

Mikroskopie

- 1.11885 Gram-color
- 1.09218 Grams Kristallviolett Lösung
- 1.09217 Grams Safranin Lösung
- 1.09261 Lugols Lösung
- 1.00567 Lugols Lösung stab.
- 1.10218 Entfärbelösung

IVD

In Vitro Diagnostikum

Gram-color Färbeset für die Gram Färbung

Gram-color ist ein Färbeset zum Anfärben von Mikroorganismen nach dem Färbeverfahren von Gram

Wirkungsweise

Anilinfarbstoffe werden in Zelleib von Mikroorganismen bei nachfolgender Iodeinwirkung zu einem Farbe-Iod-Komplex gebunden.

Bei grampositiven Mikroorganismen kann der Farbe Iod-Komplex nicht mehr durch Entfärbemittel wie Alkohol oder Aceton aus der Zelle gelöst werden. Die Zelle bleibt blauviolett angefärbt.

Bei gramnegativen Mikroorganismen wird der Farbe-Iod-Komplex gelöst und die Zelle durch Gegenfärbung rosa bis rot angefärbt.

Zusammensetzung des Färbesets:

Lösung 1 :	Kristallviolettlösung	500 ml
Lösung 2:	Lugols Lösung stabilisiert	500 ml
Lösung 3 + 4:	Entfärbelösung	je 500 ml
Lösung 5:	Safraninlösung	500 ml

Vorbereitung der Ausstriche

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

Färbung auf Färbebank

- Objektträger vollständig mit Lösung 1 : Kristallviolettlösung bedecken, 1 min färben, abgießen.
- Reste kurz mit Lösung 2: Lugols Lösung stabilisiert abspülen.
- Objektträger vollständig mit Lösung 2: Lugols Lösung stab. bedecken, 1 min einwirken lassen.
- Mit dest. Wasser etwa 5 sec vorsichtig abspülen.
- Objektträger in Lösung 3 oder 4: Entfärbelösung etwa 10-15 sec schwenken, bis keine Farbwolken mehr abgehen und der Ausstrich graublau erscheint.
- Mit dest. Wasser etwa 5 sec vorsichtig abspülen.
- Objektträger vollständig mit Lösung 5: Safraninlösung bedecken, 1 min färben.
- Mit dest. Wasser etwa 5 sec vorsichtig abspülen
- Trocknen lassen, mikroskopieren.

Gram-Färbung

Bei Färbung im Eintauchverfahren empfiehlt sich eine Verdünnung bei Kristallviolettlösung mit demineralisiertem Wasser im Verhältnis 1:3.

Färbung in der Küvette/Automat

Schritt	Färbezeit	Lösung	Anmerkungen
1	1 min, 30 sec	Kristallviolett	
2	30 sec	fließendes Leitungswasser	
3	3 min	Lugols Lösung	Nach drei

		stabilisiert	Durchläufen filtern
4	20 sec	fließendes Leitungswasser	
5	5-10 sec	Entfärbelösung	Nach 5 Durchläufen verwerfen
6	30 sec	fließendes Leitungswasser	
7	1 min	Safraninlösung	
8	1 min	fließendes Leitungswasser	
9	5 min	(Trocknen 50°C)	

Ergebnis:

grampositive Mikroorganismen blauviolett
gramnegative Mikroorganismen rosa bis rot

Kontrolle

Die Kontrolle des Färbesets kann mit grampositiven Bakterien (Staphylokokken) und gramnegativen Bakterien (Escherichia coli) durchgeführt werden. Dazu sind Kulturen von 18-24 Stunden lang bebrüteten Nährböden zu verwenden.

Technischer Hinweis

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

Präparation der Proben

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.

Diagnostik

Diagnosen sind nur von autorisierten und geschulten Personen zu erstellen. Gültige Nomenklaturen sind anzuwenden. Weiterführende Tests sind nach anerkannten Methoden auszuwählen und durchzuführen.

Lagerung

Der Färbeset ist bei +15°C bis +25°C zu lagern. Nach dem ersten Öffnen der Flasche bei +15°C bis +25°C aufbewahrt bis zum Verfallsdatum verwendbar.

Bei den Farbstofflösungen 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 Farbstofflösungen sind anschließend durch ein Papierfilter zu filtrieren.

Haltbarkeit

Die Lösungen sind bis zum angegebenen Verfallsdatum zu verwenden. Die Flaschen sind stets gut geschlossen zu halten.

Kapazität

Der Set ist für bis zu 250 Präparate ausreichend, die Anzahl Präparate für die Einzellösungen hängt von der Packungsgröße ab (bis zu 250 Präparaten /1250 Präparate).

Gebrauchshinweise

Um Fehler zu vermeiden, ist die Färbung von Fachpersonal durchzuführen. Nur für professionelle Anwendung. 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

Gebrauchte Lösungen und Lösungen mit abgelaufener Haltbarkeit sind als Sondermüll zu entsorgen, dabei ist den lokalen Entsorgungsrichtlinien zu folgen. Merck bietet neben der Rücknahme gebrauchter oder verfallener Produkte über den Retrologistik Service, auch die technische Unterstützung für lokale Entsorgungslösungen an.

Einzelartikel

Artikel	1.00983	Ethanol z. A.	1 l, 2,5 l
	1.09218	Grams Kristallviolettlösung	500 ml, 2,5 l
	1.09217	Grams Safraninlösung	500 ml, 2,5 l
	1.10218	Grams Entfärbelösung	500 ml, 2,5 l
	1.00567	Lugols Lösung stabilisiert	1 l
	1.09261	Lugols Lösung	250 ml, 1 l
	1.09215	Ziehl-Neelsen Karbol-fuchsinlösung	100 ml, 500 ml, 2,5 l

Hilfsmittel

Artikel 1.07961. Entellan® Neu (Schnelleindeckmittel)	100 ml, 500 ml
1.15577. Immersionsöl nach DIN ISO 8036-1	100 ml
1.04699. Immersionsöl	100 ml, 500 ml
1.06965. Zedernholzöl	100 ml, 500 ml
1.15525. Ringer-Tabletten	1 Pack. (100 Tabl.)

GefahrstoffEinstufung

Lösung 1 oder Art. Nr. 1.09218, Lösung 2 oder Art. Nr. 1.00567
oder Art. Nr. 1.09261, Lösung 3/4 oder Art. Nr. 1.10218
Lösung 5 oder Art. Nr. 1.09217

Die GefahrstoffEinstufung auf dem Etikett und die Angaben im
Sicherheitsdatenblatt beachten.
Das Merck Sicherheitsdatenblatt ist erhältlich im Internet und auf Anfrage.

Hauptbestandteile des Produktes

Lösung 1 oder Art. Nr. 1.09218

C.I. 42555	10g/l
C ₆ H ₅ OH	4g/l
1l =	0,99 kg

Lösung 2 oder Art. Nr. 1.00567

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

oder

Art. Nr. 1.09261

I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l =	1,01 kg

Lösung 3/4 oder Art. Nr. 1.10218

C ₂ H ₆ O	634 g/l
C ₃ H ₆ O	159 g/l
1l =	0,79 kg

Lösung 5 oder Art. Nr. 1.09217

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

Juli 2004

CE

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany, Tel. (0 61 51) 7 20