1.01603. Gram-color modifiziert, phenolfrei

In Vitro Diagnostikum

Gram-color modifiziert, phenolfrei

Färbeset für die Gram Färbung von bakteriologischen Präparaten

Prinzip
Anilinfarbstoffe werden im Zellleib von Mikroorganismen bei nachfolgender Iodeinwirkung zu einem Farbe-Iod-Komplex gebunden.
Natriumhydrogencarbonat verstärkt diesen Komplex noch.
Bei grampositiven Mikroorganismen kann der Farbe-Iod-Komplex nicht mehr durch Entfärbemittel wie Alkohol oder Aceton aus der Zelle gelöst werden. Die Zelle bleibt dunkelblau gefärbt.
Bei gramnegativen Mikroorganismen wird der Farbe-Iod-Komplex gelöst und die Zelle wird durch Gegenfärbung rot gefärbt.

Bestandteile im Kit

Nummer 1a:	Kristallviolettlösung	100 ml
Nummer 1b:	Natriumhydrogencarbonatlösung	100 ml
Nummer 1c:	Flasche für Arbeitslösung aus 1a und 1b	
Nummer 2:	Iodlösung, PVP stabilisiert	190 ml
Nummer 3:	Entfärbelösung	190ml
Nummer 4:	Fuchsinlösung	190 ml

Aufbewahrung
Das Färbeset ist bei Raumtemperatur aufzubewahren. 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 Std. in ein 60°C warmes Wasserbad einzustellen. Dadurch löst sich der größte Teil der Farbstoffniederschläge wieder auf. Die Farbstofflösungen sind anschließend durch einen Papierfilter zu filtrieren.

Vorbereitung der Ausstriche
Das Untersuchungsmaterial wie Körperflüssigkeiten, Exsudate, Eiter, flüssiges oder Koloniematerial wird mit ausgeglühter Öse auf einen fettfreien Objektträger aufgetragen. Dann wird direkt verrieben und ausgestrichen. Nach Lufttrocknung wird die Hitzefixierung vorgenommen, indem man den Ausstrich (Austrichseite oben) dreimal langsam durch den oberen Teil der Bunsenbrennerflamme zieht, erkalten lassen und färben.

Vorbereitung der Färbelösung
Die Reagenzien Kristallviolettlösung (Lösung 1a) und Natriumhydrogencarbonatlösung (Lösung 1b) werden im Mengenverhältnis 1:1 in der dafür vorgesehenen Flasche (1c) gemischt. Diese Mischung ist ausreichend für ca. 65 – 70 Präparate, bei Raumtemperatur 10 Tage und im Kühlschrank 14 Tage haltbar. Sollte die Ansatzmenge für diesen Zeitraum zu groß sein, wird empfohlen eine kleinere Menge anzusetzen (pro Objektträger ca. 3 ml).

Durchführung auf der Färbebank

1 min	Objektträger vollständig mit Arbeitslösung 1c (Gemisch aus Kristallviolettlösung (1a) und Natriumhydrogen-carbonatlösung (1b) 1:1) bedecken und färben
5 sec	Mit Aqua dest. vorsichtig spülen
1min	Objektträger vollständig mit stabilisierter Lösung 2, Iodlösung, bedecken
5 sec	Mit Aqua dest. vorsichtig spülen
5 – 10 sec	Zum Entfärben mit Lösung 3, Entfärbelösung, vollständig bedecken
5 sec	Mit Aqua dest. vorsichtig spülen
15 – 30 sec	Zum Gegenfärben vollständig mit Lösung 4, Fuchsinlösung, bedecken
5 sec	Mit Aqua dest. vorsichtig spülen
	Trocknen

Ergebnisse

Grampositive Mikroorganismen	dunkelblau
Gramnegative Mikroorganismen	rot

Kontrolle
Die Kontrolle des Färbesets kann mit grampositiven Bakterien (Staphylokokken) und gramnegativen Bakterien (Escherichia coli) durchgeführt werden. Dazu sind Kulturen von 18-24 Std. 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 Färbekit 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.

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

Kapazität
Der Kit ist für bis zu 65-70 Präparate ausreichend.

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.

Hilfsreagenzien

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

Gefahrstoffeinstufung
Art. Nr. 1.01603
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 1a.

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

Lösung 1b

$NaHCO_3$	25 g/l

Lösung 2

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

Lösung 3

C_2H_5OH	634 g/l
C_3H_6O	159 g/l
1 l = 0,79 kg	

Lösung 4.

C.I. . 42510 oder 42520*	0.9 g/l
C_2H_5OH	79 g/l

*Beide Farbstoffe können für die Lösung benutzt werden, das Resultat hat die gleiche Sensitivität und Spezifität.

August 2004 CE

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