

1.11885.0001 **REF**

Microscopy

Gram-Color

stain set for the Gram staining method

For professional use only**IVD** *In vitro* Diagnostic Medical Device

Intended purpose

This "Gram-Color - stain set 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 kit 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-Color 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 decolorizing solution. Gram-negative bacteria will be counterstained with safranin 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. 1.11885.0001

Gram-Color

stain set for the Gram staining method

Package components:

The staining kit contains

Reagent 1:	Crystal violet solution	500 ml
Reagent 2:	Lugol's solution, stabilized	500 ml
Reagent 3 = 4:	Decolorizing solution	each 500 ml
Reagent 5:	Safranin solution	500 ml

Single reagents

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

Cat. No.	1.09218	Gram's crystal violet solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.00567	Lugol's solution stabilized with PVP for the Gram staining method	1 l, 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.	1.09217	Gram's safranin solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l

Sample preparation

The sampling must be performed by qualified personnel.

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

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

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

All samples must be clearly labeled.

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

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

Reagent preparation

The reagents of the Gram-Color - stain set for the Gram staining method used for staining are ready-to-use, dilution of the solutions (except for reagent 1 for staining in the cell - see "Procedure") is not necessary.

Procedure

Staining in the staining cell

It is recommended to dilute the reagent 1 (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	
Reagent 1 (crystal violet solution)	1:30 min
Running tap water	30 sec
Reagent 2 (Lugol's solution, stabilized)*	3 min
Running tap water	20 sec
Reagent 3 or 4 (decolorizing solution)**	5 - 10 sec
Running tap water	30 sec
Reagent 5 (safranin solution)	1 min
Running tap water	1 min
Air-dry (e. g. over night or at 50 °C in the drying cabinet)	

* filter reagent 2 (Lugol's solution, stabilized) after 3 runs

** discard reagent 3 or 4 (decolorizing solution) after 5 runs

Staining on the staining rack

Slide with fixed smear		
Reagent 1 (crystal violet solution)	cover completely and leave to react	1 min
Reagent 2 (Lugol's solution, stabilized)	rinse briefly	
Reagent 2 (Lugol's solution, stabilized)	cover completely and leave to react	1 min
Distilled water	wash carefully	5 sec
Reagent 3 or 4 (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
Reagent 5 (safranin 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-Color - Stain set” 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.

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	16/16	16/16	6/6	6/6
Gram-negative microorganisms	16/16	16/16	6/6	6/6

Analytical performance results

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

Clinical performance characteristics

The Gram-Color - Stain set has been successfully used in the clinical setting for decades in a high number of applications.

The clinical performance of the Gram-Color - Stain set 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-Color - stain set 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-Color - stain set 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

The package is sufficient for up to 250 applications.

Additional instructions

For professional use only.

In order to avoid errors, the application must be carried out by qualified personnel only.
National guidelines for work safety and quality assurance must be followed. Microscopes equipped according to the standard must be used.
If necessary use a standard centrifuge suitable for medical diagnostic laboratory.

Protection against infection

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

Instructions for disposal

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

Auxiliary reagents

Cat. No.	1.00567	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.	1.09217	Gram’s safranin solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.09218	Gram’s crystal violet solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.09261	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

Hazard classification

Cat. No. 1.11885.0001

Please observe the hazard classification printed on the label and the information given in the safety data sheet.
The safety data sheet is available on the website and on request.

Main components of the products

Cat. No. 1.11885.0001

Reagent 1 or Cat. No. 1.09218

C.I. 42555 10 g/l
 C_6H_5OH 4 g/l
 1 l = 0.99 kg

Reagent 2 or Cat. No. 1.00567

PVP-Iodine 50 g/l
 KI 10 g/l
 1 l = 1.02 kg

Cat. No. 1.09261

I_2 3.4 g/l
 KI 6.8 g/l
 1 l = 1.01 kg

Reagent 3/4 or Cat. No. 1.10218

C_2H_6O 634 g/l
 C_3H_6O 159 g/l
 1 l = 0.79 kg

Reagent 5 or 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Highly flammable liquid and vapor.

H318: Causes serious eye damage.

H336: May cause drowsiness or dizziness.

H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.

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.

P273: Avoid release to the environment.

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

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

Reagent 1:

H226: Flammable liquid and vapor.

H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Reagent 2:

H318: Causes serious eye damage.

H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Reagent 3/4:

H225: Highly flammable liquid and vapor.

H319: Causes serious eye irritation.

H336: May cause drowsiness or dizziness.

Reagent 5:

H226: Flammable liquid and vapor.

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Jul-24	Initial version with the introduction of Revision History
2024-Jul-24 V.2	No change to the English translation



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2024-Jul-24 V.2

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

© 2025 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

1.11885.0001 **REF**

Mikroskopie

Gram-Color

Färbeset für die Gram-Färbung

Nur für professionelle Anwendung

In vitro Diagnostikum



Zweckbestimmung

Das vorliegende „Gram-Color - Färbeset für die Gram-Färbung“ wird für die human-medizinische Zelldiagnostik verwendet und dient der bakteriologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um ein gebrauchsfertiges Färbeset, welches zusammen mit anderen *In vitro* Diagnostika aus unserem Portfolio 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 Gram-Color Lösungen sind modifiziert und so konzipiert, dass sowohl in Färbeküvetten, auf der Färbekbank 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 färbische 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. 1.11885.0001

Gram-Color

Färbeset für die Gram-Färbung

Bestandteile der Packung:

Das Färbeset enthält

Reagenz 1:	Kristallviolettlösung	500 ml
Reagenz 2:	Lugols Lösung, stabilisiert	500 ml
Reagenz 3 = 4:	Entfärbelösung	je 500 ml
Reagenz 5:	Safraninlösung	500 ml

Einzelreagenzien

Anstatt des Färbesets 1.11885.0001 kann die Kombination folgender Reagenzien verwendet werden:

Art. 1.09218	Grams Kristallviolettlösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l
Art. 1.00567	Lugols Lösung stabilisiert mit PVP für die Gram-Färbung	1 l, 2,5 l
Art. 1.09261	Lugols Lösung (verdünnte Iod-Kaliumiodidlösung) für die Gram-Färbung	1 l, 2,5 l
Art. 1.10218	Grams Entfärbelösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09217	Grams Safraninlösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l

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 verwendeten Reagenzien des Gram-Color - Färbeset für die Gram-Färbung sind gebrauchsfertig, das Verdünnen der Lösungen (außer Reagenz 1 bei Färbung in der Küvette - siehe „Durchführung“) ist nicht notwendig.

Durchführung

Färbung in der Färbeküvette

Bei Färbung im Eintauchverfahren empfiehlt sich eine Verdünnung des Reagenzes 1 (Kristallviolettlösung) mit Aqua dest. im Verhältnis 1:3.

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

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

Für ein optimales Färbeargebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

Objektträger mit fixiertem Ausstrich	
Reagenz 1 (Kristallviolettlösung)	1:30 min
Fließendes Leitungswasser	30 sec
Reagenz 2 (Lugols Lösung, stabilisiert)*	3 min
Fließendes Leitungswasser	20 sec
Reagenz 3 oder 4 (Entfärbelösung)**	5 - 10 sec
Fließendes Leitungswasser	30 sec
Reagenz 5 (Safraninlösung)	1 min
Fließendes Leitungswasser	1 min
Lufttrocknen (z.B. über Nacht oder bei 50 °C im Trockenschrank)	

* Reagenz 2 (Lugols Lösung, stabilisiert) nach 3 Durchgängen filtrieren

** Reagenz 3 oder 4 (Entfärbelösung) nach 5 Durchgängen verwerfen

Färbung auf der Färbekbank

Objektträger mit fixiertem Ausstrich		
Reagenz 1 (Kristallviolettlösung)	vollständig bedecken und einwirken lassen	1 min
Reagenz 2 (Lugols Lösung, stabilisiert)	kurz abspülen	
Reagenz 2 (Lugols Lösung, stabilisiert)	vollständig bedecken und einwirken lassen	1 min
Aqua dest.	vorsichtig waschen	5 sec
Reagenz 3 oder 4 (Entfärbelösung)	Objektträger vorsichtig schwenken bis keine Farbwolken mehr abgehen und der Ausstrich graublau erscheint	10 - 15 sec
Aqua dest.	vorsichtig waschen	5 sec
Reagenz 5 (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.

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 Hitzes­chrank sind wichtig, um das infektiöse Potential der Präparate und ein Weiterwachsen der Bakterien zu verhindern.

Keine Färbung von Gram-positiven Bakterien

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

Technische Hinweise

Das verwendete Mikroskop sollte den Anforderungen eines medizinisch-diagnostischen Labors entsprechen. Werden Färbeautomaten verwendet, sind die Bedienungsanweisungen des Geräte- und Softwareherstellers zu beachten. Überschüssiges Immersionsöl ist vor dem Archivieren zu entfernen.

Analytische Leistung

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

Die analytische Leistung des Produkts wird durch die Testung jeder Produktionscharge sichergestellt.

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	16/16	16/16	6/6	6/6
Gram-negative Mikroorganismen	16/16	16/16	6/6	6/6

Analytische Leistungsparameter

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

Klinische Leistung

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

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

Gram-positive Mikroorganismen

	Gram-Färbung
Sensitivität	14/15
Spezifität	15/15

Sensitivität: 14 Proben von 15: 93,3 %
Spezifität: 15 Proben von 15: 100 %

Gram-negative Mikroorganismen

	Gram-Färbung
Sensitivität	15/15
Spezifität	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

Gram-Color - Färbeset 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

Gram-Color - Färbeset 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

Die Packung ist für bis zu 250 Anwendungen ausreichend.

Gebrauchshinweise

Nur für professionelle Anwendung.
Um Fehler zu vermeiden, ist die Anwendung von Fachpersonal durchzuführen. Nationale Richtlinien für Arbeitssicherheit und Qualitätssicherung sind zu befolgen. Entsprechend dem Standard ausgestattete Mikroskope sind zu verwenden. Bei Bedarf ist eine dem Laborstandard und den Anforderungen entsprechende Zentrifuge zu verwenden.

Infektionsschutz

Auf wirksamen Infektionsschutz entsprechend der Laborrichtlinien ist unbedingt zu achten.

Entsorgungshinweise

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

Hilfsreagenzien

Art.	1.00567	Lugols Lösung stabilisiert mit PVP für die Gram-Färbung	1 l, 2,5 l
Art.	1.04699	Immersionsöl für die Mikroskopie	100-ml-Tropfflasche, 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-Tropfflasche, 500 ml
Art.	1.09217	Grams Safraninlösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l
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

Gefahrstoffeinstufung

Art. 1.11885.0001
Die Gefahrstoffeinstufung auf dem Etikett und die Angaben im Sicherheitsdatenblatt sind zu beachten.
Das Sicherheitsdatenblatt ist erhältlich im Internet und auf Anfrage.

Hauptbestandteile der Produkte

Art. 1.11885.0001
Reagenz 1 oder Art. 1.09218
C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reagenz 2 oder Art. 1.00567
PVP-Iod 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Art. 1.09261
I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reagenz 3/4 oder Art. 1.10218
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reagenz 5 oder 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H318: Verursacht schwere Augenschäden.
H336: Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

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.
P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
P280: Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.
P305 + P351 + P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

Reagenz 1:
H226: Flüssigkeit und Dampf entzündbar.
H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

Reagenz 2:
H318: Verursacht schwere Augenschäden.
H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

Reagenz 3/4:
H225: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H319: Verursacht schwere Augenreizung.
H336: Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.

Reagenz 5:
H226: Flüssigkeit und Dampf entzündbar.

Revisionshistorie

Version	Modifikationsanmerkung
2024-Jul-24	Erste Version mit der Einführung der Revisionshistorie
2024-Jul-24 V.2	Keine Änderung der Übersetzung in Deutsch

Gebrauchsanweisung beachten

Hersteller

Katalognummer

Chargen-code

Achtung, Begleitdokumentation beachten

Verwendbar bis JJJJ-MM-TT

Temperaturbegrenzung

Status: 2024-Jul-24 V.2

1.11885.0001 **REF**

Microscopie

Gram-Color

Set de coloration pour la coloration de Gram

Réservé à une utilisation professionnelle

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Objectif prévu

Le présent « Gram-Color - Set de coloration pour la coloration de Gram » est utilisé pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen bactériologique d'échantillons d'origine humaine. C'est un kit de coloration prêt à l'emploi, qui est utilisé conjointement avec d'autres diagnostics *in vitro* de notre portefeuille pour rendre des structures 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 Gram-Color 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 crachat, frottis de ponctions-biopsies à l'aiguille fine (BAAF), solutions de lavage, empreintes, liquides d'épanchement, pus, exsudats, cultures liquides et solides

Réactifs

Art. 1.11885.0001

Gram-Color

Set de coloration pour la coloration de Gram

Composition d'emballage :

Le kit de coloration contient

Réactif 1 :	Violet cristallisé en solution	500 ml
Réactif 2 :	Solution de Lugol, stabilisée	500 ml
Réactif 3 = 4 :	Solution de décoloration	500 ml chacun
Réactif 5 :	Safranine en solution	500 ml

Réactifs individuels

Une combinaison des réactifs suivants peut être utilisée à la place du kit de coloration 1.11885.0001 :

Art. 1.09218	Violet cristallisé en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.00567	Solution de Lugol stabilisée avec PVP pour la coloration selon Gram	1 l, 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. 1.09217	Safranine en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l

Préparation des échantillons

Le prélèvement d'échantillons doit être effectué par du personnel qualifié.

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

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

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

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

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

Préparation du réactif

Les réactifs de Gram-Color - Set de coloration pour la coloration de Gram utilisées sont prêtes à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer les solutions (à l'exception du réactif 1 lors de la coloration dans la cuve ; cf. « Mode opératoire »).

Mode opératoire

Coloration dans la cuve de coloration

Lors de la coloration par le procédé à immersion, il est recommandé de diluer le réactif 1 (violet cristallisé en solution) 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	
Réactif 1 (violet cristallisé en solution)	1:30 minute
Eau du robinet courante	30 secondes
Réactif 2 (solution de Lugol, stabilisée)*	3 minutes
Eau du robinet courante	20 secondes
Réactif 3 ou 4 (solution de décoloration)**	5 - 10 secondes
Eau du robinet courante	30 secondes
Réactif 5 (safranine en solution)	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 le réactif 2 (solution de Lugol, stabilisée)

** jeter après cinq passages le réactif 3 ou 4 (solution de décoloration)

Coloration sur le banc de coloration

Porte-objet avec frottis fixé		
Réactif 1 (violet cristallisé en solution)	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Réactif 2 (solution de Lugol, stabilisée)	rincer brièvement	
Réactif 2 (solution de Lugol, stabilisée)	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Eau distillée	laver avec précaution	5 secondes
Réactif 3 ou 4 (solution de décoloration)	agiter le porte-objet avec précaution jusqu'à ne plus voir aucun nuage de couleur, et jusqu'à ce que le frottis prenne une couleur bleu-grisâtre	10 - 15 secondes
Eau distillée	laver avec précaution	5 secondes
Réactif 5 (safranine en solution)	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)		

FR

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.

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

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

Diagnostic

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

Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées.

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

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

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

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

Stockage

Stocker le Gram-Color - Set de coloration pour la coloration de 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 Gram-Color - Set de coloration pour la coloration de 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

L'emballage suffit jusqu'à 250 applications.

Remarques sur l'utilisation

Réservé à une utilisation professionnelle.

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

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

Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

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

Protection contre les infections

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

Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur.

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

Réactifs auxiliaires			
Art.	1.00567	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.	1.09217	Safranine en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
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

Sensibilité : 15 échantillons sur 15 : 100 %

Spécificité : 15 échantillons sur 15 : 100 %

Classification des matières dangereuses

Art. 1.11885.0001
Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité.
La fiche de données de sécurité est disponible sur le site web et sur demande.

Composants principaux des produits

Art. 1.11885.0001
Réactif 1 ou art. 1.09218
C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Réactif 2 ou art. 1.00567
PVP-Iod 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Art. 1.09261
I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Réactif 3/4 ou art. 1.10218
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Réactif 5 ou 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.
H318 : Provoque de graves lésions des yeux.
H336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges.
H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

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.
P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.
P280 : Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage.
P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Réactif 1 :
H226 : Liquide et vapeurs inflammables.
H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Réactif 2 :
H318 : Provoque de graves lésions des yeux.
H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Réactif 3/4 :
H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.

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

© 2025 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.

H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.
H336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges.

Réactif 5 :
H226 : Liquide et vapeurs inflammables.

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Jul-24	Version initiale avec l'introduction de l'historique des révisions
2024-Jul-24 V.2	Pas de changement dans la traduction en français

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-24 V.2

1.11885.0001 **REF**

Microscopía

Gram-Color

Equipo de tinción para la tinción de Gram

Solamente para uso profesionalProducto sanitario para diagnóstico *in vitro*

Finalidad prevista

El presente "Gram-Color - Equipo de tinción para la tinción de Gram" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen bacteriológico de muestras de origen humano. Se trata de un kit de tinción listo para el uso que, junto con otros materiales de diagnóstico *in vitro* pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino 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 de Gram-Color 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. 1.11885.0001

Gram-Color

Equipo de tinción para la tinción de Gram

Componentes del envase:

El kit de tinción contiene

Reactivo 1:	Violeta cristal en solución	500 ml
Reactivo 2:	Solución de Lugol, estabilizada	500 ml
Reactivo 3 = 4:	Solución decolorante	500 ml en cada caso
Reactivo 5:	Safranina en solución	500 ml

Reactivos individuales

En lugar del kit de tinción 1.11885.0001 puede utilizarse también una combinación de los siguientes reactivos:

Art. 1.09218	Violeta cristal en solución según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.00567	Solución de Lugol estabilizada con PVP para la tinción de Gram	1 l, 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. 1.09217	Safranina en solución según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado.

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

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

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

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

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

Preparación del reactivo

Los reactivos del Gram-Color - Equipo de tinción para la tinción de Gram utilizados para los procesos de tinción están listos para el uso, la dilución de las soluciones (excepto el reactivo 1 en caso de tinción en la cubeta - ver "Técnica") no es necesaria.

Técnica

Tinción en la cubeta de tinción

En caso de tinción por el procedimiento de inmersión se recomienda diluir el reactivo 1 (violeta cristal en solución) 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	
Reactivo 1 (violeta cristal en solución)	1:30 minuto
Agua corriente del grifo	30 segundos
Reactivo 2 (solución de Lugol, estabilizada)*	3 minutos
Agua corriente del grifo	20 segundos
Reactivo 3 o 4 (solución decolorante)**	5 - 10 segundos
Agua corriente del grifo	30 segundos
Reactivo 5 (safranina en solución)	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 el reactivo 2 (solución de Lugol, estabilizada) después de 3 ciclos

** desechar el reactivo 3 o 4 (solución decolorante) después de 5 ciclos

Tinción en el banco de tinción

Portaobjetos con frotis fijado		
Reactivo 1 (violeta cristal en solución)	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Reactivo 2 (solución de Lugol, estabilizada)	enjuagar brevemente	
Reactivo 2 (solución de Lugol, estabilizada)	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Agua destilada	lavar con cuidado	5 segundos
Reactivo 3 o 4 (solución decolorante)	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
Reactivo 5 (safranina en solución)	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

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

El rendimiento analítico del producto se confirma analizando cada lote de producción.

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	16/16	16/16	6/6	6/6
Microorganismos Gram negativos	16/16	16/16	6/6	6/6

Resultados de rendimiento analítico

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

Características de rendimiento clínico

El Gram-Color - Equipo de tinción se ha usado con éxito en el ámbito clínico durante décadas en un gran número de aplicaciones.

El rendimiento clínico del Gram-Color - Equipo de tinción en particular se determinó estableciendo su sensibilidad y especificidad en un estudio interno:

Microorganismos Gram positivos

	Tinción de Gram
Sensibilidad	14/15
Especificidad	15/15

Sensibilidad: 14 muestras de 15: 93,3 %

Especificidad: 15 muestras de 15: 100 %

Microorganismos Gram negativos

	Tinción de Gram
Sensibilidad	15/15
Especificidad	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 el Gram-Color - Equipo de tinción 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

El Gram-Color - Equipo de tinción para la tinción de Gram puede ser utilizado 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

El envase es suficiente para hasta 250 aplicaciones.

Notas sobre el empleo

Solamente para uso profesional.

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

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

Deben emplearse microscopios equipados de acuerdo con el estándar. Si es necesario, deberá utilizarse una centrifugadora que corresponda al estándar de laboratorios y a las exigencias.

Protección contra infecciones

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

Indicaciones para la eliminación de residuos

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

Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación bajo el Quick Link “Hints for Disposal of Microscopy Products” en www.microscopy-products.com. Dentro de la UE tiene validez el REGLAMENTO (CE) N° 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) N° 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. 1.09217	Safranina en solución según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
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

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.11885.0001
Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad.
La ficha de seguridad está disponible en el sitio web y a solicitud.

Componentes principales de los productos

Art. 1.11885.0001		
Reactivo 1 o art. 1.09218		
C.I. 42555	10 g/l	
C ₆ H ₅ OH	4 g/l	
1 l = 0,99 kg		
Reactivo 2 o art. 1.00567		
PVP-Yodo	50 g/l	
KI	10 g/l	
1 l = 1,02 kg		
Art. 1.09261		
I ₂	3,4 g/l	
KI	6,8 g/l	
1 l = 1,01 kg		
Reactivo 3/4 o art. 1.10218		
C ₂ H ₆ O	634 g/l	
C ₃ H ₆ O	159 g/l	
1 l = 0,79 kg		
Reactivo 5 o 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Líquido y vapores muy inflamables.
H318: Provoca lesiones oculares graves.
H336: Puede provocar somnolencia o vértigo.
H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

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.
P273: Evitar su liberación al medio ambiente.
P280: Llevar guantes/ ropa de protección/ equipo de protección para los ojos/ la cara.
P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

Reactivo 1:
H226: Líquidos y vapores inflamables.
H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Reactivo 2:
H318: Provoca lesiones oculares graves.
H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Reactivo 3/4:
H225: Líquido y vapores muy inflamables.

H319: Provoca irritación ocular grave.
H336: Puede provocar somnolencia o vértigo.

Reactivo 5:
H226: Líquidos y vapores inflamables.

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Jul-24	Versión inicial con la introducción del Historial de revisiones
2024-Jul-24 V.2	Sin cambios en la traducción en español

Observe las instrucciones de uso

Fabricante

Número de catálogo

Código del lote

Atención, observar la documentación pertinente

Utilizable hasta AAAA-MM-DD

Delimitación de la temperatura

Status: 2024-Jul-24 V.2

1.11885.0001 **REF****Microscopia****Gram-Color**

Set di colorazione per la colorazione di Gram

Solo per uso professionale**IVD** Dispositivo medico-diagnostico *in vitro***Scopo previsto**

Il presente "Gram-Color - Set di colorazione 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 un kit di colorazione pronto all'uso che, congiuntamente ad altri prodotti diagnostici *in vitro* del nostro portafoglio, consente l'analisi diagnostica delle strutture bersaglio batteriche (batteri Gram-positivi e Gram-negativi) mediante fissaggio, colorazione, controcolorazione, montaggio nei campioni batteriologici, quali ad esempio strisci di liquidi corporei.

Le soluzioni Gram-Color 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. 1.11885.0001

Gram-Color

Set di colorazione per la colorazione di Gram

Componenti della confezione:

Il kit di colorazione contiene

Reattivo 1:	Cristallviolettto soluzione	500 ml
Reattivo 2:	Soluzione Lugol, stabilizzata	500 ml
Reattivo 3 = 4:	Soluzione decolorante	500 ml ciascuna
Reattivo 5:	Safranina soluzione	500 ml

Singoli reattivi

Al posto del kit di colorazione 1.11885.0001 può essere utilizzata anche una combinazione dei seguenti reattivi:

Art. 1.09218	Cristallviolettto soluzione sec. Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.00567	Soluzione Lugol stabilizzata con PVP per la colorazione di Gram	1 l, 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. 1.09217	Safranina soluzione secondo Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l

Preparazione dei campioni

Il campionamento deve essere effettuato da personale specializzato.

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

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

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

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

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

Preparazione del reattivo

I reattivi di Gram-Color - Set di colorazione per la colorazione di Gram utilizzati sono pronti all'uso, non è richiesta la diluizione delle soluzioni (ad eccezione del reattivo 1 per la colorazione nella cuvetta - v. "Esecuzione").

Esecuzione**Colorazione nella cuvetta di colorazione**

Nella colorazione a immersione si consiglia una diluizione 1:3 del reattivo 1 (cristallviolettto soluzione) 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 trascinarsi (carry-over) delle soluzioni.

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

Portaoggetti con striscio fissato	
Reattivo 1 (cristallviolettto soluzione)	1:30 minuto
Acqua di rubinetto corrente	30 secondi
Reattivo 2 (soluzione Lugol, stabilizzata)*	3 minuti
Acqua di rubinetto corrente	20 secondi
Reattivo 3 o 4 (soluzione decolorante)**	5 - 10 secondi
Acqua di rubinetto corrente	30 secondi
Reattivo 5 (safranina soluzione)	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 reattivo 2 (soluzione Lugol, stabilizzata)

** sostituire dopo 5 passaggi reattivo 3 o 4 (soluzione decolorante)

Colorazione con rastrello di colorazione

Portaoggetti con striscio fissato		
Reattivo 1 (cristallviolettto soluzione)	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Reattivo 2 (soluzione Lugol, stabilizzata)	sciacquare brevemente	
Reattivo 2 (soluzione Lugol, stabilizzata)	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Acqua distillata	lavare con precauzione	5 secondi
Reattivo 3 o 4 (soluzione decolorante)	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
Reattivo 5 (safranina soluzione)	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 (ades., 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

„Gram-Color - Set di colorazione" colora e pertanto permette di visualizzare strutture biologiche, come descritto nel capitolo „Risultato" di questa IFU. Il prodotto deve essere utilizzato solo da persone autorizzate e qualificate; ciò include, a titolo esemplificativo, la preparazione del campione e del reagente, 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.

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	16/16	16/16	6/6	6/6
Microrganismi Gram-negativi	16/16	16/16	6/6	6/6

Risultati delle prestazioni analitiche

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

Caratteristiche delle prestazioni cliniche

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

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

Microrganismi Gram-positivi

	Colorazione di Gram
Sensibilità	14/15
Specificità	15/15

Sensibilità: 14 campioni su 15: 93,3 %
Specificità: 15 campioni su 15: 100 %

Microrganismi Gram-negativi

	Colorazione di Gram
Sensibilità	15/15
Specificità	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.

Il 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

Il Gram-Color - Set di colorazione per la colorazione di Gram va conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

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

Stabilità

Il Gram-Color - Set di colorazione per la colorazione di Gram può essere utilizzato entro la data di scadenza indicata.

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

Conservare sempre i flaconi ben chiusi.

Capacità

La confezione è sufficiente per un massimo de 250 applicazioni.

Istruzioni per l'uso

Solo per uso professionale.

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

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

Vanno utilizzati microscopi conformi agli standard vigenti.

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

Protezione contro le infezioni

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

Istruzioni per lo smaltimento

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

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

Reattivi ausiliari

Art.	1.00567	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.	1.09217	Safranina soluzione secondo Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
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

Classificazione di sostanze pericolose

Art. 1.11885.0001

Osservare la classificazione delle sostanze pericolose riportata sull'etichetta e seguire le indicazioni della scheda di sicurezza.
La scheda di sicurezza è disponibile su sito Internet e su richiesta.

Componenti principali dei prodotti

Art. 1.11885.0001

Reattivo 1 o art. 1.09218

C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reattivo 2 o art. 1.00567

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

Art. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reattivo 3/4 o art. 1.10218

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

Reattivo 5 o 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.

Letteratura

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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H318: Provoca gravi lesioni oculari.

H336: Può provocare sonnolenza o vertigini.

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

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.

P273: Non disperdere nell'ambiente.

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

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

Reattivo 1:

H226: Liquido e vapori infiammabili.

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

Reattivo 2:

H318: Provoca gravi lesioni oculari.

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

Reattivo 3/4:

H225: Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H319: Provoca grave irritazione oculare.

H336: Può provocare sonnolenza o vertigini.

Reattivo 5:

H226: Liquido e vapori infiammabili.

Cronologia delle revisioni

Versione	Commento relativo alla modifica
2024-Jul-24	Versione iniziale con l'introduzione della Cronologia delle revisioni
2024-Jul-24 V.2	Nessuna modifica alla traduzione italiana



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-24 V.2

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

© 2025 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

1.11885.0001 **REF****Μικροσκοπία****Gram-Color**

Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram

Για επαγγελματική χρήση μόνο



In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

**Προβλεπόμενος σκοπός**

Το «Gram-Color - Σετ χρώσης 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 κιτ 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, αντι-χρώση και στερέωση.

Τα διαλύματα Gram-Color είναι τροποποιημένα και σχεδιασμένα με τέτοιο τρόπο ώστε η χρώση να μπορεί να πραγματοποιείται στο κύτταρο 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 ει-κόνες 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 μπουρβίνας στο βακτηριακό τοίχωμα είναι η βάση της χρωματολογικής συγγένειας.

Στο πρώτο βήμα, τα βακτήρια χρύνονται 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 μπουρβίνας του κυτταρικού τοιχώματος Gram-θετικών βακτηρίων – θα εμφανίζονται κυανό-βιολετί.

Τα Gram-αρνητικά βακτήρια, αντιθέτως, έχουν ένα κυτταρικό τοίχωμα που αποτελείται από μονοστρωματική δομή μπουρβίνας και αντιστοιχείς ελευθε-ρώνουν εκ νέου τη χρωστική χρώσης με το διάλυμα αποχρωματισμού. Τα Gram-αρνητικά βακτήρια θα αντιχρύνονται 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), εκπυλώσεις, αποτυπώματα, συλλογές, πύον, εξιδρώματα, υγρές και στερεές καλλιέργειες.

Αντιδραστήρια

Cat. No. Gram-Color
1.11885.0001 Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram

Μέρη συσκευασίας:

Το κιτ χρώσης περιέχει

Αντιδραστήριο 1:	Διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί	500 ml
Αντιδραστήριο 2:	Διάλυμα Lugol, σταθεροποιημένο	500 ml
Αντιδραστήριο 3 = 4:	Διάλυμα αποχρωματισμού	500 ml έκαστη
Αντιδραστήριο 5:	Διάλυμα σαφρανίνης	500 ml

Μεμονωμένα αντιδραστήρια

Αντί για το κιτ χρώσης 1.11885.0001, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο ακόλου-θος συνδυασμός αντιδραστηρίων:

Αρ. καταλόγου 1.09218	Διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.00567	Διάλυμα Lugol σταθεροποιημένο με PVP για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	1 l, 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 1.09217	Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	500 ml, 2,5 l

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 τρα-βώντας αργά την αντικειμενοφόρο πλάκα (με την πλευρά του επιχρίσματος να αντικρίζει 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 προηγ-μένης τεχνολογίας.

Όλα τα δείγματα πρέπει να φέρουν σαφή σήμανση. Για τη λήψη και την προετοιμασία των δειγμάτων πρέπει να χρησιμοποιού-νται κατάλληλα όργανα. Ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή για εφαρμογή / χρήση.

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

Προετοιμασία αντιδραστηρίου

Τα αντιδραστήρια του Gram-Color - Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram που χρησιμοποιούνται για τη χρώση είναι έτοιμα για χρήση. Η αραι-ωση αυτών των διαλυμάτων (εκτός από το αντιδραστήριο 1 για χρώση στο κύτταρο – βλ. “Διαδικασία”) δεν είναι αναγκαία.

Διαδικασία**Χρώση στο κύτταρο χρώσης**

Συνιστάται η αραιώση του αντιδραστηρίου 1 (διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί) 1:3 με απεσταγμένο νερό, εάν χρησιμοποιείται η μέθοδος εμφύσησης.

Οι αντικειμενοφόροι πλάκες πρέπει να εμβάπτιζονται 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 μεμονω-μένα βήματα χρώσης, ως μέτρο αποφυγής οποιασδήποτε άσκοπης διασταυ-ρούμενης μόλυνσης διαλυμάτων.

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

Αντικειμενοφόρος πλάκα με μονιμοποιημένο επιχρίσμα	
Αντιδραστήριο 1 (διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί)	1:30 λεπτά
Τρεχούμενο νερό βρύσης	30 δευτ.
Αντιδραστήριο 2 (διάλυμα Lugol, σταθεροποιημένο)*	3 λεπτά
Τρεχούμενο νερό βρύσης	20 δευτ.
Αντιδραστήρια 3 ή 4 (διάλυμα αποχρωματισμού)**	5 - 10 δευτ.
Τρεχούμενο νερό βρύσης	30 δευτ.
Αντιδραστήριο 5 (διάλυμα σαφρανίνης)	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 αντιδραστήριο 2 (διάλυμα Lugol, σταθεροποιημένο) μετά από 3 αναλύσεις

** Απορρίψτε το αντιδραστήριο 3 ή 4 (διάλυμα αποχρωματισμού) μετά από 5 αναλύσεις

Χρώση στον δειγματοφορέα χρώσης

Αντικειμενοφόρος πλάκα με μονιμοποιημένο επίχρισμα		
Αντιδραστήριο 1 (διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί)	καλύψτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	1 λεπτά
Αντιδραστήριο 2 (διάλυμα Lugol, σταθεροποιημένο)	Ξεπλύνετε για λίγο	
Αντιδραστήριο 2 (διάλυμα Lugol, σταθεροποιημένο)	καλύψτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	1 λεπτά
Απεσταγμένο νερό	Πλύντε προσεκτικά	5 δευτ.
Αντιδραστήρια 3 ή 4 (διάλυμα αποχρωματισμού)	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.
Αντιδραστήριο 5 (διάλυμα σαφρανίνης)	καλύψτε 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 κύτταρο 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 «Gram-Color - Σετ χρώσης» 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.

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	16/16	16/16	6/6	6/6
Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί	16/16	16/16	6/6	6/6

Αποτελέσματα αναλυτικής απόδοσης

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

Χαρακτηριστικά κλινικής απόδοσης

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

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

Gram-θετικοί μικροοργανισμοί

	Χρώση Gram
Ευαισθησία	14/15
Ειδικότητα	15/15

Ευαισθησία: 14 στα 15 δείγματα: 93,3%
Ειδικότητα: 15 στα 15 δείγματα: 100%

Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί

	Χρώση Gram
Ευαισθησία	15/15
Ειδικότητα	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

Αποθηκεύστε το Gram-Color - Σετ χρώσης 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. Ακολουθώσ, διηθήστε τα διαλύματα χρώσης μέσω ενός χάρτινου φίλτρου.

Διάρκεια ζωής

Το Gram-Color - Σετ χρώσης 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

Η συσκευασία επαρκεί για έως και 250 εφαρμογές.

Πρόσθετες οδηγίες

Για επαγγελματική χρήση μόνο.

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

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

Πρέπει να χρησιμοποιούνται μικροσκόπια εξοπλισμένα σύμφωνα με τα πρό-τυπα.

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 επικαλυπτικό μέσο για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.09217	Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	500 ml, 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 1.09261	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

Ταξινόμηση κινδύνου

Αρ. καταλόγου 1.11885.0001

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

Το φύλλο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στον ιστότοπο και κατόπιν αιτή-ματος.

Κύρια συστατικά των προϊόντων

Αρ. καταλόγου 1.11885.0001	
Αντιδραστήριο 1 ή αρ. καταλόγου 1.09218	
C.I. 42555	10 g/l

C ₆ H ₅ OH	4 g/l
1 l = 0,99 kg	
Αντιδραστήριο 2 ή αρ. καταλόγου 1.00567	
Πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP)-Ιώδιο	50 g/l
KI	10 g/l
1 l = 1,02 kg	
Αρ. καταλόγου 1.09261	
I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l = 1,01 kg	

Αντιδραστήριο 3/4 ή αρ. καταλόγου 1.10218	
C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1 l = 0,79 kg	
Αντιδραστήριο 5 ή αρ. καταλόγου 1.09217	
C.I. 50240	1,8 g/l
1 l = 0,98 kg	

Γενική παρατήρηση

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

Δογοτεχνία

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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.

H318: Προκαλεί σοβαρή οφθαλμική βλάβη.

H336: Μπορεί να προκαλέσει υπνηλία ή ζάλη.

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

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.

P273: Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.

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

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

Αντιδραστήριο 1:

H226: Υγρό και ατμοί εύφλεκτα.

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

Αντιδραστήριο 2:

H318: Προκαλεί σοβαρή οφθαλμική βλάβη.

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

Αντιδραστήριο 3/4:

H225: Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.

H319: Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

H336: Μπορεί να προκαλέσει υπνηλία ή ζάλη.

Ιστορικό αναθεώρησης

Έκδοση	Σχόλιο τροποποίησης
2024-Jul-24	Αρχική έκδοση με την εισαγωγή του ιστορικού αναθεώρησης
2024-Jul-24 V.2	Καμία αλλαγή στην ελληνική μετάφραση



Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης



Κατασκευαστής



Αριθμός καταλόγου



Κωδικός παρτίδας



Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα



Χρήση έως
EEEE-MM-HH



Όρια θερμοκρασίας

Status: 2024-Jul-24 V.2

1.11885.0001

REF

Mikroskopi

Gram-Color

Färgningskit för gramfärgning

Endast för yrkesmässig användning

IVD

Medicinteknisk enhet för diagnostik *in vitro*

CE

Avsett syfte

"Gram-Color – Färgningskit för gramfärgning" används till humanmedicinsk celldiagnostik vid bakteriologisk undersökning av provmaterial av mänskligt ursprung. Det är en bruksfärdig färgningssats som, när den används tillsammans med andra produkter för *in vitro*-diagnostik från vår portfölj, gör bakteriella 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 Gram-Color modifieras och utformas på ett sådant sätt att färgningen kan utföras i infärgad cell, 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 1.11885.0001 Gram-Color
Färgningskit för gramfärgning

Paketinnehåll:

Färgningssatsen innehåller

Reagens 1:	Kristallviolettlosning	500 ml
Reagens 2:	Lugols lösning, stabiliserad	500 ml
Reagens 3 = 4:	Avfärgningslösning	var och en 500 ml
Reagens 5:	Safraninlösning	500 ml

Enskilda reagens

I stället för färgningssatsen 1.11885.0001 kan följande kombination av reagens användas:

Kat.nr 1.09218	Grams kristallviolettlosning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.00567	Lugols lösning stabiliserad med PVP för gramfärgning	1 l, 2,5
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 1.09217	Grams safraninlösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l

Provberedning

Provtagningen måste utföras av kvalificerad personal.

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

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

Alla prover måste bearbetas med modern teknik.

Alla prover måste märkas tydligt.

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

Vid användning av respektive hjälpreagenser måste respektive bruksanvisningar följas.

Reagensberedning

Reagensen i Gram-Color – Färgningskit för gramfärgning är bruksfärdiga. Spädning av lösningarna behövs inte (med undantag för reagens 1 vid färgning i cell – se Förfarande).

Förfarande

Färgning i infärgad cell

Det rekommenderas att späda reagens 1 (kristallviolettlosning) 1:3 med destillerat vatten om immersionsmetoden används.

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

Objektglaset 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	
Reagens 1 (kristallviolettlosning)	1:30 min.
Rinnande kranvatten	30 s
Reagens 2 (Lugols lösning, stabiliserad)*	3 min.
Rinnande kranvatten	20 s
Reagens 3 eller 4 (avfärgande lösning)**	5 - 10 s
Rinnande kranvatten	30 s
Reagens 5 (safraninlösning)	1 min.
Rinnande kranvatten	1 min.
Lufttorka (t.ex. över natten eller vid 50 °C i torkskåp)	

* filtrera reagens 2 (Lugols lösning, stabiliserad) efter tre körningar.

** kassera reagens 3 eller 4 (avfärgningslösning) efter fem körningar

Färgning på färgningsställ

Objektglas med fixerat utstryk		
Reagens 1 (kristallviolettlosning)	täck fullständigt och låt reagera	1 min.
Reagens 2 (Lugols lösning, stabiliserad)	skölj hastigt	
Reagens 2 (Lugols lösning, stabiliserad)	täck fullständigt och låt reagera	1 min.
Destillerat vatten	tvätta noggrant	5 s
Reagens 3 eller 4 (avfärgande lösning)	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
Reagens 5 (safraninlösning)	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™, 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

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

Produktens analytiska prestanda bekräftas genom att varje produktionssats testas.

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	16/16	16/16	6/6	6/6
Gramnegativa mikroorganismer	16/16	16/16	6/6	6/6

Analytiska prestandaresultat

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

Kliniska prestandaegenskaper

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

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

Grampositiva mikroorganismer

	Gramfärgning
Känslighet	14/15
Specificitet	15/15

Känslighet: 14 prover av 15: 93,3 %

Specificitet: 15 prover av 15: 100 %

Gramnegativa mikroorganismer

	Gramfärgning
Känslighet	15/15
Specificitet	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 Gram-Color – Färgningskit 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

Gram-Color – Färgningskit 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

Paketet räcker för upp till 250 appliceringar.

Ytterligare instruktioner

Endast för yrkesmässig användning.

För att undvika fel får appliceringen endast utföras av kvalificerad personal. Nationella riktlinjer för arbetsskydd och kvalitetssäkring måste följas. Mikroskop som används måste vara utrustade enligt standard. Använd om nödvändigt en standardcentrifug som är lämplig i laboratorier för medicinsk diagnostik.

Skydd mot infektion

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

Instruktioner för avfallshantering

Paketet måste kasseras i enlighet med gällande riktlinjer för avfallshantering. Använda lösningar och lösningar som passerat utgångsdatum måste tas om hand som farligt avfall i enlighet med lokala riktlinjer. Information om avfallshantering finns under snabbblänken ”Hints for Disposal of Microscopy Products” (Tips för kassering av 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 1.09217	Grams safraninlösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.09218	Grams kristallviolett-lösning 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

Faroklassificering

Kat.nr 1.11885.0001
Observera faroklassificeringen på etiketten och uppgifterna i säkerhetsdatabladet.
Säkerhetsdatabladet finns på webbplatsen och går att få på begäran.

Produkternas huvudsakliga beståndsdelar

Kat.nr 1.11885.0001

Reagens 1 eller Kat.nr 1.09218
Färgindex 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reagens 2 eller Kat.nr 1.00567
PVP-Jod 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Kat.nr 1.09261
I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reagens 3/4 eller Kat.nr 1.10218
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reagens 5 eller Kat.nr 1.09217
Färgindex 50240 1,8 g/l
1 l = 0,98 kg

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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga.
H318: Orsakar allvarliga ögonskador.
H336: Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad.
H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

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.
P273: Undvik utsläpp till miljön.
P280: Använd skyddshandskar/ skyddskläder/ ögonskydd/ ansiktsskydd.
P305 + P351 + P338: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

Reagens 1:
H226: Brandfarlig vätska och ånga.
H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

Reagens 2:
H318: Orsakar allvarliga ögonskador.
H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

Reagens 3/4:
H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga.

H319: Orsakar allvarlig ögonirritation.
H336: Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad.

Reagens 5:
H226: Brandfarlig vätska och ånga.

Revisionshistorik

Version	Ändringskommentar
2024-Jul-24	Första version med införande av revisionshistorik
2024-Jul-24 V.2	Ingen ändring av den svenska översättningen

Se bruksanvisningen

Tillverkare

Katalognummer

Satskod

Försiktighet, se medföljande dokument

Används före ÅÅÅÅ-MM-DD

Temperaturbegränsning

Status: 2024-Jul-24 V.2

1.11885.0001



Mikroskopie

Gram-Color

barvicí souprava pro barvení Gramovou metodou

Pouze pro profesionální použití



Zdravotnický prostředek pro diagnostiku *in vitro*



Zamýšlený účel

Tato souprava „Gram-Color – barvicí souprava 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 soupravu k přímému použití, která 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.

Roztoky v soupravě Gram-Color jsou modifikovány a navrženy takovým způsobem, aby bylo možné provádět barvení v barvicí komůrce, v barvicím stojáncu 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 anilínové barvivo. Po zalití roztokem jódu (Lugolovým roztokem) se vytvoří komplex barviva s jódem. Během odbarvovacího kroku tento komplex zůstane ve vícevrstvé mureinové struktuře buněčné stěny 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 jejich stěny 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, hnís, exudáty, tekuté nebo pevné kultury.

Činidla

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

Složky balení:

Barvicí souprava obsahuje

Činidlo 1:	Roztok krystalové violeti	500 ml
Činidlo 2:	Lugolův roztok, stabilizovaný	500 ml
Činidlo 3 = 4:	Odbarvovací roztok	po 500 ml
Činidlo 5:	Roztok safraninur	500 ml

Jednotlivá činidla

Namísto barvicí soupravy 1.11885.0001 lze použít následující kombinaci činidel:

Kat. č.	Gramův roztok krystalové violeti pro barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	Lugolův roztok stabilizovaný PVP pro barvení Gramovou metodou	1 l, 2,5 l
Kat. č.	Lugolův roztok (ředěný roztok jod-jodid draselný) pro barvení Gramovou metodou	1 l, 2,5 l
Kat. č.	Gramův odbarvovací roztok barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	Gramův roztok safraninu pro barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l

Příprava vzorku vzorku

Odběr vzorku musí provést kvalifikovaný personál.

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

Činidla Gram-Color – barvicí souprava pro barvení Gramovou metodou jsou určena k přímému použití; ředění roztoků (kromě činidla 1 pro buněčné barvení – viz „Postup“) není nutné.

Postup

Barvení v barvicí komůrce

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

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

Sklíčka 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.

Sklíčko s fixovaným nátěrem	
Činidlo 1 (roztok krystalové violeti)	1:30 min
Tekoucí vodovodní voda	30 sekundy
Činidlo 2 (Lugolův roztok, stabilizovaný)*	3 min
Tekoucí vodovodní voda	20 sekundy
Činidlo 3 nebo 4 (odbarvovací roztok)**	5–10 sekundy
Tekoucí vodovodní voda	30 sekundy
Činidlo 5 (roztok safraninu)	1 min
Tekoucí vodovodní voda	1 min
Ponechte volně uschnout (např. přes noc nebo v sušárně při 50 °C)	

* po každých 3 zpracováních přefiltrujte činidlo 2 (Lugolův roztok, stabilizovaný)

** činidlo 3 nebo 4 (odbarvovací roztok) zlikvidujte po 5 zpracováních

Barvení v barvicím stojáncu

Sklíčko s fixovaným nátěrem		
Činidlo 1 (roztok krystalové violeti)	úplně pokryjte a nechte reagovat	1 min
Činidlo 2 (Lugolův roztok, stabilizovaný)	krátce propláchněte	
Činidlo 2 (Lugolův roztok, stabilizovaný)	úplně pokryjte a nechte reagovat	1 min
Destilovaná voda	pečlivě promyjte	5 sekundy
Činidlo 3 nebo 4 (odbarvovací roztok)	opatrně otáčejte sklíčky krouživým pohybem, dokud nepřestanou vznikat obláčky barviva a stěr nezíská zeleňošedou barvu	10–15 sekundy
Destilovaná voda	pečlivě promyjte	5 sekundy
Činidlo 5 (roztok safraninu)	úplně pokryjte a nechte reagovat	1 min
Destilovaná voda	pečlivě promyjte	5 sekundy
Ponechte volně uschnout (např. přes noc nebo v sušárně při 50 °C)		

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

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

Barvení v barvicím automatu

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

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

„Gram-Color – barvicí souprava“ barví a tím vizualizuje biologické struktury, jak je popsáno v kapitole „Výsledek“ tohoto návodu k použití. Výrobek směji 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.

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

	Specifičnost mezi testy	Senzitivita mezi testy	Specifičnost v rámci testu	Senzitivita v rámci testu
Gramovo barvení				
Grampozitivní mikroorganismy	16/16	16/16	6/6	6/6
Gramnegativní mikroorganismy	16/16	16/16	6/6	6/6

Výsledky testování analytických výkonnostních parametrů

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

Klinické výkonnostní parametry

Gram-Color – barvicí souprava se už desítky let úspěšně používá v klinickém prostředí ve velkém počtu aplikací.

Klinická účinnost Gram-Color – barvicí souprava byla stanovena zejména stanovením její senzitivity a specifičnosti 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 barvení však musejí provádět kvalifikovaní a oprávnění odborníci po zvážení pacientovy anamnézy, morfologie, použití vhodných kontrol a případně dalších diagnostických testů. Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí.

Diagnostika

Stanovení diagnóz může provádět pouze autorizovaní a kvalifikovaní personál.

Je nutné používat platné nomenklatury. Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí. Další testy je nutné vybírat a používat na základě uznaných metod.

Pro zamezení nesprávným výsledkům by se u každé aplikace měly provádět vhodné kontroly. Barvicí soupravu lze zkontrolovat pomocí grampozitivních bakterií a gramnegativních bakterií.

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

Skladování

Gram-Color – barvicí souprava 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

Gram-Color – barvicí souprava 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

Obsah balení postačuje pro 250 aplikací.

Další pokyny

Pouze pro profesionální použití.

Aby nedocházelo k chybám, smí aplikaci provádět pouze kvalifikovaný personál. Je nutno dodržovat vnitrostátní směrnice týkající se bezpečnosti práce a zajištění kvality. Je nutno používat standardně vybavené mikroskopy. V případě potřeby použijte standardní centrifugu vhodnou pro lékařskou diagnostickou laboratoř.

Ochrana před infekcí

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

Pokyny ohledně likvidace

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

Pomocná činidla

Kat. č. 1.00567	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. 1.09217	Gramův roztok safraninu pro barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l
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

Klasifikace rizik

Kat. č. 1.11885.0001
Řiďte se prosím klasifikacemi rizik vytisknutými na štítku a informacemi uvedenými v bezpečnostním listě. Bezpečnostní list je dostupný na internetových stránkách a na požádání.

Hlavní složky výrobku

Kat. č. 1.11885.0001

Činidlo 1 nebo Kat. č. 1.09218

C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Činidlo 2 nebo Kat. č. 1.00567

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

Kat. č. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Činidlo 3/4 nebo Kat. č. 1.10218

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

Činidlo 5 nebo 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Vysoce hořlavá kapalina a páry.
H318: Způsobuje vážné poškození očí.
H336: Může způsobit ospalost nebo závratě.
H412: Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

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.
P273: Zabraňte uvolnění do životního prostředí.
P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ ochranné brýle/ obličejový štít.
P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

Činidlo 1:
H226: Hořlavá kapalina a páry.
H412: Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

Činidlo 2:
H318: Způsobuje vážné poškození očí.
H412: Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

Činidlo 3/4:
H225: Vysoce hořlavá kapalina a páry.
H319: Způsobuje vážné podráždění očí.
H336: Může způsobit ospalost nebo závratě.

Činidlo 5:
H226: Hořlavá kapalina a páry.

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

© 2025 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.

Historie revizí

Verze	Komentář k úpravám
2024-Jul-24	Původní verze s přidanou tabulkou historie revizí
2024-Jul-24 V.2	Žádná změna v českém překladu

Viz návod k použití

Výrobce

Katalogové číslo

Kód šarže

Pozor, pročtěte si připojené dokumenty

Spotřebujte do RRRR-MM-DD

Teplotní omezení

Status: 2024-Jul-24 V.2

1.11885.0001 **REF****Microscopie****Gram-Color**

set pentru colorare prin metoda Gram

Exclusiv pentru uz profesionalDispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro***Scopul preconizat**

Acest kit „Gram-Color - set pentru colorare prin metoda Gram” este utilizat pentru diagnosticul celulelor medicale umane și servește scopului de investigație bacteriologică a eșantioanelor de probă de origine umană. Acesta este un kit de colorare gata de utilizare care, atunci când este utilizat 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-Color sunt modificate și proiectate astfel încât colorarea să poată fi efectuată în celula 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 prin metoda 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. Gram-Color
1.11885.0001 set pentru colorare prin metoda Gram

Componentele pachetului:

Kitul de colorare conține

Reactiv 1:	Soluție de cristal violet	500 ml
Reactiv 2:	Soluție Lugol, stabilizată	500 ml
Reactiv 3 = 4:	Soluție decolorantă	fiecare 500 ml
Reactiv 5:	Soluție de safranină	500 ml

Reactivi individuali

În locul kitului de colorare 1.11885.0001, poate fi utilizată următoarea combinație de reactivi:

Cat. nr. 1.09218	Cristal violet - soluție Gram pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.00567	Soluție Lugol stabilizată cu PVP pentru colorare prin metoda Gram	1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.09261	Soluție Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu) pentru colorare prin metoda 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. 1.09217	Soluție de safranină Gram pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l

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

Reactivii din Gram-Color - set pentru colorare prin metoda Gram folosiți pentru colorare sunt gata de utilizare, diluarea soluțiilor (cu excepția reactivului 1 pentru colorarea în cameră - a se vedea „Procedura”) nu este necesară.

Procedură**Colorarea în celula de colorare**

Se recomandă diluarea reactivului 1 (Cristal violet - soluție) 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 lăsate 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	
Reactiv 1 (Cristal violet - soluție)	1:30 min
Jet de apă de la robinet	30 sec.
Reactiv 2 (soluție Lugol, stabilizată)*	3 min
Jet de apă de la robinet	20 sec.
Reactiv 3 sau 4 (soluție decolorantă)**	5 - 10 sec.
Jet de apă de la robinet	30 sec.
Reactiv 5 (soluție de safranină)	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 reactivul 2 (soluție Lugol, stabilizată) după 3 cicluri

** eliminați reactivul 3 sau 4 (soluție decolorantă) după 5 cicluri

Colorarea pe suportul de colorare

Lamă cu frotiu fixat		
Reactiv 1 (soluție cristal-violet)	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Reactiv 2 (soluție Lugol, stabilizată)	clătiți rapid	
Reactiv 2 (soluție Lugol, stabilizată)	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Apă distilată	spălați cu atenție	5 sec.
Reactiv 3 sau 4 (soluție decolorantă)	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.
Reactiv 5 (soluție de safranină)	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™, Entellan™ sau DPX nou) 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 celula 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

„Gram-Color - kit de colorare” colorează și, prin urmare, vizibilizează structurile biologice, așa cum este descris în capitolul „Rezultat” al acestei IDU. Produsul trebuie utilizat numai de către persoane autorizate și calificate, utilizarea incluzând, printre altele, pregătirea probelor și a reactivilor, manipularea probelor, deciziile privind controalele adecvate și multe altele. Performanța analitică a produsului este confirmată prin testarea fiecărui lot de producție. Pentru următoarele colorări, performanța analitică a fost confirmată din punct de vedere al specificității, sensibilității și repetabilității produsului cu o rată de 100%:

	Specificitate inter-test	Sensitivitate inter-test	Specificitate intra-test	Sensitivitate intra-test
Colorarea Gram				
Microorganisme Gram-pozitive	16/16	16/16	6/6	6/6
Microorganisme Gram-negative	16/16	16/16	6/6	6/6

Rezultate de performanță analitică

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

Caracteristici de performanță clinică

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

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

Microorganisme Gram-pozitive

	Colorarea Gram
Sensitivitate	14/15
Specificitate	15/15

Sensibilitate: 14 mostre din 15: 93,3%
Specificitate: 15 mostre din 15: 100%

Microorganisme Gram-negative

	Colorarea Gram
Sensitivitate	15/15
Specificitate	15/15

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

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

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

Diagnostic

Diagnosticul trebuie stabilit doar de către personalul autorizat și calificat. Va fi utilizată nomenclatura în vigoare. Această metodă poate fi folosită suplimentar în diagnosticul uman. Testele ulterioare vor fi selectate și implementate conform metodelor recunoscute. Trebuie efectuat un control adecvat al fiecărei aplicații pentru a se evita rezultate incorecte. Setul de colorare poate fi controlat cu bacterii Gram-pozitive și cu bacterii Gram-negative. Trebuie utilizate bacterii luate dintr-un mediu de cultură după 18-24 ore de incubare.

Depozitarea

Depozitați kitul Gram-Color - set 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

Gram-Color - set pentru colorare prin metoda Gram poate fi utilizat până la termenul de valabilitate menționat. După prima deschidere a flaconului, conținutul poate fi utilizat până la termenul de valabilitate menționat, dacă este depozitat la +15 °C până la +25 °C. Flacoanele trebuie păstrate în permanență bine închise.

Capacitatea

Pachetul este suficient pentru până la 250 de aplicații.

Instrucțiuni suplimentare

Exclusiv pentru uz profesional. Pentru a evita erorile, aplicarea trebuie efectuată exclusiv de personal calificat. Vor fi respectate recomandările naționale privind siguranța muncii și asigurarea calității. Trebuie utilizate 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 colorare prin metoda Gram	1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.04699	Ulei de imersie pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.07961	Entellan™ nou mediu de montare rapid pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. nr. 1.09016	Neo-Mount™ anhidru - mediu de montare pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.09217	Safranină Gram - soluție pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.09218	Cristal violet - 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

Categoria de risc

Cat. nr. 1.11885.0001
Observați categoria de risc imprimată pe etichetă și informațiile oferite în fișa de informații de securitate.
Fișa de informații de securitate este disponibilă pe website și la cerere.

Componentele principale ale produselor

Cat. nr. 1.11885.0001
Reactiv 1 sau Cat. nr. 1.09218
C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reactiv 2 sau Cat. nr. 1.00567
PVP-Iod 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Cat. nr. 1.09261
I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reactiv 3/4 sau Cat. nr. 1.10218
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reactiv 5 sau 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Lichid și vapori foarte inflamabili.
H318: Provoacă leziuni oculare grave.
H336: Poate provoca somnolență sau amețeală.
H412: Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

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.
P273: Evitați dispersarea în mediu.
P280: A se purta mănuși de protecție/ îmbrăcăminte de protecție/ echipament de protecție a ochilor/ echipament de protecție a feței.
P305 + P351 + P338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

Reactiv 1:
H226: Lichid și vapori inflamabili.
H412: Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

Reactiv 2:
H318: Provoacă leziuni oculare grave.
H412: Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.
Reactiv 3/4:
H225: Lichid și vapori foarte inflamabili.
H319: Provoacă o iritare gravă a ochilor.
H336: Poate provoca somnolență sau amețeală.

Reactiv 5:
H226: Lichid și vapori inflamabili.

Istoric revizuire

Versiune	Comentariu privind modificarea
2024-Jul-24	Versiunea inițială cu introducerea istoricului revizuirilor
2024-Jul-24 V.2	Nicio modificare la traducerea din română

A se consulta instrucțiunile de utilizare

Producător

Număr articol

Număr lot

Atenție, a se consulta documentele însoțitoare

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

Temperatura limită



1.11885.0001 **REF**

Mikroskopi

Gram-Color

farvningskit til gramfarvning

Kun til professionel brug

Medicinske anordning til *in vitro*-diagnose

Beregnet formål

Dette "Gram-Color - farvningskit til gramfarvning" bruges til human-medicinsk cellediagnose og er beregnet til bakteriologisk undersøgelse af prøvemateriale fra mennesker. Det er et klar-til-brug farvningskit, som når det bruges til *in vitro*-diagnose sammen med andre produkter fra vores sortiment laver 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-Color opløsningerne er modificerede og udviklede således, at farvningen kan udføres i farvningskuvetter, 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 krystalviolett, som er en basisk farve.

Efter behandlingen med jodopløsning (Lugols opløsning) dannes et farvestof-jod-kompleks. Under affarvningstrinnet forbliver dette kompleks i den flerlagede mureinstruktur i gram-positive bakteriers cellevæg - de fremstår 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, eksudater, flydende og faste kulturer.

Reagenser

Varenr. 1.11885.0001 Gram-Color farvningskit til gramfarvning

Pakkens komponenter:

Farvesættet indeholder

Reagens 1:	Krystalvioletoopløsning	500 ml
Reagens 2:	Lugols opløsning, stabiliseret	500 ml
Reagens 3 = 4:	Affarvningsopløsning	500 ml hver
Reagens 5:	Safraninopløsning	500 ml

Individuelle reagenser

Følgende kombination af reagenser kan anvendes i stedet for farvesættet 1.11885.0001:

Varenr. 1.09218	Grams krystalvioletoopløsning til gramfarvning	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.00567	Lugols opløsning stabiliseret med PVP til gramfarvning	1 l, 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. 1.09217	Grams safraninopløsning til gramfarvning	500 ml, 2,5 l

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 udstrygningssiden opad) gennem den øvre del af bunsenbrænderens flamme tre gange. Lad den derefter køle af, og farv den. De lufttørrede udstrygninger skal varmefikseres meget omhyggeligt. Dette forebygger risikoen for infektioner og reducerer opløsningen af prøvematerialet og dermed forurening af opløsninger og andre objektglas.

Alle prøver skal behandles ved hjælp af den nyeste teknologi.

Alle prøver skal forsynes med tydelige etiketter.

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

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

Forberedelse af reagenserne

Reagenserne i Gram-Color - farvningskit til gramfarvning er klar til brug.

Fortynding af opløsningerne (med undtagelse af reagens 1 til farvning i farveskål - se "Procedure") er ikke nødvendigt.

Procedure

Farvning i farvningskuvetten

Det anbefales at fortynde reagens 1 (krystalvioletoopløsning) i forholdet 1:3 med destilleret vand, hvis immersionsmetoden anvendes.

Objektglassene skal nedsænkes og bevæges i opløsningerne. Nedsænkning alene resulterer i inadækvate 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	
Reagens 1 (krystalvioletoopløsning)	1:30 min.
Rindende postevand	30 sek.
Reagens 2 (Lugols opløsning, stabiliseret)*	3 min.
Rindende postevand	20 sek.
Reagens 3 eller 4 (affarvningsopløsning)**	5 - 10 sek.
Rindende postevand	30 sek.
Reagens 5 (safraninopløsning)	1 min.
Rindende postevand	1 min.
Skal lufttørre (f.eks. natten over eller ved 50 °C i tørreskabet)	

* reagens 2 (Lugols opløsning, stabiliseret) filtreres efter 3 kørsler

** kassera reagens 3 eller 4 (avfärgningslösning) efter fem körningar.

Farvning på farveracket

Objektglas med fikseret udstrygning		
Reagens 1 (krystalvioletoopløsning)	Skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	1 min.
Reagens 2 (Lugols opløsning, stabiliseret)	skylles kort	
Reagens 2 (Lugols opløsning, stabiliseret)	Skal tildækkes fuldstændigt og gives tid til at reagere	1 min.
Destilleret vand	vaskes grundigt	5 sek.
Reagens 3 eller 4 (affarvningsopløsning)**	objektglassene rystes forsigtigt, indtil der ikke dannes flere farveskyer og udstrygningen bliver grå/blå	10 - 15 sek.
Destilleret vand	vaskes grundigt	5 sek.
Reagens 5 (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 dækglas anbefales med henblik på opbevaring af bakterio- logiske 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 farvningskuvetten.

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 var- meskab er vigtigt med henblik på at forhindre prøvernes infektionspotentia- le 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 affarvnings- opløsning 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 resul- tere i falske negative resultater.

Tekniske bemærkninger

Det anvendte mikroskop skal leve op til kravene på et laboratorie til medi- cinsk diagnose. Ved brug af automatiske farvesystemer skal brugervejledningen fra leve- randøren af systemet og softwaren følges. Fjern overskydende immersionsolie forud for arkivering.

Analytiske ydeevnekarakteristika

”Gram-Color - farvningskit” farver og visualiserer derved biologiske struk- turer, 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, afgørel- ser angående egnede kontroller med mere.

Produktets analytiske ydeevne bekræftes ved test af hvert produktionsparti.

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

	Inter-un- dersøgelse specificitet	Inter-un- dersøgelse sensitivitet	Intra-un- dersøgelse specificitet	Intra-un- dersøgelse sensitivitet
Gram-farvning				
Gram-positive mikroorganismer	16/16	16/16	6/6	6/6
Gram-negative mikroorganismer	16/16	16/16	6/6	6/6

Analytiske ydeevneresultater

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

Kliniske ydeevnekarakteristika

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

Den kliniske ydeevne for Gram-Color - farvningskit er isæt blevet konstate- ret 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 kva- lificerede 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 for- kerte resultater. Farvesættet kan kontrolleres med gram-positive bakterier og gram-negative bakterier. Der skal anvendes bakterier, som er udtaget fra et kulturmedium efter 18- 24 timers inkubation.

Opbevaring

Gram-Color - farvningskit til gramfarvning skal opbevares ved +15 °C til +25 °C. Ved temperaturer under 15 °C kan der opstå farvet bundfald i farveopløs- ningerne. 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 bund- faldet igen. Derefter skal farveopløsningen filtreres gennem et papirfilter.

Holdbarhed

Gram-Color - farvningskit 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 forsvarligt lukkede.

Kapacitet

Pakken er tilstrækkelig til op til 250 anvendelser.

Yderligere anvisninger

Kun til professionel brug. For at undgå fejl må produktet kun anvendes af faguddannet personale. Nationale bestemmelser vedrørende arbejdssikkerhed og kvalitetssikring skal overholdes. Der skal anvendes mikroskoper, der udstyret i henhold til de gældende standarder. Brug om nødvendigt en standardcentrifuge, der egner sig til brug på et laboratorie i forbindelse med medicinsk diagnostik

Beskyttelse mod infektioner

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

Bortskaffelse

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

Øvrige reagenser

Varenr. 1.00567	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™ vandfri indstøbningsmiddel for mikroskopi	100-ml pipette- flaske, 500 ml
Varenr. 1.09217	Grams safraninopløsning til gramfarvning	500 ml, 2,5 l
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

Fareklassificering

Varenr. 1.11885.0001

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

Sikkerhedsdatabladet fås på hjemmesiden og ved forespørgsel.

Produkternes hovedkomponenter

Varenr. 1.11885.0001

Reagens 1 eller Vanrer. 1.09218

Farveindeks 42555 10 g/l

C₆H₅OH 4 g/l

1 l = 0,99 kg

Reagens 2 eller Vanrer. 1.00567

PVP-jod 50 g/l

KI 10 g/l

1 l = 1,02 kg

Varenr. 1.09261

I₂ 3,4 g/l

KI 6,8 g/l

1 l = 1,01 kg

Reagens 3/4 eller Vanrer. 1.10218

C₂H₆O 634 g/l

C₃H₆O 159 g/l

1 l = 0,79 kg

Reagens 5 eller Vanrer. 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Meget brandfarlig væske og damp.

H318: Forårsager alvorlig øjenskade.

H336: Kan forårsage sløvhed eller svimmelhed.

H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.

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.

P273: Undgå udledning til miljøet.

P280: Bær beskyttelseshandsker/ beskyttelsestøj/ øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse.

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

Reagens 1:

H226: Brandfarlig væske og damp.

H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.

Reagens 2:

H318: Forårsager alvorlig øjenskade.

H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.

Reagens 3/4:

H225: Meget brandfarlig væske og damp.

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

© 2025 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.

H319: Forårsager alvorlig øjenirritation.

H336: Kan forårsage sløvhed eller svimmelhed.

Reagens 5:

H226: Brandfarlig væske og damp.

Revisionshistorik

Version	Kommentar til modifikation
2024-Jul-24	Første version med introduktion af revisionshistorik
2024-Jul-24 V.2	Ingen ændring af den danske oversættelse

Se brugervejledningen

Producent

Varenummer

Partikode

Forsigtig: Se den medfølgende dokumentation

Skal bruges inden ÅÅÅÅ-MM-DD

Tilladt temperatur

Status: 2024-Jul-24 V.2

1.11885.0001 **REF**

Mikroskopija

Gram-Color

komplet boja za metodu bojenja po Gramu

Samo za profesionalnu uporabu

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

Namjena

Ovaj „Gram-Color - komplet boja za metodu bojenja po Gramu“ upotrebljava se za dijagnostiku ljudskih medicinskih stanica i služi za bakteriološko ispitivanje uzorka ljudskog podrijetla. Radi se o kompletu za bojenje pripremljenom za upotrebu zahvaljujući kojem je, kada se upotrebljava s drugim *in vitro* dijagnostičkim proizvodima iz naše ponude, moguće procijeniti bakterijske ciljne strukture (gram-pozitivne ili gram-negativne bakterije) fiksiranjem, bojenjem, protubojenjem, poklapanjem u materijalima bakterioloških uzoraka, primjerice u razmazima tjelesnih tekućina u dijagnostičke svrhe.

Otopine za Gram-Color 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), stvorit će se kompleks boje s jodom. Tijekom koraka uklanjanja boja, ovaj kompleks ostaje u višeslojnoj mureinskoj strukturi staničnog zida Gram pozitivnih bakterija i izgledat će 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 protuoboje 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, otisa-ka, efuzija, gnoja, eksudata i kultura u tekućem i krutom stanju.

Reagensi

Kat. br. 1.11885.0001
Gram-Color
komplet boja za metodu bojenja po Gramu

Komponente pakiranja:

Komplet za bojenje sadrži

Reagens 1:	Kristalno ljubičasta otopina	500 ml
Reagens 2:	Lugolova otopina, stabilizirana	500 ml
Reagens 3 = 4:	Otopina za obezbojenje	svaka 500 ml
Reagens 5:	Safranin otopina	500 ml

Pojedini reagensi

Umjesto kompleta za bojenje 1.11885.0001 može se upotrijebiti sljedeća kombinacija reagensa:

Kat. br. 1.09218	Gramova kristalno ljubičasta otopina za metodu bojenja po Gramu	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.00567	Lugolova otopina stabilizirana s PVP za bojenje po GRAM-u	1 l, 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. 1.09217	Gramova safranin otopina za metodu bojenja po Gramu	500 ml, 2,5 l

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 reagentse, treba se pridržavati njihovih uputa za uporabu.

Priprema reagensa

Reagensi Gram-Color - komplet boja za metodu bojenja po Gramu spremni su za upotrebu, razrjeđivanje otopina (osim za reagens 1 za bojenje u stanci – pogledajte „Postupak“) nije potrebno.

Postupak

Bojenje u stanicama za bojenje

Preporučuje se razrjeđivanje reagensa 1 (kristalno ljubičasta otopina) 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	
Reagens 1 (kristalno ljubičasta otopina)	1:30 min
Voda iz slavine	30 s
Reagens 2 (Lugolova otopina, stabilizirana)*	3 min
Voda iz slavine	20 s
Reagens 3 ili 4 (otopina za obezbojenje)**	5-10 s
Voda iz slavine	30 s
Reagens 5 (safranin otopina)	1 min
Voda iz slavine	1 min
Sušenje zrakom (npr. preko noći pri 50 °C u komori za sušenje)	

* filtrirajte reagens 2 (Lugolova otopina, stabilizirana) nakon 3 ciklusa

** odložite reagens 3 ili 4 (otopina za obezbojenje) nakon 5 ciklusa

Bojenje na podlozi za bojenje

Stakalce s fiksiranim razmazom		
Reagens 1 (kristalno ljubičasta otopina)	u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	1 min
Reagens 2 (Lugolova otopina, stabilizirana)	kratko isperite	
Reagens 2 (Lugolova otopina, stabilizirana)	u potpunosti pokrijte i pričekajte reakciju	1 min
Destilirana voda	pažljivo operite	5 s
Reagens 3 ili 4 (otopina za obezbojenje)	pažljivo pomaknite kružnim pokretima dok se više ne proizvede oblaci boje i razmaz ne poprими sivo-plavu boju	10-15 s
Destilirana voda	pažljivo operite	5 s
Reagens 5 (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.

Bojenje u automatima za bojenje

Bojenje u automatskim sustavima za bojenje može se izvesti prema protokolu bojenja u stanici 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, svježa otopina za obezbojenje vrlo je reaktivna, zbog čega se rezultat mora oprezno procijeniti. Tijekom koraka uklanjanja boje korisnik se mora pridržavati točnog vremena inkubacije opisanog u protokolu, jer u suprotnome može doći do lažno negativnih rezultata.

Tehničke napomene

Upotrebljavani mikroskop mora zadovoljavati preduvjete medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Prilikom upotrebe automatske opreme za bojenje slijedite upute za uporabu dobavljača sustava i softvera. Prije punjenja uklonite suvišno imerzijsko ulje.

Značajke analitičke učinkovitosti

„Gram-Color - komplet za bojenje” boji i tako omogućava vizualizaciju bioloških struktura, kao što je opisano u poglavlju „Rezultat” u ovim uputama za uporabu. Ovaj proizvod smiju upotrebljavati samo ovlaštene i kvalificirane osobe. To se, između ostaloga, odnosi na pripremu uzoraka i reagensa, rukovanje uzorcima, donošenje odluka o odgovarajućim kontrolama itd. Analitička učinkovitost ovog proizvoda potvrđena je ispitivanjem svake proizvodne serije. 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	16/16	16/16	6/6	6/6
Gram negativni mikroorganizmi	16/16	16/16	6/6	6/6

Rezultati analitičke učinkovitosti

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

Značajke kliničke učinkovitosti

Gram-Color - komplet za bojenje desetljećima se uspješno upotrebljava u kliničkom okruženju za velik broj primjena. Klinička učinkovitost Gram-Color - komplet za bojenje posebno je određena utvrđivanjem njegovog 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.

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 Gram-Color - komplet bojaza 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

Gram-Color - komplet bojaza 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

Pakiranje je dostatno za do 250 primjena.

Dodatne upute

Samo za profesionalnu uporabu.

Da bi se izbjegle pogreške, primjenu smije provoditi samo kvalificirano osoblje. Potrebno je slijediti nacionalne smjernice za sigurnost na radu i osiguravanje kvalitete. Potrebno je upotrebljavati mikroskope opremljene sukladno standardu. Ako je to potrebno, upotrebljavajte standardnu centrifugu prikladnu za medicinski dijagnostički laboratorij.

Zaštita od infekcije

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

Upute za odlaganje

Pakiranje se mora odložiti sukladno trenutnim smjernicama za odlaganje. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok uporabe moraju se odložiti kao poseban otpad sukladno lokalnim smjernicama. Informacije o odlaganju možete dobiti na brzj 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. 1.09217	Gramova safranin otopina za metodu bojenja po Gramu	500 ml, 2,5 l
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

Klasifikacija rizika

Kat. br. 1.11885.0001
Slijedite klasifikaciju rizika ispisanu na oznaci i informacije navedene na sigurnosno-tehničkom listu.
Sigurnosno-tehnički list dostupan je na web-mjestu i na zahtjev.

Glavne komponente proizvoda

Kat. br. 1.11885.0001

Reagens 1 ili kat. br. 1.09218
C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reagens 2 ili kat. br. 1.00567
PVP-jod 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Kat. br. 1.09261
I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reagens 3/4 ili kat. br. 1.10218
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reagens 5 ili 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Lako zapaljiva tekućina i para.
H318: Uzrokuje teške ozljede oka.
H336: Može izazvati pospanost ili vrtoglavicu.
H411: Otrovno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima.

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 prihvata kemikalije.
P273: Izbjegavati ispuštanje u okoliš.
P280: Nositi zaštitne rukavice/ zaštitno odijelo/ zaštitu za oči/ zaštitu za lice.
P305 + P351 + P338: U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispirati.

Reagens 1:
H226: Zapaljiva tekućina i para.
H411: Otrovno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima.

Reagens 2:
H318: Uzrokuje teške ozljede oka.
H412: Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima.

Reagens 3/4:
H225: Lako zapaljiva tekućina i para.

The Life Science Business tvrtke Merck posluje kao MilliporeSigma u SAD-u i Kanadi.
© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany i/ili društva-kćeri tog društva. Sva prava pridržana. Merck i Sigma-Aldrich u jarkim bojama zaštitni su znakovi društva Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Svi drugi zaštitni znakovi pripadaju odgovarajućim vlasnicima. Detaljne informacije o zaštitnim znakovima dostupne su putem javno dostupnih resursa.

H319: Uzrokuje jako nadraživanje oka.
H336: Može izazvati pospanost ili vrtoglavicu.

Reagens 5:
H226: Zapaljiva tekućina i para.

Povijest revizija

Verzija	Komentar o izmjeni
2024-Jul-24	Izvorna verzija s uvodom u povijest revizija
2024-Jul-24 V.2	Nema izmjena u prijevodu na hrvatski

Pročitajte upute za uporabu

Proizvođač

Kataloški broj

Kod serije

Oprez, pročitajte popratnu dokumentaciju

Upotrijebite do GGGG-MM-DD

Ograničenje temperature

Status: 2024-Jul-24 V.2

1.11885.0001

REF

Mikroskopia

Gram-Color

zestaw roztworów do barwienia metodą Grama

Wyłącznie do użytku przez specjalistów

IVD

Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*

Przeznaczenie

„Gram-Color – zestaw roztworów 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 zestaw do barwienia, który w połączeniu z innymi dostępnymi w naszej ofercie wyrobami do diagnostyki *in vitro* umożliwia przygotowanie docelowych struktur (bakterii Gram-dodatnich lub Gram-ujemnych) poprzez utrwalanie, barwienie, barwienie kontrastujące, zamykanie w preparatach bakteriologicznych, np. rozmazach lub płynach ustrojowych, do celów diagnostycznych.

Roztwory do Gram-Color 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

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

Odczynniki

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

Zawartość opakowania:

Zestaw do barwienia zawiera

Odczynnik 1:	Roztwór fioletu krystalicznego	500 ml
Odczynnik 2:	Płyn Lugola, stabilizowany	500 ml
Odczynnik 3 = 4:	Roztwór odbarwiający	każdy 500 ml
Odczynnik 5:	Roztwór safraniny	500 ml

Poszczególne odczynniki

Zamiast zestawu do barwienia 1.11885.0001 można użyć poniższej kombinacji odczynników:

Nr kat. 1.09218	Roztwór Grama: fiolet krystaliczny, do barwienia metodą Grama	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.00567	Płyn Lugola stabilizowany PVP (poliwinylopirolidonem) do barwienia metodą Grama	1 l, 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. 1.09217	Roztwór Grama: safranina do barwienia metodą Grama	500 ml, 2,5 l

Przygotowywanie próbek

Próbki muszą być pobierane przez wykwalifikowany personel.

Nałożyć materiał bakteriologiczny na czyste, wolne od tłuszczu szkło, używając wyżarzonej pętli. Następnie rozmazać materiał bezpośrednio na szkiełku lub uprzednio zmieszać z 1-2 kroplami roztworu soli fizjologicznej (roztworu Ringera). Osuszyć na powietrzu, a następnie utrwalic 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 bakteriologicznego, a w rezultacie również ryzyko zanieczyszczenia roztworów i innych szkiełek.

Wszystkie próbki muszą być przetwarzane z użyciem najnowocześniejszych technologii.

Wszystkie próbki muszą być wyraźnie oznaczone.

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

Podczas stosowania odpowiednich odczynników pomocniczych należy przestrzegać odpowiedniej instrukcji użytkowania.

Przygotowywanie odczynnika

Odczynniki z zestawu do barwienia metodą Grama stosowanego do barwienia są gotowe do użycia i rozcieńczanie roztworów (z wyjątkiem odczynnika 1 do barwienia w komorze – zob. „Procedura”) nie jest konieczne.

Procedura

Barwienie w komorze do barwienia

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

Szkiełka 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.

Szkło z utrwalonym rozmazem	
Odczynnik 1 (roztwór fioletu krystalicznego)	1:30 min
Bieżąca woda z kranu	30 sek.
Odczynnik 2 (płyn Lugola, stabilizowany)*	3 min
Bieżąca woda z kranu	20 sek.
Odczynnik 3 lub 4 (roztwór odbarwiający)**	5 - 10 sek.
Bieżąca woda z kranu	30 sek.
Odczynnik 5 (roztwór safraniny)	1 min
Bieżąca woda z kranu	1 min
Osuszyć na powietrzu (np. przez noc lub w temp. 50°C w suszarce)	

* odfiltrować odczynnik 2 (płyn Lugola, stabilizowany) po 3 cyklach

** wyrzucić odczynnik 3 lub 4 (roztwór do odbarwiania) po 5 cyklach

Barwienie na statywie do barwienia

Szkielko z utrwalonym rozmazem		
Odczynnik 1 (roztwór fioletu krystalicznego)	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	1 min
Odczynnik 2 (płyn Lugola, stabilizowany)	krótko przepłukać	
Odczynnik 2 (płyn Lugola, stabilizowany)	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	1 min
Woda destylowana	ostrożnie przemyć	5 sek.
Odczynnik 3 lub 4 (roztwór odbarwiający)	ostrożnie zamieszać preparatami, aż barwnik przestanie się unosić, a rozmaz przyjmie szaro-niebieski kolor	10 - 15 sek.
Woda destylowana	ostrożnie przemyć	5 sek.
Odczynnik 5 (roztwór safraniny)	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

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

Wydajność analityczna produktu jest potwierdzana poprzez testowanie każdej partii produkcyjnej.

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	16/16	16/16	6/6	6/6
Mikroorganizmy Gram-ujemne	16/16	16/16	6/6	6/6

Wyniki analityczne

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

Parametry wydajności klinicznej

Gram-Color - zestaw do barwienia jest z powodzeniem wykorzystywany w wielu zastosowaniach w warunkach klinicznych od kiludziesięciu lat. Wydajność kliniczna Gram-Color - zestaw do barwienia w szczególności została określona poprzez ustalenie jego czułości i swoistości w badaniu wewnątrzym:

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

Przechowywać Gram-Color – zestaw roztworów do barwienia metodą Grama 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

Gram-Color – zestaw roztworów do barwienia metodą Grama może być używany do upływu 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

Opakowanie wystarcza na 250 zastosowań.

Dodatkowe instrukcje

Wyłącznie do użytku przez spe#cjalistów. 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. 1.09217	Roztwór Grama: safranina do barwienia metodą Grama	500 ml, 2,5 l
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

Klasyfikacja zagrożeń

Nr kat. 1.11885.0001

Należy stosować się do klasyfikacji zagrożeń wydrukowanej na etykiecie i informacji podanych w karcie charakterystyki substancji chemicznej. Karta charakterystyki substancji chemicznej jest dostępna w witrynie internetowej i na żądanie.

Główne składniki produktów

Nr kat. 1.11885.0001

Odczynnik 1 lub Nr kat. 1.09218	
C.I. 42555	10 g/l
C ₆ H ₅ OH	4 g/l
1 l = 0,99 kg	

Odczynnik 2 lub Nr kat. 1.00567	
PVP-jod	50 g/l
KI	10 g/l
1 l = 1,02 kg	

Nr kat. 1.09261	
I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l = 1,01 kg	

Odczynnik 3/4 lub Nr kat. 1.10218	
C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1 l = 0,79 kg	

Odczynnik 5 lub 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H318: Powoduje poważne uszkodzenie oczu.

H336: Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.

H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

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.

P273: Unikać uwolnienia do środowiska.

P280: Stosować rękawice ochronne/ odzież ochronną/ ochronę oczu/ ochronę twarzy.

P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

Odczynnik 1:

H226: Łatwopalna ciecz i pary.

H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Odczynnik 2:

H318: Powoduje poważne uszkodzenie oczu.

H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Odczynnik 3/4:

H225: Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H319: Działa drażniąco na oczy.

H336: Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.

Odczynnik 5:

H226: Łatwopalna ciecz i pary.

Historia zmian

Wersja	Komentarz do modyfikacji
2024-Jul-24	Pierwsza wersja z wprowadzoną historią zmian
2024-Jul-24 V.2	Brak zmian w tłumaczeniu na język polski



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-24 V.2

Działalność w segmencie Life Science firmy Merck odbywa się pod marką MilliporeSigma w USA i Kanadzie.

© 2025 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

MERCK

1.11885.0001 **REF****Microscopia****Gram-Color**

Conjunto para a coloração Gram

Apenas para utilização profissional**IVD**Dispositivo Médico para Diagnóstico *In-Vitro***Finalidade prevista**

O presente "Gram-Color – Conjunto a coloração Gram" é utilizado para diagnóstico médico de célula humana e serve para investigação bacteriológica de material de amostra de origem humana. É um kit de coloração pronto a utilizar que, quando utilizado juntamente com outros produtos de diagnóstico *in-vitro* da nossa gama, tornam as estruturas-alvo 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-Color 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

Reagents

Cat. n.º 1.11885.0001
Gram-Color
Conjunto a coloração Gram

Componentes da embalagem:

O kit de coloração contém

Reagente 1:	Solução de violeta cristal	500 ml
Reagente 2:	Solução de Lugol, estabilizada	500 ml
Reagente 3 = 4:	Solução descolorante	cada 500 ml
Reagente 5:	Solução de safranina	500 ml

Reagentes individuais

Em vez do kit de coloração 1.11885.0001, pode ser utilizada a seguinte combinação de reagentes:

Cat. n.º	1.09218	Solução de violeta cristal segundo Gram para a coloração de Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.00567	Solução de Lugol estabilizada com PVP para coloração Gram	1 l, 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	1.09217	Solução de safranina segundo Gram para a coloração de Gram	500 ml, 2,5 l

Preparação da amostra

A recolha da amostra tem de ser realizada por pessoal qualificado.

Aplique o material da amostra sobre uma lâmina limpa e sem gordura, usando um laço recozido. Aplique o esfregaço do material diretamente na lâmina ou misture primeiro com 1 - 2 gotas de solução fisiológica salina (solução de Ringer). Seque ao ar e depois fixe com calor, passando lentamente a lâmina (com o lado do esfregaço para cima) três vezes pela parte superior da chama do bico de Bunsen. Em seguida, deixe arrefecer e colorir. Os esfregaços secos ao ar têm de ser fixados com calor muito cuidadosamente. Isso evita o risco de infeções e reduz a dissolução do material da amostra e, assim, a contaminação de soluções e de outras lâminas.

Todas as amostras têm de ser tratadas usando a mais moderna tecnologia. Todas as amostras têm de ser inequivocamente rotuladas.

Têm de ser usados instrumentos adequados para retirada e preparação das amostras. Siga as instruções de aplicação / utilização do fabricante.

Ao utilizar os reagentes auxiliares correspondentes, têm de ser cumpridas as instruções de utilização correspondentes.

Preparação do reagente

Os reagentes utilizados para a coloração do Gram-Color – Conjunto a coloração Gram estão prontas a usar; não é necessária diluição das soluções (exceto para o reagente 1 para coloração na célula de coloração - consulte "Procedimento"), o que apenas causaria deterioração do resultado da coloração e da estabilidade.

Procedimento**Coloração na célula de coloração**

Recomenda-se que se dilua o reagente 1 (solução 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 escurram 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	
Reagente 1 (solução de violeta cristal)	1:30 min.
Água de torneira corrente	30 seg.
Reagente 2 (solução de Lugol, estabilizada)*	3 min.
Água de torneira corrente	20 seg.
Reagente 3 ou 4 (solução descolorante)**	5 - 10 seg.
Água de torneira corrente	30 seg.
Reagente 5 (solução de safranina)	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 o reagente 2 (solução de Lugol, estabilizada) após 3 passagens

** elimine os reagentes 3 ou 4 (solução de descoloração) após 5 passagens

Coloração no rack de coloração

Lâmina com esfregaço fixo		
Reagente 1 (solução de violeta cristal)	cubra completamente e deixe reagir	1 min.
Reagente 2 (solução de Lugol, estabilizada)	enxague brevemente	
Reagente 2 (solução de Lugol, estabilizada)	cubra completamente e deixe reagir	1 min.
Água destilada	lave cuidadosamente	5 seg.
Reagente 3 ou 4 (solução descolorante)	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.
Reagente 5 (solução de safranina)	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

“Gram-Color - Conjunto a coloração” 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.

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	16/16	16/16	6/6	6/6
Microrganismos Gram-negativos	16/16	16/16	6/6	6/6

Resultados do desempenho analítico

Os dados intra-ensaio (efetuado com o mesmo lote) e inter-ensaio (efetuado com lotes diferentes) listam o número de estruturas coradas corretamente em relação ao número de ensaios efetuados.

Características do desempenho clínico

O Gram-Color - Conjunto a coloração foi utilizada durante décadas com sucesso em ambiente clínico num número elevado de aplicações. O desempenho clínico do Gram-Color - Conjunto a coloração 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 o Gram-Color – Conjunto a coloração 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

O Gram-Color – Conjunto a coloração 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

A embalagem é suficiente para até 250 aplicações.

Instruções adicionais

Apenas para utilização profissional. A fim de evitar erros, a aplicação apenas pode ser realizada por pessoal qualificado. Têm de ser seguidas as diretrizes nacionais sobre segurança no trabalho e garantia de qualidade. Têm de ser utilizados microscópios equipados de acordo com o padrão. Se necessário, utilize uma centrífugadora padrão adequada a laboratórios de diagnóstico médico.

Proteção contra infeções

Deverão ser tomadas medidas eficazes para proteger contra infeções, em linha com as diretrizes laboratoriais.

Instruções para eliminação

A embalagem tem de ser eliminada de acordo com as atuais diretrizes sobre eliminação. As soluções utilizadas e as soluções que excedam a durabilidade têm de ser eliminadas como resíduos especiais, de acordo com as diretrizes locais. Informação sobre eliminação pode ser obtida através do link rápido “Dicas para Eliminação de Produtos de Microscopia” em www.microscopy-products.com. Dentro da UE, aplica-se o Regulamento (CE) n.º 1272/2008 sobre classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.

Reagentes auxiliares

Cat. n.º	1.00567	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	1.09217	Solução de safranina segundo Gram para a coloração de Gram	500 ml, 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	1.09261	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

Classificação do perigo

Cat. n.º 1.11885.0001

Observe a classificação de perigo impressa no rótulo e a informação dada na ficha de dados de segurança.

A ficha de dados de segurança está disponível no site na Internet e por pedido.

Principais componentes dos produtos

Cat. n.º 1.11885.0001

Reagente 1 ou Cat. n.º 1.09218

C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reagente 2 ou Cat. n.º 1.00567

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

Cat. n.º 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reagente 3/4 ou Cat. n.º 1.10218

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

Reagente 5 ou 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Líquido e vapores altamente inflamáveis.

H318: Provoca lesões oculares graves.

H336: Pode provocar sonolência ou vertigem.

H412: Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados.

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

P233: Mantenha o recipiente hermeticamente fechado.

P240: Aterre e vincule o recipiente e equipamento de recepção.

P273: Evite a liberação para o meio ambiente.

P280: Use luvas protetoras/ roupas protetoras/ proteção para os olhos/ proteção para o rosto.

P305 + P351 + P338: EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água durante vários minutos. No caso de uso de lentes de contato, remova-as, se for fácil. Continue enxaguando.

Reagente 1:

H226: Líquido e vapores inflamáveis.

H412: Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados.

Reagente 2:

H318: Provoca lesões oculares graves.

H412: Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados.

Reagente 3/4:

H225: Líquido e vapores altamente inflamáveis

H319: Provoca irritação ocular grave.

H336: Pode provocar sonolência ou vertigem.

Reagente 5:

H226: Líquido e vapores inflamáveis.

Histórico de revisões

Versão	Comentário à modificação
2024-Jul-24	Versão inicial com a introdução do histórico de revisões
2024-Jul-24 V.2	Nenhuma alteração na tradução para português



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-24 V.2

O sector Life Science da Merck opera como MilliporeSigma nos EUA e Canadá.

© 2025 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

1.11885.0001 **REF****Микроскопия****Gram-Color**

набор за оцветяване по Gram

Само за професионална употребаМедицинско изделие за *in vitro* диагностика**Предназначение**

Този „Gram-Color - набор 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 представлява готов за употреба кит, който при употреба заедно с други продукти за *in vitro* диагностика от нашия портфейл прави бактериалните таргетни структури оценени за диагностични цели (Gram-положителни или Gram-отрицателни бактерии) чрез фиксиране, оцветяване, контрастизиране, поставяне върху предметно стъкло в материали от бактериологични проби, например натривки от телесни течности.

Разтворите по Gram-Color 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 бактериите на Gram-положителни и Gram-отрицателни.

Муреиновата структура на бактериалната стена е основата на афините 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 еднослойна муреинова структура и съответно освобождават отново багрилото с разтвора за обезцветяване. Gram-отрицателните бактерии ще бъдат контрастизирани 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 загаряване, като хрчка, натривки от тънко-иглени аспирационни биопсии (FNAB), лаважи, отливки, изливи, гной, ексудати, течни и твърди култури.

Реагенти

Кат. № 1.11885.0001

Gram-Color

набор за оцветяване по Gram

Компоненти в опаковката:

Китът за оцветяване съдържа

Реагент 1:	Кристален виолетов разтвор	500 ml
Реагент 2:	Луголов разтвор, стабилизирани	500 ml
Реагент 3 = 4:	Обезцветяващ разтвор	по 500 ml
Реагент 5:	Сафранин разтвор	500 ml

Единични реагенти

Вместо кита за оцветяване 1.11885.0001 може да се използва следната комбинация от реагенти:

Кат. №	1.09218	Кристален виолетов разтвор по Gram за оцветяване по Gram	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.00567	Луголов разтвор стабилизирани с PVP за оцветяване по Gram	1 l, 2,5 l
Кат. №	1.09261	Луголов разтвор (разреден разтвор на йод-калиев йодид) за оцветяване по Gram	1 l, 2,5 l
Кат. №	1.10218	Обезцветяващ разтвор по Gram за оцветяване по Gram	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.09217	Сафранин разтвор по Gram за оцветяване по Gram	500 ml, 2,5 l

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 загаряване, 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 загаряване 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

Реагенти на Gram-Color - набор за оцветяване по Gram са готови за употреба, не се налага разреждане на разтворите (освен за реагент 1 за оцветяване в клетката за оцветяване - вижте „Процедура“).

Процедура**Оцветяване в клетката за оцветяване**

Препоръчва се реагент 1 (кристалният виолетов разтвор) 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	
Реагент 1 (кристален виолетов разтвор)	1:30 мин.
Течаща чешмяна вода	30 сек.
Реагент 2 (луголов разтвор, стабилизирани)*	3 мин.
Течаща чешмяна вода	20 сек.
Реагент 3 или 4 (обезцветяващ разтвор)**	5 - 10 сек.
Течаща чешмяна вода	30 сек.
Реагент 5 (сафранин разтвор)	1 мин.
Течаща чешмяна вода	1 мин.
Изсушете на въздух (напр. за денонощие или при 50 °C в шкафа за изсушаване)	

* филтрирайте реагент 2 (луголов разтвор, стабилизирани) след 3 цикъла

** изхвърлете реагент 3 или 4 (обезцветяващ разтвор по Gram) след 5 цикъла

Оцветяване на стойката за оцветяване

Предметно стъкло с фиксирана натривка		
Реагент 1 (кристален виолетов разтвор)	покрийте напълно и оставете да протече реакция	1 мин.
Реагент 2 (луголов разтвор, стабилизирани)	изплакнете за кратко	
Реагент 2 (луголов разтвор, стабилизирани)	покрийте напълно и оставете да протече реакция	1 мин.
Дестилирана вода	измийте внимателно	5 сек.
Реагент 3 или 4 (обезцветяващ разтвор)	завъртете внимателно предметните стъкла, докато спрат да се образуват облячета багрило и натривката придобие сиво-син цвят	10 - 15 сек.
Дестилирана вода	измийте внимателно	5 сек.
Реагент 5 (сафранин разтвор)	покрийте напълно и оставете 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 препоръчва 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 >40х.

Оцветяване в автоматичния уред за оцветяване

Оцветяването в автоматизирани системи за оцветяване може да се извърши в съответствие с протокола за оцветяване в клетката за оцветяване.

Резултат

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

Отстраняване на проблеми
Фиксиране на натривките от проби

Достатъчното фиксиране чрез загаряне с помощта на горелка Bunsen или в загарящ шкаф е от основно значение за предотвратяване на инфекциозния потенциал на пробите и последващата пролиферация на бактериите.

Липса на оцветяване на Gram-положителните бактерии

Критичният етап на процедурата за оцветяване по Gram е стъпката за обезцветяване, която може да се повлияе от дебелината на натривката. В допълнение, пресният разтвор за обезцветяване е високо реактивен, поради което резултатът трябва да се оценява внимателно. По време на стъпката за обезцветяване потребителят трябва да се придържа към точните времена за инкубация, описани в протокола, тъй като в противен случай могат да се получат фалшиво отрицателни резултати.

Технически забележки

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

Аналитични работни характеристики

„Gram-Color - набор за оцветяване“ оцветява и следователно визуализира биологични структури, както е описано в главата „Резултат“ на настоящите инструкции за употреба. Продуктът трябва да се използва само от упълномощени и квалифицирани лица, това включва, освен другите неща, подготовка на пробите и реагентите, боравене с пробите, решения по отношение на подходящите контроли и други.

Аналитичните характеристики на продукта са потвърдени чрез тестване на всяка производствена партида.

Аналитичните характеристики са потвърдени за следните оцветявания по отношение на специфичност, чувствителност и повтаряемост 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	16/16	16/16	6/6	6/6
Gram-отрицател- ни микроорга- низми	16/16	16/16	6/6	6/6

Аналитични работни резултати

Данните в рамките на теста (извършени върху една и съща партида) и между тестовите (извършени върху различни партиди) посочват броя правилно оцветени структури спрямо броя на извършените тестове.

Клинични работни характеристики

Gram-Color - набор за оцветяване е използван успешно в клинична среда в продължение на десетилетия при голям брой приложения. Клиничните характеристики на Gram-Color - набор за оцветяване по-специално са определени чрез установяване на чувствителността и специфичността му в собствено проучване:

Gram-положителни микроорганизми

	Оцветяване по Gram
Чувствителност	14/15
Специфичност	15/15

Чувствителност: 14 от 15 проби: 93,3 %
Специфичност: 15 от 15 проби: 100 %

Gram-отрицателни микроорганизми

	Оцветяване по Gram
Чувствителност	15/15
Специфичност	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 надеждно.

Въпреки това диагностичната интерпретация на резултатите от оцветяването трябва да се извършва от квалифицирани и упълномощени специалисти, като се вземат предвид анамнезата на пациента, морфологията, използването на подходящи контроли и допълнителни диагностични тестове, ако е подходящо. Този метод може да се използва допълнително в диагностиката при хора.

Диагностика

Диагнозите следва да се поставят само от упълномощен и квалифициран персонал. Трябва да се използва валидна номенклатура. Този метод може да се използва допълнително в диагностиката при хора. Трябва да се подберат и извършат допълнителни изследвания в съответствие с признати методи.

При всяко приложение трябва да се използват подходящи контроли, за да се избегне неправилен резултат. Китът за оцветяване може да се контролира с Gram-положителни бактерии и Gram-отрицателни бактерии. Трябва да се използват бактерии, взети от културна среда след 18 - 24 часа инкубация.

Съхранение

Съхранявайте Gram-Color - набор 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 бутилката за 2 - 3 часа във водна баня, настроена на прибл. 60 °C. Това ще разтвори отново по-голямата част от утайката. След това филтрирайте разтворите за оцветяване през филтърна хартия.

Срок на годност

Разтвор по Gram-Color - набор 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

Опаковката е достатъчна за до 250 приложения.

Допълнителни инструкции

Само за професионална употреба
За да се избегнат грешки приложението трябва да се извършва самоот квалифициран персонал. Трябва да се следват националните указания за осигуряване на безопасност и качество при работа. Трябва да се използват микроскопи със стандартно оборудване. Ако е необходимо, използвайте стандартна центрофуга, подходяща за медицинска диагностична лаборатория.

Допълнителни инструкции

Само за професионална употреба
За да се избегнат грешки приложението трябва да се извършва самоот квалифициран персонал. Трябва да се следват националните указания за осигуряване на безопасност и качество при работа. Трябва да се използват микроскопи със стандартно оборудване. Ако е необходимо, използвайте стандартна центрофуга, подходяща за медицинска диагностична лаборатория.

Защита от инфекция

Трябва да се вземат ефективни мерки за защита срещу инфекция в съответствие с лабораторните указания.

Инструкции за изхвърляне

Опаковката трябва да се изхвърли в съответствие с актуалните указания за изхвърляне.
Използваните разтвори и разтворите с изтекъл срок на годност трябва да се изхвърлят като специален отпадък в съответствие с местните указания. Информация за изхвърлянето може да се получи от бързия линк „Съвети за изхвърляне на продукти за микроскопия“ от www.microscopy-products.com. В рамките на ЕС е в сила приложимият понастоящем РЕГЛАМЕНТ (ЕК) № 1272/2008 за класификация, обозначаване и опаковане на вещества и смеси, поправящ и заместващ Директиви 67/548/ЕИО и 1999/45/ЕК, и поправящ Регламент (ЕК) № 1907/2006.

Спомагателни реагенти

Кат. №	1.00567	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. №	1.09217	Сафранин разтвор по Грам за оцветяване по Грам	500 ml, 2,5 l
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

Класификация на рисковете

Кат. № 1.11885.0001

Моля, спазвайте класификацията на рисковете, отпечатана на етикета, и информацията, дадена в листа с данни за безопасност.
Листът с данни за безопасност може да се намери в уебсайта и при поискване.

Основни компоненти на продуктите

Кат. № 1.11885.0001

Реагент 1 или Кат. № 1.09218

C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Реагент 2 или Кат. № 1.00567

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

Кат. № 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Реагент 3/4 или Кат. № 1.10218

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

Реагент 5 или 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

- 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
- Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Силно запалими течност и пари.

H318: Предизвиква сериозно увреждане на очите.

H336: Може да предизвика сънливост или световъртеж.

H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект.

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

P233: Съдът да се съхранява плътно затворен.

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

P273: Да се избягва изпускане в околната среда.

P280: Използвайте предпазни ръкавици/ предпазно облекло/ предпазни очила/ предпазна маска за лице.

P305 + P351 + P338: ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването.

Реагент 1:

H226: Запалими течност и пари.

H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект.

Реагент 2:

H318: Предизвиква сериозно увреждане на очите.

H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект.

Реагент 3/4:

H225: Силно запалими течност и пари.

H319: Предизвиква сериозно дразнене на очите.

H336: Може да предизвика сънливост или световъртеж.

Реагент 5:

H226: Запалими течност и пари.

Хронология на редакциите

Версия	Коментар за модификацията
2024-Jul-24	Първоначална версия с въвеждането на хронология на редакциите
2024-Jul-24 V.2	Без промяна в превода на български език



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-24 V.2

Лифе Сциенце подразделение на Merck функционира като MilliporeSigma в САЩ и Канада.

© 2025 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

1.11885.0001 **REF****Mikroszkópia****Gram-Color**

Festőkészlet Gram festéshez

Csak professzionális használatra*In vitro* diagnosztikai orvostechnikai eszköz**Rendeltetés**

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

A Gram-Color-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 fénymikroszkóppal rendkívül nehezen megkülönböztethetők. Ilyen esetekben a színező oldatokkal létrehozott képek segítik az engedélyezett és képzett vizsgálót az alak és a struktúrák jobb meghatározásában. További vizsgálatokat kell végezni elismert, érvényes módszerek szerint, definitív diagnózis felállítására céljából.

Elv

A bakteriológiában a Gram-színezés lehetővé teszi a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok gyors megkülönböztetését.

A baktériumfal murein szerkezete a színeffinitás alapja.

Az első lépésben a baktérium színezése a kristályibolya anilinfestékkel történik. Jódoldattal (Lugol-féle oldat) való kezelés után festék-jód komplex képződik. A szintelenítési lépésben ez a komplex a Gram-pozitív baktérium sejtfal többretegű murein szerkezetében marad - ezek kékibolya színben jelennek meg.

Ezzel szemben a Gram-negatív baktériumok sejtfala egyrétegű murein struktúrából áll, és ennek megfelelően a szintelenítő oldattal kioldódik a színező festék. A Gram-negatív baktériumokat kontrasztszínezik szafuranin oldattal és ezután rózsaszín és piros közötti színben fognak megjelenni.

Mintaanyag

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

Reagens

Kat. sz. 1.11885.0001
Gram-Color
Festőkészlet Gram festéshez

A csomag összetevői:

A színező készlet az alábbiakat tartalmazza

Reagens 1:	Kristályibolya oldat	500 ml
Reagens 2:	Lugol-oldat, stabilizált	500 ml
Reagens 3 = 4:	Szintelenítő oldat	mindegyik 500 ml
Reagens 5:	Szafranin oldat	500 ml

Egyedi reagens

Az 1.11885.0001 sz. színező készlet helyett a reagens alábbi kombinációja használható:

Kat. sz.	1.09218	Gram's kristályibolya solution	500 ml, 2,5 l
		Gram festéshez	
Kat. sz.	1.00567	Lugol-oldat PVP-vel stabilizálva,	1 l, 2,5 l
		Gram-festéshez	
Kat. sz.	1.09261	Lugol-oldat (híg jód/kálium-jodid oldat)	1 l, 2,5 l
		Gram festéshez	
Kat. sz.	1.10218	Gram-féle szintelenítő oldat	500 ml, 2,5 l
		Gram festéshez	
Kat. sz.	1.09217	Gram's szafranin solution	500 ml, 2,5 l
		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 hőrozgítását 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 Gram-Color - Festőkészlet Gram festéshez reagens használatra kész, az oldatok hígítása (kivéve reagens 1 a cellában történő színezést - lásd "Eljárás") nem szükséges.

Eljárás**Színezés a színező cellában**

Javasolt a reagens 1 (kristályibolya 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	
Reagens 1 (kristályibolya oldat)	1:30 perc
Folyó csapvízben	30 sec
Reagens 2 (Lugol-oldat, stabilizált)*	3 perc
Folyó csapvízben	20 sec
Reagens 3 vagy 4 (szintelenítő oldat)**	5 - 10 sec
Folyó csapvízben	30 sec
Reagens 5 (szafranin oldat)	1 perc
Folyó csapvízben	1 perc
Levegőn szárítás (pl. egy éjszakán át vagy 50°C-on szárítószekrényben)	

* 3 menet után szűrje le a reagens 2 (Lugol-féle oldat, stabilizált)

** dobja ki a reagens 3 vagy 4 (Gram-féle szintelenítő oldat) 5 menet után

Színezés a színező állványon

Tárgylemez rögzített kenettel		
Reagens 1 (kristályibolya oldat)	fedje le teljesen és hagyja reagálni	1 perc
Reagens 2 (Lugol-oldat, stabilizált)	röviden öblítse	
Reagens 2 (Lugol-oldat, stabilizált)	fedje le teljesen és hagyja reagálni	1 perc
Desztillált víz	mossa gondosan	5 sec
Reagens 3 vagy 4 (szintelenítő oldat)	óvatosan mozgassa a tárgylemezeket, amíg nem keletkezik további színezékelhő, és a kenet szürkés-kék színű nem lesz	10 - 15 sec
Desztillált víz	mossa gondosan	5 sec
Reagens 5 (szafranin 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 befolyásolhat a kenet vastagsága. Ráadásul a friss színtelenítő oldat rendkívül reakcióképes, ezért az eredményt gondosan kell értékelni. A színtelenítési lépés alatt a felhasználók be kell tartásuk a protokollban leírt pontos inkubációs időket, egyébként hamis negatív eredményeket kaphatnak.

Műszaki megjegyzések

A használt mikroszkóp meg kell feleljen az orvosi diagnosztikai laboratórium követelményeinek.

Kérjük, automatikus színezési rendszerek használata esetén kövesse a rendszer és a szoftver gyártójának utasításait.

Feltöltés előtt távolítsa el a többlet immerziós olajat.

Analitikai teljesítményjellemzők

“Gram-Color - festőkészlet” színei és ezáltal láthatóvá teszi a biológiai struktúrákat, amint ismertetjük ezen Használati utasítás “Eredmény” c. fejezetében. Csak engedélyezett és kiképzett személyek hajthatják végre a termék használatát, többek között a minta- és reagens-előkészítést, a mintafeldolgozást, és hozhatnak a megfelelő kontrollokra vonatkozó döntéseket és még sok mást.

A termék analitikai teljesítményét meg kell erősíteni minden termékfűrdő ellenőrzésével.

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

	Inter-assay specifititás	Inter-assay érzékenység	Intra-assay specifititás	Intra-assay érzékenység
Gram-féle színezés				
Gram-pozitív mikroorganizmusok	16/16	16/16	6/6	6/6
Gram-negatív mikroorganizmusok	16/16	16/16	6/6	6/6

Analitikai teljesítmény eredmények

Intra- (ugyanabban az adagban végrehajtva) és inter-assay (különböző adagokban végrehajtva) adatok megadják a helyesen színezett struktúrák számát a végrehajtott vizsgálatok számának arányában.

Klinikai teljesítményjellemzők

A Gram-Color - festőkészlet évtizedek óta sikeresen használják klinikai környezetben nagyszámú alkalmazásban.

Különösképpen a Gram-Color - festőkészlet vonatkozóan egy házon belüli vizsgálatban megállapították az érzékenységet és a specifitást a klinikai teljesítmény meghatározásához:

Gram-pozitív mikroorganizmusok

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

Érzékenység: 14 minta 15 közül: 93,3 %

Specifititás: 15 minta 15 közül: 100 %

Gram-negatív mikroorganizmusok

	Gram-féle színezés
Érzékenység	15/15
Specifititás	15/15

Érzékenység: 15 minta 15 közül: 100 %

Specifititás: 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 kultúrákőzgeből 18 - 24 óra inkubáció után kivett baktériumok használndók.

Tárolás

Tárolja a Gram-Color - Festőkészlet 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-Color - Festőkészlet Gram festéshez használható a megadott lejáratí ideig.

A palack első felnyitása után a tartalom használható a megadott lejárati ideig, ha a tárolás +15 °C - +25 °C hőmérsékleten történt.

A palackokat mindig szorosan lezárva kell tartani.

Kapacitás

A csomag tartalma maximum 250 alkalmazásra elegendő.

További utasítások

Csak professzionális használatra.

Hibák elkerülése végett az alkalmazást csak kiképzett személyzet hajthatja végre.

A munka biztonságára és a minőségbiztosításra vonatkozó országos útmutatókat be kell tartani.

A szabványnak megfelelően felszerelt mikroszkópokat kötelező használni. Ha szükséges, használjon orvosi diagnosztikai laboratóriumban alkalmazható, szokásos centrifugát.

Fertőzés elleni védelem

Hatékony intézkedéseket kell tenni a fertőzés elleni védelemre, a laboratóriumi útmutatókkal összhangban.

Megsemmisítési utasítások

A csomagot az aktuális megsemmisítési útmutatókkal összhangban kell megsemmisíteni.

A használt oldatokat, illetve a lejárt szavatossági idejű oldatokat speciális hulladékként kell megsemmisíteni, a helyi útmutatásokkal összhangban.

Megsemmisítésre vonatkozó információ kapható a www.microscopy-products.com oldalról, a “Hints for Disposal of Microscopy Products” (Ötletek mikroszkópiai termékek megsemmisítésére) gyors hivatkozás alatt. Az EU jelenleg érvényes, anyagok és keverékek osztályozására, címkézésére és csomagolására vonatkozó, 1272/2008. sz RENDELETE (EC) van érvényben, amely javítja és hatályon kívül helyezi a 67/548/EEC és 1999/45/EC direktívákat, és javítja az (EC) 1907/2006. sz rendeletet.

Kiegészítő 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.	1.09217	Gram-féle szafranin oldat Gram festéshez	500 ml, 2,5 l
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

Veszélyminősítés

Kat. sz. 1.11885.0001

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

A termékek fő összetevői

Kat. sz. 1.11885.0001

Reagens 1 vagy Kat. sz. 1.09218

C.I. 42555 10 g/l
 C_6H_5OH 4 g/l
 1 l = 0,99 kg

Reagent 2 vagy Kat. sz. 1.00567

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

Kat. sz. 1.09261

I_2 3,4 g/l
 KI 6,8 g/l
 1 l = 1,01 kg

Reagens 3/4 vagy Kat. sz. 1.10218

C_2H_6O 634 g/l
 C_3H_6O 159 g/l
 1 l = 0,79 kg

Reagens 5 vagy 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H318: Súlyos szemkárosodást okoz.

H336: Álmosságot vagy szédülést okozhat.

H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

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.

P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280: Védőkesztyű/ védőruha/ szemvédő/ arcvédő/ hallásvédelem.

P305 + P351 + P338: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

Reagens 1:

H226: Tűzveszélyes folyadék és gőz.

H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

Reagens 2:

H318: Súlyos szemkárosodást okoz.

H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

Reagens 3/4:

H225: Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H319: Súlyos szemirritációt okoz.

H336: Álmosságot vagy szédülést okozhat.

Reagens 5:

H226: Tűzveszélyes folyadék és gőz.

Felülvizsgálati előzmények

verzió	Módosítással kapcsolatos megjegyzé
2024-Jul-24	A Felülvizsgálati előzmények bevezetésével készült első változat
2024-Jul-24 V.2	Nincs változás a magyar fordításban



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-24 V.2

A Merck Life Science üzletága az USA-ban és Kanadában MilliporeSigma néven működik.

© 2025 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

1.11885.0001 **REF**

Mikroskopija

Gram-Color

krāsošanas komplekts krāsošanai pēc Grama metodes

Tikai profesionālai lietošanai

IVD *in vitro* diagnostikas medicīniska ierīce



Paredzētais pielietojums

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

Gram-Color šķidumi 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 šķidrumiem 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 grampozitīvu un gramnegatīvu baktēriju diferencēšanu.

Krāsu afinitāti nosaka atšķirīgā peptidoglikānu struktūra baktēriju sienā. Pirmās darbības laikā baktērijas krāso ar anilīna krāsu - kristālvioleto. Pēc apstrādes ar joda šķidrumu (Lugola šķidums) 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 siena sastāv no viena peptidoglikānu slāņa un, līdz ar to, krāsvielu atbrīvojas, apstrādājot ar atkrāsošanas šķidrumu. Gramnegatīvo baktēriju kontrastkrāsošanai izmanto safranīna šķidrumu, 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. 1.11885.0001

Gram-Color

krāsošanas komplekts krāsošanai pēc Grama metodes

Iepakojuma sastāvdaļas:

Krāsošanas komplektā iekļauts

Reaģents 1:	Kristālvioletā šķidums	500 ml
Reaģents 2:	Lugola šķidums, stabilizēts	500 ml
Reaģents 3 = 4:	Atkrāsošanas šķidums	katrs 500 ml
Reaģents 5:	Safranīna šķidums	500 ml

Atsevišķi reaģenti

Krāsošanas komplekta 1.11885.0001 vietā var izmantot šādu reaģentu kombināciju:

Kat. nr.	1.09218	Grama kristālvioletā šķidums krāsošanai pēc Grama metodes	500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.00567	Lugola šķidums, kas stabilizēts ar PVP, krāsošanai pēc Grama metodes	1 l, 2,5 l
Kat. nr.	1.09261	Lugola šķidums (atšķaidīts joda-kālija jodīda šķidums) krāsošanai pēc Grama metodes	1 l, 2,5 l
Kat. nr.	1.10218	Grama atkrāsošanas šķidums krāsošanai pēc Grama metodes	500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.09217	Grama safranīna šķidums krāsošanai pēc Grama metodes	500 ml, 2,5 l

Parauga sagatavošana

Paraugs jāpaņem kvalificētam personālam.

Izmantojot rūdīta metāla cilpu, uzlieciet parauga materiālu uz tīra un attaukota priekšmetstikliņa. Tad vai nu tūlīt izsmērējiet materiālu uz priekšmetstikliņa, vai arī vispirms sajauciet ar 1 – 2 pilieniem fizioloģiskā šķiduma (Ringera šķidums). Nožāvējiet gaisā un pēc tam fiksējiet ar karstumu, trīs reizes lēnām pārvietojot priekšmetstikliņu (ar iztriepes pusi uz augšu) caur Bunsena degļa liesmas augšējo daļu. Pēc tam ļaujiet atdzist un krāsojiet. Gaisā nožāvētās iztriepes ar karstumu jāfiksē ļoti rūpīgi. Šī fiksācija darbojas kā infekciju profilakse un samazina parauga materiāla krāsas izmaiņas un, līdz ar to - šķidrumu un citu priekšmetstikliņu piesārņojumu.

Strādājot ar visiem paraugiem, jāizmanto modernākās tehnoloģijas.

Visi paraugi skaidri jāmarķē.

Paraugu paņemšanai un sagatavošanai jāizmanto piemēroti instrumenti.

Ievērojiet ražotāja norādījumus par pielietojumu/lietošanu.

Ja izmantojat atbilstošus papildu reaģentus, jāievēro atbilstošā lietošanas instrukcija.

Reaģentu sagatavošana

Krāsošanai izmantotā "Gram-Color - krāsošanas komplekts krāsošanai pēc Grama metodes" reaģenti ir gatavi lietošanai, šķidrumu atšķaidīšana (izmērot reaģents 1, lai veiktu krāsošanu krāsošanas traukā - skatīt „Procedūra”) nav nepieciešama.

Procedūra

Krāsošana krāsošanas traukā

Ja tiek izmantota imersijas metode, reaģents 1 (kristālvioletā šķidums) ieteicams atšķaidīt ar destilētu ūdeni attiecībā 1:3.

Priekšmetstikliņi jāiemērc un mazliet jāpakustina šķidrumos, tikai iemērkšana nenodrošina atbilstošus krāsošanas rezultātus.

Pēc katras krāsošanas darbības priekšmetstikliņiem jāļauj pilnībā notecēt, lai nepieļautu nevajadzīgu savstarpēju piesārņojumu ar šķidrumiem.

Lai nodrošinātu optimālu krāsošanas rezultātu, jāievēro norādītie laiki.

Priekšmetstikliņš ar fiksētu iztriepi	
Reaģents 1 (kristālvioletā šķidums)	1:30 min.
Tekošs krāna ūdens	30 sek.
Reaģents 2 (Lugola šķidums, stabilizēts)*	3 min.
Tekošs krāna ūdens	20 sek.
Reaģents 3 vai 4 (atkrāsošanas šķidums)**	5 - 10 sek.
Tekošs krāna ūdens	30 sek.
Reaģents 5 (safranīna šķidums)	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 reaģents 2 (Lugola šķidums, stabilizēts)

** pēc 5 cikliem likvidējiet reaģents 3 vai 4 (atkrāsošanas šķidums)

Krāsošana uz krāsošanas statīv

Priekšmetstikliņš ar fiksētu iztriepi		
Reaģents 1 (kristālvioletā šķidums)	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	1 min.
Reaģents 2 (Lugola šķidums, stabilizēts)	īsi noskalojiet	
Reaģents 2 (Lugola šķidums, stabilizēts)	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	1 min.
Destilēts ūdens	rūpīgi nomazgājiet	5 sek.
Reaģents 3 vai 4 (atkrāsošanas šķidums)	uzmanīgi rotējiet priekšmetstikliņus, kamēr krāsa vairs nenoskalojas un iztriepe iekrāsojas pelēcīgi zilā krāsā	10 - 15 sek.
Destilēts ūdens	rūpīgi nomazgājiet	5 sek.
Reaģents 5 (safranīna šķidums)	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 segstikliņu. Šim nolūkam nokrāsotie priekšmetstikliņi ļoti labi jānožāvē.

Galvenās izstrādājumus sastāvdaļas

Kat. nr. 1.11885.0001

Reaģents 1 vai Kat. nr. 1.09218

C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reaģents 2 vai Kat. nr. 1.00567

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

Kat. nr. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reaģents 3/4 vai Kat. nr. 1.10218

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

Reaģents 5 vai 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 negatīvs, 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

H318: Izraisa nopietnus acu bojājumus.

H336: Var izraisīt miegainību vai reibošus.

H412: Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.

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.

P273: Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.

P280: Izmantot aizsargcimdus/ aizsargapģērbu/ acu aizsargus/ sejas aizsargus.

P305 + P351 + P338: SASKARĒ AR ACĪM: Uzmanīgi izskalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to var vienkārši izdarīt. Turpināt skalot.

Reaģents 1:

H226: Uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

H412: Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.

Reaģents 2:

H318: Izraisa nopietnus acu bojājumus.

H412: Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.

Reaģents 3/4:

H225: Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

H319: Izraisa nopietnu acu kairinājumu.

H336: Var izraisīt miegainību vai reibošus.

Reaģents 5:

H226: Uzliesmojošs šķidrums un tvaiki.

Pārskatījumu vēsture

Versija	Izmaiņu komentārs
2024-Jul-24	Sākotnējā versija ar pārskatījumu vēstures pievienošanu
2024-Jul-24 V.2	Nav izmaiņu latviešu tulkojumā



Skatīt lietošanas instrukciju



Ražotājs



Kataloga numurs



Sērijas kods



Uzmanību! Skatīt pievienotos dokumentus



Izlietot līdz GGGG-MM-DD



Temperatūras ierobežojums

Status: 2024-Jul-24 V.2



1.11885.0001 **REF**

Mikroskopija

Gram-Color

dažymo rinkinys, skirtas Gramo dažymo metodui

Tik profesionaliam naudojimui**IVD** *In vitro* diagnostikos medicinos priemonė

Numatytoji paskirtis

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

Gram-Color 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 daugiasluoksnyje gramteigiamų bakterijų ląstelės sienelės mureino struktūroje – jos atrodys mėlynai violetinės spalvos.

O gramneigiamų bakterijų ląstelės sienelę sudaro vienasluoksnyje 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, išspaudai, efuzijos, pūliai, eksudatai, skystos ir kietos kultūros

Reagentai

Kat. Nr. 1.11885.0001

Gram-Color
dažymo rinkinys, skirtas Gramo dažymo metodui

Pakuotės komponentai:

Dažymo rinkinio sudėtis

Reagentas 1:	Kristalinio violeto tirpalas	500 ml
Reagentas 2:	Lugol tirpalas, stabilizuotas	500 ml
Reagentas 3 = 4:	Spalvos šalinimo tirpalas	kiekvienas 500 ml
Reagentas 5:	Safranino tirpalas	500 ml

Atskiri reagentai

Vietoj dažymo rinkinio 1.11885.0001 galima naudoti šį reagentų derinį:

Kat. Nr.	1.09218	Gramo kristalinio violeto tirpalas skirtas Gramo dažymo metodui	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.00567	Lugol tirpalas, stabilizuotas naudojant PVP skirtas Gramo dažymo metodui	1 l, 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.	1.09217	Gramo safranino tirpalas skirtas Gramo dažymo metodui	500 ml, 2,5 l

Mėginių paruošimas

Mėginius turi paimti kvalifikuoti darbuotojai.

Ant švaraus ir neriebaluoto stiklio uždėkite ėminio medžiagą, naudodami atkaitintą kilpelę. Tada užtepkite medžiagą tiesiai ant stiklio arba iš pradžių sumaišykite su 1–2 lašais fiziologinio druskos tirpalo (Ringerio tirpalo). Išdžiovinkite ore ir tada termiškai užfiksuokite, tris kartus lėtai traukdami stiklį (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 stiklelių užteršimas.

Visi mėginiai turi būti apdorojami naudojant pažangiausias technologijas. Visi mėginiai turi būti aiškiai sužymėti.

Mėginiams imti ir ruošti turi būti naudojami tinkami instrumentai. Laikykites gamintojo pateiktų taikymo ir naudojimo instrukcijų.

Naudojant atitinkamus pagalbinus reagentus, būtina laikytis atitinkamų naudojimo instrukcijų.

Reagentų paruošimas

Dažymo reagentai iš Gram-Color - dažymo rinkinys, skirtas Gramo dažymo metodui, yra paruošti naudoti, tirpalų skiesti (išskyrus reagentas 1 skirtas dažymą dažymo kameroje, žr. „Procedūra“) nereikia.

Procedūra

Dažymas dažymo kameroje

Rekomenduojama reagentas 1 (kristalinio violeto tirpalą) atskiesti distiliuotu vandeniu 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	
Reagentas 1 (kristalinio violeto tirpalas)	1:30 min
Tekantis vanduo iš čiaupo	30 sek
Reagentas 2 (Lugol tirpalas, stabilizuotas)*	3 min
Tekantis vanduo iš čiaupo	20 sek
Reagentas 3 vai 4 (spalvos šalinimo tirpalas)**	5 - 10 sek
Tekantis vanduo iš čiaupo	30 sek
Reagentas 5 (safranino tirpalas)	1 min
Tekantis vanduo iš čiaupo	1 min
Džiovinkite ore (pvz., per naktį arba 50 °C temperatūroje džiovinimo spintoje)	

* filtruokite reagentas 2 (Lugol tirpalas, stabilizuotas) po 3 panaudojimų

** išmeskite Gramo spalvos šalinimo tirpalą po 5 panaudojimų

Dažymas ant dažymo stovo

Stiklelis su fiksuotu tepinėliu		
Reagentas 1 (kristalinio violeto tirpalas)	visiškai uždenkite ir palikite, kad vyktų reakcija	1 min
Reagentas 2 (Lugol tirpalas, stabilizuotas)	trumpai skalaukite	
Reagentas 2 (Lugol tirpalas, stabilizuotas)	visiškai uždenkite ir palikite, kad vyktų reakcija	1 min
Distiliuotas vanduo	atidžiai išplaukite	5 sek
Reagentas 3 vai 4 (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
Reagentas 5 (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

„Gram-Color - dažymo rinkinys“ nudažo ir taip vizualizuoja biologines struktūras, kaip aprašyta šios naudojimo instrukcijos skyriuje „Rezultatai“. Gaminį gali naudoti tik įgalioti ir kvalifikuoti asmenys, įskaitant, be kita ko, mėginių ir reagentų ruošimą, mėginių tvarkymą, sprendimus dėl tinkamų kontrolės priemonių ir kt.

Gaminio analitinis veiksmingumas patvirtinamas tiriant kiekvieną pagamin-tą partiją.

Toliau išvardytiems dažymo atvejams gaminio specifiškumo, jautrumo ir pakartojamumo analitinis veiksmingumas buvo patvirtintas 100 %:

	Tyrimų tarpusavio specifišku-mas	Tyrimų tarpusavio jautrumas	Tyrimo vidinis specifišku-mas	Tyrimo vidinis jau-trumas
Gramo dažymas				
Gramteigiami mikroorganizmai	16/16	16/16	6/6	6/6
Gramneigiami mikroorganizmai	16/16	16/16	6/6	6/6

Analitinio veiksmingumo rezultatai

Duomenys apie teisingai nudažytų struktūrų skaičių, palyginti su atliktų tyrimų skaičiumi, pateikiami tyrimo viduje (su ta pačia partija) ir tarp tyrimų (su skirtingomis partijomis).

Klinikinio veiksmingumo savybės

Gram-Color - dažymo rinkinys ištisus dešimtmečius sėkmingai ir įvairiai naudojamas klinikinėje praktikoje.

Klinikinis Gram-Color - dažymo rinkinys veiksmingumas buvo nustatytas atlikus vidinį tyrimą ir nustačius jo jautrumą ir specifiškumą:

Gramteigiami mikroorganizmai

	Gramo dažymas
Jautrumas	14/15
Specifiškumas	15/15

Jautrumas: 14 mėginių iš 15: 93,3 %

Specifiškumas: 15 mėginių iš 15: 100 %

Gramneigiami mikroorganizmai

	Gramo dažymas
Jautrumas	15/15
Specifiškumas	15/15

Jautrumas: 15 mėginių iš 15: 100 %

Specifiškumas: 15 mėginių iš 15: 100 %

Šio veiksmingumo vertinimo rezultatai patvirtina, kad gaminytis yra tinkamas naudoti pagal paskirtį ir veikia patikimai.

Tačiau diagnostinę dažymo rezultatų interpretaciją turi atlikti kvalifikuoti ir įgalioti specialistai, atsižvelgdami į paciento anamnezę, morfologiją, tinkamą kontrolę ir, jei reikia, papildomus diagnostinius tyrimus. Šis metodas gali būti papildomai naudojamas žmonių diagnostikai.

Diagnostika

Diagnozę turi nustatyti tik įgalioti ir kvalifikuoti darbuotojai. Turi būti naudojamos tinkamos klasifikacijos. Šis metodas gali būti papildomai naudojamas žmonių diagnostikai. Papildomi tyrimai turi būti parenkami ir atliekami pagal pripažintus metodus.

Kad būtų išvengta neteisingų rezultatų, kiekvieno naudojimo metu turėtų būti taikomi tinkami kontrolės metodai.

Dažymo rinkinys gali būti kontroliuojamas naudojant gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas.

Turi būti naudojamos bakterijos, paimtos iš terpės po 18–24 valandų inkubacijos.

Laikymas

Laikykite Gram-Color - dažymo rinkinys, 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

Gram-Color - dažymo rinkinys, 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.

Išėiga

Pakuotės užtenka iki 250 panaudojimų.

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

Pavojingumo klasifikacija

Kat. Nr. 1.11885.0001

Laikykites etiketėje išspausdintos pavojingumo klasifikacijos ir saugos duomenų lape pateiktos informacijos.

Saugos duomenų lapą galima rasti svetainėje arba specialiai paprašyti.

.

Pagrindiniai gaminių komponentai

Kat. Nr. 1.11885.0001
Reagentas 1 vai Kat. Nr. 1.09218
C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reagentas 2 vai Kat. Nr. 1.00567
PVP-jodas 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Kat. Nr. 1.09261
I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reagentas 3/4 vai Kat. Nr. 1.10218
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reagentas 5 vai 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Labai degūs skystis ir garai.
H318: Smarkiai pažeidžia akis.
H336: Gali sukelti mieguistumą arba galvos svaigimą.
H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

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.
P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką.
P280: Mūvėti apsaugines pirštines/ dėvėti apsauginius drabužius/ naudoti akių(veido) apsaugos priemones.
P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Reagentas 1:
H226: Degūs skystis ir garai.
H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

Reagentas 2:
H318: Smarkiai pažeidžia akis.
H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

Reagentas 3/4:
H225: Labai degūs skystis ir garai.
H319: Sukelia smarkų akių dirginimą.
H336: Gali sukelti mieguistumą arba galvos svaigimą.

Reagentas 5:
H226: Degūs skystis ir garai.

Peržiūrų istorija

Versija	Pakeitimo komentaras
2024-Jul-24	Pradinė versija su peržiūrų istorijos įžanga
2024-Jul-24 V.2	Lietuvių kalbos vertimo pakeitimų neatlikta

Žiūrėkite naudojimo instrukciją

Gamintojas

Katalogo numeris

Partijos kodas

Perspėjimas, susipažinkite su priedamais dokumentais

Naudoti iki MMM-MM-DD

Temperatūros apribojimas

Status: 2024-Jul-24 V.2

„Merck“ Life Science verslas JAV ir Kanadoje veikia pavadinimu „MilliporeSigma“.

© 2025 „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.

1.11885.0001 **REF**

Mikroskopi

Gram-Color

fargingssett for Gram-farging

Kun til profesjonell bruk**IVD** Medisinsk enhet til *in vitro*-diagnostikk

Tiltenkt formål

Denne "Gram-Color – fargingssett for Gram-farging" brukes til medisinsk cellediagnostisering hos mennesker og bidrar til bakteriologisk undersøkelse av prøvemateriale fra mennesker. Det er et bruksklart fargingssett som, når den brukes sammen med andre produkter til *in vitro*-diagnostikk fra vår portefølje, gjør at bakterielle målstrukturer kan evalueres til diagnostiske formål (grampositive eller gramnegative bakterier) ved hjelp av fiksering, farging, kontrastfarging, montering i bakteriologiske og histologiske prøve-materialer, for eksempel utstryk fra kroppsvæsker.

Gram-Color løsningene er modifisert og utformet slik at fargingen kan utføres i fargingsceller, på fargingsstativet og i et automatisk fargingssystem. Ufargede strukturer har relativt lav kontrast og er ekstremt vanskelige å skjelne under lysmikroskopet. Bildene som opprettes ved bruk av fargings-løsningene 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.

Bakterieveggens 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. 1.11885.0001
Gram-Color
fargingssett for Gram-farging

Komponenter i pakningen:

Fargingssettet inneholder

Reagens 1:	Krystallfiolettløsning	500 ml
Reagens 2:	Lugols løsning, stabilisert	500 ml
Reagens 3 = 4:	Avfargingsløsning	hver 500 ml
Reagens 5:	Safraninløsning	500 ml

Enkeltreagenser

I stedet for fargingssettet 1.11885.0001 kan følgende kombinasjon av reagenser brukes:

Kat.nr.	1.09218	Grams krystallfiolettløsning for Gram-fargemetode	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.00567	Lugols løsning stabilisert med PVP for gramfarging	1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.09261	Lugols løsning (fortynnet jod-kaliumjodid 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.	1.09217	Grams safraninløsning for Gram-fargemetode	500 ml, 2,5 l

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

Reagens i Gram-Color – fargingssett for Gram-farging brukt til farging er bruksklare. Fortynning av løsningene (bortsett reagens 1 fra farging i fargingscellen – se "Prosedyre") er ikke nødvendig.

Prosedyre

Farging i fargingscellen

Det er anbefalt å fortynne den reagens 1 (krystallfiolettløsning) 1:3 med destillert vann hvis bløtleggingsmetoden brukes.

Objektglassene skal senkes ned i og beveges raskt rundt i løsningene. Kun nedsenking gir tilstrekkelige 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	
Reagens 1 (krystallfiolettløsning)	1:30 minutter
Rennende vann fra springen	30 sekunder
Reagens 2 (Lugols løsning, stabilisert)*	3 minutter
Rennende vann fra springen	20 sekunder
Reagens 3 eller 4 (avfargingsløsning)**	5 - 10 sekunder
Rennende vann fra springen	30 sekunder
Reagens 5 (safraninløsning)	1 minutt
Rennende vann fra springen	1 minutt
Lufttørk (f.eks. over natten eller ved 50 °C i tørkeskapet)	

* filtrer reagens 2 (Lugols løsning, stabilisert) etter 3 kjøringer

** kasser den avfargende Grams avfargingsløsningen etter 5 kjøringer

Farging på fargingsstativet

Objektglass med fiksert utstryk		
Reagens 1 (krystallfiolettløsning)	dekk helt og la reaksjonen inntreffe	1 minutt
Reagens 2 (Lugols løsning, stabilisert)	skyll raskt	
Reagens 2 (Lugols løsning, stabilisert)	dekk helt og la reaksjonen inntreffe	1 minutt
Destillert vann	vask grundig	5 sekunder
Reagens 3 eller 4 (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
Reagens 5 (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 protokollen 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

“Gram-Color – fargingssett” 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 produktionsparti.

For følgende fargingen 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	16/16	16/16	6/6	6/6
Gramnegative mikroorganismer	16/16	16/16	6/6	6/6

Analytiske ytelsesresultater

Data fra intraanalyser (utført på samme parti) og interanalyser (utført på forskjellige partier) lister opp antallet korrekt fargede strukturer sammenlignet med antallet utførte analyser.

Kliniske ytelsesegenskaper

Det Gram-Color – fargingssett har blitt brukt med suksess i det kliniske miljøet i flere tiår i mange ulike bruksområder.

Den kliniske ytelsen til det Gram-Color – fargingssett 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 Gram-Color – fargingssett for Gram-farging ved +15 °C til +25 °C.

Ved temperaturer under 15 °C kan et farget bunnfall utfelles fra fargingsløsningene. Hvis det oppstår bunnfall, må du plassere flasken i et vannbad i 2–3 timer ved ca. 60 °C. Dette vil løse opp mesteparten av bunnfallet. Deretter filtrerer du fargingsløsningene gjennom et papirfilter.

Holdbarhet

Gram-Color – fargingssett for Gram-farging 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

Pakningen er tilstrekkelig til opptil 250 appliseringer.

Ytterligere instruksjoner

Kun til profesjonell bruk.

For å unngå feil må applisering kun utføres av kvalifisert personell. Nasjonale retningslinjer for arbeidssikkerhet og kvalitetssikring må følges. Mikroskopene som brukes må være utstyrt i samsvar med standarden. Ved behov må du bruke en standard sentrifuge som er egnet for et medisinsk diagnostisk laboratorium.

Beskyttelse mot infeksjon

Effektive tiltak må tas for å beskytte mot infeksjon i samsvar med laboratoriets retningslinjer.

Instruksjoner for kassering

Pakningen skal kasseres i samsvar med gjeldende retningslinjer for kassering.

Brukte løsninger og løsninger som har gått ut på dato må kasseres som spesialavfall i samsvar med lokale retningslinjer. Informasjon om kassering kan skaffes under hurtigkoblingen “Hints for Disposal of Microscopy Products” (Tips for kassering av mikroskopiprodukter) på www.microscopy-products.com. I EU gjelder den nåværende FORORDNING (EF) nr. 1272/2008 om klassifisering, merking og emballering av stoffer og blandinger, endring og avskaffing av direktiv 67/548/EØF og 1999/45/EF og endring av forordning (EF) nr. 1907/2006.

Hjelpereagenser

Kat.nr.	1.00567	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.	1.09217	Grams safraninløsning for Gram-fargemetode	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.09218	Grams krystallfiolettløsning 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

Fareklassifikasjon

Kat.nr. 1.11885.0001

Overhold fareklassifikasjonen som er trykt på etiketten og informasjonen i sikkerhetsdatabladet.

Sikkerhetsdatabladet er tilgjengelig på nettstedet og på anmodning.

Hovedkomponenter i produktene

Kat.nr. 1.11885.0001

Reagens 1 eller Kat.nr. 1.09218

C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reagens 2 eller Kat.nr. 1.00567

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

Kat.nr. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reagens 3/4 eller Kat.nr. 1.10218

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

Reagens 5 eller 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Meget brannfarlig væske og damp.

H318: Gir alvorlig øyeskade.

H336: Kan forårsake døsighet eller svimmelhet.

H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

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

P233: Hold beholderen tett lukket.

P240: Beholder og mottaksutstyr jordes/potensialutlignes.

P273: Unngå utslipp til miljøet.

P280: Bruk vernehansker/ verneklær/ øyebeskyttelse/ ansiktsbeskyttelse.

P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.

Reagens 1:

H226: Brannfarlig væske og damp.

H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

Reagens 2:

H318: Gir alvorlig øyeskade.

H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

Reagens 3/4:

H225: Meget brannfarlig væske og damp.

H319: Gir alvorlig øyeirritasjon.

H336: Kan forårsake døsighet eller svimmelhet.

Reagens 5:

H226: Brannfarlig væske og damp.

Revisjonshistorikk

Versjon	Endringskommentar
2024-Jul-24	Opprinnelig versjon med innføring av revisjonshistorikk
2024-Jul-24 V.2	Ingen endring i norsk oversettelse



Se bruksanvisningen



Produsent



Katalognummer



Partikode



Forsiktig, se medfølgende dokumenter



Brukes innen DD.MM.ÅÅÅÅ



Temperaturbegrensning

Status: 2024-Jul-24 V.2

Life Science-virksomheten til Merck drives under navnet MilliporeSigma i USA og Canada.

© 2025 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

1.11885.0001 **REF**

Microscopy

Gram-Color

Farbiaca súprava pre Gramovu farbiacu metódu

Iba na profesionálne použitie

Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro*

Určený účel

Tento „Gram-Color - Farbiaca súprava pre Gramovu farbiacu metódu“ 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.

Gram-Color roztoky sú modifikované a navrhnuté tak, aby sa mohlo farbenie vykonávať vo farbiacich 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 ošetrení jódom roztokom (Lugolov roztok) sa vytvorí komplex farbiva a jódu. Počas kroku dekolorizácie zostáva tento komplex vo viacvrstvovej mureínovej štruktúre bunkovej steny grampozitívnych baktérií - tie sa zobrazia ako modrofialové. Oproti tomu gramnegatívne baktérie majú bunkovú stenu vytvorenú z jednovrstvovej mureínovej štruktúry a zodpovedajúcim spôsobom opätovne uvoľňujú farbivo s dekoloračným roztokom. Gramnegatívne baktérie sa sfarbia 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. 1.11885.0001

Gram-Color

Farbiaca súprava pre Gramovu farbiacu metódu

Komponenty balenia:

Obsah súpravy na farbenie

Reagencia 1:	Roztok kryštálovej violeti	500 ml
Reagencia 2:	Lugolov roztok, stabilizovaný	500 ml
Reagencia 3 = 4:	Odfarbovací roztok	každý 500 ml
Reagencia 5:	Roztok safranínu	500 ml

Jednotlivé reagencie

Namiesto farbiacej súpravy 1.11885.0001 možno použiť nasledujúcu kombináciu reagencií:

Kat. č.	1.09218	Gramov roztok kryštálovej violeti pre Gramovu metódu farbenia	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.00567	Lugolov roztok stabilizovaný PVP, na farbenie podľa Grama	1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.09261	Lugolov roztok (zriedený roztok jódu a jodidu 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.	1.09217	Gramov roztok safranínu pre Gramovu metódu farbenia	500 ml, 2,5 l

Príprava vzorky

Odber vzoriek musí robiť kvalifikovaný personál.

Pomocou žihacej slučky naneste materiál vzorky na čisté a odmastené sklíčko. Materiál následne naneste buď priamo na podložné sklíčko, alebo ho najprv zmiešajte s 1 - 2 kvapkami fyziologického roztoku (Ringerov roztok). Vysušte na vzduchu a potom trikrát tepelne fixujte pomalým ťahaním sklíčka (stranou so sterom nahor) cez hornú časť plameňa Bunsenovho horáka. Nakoniec nechajte vychladnúť a zafarbiť.

Stery vysušené na vzduchu je potrebné veľmi opatrne tepelne fixovať. Takto sa zabráni riziku vzniku infekcií a zníži sa rozpúšťanie materiálu vzorky, a teda aj kontaminácia roztokov a iných podložných sklíčok.

Všetky vzorky sa musia spracovávať použitím najmodernejšej technológie. Všetky vzorky sa musia jasne označiť.

Pri odbere a príprave vzoriek sa musia používať vhodné prístroje. Pri aplikácii/používaní dodržujte pokyny výrobcu.

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

Príprava reagentie

Reagencie farbiacej súpravy Gram-Color - Farbiaca súprava pre Gramovu farbiacu metódu používané na farbenie sú pripravené na použitie, nie je potrebné riedenie roztokov (okrem reagentia 1 pre farbenia vo farbiacej kyvete - pozri „Postup“).

Postup

Farbenie vo farbiacej kyvete

Pri použití imerznej metódy sa odporúča zriediť reagentia 1 (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	
Reagencia 1 (roztok kryštálovej violeti)	1:30 min
Tečúca voda z vodovodu	30 sek
Reagencia 2 (Lugolov roztok, stabilizovaný)*	3 min
Tečúca voda z vodovodu	20 sek
Reagencia 3 alebo 4 (odfarbovací roztok)**	5 - 10 sek
Tečúca voda z vodovodu	30 sek
Reagencia 5 (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 reagentia 2 (Lugolov roztok, stabilizovaný)

** po 5 cykloch zlikvidujte reagentia 3 alebo 4 (odfarbovací roztok)

Farbenie na farbiacom stojane

Podložné sklíčko s fixovaným sterom		
Reagencia 1 (roztok kryštálovej violeti)	úplne zakryte a nechajte reagovať	1 min
Reagencia 2 (Lugolov roztok, stabilizovaný)	krátko opláchnite	
Reagencia 2 (Lugolov roztok, stabilizovaný)	úplne zakryte a nechajte reagovať	1 min
Destilovaná voda	starostlivo umyte	5 sek
Reagencia 3 alebo 4 (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
Reagencia 5 (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

„Gram-Color - Farbiaca súprava“ vyfarbí a tým vizualizuje biologické štruktúry, ako je opísané v kapitole „Výsledok“ tohto návodu na používanie. Používanie tohto produktu môžu vykonávať len autorizované a kvalifikované osoby, čo medzi iným zahŕňa prípravu vzoriek a reagencií, manipuláciu so vzorkami, rozhodnutia týkajúce sa vhodných kontrol a podobne. Analytická výkonnosť produktu sa potvrdzuje testovaním každej výrobnjej šarže.

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	16/16	16/16	6/6	6/6
Gramnegatívne mikroorganizmy	16/16	16/16	6/6	6/6

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

Gram-Color - Farbiaca súprava sa už celé desaťročia s úspechom používa v klinickom prostredí pri veľkom počte aplikácií. Klinická účinnosť Gram-Color - Farbiaca súprava 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 kvalifikovaní a autorizovaní odborníci s ohľadom na anamnézu pacienta, morfológiu, použitie adekvátnych kontrol a prípadné ďalšie diagnostické testy. Táto metóda sa môže doplnkovo použiť v oblasti humánnej diagnostiky.

Diagnostika

Diagnostiku môže vykonávať len autorizovaný a kvalifikovaný personál. Musí sa používať platné názvoslovie. Táto metóda sa môže doplnkovo použiť v oblasti humánnej diagnostiky. Ďalšie testy je potrebné vybrať a vykonať podľa uznaných metód.

Pri každej aplikácii je potrebné vykonať vhodné kontroly, aby sa zamedzilo nesprávnemu výsledku. Farbiaca súprava sa môže kontrolovať pomocou grampozitívnych a gramnegatívnych baktérií. Je potrebné použiť baktérie odobraté z kultivačného média po 18 - 24 hodinách inkubácie.

Skladovanie

Gram-Color - Farbiaca súprava pre Gramovu farbiacu metódu skladujte pri teplote +15 °C až +25 °C. Pri teplotách nižších ako 15 °C sa z farbiacich roztokov môže vytvoriť farebný precipitát. Ak došlo k precipitácii, fľašu vložte na 2 - 3 hodiny do vodného kúpeľa nastaveného na teplotu približne 60 °C. Takto sa znovu rozpustí podstatná časť precipitátu. Farbiace roztoky sa následne prefiltrujú cez papierový filter.

Doba použiteľnosti

Gram-Color - Farbiaca súprava pre Gramovu farbiacu metódu 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

Balenie vystačí až na 250 aplikácií.

Ďalšie pokyny

Iba na profesionálne použitie.

Aby sa zamedzilo chybám, aplikáciu musí vykonávať iba kvalifikovaný personál. Je potrebné dodržiavať národné smernice týkajúce sa bezpečnosti práce a zabezpečenia kvality. Musia sa používať mikroskopy so zodpovedajúcim vybavením podľa normy. V prípade potreby použite štandardnú odstredivku určenú pre lekárske diagnostické laboratórium.

Ochrana pred infekciou

Na ochranu pred infekciou je potrebné prijať účinné opatrenia v súlade s laboratórnymi smernicami.

Pokyny týkajúce sa likvidácie

Obal musí byť zlikvidovaný v súlade s platnými pokynmi na likvidáciu. Použité roztoky a roztoky, ktorým uplynula doba použiteľnosti, sa musia likvidovať ako špeciálny odpad v súlade s miestnymi smernicami. Informácie o likvidácii možno získať pod odkazom „Hints for Disposal of Microscopy Products“ na webovej stránke www.microscopy-products.com. V rámci EU sa aktuálne uplatňuje nariadenie (ES) č. 1272/2008 o klasifikácii, označovaní a balení látok a zmesí, o zmene, doplnení a zrušení smerníc 67/548/EHS a 1999/45/ES a o zmene a doplnení nariadenia (ES) č. 1907/2006.

Pomocné reagencie

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 kvapkanie s objemom 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.07961	Entellan™ new médium pre rýchlu fixáciu, pre mikroskopiu	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č.	1.09016	Neo-Mount™ bezvodé fixačné médium pre mikroskopiu	fľaša na kvapkanie s objemom 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.09217	Gramov roztok safranínu pre Gramovu metódu farbenia	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.09218	Gramov roztok kryštálovej violeti pre Gramovu metódu farbenia	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.09261	Lugolov roztok (zriedený roztok jódu a jodidu 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

Klasifikácia nebezpečenstva

Kat. č. 1.11885.0001
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 produktov

Kat. č. 1.11885.0001
Reagencia 1 alebo Kat. č. 1.09218
C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reagencia 2 alebo Kat. č. 1.00567
PVP-jód 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Kat. č. 1.09261
I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reagencia 3/4 alebo Kat. č. 1.10218
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reagencia 5 alebo 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary.
H318: Spôsobuje vážne poškodenie očí.
H336: Môže spôsobiť ospalosť alebo závraty.
H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

P210: Uchovávať mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčite.
P233: Nádobu uchovávať tesne uzavretú.
P240: Uzemnite a upevnite nádobu a plniace zariadenie.
P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.
P280: Noste ochranné rukavice/ ochranný odev/ ochranné okuliare/ ochranu tváre.
P305 + P351 + P338: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

Reagencia 1:
H226: Horľavá kvapalina a pary.
H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

Reagencia 2:
H318: Spôsobuje vážne poškodenie očí.
H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

Reagencia 3/4:
H225: Veľmi horľavá kvapalina a pary.
H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí.
H336: Môže spôsobiť ospalosť alebo závraty.

Reagencia 5:
H226: Horľavá kvapalina a pary.

História revízií

Verzia	Poznámka k úprave
2024-Jul-24	Prvá verzia s uvedením časti História revízií
2024-Jul-24 V.2	Žiadna zmena v slovenskom preklade

Prečítajte si návod na používanie

Výrobca

Katalógové číslo

Kód šarže

Pozor, pozrite si sprievodnú dokumentáciu

Použitie do RRRR-MM-DD

Teplotné obmedzenia

Status: 2024-Jul-24 V.2

Life Science spoločnosť Merckpôsobí v USA a Kanade pod názvom MilliporeSigma.

© 2025 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 z verejne dostupných zdrojov.

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



1.11885.0001 **REF**

Microscopy

Gram-Color

Gram boyama yöntemi için boya seti

Yalnızca profesyonel kullanım içindir

IVD In vitro Tanısal Tıbbi Cihaz

Kullanım amacı

Bu "Gram-Color - Gram boyama yöntemi için boya seti", insanlarda tıbbi hücre tanılamasında kullanılır ve insan kaynaklı numune materyalinin bakteriyolojik incelemesi amacıyla hizmet eder. Portföyümüzdeki diğer *in vitro* tanısal ürünlerle birlikte kullanıldığında bakteriyolojik numune materyallerinde (örn. vücut sıvısı yaymaları) fiksasyon, boyama, karşıt boyama ve kapatma yoluyla bakteriyel hedef yapıları (Gram pozitif veya Gram negatif bakteriler) tanı amaçlı değerlendirilebilir hale getiren, kullanıma hazır bir boyama solüsyonudur.

Gram-Color çözeltisi, boyama işleminin hücrelerde, boyama rafında ve ayrıca otomatik boyama sistemlerinde yapılabileceği bir şekilde modifiye edilmiş ve tasarlanmıştır.

Boyannamış 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 (İİAB) yayma, yıkama, baskı, efüzyon, pus, eksüda, sıvı ve katı kültürler.

Reaktifler

Kat. No. 1.11885.0001

Gram-Color

Gram boyama yöntemi için boya seti

Paket içeriği:

Boyama kiti şunları içerir

Reaktif 1:	Kristal viyole çözeltisi	500 ml
Reaktif 2:	Lugol solüsyonu, stabilize	500 ml
Reaktif 3 = 4:	Dekolorize çözeltisi	her biri 500 ml
Reaktif 5:	Safranin çözeltisi	500 ml

Tekli reaktifler

1.11885.0001 boyama kitinin yerine aşağıdaki reaktif kombinasyonu kullanılabilir:

Kat. No. 1.09218	Gram kristal viyole çözeltisi	500 ml, 2,5 l
	Gram boyama yöntemi için	
Kat. No. 1.00567	Lugol çözeltisi Gram renklendirme için PVP ile stabilize edilmiş	1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.09261	Lugol çözeltisi (seyreltik iyot-potasyum iyodür çözeltisi)	1 l, 2,5 l
	Gram boyama yöntemi için	
Kat. No. 1.10218	Gram dekoloreze çözeltisi	500 ml, 2,5 l
	Gram boyama yöntemi için	
Kat. No. 1.09217	Gram safranin çözeltisi	500 ml, 2,5 l
	Gram boyama yöntemi için	

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

Gram-Color - Gram boyama yöntemi için boya seti boyama için kullanılan reaktifleri kullanıma hazırdır, solüsyonların seyreltilmesi (boyama hücresinde boyama reaktif 1 hariç - bkz. "Prosedür") gereksizdir

Prosedür

Boyama hücresinde boyama

Daldırma yöntemi kullanılıyorsa, reaktif 1 (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	
Reaktif 1 (kristal viyole çözeltisi)	1:30 dk
Akan musluk suyu	30 sn
Reaktif 2 (Lugol solüsyonu, stabilize)	3 dk
Akan musluk suyu	20 sn
Reaktif 3 veya 4 (dekolorize çözeltisi)	5 - 10 sn
Akan musluk suyu	30 sn
Reaktif 5 (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 dekoloreze çözeltisi atın

Boyama rafında boyama

Sabitlenmiş yaymalı lam		
Reaktif 1 (kristal viyole çözeltisi)	tümünü kapatın ve tepki-meye bırakın	1 dk
Reaktif 2 (Lugol solüsyonu, stabilize)	kısa süre durulayın	
Reaktif 2 (Lugol solüsyonu, stabilize)	tümünü kapatın ve tepki-meye bırakın	1 dk
Distile su	dikkatle yıkayın	5 sn
Reaktif 3 veya 4 (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
Reaktif 5 (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-Color - boya seti”, 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.

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	16/16	16/16	6/6	6/6
Gram negatif mikroorganizmalar	16/16	16/16	6/6	6/6

Analitik performans sonuçları

Test içi (aynı parti üzerinde gerçekleştirilen) ve testler arası (farklı partiler üzerinde gerçekleştirilen) veriler, yapılan test sayısına göre doğru şekilde boyanmış yapıların sayısını listeler.

Klinik performans karakteristikleri

Gram-Color - boya seti klinik ortamlarda onlarca yıldır çok sayıda uygulamada başarıyla kullanılmaktadır.

Özellikle Gram-Color - boya seti 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 tanısıl 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-Color - Gram boyama yöntemi için boya seti +15 °C ila +25 °C’de saklayın.

15 °C’nin altındaki sıcaklıklarda, boyama solüsyonlarında renkli bir çökelti oluşabilir. Çökeltme meydana gelirse, şişeyi yaklaşık 2-3 saat süreyle 60 °C’de su banyosuna yerleştirin. Bu, çökeltinin çoğunu yeniden çözecektir. Ardından, boyama solüsyonlarını bir kağıt filtreden süzün.

Raf ömrü

Gram-Color - Gram boyama yöntemi için boya seti, 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

Paket 250 uygulamaya kadar yeterlidir.

Diğer talimatlar

Yalnızca profesyonel kullanım içindir.

Hatalardan kaçınmak için uygulama sadece kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.

İş güvenliği ve kalite güvencesi ile ilgili ulusal yönergelerle uyulmalıdır.

Standarda uygun şekilde donatılmış mikroskoplar kullanılmalıdır.

Gerekirse tıbbi tanı laboratuvarına uygun standart bir santrifüj kullanın.

Enfeksiyona karşı korunma

Laboratuvar yönergeleri doğrultusunda, enfeksiyona karşı korunmak için etkili önlemler alınmalıdır.

İmha talimatları

Paket, yürürlükteki imha yönergelerine uygun şekilde imha edilmelidir. Kullanılmış ve raf ömrü dolmuş olan solüsyonlar yerel yönergelerle uygun şekilde özel atık olarak atılmalıdır. İmha ile ilgili bilgiler, www.microscopy-products.com adresinde “Mikroskopi Ürünlerinin İmhasına İlişkin İpuçları” Hızlı Bağlantısı altında verilmiştir. AB içinde şu anda, 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. 1.09217	Gram safranin çözeltisi Gram boyama yöntemi için	500 ml, 2,5 l
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

Tehlike sınıflandırması

Kat. No. 1.11885.0001

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

Güvenlik bilgi formu web sitesinde ve talep üzerine mevcuttur.

Ürünlerin ana bileşenleri

Kat. No. 1.11885.0001

Reaktif 1 veya Kat. No. 1.09218

C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reaktif 2 veya Kat. No. 1.00567

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

Kat. No. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reaktif 3/4 veya Kat. No. 1.10218

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

Reaktif 5 veya Kat. No. 1.09217

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

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 makamınıza 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Kolay alevlenir sıvı ve buhar.

H318: Ciddi göz hasarına yol açar.

H336: Rahavete veya baş dönmesine yol açabilir.

H412: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki.

P210: Isıdan, sıcak yüzeylerden, kıvılcımdan, açık alevden ve diğer tutuşma kaynaklarından uzak tutun. - Sigara içilmez.

P233: Kabı sıkıca kapalı tutun.

P240: Kabı ve alıcı ekipmanı toprağa oturtun ve bağlayın.

P273: Çevreye verilmesinden kaçının.

P280: Koruyucu eldiven/ koruyucu giysi/ göz koruyucu/yüz koruyucu.

P305 + P351 + P338: GÖZLERDE İSE: birkaç dakika su ile dikkatlice durulayın. Kontakt lens varsa ve kolaysa çıkartın. Durulamaya devam edin.

Reaktif 1:

H226: Alevlenir sıvı ve buhar.

H412: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki.

Reaktif 2:

H318: Ciddi göz hasarına yol açar.

H412: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki.

Reaktif 3/4:

H225: Kolay alevlenir sıvı ve buhar.

H319: Ciddi göz tahrişine yol açar.

H336: Rahavete veya baş dönmesine yol açabilir.

Reaktif 5:

H226: Alevlenir sıvı ve buhar.

Revizyon Geçmişi

Sürüm	Değişiklik Yorumu
2024-Jul-24	Revizyon Geçmişi girişiyle birlikte ilk sürüm.
2024-Jul-24 V.2	Türkçe çeviride herhangi bir değişiklik yoktur



Kullanım talimatla-
rına başvurun



Üretici



Katalog numarası



Parti kodu



Dikkat, beraberindeki
belgelere bakın



Son kullanma ta-
rihi: YYYY-AA-GG



Sıcaklık
sınırlaması

Status: 2024-Jul-24 V.2

Merck'in Life Science bölümü, ABD ve Kanada'da MilliporeSigma olarak faaliyet göstermektedir.

© 2025 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

1.11885.0001

REF

Mikroskopija

Komplet Gramovih boja

za bojenje Gramovom metodom

Samo za profesionalnu upotrebu

IVD

In vitro dijagnostičko medicinsko sredstvo



Namena

Ovaj „Komplet Gramovih boja za bojenje Gramovom metodom“ se koristi za medicinsku dijagnostiku humanih ćelija i služi u svrhu bakteriološkog istraživanja materijala uzorka humanog porekla. To je rastvor za bojenje spreman za upotrebu koji, kada se koristi zajedno sa drugim proizvodima za *in vitro* dijagnostiku iz našeg portfolija, omogućava procenu bakterijskih ciljnih struktura u dijagnostičke svrhe (Gram-pozitivne ili Gram-negativne bakterije) fiksiranjem, bojenjem, kontrastnim bojenjem, postavljanjem u materijale bakterioloških uzoraka, npr. razmaza ili telesnih tečnosti.

Rastvori Gramovih boja su izmenjeni i dizajnirani na takav način da se bojenje može vršiti u ćelijama za bojenje, na stalku za bojenje, kao i u automatizovanim sistemima za bojenje.

Neobojene strukture imaju relativno nizak kontrast i izuzetno ih je teško razlikovati pod svetlosnim mikroskopom. Slike napravljene korišćenjem rastvora za bojenje pomažu ovlašćenom i kvalifikovanom istraživaču da bolje definiše formu i strukturu u takvim slučajevima. Potrebno je sprovesti dodatne testove u skladu sa priznatim, važećim metodama kako bi se dobila konačna dijagnoza.

Princip

U bakteriologiji, bojenje po Gramu omogućava brzu diferencijaciju bakterija na Gram-pozitivne i Gram-negativne.

Mureinska struktura bakterijskog zida je osnova afiniteta boja. U prvom koraku, bakterije će se obojiti kristalno ljubičastom, anilinskom bojom. Posle tretmana rastvorom joda (Lugolov rastvor) formiraće se kompleks boje i joda. Tokom koraka dekolorizacije, ovaj kompleks ostaje u višeslojnoj mureinskoj strukturi ćelijskog zida Gram-pozitivnih bakterija – one će biti plavo-ljubičaste.

Gram-negativne bakterije, nasuprot tome, imaju ćelijski zid koji se sastoji od jednoslojne mureinske strukture, i shodno tome ponovo oslobađaju boju za bojenje sa rastvorom za dekoloraciju. Gram-negativne bakterije će biti obojene rastvorom safranina i tada će biti ružičaste do crvene boje.

Materijal uzorka

Razmazi bakteriološkog materijala koji su osušeni na vazduhu i toplotno fiksirani poput sputuma, razmaza dobijenih aspiracionom biopsijom tankom iglom (FNAB), ispiranja, otisaka, izliva, gnoja, eksudata, tečnih i čvrstih kultura

Reagensi

Kat br. 1.11885.0001
Komplet Gramovih boja
za bojenje Gramovom metodom

Komponente pakovanja:

Sadržaj kompleta za bojenje

Reagens 1:	Kristalno ljubičasti rastvor	500 ml
Reagens 2:	Lugolov rastvor, stabilizovan	500 ml
Reagens 3 = 4:	Rastvor za dekolorizaciju	po 500 ml
Reagens 5:	Rastvor safranina	500 ml

Pojedinačni reagensi

Umesto kompleta za bojenje 1.11885.0001, mogu se koristiti sledeće kombinacije reagenasa:

Kat. br.	1.09218	Gramov rastvor kristalno ljubičaste za bojenje Gramovom metodom	500 ml, 2,5 l
Kat. br.	1.00567	Lugolov rastvor stabilizovan pomoću PVP za bojenje Gramovom metodom	1 l, 2,5 l
Kat. br.	1.09261	Lugolov rastvor (razblaženi rastvor jod-natrijum jodida) za bojenje Gramovom metodom	1 l, 2,5 l
Kat. br.	1.10218	Gramov rastvor za dekolorizaciju za bojenje Gramovom metodom	500 ml, 2,5 l
Kat. br.	1.09217	Gramov rastvor safranina za bojenje Gramovom metodom	500 ml, 2,5 l

Priprema uzorka

Uzorkovanje mora da izvrši kvalifikovano osoblje.

Nanesite materijal uzorka na čisto stakalce bez masti koristeći žarenu petlju. Zatim razmažite materijal ili direktno na stakalcu ili prvo pomešajte sa 1–2 kapi fiziološkog rastvora (Ringerov rastvor). Osušite na vazduhu, a zatim zagrejte tako što ćete tri puta polako provući klizač (strana sa razmazom okrenuta nagore) kroz gornji deo plamena Bunzenovog plamenika. Zatim ostavite da se ohladi i obojte.

Razmazi osušeni na vazduhu moraju veoma pažljivo da se fiksiraju toplotom. Ovo sprečava rizik od infekcija i smanjuje rastvaranje materijala uzorka, a samim tim i kontaminaciju rastvora i drugih stakalaca.

Svi uzorci moraju biti tretirani primenom najsavremenije tehnologije.

Svi uzorci moraju biti jasno označeni.

Za uzimanje uzoraka i njihovu pripremu moraju se koristiti odgovarajući instrumenti. Pratite uputstva proizvođača za primenu/upotrebu.

Prilikom upotrebe odgovarajućih pomoćnih reagensa, moraju se poštovati odgovarajuća uputstva za upotrebu.

Priprema reagensa

Reagensi Kompleta Gramovih boja za bojenje Gramovom metodom koji se koriste za bojenje spremni su za upotrebu i razblaživanje rastvora (osim reagensa 1 za bojenje u ćeliji – pogledajte odeljak „Procedura“) nije potrebno.

Procedura

Bojenje u ćeliji za bojenje

Preporučuje se da se reagens 1 (kristalno ljubičasti rastvor) razblaži destilovanom vodom u odnosu 1:3, ako se koristi metoda potapanja.

Stakalca treba da se potope i promešaju u rastvorima; samo potapanje daje neadekvatne rezultate bojenja.

Stakalca treba ostaviti da se dobro ocede nakon pojedinačnih koraka bojenja kako bi se izbegla bilo kakva nepotrebna unakrsna kontaminacija rastvora.

Treba se pridržavati navedenih vremena kako bi se garantovao optimalan rezultat bojenja.

Stakalce sa fiksiranim razmazom	
Reagens 1 (kristalno ljubičasti rastvor)	1:30 min
Tekuća voda iz slavine	30 s
Reagens 2 (Lugolov rastvor, stabilizovan)*	3 min
Tekuća voda iz slavine	20 s
Reagens 3 ili 4 (rastvor za dekolorizaciju)**	5–10 s
Tekuća voda iz slavine	30 s
Reagens 5 (rastvor safranina)	1 min
Tekuća voda iz slavine	1 min
Sušenje na vazduhu (npr. preko noći ili na 50 °C u komori za sušenje)	

* filtrirajte reagens 2 (Lugolov rastvor, stabilizovan) nakon 3 ciklusa

** odbacite reagens 3 ili 4 (rastvor za dekolorizaciju) nakon 5 ciklusa

Bojenje na stalku za bojenje

Stakalce sa fiksiranim razmazom		
Reagens 1 (kristalno ljubičasti rastvor)	potpuno preklopite i ostavite da odreaguje	1 min
Reagens 2 (Lugolov rastvor, stabilizovan)	isperite nakratko	
Reagens 2 (Lugolov rastvor, stabilizovan)	potpuno preklopite i ostavite da odreaguje	1 min
Destilovana voda	pažljivo operite	5 s
Reagens 3 ili 4 (rastvor za dekolorizaciju)	pažljivo promešajte stakalca dok ne prestanu da se stvaraju zamućenja od boje i razmaz ne dobije sivo-plavu boju	10–15 s
Destilovana voda	pažljivo operite	5 s
Reagens 5 (rastvor safranina)	potpuno preklopite i ostavite da odreaguje	1 min
Destilovana voda	pažljivo operite	5 s
Sušenje na vazduhu (npr. preko noći ili na 50 °C u komori za sušenje)		

Preporučuje se pokrivanje nevodenim medijumom za postavljanje (npr. Neo-Mount™ ili Entellan™) i pokrovnim stakalcem kod skladištenja bakterioloških uzoraka tokom više meseci. U tu svrhu, obojeni uzorci moraju dobro da se osuše.

Za analizu obojenih stakalaca sa mikroskopskim povećanjem > 40× preporučuje se upotreba imerzionog ulja.

Bojenje u uređaju za automatsko bojenje

Bojenje u automatizovanim sistemima za bojenje može da se izvrši u skladu

sa protokolom za bojenje u ćeliji za bojenje.

Rezultat

Gram-pozitivni mikroorganizmi	plavo-ljubičasta
Gram-negativni mikroorganizmi	od ružičaste do crvene boje

Rešavanje problema

Fiksiranje razmaza uzoraka

Dovoljan stepen fiksiranja toplotom pomoću Bunzenovog plamenika ili u komori za grejanje je od suštinskog značaja za sprečavanje infektivnog potencijala uzoraka i daljeg razmnožavanja bakterija.

Nema bojenja Gram-pozitivnih bakterija

Korak dekolorizacije predstavlja jednu od ključnih faza postupka bojenja po Gramu i na njega može uticati debljina razmaza. Pored toga, svež rastvor za dekolorizaciju je veoma reaktivan, zbog čega rezultat treba pažljivo proceniti. Tokom koraka dekolorizacije, korisnik treba da se pridržava tačnog vremena inkubacije opisanog u protokolu jer u suprotnom može doći do lažno negativnih rezultata.

Tehničke napomene

Mikroskop koji se koristi treba da ispunjava zahteve laboratorije za medicinsku dijagnostiku. Kada koristite sisteme za automatsko bojenje, pratite uputstvo za upotrebu koje ste dobili od dobavljača sistema i softvera. Pre pohranjivanja uklonite višak imerzionog ulja.

Karakteristike analitičkih performansi

„Komplet Gramovih za bojenje” boji i na taj način omogućava vizuelizaciju bioloških struktura, kako je opisano u poglavlju „Rezultat” u ovom uputstvu za upotrebu. Proizvod smeju koristiti samo ovlašćene i kvalifikovane osobe, što između ostalog uključuje pripremu uzoraka i reagensa, rukovanje uzorcima, odluke o odgovarajućim kontrolama i drugo.

Analitičke performanse proizvoda potvrđene su testiranjem svake proizvodne serije.

Za sledeće bojenje, analitičke performanse su potvrđene u smislu specifičnosti, osetljivosti i ponovljivosti proizvoda sa stopom od 100%:

	Specifičnost između testova	Osetljivost između testova	Specifičnost unutar testova	Osetljivost unutar testova
Bojenje po Gramu				
Gram-pozitivni mikroorganizmi	16/16	16/16	6/6	6/6
Gram-negativni mikroorganizmi	16/16	16/16	6/6	6/6

Rezultati analitičkih performansi

Podaci unutar testova (izvedeno na istoj seriji) i između testova (izvedeno na različitim serijama) navode broj pravilno obojenih struktura u odnosu na broj izvršenih testova.

Karakteristike kliničkih performansi

Komplet Gramovih boja za bojenje se uspešno koristi u kliničkom okruženju više desetina godina u visokom broju primena.

Kliničke performanse kompleta Gramovih boja za bojenje konkretno određene su utvrđivanjem njegove osetljivosti i specifičnosti u internoj studiji:

Gram-pozitivni mikroorganizmi

	Bojenje po Gramu
Osetljivost	14/15
Specifičnost	15/15

Osetljivost: 14 uzoraka od 15: 93,3%
Specifičnost: 15 uzoraka od 15: 100%

Gram-negativni mikroorganizmi

	Bojenje po Gramu
Osetljivost	15/15
Specifičnost	15/15

Osetljivost: 15 uzoraka od 15: 100%
Specifičnost: 15 uzoraka od 15: 100%

Rezultati ove procene performansi potvrđuju da je proizvod pogodan za predviđenu upotrebu i da je pouzdan.

Dijagnostičko tumačenje rezultata bojenja, međutim, treba da sprovedu kvalifikovani i ovlašćeni stručnjaci, uzimajući u obzir anamnezu, morfologiju pacijenta, upotrebu odgovarajućih kontrola i dodatne dijagnostičke testove, ako je potrebno. Ova metoda može se dodatno koristiti u humanoj dijagnostici.

Dijagnostika

Dijagnoze sme da postavlja samo ovlašćeno i kvalifikovano osoblje. Moraju se koristiti važeće nomenklature. Ova metoda može se dodatno koristiti u humanoj dijagnostici.

Daljnja ispitivanja moraju biti odabrana i provedena prema priznatim metodama. Uz svaku primenu treba provesti odgovarajuće kontrole kako bi se izbegao netačan rezultat. Komplet za bojenje se može kontrolisati Gram-pozitivnim bakterijama i Gram-negativnim bakterijama. Treba koristiti bakterije uzete iz medijuma pogodnog za razvoj kulture nakon 18–24 sata inkubacije.

Skladištenje

Skladištite Komplet Gramovih boja za bojenje Gramovom metodom na temperaturi od +15 °C do +25 °C. Na temperaturama nižim od 15 °C iz rastvora za bojenje može se istaložiti obojeni talog. Ako je došlo do taloženja, stavite bocu na 2–3 sata u vodenu kupku postavljenu na približno 60 °C. Ovo će ponovo rastvoriti većinu taloga. Zatim filtrirajte rastvore za bojenje kroz papirni filter.

Rok trajanja

Komplet Gramovih boja za bojenje Gramovom metodom može da se koristi do isteka navedenog roka trajanja. Nakon prvog otvaranja bočice, sadržaj se može koristiti do navedenog roka trajanja ako se čuva na temperaturi od +15 °C do +25 °C. Bočice moraju uvek biti dobro zatvorene.

Kapacitet

Pakovanje je dovoljno za najviše 250 primena.

Dodatna uputstva

Samo za profesionalnu upotrebu.

Da bi se izbegle greške, primenu mora da provodi samo kvalifikovano osoblje. Moraju se poštovati nacionalne smernice za bezbednost na radu i obezbeđenje kvaliteta. Moraju se koristiti mikroskopi opremljeni prema standardu. Po potrebi koristiti standardnu centrifugu pogodnu za laboratoriju za medicinsku dijagnostiku.

Zaštita od infekcije

Moraju se preduzeti efikasne mere za zaštitu od infekcije u skladu sa smernicama laboratorije.

Uputstvo za odlaganje

Pakovanje se mora odložiti u skladu sa važećim smernicama za odlaganje. Upotrebljeni rastvori i rastvori kojima je istekao rok trajanja moraju se odložiti kao poseban otpad u skladu sa lokalnim smernicama. Informacije o odlaganju se mogu dobiti putem hiperveze „Saveti za odlaganje proizvoda mikroskopije” na www.microscopy-products.com. Unutar EU trenutno se primenjuje UREDBA (EZ) br. 1272/2008 o klasifikaciji, obeležavanju i pakovanju supstanci i smeša, kojom se menja i ukida Direktiva 67/548/EEZ i 1999/45/EZ i izmene i dopunama Uredbe (EZ) br. 1907/ 2006.

Pomoćni reagensi

Kat. br.	1.00567	Lugolov rastvor stabilizovan pomoću PVP za bojenje Gramovom metodom	1 l, 2,5 l
Kat. br.	1.04699	Imerziono ulje za mikroskopiju	bočica sa kapaljkom od 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. br.	1.07961	Entellan™ new medij za brzo postavljanje za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. br.	1.09016	Neo-Mount™ bočica sa kapaljkom bezvodni medij za postavljanje	od 100 ml, 500 ml za mikroskopiju
Kat. br.	1.09217	Gramov rastvor safranina za bojenje Gramovom metodom	500 ml, 2,5 l
Kat. br.	1.09218	Gramov rastvor kristalno ljubičaste za bojenje Gramovom metodom	500 ml, 2,5 l
Kat. br.	1.09261	Lugolov rastvor (razblaženi rastvor jod- natrijum jodida) za bojenje Gramovom metodom	1 l, 2,5 l
Kat. br.	1.10218	Gramov rastvor za dekolorizaciju za bojenje Gramovom metodom	500 ml, 2,5 l

Klasifikacija opasnosti

Kat br. 1.11885.0001
Obratite pažnju na klasifikaciju opasnosti odštampanu na etiketi i informacije date u bezbednosnom listu. Bezbednosni list je dostupan na veb-sajtu i na zahtev.

Osnovne komponente proizvoda

Kat br. 1.11885.0001	
Reagens 1 ili kat. br. 1.09218	
C.I. 42555	10 g/l
C ₆ H ₅ OH	4 g/l
1 l = 0,99 kg	

Reagens 2 ili kat. br. 1.00567

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

Kat. br. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reagens 3/4 ili kat. br. 1.10218

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

Reagens 5 ili kat. br. 1.09217

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

Opšta napomena

Ako se tokom korišćenja ovog proizvoda ili ako usled tog korišćenja dođe do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku, kao i nadležnom telu vaše zemlje.

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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Lako zapaljiva tečnost i para.
H318: Dovodi do teškog oštećenja oka.
H336: Može da izazove pospanost i nesvesticu.
H412: Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama.

P210: Držati dalje od toplote, vrućih površina, varnica, otvorenog plamena i drugih izvora paljenja. Zabranjeno pušenje.
P233: Držati posudu čvrsto zatvorenu.
P240: Uzemljen i pričvršćen kontejner i oprema za prijem.
P273: Izbegavati ispuštanje/oslobađanje u životnu sredinu.
P280: Nositi zaštitne rukavice / zaštitnu odeću / zaštitne naočare / zaštitu za lice.
P305 + P351 + P338: AKO DOSPE U OCI: Pažljivo ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktna sočiva, ako postoje i ako je to moguće učiniti. Nastaviti sa ispiranjem.

Reagens 1:
H226: Zapaljiva tečnost i para.
H412: Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama.

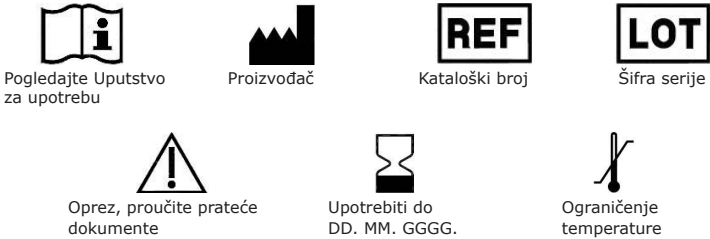
Reagens 2:
H318: Dovodi do teškog oštećenja oka.
H412: Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama.

Reagent 3/4:
H225: Lako zapaljiva tečnost i para.
H319: Dovodi do jake iritacije oka.
H336: Može da izazove pospanost i nesvesticu.

Reagens 5:
H226: Zapaljiva tečnost i para.

Istorija revizija

Verzija	Komentar o izmeni
2024-Jul-24	Početna verzija sa uvođenjem istorije revizija
2024-Jul-24 V.2	Dodat prevod na srpski i finski jezik



1.11885.0001



Mikroskopia

Gram-Color

värjyysarja gramvärjäysmenetelmää varten

Vain ammattilaisten käyttöön



In vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite



Käyttötarkoitus

Gram-Color – värjyysarja gramvärjäysmenetelmää varten -tuotetta käytetään ihmisten lääketieteelliseen soludiagnostiikkaan, ja se on tarkoitettu ihmisperäisen näyttemateriaalin bakteriologiseen tutkimiseen. Se on käyttövalmis värjyysarja, joka muiden tuotevalikoimamme *in vitro* -diagnostisten tuotteiden kanssa käytettynä muuttaa bakteriologisissa näyttemateriaaleissa, esimerkiksi ruumiinnesteiden sivelynäytteissä, olevat kohdebakteerirakenteet (grampositiiviset tai gramnegatiiviset bakteerit) (kiinnityksen, värjäyksen, vastavärjäyksen ja petauksen avulla) diagnostiseen arviointiin soveltuviksi.

Gram-Color-liuokset on muunneltu ja suunniteltu siten, että värjäys voidaan tehdä värjäyskammioiden ja värjäystelineessä ja myös automaattisissa värjäysjärjestelmissä.

Värijäämättömät rakenteet ovat suhteellisen vähäkontrastisia, ja niitä on vaikea erottaa valomikroskooppilla. Tällaisissa tapauksissa värjäysliuosten avulla saadut kuvat auttavat hyväksyttävä ja pätevää tutkijaa muodon ja rakenteen paremmassa määrittelyssä. Lopullisen diagnoosin saamiseksi on tehtävä lisätestejä tunnistettujen, validien menetelmien mukaisesti.

Periaate

Bakteriologiassa gramvärjäys mahdollistaa bakteerien nopean erottelemisen grampositiivisiin ja gramnegatiivisiin.

Värin affiniteetti perustuu bakteeriseinän mureiinirakenteeseen. Ensimmäisessä vaiheessa bakteerit värjätään kristallivioletilla, joka on aniliiniväriaine. Jodiliuoksella (Lugolin liuos) käsittelemisen jälkeen muodostuu väriaine-jodikompleksi. Värinpoistovaiheessa tämä kompleksi pysyy grampositiivisten bakteerien soluseinän monikerroksisissa mureiinirakenteissa – ne näyttävät sinivioleteilta. Sitä vastoin gramnegatiivisilla bakteereilla on soluseinä, joka koostuu yksikerroksisesta mureiinirakenteesta, ja vastaavasti värinpoistoliuoksen avulla värjäävä väriaine vapautuu uudelleen. Gramnegatiiviset bakteerit vastavärjätään safraniiniliuoksella, ja ne näyttävät sen jälkeen vaaleanpunaisilta tai punaisilta.

Näyttemateriaali

Bakteerimateriaalin sivelynäytteet, joiden on annettu kuivua ja jotka on kiinnitetty lämmöllä, kuten yskös, ohutneulabiopsioiden (FNAB) sivelynäytteet, huuhtelunäytteet, leimausnäytteet, effuusionäytteet, märkä, tulehdusnesteet, nestemäiset ja kiinteät viljelmät

Reagenssit

Luettelonro 1.11885.0001

Gram-Color

värjyysarja gramvärjäysmenetelmää varten

Pakkauksen sisältö:

Värjyysarjan sisältö

Reagenssi 1:	Kristalliviolettiliuos	500 ml
Reagenssi 2:	Lugolin liuos, stabiloitu	500 ml
Reagenssi 3 = 4:	Värinpoistoliuos	kumpikin 500 ml
Reagenssi 5:	Safraniiniliuos	500 ml

Yksittäiset reagenssit

Värjyysarjan 1.11885.0001 sijasta voidaan käyttää seuraavaa reagenssien yhdistelmää:

Luettelonro	1.09218	Gramin kristalliviolettiliuos gramvärjäysmenetelmään	500 ml, 2,5 l
Luettelonro	1.00567	Lugolin liuos stabiloitu PVP:llä gramvärjäysmenetelmään	1 l, 2,5 l
Luettelonro	1.09261	Lugolin liuos (laimennettu jodi-kaliumjodidiliuos) gramvärjäysmenetelmään	1 l, 2,5 l
Luettelonro	1.10218	Gramin värinpoistoliuos gramvärjäysmenetelmään	500 ml, 2,5 l
Luettelonro	1.09217	Gramin safraniiniliuos gramvärjäysmenetelmään	500 ml, 2,5 l

Näytteiden valmistelu

Näytteen saa ottaa vain pätevä henkilökunta.

Levitä näyttemateriaali puhtaalle ja rasvattomalle objektilasille näytesilmukalla. Sivele materiaali sen jälkeen joko suoraan objektilasille tai sekoita ensin 1–2 pisaraan fysiologista keittosuolaliuosta (Ringerin liuos). Anna kuivua ja kiinnitä sen jälkeen lämmöllä vetämällä objektilasi (sivelynäytteen puoli ylös suunnattuna) bunsenpolttimen liekin yläosan läpi kolme kertaa. Anna sen jälkeen jäähtyä ja värjää se. Ilmakuivat sivelynäytteet on kiinnitettävä lämmöllä hyvin varovasti. Tämä ehkäisee tartuntojen riskiä ja vähentää näyttemateriaalin hajoamista ja näin ollen liuosten ja muiden objektilasien kontaminoitumista.

Kaikki näytteet on käsiteltävä viimeisimmän kehityksen mukaisella tekniikalla.

Kaikki näytteet on merkittävä selkeästi.

Näytteiden ottamiseen ja niiden valmisteluun on käytettävä sopivia välineitä. Noudata valmistajan antamia käyttöohjeita.

Kun käytetään vastaavia lisäreagensseja, on noudatettava niiden vastaavia ohjeita.

Reagenssien valmistelu

Värjykseen käytettävät Gram-Color-värjyysarja gramvärjäysmenetelmään -tuotteen reagenssit ovat käyttövalmiita. Liuosten laimentamista (lukuun ottamatta reagenssia 1 kammiovärjäystä varten – ks. ”Menetelmä”-kohta) ei tarvita.

Menetelmä

Värjäys värjäyskammiassa

Reagenssin 1 (kristalliviolettiliuos) laimentamista tislattulla vedellä 1:3 suositellaan, jos käytetään upotusmenetelmää.

Objektilasit täytyy upottaa liuoksiin, ja niitä on liikuteltava ympäriinsä liuoksissa. Pelkällä upotuksella ei saada riittäviä värjäystuloksia.

Nesteiden on annettava valua kunnolla objektilaseista yksittäisten värjäysvaiheiden jälkeen, jotta vältetään liuosten tarpeeton ristikontaminoituminen.

Ilmoitettuja aikoja on noudatettava optimaalisen värjäystuloksen takaamiseksi.

Objektilasi, jolla on kiinnitetty sivelynäyte	
Reagenssi 1 (kristalliviolettiliuos)	1:30 min
Juokseva hanavesi	30 sekuntia
Reagenssi 2 (Lugolin liuos, stabiloitu)*	3 min
Juokseva hanavesi	20 sekuntia
Reagenssi 3 tai 4 (värinpoistoliuos)**	5–10 sekuntia
Juokseva hanavesi	30 sekuntia
Reagenssi 5 (safraniiniliuos)	1 min
Juokseva hanavesi	1 min
Anna kuivua (esim. yön ajan tai 50 °C:ssa lämpökaapissa)	

* Suodata reagenssi 2 (Lugolin liuos, stabiloitu) 3 ajon jälkeen

** Hävitä reagenssi 3 tai 4 (värinpoistoliuos) 5 ajon jälkeen

Värjäys värjäystelineellä

Objektilasi, jolla on kiinnitetty sivelynäyte		
Reagenssi 1 (kristalliviolettiliuos)	Peitä näyte kokonaan ja anna reagoida	1 min
Reagenssi 2 (Lugolin liuos, stabiloitu)	Huuhtelee lyhyesti	
Reagenssi 2 (Lugolin liuos, stabiloitu)	Peitä näyte kokonaan ja anna reagoida	1 min
Tislattu vesi	pese huolella	5 sekuntia
Reagenssi 3 tai 4 (värinpoistoliuos)	pyörittele objektilaseja varovasti, kunnes väriainepilviä ei enää muodostu ja sivelynäyte saa harmaansinisen värin	10–15 sekuntia
Tislattu vesi	pese huolella	5 sekuntia
Reagenssi 5 (safraniiniliuos)	Peitä näyte kokonaan ja anna reagoida	1 min
Tislattu vesi	pese huolella	5 sekuntia
Anna kuivua (esim. yön ajan tai 50 °C:ssa lämpökaapissa)		

Peittämistä vedettömällä petausaineella (esim. NeoMount™ tai Entellan™) ja peitinlasilla suositellaan bakteriologisten näytteiden säilyttämiseksi useiden

kuukausien ajan. Värjätyt näytteet on tätä tarkoitusta varten kuivattava erittäin hyvin.

Immersioöljyn käyttämistä suositellaan värjättyjen objektilasien analysointiin mikroskoopin yli 40-kertaisella suurennoksella.

Värjäys automaattisessa värjäyslaitteessa

Värjäys automaattisissa värjäysjärjestelmissä voidaan tehdä värjäyskammiossa värjäämisen menettelyohjeen mukaisesti.

Tulos

Grampositiiviset mikro-organismit	Sinivioletti
Gramnegatiiviset mikro-organismit	Vaaleanpunainen tai punainen

Vianmääritys

Sivelynäytteiden kiinnitys

Riittävä kuumakiinnityksen määrä bunsenpolttimella tai lämpökaapissa on olennaisen tärkeää näytteiden tartuntakyvyn ja bakteerien lisääntymisen estämiseksi.

Grampositiiviset bakteerit eivät värjäydy

Gramvärjäysmenetelmän kriittisen tärkeä vaihe on värinpoistovaihe, johon sivelynäytteen paksuus voi vaikuttaa. Lisäksi tuore värinpoistoliuos on erittäin reaktiivista, mikä tarkoittaa, että tulosta on arvioitava varovasti. Värinpoistovaiheen aikana käyttäjän on noudatettava menettelyohjeessa kuvattuja inkubaatioaikoja, sillä muutoin seurauksena voi olla vääriä negatiivisia tuloksia.

Teknisiä huomautuksia

Käytettävän mikroskoopin on täytettävä kaikki lääketieteellisen diagnostisen laboratorion mukaiset vaatimukset. Kun käytetään automaattisia värjäysjärjestelmiä, noudata järjestelmän ja ohjelmiston toimittajan laatimia käyttöohjeita. Poista liiallinen immersioöljy ennen näytteen arkistointia.

Analyyttisen suorituskyvyn ominaisuudet

Gram-Color-värjäyssarja värjää biologisia rakenteita ja saa ne siten näkyviin tämän käyttöohjeen ”Tulos”-kohdassa kuvatulla tavalla. Tuotetta saavat käyttää vain hyväksytyt ja pätevät henkilöt. Tämä käsittää mm. näytteen ja reagenssien valmistelun, näytteen käsittelyn, sopivia kontrollinäytteitä koskevat päätökset jne.

Tuotteen analyttinen suorituskyky varmistetaan testaamalla jokainen tuotantoerä.

Seuraavien värjäysten analyttisen suorituskyvyn on vahvistettu olevan 100 % tuotteen spesifisyyden, herkkyiden ja toistettavuuden osalta:

	Määrittysten välinen spesifisyys	Määrittysten välinen herkkyys	Määrittysten sisäinen spesifisyys	Määrittysten sisäinen herkkyys
Gramvärjäys				
Grampositiiviset mikro-organismit	16/16	16/16	6/6	6/6
Gramnegatiiviset mikro-organismit	16/16	16/16	6/6	6/6

Analyyttisen suorituskyvyn tulokset

Määrittysten sisäiset (tehty samalla erällä) ja määrittysten väliset (tehty eri erillä) tiedot kertovat oikein värjäytyneiden rakenteiden lukumäärän suhteessa tehtyjen määrittysten lukumäärään.

Kliiniset suorituskykyominaisuudet

Gram-Color-värjäyssarjaa on käytetty menestyksekkäästi kliinisessä ympäristössä vuosikymmenien ajan suuressa määrässä käyttösovellutuksia.

Gram-Color-värjäyssarjan kliininen suorituskyky määritettiin erityisesti osoittamalla sen herkkyys ja spesifisyys sisäisessä tutkimuksessa:

Grampositiiviset mikro-organismit

	Gramvärjäys
Herkkyys	14/15
Spesifisyys	15/15

Herkkyys: 14 näytettä 15:stä: 93,3 %
Spesifisyys: 15 näytettä 15:stä: 100 %

Gramnegatiiviset mikro-organismit

	Gramvärjäys
Herkkyys	15/15
Spesifisyys	15/15

Herkkyys: 15 näytettä 15:stä: 100 %
Spesifisyys: 15 näytettä 15:stä: 100 %

Tämän suorituskykyarvioinnin tulokset vahvistavat, että tuote soveltuu tarkoitettuun käyttöön ja toimii luotettavasti.

Värjäystulosten diagnostinen tulkinta kuuluu kuitenkin päteville ja hyväksytyille ammattilaisille, ja siinä on otettava huomioon potilaan

esitiedot, solujen morfologia, asianmukaisten kontrollien käyttö sekä muut diagnostiset testit tämän soveltuessa. Tätä menetelmää voidaan käyttää täydentävänä menetelmänä ihmisten diagnostiikassa.

Diagnostiikka

Diagnooseja saa tehdä vain hyväksytty ja pätevä henkilökunta. Voimassa olevaa nimitystä on käytettävä. Tätä menetelmää voidaan käyttää täydentävänä menetelmänä ihmisten diagnostiikassa. Lisätestit on valittava ja toteutettava tunnustettujen menetelmien mukaisesti. Kullakin käyttökerralla on käytettävä sopivia kontrolleja virheellisen tuloksen välttämiseksi. Värjäyssarjan kontrolleina voidaan käyttää grampositiivisia bakteereja ja gramnegatiivisia bakteereja. Tässä on käytettävä bakteereja, jotka on otettu ravintoliuoksesta 18–24 tunnin inkuboinnin jälkeen.

Säilytys

Säilytä Gram-Color-värjäyssarja gramvärjäysmenetelmään -tuote +15...+25 °C:ssa.

Alle 15 °C:n lämpötiloissa värjäysliuoksista voi laskeutua värillistä sakkaa. Jos sakkautumista on tapahtunut, aseta pullo 2–3 tunniksi noin 60 °C:seen asetettuun vesihauteeseen. Tämä liuottaa uudelleen suurimman osan sakasta. Suodata tämän jälkeen värjäysliuokset paperisuodattimen läpi.

Varastointiaika

Gram-Color-värjäyssarja gramvärjäysmenetelmään -tuotetta voidaan käyttää ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka.

Ensimmäisen avaamisen jälkeen pullon sisältöä voidaan käyttää ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka, kun tuotetta säilytetään +15...+25 °C:ssa.

Pullot on aina pidettävä tiukasti suljettuina.

Kapasiteetti

Pakkaus riittää enintään 250 käyttökertaan.

Muita ohjeita

Vain ammattilaisten käyttöön.

Virheiden välttämiseksi vain pätevä henkilökunta saa käyttää tuotetta. Kansallisia työturvallisuus- ja laadunvalvontaohjeita on noudatettava. Käytössä olevissa mikroskoopeissa on oltava vakiovaatimusten mukaiset varusteet. Tarvittaessa on käytettävä lääketieteelliseen diagnostiseen laboratorioon soveltuvaa vakiotyyppistä sentrifugia.

Suojaaminen tartuntaa vastaan

Tartunnalta suojaamiseen on käytettävä tehokkaita torjuntatoimia laboratorion ohjeiden mukaisesti.

Hävittämisohteet

Pakkaus on hävitettävä voimassa olevien hävittämisohjeiden mukaisesti. Käytetyt liuokset ja varastointiajan ohittaneet liuokset on hävitettävä erityisjätteenä paikallisten ohjeiden mukaisesti. Hävitystä koskevat tiedot voi saada verkkosivuston www.microscopy-products.com pikalinkistä ”Hints for Disposal of Microscopy Products” (Ohjeita mikroskopiatuotteiden hävittämiseen). EU:n alueella pätee voimassa oleva sovellettava ASETUS (EY) N:o 1272/2008, aineiden ja seosten luokituksesta, merkinnöistä ja pakkaamisesta sekä direktiivien 67/548/ETY ja 1999/45/EY muuttamisesta ja kumoamisesta ja asetuksen (EY) N:o 1907/2006 muuttamisesta.

Lisäreagenssit

Luettelonro	1.00567	Lugolin liuos stabiloitu PVP:llä gramvärjäysmenetelmään	1 l, 2,5 l
Luettelonro	1.04699	Immersioöljy mikroskopiaan	100 ml:n tippapullo, 100 ml, 500 ml
Luettelonro	1.07961	Entellan™ uusi pikapetausaine mikroskopiaan	100 ml, 500 ml, 1 l
Luettelonro	1.09016	Neo-Mount™ vedetön petausaine mikroskopiaan	100 ml:n tippapullo, 500 ml
Luettelonro	1.09217	Gramin safraniiniliuos gramvärjäysmenetelmään	500 ml, 2,5 l
Luettelonro	1.09218	Gramin kristalliviolettiliuos gramvärjäysmenetelmään	500 ml, 2,5 l
Luettelonro	1.09261	Lugolin liuos (laimennettu jodi-kaliumjodidiliuos) gramvärjäysmenetelmään	1 l, 2,5 l
Luettelonro	1.10218	Gramin värinpoistoliuos gramvärjäysmenetelmään	500 ml, 2,5 l

Vaaraluokitus

Luettelonro 1.11885.0001

Huomioi etikettiin painettu vaaraluokitus ja käyttöturvallisuustiedotteessa annetut tiedot. Käyttöturvallisuustiedote on saatavilla verkkosivustolla ja pyynnöstä.

Tuotteiden tärkeimmät ainesosat

Luettelonro 1.11885.0001
Reagenssi nro 1 tai luettelonro 1.09218
C.I. 42555 10 g/l
C₆H₅OH 4 g/l
1 l = 0,99 kg

Reagenssi nro 2 tai luettelonro 1.00567
PVP-jodi 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

Luettelonro 1.09261
I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Reagenssi nro 3/4 tai luettelonro 1.10218
C₂H₆O 634 g/l
C₃H₆O 159 g/l
1 l = 0,79 kg

Reagenssi nro 5 tai luettelonro 1.09217
C.I. 50240 1,8 g/l
1 l = 0,98 kg

Yleinen huomautus

Jos tämän laitteen käytön aikana tai sen seurauksena ilmenee vakava vaaratilanne, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai sen valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Kirjallisuus

- 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. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



H225: Helposti syttyvä neste ja höyry.
H318: Vaurioittaa vakavasti silmiä.
H336: Saattaa aiheuttaa uneliaisuutta ja huimausta.
H412: Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.

P210: Suojaa lämmöltä, kuumilta pinnoilta, kipinöiltä, avotulelta ja muilta sytytyslähteiltä. Tupakointi kielletty.
P233: Säilytä tiiviisti suljettuna.
P240: Maadoita ja yhdistä säiliö ja vastaanottavat laitteet.
P273: Vältettävä päästämistä ympäristöön.
P280: Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta.
P305 + P351 + P338: JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista.

Reagenssi 1:
H226: Syttyvä neste ja höyry.
H412: Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.

Reagenssi 2:
H318: Vaurioittaa vakavasti silmiä.
H412: Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.

Reagenssi 3/4:
H225: Helposti syttyvä neste ja höyry.
H319: Ärsyttää voimakkaasti silmiä.
H336: Saattaa aiheuttaa uneliaisuutta ja huimausta.

Reagenssi 5:
H226: Syttyvä neste ja höyry.

Versiohistoria

Versio	Muutoksen kommentti
2024-Jul-24	Versiohistorian lisäämisen ensimmäinen versio
2024-Jul-24 V.2	Lisätty serbian- ja suomenkielinen käännös

Perehdy käyttöohjeisiin

Valmistaja

Luettelonumero

Eräkoodi

Huomio, perehdy liitettyihin asiakirjoihin

Viimeinen käyttöpäivä VVVV-KK-PP

Lämpötilarajoitus

Status: 2024-Jul-24 V.2