining, mounting in bacteriological specimen materials, e.g. smears of body fluids.

The Gram solutions are modified and designed in such a way that staining can be carried out in staining cells, on the staining rack, and also in automated staining systems.

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 blue-violet.

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 decoloring solution. Gram-negative bacteria will be counterstained with safranine solution and will then appear pink to red.

Sample material

Smears of bacteriological material that have been air-dried and heat-fixed like sputum, smears from fine needle aspiration biopsies (FNAB), rinses, imprints, effusions, pus, exudates, liquid and solid cultures

Reagents

Cat. No. 1.09217

Gram's safranine solution

for the Gram staining method

500 ml, 2.5 l

Also required:

Cat. No. 1.00567 Lugol's solution stabilized with PVP for the Gram staining method

1 l, 2.5 l

or

Cat. No. 1.09261 Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution) for the Gram staining method

1 l, 2.5 l

Cat. No. 1.09218 Gram's crystal violet solution for the Gram staining method

500 ml, 2.5 l

Cat. No. 1.10218 Gram's decolorizing solution for the Gram staining method

500 ml, 2.5 l

Alternatively:

Instead of the combination of single reagents, the staining kit 1.11885.0001 can be used:

Cat. No. 1.11885.0001

Gram-Color

stain set for the Gram staining method

1 set

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 Gram's safranine solution - for the Gram staining method used for staining is ready-to-use, dilution of the solution is not necessary and merely produces a deterioration of the staining result and the stability.

Procedure

Staining in the staining cell

It is recommended to dilute the Gram's crystal violet solution 1:3 with distilled water, if the immersion method is used.

The slides must be immersed and moved about in the solutions, simple immersion alone yields inadequate staining results.

The slides should be allowed to drip off well after the individual staining steps as a measure to avoid any unnecessary cross-contamination of solutions.

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

Slide with fixed smear		
Gram's crystal violet solution		1:30 min
Running tap water		30 sec
Lugol's solution*		3 min
Running tap water		20 sec
Gram's decolorizing solution**		5 - 10 sec
Running tap water		30 sec
Gram's safranine solution		1 min
Running tap water		1 min
Air-dry (e. g. over night or at 50 °C in the drying cabinet)		

* filter Lugol's solution after 3 runs

** discard Gram's decolorizing solution after 5 runs

Staining on the staining rack

Slide with fixed smear		
Gram's crystal violet solution	cover completely and leave to react	1 min
Lugol's solution	rinse briefly	
Lugol's solution	cover completely and leave to react	1 min
Distilled water	wash carefully	5 sec
Gram's decolorizing solution	carefully swirl the slides until no further clouds of dye are produced and the smear takes on a grey-blue color	10 - 15 sec
Distilled water	wash carefully	5 sec
Gram's safranine solution	cover completely and leave to react	1 min
Distilled water	wash 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™ or Entellan™) 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.

Staining in the automatic stainer

Staining in automated staining systems can be performed according to the protocol of the staining in the staining cell.

Result

Gram-positive microorganisms	blue-violet
Gram-negative microorganisms	pink to 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’s safranine solution” 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	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-negative microorganisms	20/20	20/20	7/7	7/7

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’s safranine solution solution has been successfully used in the clinical setting for decades in a high number of applications.

The clinical performance of the Gram’s safranine solution 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	15/15

Sensitivity: 15 samples out of 15: 100 %
Specificity: 15 samples out of 15: 100 %

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’s safranine solution - for the Gram staining method at +15 °C to +25 °C.
At temperatures below 15 °C a colored precipitate may settle out of the staining 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’s safranine solution - for the Gram staining method 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.

Capacity

approx. 250 stainings / 500 ml

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.	1.00567	Lugol’s solution stabilized with PVP for the Gram staining method	1 l, 2.5 l
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.	1.09218	Gram’s crystal violet solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.09261	Lugol’s solution (diluted iodine-potassium iodide solution) for the Gram staining method	1 l, 2.5 l
Cat. No.	1.10218	Gram’s decolorizing solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.11885	Gram-Color stain set for the Gram staining method	1 set

Hazard classification

Cat. No. 1.09217
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.

Main components of the product

Cat. No. 1.09217

C.I. 50240

1.8 g/l

1 l = 0.98 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Flammable liquid and vapor.

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

P233: Keep container tightly closed.

P240: Ground and bond container and receiving equipment.

P241: Use explosion-proof electrical/ ventilating/ lighting/ equipment.

P242: Use non-sparking tools.

P243: Take action to prevent static discharges.

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Jul-23	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-23

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.sigmaaldrich.com

MERCK

1.09217.0500

1.09217.2500

1.09217.9025

REF

Mikroskopie

Grams Safraninlösung

für die Gram-Färbung

Nur für professionelle Anwendung

IVD

In vitro Diagnostikum

CE

Zweckbestimmung

Die vorliegende „Grams Safraninlösung - für die Gram-Färbung“ wird für die human-medizinische Zelldiagnostik verwendet und dient der bakteriologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um eine gebrauchsfertige Färbelösung, welche zusammen mit anderen *In vitro* Diagnostika aus unserem Portfolio bakterielle Zielstrukturen (Gram-positive bzw. Gram-negative Bakterien) mittels Fixieren, Anfärben, Gegenfärben, Eindecken in bakteriologischem Untersuchungsgut, wie z.B. Ausstrichen von Körperflüssigkeiten, für die Diagnostik auswertbar macht.

Die Lösungen nach Gram sind modifiziert und so konzipiert, dass sowohl in Färbeküvetten, auf der Färbepan als auch in Färbautomaten 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 blauviolett 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 Safraninlösung rosa bis rot angefärbt.

Probenmaterial

Luftgetrocknete, hitzefixierte Ausstriche von bakteriologischem Material wie Sputum, Ausstriche von Feinnadel-Aspirations-Biopsien (FNAB), Spülflüssigkeiten, Imprinte, Ergüsse, Eiter, Exsudate, flüssige und feste Kulturen

Reagenzien

Art. 1.09217

Grams Safraninlösung

500 ml, 2,5

für die Gram-Färbung

Zusätzlich erforderlich:

Art. 1.00567 Lugols Lösung stabilisiert mit PVP für die Gram-Färbung

1 l, 2,5 l

oder

Art. 1.09261 Lugols Lösung (verdünnte Iod-Kaliumiodidlösung) für die Gram-Färbung

1 l, 2,5 l

Art. 1.09218 Grams Kristallviolettlösung für die Gram-Färbung

500 ml, 2,5 l

Art. 1.10218 Grams Entfärbelösung für die Gram-Färbung

500 ml, 2,5 l

Alternativ:

Anstatt der Kombination von Einzelreagenzien kann das Färbeset 1.11885.0001 verwendet werden:

Art. 1.11885.0001

Gram-Color

Färbeset für die Gram-Färbung

1 set

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 Hitzefixierung 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.

Reagenz Vorbereitung

Die zur Färbung verwendete Grams Safraninlösung - für die Gram-Färbung ist gebrauchsfertig, das Verdünnen der Lösung ist nicht notwendig, mindert das Färbergebnis und die Haltbarkeit.

Durchführung

Färbung in der Färbeküvette

Bei Färbung im Eintauchverfahren empfiehlt sich eine Verdünnung der Grams Kristallviolettlösung mit Aqua dest. im Verhältnis 1:3.

Die Objektträger müssen in die Lösungen eingetaucht und bewegt werden, einfaches Hineinstellen ergibt ungenügende Färbergebnisse.

Die Objektträger sollten nach den einzelnen Färbeschritten gut abtropfen, so kann eine unnötige Verschleppung von Lösungen vermieden werden.

Für ein optimales Färbergebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

Objektträger mit fixiertem Ausstrich	
Grams Kristallviolettlösung	1:30 min
Fließendes Leitungswasser	30 sec
Lugols Lösung*	3 min
Fließendes Leitungswasser	20 sec
Grams Entfärbelösung**	5 - 10 sec
Fließendes Leitungswasser	30 sec
Grams Safraninlösung	1 min
Fließendes Leitungswasser	1 min
Lufttrocknen (z.B. über Nacht oder bei 50 °C im Trockenschrank)	

* Lugols Lösung nach 3 Durchgängen filtrieren

** Grams Entfärbelösung nach 5 Durchgängen verwerfen

Färbung auf der Färbepan

Objektträger mit fixiertem Ausstrich		
Grams Kristallviolettlösung	vollständig bedecken und einwirken lassen	1 min
Lugols Lösung	kurz abspülen	
Lugols Lösung	vollständig bedecken und einwirken lassen	1 min
Aqua dest.	vorsichtig waschen	5 sec
Grams Entfärbelösung	Objektträger vorsichtig schwenken bis keine Farbwolken mehr abgehen und der Ausstrich graublau erscheint	10 - 15 sec
Aqua dest.	vorsichtig waschen	5 sec
Grams Safraninlösung	vollständig bedecken und einwirken lassen	1 min
Aqua dest.	vorsichtig waschen	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™ oder Entellan™) 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.

Färbung im Färbeautomaten

Die Färbung im Färbeautomaten kann wie die Färbung in der Färbeküvette durchgeführt werden.

Ergebnis

Gram-positive Mikroorganismen	blauviolett
Gram-negative Mikroorganismen	rosa bis rot

Fehlerfindung

Fixierung der Ausstrichpräparate

Eine ausreichende Hitzefixierung mit dem Bunsenbrenner oder in einem Hitzeschränk 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

Die vorliegende „Grams Safraninlösung“ 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	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-negative Mikroorganismen	20/20	20/20	7/7	7/7

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

Die Grams Safraninlösung wird seit Jahrzehnten erfolgreich im klinischen Umfeld in einer hohen Zahl von Anwendungen genutzt.

Die klinische Leistung der Grams Safraninlösung 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	15/15

Sensitivität: 15 Proben von 15: 100 %
Spezifität: 15 Proben von 15: 100 %

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

Die diagnostische Interpretation der Färbeergebnisse 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

Grams Safraninlösung - für die Gram-Färbung 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

Grams Safraninlösung - für die Gram-Färbung 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.

Kapazität

etwa 250 Färbungen / 500 ml

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.	1.00567	Lugols Lösung stabilisiert mit PVP für die Gram-Färbung	1 l, 2,5 l
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. 1.09218	Grams Kristallviolettlösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09261	Lugols Lösung (verdünnte Iod-Kalium-iodidlösung) für die Gram-Färbung	1 l, 2,5 l
Art. 1.10218	Grams Entfärbelösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l
Art. 1.11885	Gram-Color Färbeset für die Gram-Färbung	1 set

GefahrstoffEinstufung

Art. 1.09217

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

Das Sicherheitsdatenblatt ist erhältlich im Internet und auf Anfrage.

Hauptbestandteile des Produkts

Art. 1.09217

C.I. 50240 1,8 g/l

1 l = 0,98 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H226: Flüssigkeit und Dampf entzündbar.

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

P233: Behälter dicht verschlossen halten.

P240: Behälter und zu befüllende Anlage erden.

P241: Explosionsgeschützte elektrische/ Lüftungs-/ Beleuchtungsgeräte verwenden.

P242: Funkenarmes Werkzeug verwenden.

P243: Maßnahmen gegen elektrostatische Entladungen treffen.

Revisionshistorie

Version	Modifikationsanmerkung
2024-Jul-23	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-23

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

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Microscopie

Safranine en solution selon Gram

pour la coloration selon Gram

Réservé à une utilisation professionnelle

IVD

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

CE

Objectif prévu

Le présent « Safranine en solution selon Gram - pour la coloration selon Gram » est utilisé pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen bactériologique d'échantillons d'origine humaine. C'est une solution de coloration prêt à l'emploi, qui est utilisée conjointement avec d'autres diagnostics *in vitro* de notre portefeuille pour rendre des structures bactériennes 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.

Les solutions selon Gram sont modifiées et conçues de manière à pouvoir être utilisées aussi bien en cuves de coloration que sur un banc de coloration ou en distributeurs automatiques 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 violet. 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 rose à rouge par une contre-coloration effectuée à l'aide d'une solution de safranine.

Matériel des échantillons

Frottis de matériel bactériologique séchés à l'air et fixés par la chaleur comme crachats, frottis de ponctions-biopsies à l'aiguille fine (BAAF), solutions de lavage, empreintes, liquides d'épanchement, pus, exsudats, cultures liquides et solides

Réactifs

Art. 1.09217
Safranine en solution selon Gram 500 ml, 2,5 l
pour la coloration selon Gram

Nécessaire en plus :

Art. 1.00567 Solution de Lugol stabilisée avec PVP 1 l, 2,5 l
pour la coloration selon Gram
ou
Art. 1.09261 Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium 1 l, 2,5 l
en solution diluée)
pour la coloration selon Gram
Art. 1.09218 Violet cristallisé en solution selon Gram 500 ml, 2,5 l
pour la coloration selon Gram
Art. 1.10218 Solution de décoloration selon GRAM 500 ml, 2,5 l
pour la coloration selon Gram

En alternative :

Le kit de coloration 1.11885.0001 peut être utilisé à la place de la combinaison des réactifs individuelles :

Art. 1.11885.0001

Gram-Color

Set de coloration pour la coloration de Gram

1 set

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

Le Safranine en solution selon Gram - pour la coloration selon Gram utilisé est prêt à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer la solution étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.

Mode opératoire

Coloration dans la cuve de coloration

Lors de la coloration par le procédé à immersion, il est recommandé de diluer le Violet cristallisé en solution selon Gram avec de l'eau distillée dans le rapport 1 : 3.

Il est nécessaire de plonger et de déplacer les lames porte-objets dans les solutions ; une simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants.

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions.

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

Porte-objet avec frottis fixé	
Violet cristallisé en solution selon Gram	1:30 minute
Eau du robinet courante	30 secondes
Solution de Lugol*	3 minutes
Eau du robinet courante	20 secondes
Solution de décoloration selon GRAM**	5 - 10 secondes
Eau du robinet courante	30 secondes
Safranine en solution selon Gram	1 minute
Eau du robinet courante	1 minute
Sécher à l'air (p.ex. pendant toute une nuit, ou à 50 °C dans l'armoire de séchage)	

* filtrer après trois passages la Solution de Lugol

** jeter après cinq passages la Solution de décoloration selon GRAM

Coloration sur le banc de coloration

Porte-objet avec frottis fixé		
Violet cristallisé en solution selon Gram	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Solution de Lugol	rincer brièvement	
Solution de Lugol	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Eau distillée	laver avec précaution	5 secondes
Solution de décoloration selon GRAM	agiter le porte-objet avec précaution jusqu'à ne plus voir aucun nuage de couleur, et jusqu'à ce que le frottis penne une couleur bleu-grisâtre	10 - 15 secondes
Eau distillée	laver avec précaution	5 secondes
Safranine en solution selon Gram	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Eau distillée	laver 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™ ou Entellan™) 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.

Coloration dans le distributeur automatique de coloration

La coloration en distributeurs automatiques de coloration peut s'effectuer comme celle réalisée dans la cuve de coloration.

Résultat

Microorganismes Gram-positives bleu violet
Microorganismes Gram-négatives rose à 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

« Safranine en solution selon Gram » 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 manipulation des échantillons, 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	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganismes Gram-négatives	20/20	20/20	7/7	7/7

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

La Safranine en solution selon Gram a été utilisée avec succès en contexte clinique pendant des décennies dans un grand nombre d'applications. La performance clinique de la Safranine en solution selon Gram 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	15/15

Sensibilité : 15 échantillons sur 15 : 100 %
Spécificité : 15 échantillons sur 15 : 100 %

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 Safranine en solution selon Gram - pour la coloration selon Gram 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 Safranine en solution selon Gram - pour la coloration selon Gram peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiqué.
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.

Capacité

env. 250 colorations / 500 ml

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. 1.00567	Solution de Lugol stabilisée avec PVP pour la coloration selon Gram	1 l, 2,5 l
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. 1.09218	Violet cristallisé en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09261	Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) pour la coloration selon Gram	1 l, 2,5 l
Art. 1.10218	Solution de décoloration selon GRAM pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.11885	Gram-Color Set de coloration pour la coloration de Gram	1 set

Classification des matières dangereuses

Art. 1.09217

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.

Composants principaux du produit

Art. 1.09217

C.I. 50240 1,8 g/l
1 l = 0,98 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226 : Liquide et vapeurs inflammables.

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.

P233: Maintenir le récipient fermé de manière étanche.

P240: Mise à la terre et liaison équipotentielle du récipient et du matériel de réception.

P241: Utiliser du matériel électrique/ de ventilation/ d'éclairage antidéflagrant.

P242: Utiliser des outils ne produisant pas d'étincelles.

P243: Prendre des mesures de précaution contre les décharges électrostatiques.

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Jul-23	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-23

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.sigmaaldrich.com

MERCK

1.09217.0500

1.09217.2500

1.09217.9025

REF

Microscopía

Safranina en solución según Gram

para la tinción de Gram

Solamente para uso profesional

IVD

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*

CE

Finalidad prevista

La presente "Safranina en solución según Gram - para la tinción de Gram" es utilizada para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen bacteriológico de muestras de origen humano. Se trata de una solución de tinción lista 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 bacterianas (bacterias Gram positivas y Gram negativas) mediante fijación, tinción, contratinción, montaje) en material de examen bacteriológico, como pueden ser frotis de líquidos corporales.

Las soluciones según Gram están modificadas e ideadas de tal manera que la tinción pueda ser realizada tanto en cubetas de tinción como en bancos de tinción y aparatos automáticos 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 decoloración, las bacterias conservan su tinción azul violeta. 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 decoloración. Las bacterias Gram negativas son teñidas de color rosa a rojo por medio de una contratinción con solución de safranina.

Material de las muestras

Frotis de material bacteriológico secados al aire a termofijados como espumas, frotis tomados de punciones aspirativas con aguja fina (PAAF/FNAB), soluciones de lavado, imprints, efusiones, pus, exsudados, cultivos líquidos y sólidos

Reactivos

Art. 1.09217

Safranina en solución según Gram para la tinción de Gram

500 ml, 2,5 l

Necesario además:

Art. 1.00567 Solución de Lugol estabilizada con PVP para la tinción de Gram 1 l, 2,5 l

o
Art. 1.09261 Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico) para la tinción de Gram 1 l, 2,5 l

Art. 1.09218 Violeta cristal en solución según Gram para la tinción de Gram 500 ml, 2,5 l

Art. 1.10218 Solución decolorante según Gram para la tinción de Gram 500 ml, 2,5 l

Alternativamente:

En lugar de la combinación de los reactivos sueltos puede utilizarse también el kit de tinción 1.11885.0001:

Art. 1.11885.0001

Gram-Color

Equipo de tinción para la tinción de Gram

1 set

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

La Safranina en solución según Gram - para la tinción de Gram para los procesos de tinción están lista para el uso, la dilución de la solución no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

Técnica

Tinción en la cubeta de tinción

En caso de tinción por el procedimiento de inmersión se recomienda diluir la Violeta cristal en solución según Gram con agua destilada en relación 1:3.

Los portaobjetos han de ser inmersos y movidos en las soluciones, la simple introducción proporcionará resultados de tinción insuficientes.

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

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

Portaobjetos con frotis fijado	
Violeta cristal en solución según Gram	1:30 minuto
Agua corriente del grifo	30 segundos
Solución de Lugol*	3 minutos
Agua corriente del grifo	20 segundos
Solución decolorante según Gram**	5 - 10 segundos
Agua corriente del grifo	30 segundos
Safranina en solución según Gram	1 minuto
Agua corriente del grifo	1 minuto
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)	

* filtrar la Solución de Lugol después de 3 ciclos

** desechar la Solución decolorante según Gram después de 5 ciclos

Tinción en el banco de tinción

Portaobjetos con frotis fijado		
Violeta cristal en solución según Gram	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Solución de Lugol	enjuagar brevemente	
Solución de Lugol*	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Agua destilada	lavar con cuidado	5 segundos
Solución decolorante según Gram	mover el portaobjetos con cuidado hasta que ya no se desprendan nubes de color y el frotis tenga un aspecto gris azulado	10 - 15 segundos
Agua destilada	lavar con cuidado	5 segundos
Safranina en solución según Gram	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Agua destilada	lavar 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™ o Entellan™) 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.

Tinción en el aparato automático de tinción

La tinción en un aparato automático de tinción puede ser realizada de la misma manera que la tinción en una cubeta de tinción.

Resultado

Microorganismos Gram positivos	violeta azulado
Microorganismos Gram negativos	rosa a 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 decoloración, 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 decoloración, 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

“Safranina en solución según Gram” 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 %:

	Especifici- dad inter- ensayos	Especifici- dad inter- ensayos	Especi- ficidad intraensa- yos	Especi- ficidad intraensa- yos
Tinción de Gram				
Microorganismos Gram positivos	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganismos Gram negativos	20/20	20/20	7/7	7/7

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

La Safranina en solución según Gram se ha usado con éxito en el ámbito clínico durante décadas en un gran número de aplicaciones.

El rendimiento clínico de la Safranina en solución según Gram 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	15/15

Sensibilidad: 15 muestras de 15: 100 %
Especificidad: 15 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 la Safranina en solución según Gram - para la tinción de Gram 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

La Safranina en solución según Gram - para la tinción de Gram puede ser utilizada 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.

Capacidad

aprox. 250 tinciones / 500 ml

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. 1.00567	Solución de Lugol estabilizada con PVP para la tinción de Gram	1 l, 2,5 l
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. 1.09218	Violeta cristal en solución según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09261	Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico) para la tinción de Gram	1 l, 2,5 l
Art. 1.10218	Solución decolorante según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.11885	Gram-Color Equipo de tinción para la tinción de Gram	1 set

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.09217
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.

Componentes principales del producto

Art. 1.09217
C.I. 50240 1,8 g/l
1 l = 0,98 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Líquidos y vapores inflamables.

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

P233: Mantener el recipiente herméticamente cerrado.

P240: Toma de tierra y enlace equipotencial del recipiente y del equipo receptor.

P241: Utilizar material eléctrico/ de ventilación/ iluminación/ antideflagran-te.

P242: No utilizar herramientas que produzcan chispas.

P243: Tomar medidas de precaución contra las descargas electrostáticas.

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Jul-23	Versión inicial con la introducción del Historial de revi-siones

Observe las instrucciones de uso

Fabricante

Número de catálogo

Código del lote

Atención, observar la do-cumentación pertinente

Utilizable hasta AAAA-MM-DD

Delimitación de la temperatura

Status: 2024-Jul-23

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Microscopia

Safranina soluzione secondo Gram

per la colorazione di Gram

Solo per uso professionale

IVD Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*



Scopo previsto

La presente "Safranina soluzione secondo Gram - per la colorazione di Gram" è utilizzato per la diagnostica cellulare nell'uomo e serve per l'esame batteriologico di campioni di origine umana. È una soluzione di colorazione pronto all'uso che, congiuntamente ad altri prodotti diagnostici *in vitro* del nostro portafoglio, consente l'analisi diagnostica delle strutture bersaglio batteriche (batteri Gram-positivi e Gram-negativi) mediante fissaggio, colorazione, controcolorazione, montaggio nei campioni batteriologici, quali ad esempio strisci di liquidi corporei.

Le soluzioni secondo Gram sono modificate e concepite in modo da poter eseguire la colorazione in cuvette di colorazione, con il rastrello di colorazione ed in strumenti di colorazione automatici.

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-violetto.

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 rosa a rosso attraverso la contro-colorazione con soluzione di safranina.

Materiale d'esame

Strisci di materiale batteriologico essiccati all'aria e termofissati quale espettorato, strisci ottenuti da agoaspirati (FNAB, Fine Needle Aspiration Biopsy = agobiopsia con ago sottile), lavaggi, impronte, effusioni, pus, essudati, colture liquide e solide

Reattivi

Art. 1.09217
Safranina soluzione secondo Gram 500 ml, 2,5 l
per la colorazione di Gram

Inoltre necessario:

Art. 1.00567 Soluzione Lugol stabilizzata con PVP 1 l, 2,5 l
per la colorazione di Gram
o
Art. 1.09261 Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro) 1 l, 2,5 l
per la colorazione di Gram
Art. 1.09218 Cristallvioletto soluzione sec. Gram 500 ml, 2,5 l
per la colorazione di Gram
Art. 1.10218 Soluzione decolorante secondo Gram 500 ml, 2,5 l
per la colorazione di Gram

In alternativa:

Al posto della combinazione dei reattivi singole può essere utilizzato anche il kit di colorazione 1.11885.0001:

Art. 1.11885.0001
Gram-Color 1 set
Set di colorazione per la colorazione di Gram

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

La Safranina soluzione secondo Gram - per la colorazione di Gram è pronta all'uso, non è richiesta la diluizione delle soluzioni, poiché compromette la colorazione e ne riduce la stabilità.

Esecuzione

Colorazione nella cuvetta di colorazione

Nella colorazione a immersione si consiglia una diluizione 1:3 della soluzione di Cristallvioletto soluzione sec. Gram con acqua distillata.

I portaoggetti vanno immersi e fatti muovere nelle soluzioni; la semplice immersione non produce risultati soddisfacenti.

I portaoggetti vanno fatti sgocciolare accuratamente dopo le singole fasi della colorazione, in modo da evitare il trascinamento (carry-over) delle soluzioni.

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

Portaoggetti con striscio fissato	
Cristallvioletto soluzione sec. Gram	1:30 minuto
Acqua di rubinetto corrente	30 secondi
Soluzione Lugol*	3 minuti
Acqua di rubinetto corrente	20 secondi
Soluzione decolorante secondo Gram**	5 - 10 secondi
Acqua di rubinetto corrente	30 secondi
Safranina soluzione secondo Gram	1 minuto
Acqua di rubinetto corrente	1 minuto
Asciugare all'aria (ades. per una notte o a 50 °C nell'armadio di asciugatura)	

* filtrare dopo 3 passaggi la Soluzione Lugol

** sostituire dopo 5 passaggi la Soluzione decolorante secondo Gram

Colorazione con rastrello di colorazione

Portaoggetti con striscio fissato		
Cristallivioletto soluzione sec. Gram	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Soluzione Lugol	sciacquare brevemente	
Soluzione Lugol	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Acqua distillata	lavare con precauzione	5 secondi
Soluzione decolorante secondo Gram	scuotere con delicatezza il portaoggetti fino a quando non compaiono più nuvolette di colore e lo striscio appare di colore grigio-blu	10 - 15 secondi
Acqua distillata	lavare con precauzione	5 secondi
Safranina soluzione secondo Gram	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Acqua distillata	lavare 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 (ad es., Neo-Mount™ o Entellan™) 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.

Colorazione nel strumento automatico colorazione

La colorazione nei strumenti di colorazione automatici può essere eseguita come la colorazione nella cuvette di colorazione.

Risultato

Microrganismi Gram-positivi	blu-violetto
Microrganismi Gram-negativi	da rosa a 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

„Safranina soluzione secondo Gram” 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, la manipolazione del campione, 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	20/20	20/20	7/7	7/7
Microrganismi Gram-negativi	20/20	20/20	7/7	7/7

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

La Safranina soluzione secondo Gram è stata utilizzata con successo in ambito clinico per decenni in un elevato numero di applicazioni.

In particolare, le prestazioni cliniche della Safranina soluzione secondo Gram 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	15/15

Sensibilità: 15 campioni su 15: 100 %
Specificità: 15 campioni su 15: 100 %

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.

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

Conservazione

La Safranina soluzione secondo Gram - per la colorazione di Gram va conservata 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

La Safranina soluzione secondo Gram - per la colorazione di Gram può essere utilizzata fino alla 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.

Capacità

circa 250 colorazione / 500 ml

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. 1.00567	Soluzione Lugol stabilizzata con PVP per la colorazione di Gram	1 l, 2,5 l
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. 1.09218	Cristallvioletto soluzione sec. Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09261	Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro) per la colorazione di Gram	1 l, 2,5 l
Art. 1.10218	Soluzione decolorante secondo Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.11885	Gram-Color Set di colorazione per la colorazione di Gram	1 set

Classificazione di sostanze pericolose

Art. 1.09217

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.

Componenti principali del prodotto

Art. 1.09217

C.I. 50240 1,8 g/l

1 l = 0,98 kg

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.

Letterature

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Liquido e vapori infiammabili.

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

P233: Tenere il recipiente ben chiuso.

P240: Mettere a terra e a massa il contenitore e il dispositivo ricevente.

P241: Utilizzare impianti elettrici/ di ventilazione/ d'illuminazione a prova di esplosione.

P242: Utilizzare utensili antiscintillamento.

P243: Fare in modo di prevenire le scariche elettrostatiche.

Cronologia delle revisioni

Versione	Commento relativo alla modifica
2024-Jul-23	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-23

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

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Μικροσκοπία

Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram

για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram

Για επαγγελματική χρήση μόνο

IVD

In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

CE

Προβλεπόμενος σκοπός

Το «Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram – για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram» χρησιμοποιείται για ιατρική κυτταρολογική διάγνωση στον άνθρωπο και προορίζεται για βακτηριολογική διερεύνηση υλικού δείγματος ανθρώπινης προέλευσης. Πρόκειται για ένα έτοιμο για χρήση διάλυμα χρώσης που, όταν χρησιμοποιείται μαζί με άλλα *in vitro* διαγνωστικά προϊόντα από το χαρτοφυλάκιό μας, κάνει τις δομές-στόχους (Gram-θετικά ή Gram-αρνητικά βακτήρια), σε υλικά βακτηριολογικών δειγμάτων, για παράδειγμα επιχρίσματα σωματικών υγρών, αξιολογήσιμες για διαγνωστικούς σκοπούς, με μονιμοποίηση, χρώση, αντιχρώση και στερέωση.

Τα διαλύματα χρώσης κατά Gram είναι τροποποιημένα και σχεδιασμένα με τέτοιο τρόπο ώστε η χρώση να μπορεί να πραγματοποιείται σε δοχεία χρώσης, στον φορέα χρώσης, καθώς επίσης και σε αυτοματοποιημένα συστήματα 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 κυανά-βιολετί.

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 σαφρανίνης και θα εμφανίζονται στη συνέχεια ροζ έως ερυθρά.

Υλικό δείγματος

Επιχρίσματα βακτηριολογικού υλικού υποβληθέντα σε ξήρανση στον αέρα και μονιμοποίηση με θερμότητα όπως πτύελα, βιοψία αναρρόφησης λεπτής βελόνας (FNAB), εκπλύσεις, αποτυπώματα, συλλογές, πύον, εξιδρώματα, υγρές και στερεές καλλιέργειες.

Αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου 1.09217 Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram 500 ml, 2,5 l

Απαιτούνται επίσης:

Αρ. καταλόγου 1.00567 Διάλυμα Lugol σταθεροποιημένο με PVP για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram 1 l, 2,5 l

ή

Αρ. καταλόγου 1.09261 Διάλυμα Lugol (αραιωμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου) για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram 1 l, 2,5 l

Αρ. καταλόγου 1.09218 Διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram 500 ml, 2,5 l

Αρ. καταλόγου 1.10218 Διάλυμα αποχρωματισμού κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram 500 ml, 2,5 l

Εναλλακτικά:

Αντί για τον συνδυασμό μονών αντιδραστηρίων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το kit χρώσης 1.11885.0001:

Αρ. καταλόγου 1.11885.0001 Gram-Color Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram

1 set

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 αντιδραστηρίων

Το Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram – για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram που χρησιμοποιείται για χρώση είναι έτοιμο για χρήση. Η αραιώση αυτού του διαλύματος δεν είναι αναγκαία και προκαλεί μόνο αλλοίωση του αποτελέσματος χρώσης και μείωση της σταθερότητάς του.

Διαδικασία

Χρώση στο κύτταρο χρώσης

Συνιστάται η διάλυση του διαλύματος κρυσταλλικού βιολετί κατά Gram 1:3 με απεσταγμένο νερό, εάν χρησιμοποιείται η μέθοδος εμφάνισης.

Οι αντικειμενοφόροι πλάκες πρέπει να εμβαπτίζονται και να μετακινούνται για λίγο στα διαλύματα, η απλή εμβάπτιση μόνο δίνει ακατάλληλα αποτελέσματα χρώσης.

Οι πλάκες θα πρέπει να αφήνονται να σταλάξουν καλά μετά από τα μεμονωμένα βήματα χρώσης, ως μέτρο αποφυγής οποιασδήποτε άσκοπης διασταυρούμενης μόλυνσης διαλυμάτων.

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

Αντικειμενοφόρος πλάκα με μονιμοποιημένο επίχρισμα	
Διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί κατά Gram	1:30 λεπτά
Τρεχούμενο νερό βρύσης	30 δευτ.
Διάλυμα Lugol*	3 λεπτά
Τρεχούμενο νερό βρύσης	20 δευτ.
Διάλυμα αποχρωματισμού κατά Gram**	5 - 10 δευτ.
Τρεχούμενο νερό βρύσης	30 δευτ.
Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram	1 λεπτά
Τρεχούμενο νερό βρύσης	1 λεπτά
Στεγνώστε στον αέρα [π.χ. όλη τη νύχτα (8 ώρες) ή σε 50 °C στον θάλαμο ξήρανσης]	

* διηθήστε το διάλυμα Lugol μετά από 3 αναλύσεις

** απορρίψτε το διάλυμα αποχρωματισμού κατά Gram μετά από 5 αναλύσεις

Χρώση στον δειγματοφορέα χρώσης

Αντικειμενοφόρος πλάκα με μονιμοποιημένο επίχρισμα		
Διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί κατά Gram	καλύπτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	1 λεπτά
Διάλυμα Lugol	Ξεπλύνετε για λίγο	
Διάλυμα Lugol	καλύπτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	1 λεπτά
Απεσταγμένο νερό	Πλύντε προσεκτικά	5 δευτ.
Διάλυμα αποχρωματισμού κατά Gram	περιστρέψτε προσεκτικά τις πλάκες έως ότου δεν παράγονται περαιτέρω σύννεφα χρωστικής και το επίχρισμα πάρει ένα γκρι-κυανούν χρώμα	10 - 15 δευτ.
Απεσταγμένο νερό	Πλύντε προσεκτικά	5 δευτ.
Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram	καλύπτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	1 λεπτά
Απεσταγμένο νερό	Πλύντε 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™ ή Entellan™) 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.

Χρώση στο αυτοματοποιημένο σύστημα χρώσης

Η χρώση σε αυτοματοποιημένα συστήματα χρώσης μπορεί να πραγματοποιηθεί σύμφωνα με το πρωτόκολλο χρώσης στο δοχείο χρώσης.

Αποτέλεσμα

Gram-θετικοί μικροοργανισμοί	κυανούν-βιολετί
Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί	ροζ έως ερυθρό

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 εμβάπτισης πριν από την αρχειοθέτηση.

Χαρακτηριστικά αναλυτικής απόδοσης

Το «Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram» χρωματίζει και κατ’ αυτόν τον τρόπο απεικονίζει βιολογικές δομές, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο «Αποτέλεσμα» αυτών των οδηγιών χρήσης. Το προϊόν πρέπει 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	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί	20/20	20/20	7/7	7/7

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 Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram χρησιμοποιείται με επιτυχία στο κλινικό περιβάλλον εδώ και δεκαετίες σε μεγάλο αριθμό εφαρμογών.

Η κλινική απόδοση του Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram 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	15/15

Ευαισθησία: 15 στα 15 δείγματα: 100%
Ειδικότητα: 15 στα 15 δείγματα: 100%

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 σύμφω-να 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 φυλάσσετε το Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram – για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram 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 Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram – για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram 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.

Ικανότητα

περίπου 250 χρώσεις / 500 ml

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 μικροσκοπία 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.microscopy-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 1.00567	Διάλυμα Lugol σταθεροποιημένο με PVP για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.04699	Έλαιο εμβάπτισης 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 μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.09218	Διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.09261	Διάλυμα Lugol (αραιωμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου) για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.10218	Διάλυμα αποχρωματισμού κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.11885	Gram-Color Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	1 set

Ταξινόμηση κινδύνου

Αρ. καταλόγου 1.09217

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.

Κύρια συστατικά των προϊόντων

Αρ. καταλόγου 1.09217

C.I. 50240
1 l = 0,98 kg

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

- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- 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
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H226: Υγρό και ατμοί εύφλεκτα.

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

P233: Να διατηρείται ο περιέκτης ερμητικά κλειστός.

P240: Γείωση και ισοδυναμική σύνδεση του περιέκτη και του εξοπλισμού του δέκτη.

P241: Να χρησιμοποιείται αντiekρηκτικός εξοπλισμός ηλεκτρολογικός/ εξαερισμού/ φωτιστικός.

P242: Να χρησιμοποιούνται μη σπινθηρογόνα εργαλεία.

P243: Λάβετε μέτρα για την αποτροπή ηλεκτροστατικών εκκενώσεων.

Ιστορικό αναθεώρησης

Έκδοση	Σχόλιο τροποποίησης
2024-Jul-23	Αρχική έκδοση με την εισαγωγή του ιστορικού αναθεώρησης



Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης



Κατασκευαστής



Αριθμός καταλόγου



Κωδικός παρτίδας



Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα



Χρήση έως
EEEE-MM-HH



Όρια θερμοκρασίας

Status: 2024-Jul-23

Η 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.



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

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Mikroskopi

Grams safraninlösning

för gramfärgning

Endast för yrkesmässig användning

IVD

Medicinteknisk enhet för diagnostik *in vitro*

CE

Avsett syfte

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

Lösningarna för gramfärgning modifieras och utformas på ett sådant sätt att färgningen kan utföras i infärgade celler, på färgningsställ och i automatiserade färgningssystem.

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 blå-violett färg.

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

Provmaterial

Utstryk av bakteriologiskt material som har lufttorkats och värmefixerats, t.ex. sputum, utstryk från finnålsaspirationsbiopsier (FNAB), sköljningar, imprint, effusioner, pus, exsudat och flytande samt fasta odlingar.

Reagens

Kat.nr 1.09217	Grams safraninlösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
----------------	--	---------------

Dessutom behövs:

Kat.nr 1.00567	Lugols lösning stabiliserad med PVP för gramfärgning	1 l, 2,5 l
----------------	--	------------

eller

Kat.nr 1.09261	Lugols lösning (spädd jod-kaliumjodidlösning) för gramfärgning	1 l, 2,5 l
----------------	--	------------

Kat.nr 1.09218	Grams kristallviolettölösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
----------------	--	---------------

Kat.nr 1.10218	Grams avfärgningslösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
----------------	---	---------------

Alternativt:

I stället för en kombination av enstaka reagens kan färgningssatsen 1.11885.0001 användas:

Kat.nr 1.11885.0001	Gram-Color Färgningskit för gramfärgning	1 set
---------------------	--	-------

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 hjälpmedel måste respektive bruksanvisningar följas.

Reagensberedning

Grams safraninlösning – för gramfärgning är bruksfärdig. Spädning av lösningen är inte nödvändig – det resulterar i ett försämrat färgningsresultat och en försämrad färgningsstabilitet.

Förfarande

Färgning i infärgad cell

Det rekommenderas att späda Grams kristallviolettölösning 1:3 med destillerat vatten om immersionsmetoden används.

Objektglasen måste sänkas ned och flyttas runt i lösningarna, att enbart sänka ned leder till otillräckliga färgningsresultat.

Objektglasen måste droppa av ordentligt efter de enskilda färgningsstegen, i syfte att undvika onödig korskontaminering av lösningar.

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

Objektglas med fixerat utstryk	
Grams kristallviolettölösning	1:30 min
Rinnande kranvatten	30 s
Lugols lösning*	3 min.
Rinnande kranvatten	20 s
Grams avfärgningslösning**	5 - 10 s
Rinnande kranvatten	30 s
Safraninlösning för gramfärgning	1 min.
Rinnande kranvatten	1 min.
Lufttorka (t.ex. över natten eller vid 50 °C i torkskåp)	

* filtrera Lugols lösning efter tre körningar.

** kassera Grams avfärgningslösning efter fem körningar.

Färgning på färgningsställ

Objektglas med fixerat utstryk		
Grams kristallviolettölösning	täck fullständigt och låt reagera	1 min.
Lugols lösning	skölj hastigt	
Lugols lösning	täck fullständigt och låt reagera	1 min.
Destillerat vatten	tvätta noggrant	5 s
Grams avfärgningslösning	snurra försiktigt på objektglaset tills inga ytterligare moln av färgämne skapas och utstryket får en grå-blå färg	10 - 15 s
Destillerat vatten	tvätta noggrant	5 s
Safraninlösning för gramfärgning	täck fullständigt och låt reagera	1 min.
Destillerat vatten	tvätta 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™ eller Entellan™) 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.

Färgning i färgningsautomat

Färgning i automatiserade färgningssystem kan utföras enligt protokollet för färgning i infärgad cell.

Resultat

Grampositiva mikroorganismer	blå-violetta
Gramnegativa mikroorganismer	rosa till 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

”Grams safraninlösning” 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	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramnegativa mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytiska prestandaresultat

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

Kliniska prestandaegenskaper

Grams safraninlösning har använts med lyckat resultat i klinisk miljö i flera decennier inom många olika användningsområden.

I synnerhet har klinisk prestanda för Grams safraninlösning 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	15/15

Känslighet: 15 prover av 15: 100 %
Specificitet: 15 prover av 15: 100 %

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 Grams safraninlösning – för gramfärgning 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

Grams safraninlösning – för gramfärgning 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.

Kapacitet

ungefär 250 färgningar/500 ml

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 mikroskopiprodukter) 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 1.00567	Lugols lösning stabiliserad med PVP för gramfärgning	1 l, 2,5 l
Kat.nr 1.04699	Immersionsolja 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 1.09218	Grams kristallviolettlösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.09261	Lugols lösning (spädd jod-kaliumjodidlösning) för gramfärgning	1 l, 2,5 l
Kat.nr 1.10218	Grams avfärgningslösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.11885	Gram-Color Färgningskit för gramfärgning	1 set

Faroklassificering

Kat.nr 1.09217 Observera faroklassificeringen på etiketten och uppgifterna i säkerhetsdatabladet. Säkerhetsdatabladet finns på webbplatsen och går att få på begäran.

Produkternas huvudsakliga beståndsdelar

Kat.nr 1.09217
Färgindex 50240
1 l = 0,98 kg

1,8 g/l

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- 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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Brandfarlig vätska och ånga.

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

P233: Behållaren ska vara väl tillsluten.

P240: Jorda och potentialförbind behållare och mottagarutrustning.

P241: Använd explosionssäker elektrisk/ ventilations-/ belysningsutrustning.

P242: Använd verktyg som inte ger upphov till gnistor.

P243: Vidta åtgärder mot statisk elektricitet.

Revisionshistorik

Version	Ändringskommentar
2024-Jul-23	Första version med införande av revisionshistorik



Se bruksanvisningen



Tillverkare



Katalognummer



Satskod



Försiktighet, se medföljande dokument



Används före
ÅÅÅÅ-MM-DD



Temperatur-
begränsning

Status: 2024-Jul-23

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.sigmaaldrich.com



1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Mikroskopie

Gramův roztok safraninu

pro barvení Gramovou metodou

Pouze pro profesionální použití

IVD

Zdravotnický prostředek pro diagnostiku *in vitro*

CE

Zamýšlený účel

Tento „Gramův roztok safraninu – pro barvení Gramovou metodou“ se používá k buněčné diagnostice v oblasti humánní medicíny a slouží k bakteriologickému vyšetření materiálu vzorků lidského původu. Jedná se o barvicí roztok k přímému použití, který společně s jinými výrobky pro diagnostiku *in vitro* z našeho portfolia umožňuje hodnotit cílové bakteriální struktury v materiálech bakteriologických vzorků, například v nátěrech tělních tekutin, (gram pozitivní nebo gram negativní bakterie) fixací, barvením, dobarvením, montováním pro diagnostické účely.

Gramovy roztoky jsou modifikovány a navrženy takovým způsobem, aby barvení bylo možné provádět v barvicích nádobkách, v barvicím stojánu nebo v automatizovaných barvicích systémech.

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 gram pozitivní a gram negativní.

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

V prvním kroku se bakterie barví krystalovou violetí, což je anilinové 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 gram pozitivní bakterie – tyto bakterie se jeví jako modrofialové.

Gram negativní bakterie naproti tomu mají buněčnou stěnu sestávající z jednovrstvé mureinové struktury a odbarvovací roztok tudíž barvivo z jejích stěn opět uvolní. Gram-negativní bakterie se dobarvují roztokem safraninu a poté se jeví jako růžové až červené.

Materiál vzorku

Na vzduchu zaschlé a teplem fixované nátěry bakteriologických materiálů, jako jsou sputum, nátěry z aspirátu získaného biopsií tenkou jehlou (FNAB), výplachy, otisky, efuze, hnis, exudáty, tekuté nebo pevné kultury.

Činidla

Kat. č. 1.09217 Gramův roztok safraninu 500 ml, 2,5 l
pro barvení Gramovou metodou

Další potřebné materiály:

Kat. č. 1.00567 Lugolův roztok stabilizováno PVP 1 l, 2,5 l
pro barvení Gramovou metodou

nebo

Kat. č. 1.09261 Lugolův roztok 1 l, 2,5 l
(ředěný roztok jod-jodid draselný)
pro barvení Gramovou metodou

Kat. č. 1.09218 Gramův roztok krystalové violeti 500 ml, 2,5 l
pro barvení Gramovou metodou

Kat. č. 1.10218 Gramův odbarvovací roztok 500 ml, 2,5 l
pro barvení Gramovou metodou

Alternativně:

Namísto kombinace samostatných činidel lze použít barvicí soupravu 1.11885.0001:

Kat. č. 1.11885.0001 Gram-Color barvicí souprava 1 set
pro barvení Gramovou metodou

Příprava vzorku

Odběr vzorku musí provést kvalifikovaný personál.

Materiál vzorku naneste vyžehnanou 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). Ponechejte volně uschnout a poté proveďte tepelnou fixaci trojnásobným pomalým protažením sklíčka (stranou s nátěrem směrem nahoru) horní částí plamene z Bunsenova kahanu. Sklíčko poté ponechejte zchladnout a obarvete. Tepelnou fixaci volně uschlých nátěrů je nutno provést velmi pečlivě. Zabráni 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

Gramův roztok safraninu – pro barvení Gramovou metodou je určen k přímému použití; roztoky není nutné ředit, ředění by mohlo vést ke zhoršení výsledku barvení a stability.

Postup

Barvení v barvicí komůrce

Při použití imerzní metody doporučujeme naředit Gramův roztok krystalové violeti destilovanou vodou v poměru 1 : 3.

Sklička je nutné ponořit a pohybovat jimi v roztoku; samotné ponoření nevede k dostatečnému výslednému obarvení.

Sklička je třeba po jednotlivých krocích barvení nechat dobře okapat; tímto opatřením se zabráni jakékoli zbytečné zkřížené kontaminaci roztoků.

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

Skličko s fixovaným nátěrem	
Gramův roztok krystalové violeti	1:30 min
Tekoucí vodovodní voda	30 sekundy
Lugolův roztok*	3 min
Tekoucí vodovodní voda	20 sekundy
Gramův odbarvovací roztok**	5–10 sekundy
Tekoucí vodovodní voda	30 sekundy
Gramův roztok safraninu	1 min
Tekoucí vodovodní voda	1 min
Ponechejte volně uschnout (např. přes noc nebo v sušárně při 50 °C)	

* po 3 zpracováních Lugolův roztok přefiltrujte

** Gramův odbarvovací roztok zlikvidujte po 5 zpracováních

Barvení v barvicím stojánu

Skličko s fixovaným nátěrem		
Gramův roztok krystalové violeti	úplně pokryjte a nechejte reagovat	1 min
Lugolův roztok	krátce propláchněte	
Lugolův roztok	úplně pokryjte a nechejte reagovat	1 min
Destilovaná voda	pečlivě promyjte	5 sekundy
Gramův odbarvovací roztok	opatrně otáčejte skličky krouživým pohybem, dokud nepřestanou vznikat obláčky barviva a stěr nezíská zelenošedou barvu	10–15 sekundy
Destilovaná voda	pečlivě promyjte	5 sekundy
Gramův roztok safraninu	úplně pokryjte a nechejte reagovat	1 min
Destilovaná voda	pečlivě promyjte	5 sekundy
Ponechejte volně uschnout (např. přes noc nebo v sušárně při 50 °C)		

V případě skladování bakteriologických vzorků po několik měsíců se doporučuje překrýt nevodným montovacím médiem (např. Neo-Mount™ nebo Entellan™) a použití krycího sklička. 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.

Barvení v barvicím automatu

Barvení v automatizovaných barvicích systémech lze provádět dle protokolu barvení v barvicí nádobce.

Výsledek

Grampozitivní mikroorganismy	modrá-fialová
Gramnegativní mikroorganismy	růžové až 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

„Gramův roztok safraninu“ barví a tím vizualizuje biologické struktury, jak je popsáno v kapitole „Výsledek“ tohoto návodu k použití. Výrobek smějí 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 specifčnosti a opakovatelnosti poskytuje pravidelná úspěšná účast v mezinárodních testech mezi laboratorěmi.

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

	Specifič-nost mezi testy	Senzitivita mezi testy	Specifič-nost v rámci testu	Senzitivita v rámci testu
Gramovo barvení				
Grampozitivní mikroorganismy	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramnegativní mikroorganismy	20/20	20/20	7/7	7/7

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

Gramův roztok safraninu se už desítky let úspěšně používá v klinickém prostředí ve velkém počtu aplikací.

Klinická účinnost Gramův roztok safraninu byla stanovena zejména stanovením její senzitivity a specificity v interní studii:

Grampozitivní mikroorganismy

	Gramovo barvení
Senzitivita	14/15
Specifičnost	15/15

Senzitivita: 14 vzorků z 15: 93,3 %
Specifičnost: 15 vzorků z 15: 100 %

Gramnegativní mikroorganismy

	Gramovo barvení
Senzitivita	15/15
Specifičnost	15/15

Senzitivita: 15 vzorků z 15: 100 %
Specifičnost: 15 vzorků z 15: 100 %

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

Diagnostickou interpretaci výsledků baryení 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 grampozitivních bakterií a gramnegativních bakterií.

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

Skladování

Gramův roztok safraninu – pro barvení Gramovou metodou se 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

Gramův roztok safraninu – pro barvení Gramovou metodou 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.

Kapacita

cca. 250 barvení / 500 ml

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. 1.00567	Lugolův roztok stabilizováno PVP pro barvení Gramovou metodou	1 l, 2,5 l
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. 1.09218	Gramův roztok krystalové violeti pro barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.09261	Lugolův roztok (ředěný roztok jod-jodid draselný) pro barvení Gramovou metodou	1 l, 2,5 l
Kat. č. 1.10218	Gramův odbarvovací roztok pro barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.11885	Gram-Color barvicí souprava pro barvení Gramovou metodou	1 set

Klasifikace rizik

Kat. č. 1.09217

Řiďte se prosím klasifikacemi rizik vytisknutými na štítku a informacemi uvedenými v bezpečnostním listě. Bezpečnostní list je dostupný na internetových stránkách a na požádání.

Hlavní složky výrobku

Kat. č. 1.09217

C.I. 50240

1,8 g/l

1 l = 0,98 kg

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.

Literaturu

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Hořlavá kapalina a páry.

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

P233: Uchovávejte obal těsně uzavřený.

P240: Uzemněte a upevněte obal a odběrové zařízení.

P241: Používejte elektrické/ ventilační/ osvětlovací zařízení do výbušného prostředí.

P242: Používejte nářadí z nejiskřícího kovu.

P243: Proveďte opatření proti výbojům statické elektřiny.

Historie revizí

Verze	Komentář k úpravám
2024-Jul-23	Původní verze s přidanou tabulkou historie revizí



Viz návod k použití



Výrobce



Katalogové číslo



Kód šarže

Pozor, přečtěte si
připojené dokumentySpotřebujte do
RRRR-MM-DDTeplotní
omezení

Status: 2024-Jul-23

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

1.09217.0500

1.09217.2500

1.09217.9025

REF

Microscopie

Safranină Gram - soluție

pentru colorare prin metoda Gram

Exclusiv pentru uz profesional

IVD

Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro*

CE

Scopul preconizat

Această „Safranină Gram - soluție - pentru colorare prin metoda Gram” este utilizată pentru diagnosticul celulelor medicale umane și servește scopului de investigație bacteriologică a eșantioanelor de probă de origine umană. Aceasta este o soluție de colorare gata de utilizare care, atunci când este utilizată împreună cu alte produse pentru diagnostic *in vitro* din portofoliul nostru, face posibilă evaluarea în scop de diagnostic a structurilor țintă bacteriene (bacterii Gram-pozitive sau Gram-negative) prin fixare, colorare, contracolorare, montare din eșantioanele bacteriologice de testat, de ex. frotiuri din fluide corporale.

Soluțiile Gram sunt modificate și proiectate astfel încât colorarea să poată fi efectuată în camere de colorare, pe suportul de colorare și, de asemenea, în sisteme automate 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-violet.

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 safranină și apoi vor apărea în roz până la roșu.

Eșantion de probă

Frotiuri de probe bacteriologice care au fost uscate la aer și apoi fixate la căldură, de exemplu sputa, frotiurile din biopsii aspirative cu ac fin (FNAB), spălături, imprimări, scurgeri, puroi, exsudate, culturi lichide sau solide.

Reactivi

Cat. nr. 1.09217 Safranină Gram - soluție 500 ml, 2,5 l
pentru colorare prin metoda Gram

De asemenea, este necesar:

Cat. nr. 1.00567 Soluție Lugol stabilizată cu PVP 1 l, 2,5 l
pentru metoda de colorare Gram

sau

Cat. nr. 1.09261 Soluție Lugol 1 l, 2,5 l
(soluție diluată de iod-iodură de potasiu)
pentru metoda de colorare Gram

Cat. nr. 1.09218 Cristal violet Gram - soluție 500 ml, 2,5 l
pentru colorare prin metoda Gram

Cat. nr. 1.10218 Soluție Gram de decolorare 500 ml, 2,5 l
pentru colorare prin metoda Gram

Alternativ:

În locul combinării reactivilor unici, poate fi folosit kitul de colorare 1.11885.0001:

Cat. nr. Gram-Color
1.11885.0001 set pentru colorare prin metoda Gram

1 set

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). Uscăți 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

Safranină Gram - soluție - pentru colorare prin metoda Gram utilizată pentru colorare este gata de utilizare, diluarea soluției nu este necesară și mai degrabă provoacă o deteriorare a rezultatelor colorării și a stabilității lor.

Procedură

Colorarea în celula de colorare

Se recomandă diluarea Cristal violet - soluție - pentru metoda Gram 1:3 cu apă distilată, în cazul în care se folosește metoda de imersie.

Lamele trebuie introduse și mișcate în soluții, doar imersia simplă produce rezultate necorespunzătoare de colorare.

Ca măsură de prevenire a contaminării încrucișate nedorite a soluțiilor, lamele ar trebui lăuate să se scurgă bine după etapele de colorare individuală.

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

Lamă cu frotiu fixat	
Cristal violet Gram - soluție	1:30 min
Jet de apă de la robinet	30 sec.
Soluție Lugol*	3 min
Jet de apă de la robinet	20 sec.
Soluție de decolorare Gram**	5 - 10 sec.
Jet de apă de la robinet	30 sec.
Safranină Gram - soluție	1 min
Jet de apă de la robinet	1 min
Uscare la aer (de ex. peste noapte sau la 50 °C în camera de uscare)	

* filtrați soluția Lugol după 3 cicluri

** eliminați soluția de decolorare Gram după 5 cicluri

Colorarea pe suportul de colorare

Lamă cu frotiu fixat		
Cristal violet Gram - soluție	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Soluție Lugol	clătiți rapid	
Soluție Lugol	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Apă distilată	spălați cu atenție	5 sec.
Soluție de decolorare Gram	roțiți lamele cu atenție până când nu se mai produc efecte noi de culoare, iar frotiul are o culoare gri-albastru	10 - 15 sec.
Apă distilată	spălați cu atenție	5 sec.
Safranină Gram - soluție	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Apă distilată	spălați 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™ sau Entellan™) este recomandată pentru depozitarea specimenelor bacteriologice pentru o perioadă de câteva luni. În acest scop, speciemenele colorate trebuie uscate foarte bine.

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

Colorarea în automatul de colorare

Colorarea în sistemele automate de colorare poate fi efectuată conform protocolului de colorare în camera de colorare.

Rezultat

Microorganisme Gram-pozitive	albastru până la violet
Microorganisme Gram-negative	roz până la 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 specimenelor 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

„Safranină Gram - soluție” 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%:

	Specificate inter-test	Sensitivitate inter-test	Specificate intra-test	Sensitivitate intra-test
Colorarea Gram				
Microorganisme Gram-pozitive	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganisme Gram-negative	20/20	20/20	7/7	7/7

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

Safranină Gram - soluție a fost utilizată cu succes în contextul clinic de zeci de ani într-un număr mare de aplicații. Performanța clinică a Safranină Gram - soluție, 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	15/15

Sensibilitate: 15 mostre din 15: 100%
Specificitate: 15 mostre din 15: 100%

RO
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 Safranină Gram - soluție - pentru colorare 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

Safranină Gram - soluție - pentru colorare prin metoda Gram poate fi utilizată 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.

Capacitatea

aprox. 250 de colorări/500 ml

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 microscopae 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 deșeuri 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. 1.00567	Soluție Lugol stabilizată cu PVP pentru metoda de colorare Gram	1 l, 2,5 l
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. 1.09218	Cristal violet Gram - soluție pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.09261	Soluție Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu) pentru metoda de colorare Gram	1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.10218	Soluție de decolorare Gram pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.11885	Gram-Color set pentru colorare prin metoda Gram	1 set

Cat. nr. 1.09217

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.

Componentele principale ale produselor

Cat. nr. 1.09217

C.I. 50240 1,8 g/l

1 l = 0,98 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Lichid și vapori inflamabili.

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

P233: Păstrați recipientul închis etanș.

P240: Legătură la pământ și conexiune echipotențială cu recipientul și cu echipamentul de recepție.

P241: Utilizați echipamente electrice/ de ventilare/ de iluminat antideflagrante.

P242: Nu utilizați unelte care produc scântei.

P243: Luați măsuri de precauție împotriva descărcărilor electrostatice.

Istoric revizuire

Versiune	Comentariu privind modificarea
2024-Jul-23	Versiunea inițială cu introducerea istoricului revizuirilor



A se consulta
instrucțiunile de utilizare



Producător

REF

Număr articol

LOT

Număr lot



Atenție, a se consulta
documentele însoțitoare



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



Temperatura
limită

Status: 2024-Jul-23

1.09217.0500

1.09217.2500

1.09217.9025

REF

Mikroskopi

Grams safraninopløsning

til gramfarvning

Kun til professionel brug

IVD

Medicinske anordning til *in vitro*-diagnose

CE

Beregnet formål

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

Gram-opløsningerne er modificerede og udviklede således, at farvningen kan udføres i farveskåle, på farveracket og i automatiske farvesystemer. 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 krystalviolet, 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 blå-violette.

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 Safraninopløsning og fremstår derefter røde.

Prøvemateriale

Udstrygninger af bakteriologisk materiale, som er blevet lufttørret og varmefikseret såsom sputum, udstrygninger fra finnåls-aspirations-biopsi (FNAB), skylninger, aftryk, effusioner, pus, ekssudater, flydende og faste kulturer.

Reagenser

Varenr. 1.09217 Grams safraninopløsning til gramfarvning 500 ml, 2,5 l

Også påkrævet:

Varenr. 1.00567 Lugols opløsning stabiliseret med PVP til gramfarvning 1 l, 2,5 l

eller

Varenr. 1.09261 Lugols opløsning (fortyndet jod-kaliumjodidopløsning) til gramfarvning 1 l, 2,5 l

Varenr. 1.09218 Grams krystalvioletopløsning til gramfarvning 500 ml, 2,5 l

Varenr. 1.10218 Grams affarvningsopløsning til gramfarvning 500 ml, 2,5 l

Alternativ:

Farvesættet 1.11885.0001 kan bruges i stedet for kombinationen af enkelte reagenser:

Varenr. 1.11885.0001 Gram-Color farvningskit til gramfarvning 1 set

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 udstrykningssiden opad) gennem den øvre del af busenbrænderens 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

Grams safraninopløsning - til gramfarvning er klar til brug. Fortyndning af opløsningen er ikke nødvendigt og resulterer i forringelse af farveresultatet og opløsningens stabilitet.

Procedure

Farvning i farvningkuvetten

Det anbefales at fortynde grams krystalvioletopløsning i forholdet 1:3 med destilleret vand, hvis immersionsmetoden anvendes.

Objektglassene skal nedsænkes og bevæges i opløsningerne. Nedsænkning alene resulterer i inadaekvate farveresultater.

Snittene skal dryppe godt af efter hvert farvetrin for at undgå unødvendig krydskontaminering af opløsningerne.

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

Objektglas med fikseret udstrygning	
Gram krystalvioletopløsning	1:30 min.
Rindende postevand	30 sek.
Lugols opløsning*	3 min.
Rindende postevand	20 sek.
Gram affarvningsopløsning**	5 - 10 sek.
Rindende postevand	30 sek.
Grams safraninopløsning	1 min.
Rindende postevand	1 min.
Skal lufttørre (f.eks. natten over eller ved 50 °C i tørreskabet)	

* Lugols opløsningen filtreres efter 3 kørsler

** Grams affarvningsopløsningen bortskaffes efter 5 kørsler

Farvning på farveracket

Objektglas med fikseret udstrygning		
Gram krystalvioletopløsning	skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	1 min.
Lugols opløsning	skylles kort	
Lugols opløsning	skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	1 min.
Destilleret vand	vaskes grundigt	5 sek.
Gram affarvningsopløsning	objektglassene rystes forsigtigt, indtil der ikke dannes flere farveskyer og udstrygningen bliver grå/blå	10 - 15 sek.
Destilleret vand	vaskes grundigt	5 sek.
Grams safraninopløsning	skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	1 min.
Destilleret vand	vaskes grundigt	5 sek.
Skal lufttørre (f.eks. natten over eller ved 50 °C i tørreskabet)		

Tildækning med ikke-vandige monteringsmedier (f.eks. Neo-Mount™ eller Entellan™) 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.

Farvning i automatisk farvesystem

Farvning i automatiske farvesystemer kan udføres i henhold til protokollen for farvning i farveskålen.

Resultat

Gram-positive mikroorganismer	blå-violet
Gram-negative mikroorganismer	lyserød til 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 infektionspotentialle og yderligere spredning af bakterierne.

Ingen farvning af de gram-positive bakterier

Det vigtigste trin i gramfarvningsproceduren er affarvningstrinnet, som kan påvirkes af udstrykningens 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

”Grams safraninopløsning” 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 repeterbarhed.

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

	Inter-undersøgelse specificitet	Inter-undersøgelse sensitivitet	Intra-undersøgelse specificitet	Intra-undersøgelse sensitivitet
Gram-farvning				
Gram-positive mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-negative mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytiske ydeevneresultater

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

Kliniske ydeevnekarakteristika

Grams safraninopløsning er blevet anvendt med vellykket resultat i kliniske miljøer i årtier med et højt antal anvendelser.

Den kliniske ydeevne for Grams safraninopløsning 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	15/15

Sensitivitet: 15 prøver ud af 15: 100 %
Specificitet: 15 prøver ud af 15: 100 %

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

Grams safraninopløsning - til gramfarvning 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

Grams safraninopløsning - til gramfarvning 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 forsvirligt lukkede.

Kapacitet

ca. 250 farvninger/500 ml

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. 1.00567	Lugols opløsning stabiliseret med PVP til gramfarvning	1 l, 2,5 l
Varenr. 1.04699	Immersionsolie til mikroskopi	100-ml pipette-flaske, 100 ml, 500 ml
Varenr. 1.07961	Entellan™ ny hurtigindstøbningsmiddel til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Varenr. 1.09016	Neo-Mount™ vandfrit indstøbningsmiddel til mikroskopi	100-ml pipette-flaske, 500 ml
Varenr. 1.09218	Grams krystalvioletoopløsning til gramfarvning	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.09261	Lugols opløsning (fortyndet jod-kaliumjodidopløsning) til gramfarvning	1 l, 2,5 l
Varenr. 1.10218	Grams affarvningsopløsning til gramfarvning	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.11885	Gram-Color farvningskit til gramfarvning	1 set

Fareklassificering

Varenr. 1.09217
Vær opmærksom på den fareklassificering, der er trykt på etiketten, og oplysningerne i sikkerhedsdatabladet. Sikkerhedsdatabladet fås på hjemmesiden og ved forespørgsel.

Produkternes hovedkomponenter

DA

Varenr. 1.09217
Farveindeks 50240 1,8 g/l
1 l = 0,98 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- 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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Brandfarlig væske og damp.

- P210: Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
- P233: Hold beholderen tæt lukket.
- P240: Beholder og modtageudstyr jordforbindes/potentialudlignes.
- P241: Anvend eksplosionssikkert elektrisk/ ventilations-/ lys-/ udstyr.
- P242: Anvend værktøj, som ikke frembringer gnister.
- P243: Træf foranstaltninger mod statisk elektricitet.

Revisionshistorik

Version	Kommentar til modifikation
2024-Jul-23	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-23

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.

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Mikroskopija

Gramova safranin otopina

za metodu bojenja po Gramu

Samo za profesionalnu uporabu

IVD

In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Namjena

Ova „Gramova safranin otopina - za metodu bojenja po Gramu“ upotrebljava se za dijagnostiku ljudskih medicinskih stanica i služi za bakteriološko ispitivanje uzorka ljudskog podrijetla. To je otopina za bojenje spremna za uporabu zahvaljujući kojoj je, 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, protuboženjem, poklapanjem u materijalima bakterioloških uzoraka, primjerice u razmazima tjelesnih tekućina u dijagnostičke svrhe.

Otopine po Gramu izmjenjuju se i dizajniraju na takav način da se bojenje može izvoditi u stanicama za bojenje, na podlozi za bojenje i u automatskim sustavima 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), ovaj kompleks ostaje u višeslojnoj mureinskoj strukturi staničnog zida Gram pozitivnih bakterija i izgledat će plavo-ljubičasto.

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 safranin otopinom i izgledat će ružičasto do crveno.

Uzorak

Razmazi bakterioloških materijala koji su osušeni zrakom i fiksirani toplinom poput sputuma, razmaza iz biopsija tankom iglom (FNAB), ispiranja, otiska, efuzija, gnoja, eksudata i kultura u tekućem i krutom stanju.

Reagensi

Kat. br. 1.09217 Gramova safranin otopina 500 ml, 2,5 l
za metodu bojenja po Gramu

Također potrebno:

Kat. br. 1.00567 Lugolova otopina stabilizirana s PVP 1 l, 2,5 l
za bojenje po GRAM-u

ili

Kat. br. 1.09261 Lugolova otopina 1 l, 2,5 l
(razrijeđena otopina kalija i joda)
za metodu bojenja po Gramu

Kat. br. 1.09218 Gramova kristalno ljubičasta otopina 500 ml, 2,5 l
za metodu bojenja po Gramu

Kat. br. 1.10218 Gramova otopina za obezbojenje 500 ml, 2,5 l
za metodu bojenja po Gramu

Alternativno:

Umjesto kombinacije jednog reagensa može se upotrebljavati komplet za bojenje 1.11885.0001:

Kat. br. 1.11885.0001 Gram-Color komplet bojava metodu bojenja po Gramu 1 set

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 reagense, treba se pridržavati njihovih uputa za uporabu.

Priprema reagensa

Gramova safranin otopina – za metodu bojenja po Gramu korištena za bojenje spremna je za uporabu, razrjeđivanje otopine nije potrebno i samo pogoršava rezultat bojenja i njegovu stabilnost.

Postupak

Bojenje u stanicama za bojenje

Preporučuje se razrjeđivanje Gramove kristalno ljubičaste otopine u omjeru 1:3 s destiliranom vodom ako se upotrebljava metoda uranjanja.

Stakalca se moraju uroniti i pomaknuti u otopinama, jednostavno uranjanje ne daje adekvatne rezultate bojenja.

Stakalca se trebaju postaviti tako da se dobro ocijede nakon svakog zasebnog koraka bojenja da bi se izbjegla nepotrebna unakrsna kontaminacija otopina.

Potrebno je pridržavati se navedenih vremena za optimalne rezultate bojenja.

Stakalce s fiksiranim razmazom	
Gramova kristalno ljubičasta otopina	1:30 min
Voda iz slavine	30 s
Lugolova otopina*	3 min
Voda iz slavine	20 s
Gramova otopina za obezbojenje**	5-10 s
Voda iz slavine	30 s
Gramova safranin otopina	1 min
Voda iz slavine	1 min
Sušenje zrakom (npr. preko noći pri 50 °C u komori za sušenje)	

* filtrirajte Lugolovu otopinu nakon 3 ciklusa

** odbacite Gramovu otopinu za obezbojenje nakon 5 ciklusa

Bojenje na podlozi za bojenje

Stakalce s fiksiranim razmazom		
Gramova kristalno ljubičasta otopina	u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	1 min
Lugolova otopina	kratko isperite	
Lugolova otopina	u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	1 min
Destilirana voda	pažljivo operite	5 s
Gramova otopina za obezbojenje	pažljivo pomaknite kružnim pokretima dok se više ne proizvede oblaci boje i razmaz ne poprmi sivo-plavu boju	10-15 s
Destilirana voda	pažljivo operite	5 s
Gramova safranin otopina	u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	1 min
Destilirana voda	pažljivo operite	5 s
Sušenje zrakom (npr. preko noći pri 50 °C u komori za sušenje)		

Pokriivanje s medijem za poklapanje bez vode (npr. Neo-Mount™ ili Entellan™) 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.

Bojenje u automatima za bojenje

Bojenje u automatskim sustavima za bojenje može se izvesti prema protokolu za bojenje u stanicama za bojenje.

Rezultat

Gram pozitivni mikroorganizmi	plavo-ljubičasto
Gram negativni mikroorganizmi	ružičasta do crvene

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, svježja 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

„Gramova safranin otopina” 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 međulaboratorijskim 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	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram negativni mikroorganizmi	20/20	20/20	7/7	7/7

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

Gramova safranin otopina desetljećima se uspješno upotrebljava u kliničkom okruženju za velik broj primjena. Klinička učinkovitost Gramova safranin otopina 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	15/15

Osjetljivost: 15 uzoraka od 15: 100 %
Specifičnost: 15 uzoraka od 15: 100 %

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

Međutim, kvalificirani i ovlaštteni 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.

Skladištenje

Pohranite proizvod Gramova safranin otopina - za metodu bojenja po Gramu 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

Gramova safranin otopina - za metodu bojenja po Gramu 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.

Kapacitet

oko 250 bojenja / 500 ml

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 brzoj 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, označivanju 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. 1.00567	Lugolova otopina stabilizirana s PVP za metodu bojenja po Gramu	1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.04699	Imerziona ulje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 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. 1.09218	Gramova kristalno ljubičasta otopina za metodu bojenja po Gramu	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.09261	Lugolova otopina (razrijeđena otopina kalija i joda) za metodu bojenja po Gramu	1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.10218	Gramova otopina za obezbojenje za metodu bojenja po Gramu	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.11885	Gram-Color komplet bojaza metodu bojenja po Gramu	1 set

Kat. br. 1.09217

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

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

Glavne komponente proizvoda

Kat. br. 1.09217

C.I. 50240 1,8 g/l

1 l = 0,98 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- 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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Zapaljiva tekućina i para.

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

P233: Čuvati u dobro zatvorenom spremniku.

P240: Uzemljiti i učvrstiti spremnik i opremu za prihvrat kemikalije.

P241: Rabiti električnu/ ventilacijsku/ rasvjetnu /opremu koja neće izazvati eksploziju.

P242: Rabiti neiskreći alat.

P243: Poduzeti mjere za sprečavanje statičkog elektriciteta.

Povijest revizija

Verzija	Komentar o izmjeni
2024-Jul-23	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-23

1.09217.0500

1.09217.2500

1.09217.9025

REF

Mikroskopia

Roztwór Grama: safranina

do barwienia metodą Grama

Wyłącznie do użytku przez specjalistów

IVD

Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*

CE

Przeznaczenie

„Roztwór Grama: safranina – do barwienia metodą Grama” jest wykorzystywany w procesie medycznej diagnostyki komórek ludzkich i służy do bakteriologicznej oceny próbek pochodzenia ludzkiego. Jest to gotowy do użycia roztwór barwiący, który w połączeniu z innymi produktami do diagnostyki *in vitro* z naszej oferty umożliwia diagnostykę docelowych struktur bakteryjnych (bakterii Gram-dodatnich lub Gram-ujemnych) poprzez utrwalanie, barwienie, barwienie kontrastujące, zamykanie w preparatach bakteriologicznych, np. rozmazach lub płynach ustrojowych, do celów diagnostycznych.

Roztwory Grama są modyfikowane i przygotowywane w taki sposób, że barwienie może być przeprowadzane w komorach do barwienia, na statywie do barwienia, a także w automatycznych systemach barwiących.

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 niebiesko-fioletową. 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 safraniny i przybierają kolor od różowego do czerwonego.

Materiały do próbek

Rozmazy materiału bakteriologicznego, które zostały wysuszone na powietrzu i utrwalone przez podgrzewanie, takie jak płwocina, rozmazy z biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, płukanki, odciski, wysięki, ropa i kultury płynne lub stałe.

Odczynniki

Nr kat. 1.09217 Roztwór Grama: safranina 500 ml, 2,5 l
do barwienia metodą Grama

Również wymagane:

Nr kat. 1.00567 Płyn Lugola stabilizowany PVP 1 l, 2,5 l
(poliwinylpirolidonem)
do barwienia metodą Grama

lub

Nr kat. 1.09261 Płyn Lugola 1 l, 2,5 l
(rozcieńczony roztwór jodu
i jodku potasu)
do barwienia metodą Grama

Nr kat. 1.09218 Roztwór Grama: fiolet krystaliczny 500 ml, 2,5 l
do barwienia metodą Grama

Nr kat. 1.10218 Roztwór odbarwiający Grama 500 ml, 2,5 l
do barwienia metodą Grama

Rozwiązanie alternatywne:

Zamiast łączenia pojedynczych odczynników, można użyć zestawu do barwienia 1.11885.0001:

Nr kat. Gram-Color zestaw roztworów 1 set
1.11885.0001 do barwienia metodą Grama

Przygotowywanie próbek

Próbki muszą być pobierane przez wykwalifikowany personel.

Nałożyć materiał mikrobiologiczny na czyste, wolne od tłuszczu szkło, używając wyżarzonej pętli. Następnie rozmasować materiał bezpośrednio na szkiełku lub uprzednio zmieszać z 1-2 kroplami roztworu soli fizjologicznej (roztworu Ringera). Osuszyć na powietrzu, a następnie utwalić termicznie, powoli trzykrotnie przesuwając szkło (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 mikrobiologicznego, 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

Roztwór Grama: safranina – do barwienia metodą Grama wykorzystywany do barwienia jest gotowy do użycia i rozcieńczanie go nie jest wymagane – doprowadzi tylko do pogorszenia wyników barwienia i ich stabilności.

Procedura

Barwienie w komorze do barwienia

Jeśli stosowana będzie metoda z zanurzeniem, zaleca się rozcieńczenie roztworu fioletu krystalicznego Grama wodą destylowaną w stosunku 1:3.

Szkierka zanurzyć i poruszać nimi w roztworach. Samo zanurzenie spowoduje uzyskanie niewłaściwych rezultatów barwienia.

Po każdym z etapów w procesie barwienia preparaty należy pozostawić do okapania, aby uniknąć niepotrzebnego krzyżowego zanieczyszczenia roztworów.

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

Szkierka z utrwalonym rozmazem	
Roztwór Grama: fiolet krystaliczny	1:30 min
Bieżąca woda z kranu	30 sek.
Płyn Lugola*	3 min
Bieżąca woda z kranu	20 sek.
Roztwór odbarwiający Grama**	5 - 10 sek.
Bieżąca woda z kranu	30 sek.
Roztwór Grama: safranina	1 min
Bieżąca woda z kranu	1 min
Osuszyć na powietrzu (np. przez noc lub w temp. 50°C w suszarce)	

* odfiltrować płyn Lugola po 3 cyklach

** wylać roztwór do odbarwiania Grama po 5 cyklach

Barwienie na statywie do barwienia

Szkiełko z utrwalonym rozmazem		
Roztwór Grama: fiolet krystaliczny	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	1 min
Płyn Lugola	krótko przepłukać	
Płyn Lugola	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	1 min
Woda destylowana	ostrożnie przemyć	5 sek.
Roztwór odbarwiający Grama	ostrożnie zamieszać preparatami, aż barwnik przestanie się unosić, a rozmaz przyjmie szaro-niebieski kolor	10 - 15 sek.
Woda destylowana	ostrożnie przemyć	5 sek.
Roztwór Grama: safranina	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	1 min
Woda destylowana	ostrożnie przemyć	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™ lub Entellan™) 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.

Barwienie w automatycznym systemie barwiącym

Barwienie w automatycznych systemach barwiących może być przeprowadzane zgodnie z protokołem barwienia w komorze do barwienia.

Wynik

Mikroorganizmy Gram-dodatnie	niebiesko-fioletową
Mikroorganizmy Gram-ujemne	od różowego do czerwonego

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 olejku immersyjnego.

Parametry wydajności analitycznej

„Roztwór Grama: safranina” 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 dodatkowe, 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	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganizmy Gram-ujemne	20/20	20/20	7/7	7/7

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

Roztwór Grama: safranina jest z powodzeniem wykorzystywany w wielu zastosowaniach w warunkach klinicznych od kiludziesięciu lat. Wydajność kliniczna Roztwór Grama: safranina 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	15/15

Czułość: 15 z 15 próbek: 100%
Swoistość: 15 z 15 próbek: 100%

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

Roztwór Grama: safranina – do barwienia metodą Grama 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 kąpeli 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

Roztwór Grama: safranina – do barwienia 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.

Pojemność

ok. 250 barwień/500 ml

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 wymagom 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. 1.00567	Płyn Lugola stabilizowany PVP (poliwinylpirolidonem) do barwienia metodą Grama	1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.04699	Olejek imersyjny 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. 1.09218	Roztwór Grama: fiolet krystaliczny do barwienia metodą Grama	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.09261	Płyn Lugola (rozcieńczony roztwór jodu i jodku potasu) do barwienia metodą Grama	1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.10218	Roztwór odbarwiający Grama do barwienia metodą Grama	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.11885	Gram-Color zestaw roztworów do barwienia metodą Grama	1 set

Klasyfikacja zagrożeń

Nr kat. 1.09217

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.

Główne składniki produktów

Nr kat. 1.09217

C.I. 50240 1,8 g/l
1 l = 0,98 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H226: Łatwopalna ciecz i pary.

P210: Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić.

P233: Przechowywać pojemnik szczelnie zamknięty.

P240: Uziemić i połączyć pojemnik i sprzęt odbiorczy.

P241: Używać elektrycznego/ wentylującego/ oświetleniowego/ przeciwwybuchowego sprzętu.

P242: Używać nieiskrzących narzędzi.

P243: Podjąć działania zapobiegające wyładowaniom elektrostatycznym.

Historia zmian

Wersja	Komentarz do modyfikacji
2024-Jul-23	Pierwsza wersja z wprowadzoną historią zmian

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.



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



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-23

1.09217.0500

1.09217.2500

1.09217.9025

REF

Microscopia

Solução de safranina segundo Gram

para o método de coloração de Gram

Apenas para utilização profissional

IVD

Dispositivo Médico para Diagnóstico *In-Vitro*

Finalidade prevista

A "Solução de safranina segundo Gram" – para o método de coloração de Gram – é utilizada para diagnóstico médico de célula humana e serve para investigação bacteriológica de material de amostra de origem humana. É uma solução de coloração pronta a usar que, quando utilizada juntamente com outros produtos de diagnóstico *in-vitro* da nossa gama, tornam as estruturas-alvo bacterianas (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.

As soluções Gram são modificadas e concebidas de forma a que a coloração possa ser realizada em células de coloração, no rack de coloração, bem como em sistemas de coloração automatizados.

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 azuis-arroxeadas.

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 safranina e adquirem depois a cor rosa a vermelho.

Material da amostra

Esfregaços de material bacteriológico que tenham sido secos ao ar e fixados a quente, como esputo, esfregaços de biópsias de aspiração por agulha fina (FNAB), enxaguamentos, impressões, efusões, pus, exsudados, culturas líquidas e sólidas

Reagentes

Cat. n.º 1.09217

Solução de safranina segundo Gram
para o método de coloração de Gram

500 ml, 2,5 l

Também necessário:

Cat. n.º 1.00567 Solução de Lugol estabilizada com PVP
para coloração Gram

1 l, 2,5 l

ou

Cat. n.º 1.09261 Solução de Lugol (solução diluída de iodo-
iodeto de potássio)
para a coloração de Gram

1 l, 2,5 l

Cat. n.º 1.09218 Solução de violeta cristal segundo Gram
para a coloração de Gram

500 ml, 2,5 l

Cat. n.º 1.10218 Solução descolorante de Gram
para a coloração de Gram

500 ml, 2,5 l

Em alternativa:

Em vez da combinação de reagentes simples, pode ser usado o kit de coloração, 1.11885.0001:

Cat. n.º 1.11885.0001

Gram-Color

1 set

Conjunto para a coloração Gram

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

A Solução de safranina segundo Gram – para o método de coloração de Gram usada para coloração está pronta a usar; não é necessária diluição da solução, o que apenas causaria deterioração do resultado da coloração e da estabilidade.

Procedimento

Coloração na célula de coloração

Recomenda-se que se dilua a solução de Gram violeta cristalina 1:3 com água destilada, caso seja usado o método de imersão.

As lâminas têm de ser imersas e movidas dentro das soluções; a simples imersão gera resultados de coloração inadequados.

Deixe que as lâminas escorram bem depois dos passos de coloração individuais, como medida para evitar qualquer contaminação cruzada desnecessária das soluções.

Os tempos indicados devem ser cumpridos para garantir um resultado de coloração ideal.

Lâmina com esfregaço fixo	
Solução de violeta cristal segundo Gram	1:30 min.
Água de torneira corrente	30 seg.
Solução de Lugol*	3 min.
Água de torneira corrente	20 seg.
Solução descolorante de Gram**	5 - 10 seg.
Água de torneira corrente	30 seg.
Solução de safranina segundo Gram	1 min.
Água de torneira corrente	1 min.
Secar ao ar (p.ex., durante a noite ou a 50°C na estufa de secagem)	

* filtre a solução de Lugol após 3 passagens

** elimine a solução de descoloração de Gram após 5 passagens

Coloração no rack de coloração

Lâmina com esfregaço fixo		
Solução de violeta cristal segundo Gram	cubra completamente e deixe reagir	1 min.
Solução de Lugol	enxague brevemente	
Solução de Lugol	cubra completamente e deixe reagir	1 min.
Água destilada	lave cuidadosamente	5 seg.
Solução descolorante de Gram	faça rodar cuidadosamente as lâminas até que deixe de ser formar nuvens de corante e até que o esfregaço adquira uma cor cinzenta-azulada	10 - 15 seg.

Água destilada	lave cuidadosamente	5 seg.
Solução de safranina segundo Gram	cubra completamente e deixe reagir	1 min.
Água destilada	lave 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™ ou Entellan™) 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.

Coloração no automatismo de coloração

A coloração em sistemas automatizados de coloração pode ser executada de acordo com o protocolo de coloração na célula de coloração.

Resultado

Microrganismos Gram-positivos	azul-violeta
Microrganismos Gram-negativos	rosa a 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

“Solução de safranina segundo Gram” 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 %:

	Especifici- dade inter- -ensaio	Sensibili- dade inter- -ensaio	Especifici- dade intra- -ensaio	Sensibili- dade intra- -ensaio
Coloração de Gram				
Microrganismos Gram-positivos	20/20	20/20	7/7	7/7
Microrganismos Gram-negativos	20/20	20/20	7/7	7/7

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

A Solução de safranina segundo Gram foi utilizada durante décadas com sucesso em ambiente clínico num número elevado de aplicações. O desempenho clínico da Solução de safranina segundo Gram 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	15/15

Sensibilidade: 15 amostras em 15: 100 %
Especificidade: 15 amostras em 15: 100 %

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 a Solução de safranina segundo Gram – para o método de coloração de Gram 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

A Solução de safranina segundo Gram – para o método de coloração de Gram 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.

Capacidade

aprox. 250 colorações / 500 ml

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	1.00567	Solução de Lugol estabilizada com PVP para coloração Gram	1 l, 2,5 l
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	1.09218	Solução de violeta cristal segundo Gram para a coloração de Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.09261	Solução de Lugol (solução diluída de iodo-iodeto de potássio) para a coloração de Gram	1 l, 2,5 l
Cat. n.º	1.10218	Solução descolorante de Gram para a coloração de Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.11885	Gram-Color Conjunto para a coloração Gram	1 set

Classificação do perigo

Cat. n.º 1.09217

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.

Principais componentes do produto

Cat. n.º 1.09217

C.I. 50240 1,8 g/l
1 l = 0,98 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Líquido e vapores inflamáveis.

P210: Mantenha afastado do calor/ faísca/ chama aberta/ superfícies quentes.- Não fume.

P233: Mantenha o recipiente hermeticamente fechado.

P240: Aterre e vincule o vaso contendor e o receptor do produto durante transferências.

P241: Utilize equipamento elétrico/ de ventilação/ de iluminação à prova de explosão.

P242: Use ferramentas que não produzam faíscas.

P243: Tomar medidas de precaução contra descargas eletrostáticas.

Histórico de revisões

Versão	Comentário à modificação
2024-Jul-23	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-23

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

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Микроскопия

Сафранин разтвор по Gram

за оцветяване по Gram

Само за професионална употреба

IVD

Медицинско изделие за *in vitro* диагностика

CE

Предназначение

Този „Сафранин разтвор по Gram - за оцветяване по Gram“ се използва за клетъчна диагностика в хуманната медицина и служи за бактериологично изследване на материал от проби от човешки произход. Той е готов за употреба разтвор за оцветяване, който при употреба заедно с други продукти за *in vitro* диагностика от нашия портфейл прави бактериалните 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.

Разтворите по Gram са модифицирани и са проектирани по такъв начин, че оцветяването може да се извърши в клетките за оцветяване, на стойката за оцветяване и в автоматизирани системи 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 бактерии 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 синьо-виолетови.

Gram-отрицателните бактерии, за разлика от това, имат клетъчна стена, състояща се от еднородна муреинова структура и съответно освобождават отново багрилото с разтвора за обезцветяване. Gram-отрицателните бактерии ще бъдат контраоцветени с разтвор на сафранин и ще изглеждат розови до червени.

Материал на пробите

Натривки от бактериологичен материал, които са били изсушени на въздух и фиксирани чрез заграждане, като хрчка, натривки от тънко-иглени аспирационни биопсии (FNAB), лаважи, отливки, изливи, гной, ексудати, течни и твърди култури.

Реагенти

Кат. № 1.09217
Сафранин разтвор по Gram 500 ml, 2,5 l
за оцветяване по Gram

Необходими са също:

Кат. № 1.00567 Луголов разтвор стабилизирани с PVP 1 l, 2,5 l
или за оцветяване по Gram

Кат. № 1.09261 Луголов разтвор (разреден разтвор на йод-калиев йодид) 1 l, 2,5 l
за оцветяване по Gram

Кат. № 1.09218 Кристален виолетов разтвор по Gram 500 ml, 2,5 l
за оцветяване по Gram

Кат. № 1.10218 Обезцветяващ разтвор по Gram 500 ml, 2,5 l
за оцветяване по Gram

Като алтернатива:

Вместо комбинацията от единични реагенти може да се използва кита за оцветяване 1.11885.0001:

Кат. № 1.11885.0001
Gram-Color
набор за оцветяване по Gram

1 set

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 заграждане, като бавно изтеглете 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 заграждане много внимателно. Това предотвратява риска от инфекции и намалява разтварянето 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

Сафранин разтвор по Gram - за оцветяване по Gram е готов за употреба, не се налага разреждане на разтвора и то само води до влошаване на резултата от оцветяването и на стабилността.

Процедура

Оцветяване в клетката за оцветяване

Препоръчва се кристалният виолетов разтвор по Gram да се разрежда 1:3 с дестилирана вода, ако се използва метода с потапяне.

Предметните стъкла трябва да се потопят и да се раздвижат за кратко в разтворите, простото потапяне води до недостатъчно оцветяване.

Предметните стъкла трябва да имат възможност добре да се отцеждат след отделните стъпки на оцветяване, като мярка за избягване на ненужно кръстосано замърсяване на разтворите.

Посочените времена трябва да се спазват, за да се гарантира оптимален резултат от оцветяването.

Предметно стъкло с фиксирана натривка	
Кристален виолетов разтвор по Gram	1:30 мин.
Течаща чешмяна вода	30 сек.
Луголов разтвор*	3 мин.
Течаща чешмяна вода	20 сек.
Обезцветяващ разтвор по Gram**	5 - 10 сек.
Течаща чешмяна вода	30 сек.
Сафранин разтвор по Gram	1 мин.
Течаща чешмяна вода	1 мин.
Изсушете на въздух (напр. за денонощие или при 50 °C в шкафа за изсушаване)	

* филтрирайте луголовия разтвор след 3 цикъла

** изхвърлете разтвора за обезцветяване по Gram след 5 цикъла

Оцветяване на стойката за оцветяване

Предметно стъкло с фиксирана натривка		
Кристален виолетов разтвор по Gram	покрийте напълно и оставете да протече реакция	1 мин.
Луголов разтвор	изплакнете за кратко	
Луголов разтвор	покрийте напълно и оставете да протече реакция	1 мин.
Дестилирана вода	измийте внимателно	5 сек.

Обезцветяващ разтвор по Gram	завъртете внимателно предметните стъкла, докато спрат да се образуват об- лачета багрило и натрив- ката придобие сиво-син цвят	10 - 15 сек.
Дестилирана вода	измийте внимателно	5 сек.
Сафранин разтвор по Gram	покрийте напълно и оста- вете да протече реакция	1 мин.
Дестилирана вода	измийте внимателно	5 сек.
Изсушете на въздух (напр. за денонощие или при 50 °C в шкафа за изсушаване)		

За съхранение на бактериологични проби за няколко месеца се пре-
поръчва покриване с неводна среда за поставяне върху предметното
стъкло (напр. Neo-Mount™ или Entellan™) 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.

Оцветяване в автоматичния уред за оцветяване

Оцветяването в автоматизирани системи за оцветяване може да се из-
върши в съответствие с протокола за оцветяване в клетката за оцветя-
ване.

Резултат

Gram-положителни микроорганизми	синьо-виолетово
Gram-отрицателни микроорганизми	розово до червено

Отстраняване на проблеми
Фиксиране на натривките от проби

Достатъчното фиксиране чрез загряване с помощта на горелка Bunsen
или в загряващ 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 проти-
вен случай могат да се получат фалшиво отрицателни резултати.

Технически забележки

Използваният микроскоп трябва да отговаря на изискванията на меди-
цинска диагностична лаборатория.
Когато се използват автоматични системи за оцветяване, моля, следвай-
те инструкциите за употреба, предоставени от доставчика на системата
и софтуера.
Преди напълване отстранете излишното имерсионно масло.

Аналитични работни характеристики

„Сафранин разтвор по Gram“ оцветява и по този начин визуализира
биологични структури, както е описано в главата „Резултат“ на насто-
ящите 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, реше-
ния по отношение на подходящите контроли и други.
Аналитичните характеристики на продукта са потвърдени чрез тестване
на всяка производствена партида. Успешното редовно участие в между-
народни междулабораторни тестове осигурява допълнително и незави-
симо потвърждение на аналитичните специфичност и повторемост.
Аналитичните характеристики са потвърдени за следните оцветявания
по отношение на специфичност, чувствителност и повторемост на
продукта на ниво 100 %:

	Специ- фичност между тестовите	Чувстви- телност между тестовите	Специ- фичност в рамките на теста	Чувстви- телност в рамките на теста
Оцветяване по Gram				
Gram-положи- телни микроорга- низми	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-отрицател- ни микроорга- низми	20/20	20/20	7/7	7/7

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

Сафранин разтвор по Gram е използван успешно в клинична среда в
продължение на десетилетия при голям брой приложения.
Клиничните характеристики на сафранин разтвор по Gram по-специал-
но са определени чрез установяване на чувствителността и специфич-
ността 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	15/15

Чувствителност: 15 от 15 проби: 100 %
Специфичност: 15 от 15 проби: 100 %

Резултатите на тази оценка на работните характеристики потвърждават
че продуктът е подходящ за предназначението и функционира надежд-
но.

Въпреки това диагностичната интерпретация на резултатите от оцветя-
ването трябва да се извършва от квалифицирани и упълномощени спе-
циалисти, като се вземат предвид анамнезата на пациента, морфология-
та, използването на подходящи контроли и допълнителни диагностични
тестове, ако е подходящо. Този метод може да се използва допълнител-
но в диагностиката при хора.

Диагностика

Диагнозите следва да се поставят само от упълномощен и квалифици-
ран 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 съот-
ветствие 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 бакте-
рии и Gram-отрицателни бактерии.
Трябва да се използват бактерии, взети от културна среда след 18 - 24
часа инкубация.

Съхранение

Съхранявайте Сафранин разтвор по Gram - за оцветяване по Gram 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 бутил-
ката 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 Сафранин разтвор по Gram - за оцветяване по Gram 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.

Капацитет

прибл. 250 оцветявания / 500 ml

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 безо-
пасност 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.microsocory-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. №	1.00567	Луголов разтвор стабилизирани с PVP за оцветяване по Грам	1 l, 2,5 l
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. №	1.09218	Кристален виолетов разтвор по Грам за оцветяване по Грам	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.09261	Луголов разтвор (разреден разтвор на йод-калиев йодид) за оцветяване по Грам	1 l, 2,5 l
Кат. №	1.10218	Обезцветяващ разтвор по Грам за оцветяване по Грам	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.11885	Gram-Color набор за оцветяване по Грам	1 set

Класификация на рисковете

Кат. № 1.09217

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.

Основни компоненти на продукта

Кат. № 1.09217	
C.I. 50240	1,8 g/l
1 l =	0,98 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Запалими течност и пари.

P210: Да се пази от топлина, нагорещени повърхности, искри, открит пламък и други източници на запалване. Тютюнопушенето забранено.

P233: Съдът да се съхранява плътно затворен.

P240: Заземяване и екипотенциална връзка на съда и приемателното устройство.

P241: Използвайте електрическо/ вентилационно/ осветително оборудване, обезопасено срещу експлозия.

P242: Използвайте инструменти, които не предизвикват искри.

P243: Предприемете действия за предотвратяване на освобождаването на статично електричество.

Хронология на редакциите

Версия	Коментар за модификацията
2024-Jul-23	Първоначална версия с въвеждането на хронология на редакциите



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-23

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.



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

MERCK

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Mikroszkópia

Gram-féle safranin oldat

Gram festéshez

Csak professzionális használatra

IVD

In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz

CE

Rendeltetés

Ez a "Gram-féle safranin oldat - Gram festéshez" embergőgyógyászati sejt-diagnózisra használatos és célja humán eredetű mintaanyag bakteriológiai vizsgálata. Használatra kész színező oldat, amely terméksorunk más *in vitro* diagnosztikai termékeivel együtt használva diagnosztikai célokra értékelhetővé teszi a bakteriális célstruktúrákat (Gram-pozitív vagy Gram-negatív baktériumok) bakteriológiai mintaanyagok (pl. testnedvek kenetei) rögzítése, színezése, kontrasztszínezése, felrakása révén.

A Gram-oldatok módosítottak és olyan módon vannak kialakítva, hogy a színezés végrehajtható sejtek színezésével színező állványon és automatikus színező rendszerekben is.

Nem színezett struktúrák viszonylag alacsony kontrasztúak és fénymikroszkópban rendkívül nehezen megkülönböztethetők. Ilyen esetekben a színező oldatokkal létrehozott képek segítik az engedélyezett és képzett vizsgálat 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 többretegű murein szerkezetében marad - ezek kékibolya 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 safranin oldattal és ezután rózsaszín és piros közötti színben fognak megjelenni.

Mintaanyag

Levegőn szárított és hővel rögzített bakteriológiai anyag (pl. köpet, finom túlélesztett biopsziák (FNAB), öblítések, lenyomatok, effúziók, genny, váladékok, (folyékony és szilárd kultúrák) kenetei

Reagens

Kat. sz. 1.09217
Gram-féle safranin oldat 500 ml, 2,5 l
Gram festéshez

Szintén szükséges:

Kat. sz. 1.00567 Lugol-oldat PVP-vel stabilizálva, 1 l, 2,5 l
Gram-festéshez

vagy
Kat. sz. 1.09261 Lugol-oldat (híg jód/kálium-jodid oldat) 1 l, 2,5 l
Gram festéshez

Kat. sz. 1.09218 Gram-féle kristályibolya oldat 500 ml, 2,5 l

Kat. sz. 1.10218 Gram-féle színtelenítő oldat 500 ml, 2,5 l
Gram festéshez

Alternatív módon:

Egyes reagens kombinációja helyett az 1.11885.0001 sz. színező készlet használható:

Kat. sz. 1.11885.0001 1 set
Gram-Color
Festőkészlet Gram festéshez

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 hőrozgátását nagyon gondosan kell végezni. Ez megakadályozza a fertőzés kockázatát és csökkenti a mintaanyag leoldódását, és így 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 színezésre használt Gram-féle safranin oldat - Gram festéshez használatra kész, az oldat hígítása nem szükséges és csak a színezési eredmény és a stabilitás romlását eredményezi.

Eljárás

Színezés a színező cellában

Javasolt a Gram-féle safranin oldat 1:3 arányban történő hígítása desztillált vízzel, ha a bemeztési módszer van használatban.

A tárgylemezeket bele kell meríteni az oldatokba és rövid ideig ott mozgatni, az egyszerű bemeztés önmagában nem megfelelő színezési eredményeket ad.

Az individuális színező lépések után hagyni kell a tárgylemezeket jól lecsapogni, az oldatok szükségtelen keresztzennyeződésének elkerülése végett.

A megadott időket be kell tartani az optimális színezési eredmény garantálása céljából.

Tárgylemez rögzített kenettel	
Gram-féle kristályibolya oldat	1:30 perc
Folyó csapvízben	30 sec
Lugol-oldat*	3 perc
Folyó csapvízben	20 sec
Gram-féle színtelenítő oldat**	5 - 10 sec
Folyó csapvízben	30 sec
Gram-féle safranin oldat	1 perc
Folyó csapvízben	1 perc
Levegőn szárítás (pl. egy éjszakán át vagy 50°C-on szárítószekrényben)	

* 3 menet után szűrje le a Lugol-féle oldatot

** dobja ki a Gram-féle színtelenítő oldatot 5 menet után

Színezés a színező állványon

Tárgylemez rögzített kenettel		
Gram-féle kristályibolya oldat	fedje le teljesen és hagyja reagálni	1 perc
Lugol-oldat	röviden öblítse	
Lugol-oldat	fedje le teljesen és hagyja reagálni	1 perc
Desztillált víz	mossa gondosan	5 sec
Gram-féle színtelenítő oldat	óvatosan mozgassa a tárgylemezeket, amíg nem keletkezik további színezék-felhő, és a kenet szürkés-kék színű nem lesz	10 - 15 sec
Desztillált víz	mossa gondosan	5 sec
Gram-féle safranin oldat	fedje le teljesen és hagyja reagálni	1 perc
Desztillált víz	mossa 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™ vagy Entellan™) 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.

Színezés az automatikus színezőben

Színezés automatikus színező rendszerekben végrehajtható a színező cellában való színezés protokollja szerint.

Eredmény

Gram-pozitív mikroorganizmusok	kékibolya
Gram-negatív mikroorganizmusok	rózsaszíntől pirosig

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 befolylásolhat a kenet vastagsága. Ráadásul a friss színtelenítő oldat rendkívül reakcióképes, ezért az eredményt gondosan kell értékelni. A színtelenítési lépés alatt a felhasználók be kell tartásák 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

A "Gram-féle szafarinin oldat" 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 más.

A termék analitikai teljesítményét meg kell erősíteni minden termékfürdő ellenőrzésével. A rendszeres, sikeres részvétel nemzetközi laboratóriumok közötti tesztekben az analitikai specifitás és reprodukálhatóság további és független megerősítést adja.

Az alábbi színezésekre 100%-os arányban megerősítést nyert a termék anaitikai teljesítménye a specifitás, érzékenység és reprodukálhatóság vonatkozásában:

	Inter-assay specifitás	Inter-assay érzékenység	Intra-assay specifitás	Intra-assay érzékenység
Gram-féle színezés				
Gram-pozitív mikroorganizmusok	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-negatív mikroorganizmusok	20/20	20/20	7/7	7/7

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-féle szafarinin oldat évtizedek óta sikeresen használják klinikai környezetben nagyszámú alkalmazásban.

Különösképpen a Gram-féle szafarinin oldat vonatkozóan egy házon belüli vizsgálatban megállapították az érzékenységet és a specifitást a klinikai teljesítmény meghatározásához:

Gram-pozitív mikroorganizmusok

	Gram-féle színezés
Érzékenység	14/15
Specifitás	15/15

Érzékenység: 14 minta 15 közül: 93,3 %

Specifitás: 15 minta 15 közül: 100 %

Gram-negatív mikroorganizmusok

	Gram-féle színezés
Érzékenység	15/15
Specifitás	15/15

Érzékenység: 15 minta 15 közül: 100 %

Specifitás: 15 minta 15 közül: 100 %

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 anamnézisét, a morfológiát, a megfelelő kontrollok használatát, valamint a további diagnosztikai tesztek, ha vannak ilyenek. Ez a módszer kiegészítésként használható a humán diagnosztikában.

Diagnosztika

Diagnózt 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 kontrollokot kell végezni minden alkalmazásnál, a helytelen eredmény elkerülése végett.

A színező készlet kontrollálható Gram-pozitív baktériumokkal és Gram-negatív baktériumokkal.

A kultúráközgeből 18 - 24 óra inkubáció után kivett baktériumok használndók.

Tárolás

Tárolja a Gram-féle szafarinin oldat - Gram festéshez +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-féle szafarinin oldat - Gram festéshez 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

kb. 250 színezés / 500 ml

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 reagensek

Kat. sz.	1.00567	Lugol-oldat PVP-vel stabilizálva, Gram-festéshez	1 l, 2,5 l
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.	1.09218	Gram-féle kristályibolya oldat Gram festéshez	500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.09261	Lugol-oldat (híg jód/kálium-jodid oldat) Gram festéshez	1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.10218	Gram-féle színtelenítő oldat Gram festéshez	500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.11885	Gram-Color Festőkészlet Gram festéshez	1 set

Veszélyminősítés

Kat. sz. 1.09217
Kérjük, vegye figyelembe a címkére nyomtatott veszélyminősítést és a biztonsági adatlapon megadott információt. A biztonsági adatlap megtalálható a webhelyen, illetve megkapható kérésre.

A termék fő összetevői

Kat. sz. 1.09217	
C.I. 50240	1,8 g/l
1 l =	0,98 kg

Általános megjegyzés

Ha ezen eszköz használata során vagy használata eredményeképpen súlyos incidens történt, kérjük, jelentse a gyártónak és/vagy jóváhagyott képviselőnek, illetve az országos hatóságnak.

Irodalom

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Tűzveszélyes folyadék és gőz.

P210: Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó. Tilos a dohányzás.

P233: Az edény szorosan lezárva tartandó.

P240: A tárolóedényt és a fogadóedényt le kell földelni és át kell kötni.

P241: Robbanásbiztos elektromos/ szellőztető/ világító berendezés használandó.

P242: Szikramentes eszközök használandók.

P243: Az elektrosztatikus kisülés megakadályozására óvintézkedéseket kell tenni.

Felülvizsgálati előzmények

verzió	Módosítással kapcsolatos megjegyzé
2024-Jul-23	A Felülvizsgálati előzmények bevezetésével készült első változat



Nézze meg a
használati utasítást



Gyártó



Katalógus szám



Tételkód



Vigyázat, olvassa el a mel-
lékelt dokumentumokat



Lejáratí idő:
ÉÉÉÉ-HH-NN



Hőmérsék-
lethatár

Status: 2024-Jul-23

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

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Mikroskopija

Grama safranīna šķīdums

krāsošanai pēc Grama metodes

Tikai profesionālai lietošanai

IVD *in vitro* diagnostikas medicīniska ierīce



Paredzētais pielietojums

Šo "Grama safranīna šķīdums - krāsošanai pēc Grama metodes" izmanto cilvēka šūnu diagnostikā, lai veiktu cilvēka izcelsmes parauga materiāla bakterioloģisko izmeklēšanu. Tas ir lietošanai gatavs krāsošanas šķīdums, kas kopā ar citiem mūsu piedāvātajiem *in vitro* diagnostikas izstrādājumiem nodrošina baktēriju mērķa struktūru izvērtēšanu diagnostiskos nolūkos (grampozitīva vai gramnegatīva baktērija), veicot fiksāciju, krāsošanu, kontrastkrāsošanu, nostiprināšanu bakterioloģiskā parauga materiālam, piemēram, ķermeņa šķidrumu iztriepēm.

Grama šķīdumi ir modificēti un izstrādāti tā, lai krāsošanu varētu veikt krāsošanas traukos, uz krāsošanas statīva un arī automātiskajās krāsošanas ierīcēs.

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.

Principis

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 - kristālvioletu. 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 zili violetā krāsā.

Turpreti gramnegatīvo baktēriju šūnas sienu sastāv no viena peptidoglikānu slāņa un, līdz ar to, krāsviela atbrīvojas, apstrādājot ar atkrāsošanas šķīdumu. Gramnegatīvo baktēriju kontrastkrāsošanai izmanto safranīna šķīdumu, un pēc tam tās iekrāsojas rozā līdz sarkanā krāsā.

Parauga materiāls

Bakterioloģiskā materiāla iztriepes, kas nožāvētas ar gaisu un fiksētas ar karstumu, piemēram, krēpas, iztriepes no tievās adatas aspirācijas biopsijām (TAAB), noskalojumi, nospiedumi, izsvīdumi, strutas, eksudāti, šķidrās un cietās barotnes.

Reaģenti

Kat. nr. 1.09217
Grama safranīna šķīdums 500 ml, 2,5 l
krāsošanai pēc Grama metodes

Papildus nepieciešams:

Kat. nr. 1.00567 Lugola šķīdums, kas stabilizēts ar PVP, 1 l, 2,5 l
krāsošanai pēc Grama metodes
vai
Kat. nr. 1.09261 Lugola šķīdums (atšķaidīts joda-kālija jodīda šķīdums) 1 l, 2,5 l
krāsošanai pēc Grama metodes
Kat. nr. 1.09218 Grama kristālvioletā šķīdums 500 ml, 2,5 l
krāsošanai pēc Grama metodes
Kat. nr. 1.10218 Grama atkrāsošanas šķīdums 500 ml, 2,5 l
krāsošanai pēc Grama metodes

Vai arī:

Atsevišķu reaģentu kombinācijas vietā var izmantot krāsošanas komplektu 1.11885.0001:

Kat. nr. 1.11885.0001
Gram-Color 1 set
krāsošanas komplekts krāsošanai pēc Grama metodes

Parauga sagatavošana

Paraugs jāpaņem kvalificētam personālam.

Izmantojot rūdīta metāla cilpu, uzlieciet parauga materiālu uz tīra un attaukota priekšmetstiklīša. Tad vai nu tūlīt izsmērējiet materiālu uz priekšmetstiklīša, vai arī vispirms sajauciet ar 1 – 2 pilieniem fizioloģiskā šķīduma (Ringera šķīdums). Nožāvējiet gaisā un pēc tam fiksējiet ar karstumu, trīs reizes lēnām pārvietojot priekšmetstiklīšu (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 priekšmetstiklīņu 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

Grama safranīna šķīdums - krāsošanai pēc Grama metodes, ko izmanto krāsošanai, ir gatavs lietošanai, šķīduma atšķaidīšana nav nepieciešama un tikai pasliktina krāsošanas rezultātu un krāsojuma stabilitāti.

Procedūra

Krāsošana krāsošanas traukā

Ja tiek izmantota imersijas metode, Grama kristālvioletā šķīdumu ieteicams atšķaidīt ar destilētu ūdeni attiecībā 1:3.

Priekšmetstiklīši jāiemērc un mazliet jāpakustina šķīdumos, tikai iemērkšana nenodrošina atbilstošus krāsošanas rezultātus.

Pēc katras krāsošanas darbības priekšmetstiklīšiem jāļauj pilnībā notecēt, lai nepieļautu nevajadzīgu savstarpēju piesārņojumu ar šķīdumiem.

Lai nodrošinātu optimālu krāsošanas rezultātu, jāievēro norādītie laiki.

Priekšmetstiklīš ar fiksētu iztriepi	
Grama kristālvioletā šķīdums	1:30 min.
Tekošs krāna ūdens	30 sek.
Lugola šķīdums*	3 min.
Tekošs krāna ūdens	20 sek.
Grama atkrāsošanas šķīdums**	5 - 10 sek.
Tekošs krāna ūdens	30 sek.
Grama safranīna šķīdums	1 min.
Tekošs krāna ūdens	1 min.
Nožāvējiet gaisā (piem., atstājot žāvēties uz nakti, vai žāvējiet 50°C temperatūrā žāvēšanas skapī)	

* fpēc 3 cikliem filtrējiet Lugola šķīdumu

** pēc 5 cikliem likvidējiet Grama atkrāsošanas šķīdumu

Krāsošana uz krāsošanas statīva

Priekšmetstiklīš ar fiksētu iztriepi		
Grama kristālvioletā šķīdums	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	1 min.
Lugola šķīdums	īsi noskalojiet	
Lugola šķīdums	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	1 min.
Destilēts ūdens	rūpīgi nomazgājiet	5 sek.
Grama atkrāsošanas šķīdums	uzmanīgi rotējiet priekšmetstiklīšus, kamēr krāsa vairs nenoskalojas un iztriepe iekrāsojas pelēcīgi zilā krāsā	10 - 15 sek.
Destilēts ūdens	rūpīgi nomazgājiet	5 sek.
Grama safranīna šķīdums	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	1 min.
Destilēts ūdens	rūpīgi nomazgājiet	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™ vai Entellan™) un segstiklīšu. Šim nolūkam nokrāsotie priekšmetstiklīši ļoti labi jānožāvē.

Krāsoto priekšmetstiklīņu analīzei ar mikroskopa palielinājumu > 40 x ieteicams izmantot imersijas eļļu.

Krāsošana automātā

Krāsošanu automātiskajās krāsošanas ierīcēs var veikt atbilstoši krāsošanas protokolam, kas paredzēts krāsošanai krāsošanas traukos.

Rezultāts

Grampozitīvi mikroorganismi	zili violeti
Gramnegatīvi mikroorganismi	rozā līdz sarkani

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 neiekrāsošanās

Krāsošanas pēc Grama metodes kritiskais posms ir atkrāsošana, kuru var ietekmēt iztriepes biežums. Turklāt svaigs atkrāsošanas šķīdums ir īpaši reaktīvs, kas nozīmē, ka rezultāts jāvērtē piesardzīgi. Atkrāsošanas darbības laikā lietotājam precīzi jāievēro šajā protokolā norādītie inkubācijas laiki, pretējā gadījumā var iegūt viltus negatīvus rezultātus.

Tehniskas 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.

Analītiskās veikspējas raksturojums

“Grama safranīna šķīdums” 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 kontroli uzmentošanu u.c. Izstrādājuma analītiskā veikspēja 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 veikspējas 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	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramnegatīvi mikroorganismi	20/20	20/20	7/7	7/7

Analītiskās veikspējas rezultāti

Datos, kas iegūti, analizējot vienu analīzes sēriju un dažādas analīzes sērijas, norādīts pareizi iekrāsoto struktūru skaits attiecībā pret veikto analīžu skaitu.

Klīniskās veikspējas raksturojums

Grama safranīna šķīdums ir vairākas desmitgades veiksmīgi un ļoti bieži izmantots klīniskajā vidē.

Grama safranīna šķīdums klīniskā veikspēja 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	15/15

Jutīgums: 15 paraugi no 15: 100%
Specifiskums: 15 paraugi no 15: 100%

Šie veikspējas 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 kontroli 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

Grama safranīna šķīdums - krāsošanai pēc Grama metodes uzglabājiet no +15°C līdz +25°C temperatūrā.

Temperatūrā, kas zemāka par 15°C, krāsošanas šķīdumos 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

Grama safranīna šķīdums - 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.

Ietilpība

apm. 250 krāsošanas reizes/500 ml

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.	1.00567	Lugola šķīdums, kas stabilizēts ar PVP, krāsošanai pēc Grama metodes	1 l, 2,5 l
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.	1.09218	Grama kristālvioletā šķīdums krāsošanai pēc Grama metodes	500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.09261	Lugola šķīdums (atšķaidīts joda-kālija jodīda šķīdums) krāsošanai pēc Grama metodes	1 l, 2,5 l
Kat. nr.	1.10218	Grama atkrāsošanas šķīdums krāsošanai pēc Grama metodes	500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.11885	Gram-Color krāsošanas komplekts krāsošanai pēc Grama metodes	1 set

Bīstamības klasifikācija

Kat. nr. 1.09217
Lūdzu, ievērojiet marķējumā norādīto bīstamības klasifikāciju un drošības datu lapā sniegto informāciju. Drošības datu lapa ir pieejama tīmekļa vietnē un pēc pieprasījuma.

Galvenās izstrādājuma sastāvdaļas

Kat. nr. 1.09217
C.I. 50240 1,8 g/l
1 l = 0,98 kg

Vispārēja piezīme

Ja šīs ierīces lietošanas laikā vai lietošanas rezultātā rodas nopietns negatījums, ziņojiet par to ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim, kā arī vietējai regulējošai iestādei.

Literatūra

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

P210: Sargāt no karstuma, karstām virsmām, dzirkstelēm, atklātas uguns un citiem aizdegšanās avotiem. Nesmēķēt.

P233: Tvertni stingri noslēgt.

P240: Tvertnes un saņēmējiekārtas iezemēt un savienot.

P241: Izmantot sprādziendrošas elektriskās/ ventilācijas/ apgaismošanas iekārtas.

P242: Izmantot instrumentus, kas nerada dzirksteles.

P243: Nodrošināties pret statiskās enerģijas izlādi.

Pārskatījumu vēsture

Versija	Izmaiņu komentārs
2024-Jul-23	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-23

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

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Mikroskopija

Gramo safranino tirpalas

skirtas Gramo dažymo metodui

Tik profesionaliam naudojimui

IVD

In vitro diagnostikos medicinos priemonė

CE

Numatytoji paskirtis

Šis „Gramo safranino tirpalas - skirtas Gramo dažymo metodu“ naudojamas žmogaus ir medicininių ląstelių diagnostikai ir skirtas bakteriologiniams žmogaus kilmės mėginių medžiagos tyrimui. Tai paruoštas naudoti dažymo tirpalas, kurį naudojant kartu su kitais *in vitro* diagnostikos produktais iš mūsų asortimento, bakterinės tikslinės struktūros gali būti vertinamos diagnostikos tikslais (gramteigiamos arba gramneigiamos bakterijos) fiksuojant, dažant, kontrastuojant, dengiant bakteriologinių mėginių medžiagose, pavyzdžiui, kūno skysčių tepinėliuose.

Gramo tirpalai yra modifikuoti ir sukurti taip, kad dažyti būtų galima dažymo kameroje, dažymo stovė, taip pat automatinėse dažymo sistemose.

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 daugiasluoksniame gramteigiamų bakterijų ląstelės sienelės mureino struktūroje – jos atrodys mėlynai violetinės 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 safranino tirpalu ir atrodys nuo rausvos iki raudonos spalvos.

Mėginių medžiaga

Bakteriologinės medžiagos tepinėliai, išdžiovinoti ore ir termiškai fiksuoti, pavyzdžiui, skrepliai, plonos adatos aspiracinės biopsijos (FNAB) tepinėliai, plovimai, įspaudai, efuzijos, pūliai, eksudatai, skystos ir kietos kultūros

Reagentai

Kat. Nr. 1.09217
Gramo safranino tirpalas 500 ml, 2,5 l
skirtas Gramo dažymo metodui

Taip pat reikalinga:

Kat. Nr. 1.00567 Lugol tirpalas, stabilizuotas naudojant PVP 1 l, 2,5 l
arba skirtas Gramo dažymo metodui

Kat. Nr. 1.09261 Lugol tirpalas (praskiestas jodo ir kalio jodido tirpalas) 1 l, 2,5 l
skirtas Gramo dažymo metodui

Kat. Nr. 1.09218 Gramo kristalinio violeto tirpalas 500 ml, 2,5 l
skirtas Gramo dažymo metodui

Kat. Nr. 1.10218 Gramo spalvos šalinimo tirpalas 500 ml, 2,5 l
skirtas Gramo dažymo metodui

Kita galimybė:

Vietoje atskirų reagentų derinio galima naudoti dažymo rinkinį 1.11885.0001:

Kat. Nr. 1.11885.0001 1 set
Gram-Color
dažymo rinkinys, skirtas Gramo dažymo metodui

Mėginių paruošimas

Mėginius turi paimti kvalifikuoti darbuotojai.

Ant švaraus ir neriebaluoto stiklėlio uždėkite ėminio 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 ėminio medžiagos ištirpimas, 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 pateiktų taikymo ir naudojimo instrukcijų.

Naudojant atitinkamus pagalbinus reagentus, būtina laikytis atitinkamų naudojimo instrukcijų.

Reagentų paruošimas

Gramo safranino tirpalas - skirtas Gramo dažymo metodui yra paruoštas naudoti, tirpalo skiedimas nėra būtinas ir tik pablogina dažymo rezultatą ir stabilumą.

Procedūra

Dažymas dažymo kameroje

Rekomenduojama Gramo kristalinio violeto tirpalą atskiesti distiliuotu vandeniui santykiu 1:3, jei naudojamas panardinimo metodas.

Stiklelius reikia panardinti į tirpalus ir trumpai juose pajudinti, nes vien tik panardinus dažymo rezultatai būna nepakankami.

Siekiant išvengti nereikalingo tirpalų kryžminio užteršimo, po atskirų dažymo etapų reikia leisti stikleliams gerai nuvarvėti.

Norint užtikrinti optimalų dažymo rezultatą, reikia laikytis nurodyto laiko.

Stiklelis su fiksuotu tepinėliu	
Gramo kristalinio violeto tirpalas	1:30 min
Tekantis vanduo iš čiaupo	30 sek
Lugol tirpalas*	3 min
Tekantis vanduo iš čiaupo	20 sek
Gramo spalvos šalinimo tirpalas**	5 - 10 sek
Tekantis vanduo iš čiaupo	30 sek
Gramo safranino tirpalas	1 min
Tekantis vanduo iš čiaupo	1 min
Džiovinkite ore (pvz., per naktį arba 50 °C temperatūroje džiovinimo spintoje)	

* filtruokite Lugol tirpalą po 3 panaudojimų

** išmeskite Gramo spalvos šalinimo tirpalą po 5 panaudojimų

Dažymas ant dažymo stovo

Stiklelis su fiksuotu tepinėliu		
Gramo kristalinio violeto tirpalas	visiškai uždenkite ir palikite, kad vyktų reakcija	1 min
Lugol tirpalas	trumpai skalaukite	
Lugol tirpalas	visiškai uždenkite ir palikite, kad vyktų reakcija	1 min
Distiliuotas vanduo	atidžiai išplaukite	5 sek
Gramo spalvos šalinimo tirpalas	atsargiai sukiokite stiklelius, kol nebeliks dažų debesėlių ir tepinėlis įgaus pilkai mėlyną spalvą	10 - 15 sek
Distiliuotas vanduo	atidžiai išplaukite	5 sek
Gramo safranino tirpalas	visiškai uždenkite ir palikite, kad vyktų reakcija	1 min
Distiliuotas vanduo	atidžiai išplaukite	5 sek
Džiovinkite ore (pvz., per naktį arba 50 °C temperatūroje džiovinimo spintoje)		

Bakteriologinius ėminius rekomenduojama uždengti ne vandenine dengimo terpe (pvz., Neo-Mount™ arba Entellan™) ir uždengti dengiamuoju stiklu, jei norite juos laikyti kelis mėnesius. Jei ketinate tai daryti, nudažytus ėminius reikia labai gerai išdžiovinti.

Analizuojant dažytus stiklelius, kurių mikroskopinis didinimas >40x, rekomenduojama naudoti imersinę alyvą.

Dažymas automatiniam dažytuve

Dažymas automatinėse dažymo sistemose gali būti atliekamas pagal dažymo protokolą, skirtą dažymo kamerai.

Rezultatas

Gramteigiami mikroorganizmai	mėlyna-violetinė
Gramneigiami mikroorganizmai	nuo rausvos iki raudonos

Trikčių šalinimas
Tepinėlių mėginių fiksavimas

Norint išvengti ėminių 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 automatinės dažymo sistemas, laikykitės sistemos ir programinės įrangos tiekėjo pateiktų naudojimo instrukcijų. Prieš pildami pašalinkite imersinės alyvos perteklių.

Analitinio veiksmingumo savybės

„Gramo safranino tirpalas“ 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	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramneigiami mikroorganizmai	20/20	20/20	7/7	7/7

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

Gramo safranino tirpalas ištisus dešimtmečius sėkmingai ir įvairiai naudojamas klinikinėje praktikoje.

Klinikinis Gramo safranino tirpalo 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	15/15

Jautrumas: 15 mėginių iš 15: 100 %
Specifiškumas: 15 mėginių iš 15: 100 %

Šio veiksmingumo vertinimo rezultatai patvirtina, kad gaminyje 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 Gramo safranino tirpalas - skirtas Gramo dažymo metodui 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

Gramo safranino tirpalas - skirtas Gramo dažymo metodui 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.

Išėja

maždaug 250 dažymų / 500 ml

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 apsisaugoti 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, ženklinimo 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.	1.00567	Lugol tirpalas, stabilizuotas naudojant PVP skirtas Gramo dažymo metodui	1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.04699	Imersinė alyva, skirta mikroskopijai	100 ml lašinimo 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 lašinimo buteliukas, 500 ml
Kat. Nr.	1.09218	Gramo kristalinio violeto tirpalas skirtas Gramo dažymo metodui	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.09261	Lugol tirpalas (praskiestas jodo ir kalio jodido tirpalas) skirtas Gramo dažymo metodui	1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.10218	Gramo spalvos šalinimo tirpalas skirtas Gramo dažymo metodui	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.11885	Gram-Color dažymo rinkinys, skirtas Gramo dažymo metodui	1 set

Pavojingumo klasifikacija

Kat. Nr. 1.09217
Laikykites etiketėje išspausdintos pavojingumo klasifikacijos ir saugos duomenų lape pateiktos informacijos. Saugos duomenų lapą galima rasti svetainėje arba specialiai paprašyti.

Pagrindiniai gaminio komponentai

Kat. Nr. 1.09217

C.I. 50240

1,8 g/l

1 l = 0,98 kg

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

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Degūs skystis ir garai.

P210: Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių, karštų paviršių, žiežirbų, atviros liepsnos ir kitų uždegimo šaltinių. Nerūkyti.

P233: Talpyklą laikyti sandariai uždarytą.

P240: Įžeminti ir įtvirtinti talpyklą ir priėmimo įrangą.

P241: Naudoti sprogimui atsparią elektros/ ventiliacijos/ apšvietimo įrangą.

P242: Naudoti kibirkščių nekeliančius įrankius.

P243: Imtis veiksmų statinei iškrovai išvengti.

Peržiūrų istorija

Versija	Pakeitimo komentaras
2024-Jul-23	Pradinė versija su peržiūrų istorijos įžanga



Žiūrėkite naudojimo instrukciją



Gamintojas



Katalogo numeris



Partijos kodas



Perspėjimas, susipažinkite su priedamais dokumentais



Naudoti iki
MMMM-MM-DD



Temperatūros apribojimas

Status: 2024-Jul-23

„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 viešai prieinamuose šaltiniuose.



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

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Mikroskopi

Grams safraninløsning

for Gram-fargemetode

Kun til profesjonell bruk

IVD Medisinsk enhet til *in vitro*-diagnostikk



Tiltenkt formål

Denne "Grams safraninløsning – for Gram-fargemetode" brukes til medisinsk cellediagnostisering hos mennesker og bidrar til bakteriologisk undersøkelse av prøvemateriale fra mennesker. Det er en bruksklar fargingsløsning som, når den brukes sammen med andre produkter til *in vitro*-diagnostikk fra vår portefølje, gjør at bakterielle 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. Gramløsningene er modifisert og utformet slik at fargingen kan utføres i fargingsceller, på fargingsstativet og i et automatisk fargingsystem. 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.

Bakterieveggen murine struktur er grunnlaget for fargeaffiniteten. I det første trinnet farges bakteriene med krystallfiolett, et anilinfargestoff. Etter behandling med jodløsning (Lugols løsning), dannes et farge-/jod-kompleks. I løpet av avfargingstrinnet blir dette komplekset værende i mureinstrukturen med flere lag i celleveggene til grampositive bakterier – som vises med blåfiolett 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 safraninløsning og vises deretter med rosa til rød farge.

Prøvemateriale

Utstryk av bakteriologisk materiale som er lufttørket og varmefiksert, som sputum, utstryk fra biopsi med finnålsaspirasjon (FNAB), skyllinger, avtrykk, effusjoner, puss, sårveske, væske og solide kulturer

Reagenser

Kat.nr. 1.09217 Gram safraninløsning 500 ml, 2,5 l
for Gram-fargemetode

Også påkrevd:

Kat.nr. 1.00567 Lugols løsning stabilisert med PVP 1 l, 2,5 l
for gramfarging
eller
Kat.nr. 1.09261 Lugols løsning (fortynnet jod-kaliumjodid 1 l, 2,5 l
løsning)
for Gram-farging
Kat.nr. 1.09218 Grams krystallfiolett løsning 500 ml, 2,5 l
for Gram-fargemetode
Kat.nr. 1.10218 Grams avfargingsløsning 500 ml, 2,5 l
for Gram-farging

Alternativt:

I stedet for kombinasjonen av enkeltreagenser kan fargingssettet 1.11885.0001 brukes:

Kat.nr. 1.11885.0001 Gram-Color 1 set
fargingssett for Gram-farging

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 utstrykssiden vendt opp) gjennom den øvre delen av bunsenbrennerflammen tre ganger. Deretter lar du det kjøles ned og farger det. De lufttørkede utstrykene skal varmefikseres 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

Grams safraninløsning – for Gram-fargemetode som brukes til farging, er bruksklar. Fortynning av løsningen er ikke nødvendig, og vil bare medføre dårligere fargingsresultat og stabilitet.

Prosedyre

Farging i fargingscellen

Det er anbefalt å fortynne den Grams krystallfiolett løsning 1:3 med destillert vann hvis bløtleggingsmetoden brukes.

Objektglassene skal senkes ned i og beveges raskt rundt i løsningene. Kun nedsenkning gir utilstrekkelige fargingsresultater.

Objektglassene må få dryppe godt av etter de enkelte fargingstrinnene for å unngå unødvendig krysskontaminasjon av løsningene.

De angitte tidene skal overholdes for å garantere et optimalt fargingsresultat.

Objektglass med fiksert utstryk	
Grams krystallfiolett løsning	1:30 minutter
Rennende vann fra springen	30 sekunder
Lugols løsning*	3 minutter
Rennende vann fra springen	20 sekunder
Grams avfargingsløsning**	5 - 10 sekunder
Rennende vann fra springen	30 sekunder
Grams safraninløsning	1 minutt
Rennende vann fra springen	1 minutt
Lufttørk (f.eks. over natten eller ved 50 °C i tørkeskapet)	

* filtrer Lugols løsning etter 3 kjøringer

** kasser den avfargende Grams avfargingsløsningen etter 5 kjøringer

Farging på fargingsstativet

Objektglass med fiksert utstryk		
Grams krystallfiolett løsning	dekk helt og la reaksjonen inntreffe	1 minutt
Lugols løsning	skyll raskt	
Lugols løsning	dekk helt og la reaksjonen inntreffe	1 minutt
Destillert vann	vask grundig	5 sekunder
Grams avfargingsløsning	roter objektglassene forsiktig til det ikke dannes flere skyer med fargestoff og utstryket får en gråblå farge	10 - 15 sekunder
Destillert vann	vask grundig	5 sekunder
Grams safraninløsning	dekk helt og la reaksjonen inntreffe	1 minutt
Destillert vann	vask grundig	5 minutter
Lufttørk (f.eks. over natten eller ved 50 °C i tørkeskapet)		

Dekking med ikke-vannholdig monteringsmedium (f.eks. Neo-Mount™ eller Entellan™) 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.

Farging i den automatiske fargemaskinen

Farging i automatiske fargingssystemer kan utføres i samsvar med proto-kollen for fargingen i fargingscellen.

Resultat

Grampositive mikroorganismer	blåfiolett
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 fargingssystemer må du følge bruksanvisningen fra leverandøren av systemet og programvaren. Fjern overflødig bløtleggingsolje før fylling.

Analytiske ytelsesegenskaper

Den "Grams safraninløsning" 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, prøvehåndtering, 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 farger 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	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramnegative mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7

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

Den Grams safraninløsningen har blitt brukt med suksess i det kliniske miljøet i flere tiår i mange ulike bruksområder.

Den kliniske ytelsen til den Grams safraninløsningen 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	15/15

Sensitivitet: 15 av 15 prøver: 100 %

Spesifisitet: 15 av 15 prøver: 100 %

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 Grams safraninløsning – for Gram-fargemetode 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

Grams safraninløsning – for Gram-fargemetode 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.

Kapasitet

ca. 250 farger / 500 ml

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.	1.00567	Lugols løsning stabilisert med PVP for gramfarging	1 l, 2,5 l
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.	1.09218	Grams krystallfiolett løsning for Gram-fargemetode	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.09261	Lugols løsning (fortynnet jodkaliumjodid løsning) for Gram-farging	1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.10218	Grams avfargingsløsning for Gram-farging	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.11885	Gram-Color fargingssett for Gram-farging	1 set

Fareklassifikasjon

Kat.nr. 1.09217

Overhold fareklassifikasjonen som er trykt på etiketten og informasjonen i sikkerhetsdatabladet. Sikkerhetsdatabladet er tilgjengelig på nettstedet og på anmodning.

Hovedkomponenter i produktet

Kat.nr. 1.09217

C.I. 50240 1,8 g/l
1 l = 0,98 kg

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

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Brannfarlig væske og damp.

P210: Holdes vekk fra varme, varme overflater, gnister, åpen ild og andre antenningskilder. Røyking forbudt.

P233: Hold beholderen tett lukket.

P240: Įžeminti ir įtvirtinti talpyklą ir priėmimo įrangą.

P241: Naudoti sprogimui atsparią elektros/ ventiliacijos/ apšvietimo įrangą.

P242: Naudoti kibirkščių nekeliančius įrankius.

P243: Imtis veiksmų statinei iškrovai išvengti.

Revisjonshistorikk

Versjon	Endringskommentar
2024-Jul-23	Opprinnelig versjon med innføring av revisjonshistorikk



Se bruksanvisningen



Produsent



Katalognummer



Partikode



Forsiktig, se medfølgende dokumenter



Brukes innen
DD.MM.ÅÅÅÅ



Temperaturbegrensning

Status: 2024-Jul-23

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.sigmaaldrich.com

MERCK

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Mikroskopia

Gramov roztok safranínu

pre Gramovu metódu farbenia

Iba na profesionálne použitie

IVD

Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro*

CE

Určený účel

Tento „Gramov roztok safranínu - pre Gramovu metódu farbenia“ 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 bakteriálne štruktúry pre diagnostické účely (grampozitívne alebo gramnegatívne baktérie) fixáciou, vloženie, farbením, kontrastným farbením, uchytением v bakteriologických vzorkách, napríklad v steroch telesných tekutín.

Gramove roztoky sú modifikované a navrhnuté tak, aby sa mohlo farbenie vykonávať vo farbiaciach bunkách, na farbiacom stojane a tiež na farbiacom automate.

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 ošetrovaní jódom roztokom (Lugolov roztok) sa vytvorí komplex farbiva a jódu. Počas kroku dekolizácie zostáva tento komplex vo viacvrstvovej mureínovej štruktúre bunkovej steny grampozitívnych baktérií - tie sa zobrazia ako modrofialové.

Oproti tomu gramnegatívne baktérie majú bunkovú stenu vytvorenú z jednovrstvovej mureínovej štruktúry a zodpovedajúcim spôsobom opätovne uvoľňujú farbivo s dekolizačným roztokom. Gramnegatívne baktérie sa sfarbia safranínovým roztokom a následne sa sfarbia do ružova až červena.

Materiál vzorky

Stery z bakteriologického materiálu vysušeného na vzduchu a fixovaného teplom, ako napríklad spútum, stery z tenkoihlových aspiračných biopsií (FNAB), výplachy, odtlačky, výpotky, hnis, exsudáty, tekuté a pevné kultivačné média

Reagencie

Kat. č. 1.09217

Gramov roztok safranínu

pre Gramovu metódu farbenia

500 ml, 2,5 l

Tiež požadované:

Kat. č. 1.00567 Lugolov roztok stabilizovaný PVP, na farbenie podľa Grama 1 l, 2,5 l

alebo
Kat. č. 1.09261 Lugolov roztok (zriedený roztok jódu a jodidu draselného) pre Gramovu metódu farbenia 1 l, 2,5 l

Kat. č. 1.09218 Gramov roztok kryštálovej violeti pre Gramovu metódu farbenia 500 ml, 2,5 l

Kat. č. 1.10218 Gramov odfarbovací roztok pre Gramovu metódu farbenia 500 ml, 2,5 l

Alternatíva:

Namiesto kombinácie jednotlivých reagencií možno použiť farbiacu súpravu 1.11885.0001:

Kat. č. 1.11885.0001

Gram-Color

Farbiaca súprava pre Gramovu farbiacu metódu

1 set

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 dodržiavajte pokyny výrobcu.

Pri používaní príslušných pomocných reagencií je potrebné dodržiavať príslušné návody na používanie.

Príprava reagencie

Gramov roztok safranínu - pre Gramovu metódu farbenia používaný na farbenie je pripravený na použitie; nie je potrebné riedenie roztoku, ktoré len zhoršuje výsledok farbenia a stabilitu.

Postup

Farbenie vo farbiacej kyvete

Pri použití imerznej metódy sa odporúča zriediť Gramov roztok kryštálovej violeti v pomere 1:3 s destilovanou vodou.

Podložné sklíčka sa musia ponoriť a nakrátko sa musí s nimi pohybovať v roztokoch, samotné ponorenie neposkytuje dostatočné výsledky sfarbenia.

Po ukončení jednotlivých krokov farbenia by sa mali podložné sklíčka nechať dobre odkvapkať, aby nedošlo k prípadnej zbytočnej krížovej kontaminácii roztokov.

Uvedené časy je potrebné dodržať, aby bol zaručený optimálny výsledok sfarbenia.

Podložné sklíčko s fixovaným sterom	
Gramov roztok kryštálovej violeti	1:30 min
Tečúca voda z vodovodu	30 sek
Lugolov roztok*	3 min
Tečúca voda z vodovodu	20 sek
Gramov odfarbovací roztok**	5 - 10 sek
Tečúca voda z vodovodu	30 sek
Gramov roztok safranínu	1 min
Tečúca voda z vodovodu	1 min
Sušte na vzduchu (napr. cez noc alebo pri teplote 50 °C v sušiacej komore)	

* po 3 cykloch prefiltrujte Lugolov roztok

** po 5 cykloch zlikvidujte Gramov odfarbovací roztok

Farbenie na farbiacom stojane

Podložné sklíčko s fixovaným sterom		
Gramov roztok kryštálovej violeti	úplne zakryte a nechajte reagovať	1 min
Lugolov roztok	krátko opláchnite	
Lugolov roztok	úplne zakryte a nechajte reagovať	1 min
Destilovaná voda	starostlivo umyte	5 sek
Gramov odfarbovací roztok	sklíčka opatrne otáčajte, kým sa nevytvoria ďalšie obláčiky farbiva a kým ster nezíska sivomodrú farbu	10 - 15 sek
Destilovaná voda	starostlivo umyte	5 sek
Gramov roztok safranínu	úplne zakryte a nechajte reagovať	1 min
Destilovaná voda	starostlivo umyte	5 sek
Sušte na vzduchu (napr. cez noc alebo pri teplote 50 °C v sušiacej komore)		

Pre skladovanie bakteriologických vzoriek na dobu niekoľkých mesiacov sa odporúča vzorky zakryť bezvodým fixačným médiom (napr. Neo-Mount™ alebo Entellan™) 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.

Farbenie na farbiacom automate

Farbenie sa môže vykonávať na farbiacich automatoch podľa protokolu farbenia vo farbiacej bunke.

Výsledok

Grampozitívne mikroorganizmy	modrofialové
Gramnegatívne mikroorganizmy	ružové až červené

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

„Gramov roztok safranínu“ 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 reagencií, 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 poskytujú dodatočné a nezávislé potvrdenie analytickej špecificity a opakovateľnosti.

U nasledujúcich sfarbení sa potvrdila analytická výkonnosť z hľadiska špecifity, citlivosti a opakovateľnosti produktu s percentuálnou hodnotou 100 %:

	Špecifi- ta medzi testami	Citlivosť medzi testami	Špecificita v rámci testu	Citlivosť v rámci testu
Farbenie Gram				
Grampozitívne mikroorganizmy	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramnegatívne mikroorganizmy	20/20	20/20	7/7	7/7

Výsledky analytickej výkonnosti

Údaje v rámci jedného testu (vykonané na tej istej šarži) a medzi testami (vykonané na rôznych šaržiach) udávajú počet správne sfarbených štruktúr v pomere k počtu vykonaných testov.

Klinické výkonnostné charakteristiky

Gramov roztok safranínu sa už celé desaťročia s úspechom používa v klinic-kom prostredí pri veľkom počte aplikácií.

Klinická účinnosť Gramov roztok safranínu sa určila najmä stanovením jeho citlivosti a špecifity štúdie 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	15/15

Citlivosť: 15 vzoriek z 15: 100 %
Špecificita: 15 vzoriek z 15: 100 %

Výsledky tohto hodnotenia výkonnosti potvrdzujú, že produkt je vhodný na zamýšľané použitie a spoľahlivo funguje.

Diagnostickú interpretáciu výsledkov sfarbenia však majú vykonať kvalifiko-vaní 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 gramne-gatívnych baktérií.

Je potrebné použiť baktérie odobraté z kultivačného média po 18 - 24 hodi-nách inkubácie.

Skladovanie

Gramov roztok safranínu - pre Gramovu metódu farbenia 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

Gramov roztok safranínu - pre Gramovu metódu farbenia 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.

Kapacita

približne 250 farbení/500 ml

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. Použité roztoky a roztoky, ktorým uplynula doba použiteľnosti, sa musia likvidovať ako špeciálny odpad v súlade s miestnymi smernicami. Informá-cie o likvidácii možno získať pod odkazom „Hints for Disposal of Microscopy Products“ na webovej stránke www.microscopy-products.com. V rámci EÚ sa aktuálne uplatňuje nariadenie (ES) č. 1272/2008 o klasifikácii, označova-ní 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 reagentie

Kat. č.	1.00567	Lugolov roztok stabilizovaný PVP, na farbenie podľa Grama	1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.04699	Imerzný olej pre mikroskopiu	fľaša na kvapka-nie 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 kvapka-nie s objemom 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.09218	Gramov roztok kryštálovej violeti pre Gramovu metódu farbenia	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.09261	Lugolov roztok (zriedeny roztok jódu a jodídu draselného) pre Gramovu metódu farbenia	1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.10218	Gramov odfarbovací roztok pre Gramovu metódu farbenia	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.11885	Gram-Color Farbiaca súprava pre Gramovu farbiacu metódu	1 set

Klasifikácia nebezpečenstva

Kat. č. 1.09217

Dodržiavajte klasifikáciu nebezpečenstva vytlačenú na etikete a informácie uvedené v bezpečnostných listoch.

Bezpečnostný list je k dispozícii na webových stránkach a na vyžiadanie.

Hlavné komponenty produktu

Kat. č. 1.09217

C.I. 50240

1,8 g/l

1 l = 0,98 kg

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Horľavá kvapalina a pary.

P210: Uchovávajte mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčite.

P233: Nádobu uchovávajte tesne uzavretú.

P240: Uzemnite a upevnite nádobu a plniace zariadenie.

P241: Používajte elektrické/ ventilačné/ osvetľovacie zariadenie do výbušného prostredia.

P242: Používajte neiskriace prístroje.

P243: Vykonajte opatrenia na zabránenie výbojom statickej elektriny.

História revízií

Verzia	Poznámka k úprave
2024-Jul-23	Prvá verzia s uvedením časti História revízií



Prečítajte si návod
na použitie



Výrobca



Katalógové číslo



Kód šarže



Pozor, pozrite si sprievodnú dokumentáciu



Použitie do
RRRR-MM-DD



Teplotné obmedzenia

Status: 2024-Jul-23

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 k dispozícii v verejne dostupných zdrojoch.



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

MERCK

1.09217.0500
1.09217.2500
1.09217.9025

REF

Mikroskopi

Gram safranin çözeltisi

Gram boyama yöntemi için

Yalnızca profesyonel kullanım içindir

IVD In vitro Tanısal Tıbbi Cihaz



Kullanım amacı

Bu "Gram safranin çözeltisi - Gram boyama yöntemi için", insanlarda tıbbi hücre tanımlamasında 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 bakteriyel hedef yapıları (Gram pozitif veya Gram negatif bakteriler) tanı amaçlı değerlendirilebilir hale getiren, kullanıma hazır bir boyama solüsyonudur.

Gram çözeltisi, boyama işleminin hücrelerde, boyama rafında ve ayrıca otomatik boyama sistemlerinde 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 mavi-viyole 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 safranin solüsyonuyla karşıt boyanacak ve ardından pembe ile kırmızı olarak görünecektir.

Numune materyali

Havayla kurutulmuş ve ısıyla sabitlenmiş bakteriyolojik materyal yaymaları; örn. balgam, ince iğne aspirasyon biyopsilerinden (IIAB) yayma, yıkama, baskı, efüzyon, pus, eksüda, sıvı ve katı kültürler.

Reaktifler

Kat. No. 1.09217 Gram safranin çözeltisi 500 ml, 2,5 l
Gram boyama yöntemi için

Ayrıca gerekenler:

Kat. No. 1.00567 Lugol çözeltisi PVP ile stabilize edilmiş Gram renklendirme için 1 l, 2,5 l
veya

Kat. No. 1.09261 Lugol çözeltisi (seyreltik iyot-potasyum iyodür çözeltisi) Gram boyama yöntemi için 1 l, 2,5 l

Kat. No. 1.09218 Gram kristal viyole çözeltisi 500 ml, 2,5 l
Gram boyama yöntemi için

Kat. No. 1.10218 Gram dekolorize çözeltisi 500 ml, 2,5 l
Gram boyama yöntemi için

Alternatif olarak:

Tekli reaktiflerin kombinasyonu yerine, boyama kiti 1.11885.0001 kullanılabilir:

Kat. No. 1.11885.0001 Gram-Color 1 set
Gram boyama yöntemi için boya seti

Numunelerin hazırlanması

Numuneler kalifiye personel tarafından alınmalıdır.

Tavlanmış bir halka kullanarak, numune malzemesini temiz ve yağsız bir lama uygulayın. Ardından materyali ya doğrudan lamin üzerine sürün ya da önce 1-2 damla fizyolojik salin solüsyonu (Ringer solüsyonu) ile karıştırın. Havayla kurutun ve ardından lamı (yayma tarafı yukarı bakacak şekilde) Bunsen brülör alevinin üst kısmından üç kez yavaşça geçirerek 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

Boyama için kullanılan Gram safranin çözeltisi - Gram boyama yöntemi için yöntemi kullanıma hazır olduğundan, solüsyonun seyreltilmesi gerektirir ve sadece boyama sonucunun ve stabilitenin bozulmasına neden olur.

Prosedür

Boyama hücrelerinde boyama

Daldırma yöntemi kullanılıyorsa, Gram kristal viyole çözeltisi 1:3 distile su ile seyreltilmesi önerilir.

Lamlar solüsyonlara daldırılmalı ve içinde kısa süre hareket ettirilmelidir; tek başına basit bir daldırma işlemi tek başına yetersiz boyama sonuçları verecektir.

Solüsyonlarda gereksiz çapraz kontaminasyonlardan kaçınmak için bir önlem olarak, ayrı boyama adımlarından sonra lamların iyice damlamasına izin verilmelidir.

Optimum bir boyama sonucunu garanti etmek için belirtilen sürelerle uyulmalıdır.

Sabitlenmiş yaymalı lam	
Gram kristal viyole çözeltisi	1:30 dk
Akan musluk suyu	30 sn
Lugol çözeltisi*	3 dk
Akan musluk suyu	20 sn
Gram dekolorize çözeltisi**	5 - 10 sn
Akan musluk suyu	30 sn
Gram safranin çözeltisi	1 dk
Akan musluk suyu	1 dk
Hava ile kurutun (örn. gece boyunca veya kurutma kabinde 50°C'de)	

* 3 çalışmadan sonra Lugol çözeltisi filtreleyin

** 5 çalıştırmadan sonra Gram dekolorize çözeltisi atın

Boyama rafında boyama

Sabitlenmiş yaymalı lam		
Gram kristal viyole çözeltisi	tümünü kapatın ve tepki-meye bırakın	1 dk
Lugol çözeltisi	kısa süre durulayın	
Lugol çözeltisi	tümünü kapatın ve tepki-meye bırakın	1 dk
Distile su	dikkatle yıkayın	5 sn
Gram dekolorize çözeltisi	lamları, daha fazla boya bulutu oluşmayınca ve yayma gri-mavi bir renk alıncaya kadar dikkatle döndürün	10 - 15 sn
Distile su	dikkatle yıkayın	5 sn
Gram safranin çözeltisi	tümünü kapatın ve tepki-meye bırakın	1 dk
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™ veya Entellan™) ve bir lamel ile kapatma önerilir. Bunun için boyanan numuneler çok iyi kurutulmalıdır.

Mikroskobik büyüme > 40x olan boyalı lamların analizi için daldırma yağı kullanılması önerilir.

Otomatik boyama cihazında boyama

Otomatik boyama sistemlerinde boyama, boyama hücresindeki boyama protokolüne göre yapılabilir.

Sonuç

Gram pozitif mikroorganizmalar	mavi-viyole
Gram negatif mikroorganizmalar	pembe ila 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 etkilenebilecek 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 safranin çözeltisi”, 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 özgüllüğü, duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği açısından analitik performans %100 oranında doğrulandı:

	Testler Arası Özgüllük	Testler Arası Duyarlılık	Test İçi Özgüllük	Test İçi Duyarlılık
Gram boyama				
Gram pozitif mikroorganizmalar	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram negatif mikroorganizmalar	20/20	20/20	7/7	7/7

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 safranin çözeltisi klinik ortamlarda onlarca yıldır çok sayıda uygulamada başarıyla kullanılmaktadır.

Özellikle Gram safranin çözeltisi klinik performansı, kurum içi bir çalışmada solüsyonun duyarlılığı ve özgüllüğü 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	15/15

Duyarlılık: 15 numuneden 15'ü: %100

Özgüllük: 15 numuneden 15'i: %100

Bu Performans Değerlendirmesinin sonuçları, ürünün amaçlanan kullanıma uygun olduğunu ve güvenilir şekilde çalıştığını doğrular.

Ancak boyama sonuçlarının tanınal 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.

Tanılama

Tanılama 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 safranin çözeltisi - Gram boyama yöntemi için +15 °C ila +25 °C'de saklayın.

15 °C'nin altındaki sıcaklıklarda, boyama solüsyonlarında renkli bir çökelti oluşabilir. Çökelme 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 safranin çözeltisi - Gram boyama yöntemi için, 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.

Kapasite

yakl. 250 boyama / 500 ml

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, mad-delerin 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.	1.00567	Lugol çözeltisi Gram renklendirme için PVP ile stabilize edilmiş	1 l, 2,5 l
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.	1.09218	Gram kristal viyole çözeltisi Gram boyama yöntemi için	500 ml, 2,5 l
Kat. No.	1.09261	Lugol çözeltisi (seyreltik iyot-İpotasyum iyodür çözeltisi) Gram boyama yöntemi için	1 l, 2,5 l
Kat. No.	1.10218	Gram dekolorize çözeltisi Gram boyama yöntemi için	500 ml, 2,5 l
Kat. No.	1.11885	Gram-Color Gram boyama yöntemi için boya seti	1 set

Tehlike sınıflandırması

Kat. No. 1.09218

Lütfen etikette yazılı olan tehlike sınıflandırmasına ve güvenlik bilgi formunda verilen bilgilere uyun.

Güvenlik bilgi formu web sitesinde ve talep üzerine mevcuttur.

Ürünün ana bileşenleri

Kat. No. 1.09218

C.I. 50240 1 l = 0,98 g/l

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. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
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. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H226: Alevlenir sıvı ve buhar.

P210: Isıdan/kıvılcımdan/alevden/sıcak yüzeylerden uzak tutun. - Sigara içilmez.

P233: Kabı sıkıca kapalı tutun.

P240: Kabı ve alıcı ekipmanı toprağa oturtun ve bağlayın.

P241: Patlamaya dayanıklı elektrikli/ havalandırma/ ışıklandırma ekipman kullanın.

P242: Ateş almayan aletler kullanın.

P243: Statik boşalmaya karşı önleyici tedbirler alın.

Revizyon Geçmişi

Sürüm	Değişiklik Yorumu
2024-Jul-23	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-23

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