

Instructions for Use

Gram Stain Kit for Films

Gram Stain Kit for Tissue

Procedure No. HT90



Intended Use

Gram Stain reagents are intended for use in the delineation of Gram-Positive and Gram-Negative organisms in films and tissue. Gram Stain reagents are for "In Vitro Diagnostic Use". For professional use only. The data obtained from this manual, qualitative procedure identifies Gram-Positive and Gram-Negative organisms in tissue sections and smears of human specimens. This data when reviewed in conjunction with other diagnostic tests and information may be used as an aid to diagnosis of Gram-Positive and Gram-Negative bacterial infections.

Gram stain is used clinically to delineate two distinct groups of microorganisms. Those which retain primary dye (crystal violet) are called Gram positive. Those which lose the primary dye during a decolorization step are called Gram negative. The mechanisms whereby Gram positive organisms retain the primary stain are unknown, although the chemistry and structure of cell walls are most certainly involved.

The Sigma-Aldrich procedure is based on the work of Hucker and Conn which is a modification of the original Gram procedure from 1884. The Hucker and Conn procedure utilizes a crystal violet-ammonium oxalate solution that aids in differentiation and is quite stable.¹

Reagents

Crystal Violet Solution (Cat. No. HT901-8FOZ)

Certified crystal violet, 2.30%, C.I. 42555, ammonium oxalate, 0.1%, and 20% ethyl alcohol, SD3A

Gram's Iodine Solution (Cat. No. HT902-8FOZ)

Iodine, 0.33%, and potassium iodide, 0.66%

Decolorizer Solution (Cat. No. HT903-8FOZ)

Required for films only. Isopropyl alcohol, 75%, and acetone, 25%

Safranin O Solution (Cat. No. HT904-8FOZ)

Certified safranin 0.6%, C.I. 50240, in 20% ethyl alcohol, SD3A

Tartrazine Solution (Cat. No. HT3028-250ML)

Required for tissue only. Tartrazine, 0.25%, C.I. 19140, and acetic acid, 0.25%

Special Materials Required but Not Provided

- Positive control slides should be included in each run, Gram Stain TISSUE-TROL™ (Cat. No. TTR005)
- Alcohol, Absolute
- Acetone, ACS Grade
- Xylene or xylene substitute
- Microscope

Storage and Stability

Store at room temperature (18–26°C). Reagent label bears the expiration dating. Use once and discard.

Preparation

All reagents are ready to use.

Precautions

These IVDs are intended for in vitro diagnostic use in a clinical laboratory environment. These IVDs are for professional use by qualified personnel only. Sigma-Aldrich IVDs may be operated by laboratory personnel who are trained to handle human specimens that can be infectious, use microscopes and other laboratory equipment and have color perception and visual acuity to distinguish colors and other objects under a microscope.

Normal precautions exercised in handling laboratory reagents should be followed. Dispose of waste observing all local, state, provincial or national regulations.

Gram Stain TISSUE-TROL™ control slides are paraffin embedded animal tissue containing gram negative and gram positive bacteria and should be considered potentially infectious.

Procedure

Specimen Collection

No known test method can offer complete assurance that blood samples or tissue will not transmit infection. Therefore, all blood derivatives or tissue specimens should be considered potentially infectious.

Films

Any well prepared, heat-fixed film is acceptable. The thickness of the film will influence the time required for decolorization.

Tissue

Any well-fixed paraffin embedded tissue cut at 5 microns.

Notes

Care should be taken to avoid over decolorization of the slides with the Decolorizer Solution. Even Gram positive organisms will become colorless and appear red if the Decolorizer solution is left on the slide for excessive periods of time.³

Procedure

Procedure for films

1. Flood film with Crystal Violet Solution for **1 minute**.
2. Rinse thoroughly in deionized water.
3. Flood film with Gram's Iodine Solution for **1 minute**.
4. Rinse thoroughly in deionized water.
5. Flood with Decolorizer Solution for up to **10 seconds** until color stops running.
6. Rinse thoroughly in deionized water.
7. Flood film with Safranin O Solution for **1 minute**.
8. Rinse thoroughly in deionized water.
9. Air dry film and examine microscopically.

Procedure for tissue²

1. Deparaffinize sections and hydrate to deionized water.
2. Place slides on staining rack and cover sections with Crystal Violet Solution, for **1 minute**.
3. Drain off Crystal Violet Solution and rinse thoroughly in deionized water.
4. Mordant in Gram's Iodine Solution for **5 minutes**.
5. Rinse in deionized water and blot sections.
6. Differentiate in absolute alcohol or acetone.
7. Rinse in deionized water.
8. Cover slides with Safranin O Solution for **30–60 seconds**.
9. Rinse in deionized water and blot sections.
10. Cover sections with Tartrazine Solution for **5–10 seconds**.
11. Blot off excess stain.
12. Rinse in 2 changes absolute alcohol.
13. Clear in xylene and mount.

Performance Characteristics

Gram positive organisms	Purple
Gram negative organisms	Red

If observed results vary from expected results, please contact Sigma-Aldrich Technical Service for assistance.

Analytical Performance Characteristics

The analytical performance results for the given tests conducted on all target structures, confirm 100% sensitivity, specificity, and repeatability.

Cat. No	Product Description	Target	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity
HT901	Crystal Violet Solution	Gram Positive	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Gram Negative	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT902	Gram's Iodine Solution	Gram Positive	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Gram Negative	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT903	Decolorizer Solution	Gram Positive	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Gram Negative	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT904	Safranin O Solution	Gram Positive	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Gram Negative	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT3028	Tartrazine Solution	Background	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3

Warnings and Hazards

Refer to Safety Data Sheet and product labeling for any updated risk, hazard or safety information.

HT90A:



H314 Causes severe skin burns and eye damage.

H336 May cause drowsiness or dizziness.

H411 Toxic to aquatic life with long lasting effects.

P261 Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapors/ spray.

P271 Use only outdoors or in a well-ventilated area.

P273 Avoid release to the environment.

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

P303 + P361 + P353 IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.

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

HT90T:



- H314 Causes severe skin burns and eye damage.
- H411 Toxic to aquatic life with long lasting effects.
- P273 Avoid release to the environment.
- P280 Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.
- P303 + P361 + P353 IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.
- P304 + P340 + P310 IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.
- P305 + P351 + P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
- P363 Wash contaminated clothing before reuse.

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 authorized representative and to your national authority.

Symbol Definitions

Symbols as defined in EN ISO 15223-1:2021

	Manufacturer		Catalogue Number
	Consult Instructions for Use		Batch Code
	Authorized Representative in the European Community/ European Union		European Union Declaration of Conformity (defined in IVDR 2017/746)
	Use-by Date		In vitro diagnostic medical device
	Temperature Limit		Caution
	Date of Manufacture		Importer
	Indicates the Authorised Representative in Switzerland		

References

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Contact Information

To place an order, please visit our web site at SigmaAldrich.com. For Technical Service, please visit the tech service page on our web site at SigmaAldrich.com/techservice.

Revision History

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
Transferred to new template with current branding. Specified for professional use in intended use and precautions. Revised intended use to align with IVDR guidelines. Updated Material Safety Data Sheet to Safety Data Sheet. Updated contact information. Removed instruction to follow CLSI for specimen collection. Removed EN 980 and changed to EN ISO 15223-1:2021 for symbols. Removed discontinued Cat. No. G3045 from Special Materials Required but not Required. Added adverse event contact information. Added Warnings and Hazards. Added CH-REP information.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

The Initial M and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Anweisungen für den Gebrauch

Gram-Färbe-Kit für Ausstriche

Gram-Färbe-Kit für Gewebe

Verfahren Nr. HT90



Verwendungszweck

Die Reagenzien für die Gram-Färbung dienen zur Abgrenzung von grampositiven und gramnegativen Organismen in Ausstrichen und Geweben. Die Reagenzien für die Gram-Färbung sind für die „In-vitro-Diagnose“ bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch. Die mit diesem manuellen qualitativen Verfahren gewonnenen Daten dienen dem Nachweis grampositiver und gramnegativer Organismen in Gewebeschritten und Ausstrichen von menschlichen Proben. Diese Daten können in Verbindung mit anderen diagnostischen Tests und Informationen als Hilfsmittel für die Diagnose von Infektionen mit grampositiven und gramnegativen Bakterien verwendet werden.

Die Gram-Färbung dient zur klinischen Unterscheidung zweier verschiedener Gruppen von Mikroorganismen. Mikroorganismen, die den primären Farbstoff (Kristallviolett) binden, bezeichnet man als grampositiv. Mikroorganismen, die während der Entfärbung den Primärfarbstoff abgeben, werden als gramnegativ bezeichnet. Die Mechanismen, durch welche grampositive Organismen die primäre Anfärbung beibehalten, sind unbekannt. Allerdings spielen chemische Eigenschaften und die Struktur der Zellwände mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Rolle.

Das Verfahren von Sigma-Aldrich basiert auf den Arbeiten von Hucker und Conn und ist eine Abwandlung des ursprünglichen Gram-Verfahrens von 1884. Das Verfahren von Hucker und Conn verwendet eine Kristallviolett-Ammoniumoxalat-Lösung, die die Differenzierung unterstützt und zudem relativ stabil ist.¹

Reagenzien

Kristallviolett-Lösung (Kat.-Nr. HT901-8FOZ)

Zertifiziertes Kristallviolett, 2,30 %, C.I. 42555, Ammoniumoxalat, 0,1 % und 20 % Ethylalkohol, SD3A

Gram'sche Iodlösung (Kat.-Nr. HT902-8FOZ)

Jod, 0,33 %, und Kaliumjodid, 0,66 %.

Entfärberlösung (Kat.-Nr. HT903-8FOZ)

Nur für Ausstriche erforderlich. Isopropylalkohol, 75 % und Aceton, 25 %

Safranin O-Lösung (Kat.-Nr. HT904-8FOZ)

Zertifiziertes Safranin 0,6 %, C.I. 50240, in 20%igem Ethylalkohol, SD3A

Tartrazin-Lösung (Kat.-Nr. HT3028-250ML)

Nur für Gewebe erforderlich. Tartrazin, 0,25 %, C.I. 19140 und Essigsäure, 0,25 %

Spezielle Materialien, die erforderlich sind, aber nicht zur Verfügung gestellt werden

- Positive Kontroll-Objektträger sollten in jedem Durchlauf enthalten sein, Gram-Färbung TISSUE-TROL™ (Kat.-Nr. TTR005)
- Reiner Alkohol
- Aceton, ACS-Qualität
- Xylol oder Xylolersatz
- Mikroskop

Lagerung und Stabilität

Bei Raumtemperatur (18–26 °C) lagern. Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett des Reagenzes angegeben. Einmal verwenden, dann entsorgen.

Vorbereitung

Alle Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Vorsichtsmaßnahmen

Diese IVDs sind für die In-vitro-Diagnostik in einer klinischen Laborumgebung bestimmt. Diese IVDs sind nur für den professionellen Gebrauch durch qualifiziertes Personal bestimmt. Die IVDs von Sigma-Aldrich können von Laborpersonal bedient werden, das im Umgang mit menschlichen Proben, die infektiös sein können, geschult ist, Mikroskope und andere Laborgeräte bedienen kann und über eine Farbwahrnehmung und Sehschärfe verfügt, um Farben und andere Objekte unter dem Mikroskop zu unterscheiden.

Beim Umgang mit Laborreagenzien sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Entsorgen Sie den Abfall unter Einhaltung aller örtlichen, staatlichen, regionalen oder nationalen Vorschriften.

Gram-Färbung TISSUE-TROL™-Kontroll-Objektträger sind in Paraffin eingebettetes tierisches Gewebe, das gramnegative und grampositive Bakterien enthält und als potenziell infektiös betrachtet werden sollte.

Verfahren

Probenentnahme

Keine bekannte Testmethode kann vollständige Sicherheit bieten, dass Blutproben oder Gewebe keine Infektion übertragen. Daher sollten alle Blutderivate oder Gewebeproben als potenziell infektiös betrachtet werden.

Ausstriche

Alle gut vorbereiteten, hitzefixierten Ausstriche können verwendet werden. Die Dicke des Ausstrichs hat Einfluss auf die Dauer, die für die Entfärbung benötigt wird.

Gewebe

Alle gut fixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebeschritte mit einer Dicke von 5 Mikrometern.

Anmerkungen

Eine übermäßige Entfärbung der Objektträger mit der Entfärberlösung sollte vermieden werden. Bei zu langer Verweildauer der Entfärberlösung auf den Objektträgern werden selbst grampositive Organismen entfärbt und erscheinen rot.³

Verfahren

Verfahren für Ausstriche

- Den Ausstrich für **1 Minute** mit Kristallviolett-Lösung fluten.
- Gründlich in entionisiertem Wasser abspülen.
- Den Ausstrich für **1 Minute** mit Gram'scher Iodlösung fluten.
- Gründlich in entionisiertem Wasser abspülen.
- Für bis zu **10 Sekunden** mit Entfärberlösung fluten, bis keine Farbe mehr austritt.
- Gründlich in entionisiertem Wasser abspülen.
- Den Ausstrich für **1 Minute** mit Safranin O-Lösung fluten.
- Gründlich in entionisiertem Wasser abspülen.
- Ausstrich an der Luft trocknen lassen und mikroskopisch untersuchen.

Verfahren für Gewebe²

- Schnitte entparaffinieren und in entionisiertem Wasser hydratisieren.
- Die Objektträger auf ein Färbegestell legen und die Schnitte **1 Minute** lang mit Kristallviolett-Lösung bedecken.
- Kristallviolett-Lösung abgießen und gründlich in entionisiertem Wasser abspülen.
- 5 Minuten** lang in Gram'scher Iodlösung beizen.
- Mit entionisiertem Wasser abspülen und die Abschnitte abtupfen.
- Differenzierung mit reinem Alkohol oder Aceton durchführen.
- Mit entionisiertem Wasser abspülen.
- Objektträger für **30–60 Sekunden** mit Safranin O-Lösung überziehen.
- Mit entionisiertem Wasser abspülen und die Abschnitte abtupfen.
- Die Schnitte **5–10 Sekunden** mit der Tartrazin-Lösung bedecken.
- Überschüssiges Färbemittel abtupfen.
- 2 Mal mit reinem Alkohol spülen.
- In Xylol klären und einbetten.

Leistungsmerkmale

Grampositive Organismen	Violett
Gramnegative Organismen	Rot

Wenn die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen abweichen, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von Sigma-Aldrich, um Unterstützung zu erhalten.

Analytische Leistungsmerkmale

Die Ergebnisse der analytischen Leistung für die gegebenen Tests, die für alle Zielstrukturen durchgeführt wurden, bestätigen eine 100%ige Sensitivität, Spezifität und Wiederholbarkeit.

Kat.-Nr.	Beschreibung des Produkts	Ziel	Intra-Assay-Spezifität	Intra-Assay-Empfindlichkeit	Inter-Assay-Spezifität	Inter-Assay-Empfindlichkeit
HT901	Kristallviolett-Lösung	Grampositiv	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Gramnegativ	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT902	Gram'sche Iodlösung	Grampositiv	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Gramnegativ	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT903	Entfärberlösung	Grampositiv	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Gramnegativ	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT904	Safranin O-Lösung	Grampositiv	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Gramnegativ	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT3028	Tartrazin-Lösung	Hintergrund	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3

Warnungen und Gefahren

Aktuelle Risiko-, Gefahren- und Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt und auf der Produktkennzeichnung.

HT90A:



H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden.

H336 Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.

H411 Giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.

P261 Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dämpfe/Spray möglichst nicht einatmen.

P271 Nur im Freien oder an einem gut belüfteten Ort verwenden.

P273 Freisetzung in die Umwelt ist zu vermeiden.

P280 Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.

P303 + P361 + P353 BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen.

P305 + P351 + P338 BEI AUGENKONTAKT: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Entfernen Sie Kontaktlinsen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter abspülen.

HT90T:



- H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden.
- H411 Giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.
- P273 Freisetzung in die Umwelt ist zu vermeiden.
- P280 Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.
- P303 + P361 + P353 BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen.
- P304 + P340 + P310 BEIM EINATMEN: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie dafür, dass sie bequem atmen kann. Rufen Sie sofort eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.
- P305 + P351 + P338 BEI AUGENKONTAKT: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Entfernen Sie Kontaktlinsen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter abspülen.
- P363 Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.

Wenn während der Verwendung dieses Geräts oder als Folge seiner Verwendung ein schwerwiegender Zwischenfall eingetreten ist, melden Sie dies bitte dem Hersteller und/oder seinem bevollmächtigten Vertreter sowie Ihrer nationalen Behörde.

Symbol-Definitionen

Symbole gemäß der Definition in EN ISO 15223-1:2021

	Hersteller		Katalognummer
	Anweisungen für den Gebrauch beachten		Chargencode
	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäischen Union		Konformitätserklärung der Europäischen Union (definiert in IVDR 2017/746)
	Verfallsdatum		Medizinisches In-vitro-Diagnosegerät
	Temperatur-Grenzwert		Vorsicht
	Datum der Herstellung		Importeur
	Weist auf den bevollmächtigten Vertreter in der Schweiz hin		

Referenzen

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Kontaktinformationen

Um eine Bestellung aufzugeben, besuchen Sie bitte unsere Website unter SigmaAldrich.com. Für den technischen Service besuchen Sie bitte die technische Service-Seite auf unserer Website unter SigmaAldrich.com/techservice.

Revisionshistorie

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Die neue Vorlage mit aktuellem Branding wurde angewandt. In Verwendungszweck und Vorsichtsmaßnahmen wurde die Nennung der gewerblichen Verwendung hinzugefügt. Überarbeitung des Verwendungszwecks zur Angleichung an die IVDR-Richtlinien. Materialsicherheitsdatenblatt wurde in Sicherheitsdatenblatt geändert. Kontaktinformationen wurden aktualisiert. Die Anweisung, CLSI für die Probenentnahme zu befolgen, wurde entfernt. EN 980 wurde gestrichen und in EN ISO 15223-1:2021 für Symbole geändert. Nicht mehr lieferbare Kat- Nr. G3045 aus Spezielle Materialien, die erforderlich sind, aber nicht zur Verfügung gestellt werden entfernt. Kontaktinformationen für unerwünschte Ereignisse wurden hinzugefügt. Warnungen und Gefahren hinzugefügt. CH-REP-Informationen wurden hinzugefügt.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Die Initiale M und Sigma-Aldrich sind Marken der Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland oder ihrer Tochtergesellschaften. Alle anderen Marken sind das Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber. Ausführliche Informationen über Marken sind über öffentlich zugängliche Quellen erhältlich.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Mode d'emploi

Kit de coloration de Gram pour les frottis

Kit de coloration de Gram pour les tissus

Procédure n° HT90



Utilisation prévue

Les réactifs pour la coloration de Gram sont destinés à être utilisés pour mettre en évidence les micro-organismes à Gram positif et à Gram négatif dans les frottis et les tissus. Les réactifs pour la coloration de Gram sont destinés à un « usage en diagnostic *in vitro* ». Réservé à un usage professionnel. Les données obtenues avec cette procédure qualitative manuelle permettent d'identifier les micro-organismes à Gram positif et à Gram négatif dans les coupes de tissus et les frottis d'échantillons humains. Lorsqu'elles sont examinées en association avec d'autres tests de diagnostic et d'autres informations, ces données peuvent être utilisées comme aide au diagnostic des infections bactériennes à Gram positif et à Gram négatif.

La coloration de Gram est utilisée en clinique pour différencier deux groupes distincts de micro-organismes. Ceux qui retiennent le colorant primaire (cristal violet) sont dits à Gram positif. Ceux qui perdent le colorant primaire lors d'une étape de décoloration sont dits à Gram négatif. Les mécanismes par lesquels les micro-organismes à Gram positif retiennent le colorant primaire sont inconnus, bien que la composition chimique et la structure des parois cellulaires soient très certainement impliquées.

La procédure de Sigma-Aldrich repose sur le travail de Hucker et Conn qui est une modification de la procédure d'origine de Gram de 1884. La procédure de Hucker et Conn utilise une solution de cristal violet et d'oxalate d'ammonium qui facilite la différenciation et est assez stable.¹

Réactifs

Solution de cristal violet (réf. HT901-8FOZ)

Cristal violet certifié, 2,30 %, C.I. 42555, oxalate d'ammonium, 0,1 % et alcool éthylique à 20 %, SD3A.

Solution d'iode de Gram (réf. HT902-8FOZ)

Iode, 0,33 % et iodure de potassium, 0,66 %.

Solution de décoloration (réf. HT903-8FOZ)

Requise pour les frottis uniquement. Alcool isopropylique, 75 % et acétone, 25 %.

Solution de safranine O (réf. HT904-8FOZ)

Safranine certifiée 0,6 %, C.I. 50240, dans de l'alcool éthylique à 20 %, SD3A.

Solution de tartrazine (réf. HT3028-250ML)

Requise pour les tissus uniquement. Tartrazine, 0,25 %, C.I. 19140 et acide acétique, 0,25 %.

Matériel spécial requis mais non fourni

- Lames de contrôle positives qui doivent être incluses dans chaque série, lames Gram Stain TISSUE-TROL™ (réf. TTR005)
- Alcool absolu
- Acétone, de qualité ACS
- Xylène ou substitut du xylène
- Microscope

Conservation et stabilité

Conserver à température ambiante (entre 18 et 26 °C). L'étiquette des réactifs porte une date limite d'utilisation. Utiliser les solutions une seule fois, puis les jeter.

Préparation

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

Précautions

Ces dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* sont destinés à être utilisés en diagnostic *in vitro* au sein de laboratoires de biologie médicale. Ces dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* sont destinés à un usage professionnel par un personnel qualifié uniquement. Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* de Sigma-Aldrich peuvent être utilisés par le personnel de laboratoire formé à la manipulation d'échantillons humains potentiellement infectieux, à l'utilisation de microscopes et d'autres équipements de laboratoire et possédant une perception des couleurs et une acuité visuelle permettant de distinguer les couleurs ainsi que les autres objets au microscope.

Suivre les précautions habituelles lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets en respectant toutes les réglementations locales et nationales.

Les lames de contrôle Gram Stain TISSUE-TROL™ sont constituées de coupes de tissus animaux inclus en paraffine contenant des bactéries à Gram négatif et à Gram positif et doivent être considérées comme potentiellement infectieuses.

Procédure

Prélèvement des échantillons

Aucune méthode de test connue ne peut totalement garantir que les échantillons de sang ou de tissu ne transmettront pas d'infection. Par conséquent, tous les produits sanguins ou échantillons de tissu doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Frottis

Tout frottis bien préparé et fixé à la chaleur est acceptable. L'épaisseur du frottis aura un impact sur le temps nécessaire à la décoloration.

Tissus

Tout tissu bien fixé et inclus en paraffine d'une épaisseur de 5 microns.

Remarques

Éviter de décolorer excessivement les lames avec la solution de décoloration. Même les micro-organismes à Gram positif deviendront incolores et apparaîtront en rouge si la solution de décoloration est laissée sur la lame pendant des périodes trop longues.³

Procédure

Procédure pour les frottis

1. Recouvrir le frottis de solution de cristal violet et laisser agir pendant **1 minute**.
2. Rincer soigneusement à l'eau déionisée.
3. Recouvrir le frottis de solution d'iode de Gram et laisser agir pendant **1 minute**.
4. Rincer soigneusement à l'eau déionisée.
5. Faire couler la solution de décoloration sur le frottis pendant **10 secondes** maximum jusqu'à ce que plus aucune couleur ne s'écoule du frottis.
6. Rincer soigneusement à l'eau déionisée.
7. Recouvrir le frottis de solution de safranine O et laisser agir pendant **1 minute**.
8. Rincer soigneusement à l'eau déionisée.
9. Sécher le frottis à l'air libre et l'examiner au microscope.

Procédure pour les tissus²

1. Déparaffiner les coupes et les réhydrater dans de l'eau déionisée.
2. Placer les lames dans un portoir de coloration, les recouvrir de solution de cristal violet et laisser agir pendant **1 minute**.
3. Égoutter la solution de cristal violet et rincer soigneusement les lames à l'eau déionisée.
4. Réaliser le mordantage dans la solution d'iode de Gram pendant **5 minutes**.
5. Rincer à l'eau déionisée et sécher les coupes à l'aide de papier absorbant.
6. Réaliser la différenciation dans de l'alcool absolu ou de l'acétone.
7. Rincer à l'eau déionisée.
8. Recouvrir les lames de solution de safranine O et laisser agir pendant **30 à 60 secondes**.
9. Rincer à l'eau déionisée et sécher les coupes à l'aide de papier absorbant.
10. Recouvrir les coupes de solution de tartrazine et laisser agir pendant **5 à 10 secondes**.
11. Éliminer l'excès de colorant.
12. Rincer dans 2 bains d'alcool absolu.
13. Éclaircir au xylène et procéder au montage.

Caractéristiques de performance

Micro-organismes à Gram positif	Violet
Micro-organismes à Gram négatif	Rouge

Si les résultats observés diffèrent des résultats attendus, contacter le service technique de Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

Caractéristiques de performance analytique

Les résultats des performances analytiques pour les tests concernés effectués sur toutes les structures cibles confirment une sensibilité, une spécificité et une répétabilité de 100 %.

Réf.	Description du produit	Cible	Spécificité intra-série	Sensibilité intra-série	Spécificité inter-séries	Sensibilité inter-séries
HT901	Solution de cristal violet	Gram positif	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Gram négatif	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT902	Solution d'iode de Gram	Gram positif	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Gram négatif	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT903	Solution de décoloration	Gram positif	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Gram négatif	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT904	Solution de safranine O	Gram positif	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Gram négatif	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT3028	Solution de tartrazine	Fond	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3

Avertissements et risques

Se reporter à la fiche de données de sécurité et à l'étiquetage du produit pour obtenir des informations mises à jour concernant les risques, les dangers et la sécurité.

HT90A :



H314 Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.

H336 Peut provoquer somnolence ou vertiges.

H411 Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P261 Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.

P271 Utiliser seulement en plein air ou dans un endroit bien ventilé.

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.

P303 + P361 + P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.

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.

HT90T :



- H314 Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
- H411 Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
- 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.
- P303 + P361 + P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l’eau.
- P304 + P340 + P310 EN CAS D’INHALATION : transporter la personne à l’extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
- 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.
- P363 Laver les vêtements contaminés avant réutilisation.

Si, au cours de l’utilisation de ce dispositif ou à la suite de son utilisation, un incident grave se produit, le signaler au fabricant et/ou à son représentant agréé ainsi qu’aux autorités nationales compétentes.

Définition des symboles

Symboles tels que définis dans la norme EN ISO 15223-1:2021

	Fabricant		Référence catalogue
	Consulter le mode d’emploi		Numéro du lot
	Représentant agréé dans la Communauté européenne/ l’Union européenne		Déclaration de conformité de l’Union européenne (définie dans le règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i>)
	Date limite d’utilisation		Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Limites de température		Attention
	Date de fabrication		Importateur
	Indique le représentant agréé en Suisse		

Références

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Coordonnées

Pour passer commande, consulter notre site Web à l’adresse [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Pour le service technique, consulter la page du service technique sur notre site Web à l’adresse [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Historique des révisions

Rév. 3.0	2014
Rév. 4.0	2016
Rév. 5.0	2023
Transfert vers un nouveau modèle avec l’image de marque actuelle. Précision de l’usage professionnel dans l’utilisation prévue et les précautions. Révision de l’utilisation prévue afin de l’aligner sur les recommandations de la réglementation relative aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> . Remplacement du texte « Material Safety Data Sheet » par « Safety Data Sheet » dans la version anglaise. Mise à jour des coordonnées. Suppression de l’instruction indiquant de suivre les normes et recommandations du CLSI pour le prélèvement des échantillons. Remplacement de la norme EN 980 par la norme EN ISO 15223-1:2021 pour les symboles. Suppression de la référence catalogue G3045 de la section Matériel spécial requis mais non fourni. Ajout de coordonnées en cas d’événements indésirables. Ajout de la section relative aux avertissements et risques. Ajout des informations sur le représentant agréé en Suisse.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Le M majuscule et Sigma-Aldrich sont des marques de commerce de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne ou de ses filiales. Toutes les autres marques sont la propriété de leurs détenteurs respectifs. Des informations détaillées sur les marques de commerce sont disponibles via des ressources accessibles au public.

Istruzioni per l'uso

Kit per la colorazione Gram per strisci

Kit per la colorazione Gram per tessuti

Procedura n. HT90



Uso previsto

I reagenti per la colorazione di Gram sono utilizzabili per identificare patogeni Gram-positivi e Gram-negativi su strisci e tessuti. I reagenti per la colorazione di Gram sono destinati alla "diagnostica in vitro". Solo per uso professionale. Questa procedura qualitativa manuale identifica gli organismi Gram-positivi e Gram-negativi su sezioni di tessuto e strisci di campioni umani. Questi dati, se valutati insieme ad altri esami e referti diagnostici, possono contribuire alla diagnosi di infezioni da batteri Gram-positivi e Gram-negativi.

La colorazione di Gram trova impiego nella pratica clinica per differenziare due distinti gruppi di microrganismi: quelli che trattengono il colorante primario (cristalvioioletto) sono classificati come Gram-positivi, quelli che non sono in grado di trattenere il colorante primario durante una fase di decolorazione sono classificati come Gram-negativi. I meccanismi in virtù dei quali gli organismi Gram-positivi sono in grado di trattenere il colorante primario non sono noti, anche se quasi certamente ciò è dovuto alle proprietà chimiche e alla struttura delle pareti cellulari.

La procedura di Sigma-Aldrich si basa sul lavoro di Hucker e Conn, che ha modificato la tecnica originale sviluppata da Gram nel 1884. La procedura di Hucker e Conn utilizza una soluzione di ossalato di ammonio cristalvioioletto che favorisce la differenziazione ed è abbastanza stabile.¹

Reagenti

Soluzione di cristalvioioletto (N. di cat. HT901-8FOZ)
Cristalvioioletto certificato, 2,30%, C.I. 42555, ossalato di ammonio, 0,1% e alcol etilico al 20%, SD3A.

Soluzione di iodio di Gram (N. di cat. HT902-8FOZ)
Iodio, 0,33% e ioduro di potassio, 0,66%.

Soluzione decolorante (N. di cat. HT903-8FOZ)
Richiesto solo per gli strisci. Alcol isopropilico, 75% e acetone, 25%.

Soluzione di safranina O (N. di cat. HT904-8FOZ)
Safranina certificata 0,6%, C.I. 50240, in alcol etilico al 20%, SD3A.

Soluzione di tartrazina (N. di cat. HT3028-250ML)
Richiesto solo per le sezioni tissutali. Tartrazina, 0,25%, C.I. 19140, e acido acetico, 0,25%.

Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione

- Includere in ogni sessione vetrini di controllo positivo, Colorazione di Gram TISSUE-TROL™ (N. di cat. TTR005)
- Alcol, assoluto
- Acetone, di grado ACS
- Xilene o sostituto dello xilene
- Microscopio

Conservazione e stabilità

Conservare a temperatura ambiente (18-26 °C). L'etichetta dei reagenti riporta la data di scadenza. Utilizzare una sola volta e poi eliminare dall'uso.

Preparazione

Tutti i reagenti sono pronti per l'uso.

Precauzioni

Questi IVD sono destinati alla diagnostica in vitro in un ambiente di laboratorio clinico. Questi IVD sono destinati esclusivamente all'uso professionale da parte di personale qualificato. Gli IVD Sigma-Aldrich devono essere utilizzati da personale di laboratorio addestrato alla manipolazione di campioni biologici umani potenzialmente infettivi, come anche all'uso di microscopi e altre apparecchiature di laboratorio, che abbia la percezione del colore e l'acuità visiva necessari a distinguere i colori e altri oggetti al microscopio.

Seguire le normali precauzioni adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti attenendosi a tutte le normative vigenti a livello locale, provinciale, regionale o nazionale.

I vetrini di controllo Colorazione di Gram TISSUE-TROL™ sono relativi a tessuti animali inclusi in paraffina contenenti batteri Gram-negativi e Gram-positivi, per cui devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Procedura

Raccolta dei campioni

Nessun metodo di analisi noto può garantire in modo assoluto che i campioni di sangue o tessuto non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i derivati del sangue o i campioni di tessuto devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Strisci

Qualunque striscio preparato correttamente e fissato con il calore è accettabile. Dallo spessore dello striscio dipende il tempo necessario per la decolorazione.

Tessuto

Qualsiasi tessuto fissato correttamente incluso in paraffina tagliato a 5 micron.

Note

Prestare attenzione per evitare di decolorare eccessivamente i vetrini con la soluzione decolorante. Anche i microrganismi Gram-positivi diventeranno incolori e appariranno rossi se la soluzione decolorante viene lasciata sul vetrino troppo a lungo.³

Procedura

Procedura per gli strisci

- Immergere lo striscio in nella soluzione di cristalvioioletto per **1 minuto**.
- Sciacquare accuratamente con acqua deionizzata.
- Immergere lo striscio in soluzione di iodio di Gram per **1 minuto**.
- Sciacquare accuratamente con acqua deionizzata.
- Immergere nella soluzione decolorante per un massimo di **10 secondi** fino a che non perde più colore.
- Sciacquare accuratamente con acqua deionizzata.
- Immergere lo striscio nella soluzione di safranina O per **1 minuto**.
- Sciacquare accuratamente con acqua deionizzata.
- Asciugare all'aria il vetrino ed esaminarlo al microscopio.

Procedura per le sezioni tissutali²

- Deparaffinare le sezioni e bagnarle con acqua deionizzata per idratarle.
- Posizionare i vetrini sul rack per colorazione e coprire le sezioni con soluzione di cristalvioioletto per **1 minuto**.
- Scolare la soluzione di cristalvioioletto e sciacquare abbondantemente con acqua deionizzata.
- Mordenzare con soluzione di iodio di Gram per **5 minuti**.
- Sciacquare con acqua deionizzata e asciugare con materiale assorbente.
- Differenziare in alcol assoluto o acetone.
- Sciacquare con acqua deionizzata.
- Coprire i vetrini con soluzione di safranina O per **30-60 secondi**.
- Sciacquare con acqua deionizzata e asciugare con materiale assorbente.
- Coprire le sezioni con soluzione di tartrazina per **5-10 secondi**.
- Eliminare il colorante in eccesso.
- Sciacquare in alcol assoluto. Ripetere 2 volte cambiando l'alcol.
- Chiarificare in xilene e montare.

Caratteristiche prestazionali

Organismi Gram-positivi	Porpora
Organismi Gram-negativi	Rosso

Se i risultati osservati differiscono dai risultati attesi, rivolgersi al servizio di assistenza tecnica di Sigma-Aldrich.

Caratteristiche di prestazione analitica

I risultati delle prestazioni analitiche per i test dati condotti su tutte le strutture target confermano una sensibilità, specificità e ripetibilità del 100%.

N. di cat.	Descrizione del prodotto	Target	Specificità intra-saggio	Sensibilità intra-saggio	Specificità inter-saggio	Sensibilità inter-saggio
HT901	Soluzione di cristalvioioletto	Gram-positivo	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
		Gram-negativo	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
HT902	Soluzione di iodio di Gram	Gram-positivo	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
		Gram-negativo	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
HT903	Soluzione decolorante	Gram-positivo	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
		Gram-negativo	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
HT904	Soluzione di safranina O	Gram-positivo	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
		Gram-negativo	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
HT3028	Soluzione di tartrazina	Sfondo	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3

Avvertenze e pericoli

Per informazioni aggiornate su rischi, precauzioni e sicurezza, consultare la scheda dati di sicurezza e l'etichetta del prodotto.

HT90A:



H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H336 Può provocare sonnolenza o vertigini.

H411 Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.

P271 Utilizzare soltanto all'aperto o in luogo ben ventilato.

P273 Non disperdere nell'ambiente.

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

P303 + P361 + P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua.

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

HT90T:



- H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
- H411 Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
- P273 Non disperdere nell'ambiente.
- P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso.
- P303 + P361 + P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua.
- P304 + P340 + P310 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/ un medico.
- P305 + P351 + P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
- P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.

Se durante l'utilizzo di questo dispositivo, o a seguito di questo, si è verificato un grave incidente, segnalarlo al fabbricante e/o al suo rappresentante autorizzato e alla propria autorità nazionale.

Definizioni dei simboli

Simboli da usare in conformità con la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabbricante		Numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Codice del lotto
	Mandatario nella Comunità europea/Unione europea		Dichiarazione di conformità dell'Unione europea (definita in IVDR 2017/746)
	Data di scadenza		Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Limite di temperatura		Attenzione
	Data di fabbricazione		Importatore
	Mandatario in Svizzera		

Bibliografia

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927.
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567.
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234.

Recapiti

Per effettuare un ordine, visitare il nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Per il servizio di assistenza tecnica, visitare l'apposita pagina dedicata sul nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Cronologia delle revisioni

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Trasferito a un nuovo modello con il marchio attuale. Specificato "per uso professionale" nelle sezioni "Uso previsto" e "Precauzioni". Modificata la sezione "Uso previsto" per allinearla alle linee guida dell'IVDR. Modificato "scheda dati di sicurezza dei materiali" in "scheda dati di sicurezza". Aggiornati i recapiti. Eliminate le istruzioni per conformarsi allo standard CLSI per la raccolta dei campioni. Sostituita l'indicazione della norma EN 980 con quella della norma EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Eliminato "fuori produzione N. di cat. G3045" da "Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione". Aggiunti recapiti da contattare in caso di eventi avversi. Aggiunta la sezione "Avvertenze e pericoli". Aggiunta informazione per Mandatario in Svizzera.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

L'iniziale "M" e Sigma-Aldrich sono marchi commerciali di Merck KGaA, Darmstadt, Germania o delle sue affiliate. Tutti gli altri marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi proprietari. Informazioni dettagliate sui marchi sono disponibili tramite risorse accessibili pubblicamente.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Instrucciones de uso

Kit de tinción de Gram para láminas
Kit de tinción de Gram para tejidos

N.º de procedimiento HT90



Uso previsto

Los reactivos de tinción de Gram están destinados a la delimitación de organismos Gram-positivos y Gram-negativos en láminas y tejidos. Los reactivos de tinción de Gram son para "uso diagnóstico in vitro". Solo para uso profesional. Los datos obtenidos con este procedimiento manual y cualitativo identifican organismos Gram-positivos y Gram-negativos en secciones de tejido y frotis de muestras humanas. Si estos datos se revisan junto con otras pruebas de diagnóstico e información, se pueden utilizar como ayuda para el diagnóstico de infecciones bacterianas Gram-positivas y Gram-negativas.

La tinción de Gram se utiliza clínicamente para delimitar dos grupos distintos de microorganismos. Los que retienen el colorante primario (cristal violeta) se denominan Gram positivos. Los que pierden el colorante primario durante una etapa de decoloración se denominan Gram negativos. Se desconocen los mecanismos por los que los organismos Gram positivos retienen la tinción primaria, aunque la química y la estructura de las paredes celulares están seguramente implicadas.

El procedimiento de Sigma-Aldrich se basa en el trabajo de Hucker y Conn, que es una modificación del procedimiento original de Gram de 1884. El procedimiento de Hucker y Conn utiliza una solución de oxalato de amonio y cristal violeta que ayuda a la diferenciación y es bastante estable.¹

Reactivos

Solución de cristal violeta (N.º de cat. HT901-8FOZ)

Cristal violeta certificado, 2,30 %, C.I. 42555, oxalato de amonio, 0,1 %, y alcohol etílico 20 %, SD3A

Solución de yodo de Gram (N.º de cat. HT902-8FOZ)

Yodo, 0,33 %, y yoduro de potasio, 0,66 %

Solución decolorante (N.º de cat. HT903-8FOZ)

Obligatorio solo para las láminas. Alcohol isopropílico, 75 %, y acetona, 25 %.

Solución de safranina O (N.º de cat. HT904-8FOZ)

Safranina certificada al 0,6 %, C.I. 50240, en alcohol etílico al 20 %, SD3A

Solución de tartracina (N.º de cat. HT3028-250ML)

Necesario solo para tejidos. Tartracina, al 0,25 %, C.I. 19140, y ácido acético, al 0,25 %.

Material especial necesario pero no suministrado

- Deben incluirse en cada proceso los portaobjetos de control positivo, tinción de Gram TISSUE-TROL™ (N.º de cat. TTR005).
- Alcohol, absoluto
- Acetona, grado ACS
- Xileno o sustituto del xileno
- Microscopio

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar a temperatura ambiente (18-26 °C). La etiqueta del reactivo indica la fecha de caducidad. Utilizar una sola vez y desecharlo.

Preparación

Todos los reactivos están listos para su uso.

Precauciones

Estos dispositivos médicos de diagnóstico in vitro (DMDIV) están destinados a un uso de diagnóstico in vitro en un entorno de laboratorio clínico. Estos DMDIV están destinados a un uso profesional por parte de personal cualificado. El personal de laboratorio capacitado de Sigma-Aldrich puede utilizar los DMDIV para manipular muestras humanas que puedan ser infecciosas, utilizar microscopios y otros equipos de laboratorio y tener percepción de los colores y agudeza visual para distinguir los colores y otros objetos bajo el microscopio.

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Se deben eliminar los residuos respetando todas las normativas locales, estatales, regionales o nacionales.

Los portaobjetos de tinción de Gram TISSUE-TROL™ son tejidos animales incluidos en parafina que contienen bacterias gramnegativas y grampositivas y deben considerarse potencialmente infecciosos.

Procedimiento

Recogida de la muestra

Ningún método de prueba conocido puede ofrecer total garantía de que las muestras de sangre o tejidos no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Láminas

Se acepta cualquier lámina bien preparada y fijada con calor. El grosor de la lámina influirá en el tiempo necesario para la decoloración.

Tejido

Cualquier tejido incluido en parafina bien fijado y cortado a 5 micras.

Notas

Se debe tener cuidado para evitar la decoloración excesiva de los portaobjetos con la solución decolorante. Incluso los organismos Gram positivos se volverán incoloros y aparecerán rojos si la solución decolorante se deja en el portaobjetos durante periodos de tiempo excesivos.³

Procedimiento

Procedimiento para las láminas

1. Inundar la lámina con solución de cristal violeta durante **1 minuto**.
2. Aclarar a fondo con agua desionizada.
3. Inundar la lámina con solución de yodo de Gram durante **1 minuto**.
4. Aclarar a fondo con agua desionizada.
5. Inundar con solución decolorante hasta **10 segundos** hasta que el color deje de correr.
6. Aclarar a fondo con agua desionizada.
7. Inundar la lámina con solución de safranina O durante **1 minuto**.
8. Aclarar a fondo con agua desionizada.
9. Secar al aire la lámina y evaluar al microscopio.

Procedimiento para tejido²

1. Desparafinar los cortes e hidratar con agua desionizada.
2. Colocar los portaobjetos en la gradilla de tinción y cubrir las secciones con solución de violeta de cristal, durante **1 minuto**.
3. Escurrir la solución de cristal violeta y enjuagar bien con agua desionizada.
4. Mordente en solución de yodo de Gram durante **5 minutos**.
5. Aclarar con agua desionizada y secar los cortes.
6. Diferenciar en alcohol absoluto o acetona.
7. Aclarar con agua desionizada.
8. Cubrir los portaobjetos con solución safranina O durante **30-60 segundos**.
9. Aclarar con agua desionizada y secar los cortes.
10. Cubrir las secciones con solución de tartracina durante **5-10 segundos**.
11. Limpiar el exceso de tinte.
12. Aclarar en 2 cambios de alcohol absoluto.
13. Aclarar en xileno y montar.

Características de funcionamiento

Organismos Gram-positivos	Púrpura
Organismos Gram-negativos	Rojo

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio técnico de Sigma-Aldrich.

Características de funcionamiento analítico

Los resultados del funcionamiento analítico de las pruebas realizadas en todas las estructuras objetivo confirman una sensibilidad, especificidad y repetibilidad del 100 %.

N.º de cat.	Descripción del producto	Objetivo	Especificidad intraensayo	Sensibilidad intraensayo	Especificidad interensayo	Sensibilidad interensayo
HT901	Solución de cristal violeta	Gram-positivo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT902	Solución de yodo de Gram	Gram-positivo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT903	Solución decolorante	Gram-positivo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT904	Solución de safranina O	Gram-positivo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT3028	Solución de tartracina	Fondo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Advertencias y peligros

Consulte la ficha de seguridad y el etiquetado del producto para obtener información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

HT90A:



H314 Provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares.

H336 Puede provocar somnolencia o vértigo.

H411 Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos duraderos.

P261 Evitar respirar polvos/humos/gases/nieblas/vapores/aerosoles.

P271 Utilizar únicamente en exteriores o en un lugar bien ventilado.

P273 No dispersar en el medio ambiente.

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

P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando.

HT90T:



- H314 Provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares.
- H411 Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos duraderos.
- P273 No dispersar en el medio ambiente.
- P280 Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara.
- P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse.
- P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
- P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando.
- P363 Lavar la ropa contaminada antes de volverla a usar.

Si durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produce un incidente grave, infórmelo al fabricante o a su representante autorizado y a su autoridad nacional.

Definiciones de los símbolos

Símbolos definidos en la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar instrucciones de uso		Código de lote
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea		Declaración UE de conformidad (definida en el Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro)
	Fecha de caducidad		Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Límite de temperatura		Precaución
	Fecha de fabricación		Importador
	Representante autorizado en Suiza		

Referencias

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Información de contacto

Para hacer un pedido, visite nuestro sitio web en SigmaAldrich.com. Para solicitar el Servicio técnico, visite la página de servicio técnico en nuestro sitio web en SigmaAldrich.com/techservice.

Historial de revisiones

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
Transferido a la nueva plantilla con la marca actual. Especificado para uso profesional en uso previsto y precauciones. Se ha revisado el uso previsto para adaptarlo a las directrices europeas sobre DIV. Se ha actualizado la ficha de datos de seguridad del material a la ficha de datos de seguridad. Se ha actualizado la información de contacto. Se ha eliminado la instrucción de seguir el CLSI para la recogida de muestras. Se ha eliminado la norma EN 980 y se ha cambiado a la norma EN ISO 15223-1:2021 en los símbolos. Se ha eliminado el N.º de cat. G3045 de Materiales especiales requeridos pero no exigidos. Se ha añadido la información de contacto en caso de acontecimientos adversos. Se han añadido advertencias y peligros. Información del CH-REP añadida.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

La M inicial y Sigma-Aldrich son marcas comerciales registradas de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania o sus filiales. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños. Puede consultarse la información detallada sobre las marcas comerciales en recursos accesibles al público.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Brugsanvisning

Gramfarvningssæt til film

Gramfarvningssæt til væv

Procedure nr. HT90



Tilsigtet brug

Gramfarvningsreagenser er beregnet til brug ved afgrænsning af grampositive og gramnegative organismer i film og væv. Gramfarvningsreagenser er beregnet til "in vitro-diagnostisk brug". Kun til professionel brug. Dataene, som opnås med denne manuelle kvalitative procedure, identificerer grampositive og gramnegative organismer i vævssnit og udstrygninger fra humane prøver. Disse data kan, når de gennemgås i sammenhæng med andre diagnostiske tests og oplysninger, bruges som en hjælp ved diagnosticering af infektioner med grampositive og gramnegative bakterier.

Gramfarvning bruges klinisk til at afgrænse to forskellige grupper af mikroorganismer. Dem, der bevarer det primære farvestof (krystalviolet), kaldes grampositive. Dem, der mister det primære farvestof under et affarvningstrin, kaldes gramnegative. De mekanismer, hvorved grampositive organismer bevarer den primære farve, er ukendte, selvom cellevæggenes kemi og struktur helt sikkert er involveret.

Sigma-Aldrich-proceduren er baseret på Hucker og Conns arbejde, som er en modifikation af den originale gram-procedure fra 1884. Hucker og Conn-proceduren bruger en krystalviolet ammoniumoxalatopløsning, der hjælper med differentiering og er ret stabil.¹

Reagenser

Krystalviolet-opløsning (kat.nr. HT901-8FOZ)

Certificeret krystalviolet, 2,30 %, CI 42555, ammoniumoxalat, 0,1 %, og 20 % ethylalkohol, SD3A.

Grams jodopløsning (kat.nr. HT902-8FOZ)

Jod, 0,33 %, og kaliumiodid, 0,66 %.

Affarvningsopløsning (kat.nr. HT903-8FOZ)

Kun påkrævet for film. Isopropylalkohol, 75 %, og acetone, 25 %.

Safranin O-opløsning (kat.nr. HT904-8FOZ)

Certificeret safranin 0,6 %, CI 50240, i 20 % ethylalkohol, SD3A.

Tartrazinopløsning (kat.nr. HT3028-250ML)

Kun påkrævet for væv. Tartrazin, 0,25 %, CI 19140, og eddikesyre, 0,25 %.

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Der skal inkluderes positive kontrolobjektglas, såsom TISSUE-TROL™ til gramfarvning (kat.nr. TTR005), i hver kørsel
- Alkohol, absolut
- Acetone, ACS-kvalitet
- Xylen eller xylenerstatning
- Mikroskop

Opbevaring og stabilitet

Opbevares ved stuetemperatur (18-26 °C). Reagensmærkaten er forsynet med udløbsdato. Brug én gang, og bortskaf derefter.

Forberedelse

Alle reagenser er klar til brug.

Forsigtighedsregler

Disse IVD'er er beregnet til in vitro-diagnostisk brug i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD'er er udelukkende beregnet til professionel brug udført af kvalificeret personale. IVD'er fra Sigma-Aldrich kan benyttes af laboratoriepersonale, som er uddannet til at håndtere potentielt smittefarlige humane prøver, bruge mikroskoper og andet laboratorieudstyr og har en farveopfattelse og synsstyrke, som gør dem i stand til at skelne mellem farver og andre genstande under et mikroskop.

Normale forsigtighedsregler, der iagttages ved håndtering af laboratoriereagenser, skal følges. Bortskaf affald under overholdelse af alle lokale, regionale eller nationale forskrifter.

TISSUE-TROL™ kontrolobjektglas til gramfarvning er fremstillet med paraffinindstøbt animalsk væv, der indeholder gramnegative og grampositive bakterier, og skal betragtes som potentielt smittefarlige.

Procedure

Prøveindsamling

Ingen kendt testmetode kan give fuldstændig sikkerhed for, at blodprøver eller væv ikke overfører smitte. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver betragtes som potentielt smittefarlige.

Film

Enhver velforberedt, varmefikseret film er acceptabel. Filmens tykkelse vil påvirke den tid, der kræves til affarvning.

Væv

Ethvert velfikseret, paraffinindlejret væv, der er udkåret ved 5 mikron.

Bemærkninger

Der skal udvises forsigtighed for at undgå overaffarvning af objektglassene med affarvningsopløsningen. Selv grampositive organismer bliver farveløse og ser røde ud, hvis affarvningsopløsningen efterlades for længe på objektglasset.³

Procedure

Procedure for film

- Overhæld filmen med krystalviolet-opløsning i **1 minut**.
- Skyl grundigt i demineraliseret vand.
- Overhæld filmen med Grams jodopløsning i **1 minut**.
- Skyl grundigt i demineraliseret vand.
- Overhæld med affarvningsopløsning i op til **10 sekunder**, indtil farven holder op med at løbe.
- Skyl grundigt i demineraliseret vand.
- Overhæld filmen med safranin O-opløsning i **1 minut**.
- Skyl grundigt i demineraliseret vand.
- Lad filmen lufttørre, og undersøg den mikroskopisk.

Procedure for væv²

- Afparaffiner snittene, og hydr dem i demineraliseret vand.
- Placer objektglassene på farvningsstativet, og dæk snittene med krystalviolet-opløsning i **1 minut**.
- Hæld krystalviolet-opløsningen fra, og skyl grundigt i demineraliseret vand.
- Bejdse i Grams jodopløsning i **5 minutter**.
- Skyl i demineraliseret vand, og dup snittene.
- Differentier i absolut alkohol eller acetone.
- Skyl i demineraliseret vand.
- Dæk objektglassene med safranin O-opløsning i **30-60 sekunder**.
- Skyl i demineraliseret vand, og dup snittene.
- Dæk snittene med tartrazinopløsning i **5-10 sekunder**.
- Dup overskydende farvestof af.
- Skyl i 2 hold absolut alkohol.
- Klarér i xylen, og monter.

Præstationskarakteristika

Grampositive organismer	Lilla
Gramnegative organismer	Rød

Kontakt Sigma-Aldrich teknisk service for at få assistance, hvis de observerede resultater afviger fra det forventede resultater.

Analytiske præstationskarakteristika

Resultaterne for analyseydelsen for de givne tests, som blev udført på alle målstrukturer, bekræfter 100 % sensitivitet, specificitet og repeatabilitet.

Kat.nr.	Produkt-beskrivelse	Mål	Specificitet inden for analyse	Sensitivitet inden for analyse	Specificitet mellem analyser	Sensitivitet mellem analyser
HT901	Krystalviolet-opløsning	Grampositiv	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Gram-negativ	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT902	Grams jodopløsning	Grampositiv	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Gram-negativ	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT903	Affarvnings-opløsning	Grampositiv	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Gram-negativ	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT904	Safranin O-opløsning	Grampositiv	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Gram-negativ	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT3028	Tartrazinopløsning	Baggrund	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3

Advarsler og farer

Se sikkerhedsdatabladet og produktmærkningen vedrørende opdaterede risiko-, fare- eller sikkerhedsoplysninger.

HT90A:



H314 Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.

H336 Kan forårsage døsighed eller svimmelhed.

H411 Giftig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.

P261 Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray.

P271 Brug kun udendørs eller i et rum med god udluftning.

P273 Undgå udledning til miljøet.

P280 Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

P303 + P361 + P353 VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand.

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

HT90T:



- H314 Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.
- H411 Giftig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.
- P273 Undgå udledning til miljøet.
- P280 Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
- P303 + P361 + P353 VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand.
- P304 + P340 + P310 VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge.
- P305 + P351 + P338 VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.
- P363 Vask forurenet tøj før genbrug.

Hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af dette produkt eller som følge af dets brug, skal det indberettes til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til den nationale myndighed i brugerens land.

Symboldefinitioner

Symboler som defineret i EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Katalognummer
	Se brugsanvisningen		Batchkode
	Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab/ Den Europæiske Union		Den Europæiske Unions overensstemmelseserklæring (defineret i IVDR 2017/746)
	Sidste anvendelsesdato		Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Temperaturgrænse		Forsigtig
	Fremstillingsdato		Importør
	Angiver autoriseret repræsentant i Schweiz		

Referencer

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Kontaktoplysninger

Besøg vores websted på SigmaAldrich.com for at afgive en bestilling. Gå til siden for teknisk service på vores websted på SigmaAldrich.com/techservice for at få oplysninger om teknisk service.

Revisionshistorik

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Overført til ny skabelon med nuværende branding. Specificeret til professionel brug under tilsigtet brug og forsigtighedsregler. Revideret tilsigtet brug for at tilpasse til IVDR-retningslinjer. Opdateret materialesikkerhedsdatablad til sikkerhedsdatablad. Opdateret kontaktoplysninger. Fjernet instruks om at følge CLSI vedrørende prøveindsamling. Fjernet EN 980 og ændret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Fjernet udgået kat.nr. G3045 fra Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger. Tilføjet kontaktoplysninger i tilfælde af uønskede hændelser. Tilføjet advarsler og farer. Tilføjet information om repræsentant i Schweiz.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Forbogstavet M og Sigma-Aldrich er varemærker tilhørende Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland, eller deres tilknyttede virksomheder. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere. Detaljerede oplysninger om varemærker kan indhentes via offentligt tilgængelige ressourcer.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Bruksanvisning

Gramfärgningssats för filmer

Gramfärgningssats för vävnad

Förfarande nr. HT90



Avsedd användning

Gramfärgningsreagenser är avsedda att användas för att bestämma grampositiva och gramnegativa organismer i filmer och vävnad. Gramfärgningsreagenser är avsedda för in vitro-diagnostiskt bruk. Endast för yrkesmässigt bruk. Data som erhållits genom detta manuella, kvalitativa förfarande identifierar grampositiva och gramnegativa organismer i vävnadssnitt och utstryk med prover från människor. Dessa data kan användas till hjälp vid diagnostiseringen av grampositiva och gramnegativa bakterieinfektioner om de bedöms ihop med övriga diagnostiska undersökningar och uppgifter.

Gramfärgning används för att kliniskt avgränsa två grupper av mikroorganismer. De som binder primärt färgämne (kristallviolett) kallas grampositiva. De som förlorar primärt färgämne under ett avfärgningssteg kallas gramnegativa. Mekanismerna genom vilka grampositiva organismer binder den primära färgningen är okända, men kemin och cellväggarnas strukturer är utan tvekan inblandade.

Sigma-Aldrich-förfarandet är baserat på arbete från Hucker och Conn, vilket är en modifiering av det ursprungliga Gram-förfarandet från 1884. Hucker- och Conn-förfarandet använder kristallviolett-ammoniumoxalat-lösning som hjälper till med differentieringen och är relativt stabil.¹

Reagenser

Gentianblå-lösning (kat.-nr. HT901-8FOZ)
Certifierad kristallviolett, 2,30 %, C.I. 42555, ammoniumoxalat, 0,1 %, och 20 % etylalkohol, SD3A

Grams jodlösning (kat.-nr. HT902-8FOZ)
Jod, 0,33 %, och kaliumjodid, 0,66 %

Avfärgningslösning (kat.-nr. HT903-8FOZ)
Krävs endast för filmer. Isopropylalkohol, 75 %, och aceton, 25 %

Safranin O-lösning (kat.-nr. HT904-8FOZ)
Certifierad safranin 0,6 %, C.I. 50240, i 20 % etylalkohol, SD3A

Tartrazinlösning (kat.-nr. HT3028-250ML)
Krävs endast för vävnader. Tartrazin, 0,25 %, C.I. 19140, och ättiksyra, 0,25 %

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Positiva kontrollobjektglas ska inkluderas i varje körning, gramfärgning TISSUE-TROL™ (kat.-nr TTR005)
- Alkohol, absolut
- Aceton, ACS-grad
- Xylen eller xylenersättning
- Mikroskop

Förvaring och hållbarhet

Förvara i rumstemperatur (18–26 °C). Utgångsdatum finns på reagensmärkningen. Använd lösningen en gång och kassera den sedan.

Beredning

Alla reagenser är klara att använda.

Försiktighetsåtgärder

Dessa medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik är avsedda att användas i klinisk laboratoriemiljö. Dessa medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik är endast avsedda att användas av kvalificerad personal. Medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik från Sigma-Aldrich får användas av laboratoriepersonal som är utbildad i hantering av humanprover som kan vara smittsamma, användning av mikroskop och annan laboratorieutrustning samt har tillräckligt bra färgseende och synskärpa för att kunna urskilja färger och andra föremål under mikroskop.

Följ sedvanliga försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagenser. Kassera avfall i enlighet med alla lokala, statliga, regionala och nationella bestämmelser.

Gramfärgning TISSUE-TROL™ kontrollobjektglas är paraffinbäddad djurvävnad som innehåller gramnegativa och grampositiva bakterier och ska anses vara potentiellt smittsamma.

Förfarande

Provtagning

Inga kända testmetoder kan erbjuda fullständig garanti för att inte smitta överförs genom blodprover eller vävnad. Därför måste alla blodderivat och vävnadsprover betraktas som potentiellt smittsamma.

Filmer

Vilken välberedd, värmefixerad film som helst är acceptabel. Filmens tjocklek kommer att påverka tiden som krävs för avfärgning.

Vävnad

Vilken välfixerad paraffinbäddad vävnad som helst som är skuren i en tjocklek på 5 mikrometer.

Anmärkningar

Försiktighet bör iakttas för att undvika överdriven avfärgning av objektglaset med avfärgningslösningen. Även grampositiva organismer kommer bli färglösa och se röda ut om avfärgningslösningen lämnas på objektglaset i långa perioder.²

Förfarande

Förfarande för filmer

1. Skölj intensivt filmen i kristallviolett-lösning i **1 minut**.
2. Skölj noggrant i avjoniserat vatten.
3. Dränk filmen i Grams jodlösning i **1 minut**.
4. Skölj noggrant i avjoniserat vatten.
5. Skölj intensivt i avfärgningslösning i upp till **10 sekunder** tills färgen slutar rinna.
6. Skölj noggrant i avjoniserat vatten.
7. Dränk filmen i safranin O-lösning i **1 minut**.
8. Skölj noggrant i avjoniserat vatten.
9. Lufttorka filmen och utvärdera mikroskopiskt.

Förfarande för vävnader²

1. Avparaffinera snitt och hydrera till avjoniserat vatten.
2. Placera objektglas på färgningsställ och täck snitt med kristallviolett-lösning i **1 minut**.
3. Låt kristallviolett-lösning rinna av och skölj noggrant i avjoniserat vatten.
4. Utför betning i Grams jodlösning i **5 minuter**.
5. Skölj i avjoniserat vatten och torka snitt.
6. Differentiera i absolut alkohol eller aceton.
7. Skölj i avjoniserat vatten.
8. Täck objektglas i safranin O-lösning i **30–60 sekunder**.
9. Skölj i avjoniserat vatten och torka snitt.
10. Täck snitt i tartrazinlösning i **5–10 sekunder**.
11. Torka av överflödig färgning.
12. Skölj i två byten absolut alkohol.
13. Rengör i xylen och montera.

Prestandaegenskaper

Grampositiva organismer	Lila
Gramnegativa organismer	Rött

Kontakta teknisk service på Sigma-Aldrich för hjälp ifall resultaten som observeras avviker från de förväntade resultaten.

Analytiska prestandaegenskaper

De analytiska prestandaresultaten för de givna testerna utförda på alla målstrukturer bekräftar 100 % sensitivitet, specificitet och repeterbarhet.

Kat.-nr.	Produktbeskrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
HT901	Kristallviolett-lösning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT902	Grams jodlösning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT903	Avfärgningslösning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT904	Safranin O-lösning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT3028	Tartrazinlösning	Bakgrund	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Varningar och faror

Se säkerhetsdatabladet och produktmärkningen för uppdaterad information om risker, fara och säkerhet.

HT90A:



H314 Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador.

H336 Kan göra att du blir dåsig eller omtöcknad.

H411 Giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter.

P261 Andas inte in damm/rök/gas/dimma/ångor/spray.

P271 Använd endast utomhus eller i ett välventilerat utrymme.

P273 Undvik utsläpp i miljön.

P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.

P303 + P361 + P353 VID HUDKONTAKT (eller hår): Ta omedelbart av alla kontaminerade kläder. Skölj huden med vatten.

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

HT90T:



- H314 Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador.
- H411 Giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter.
- P273 Undvik utsläpp i miljön.
- P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.
- P303 + P361 + P353 VID HUDKONTAKT (eller hår): Ta omedelbart av alla kontaminerade kläder. Skölj huden med vatten.
- P304 + P340 + P310 VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att personen andas utan problem. Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
- P305 + P351 + P338 VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.
- P363 Nedstänkta kläder ska tvättas innan de används igen.

Om det har inträffat ett allvarligt tillbud medan denna enhet använts eller som ett resultat av att den har använts ska det rapporteras till tillverkaren och/eller dess auktoriserade representant samt myndigheten i ditt land.

Symbolförklaring

Symboler enligt definition i EN ISO 15223-1:2021

	Tillverkare		Katalognummer
	Se bruksanvisningen		Batchkod
	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen/ Europeiska unionen		EU-försäkran om överensstämmelse (definieras i IVDR 2017/746)
	Utgångsdatum		Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Temperaturgräns		Försiktighet
	Tillverkningsdatum		Importör
	Anger den auktoriserade representanten i Schweiz		

Referenser

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, sid. 565–567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 sid. 234

Kontaktuppgifter

För att göra en beställning besöker du vår webbplats på SigmaAldrich.com. För teknisk service besöker du sidan för teknisk service på vår webbplats SigmaAldrich.com/techservice.

Revisionshistorik

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specifiserat "För yrkesmässigt bruk" under "Avsedd användning" och under "Försiktighetsåtgärder". Reviderat "Avsedd användning" så att det motsvarar riktlinjerna för IVDR. Uppdaterat "Materialsäkerhetsdatablad" till "Säkerhetsdatablad". Uppdaterat kontaktuppgifterna. Tagit bort anvisningen om att CLSI ska följas vid provtagning. Tagit bort EN 980 och ändrat till EN ISO 15223-1:2021 för symbolerna. Tagit bort indraget kat.-nr. G3045 från "Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls". Lagt till kontaktuppgifter för negativa händelser. Lagt till varningar och faror. Lagt till information om representant i Schweiz.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Initial M och Sigma-Aldrich är varumärken som tillhör Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller dess dotterbolag. Övriga varumärken tillhör respektive ägare. Detaljerad information om varumärken finns tillgänglig via allmänt tillgängliga resurser.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Instruções de utilização

Kit de coloração de Gram para películas

Kit de coloração de Gram para tecido

Procedimento N.º HT90



Utilização prevista

Os reagentes da Coloração de Gram destinam-se a utilização na delineação de organismos Gram-positivos e Gram-negativos em películas e tecidos. Os reagentes da Coloração de Gram destinam-se a "Utilização para diagnóstico in vitro". Apenas para utilização profissional. Os dados obtidos através deste procedimento qualitativo manual identifica organismos Gram-positivos e Gram-negativos em secções de tecidos e esfregaços de amostras humanas. Quando revistos em conjunto com outros testes de diagnóstico e informações, estes dados podem ser utilizados como auxiliar no diagnóstico de infeções bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas.

A coloração de Gram é utilizada clinicamente para delinear dois grupos distintos de microrganismos. Os que retêm o corante primário (violeta cristal) são designados Gram-positivos. Os perdem o corante primário durante um passo de descoloração são designados Gram-negativos. Os mecanismos através dos quais os organismos Gram-positivos retêm a coloração primária são desconhecidos, embora a química e a estrutura das paredes celulares estejam certamente envolvidas.

O procedimento da Sigma-Aldrich baseia-se no trabalho de Hucker e Conn, o qual é uma modificação do procedimento de Gram original de 1884. O procedimento de Hucker and Conn utiliza uma solução de violeta cristal-oxalato de amónio que auxilia à diferenciação e é bastante estável.¹

Reagentes

Solução Violeta cristal (N.º de cat. HT901-8FOZ)

Violeta de cristal certificado, 2,30%, C.I. 42555, oxalato de amónio, 0,1%, e álcool etílico a 20%, SD3A

Solução de Iodo de Gram (N.º de cat. HT902-8FOZ)

Iodo, 0,33%, e iodeto de potássio, 0,66%

Solução de descoloração (N.º de cat. HT903-8FOZ)

Necessário apenas para películas. Álcool isopropílico, 75%, e acetona, 25%.

Solução de Safranina O (N.º de cat. HT904-8FOZ)

Safranina certificada 0,6%, C.I. 50240, em álcool etílico a 20%, SD3A

Solução de Tartrazina (N.º de cat. HT3028-250ML)

Necessário apenas para tecidos. Tartrazina, 0,25%, C.I. 19140, e ácido acético, 0,25%.

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Devem ser incluídas lâminas de controlo positivo em cada série, como Coloração de Gram TISSUE-TROL (N.º de cat. TTR008).
- Álcool, Absoluto
- Acetona, Grau ACS
- Xileno ou substituto do xileno
- Microscópio

Conservação e estabilidade

Conservar à temperatura ambiente (18-26 °C). A etiqueta do reagente tem a data de validade. Utilizar uma vez e eliminar.

Preparação

Todos os reagentes estão prontos a utilizar.

Precauções

Estes DIV destinam-se a utilização para diagnóstico in vitro num ambiente de laboratório clínico. Estes DIV destinam-se apenas a utilização profissional por pessoal qualificado. Os DIV da Sigma-Aldrich podem ser utilizados por técnicos de laboratório com formação no manuseamento de amostras humanas potencialmente infecciosas e na utilização de microscópios e outros equipamentos laboratoriais e com perceção cromática e acuidade visual para distinguir cores e outros objetos ao microscópio.

Devem seguir-se as precauções normais no manuseamento de reagentes laboratoriais. Eliminar os resíduos cumprindo todos os regulamentos locais, estatais, municipais ou nacionais.

As lâminas de controlo da Coloração de Gram TISSUE-TROL™ consistem em tecidos animais incluídos em parafina contendo bactérias Gram-negativas e Gram-positivas devem ser consideradas potencialmente infecciosas.

Procedimento

Colheita de amostras

Nenhum método de testagem conhecido pode oferecer uma garantia total de que as amostras sanguíneas ou tecido não transmitirão infeções. Por conseguinte, todos os derivados de sangue ou amostras de tecido devem ser considerados potencialmente infecciosos.

Películas

Qualquer película bem preparada e fixada por calor é aceitável. A espessura da película influencia o tempo necessário para a descoloração.

Tecidos

Qualquer tecido incorporado em parafina bem fixado, cortado a 5 micrones.

Notas

Deve exercer os devidos cuidados para evitar a descoloração excessiva das lâminas com a Solução de descoloração. Até mesmo os organismos Gram-positivos ficam sem cor e surgem a vermelho se deixar a Solução de descoloração na lâmina durante períodos excessivos de tempo.³

Procedimento

Procedimento para películas

1. Inundar a película com a Solução Violeta cristal durante **1 minuto**.
2. Enxaguar cuidadosamente com água desionizada.
3. Inundar a película com a Solução de Iodo de Gram durante **1 minuto**.
4. Enxaguar cuidadosamente com água desionizada.
5. Inundar com a Solução de descoloração durante até **10 segundos** até a cor deixar de sair.
6. Enxaguar cuidadosamente com água desionizada.
7. Inundar a película com a Solução de Safranina O durante **1 minuto**.
8. Enxaguar cuidadosamente com água desionizada.
9. Deixar secar ao ar a película e examinar microscopicamente.

Procedimento para tecido²

1. Desparafinizar as secções e hidratar com água desionizada.
2. Colocar as lâminas no suporte de coloração e cobrir as secções com Solução Violeta cristal, durante **1 minuto**.
3. Drenar a Solução Violeta cristal e enxaguar cuidadosamente com água desionizada.
4. Mordente na Solução de Iodo de Gram durante **5 minutos**.
5. Enxaguar em água desionizada e secar as secções com toalhas de papel.
6. Diferenciar em álcool absoluto ou acetona.
7. Enxaguar em água desionizada.
8. Cobrir as lâminas com Solução de Safranina O durante **30-60 segundos**.
9. Enxaguar em água desionizada e secar as secções com toalhas de papel.
10. Cobrir as secções com Solução de Tartrazina durante **5-10 segundos**.
11. Secar o excesso de coloração com toalhas de papel.
12. Enxaguar em 2 mudanças de álcool absoluto.
13. Limpar em xileno e montar.

Características do desempenho

Organismos Gram-positivos	Violeta
Organismos Gram-negativos	Vermelho

Se os resultados observados variarem dos resultados previstos, contacte a Assistência técnica da Sigma-Aldrich para obter ajuda.

Características do desempenho analítico

Os resultados do desempenho analítico para os testes indicados realizados em todas as estruturas alvo, confirmam uma sensibilidade de 100%, especificidade e repetibilidade.

N.º de cat.	Descrição do produto	Alvo	Especificidade intraensaio	Sensibilidade intraensaio	Especificidade interensaio	Sensibilidade interensaio
HT901	Solução Violeta cristal	Gram-positiva	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativa	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT902	Solução de Iodo de Gram	Gram-positiva	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativa	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT903	Solução de descoloração	Gram-positiva	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativa	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT904	Solução de Safranina O	Gram-positiva	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativa	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT3028	Solução de Tartrazina	Fundo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Avisos e Perigos

Consulte a Folha de Dados de Segurança e a rotulagem do produto para obter informações atualizadas sobre riscos, perigos ou segurança.

HT90A:



H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

H336 Pode provocar sonolência ou vertigens.

H411 Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

P261 Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.

P271 Utilizar apenas ao ar livre ou em locais bem ventilados.

P273 Evitar a libertação para o ambiente.

P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P303 + P361 + P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.

P305 + P351 + P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Lavar cautelosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

HT90T:



- H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
- H411 Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
- P273 Evitar a libertação para o ambiente.
- P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
- P303 + P361 + P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.
- P304 + P340 + P310 EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.
- P305 + P351 + P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Lavar cautelosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.
- P363 Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar.

Caso tenha ocorrido algum incidente grave durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Definições dos símbolos

Símbolos conforme definidos na norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar as instruções de utilização		Código do lote
	Representante autorizado na Comunidade Europeia/ União Europeia		Declaração de Conformidade da União Europeia (definida na diretiva RDIV 2017/746)
	Data de validade		Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Limite de temperatura		Atenção
	Data de fabrico		Importador
	Indica o Representante Autorizado na Suíça		

Referências

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Informações de contacto

Para encomendar, visite o nosso site em SigmaAldrich.com. Para Assistência técnica, visite a página de assistência técnica no nosso site SigmaAldrich.com/techservice.

Histórico de revisões

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Transferência para novo modelo com a marca atual. Especificação para utilização profissional na utilização prevista e nas precauções. Revisão da utilização prevista para alinhamento com as diretrizes do regulamento relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro (RDIV). Atualização de Folha de Dados de Segurança do Material para Folha de Dados de Segurança. Atualização das informações de contacto. Remoção da instrução para seguir o CLSI na colheita de amostras. Remoção da norma EN 980 e alteração para a norma EN ISO 15223-1:2021 nos símbolos. Remoção do N.º de Cat. G3045 descontinuado dos Materiais especiais necessários mas não fornecidos. Adição de informações de contacto em caso de eventos adversos. Adição de Advertências e Perigos. Adicionadas informações CH-REP.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

O M inicial e Sigma-Aldrich são marcas comerciais da Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha ou das respetivas afiliadas. Todas as outras marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários. Estão disponíveis informações detalhadas sobre marcas comerciais através de recursos acessíveis ao público.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Οδηγίες χρήσης

Κιτ χρώσης Gram για φιλμ

Κιτ χρώσης Gram για ιστούς

Διαδικασία αρ. HT90



Προοριζόμενη χρήση

Τα αντιδραστήρια χρώσης Gram προορίζονται για χρήση στην οριοθέτηση των Gram-θετικών και Gram-αρνητικών οργανισμών σε φιλμ και ιστούς. Τα αντιδραστήρια χρώσης Gram προορίζονται για «in vitro διαγνωστική χρήση». Για επαγγελματική χρήση μόνο. Τα δεδομένα που λαμβάνονται από αυτήν τη μη αυτόματη, ποιοτική διαδικασία αναγνωρίζουν τους Gram-θετικούς και τους Gram-αρνητικούς οργανισμούς σε τομές ιστού και επιχρίσματα ανθρώπινων δειγμάτων. Αυτά τα δεδομένα, όταν εξετάζονται σε συνδυασμό με άλλες διαγνωστικές εξετάσεις και πληροφορίες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βοήθημα για τη διάγνωση Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηριακών λοιμώξεων.

Η χρώση Gram χρησιμοποιείται κλινικά για την οριοθέτηση δύο διακριτών ομάδων μικροοργανισμών. Αυτά που διατηρούν την πρωτογενή χρωστική (κρυσταλλικό ιώδες) ονομάζονται Gram-θετικά. Αυτά που χάνουν την πρωτογενή χρωστική κατά τη διάρκεια ενός σταδίου αποχρωματισμού ονομάζονται Gram-αρνητικά. Οι μηχανισμοί με τους οποίους οι Gram-θετικοί οργανισμοί διατηρούν την πρωτογενή χρώση είναι άγνωστοι, αν και σίγουρα εμπλέκονται η χημεία και η δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων.

Η διαδικασία της Sigma-Aldrich βασίζεται στην εργασία των Hucker και Conn, η οποία είναι μια τροποποίηση της αρχικής διαδικασίας Gram από το 1884. Η διαδικασία των Hucker and Conn χρησιμοποιεί ένα διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους-οξαλικού αμμωνίου που βοηθά στη διαφοροποίηση και είναι αρκετά σταθερό.¹

Αντιδραστήρια

Διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους (Αρ. καταλόγου HT901-8FOZ)

Πιστοποιημένο κρυσταλλικό ιώδες, 2,30%, C.I. 42555, οξαλικό αμμώνιο, 0,1% και 20% αιθυλική αλκοόλη, SD3A

Διάλυμα ιωδίου Gram (Αρ. καταλόγου HT902-8FOZ)

Ιώδιο, 0,33% και ιωδιούχο κάλιο, 0,66%

Διάλυμα αποχρωματισμού (Αρ. καταλόγου HT903-8FOZ)

Απαιτείται μόνο για φιλμ. Ισοπροπυλική αλκοόλη, 75%, και ακετόνη, 25%

Διάλυμα σαφρανίνης O (Αρ. καταλόγου HT904-8FOZ)

Πιστοποιημένη σαφρανίνη 0,6%, C.I. 50240, σε 20% αιθυλική αλκοόλη, SD3A

Διάλυμα ταρτραζίνης (Αρ. καταλόγου HT3028-250ML)

Απαιτείται μόνο για ιστό. Ταρτραζίνη, 0,25%, C.I. 19140, και οξικό οξύ, 0,25%

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Θετικές αντικειμενοφόροι ελέγχου, όπως Gram Stain TISSUE-TROL™ (Αρ. καταλόγου TTR005) πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε εκτέλεση.
- Αλκοόλη, απόλυτη
- Ακετόνη, καθαρότητας ACS
- Ξυλάνιο ή υποκατάστατο ξυλάνιου
- Μικροσκόπιο

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). Η ετικέτα του αντιδραστήριου αναφέρει την ημερομηνία λήξης. Χρησιμοποιήστε μία φορά και απορρίψτε.

Παρασκευή

Όλα τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα για χρήση.

Προφυλάξεις

Αυτά τα βοηθήματα IVD προορίζονται για in vitro διαγνωστική χρήση σε περιβάλλον κλινικού εργαστηρίου. Αυτά τα βοηθήματα IVD προορίζονται για επαγγελματική χρήση μόνο από εξειδικευμένο προσωπικό. Τα βοηθήματα IVD της Sigma-Aldrich μπορούν να χρησιμοποιούνται από εργαστηριακό προσωπικό το οποίο είναι εκπαιδευμένο να χειρίζεται ανθρώπινα δείγματα που μπορεί να είναι μολυσματικά, να χρησιμοποιεί μικροσκόπια και άλλων εργαστηριακών εξοπλισμών και διαθέτει αντίληψη των χρωμάτων και οπτική οξύτητα για να διακρίνει τα χρώματα και άλλα αντικείμενα κάτω από το μικροσκόπιο.

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνήθειες προφυλάξεις κατά τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Απορρίψτε τα απόβλητα τήρωντας όλους τους τοπικούς, πολιτειακούς, περιφερειακούς ή εθνικούς κανονισμούς.

Οι αντικειμενοφόροι ελέγχου Gram Stain TISSUE-TROL™ είναι εγκλεισμένοι σε παραφίνη ζωικός ιστός που περιέχει gram-αρνητικά και gram-θετικά βακτήρια και θα πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσματικός.

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

Καμία γνωστή μέθοδος δοκιμασίας δεν μπορεί να προσφέρει πλήρη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ιστού δεν θα μεταδώσουν λοιμώξη. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος ή τα δείγματα ιστού θα πρέπει να θεωρούνται ως δυνητικά μολυσματικά.

Φιλμ

Οποιοδήποτε άρτια παρασκευασμένο, μονιμοποιημένο με θερμότητα φιλμ είναι αποδεκτό. Το πάχος του φιλμ θα επηρεάσει τον χρόνο που απαιτείται για τον αποχρωματισμό.

Ιστός

Οποιοδήποτε άρτια μονιμοποιημένος, εγκλεισμένος σε παραφίνη ιστός, κομμένος στα 5 micron.

Σημειώσεις

Θα πρέπει να επιδεικνύεται προσοχή ώστε να αποφεύγεται ο υπερβολικός αποχρωματισμός των αντικειμενοφόρων με το διάλυμα αποχρωματισμού. Ακόμη και οι Gram-θετικοί οργανισμοί θα αποχρωματιστούν και θα εμφανίζονται κόκκινοι εάν το διάλυμα αποχρωματισμού αφαιρεθεί στην αντικειμενοφόρο για υπερβολικό χρονικό διάστημα.³

Διαδικασία

Διαδικασία για φιλμ

- Κατακλύστε το φιλμ με διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους για **1 λεπτό**.
- Ξεπλύνετε καλά σε απιονισμένο νερό.
- Κατακλύστε το φιλμ με διάλυμα ιωδίου Gram για **1 λεπτό**.
- Ξεπλύνετε καλά σε απιονισμένο νερό.
- Κατακλύστε με διάλυμα αποχρωματισμού για έως και **10 δευτερόλεπτα** μέχρι να σταματήσει να τρέχει το χρώμα.
- Ξεπλύνετε καλά σε απιονισμένο νερό.
- Κατακλύστε το φιλμ με διάλυμα σαφρανίνης O για **1 λεπτό**.
- Ξεπλύνετε καλά σε απιονισμένο νερό.
- Στεγνώστε το φιλμ στον αέρα και εξετάστε το μικροσκοπικά.

Διαδικασία για ιστό²

- Αποπαραφινώστε τις τομές και ενυδατώστε σε απιονισμένο νερό.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους στη βάση χρώσης και καλύψτε τις τομές με διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους, για **1 λεπτό**.
- Αποστραγγίστε το διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους και ξεπλύνετε καλά με απιονισμένο νερό.
- Σταθεροποιήστε σε διάλυμα ιωδίου Gram για **5 λεπτά**.
- Ξεπλύνετε σε απιονισμένο νερό και ταμponάρετε τις τομές.
- Διαφοροποιήστε σε απόλυτη αλκοόλη ή ακετόνη.
- Ξεπλύνετε σε απιονισμένο νερό.
- Καλύψτε τις αντικειμενοφόρους με διάλυμα σαφρανίνης O για **30-60 δευτερόλεπτα**.
- Ξεπλύνετε σε απιονισμένο νερό και ταμponάρετε τις τομές.
- Καλύψτε τις τομές με διάλυμα ταρτραζίνης για **5-10 δευτερόλεπτα**.
- Αφαιρέστε την επιπλέον χρώση με ταμponάρισμα.
- Ξεπλύνετε με απόλυτη αλκοόλη, αλλάζοντας την αλκοόλη 2 φορές.
- Διαγύστε σε ξυλάνιο και καλύψτε.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Gram-θετικοί οργανισμοί	Μοβ
Gram-αρνητικοί οργανισμοί	Κόκκινο

Εάν τα παρατηρούμενα αποτελέσματα διαφέρουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την τεχνική υπηρεσία της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

Χαρακτηριστικά απόδοσης της ανάλυσης

Τα αποτελέσματα απόδοσης της ανάλυσης για τις δεδομένες δοκιμασίες που πραγματοποιήθηκαν σε όλες τις στοχευόμενες τομές, επιβεβαιώνουν την ευαισθησία, την ειδικότητα και την επαναληψιμότητα σε ποσοστό 100%.

Αρ. καταλόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
HT901	Διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους	Gram-θετικό	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Gram-αρνητικό	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT902	Διάλυμα ιωδίου Gram	Gram-θετικό	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Gram-αρνητικό	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT903	Διάλυμα αποχρωματισμού	Gram-θετικό	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Gram-αρνητικό	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT904	Διάλυμα σαφρανίνης O	Gram-θετικό	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Gram-αρνητικό	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT3028	Διάλυμα ταρτραζίνης	Υπόβαθρο	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3

Προειδοποιήσεις και κίνδυνοι

Αντρέξετε στο Δελτίο δεδομένων ασφαλείας και στην επισήμανση προϊόντος για οποιοδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφαλείας.

HT90A:



H314 Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.

H336 Μπορεί να προκαλέσει υπνηλία ή ζάλη.

H411 Τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

P261 Αποφεύγετε να αναπνεύετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/σταγονίδια/ατμούς/εκνεφώματα.

P271 Να χρησιμοποιείται μόνο σε ανοικτό ή καλά αεριζόμενο χώρο.

P273 Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.

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

P303 + P361 + P353 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Βγάλτε αμέσως όλα τα μολυσμένα ρούχα. Ξεπλύνετε την επιδερμίδα με νερό.

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.

HT90T:



- H314 Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.
- H411 Τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.
- P273 Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.
- P280 Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.
- P303 + P361 + P353 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Βγάλτε αμέσως όλα τα μολυσμένα ρούχα. Ξεπλύνετε την επιδερμίδα με νερό.
- P304 + P340 + P310 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.
- 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 ξεπλύνετε.
- P363 Πλύνετε τα μολυσμένα ενδύματα πριν τα ξαναχρησιμοποιήσετε.

Εάν, κατά τη διάρκεια της χρήσης αυτού του βοηθήματος ή ως αποτέλεσμα της χρήσης του, έχει συμβεί κάποιο σοβαρό περιστατικό, παρακαλείστε να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στην εθνική αρχή της χώρας σας.

Ορισμοί συμβόλων

Σύμβολα όπως ορίζονται στο EN ISO 15223-1:2021

	Κατασκευαστής		Αριθμός καταλόγου
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		Αριθμός παρτίδας
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα/Ευρωπαϊκή Ένωση		Δήλωση συμμόρφωσης Ευρωπαϊκής Ένωσης (όπως ορίζεται στην οδηγία IVDR 2017/746)
	Ημερομηνία λήξης		In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Όριο θερμοκρασίας		Προσοχή
	Ημερομηνία παραγωγής		Εισαγωγέας
	Υποδεικνύει τον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπο στην Ελβετία		

Βιβλιογραφικές αναφορές

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Πληροφορίες επικοινωνίας

Για να κάνετε μια παραγγελία, παρακαλούμε επισκεφθείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Για τεχνική εξυπηρέτηση, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη σελίδα τεχνικής εξυπηρέτησης στον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθ. 3.0	2014
Αναθ. 4.0	2016
Αναθ. 5.0	2023

Έγινε μεταφορά σε νέο υπόδειγμα με την τρέχουσα επωνυμία. Προσδιορίστηκε για επαγγελματική χρήση στην προοριζόμενη χρήση και τις προφυλάξεις. Η προοριζόμενη χρήση αναθεωρήθηκε για ευθυγράμμιση με τις κατευθυντήριες γραμμές IVDR. Το Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού ενημερώθηκε σε Δελτίο δεδομένων ασφαλείας. Ενημερώθηκαν οι πληροφορίες επικοινωνίας. Αφαιρέθηκε η οδηγία να ακολουθείται το CLSI για τη συλλογή δειγμάτων. Αφαιρέθηκε το EN 980 και άλλαξε σε EN ISO 15223-1:2021 για τα σύμβολα. Αφαιρέθηκε το καταργημένο προϊόν με Αρ. καταλόγου G3045 από τα Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται. Προστέθηκαν πληροφορίες επικοινωνίας για ανεπιθύμητα συμβάντα. Προσθήκη προειδοποιήσεων και κινδύνων. Προστέθηκαν πληροφορίες εξουσιοδοτημένου αντιπροσώπου για την Ελβετία (CH-REP).



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Το αρχικό γράμμα M και το Sigma-Aldrich είναι εμπορικά σήματα της Merck KGaA, Darmstadt, Germany ή των συνδεδεμένων με αυτήν εταιρειών. Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων. Λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τα εμπορικά σήματα είναι διαθέσιμες μέσω δημοσίως προσβάσιμων πόρων.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Használati utasítás

Gram-festékkészlet kenetekhez

Gram-festékkészlet szövetekhez

HT90 sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

A Gram-festéshez használt reagensok a Gram-pozitív és Gram-negatív organizmusok kenetekben és szövetekben történő megkülönböztetésére szolgálnak. A Gram-festéshez használt reagensok „*in vitro* diagnosztikai felhasználásra” szolgálnak. Kizárólag professzionális használatra. Az ebből a manuális, kvalitatív eljárásból nyert adatok a Gram-pozitív és Gram-negatív organizmusok emberi mintákból nyert szövetmetszetekben és kenetekben történő azonosítására szolgálnak. Ezek az adatok más diagnosztikai tesztekkel és információkkal együtt vizsgálva felhasználhatók a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok általi fertőzések diagnosztizálásának elősegítésére.

A Gram-festést a klinikai gyakorlatban a mikroorganizmusok két csoportjának megkülönböztetésére használják. Azok, amelyek az elsődleges festéket (kristályibolya) kötik meg, a Gram-pozitív baktériumok. Azokat, amelyekből kimosható az elsődleges festék a színtelenítés során, Gram-negatívnak nevezzük. Nem ismertek azok a mechanizmusok, amelyek révén a Gram-pozitív organizmusok megtartják az elsődleges festéket, bár a sejtfalak kémiaja és szerkezete minden bizonnyal érintett ebben.

A Sigma-Aldrich eljárása Hucker és Conn munkáján alapul, amely az eredeti, 1884-es Gram-eljárás módosítása. A Hucker–Conn-eljárás kristályibolya-ammónium-oxalát oldatot használ, amely segít a differenciálásban, és meglehetősen stabil.¹

Reagensok

Kristályibolya-oldat (kat. sz.: HT901-8FOZ)

Kristályibolya (minősített), 2,30%, C.I. 42555; ammónium-oxalát, 0,1%; és 20%-os etil-alkohol, SD3A

Gram-féle jóddoldat (kat. sz.: HT902-8FOZ)

Jód, 0,33%; kálium-jodid, 0,66%

Színtelenítő oldat (kat. sz.: HT903-8FOZ)

Csak kenetekhez szükséges. Izopropil-alkohol, 75%; acetone, 25%

Szafranin O oldat (kat. sz.: HT904-8FOZ)

Szafranin (minősített), 0,6%, C.I. 50240; 20%-os etil-alkoholban, SD3A

Tartrazinoldat (kat. sz.: HT3028-250ML)

Csak szövetekhez szükséges. Tartrazin, 0,25%, C.I. 19140; ecetsav, 0,25%

Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok

- Pozitív kontroll tárgylemezeket, mint például a Gram-festéshez használt TISSUE-TROL™ (kat. sz. TTR005), minden vizsgálatban használni kell.
- Alkohol, abszolút
- Aceton, ACS-minőségű
- Xilol vagy xilolt helyettesítő anyag
- Mikroszkóp

Tárolás és stabilitás

Szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni. A lejárati idő a reagenscímkéken szerepel. Használja egyszer, majd dobja ki.

Előkészítés

Minden reagens használatra kész.

Óvintézkedések

Ezeket az *in vitro* diagnosztikai eszközöket klinikai laboratóriumi környezetben történő *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szánták. Ezeket az *in vitro* diagnosztikai eszközöket csak képzett szakemberek használhatják. A Sigma-Aldrich *in vitro* diagnosztikai eszközöket olyan laboratóriumi személyzet üzemeltetheti, akik képzettek az esetlegesen fertőző emberi minták kezelésére, mikroszkópok és egyéb laboratóriumi berendezések használatában, valamint kellő színérvékeléssel és látásélességgel rendelkeznek a színek és egyéb tárgyak mikroszkóp alatt történő megkülönböztetésére.

A laboratóriumi reagensok kezelése során a szokásos óvintézkedéseket kell követni. A hulladékot a helyi, állami, tartományi vagy nemzeti előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

A Gram-festéshez használt TISSUE-TROL™ kontroll tárgylemezeket paraffinba ágyazott, Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumokat tartalmazó állati szövetek találhatók, amelyeket potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Eljárás

Mintavétel

Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújt teljes bizonyosságot arra nézve, hogy a vérminták vagy szövetek nem továbbítanak fertőzést. Ezért minden vérkészítményt vagy szövetmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Kenetek

Minden megfelelően előkészített, hővel fixált kenet elfogadható. A kenet vastagsága befolyásolja a színtelenítéshez szükséges időt.

Szövet

Bármilyen megfelelően fixált, paraffinba ágyazott, 5 mikron vastagságúra vágott szövet.

Megjegyzések

Ügyelni kell arra, hogy a tárgylemezek ne veszítsék el túlságosan a színüket a színtelenítődolat miatt. Még a Gram-pozitív organizmusok is színtelenné válnak, és vörösnek tűnnek, ha a színtelenítődolat túl hosszú ideig marad a lemezen.³

Eljárás

A kenetekre vonatkozó eljárás

- Merítse a kenetet **1 percig** kristályibolya-oldatba.
- Végezzen alapos öblítést ioncserélt vízzel.
- Merítse a kenetet **1 percig** Gram-féle jóddoldatba.
- Végezzen alapos öblítést ioncserélt vízzel.
- Merítse a kenetet legfeljebb **10 másodpercig** a színtelenítődolatba, amíg leáll a szín kimosódása.
- Végezzen alapos öblítést ioncserélt vízzel.
- Merítse a kenetet **1 percig** szafranin O oldatba.
- Végezzen alapos öblítést ioncserélt vízzel.
- Hagyja a kenetet levegőn megszáradni, majd vizsgálja meg mikroszkóppal.

Szövetekre vonatkozó eljárás²

- Deparaffinálja, majd hidratálja a metszeteket ioncserélt vízig.
- Helyezze a tárgylemezeket a festőállványra, és merítse a metszeteket kristályibolya-oldatba **1 percig**.
- Távolítsa el a kristályibolya-oldatot, és végezzen alapos öblítést ioncserélt vízzel.
- Végezzen pácolást a Gram-féle jóddoldatban **5 percig**.
- Öblítsen ioncserélt vízzel, és itassa le a folyadékot a metszetekről.
- Végezze el a differenciálást abszolút alkoholban vagy acetoneban.
- Öblítsen ioncserélt vízzel.
- Merítse a lemezeket szafranin O oldatba **30–60 másodpercig**.
- Öblítsen ioncserélt vízzel, és itassa le a folyadékot a metszetekről.
- Merítse a metszeteket tartrazinoldatba **5–10 másodpercig**.
- Itassa le a felesleges festéket.
- Végezzen öblítést 2 adag abszolút alkohollal.
- Derítse xilolban és fedje le.

Teljesítményjellemzők

Gram-pozitív organizmusok	Lila
Gram-negatív organizmusok	Piros

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várt eredményektől, kérjük, forduljon a Sigma-Aldrich műszaki szolgálatához segítségért.

Analitikai teljesítményjellemzők

Az adott tesztek analitikai teljesítményjellemzői az összes célstruktúrán vizsgálva 100% érzékenységet, specifikitást és ismételhetőséget igazoltak.

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specifikitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specifikitás	Tesztek közötti érzékenység
HT901	Kristályibolya-oldat	Gram-pozitív	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gram-negatív	3/3	3/3	3/3	3/3
HT902	Gram-féle jóddoldat	Gram-pozitív	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gram-negatív	3/3	3/3	3/3	3/3
HT903	Színtelenítőoldat	Gram-pozitív	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gram-negatív	3/3	3/3	3/3	3/3
HT904	Szafranin O oldat	Gram-pozitív	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gram-negatív	3/3	3/3	3/3	3/3
HT3028	Tartrazinoldat	Háttér	3/3	3/3	3/3	3/3

Figyelmeztetések és veszélyek

A frissített kockázati, veszélyességi és biztonsági információkért olvassa el a biztonsági adatlapot és a termék címkézését.

HT90A:



H314 Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.

H336 Álmosságot vagy szédülést okozhat.

H411 Mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

P261 Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését.

P271 Kizárólag szabadban vagy jól szellőző helyiségben használható.

P273 Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P303 + P361 + P353 HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel.

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

HT90T:



- H314 Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.
- H411 Mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.
- P273 Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.
- P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.
- P303 + P361 + P353 HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel.
- P304 + P340 + P310 BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.
- P305 + P351 + P338 SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.
- P363 A szennyezett ruhát újbóli használat előtt ki kell mosni.

Ha az eszköz használata során vagy annak használata következtében súlyos baleset történt, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy meghatalmazott képviselőjének és a helyi nemzeti hatóságnak.

Jelmagyarázat

Az EN ISO 15223-1:2021 szabványban meghatározott jelek

	Gyártó		Katalógusszám
	Lásd a használati utasítást		Gyártási tétel kódja
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben/ Európai Unióban		Az Európai Unió megfelelőségi nyilatkozata (az IVDR 2017/746 meghatározása szerint)
	Lejárat dátum		In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Hőmérsékleti határértékek		Vigyázat!
	Gyártási dátum		Importőr
	A svájci hivatalos képviselőt jelöli		

Hivatkozások

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Elérhetőségek

Megrendelés leadásához látogasson el weboldalunkra: SigmaAldrich.com. Műszaki segítségért látogasson el weboldalunkra: SigmaAldrich.com/techservice.

Átdolgozási előzmények

Rev.: 3.0	2014
Rev.: 4.0	2016
Rev.: 5.0	2023

Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részekben. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása az IVDR irányelveknek való megfelelés érdekében. Az Anyagbiztonsági adatlap frissítése Biztonsági adatlapra. Az elérhetőségek frissítése. A mintagyűjtés során a CLSI követésére vonatkozó utasítás eltávolítása. Az EN 980-as szabvány szerinti jelzések eltávolítása és az EN ISO 15223-1:2021 szabvány jelzéseire változtatása. A megszünt G3045 kat. sz. eltávolítása a „Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok” részből. A nemkívánatos eseményekkel kapcsolatos elérhetőségek hozzáadása. Figyelmeztetések és veszélyek hozzáadása. A CH-REP információ hozzáadva.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Az „M” kezdőbetű és a Sigma-Aldrich a Merck KGaA (Darmstadt, Németország) vagy leányvállalatainak védjegyei. Minden egyéb védjegy a megfelelő tulajdonosok tulajdonát képezi. A védjegyekre vonatkozó részletes információk nyilvánosan hozzáférhető forrásokon keresztül érhetők el.

Návod k použití

Souprava Gramova barviva pro nátěry

Souprava Gramova barviva pro tkáně

Postup č. HT90



Určené použití

Činidla Gramova barviva jsou určena k použití při vymezení grampozitivních a gramnegativních organismů v nátěrech a tkáních. Činidla Gramova barviva jsou určena pro diagnostické použití „in vitro“. Pouze pro profesionální použití. Údaje získané z tohoto manuálu kvalitatívního postupu identifikují grampozitivní a gramnegativní organismy v tkáňových řezech a nátěrech lidských vzorků. Tyto údaje mohou být při přezkoumání ve spojení s dalšími diagnostickými testy a informacemi použity jako pomůcka při diagnostice infekcí způsobených grampozitivními a gramnegativními bakteriemi.

Gramovo barvivo se klinicky používá k vymezení dvou odlišných skupin mikroorganismů. Ty, které zadržují primární barvivo (genciánová violet), se nazývají grampozitivní. Ty, které během kroku odbarvení přijdou o primární barvivo, se nazývají gramnegativní. Mechanismus, kterými grampozitivní organismy zadržují primární barvivo, nejsou známy, i když se na tom s největší pravděpodobností podílí chemie a struktura buněčných stěn.

Postup společnosti Sigma-Aldrich je založen na práci Huckera a Conna, což je modifikace původního Gramova postupu z roku 1884. Postup podle Huckera and Conna využívá genciánové violeti a šťavelanu amonného, který napomáhá diferenciaci a je poměrně stabilní.¹

Činidla

Roztok genciánové violeti (kat. č. HT901-8FOZ)

Certifikovaná genciánová violet, 2,30%, C.I. 42555, šťavelan amonný, 0,1%, a 20% ethanol, SD3A

Gramův roztok jódu (kat. č. HT902-8FOZ)

Jód, 0,33%, a jodid draselný, 0,66%

Odbarvovací roztok (kat. č. HT903-8FOZ)

Vyžaduje se pouze pro nátěry. Isopropylalkohol, 75%, a aceton, 25%

Roztok safraninu O (kat. č. HT904-8FOZ)

Certifikovaný safranin 0,6%, C.I. 50240, ve 20% ethanolu, SD3A

Roztok tartrazinu (kat. č. HT3028-250ML)

Vyžaduje se pouze pro tkáně. Tartrazin, 0,25%, C.I. 19140, a kyselina octová, 0,25%

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- V každé zkoušce by měly být zařazeny pozitivní kontrolní preparáty, Gramovo barvivo TISSUE-TROL™ (kat. č. TTR005)
- Alkohol, absolutní
- Aceton, čistota ACS
- Xylen nebo náhražka xylenu
- Mikroskop

Skladování a stabilita

Uchovávejte při pokojové teplotě (18–26 °C). Na štítku činidla je uvedeno datum spotřeby. Použijte jednou, pak zlikvidujte.

Příprava

Všechna činidla jsou připravena k použití.

Bezpečnostní opatření

Tyto diagnostické zdravotnické prostředky in vitro jsou určeny pro diagnostické použití in vitro v klinickém laboratorním prostředí. Tyto diagnostické zdravotnické prostředky in vitro jsou určeny pouze pro profesionální použití kvalifikovaným personálem. Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro Sigma-Aldrich mohou být používány laboratorními pracovníky, kteří jsou vyškoleni k manipulaci s lidskými vzorky, které mohou být infekční, k používání mikroskopů a jiného laboratorního vybavení a jejich barevné vidění a ostrost zraku jsou dostatečné pro rozlišení barev a různých objektů pod mikroskopem.

Při zacházení s laboratorními činidly dodržujte běžná bezpečnostní opatření. Odpad zlikvidujte podle všech místních, regionálních či národních předpisů.

Kontrolní preparáty Gramova barviva TISSUE-TROL™ jsou vzorky zvířecí tkáně zalité v parafínu s obsahem gramnegativních a grampozitivních bakterií a měly by být považovány za potenciálně infekční.

Postup

Odběr vzorků

Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout naprosté ujištění, že vzorky krve nebo tkáně nebudou zdrojem infekce. Všechny krevní deriváty nebo vzorky tkání je proto nutné považovat za potenciálně infekční.

Nátěry

Přípustný je jakýkoli dobře připravený, tepelně fixovaný nátěr. Tloušťka nátěru ovlivní dobu potřebnou k odbarvení.

Tkáň

Jakákoli dobře zafixovaná tkáň zalitá v parafínu, nařezaná na 5 mikronů.

Poznámky

Je třeba dbát na to, aby se zabránilo nadměrnému odbarvování sklíček odbarvovacím roztokem. Dokonce i grampozitivní organismy ztratí zabarvení a budou se jevit jako červené, pokud bude odbarvovací roztok ponechán na sklíčku příliš dlouho.³

Postup

Postup pro nátěry

1. Ponořte nátěr do roztoku genciánové violeti na dobu **1 minuty**.
2. Důkladně propláchněte v deionizované vodě.
3. Ponořte nátěr do Gramova roztoku jódu na dobu **1 minuty**.
4. Důkladně propláchněte v deionizované vodě.
5. Ponořte do odbarvovacího roztoku na dobu až **10 sekund**, dokud se barva nepřestane měnit.
6. Důkladně propláchněte v deionizované vodě.
7. Ponořte nátěr do roztoku safraninu O na dobu **1 minuty**.
8. Důkladně propláchněte v deionizované vodě.
9. Nátěr vysušte na vzduchu a mikroskopicky prozkoumejte.

Postup pro tkáň²

1. Odparafinujte a hydratujte řezy pomocí deionizované vody.
2. Umístěte sklíčka na stojan na barvení a pokryjte řezy roztokem genciánové violeti po dobu **1 minuty**.
3. Vypusťte roztok genciánové violeti a důkladně opláchněte v deionizované vodě.
4. Mořte v Gramově roztoku jódu po dobu **5 minut**.
5. Opláchněte v deionizované vodě a řezy vysušte savým papírem.
6. Diferencujte v absolutním alkoholu nebo acetonu.
7. Propláchněte v deionizované vodě.
8. Pokryjte sklíčka roztokem safraninu O na dobu **30–60 sekund**.
9. Opláchněte v deionizované vodě a řezy vysušte savým papírem.
10. Pokryjte řezy roztokem tartrazinu na dobu **5–10 sekund**.
11. Nadměrné barvivo vysušte savým papírem.
12. Opláchněte ve 2 výměnách absolutního alkoholu.
13. Projasněte v xylenu a zamontujte.

Pracovní charakteristiky

Grampozitivní organismy	Fialová
Gramnegativní organismy	Červená

Pokud se pozorované výsledky liší od očekávaných výsledků, obraťte se na technický servis společnosti Sigma-Aldrich.

Analytické pracovní charakteristiky

Analytické výsledky daných testů provedených na všech cílových strukturách potvrzují 100% citlivost, specifčnost a opakovatelnost.

Kat. č.	Popis produktu	Cíl	Specifičnost v rámci testu	Citlivost v rámci testu	Specifičnost mezi testy	Citlivost mezi testy
HT901	Roztok genciánové violeti	Grampozitivní	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Gramnegativní	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT902	Gramův roztok jódu	Grampozitivní	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Gramnegativní	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT903	Odbarvovací roztok	Grampozitivní	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Gramnegativní	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT904	Roztok safraninu O	Grampozitivní	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Gramnegativní	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT3028	Roztok tartrazinu	Pozadí	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3

Varování a rizika

Aktuální informace o rizicích, nebezpečích a bezpečnosti si přečtěte v bezpečnostním listu a na označení výrobku.

HT90A:



H314 Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.

H336 Může způsobit ospalost nebo závrať.

H411 Toxický pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.

P261 Nevdechujte prach / dým / plyn / mlhu / výpary / aerosol.

P271 Používejte pouze venku nebo na dobře větraném místě.

P273 Zabraňte uvolňování do životního prostředí.

P280 Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.

P303 + P361 + P353 PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Okamžitě si svlékněte všechnu kontaminovanou oděvy. Opláchněte pokožku vodou.

P305 + P351 + P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou nasazené a dají se snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování.

HT90T:



- H314 Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- H411 Toxický pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.
- P273 Zabraňte uvolňování do životního prostředí.
- P280 Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.
- P303 + P361 + P353 PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Okamžitě si svlékněte všechny kontaminované oděvy. Opláchněte pokožku vodou.
- P304 + P340 + P310 PŘI VDECHNUTÍ: Odvedte postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlné dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.
- P305 + P351 + P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou nasazené a dají se snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování.
- P363 Kontaminovaný oděv před opětovným použitím vyperte.

Pokud během používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání došlo k závažné nežádoucí příhodě, nahlase to výrobci a/nebo jeho autorizovanému zástupci a vašemu národnímu úřadu.

Definice symbolů

Symboły definované v normě EN ISO 15223-1:2021

	Výrobce		Katalogové číslo
	Přečtěte si Návod k použití		Kód šarže
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství / Evropské unii		Prohlášení o shodě s předpisy Evropské unie (podle definice v IVDR 2017/746)
	Datum spotřeby		Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Teplotní limit		Upozornění
	Datum výroby		Dovozce
	Označuje autorizovaného zástupce ve Švýcarsku		

Reference

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Kontaktní informace

Chcete-li podat objednávku, navštivte naše webové stránky na [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Technický servis naleznete na stránkách technického servisu na naší webové stránce [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Historie revizí

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Přeneseno do nové šablony s aktuálním značením. Určeno pro profesionální použití v rámci určeného použití a bezpečnostních opatření. Revidované určené použití k dosažení souladu s pokyny IVDR. Aktualizovaný bezpečnostní list materiálu k bezpečnostnímu listu. Aktualizované kontaktní informace. Odstraněn pokyn k dodržení CLSI pro odběr vzorků. Odstraněna norma EN 980 a změněna na normu EN ISO 15223-1:2021 pro symboly. Odstraněna již nevyroběná kat. č. G3045 z potřebných speciálních materiálů, které nejsou součástí dodávky. Přidány kontaktní informace pro případ nežádoucí události. Přidána varování a rizika. Přidány informace CH-REP.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Počáteční M a Sigma-Aldrich jsou ochranné známky společnosti Merck KGaA, Darmstadt, Německo nebo jejich přidružených společností. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách jsou k dispozici prostřednictvím veřejně přístupných zdrojů.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Bruksanvisning

Gram Stain Kit for filmer

Gram Stain Kit for vev

Prosedyre nr. HT90



Tiltenkt bruk

Gramfargingsreagenser er beregnet for bruk i avgrensning av grampositive og gramnegative organismer i filmer og vev. Gramfargingsreagenser er til "in vitro-diagnostisk bruk". Kun for profesjonell bruk. Data fra denne manuelle, kvalitative prosedyren identifiserer grampositive og gramnegative organismer i vevssnitt og utstryk fra menneskelige prøver. Når disse dataene vurderes i forbindelse med andre diagnostiske tester og informasjon, kan de brukes som hjelpemiddel til diagnostisering av infeksjoner med grampositive og gramnegative bakterier.

Gramfarging brukes klinisk for å avgrense to distinkte grupper mikroorganismer. De som beholder primærfargestoffet (krystallfiolett), kalles grampositive. De som mister primærfargestoffet under et avfargingstrinn, kalles gramnegative. Mekanismene som gjør at grampositive organismer beholder primærfargingen, er ukjente, men vi vet at kjemien og strukturen til celleveggene må være involvert.

Sigma-Aldrich-prosedyren er basert på arbeidet til Hucker og Conn, som er en modifikasjon av den originale gramprosedyren fra 1884. Hucker og Conn-prosedyren bruker en krystallfiolett ammoniumoksalatløsning som bidrar til differensiering og er relativt stabil.¹

Reagenser

Krystallfiolett løsning (kat.nr. HT901-8FOZ)
Sertifisert krystallfiolett, 2,30 %, C.I. 42555, ammoniumoksalat, 0,1 %, og 20 % etylalkohol, SD3A

Grams jodløsning (kat.nr. HT902-8FOZ)
Jod, 0,33 %, og kaliumjodid, 0,66 %

Avfargingsløsning (kat.nr. HT903-8FOZ)
Kun påkrevd for filmer. Isopropylalkohol, 75 %, og aceton, 25 %

Safranin O-løsning (kat.nr. HT904-8FOZ)
Sertifisert safranin 0,6 %, C.I. 50240, i 20 % etylalkohol, SD3A

Tartrazinløsning (kat.nr. HT3028-250ML)
Kun påkrevd for vev. Tartrazin, 0,25 %, C.I. 19140 og eddiksyre, 0,25 %

Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger

- Positive kontrollobjektglass skal inkluderes i hver kjøring, Gram Stain TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR005)
- Alkohol, absolutt
- Aceton, ACS-kvalitet
- Xylen eller xylenerstating
- Mikroskop

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevares i romtemperatur (18–26 °C). Utløpsdato er angitt på reagensetiketter. Bruk én gang og kast.

Fremstilling

Alle reagenser er klare til bruk.

Forsiktighetsregler

Disse IVD-ene er tiltenkt bruk in vitro-diagnostisk bruk i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD-ene er kun for profesjonell bruk av kvalifisert personell. Sigma-Aldrich-IVD-er kan betjenes av laboratoriepersonell som er opplært i å håndtere humane prøver som kan være smittsomme, bruke mikroskoper og annet laboratorieutstyr og som har fargeoppfatning og synsskarphet for å skille farger og andre elementer under et mikroskop.

Normale forsiktighetsregler for håndtering av laboratoriereagenser bør følges. Avfall må kastes i samsvar med alle lokale, statlige, provinsielle eller nasjonale forskrifter.

Gram Stain TISSUE-TROL™-kontrollobjektglass er parafinnstøpt dyrevæv som inneholder gramnegative og grampositive bakterier og bør betraktes som potensielt smittefarlig.

Prosedyre

Prøvetaking

Ingen kjent testmetode kan fullt ut forsikre at blodprøver eller vev ikke utgjør en smittefare. Alle blodderivater eller vevsprøver bør derfor betraktes som potensielt smittefarlige.

Filmer

Enhver godt fremstilt, varmefiksert film er akseptabel. Tykkelsen på filmen vil påvirke tiden som kreves for avfarging.

Vev

Ethvert godt fiksert parafinnstøpt vev kuttet ved 5 mikron.

Merknader

Det bør utvises forsiktighet for å unngå overfarging av objektglassene med avfargingsløsningen. Selv grampositive organismer vil bli fargeløse og se røde ut hvis avfargingsløsningen blir liggende på objektglasset i lange perioder.³

Prosedyre

Prosedyre for filmer

- Tøm krystallfiolett-løsning over filmen i **1 minutt**.
- Skyll grundig i avionisert vann.
- Tøm Grams jodløsning over filmen i **1 minutt**.
- Skyll grundig i avionisert vann.
- Tøm med avfargingsløsning i opptil **10 sekunder** til fargen ikke lenger er synlig.
- Skyll grundig i avionisert vann.
- Tøm safranin O-løsning over filmen i **1 minutt**.
- Skyll grundig i avionisert vann.
- Lufttørk filmen og undersøk den mikroskopisk.

Prosedyre for vev²

- Avparafiniser snittene og hydrer til avionisert vann.
- Sett objektglassene på fargingsstativet og dekk snittene med krystallfiolett løsning i **1 minutt**.
- Tøm av krystallfiolett løsning og skyll grundig i avionisert vann.
- Bruk mordanter i Grams jodløsning i **5 minutter**.
- Skyll i avionisert vann og tørk snittene for hånd.
- Differensier i absolutt alkohol eller aceton.
- Skyll i avionisert vann.
- Dekk objektglassene med safranin O-løsning i **30–60 sekunder**.
- Skyll i avionisert vann og tørk snittene for hånd.
- Dekk snitt med tartrazinløsning i **5–10 sekunder**.
- Tørk av overflødig farging for hånd.
- Skyll i 2 bytter absolutt alkohol.
- Klarne i xylen og monter.

Ytelsesegenskaper

Grampositive organismer	Lilla
Gramnegative organismer	Rød

Hvis observerte resultater avviker fra forventede resultater, kontakt teknisk service hos Sigma-Aldrich for å få hjelp.

Analytiske ytelsesegenskaper

De analytiske ytelsesresultatene for de gitte testene utført på alle målstrukturer bekrefter 100 % følsomhet, spesifisitet og repeterbarhet.

Kat.nr.	Produkt-beskrivelse	Mål	Spesifisitet innen analyse	Følsomhet innen analyse	Spesifisitet mellom analyser	Følsomhet mellom analyser
HT901	Krystallfiolett løsning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT902	Grams jodløsning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT903	Avfargings-løsning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT904	Safranin O-løsning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT3028	Tatrazin-løsning	Bakgrunn	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Advarsler og farer

Se sikkerhetsdatablad og produktmerking for oppdatert risiko-, fare- eller sikkerhetsinformasjon.

HT90A:



H314 Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.

H336 Kan forårsake døsighet eller svimmelhet.

H411 Giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

P261 Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.

P271 Brukes bare utendørs eller i et godt ventilert område.

P273 Unngå utslipp til miljøet.

P280 Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.

P303 + P361 + P353 VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.

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.

HT90T:



- H314 Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.
- H411 Giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann.
- P273 Unngå utslipp til miljøet.
- P280 Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
- P303 + P361 + P353 VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.
- P304 + P340 + P310 VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.
- 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.
- P363 Tilsølte klær må vaskes før de brukes på nytt.

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av denne enheten eller som et resultat av bruken, rapporter det til produsenten og/eller produsentens autoriserte representant og til din nasjonale myndighet.

Symbolforklaring

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

	Produsent		Katalognummer
	Se bruksanvisning		Batchkode
	Autorisert representant i Det europeiske fellesskap / EU		EU-samsvarserklæring (definert i IVDR 2017/746)
	Best før-dato		In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Temperaturgrense		Forsiktighetsregel
	Produksjonsdato		Importør
	Angir autorisert representant i Sveits		

Referanser

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Kontaktinformasjon

For å legge inn en bestilling, besøk nettstedet vårt på SigmaAldrich.com. Besøk siden for teknisk service på nettstedet vårt på SigmaAldrich.com/techservice for teknisk service.

Revisjonshistorikk

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Overførte til ny mal med gjeldende varemerke. Spesifiserte at utstyret er for profesjonell bruk, i tiltenkt bruk og forsiktighetsregler. Reviderte tiltenkt bruk for å overholde IVDR-retningslinjer. Oppdaterte materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdaterte kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Fjernet utgått kat.nr. G3045 fra Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger. La til kontaktinformasjon for bivirkninger. La til advarsler og farer. La til informasjon om CH-REP.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Initialen M og Sigma-Aldrich er varemerker for Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller dets tilknyttede selskaper. Alle andre varemerker tilhører sine respektive eiere. Detaljert informasjon om varemerker er tilgjengelig via offentlig tilgjengelige ressurser.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Kullanma Talimatı

Filmler için Gram Boya Kiti

Doku için Gram Boya Kiti

Prosedür No. HT90



Kullanım Amacı

Gram Boyası reaktifleri, filmlerde ve dokularda Gram Pozitif ve Gram Negatif organizmaların tanımlanmasında kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Gram Boyası reaktifleri "In Vitro Tanı Amaçlı Kullanım" içindir. Yalnızca profesyonel kullanım içindir. Bu manuel, kalitatif prosedürden elde edilen veriler, doku kesitlerinde ve insan numunesi smear'larında Gram Pozitif ve Gram Negatif organizmaları tanımlar. Bu veriler, diğer tanısal testler ve bilgilerle birlikte gözden geçirildiğinde Gram Pozitif ve Gram Negatif bakteriyel enfeksiyonlarının tanısına yardımcı olarak kullanılabilir.

Gram boyası, klinik olarak iki farklı mikroorganizma grubunu belirlemek için kullanılır. Birincil boyayı (kristal viyole) tutanlara Gram pozitif denir. Renk giderme adımı sırasında birincil boyayı kaybedenlere Gram negatif denir. Gram pozitif organizmaların birincil boyayı tutma mekanizmaları bilinmemektedir, ancak hücre duvarlarının kimyası ve yapısının buna kesinlikle katkısı vardır.

Sigma-Aldrich prosedürü, 1884'teki orijinal Gram prosedürünün bir modifikasyonu olan Hucker ve Conn'un çalışmasına dayanmaktadır. Hucker ve Conn prosedürü, farklılaşmaya yardımcı olan ve oldukça stabil olan bir kristal viyole-amonyum oksalat çözeltisi kullanır.¹

Reaktifler

Kristal Viyole Çözeltisi (Kat. No. HT901-8FOZ)

Sertifikalı kristal viyole, %2,30, C.I. 42555, amonyum oksalat, %0,1 ve %20 etil alkol, SD3A.

Gram İyot Çözeltisi (Kat. No. HT902-8FOZ)

İyot, %0,33 ve potasyum iyodür, %0,66.

Renk Giderici Çözelti (Kat. No. HT903-8FOZ)

Yalnızca filmler için gereklidir. İzopropil alkol, %75 ve aseton, %25.

Safranin O Çözeltisi (Kat. No. HT904-8FOZ)

Sertifikalı safranin %0,6, C.I. 50240, %20 etil alkol içinde, SD3A.

Tartrazin Çözeltisi (Kat. No. HT3028-250ML)

Nayzıca doku için gereklidir. Tartrazin, %0,25, C.I. 19140 ve asetik asit, %0,25.

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

- Pozitif kontrol lamaları her çalışmaya dahil edilmelidir, Gram Boyası TISSUE-TROL™ (Kat. No. TTR005)
- Alkol, Mutlak.
- Aseton, ACS Sınıfı.
- Ksilen veya ksilen ikamesi
- Mikroskop.

Saklama ve Stabilite

Oda sıcaklığında (18–26°C) saklayın. Reaktif etiketlerinde son kullanma tarihi bulunur. Bir kez kullanın ve atın.

Hazırlama

Tüm reaktifler kullanıma hazırdır.

Önlemler

Bu IVD'ler, klinik laboratuvar ortamında in vitro tanı amaçlı kullanıma yöneliktir. Bu IVD'ler yalnızca kalifiye personel tarafından profesyonel kullanım içindir. Sigma-Aldrich IVD'ler, bulaşıcı olabilen insan numunelerini işlemek, mikroskop ve diğer laboratuvar ekipmanlarını kullanmak üzere eğitilmiş, renkleri ve mikroskop altında diğer nesneleri ayırt etmek için renk algısına ve görme keskinliğine sahip laboratuvar personeli tarafından kullanılabilir.

Laboratuvar reaktiflerini kullanırken uygulanan normal önlemlere uyulmalıdır. Atıkları tüm yerel, eyalet, il veya ulusal seviyedeki yönetmeliklere uygun olarak atın.

Gram Boyası TISSUE-TROL™ kontrol lamaları, gram negatif ve gram pozitif bakteri içeren parafine gömülü hayvan dokusudur ve potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Prosedür

Numune Toplama

Bilinen hiçbir test yöntemi, kan numunelerinin veya dokunun enfeksiyon bulaştırmayacağını tam olarak garanti edemez. Bu nedenle, tüm kan türevleri veya doku numuneleri potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Filmler

İyi hazırlanmış, ısıyla fiksasyon uygulanmış herhangi bir film kabul edilebilir. Filmin kalınlığı, renk giderme için gereken süreyi etkileyecektir.

Doku

5 mikronda kesilmiş herhangi bir iyi fiksasyon uygulanmış parafine gömülmüş doku.

Notlar

Renk Giderici Çözelti ile lamaların aşırı renk gideriminden kaçınmak için özen gösterilmelidir. Renk giderici çözelti uzun süre lam üzerinde bırakılırsa Gram pozitif organizmalar dahi renksizleşecek ve kırmızı görünecektir.³

Prosedür

Filmler için prosedür

1. Filmi Kristal Viyole Çözelti ile **1 dakika** yıkayın.
2. Deiyonize suda iyice durulayın.
3. Filmi Gram İyot Çözeltisi ile **1 dakika** yıkayın.
4. Deiyonize suda iyice durulayın.
5. Renk akışı durana dek **10 saniyeye** kadar Renk Giderici Çözelti ile yıkayın.
6. Deiyonize suda iyice durulayın.
7. Filmi Safranin O Çözeltisi ile **1 dakika** yıkayın.
8. Deiyonize suda iyice durulayın.
9. Filmi kurumaya bırakın ve mikroskopik olarak inceleyin.

Dokular için prosedür²

1. Kesitleri deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
2. Lamaları boyama rafına yerleştirin ve kesitleri **1 dakika** Kristal Viyole Çözelti ile kaplayın.
3. Kristal Viyole Çözeltisini boşaltın ve deiyonize suyla iyice durulayın.
4. Gram İyot Çözeltisinde **5 dakika** mordanlayın.
5. Deiyonize suda durulayın ve kesitleri kurulayın.
6. Mutlak alkol veya asetonda farklılaştırın.
7. Deiyonize suda durulayın.
8. Slaytları **30–60 saniye** Safranin O Çözeltisi ile kaplayın.
9. Deiyonize suda durulayın ve kesitleri kurulayın.
10. Kesitleri **5–10 saniye** Tartrazin Çözeltisi ile kaplayın.
11. Fazla boyayı kurulayın.
12. 2 defa değiştirerek mutlak alkolde durulayın.
13. Ksilen ile temizleyin ve yerleştirin.

Performans Özellikleri

Gram pozitif organizmalar	Mor
Gram negatif organizmalar	Kırmızı

Gözlemlenen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklıysa, yardım için lütfen Sigma-Aldrich Teknik Servisi ile iletişime geçin.

Analitik Performans Özellikleri

Tüm hedef yapılar üzerinde yürütülen belirli testlere ait analitik performans sonuçları %100 duyarlılık, özgüllük ve tekrarlanabilirliği doğrulamaktadır.

Kat. No.	Ürün Tanımı	Hedef	Tahlil İçi Özgüllük	Tahlil İçi Duyarlılık	Tahilller Arası Özgüllük	Tahilller Arası Duyarlılık
HT901	Kristal Viyole Çözelti	Gram Pozitif	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Gram Negatif	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT902	Gram İyot Çözeltisi	Gram Pozitif	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Gram Negatif	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT903	Renk Giderici Çözelti	Gram Pozitif	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Gram Negatif	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT904	Safranin O Çözeltisi	Gram Pozitif	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Gram Negatif	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT3028	Tartrazin Çözeltisi	Arka plan	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3

Uyarılar ve Tehlikeler

Güncellenmiş herhangi bir risk, tehlike veya güvenlik bilgisi için Güvenlik Veri Formuna ve ürün etiketine bakın.

HT90A:



H314 Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur.

H336 Uyku haline veya baş dönmesine neden olabilir.

H411 Sudaki yaşam için uzun süreli etkiyle toksiktir.

P261 Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumaktan kaçının.

P271 Sadece dışarıda veya iyi havalandırılan bir alanda kullanın.

P273 Çevreye salınmasını önleyin.

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

P303 + P361 + P353 CİLTLE (veya saçla) TEMASI halinde: Tüm kontamine giysilerinizi hemen çıkarın. Cildinizi suyla durulayın.

P305 + P351 + P338 GÖZLE TEMASI HALİNDE: Birkaç dakika suda dikkatlice durulayın. Varsa ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin.

HT90T:

H314 Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur.

H411 Sudaki yaşam için uzun süreli etkiyle toksiktir.

P273 Çevreye salınmasını önleyin.

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

P303 + P361 + P353 CİLTLE (veya sağla) TEMASI halinde: Tüm kontamine giysilerinizi hemen çıkarın. Cildinizi suyla durulayın.

P304 + P340 + P310 SOLUNMASI HALİNDE: Kişiyi temiz havaya çıkarın ve rahatça nefes alabileceği bir durumda tutun. Derhal bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/doktoru arayın.

P305 + P351 + P338 GÖZLE TEMASI HALİNDE: Birkaç dakika suda dikkatlice durulayın. Varsa ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin.

P363 Kirlenmiş giysileri yeniden kullanmadan önce yıkayın.

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımı sonucunda ciddi bir olay meydana gelirse, lütfen bunu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makama bildirin.

Sembol Tanımları

EN ISO 15223-1:2021'de tanımlanan semboller

	Üretici		Katalog Numarası
	Kullanma Talimatına bakın		Parti Kodu
	Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde Yetkili Temsilci		Avrupa Birliği Uygunluk Beyanı (IVDR 2017/746'da tanımlanmıştır)
	Son Kullanma Tarihi		İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Sıcaklık Sınırı		Dikkat
	Üretim Tarihi		İthalatçı
	İsviçre'deki Yetkili Temsilciyi Belirtir		

Referanslar

1. Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
2. Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
3. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

İletişim Bilgileri

Sipariş vermek için lütfen SigmaAldrich.com adresinden web sitemizi ziyaret edin. Teknik Servis için lütfen SigmaAldrich.com/techservice adresinden web sitemizin teknik servis sayfasını ziyaret edin.

Revizyon Geçmişi

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Mevcut markalama ile yeni şablona aktarıldı. Kullanım amacı ve önlemler bölümünde profesyonel kullanım amaçlı olduğu belirtildi. Kullanım amacı, IVDR yönergelerine uyumlu şekilde revize edildi. Malzeme Güvenlik Bilgi Formu, Güvenlik Bilgi Formu olarak güncellendi. İletişim bilgileri güncellendi. Numune toplama için CLSI'yi takip etme talimatı kaldırıldı. Semboller için EN 980 kaldırıldı ve EN ISO 15223-1:2021 olarak değiştirildi. Gerekli Olan Ancak Gerekli Olmayan Özel Malzemelerden üretimi durdurulan Kat. No. G3045 kaldırıldı. Advers olay iletişim bilgileri eklendi. Uyarılar ve Tehlikeler eklendi. İsviçre'deki yetkili temsilci bilgileri eklendi.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Initial M ve Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Almanya veya bağlı kuruluşlarının ticari markalarıdır. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir. Ticari markalar hakkında ayrıntılı bilgi, herkesin erişebileceği kaynaklar aracılığıyla edinilebilir.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Käyttöohje

Gramvärjäyspakkaus sivelyvalmisteille

Gramvärjäyspakkaus kudokselle

Menetelmänro HT90



Käyttötarkoitus

Gramvärjäysreagenssit on tarkoitettu käytettäväksi grampositiivisten ja gramnegatiivisten organismien määrittämiseen sivelyvalmisteista ja kudoksesta. Gramvärjäysreagenssit on tarkoitettu ”in vitro -diagnostikkaan”. Vain ammattilaisten käyttöön. Tällä manuaalisella, kvalitatiivisella menetelmällä saaduista tiedoista tunnustetaan ihmisperäisten näytteiden kudosleikkeissä ja sivelynäytteissä olevia grampositiivisia ja gramnegatiivisia organismeja. Yhdessä muiden diagnostisten testien ja tietojen kanssa tarkasteltuina näitä tietoja voidaan käyttää apuna grampositiivisten ja gramnegatiivisten bakteerien aiheuttamien infektioiden diagnosoinnissa.

Gramvärjäystä käytetään kliinisesti kahden eri mikro-organisminryhmän määrittämiseen. Mikro-organismeja, joihin ensimmäinen väri (kristallivioletti) jää, kutsutaan grampositiivisiksi. Jos ensimmäinen väri taas huuhtoutuu pois mikro-organismista värinpoistovaiheessa, mikro-organismia kutsutaan gramnegatiiviseksi. Ei ole tiedossa, millä mekanismeilla ensimmäinen väri jää grampositiivisiin organismeihin, mutta siihen liittyy varmasti soluseinien kemia ja rakenne.

Sigma-Aldrich-menetelmä perustuu Huckerin ja Connin työhön, joka on muunneltu Gramin vuonna 1884 kehittämästä alkuperäisestä menetelmästä. Huckerin ja Connin menetelmässä käytetään kristallivioletti-ammoniumoksalaattiliuosta, joka helpottaa erilaistumista ja on melko stabiili.¹

Reagenssit

Kristalliviolettiliuos (luettelonro HT901-8FOZ)

Sertifioitu kristallivioletti, 2,30 %, väri-indeksi 42555, ammoniumoksalaatti, 0,1 %, ja 20-prosenttinen etyylialkoholi, SD3A

Gramin jodiliuos (luettelonro HT902-8FOZ)

Jodi, 0,33 %, ja kaliumjodidi, 0,66 %

Värinpoistoliuos (luettelonro HT903-8FOZ)

Tarvitaan vain sivelyvalmisteita käytettäessä. Isopropyylialkoholi, 75 %, ja asetoni, 25 %

Safraniiniliuos (luettelonro HT904-8FOZ)

Sertifioitu safraniini, 0,6 %, väri-indeksi 50240, 20-prosenttisessa etyylialkoholissa, SD3A

Tartratsiiniliuos (luettelonro HT3028-250ML)

Tarvitaan vain kudosta käytettäessä. Tartratsiini, 0,25 %, väri-indeksi 19140, ja etikkahappo, 0,25 %

Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- Jokaissessa ajossa tulee käyttää positiivisia Gram Stain TISSUE-TROL™ -kontrolliohjeilajeja (luettelonro TTR005).
- Alkoholi, absoluuttinen
- Asetoni, ACS-luokka
- Ksyleeni tai ksyleeninkorvike
- Mikroskooppi

Säilytys ja stabiilius

Säilytettävä huoneenlämmössä (18–26 °C). Viimeinen käyttöpäivä on merkitty reagenssin etikettiin. Käytä kertaalleen ja hävitä sen jälkeen.

Valmistelu

Kaikki reagenssit ovat käyttövalmiita.

Varoimet

Nämä in vitro -diagnostiset (IVD) laitteet on tarkoitettu käytettäväksi ”in vitro -diagnostiikassa” kliinisessä laboratorioympäristössä. Nämä IVD-laitteet on tarkoitettu vain pätevän ammattihenkilöstön käyttöön. In vitro -diagnostisia Sigma-Aldrich-laitteita saa käyttää laboratoriohenkilöstö, joka on koulutettu käsittelemään mahdollisesti tartuntavaarallisia ihmisperäisiä näytteitä ja käyttämään mikroskooppia ja muita laboratoriotarvikkeita ja jolla on riittävä värinäkö ja näöntarkkuus värien ja muiden kohteiden erottamiseen mikroskooppilla.

Normaaleja laboratorioreagenssien käsittelyyn liittyviä varotoimia tulee noudattaa. Hävitä jätteet kaikkien paikallisten, alueellisten ja kansallisten määräysten mukaisesti.

Gram Stain TISSUE-TROL™ -kontrolliohjeilajit sisältävät parafiiniin valettua eläinkudosta, jossa on gramnegatiivisia ja grampositiivisia bakteereja, ja niitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina.

Menettely

Näytteenotto

Millään tunnetulla testimenetelmällä ei voida täysin taata, että veri- tai kudonsäilykkeet eivät tartuttaisi infektiota. Siksi kaikkia verijohdannaisia ja kudonsäilytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina.

Sivelyvalmisteet

Kaikki hyvin valmistellut, lämmöllä kiinnitetyt sivelyvalmisteet ovat hyväksyttäviä. Sivelyvalmisteen pakkaus vaikuttaa värinpoistoon tarvittavaan aikaan.

Kudos

Mikä tahansa hyvin kiinnitetty, parafiiniin valettu kudos, joka on leikattu viiden mikrometrin leikkeeksi.

Huomautukset

Objektilasian liiallista värinpoistoa värinpoistoliuksella on vältettävä. Myös grampositiiviset organismit muuttuvat värittömiksi ja näkyvät punaisina, jos värinpoistoliuos jätetään objektilasille liian pitkäksi aikaa.³

Menettely

Menettely sivelyvalmisteita käytettäessä

- Täytä sivelyvalmiste kristalliviolettiliuoksella **yhden minuutin ajaksi**.
- Huuhtelee huolellisesti deionisoidussa vedessä.
- Täytä sivelyvalmiste Gramin jodiliuksella **yhden minuutin ajaksi**.
- Huuhtelee huolellisesti deionisoidussa vedessä.
- Täytä värinpoistoliuksella enintään **10 sekunnin ajaksi**, kunnes väri lakkaa valumasta.
- Huuhtelee huolellisesti deionisoidussa vedessä.
- Täytä sivelyvalmiste safraniiniliuksella **yhden minuutin ajaksi**.
- Huuhtelee huolellisesti deionisoidussa vedessä.
- Anna sivelyvalmisteen kuivua ja tee mikroskooppitutkimus.

Menettely kudosta käytettäessä²

- Poista leikkeet parafiinista ja hydratoi deionisoituun veteen.
- Aseta objektilasit värjäystelineeseen ja peitä leikkeet kristalliviolettiliuoksella **yhden minuutin ajaksi**.
- Tyhjennä kristalliviolettiliuos ja huuhtelee huolellisesti deionisoidussa vedessä.
- Peittaa Gramin jodiliuksessa **viiden minuutin ajan**.
- Huuhtelee deionisoidussa vedessä ja blottaa leikkeet.
- Erottele absoluuttisessa alkoholissa tai asetonissa.
- Huuhtelee deionisoidussa vedessä.
- Peitä objektilasit safraniiniliuksella **30–60 sekunnin ajaksi**.
- Huuhtelee deionisoidussa vedessä ja blottaa leikkeet.
- Peitä leikkeet tartratsiiniliuksella **5–10 sekunnin ajaksi**.
- Pyyhi ylimääräinen väri pois.
- Huuhtelee absoluuttisella alkoholilla kaksi kierrosta.
- Kirkasta ksyleenissä ja preparoi.

Suorituskykyominaisuudet

Grampositiiviset organismit	Purppura
Gramnegatiiviset organismit	Punainen

Jos havaitut tulokset eroavat odotetuista tuloksista, ota yhteyttä Sigma-Aldrichin tekniseen palveluun.

Analyttiset suorituskykyominaisuudet

Kaikilla kohderakenteilla suoritetuista testeistä saadut analyttiset suorituskykytulokset vahvistavat 100-prosenttisen herkkyyden, spesifisyyden ja toistettavuuden.

Luettelonro	Tuotteen kuvaus	Kohde	Määrittäksen sisäisen spesifisyys	Määrittäksen sisäinen herkkyys	Määrittysten välinen spesifisyys	Määrittysten välinen herkkyys
HT901	Kristalliviolettiliuos	Grampositiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gramnegatiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
HT902	Gramin jodiliuos	Grampositiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gramnegatiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
HT903	Värinpoistoliuos	Grampositiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gramnegatiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
HT904	Safraniiniliuos	Grampositiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gramnegatiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
HT3028	Tartratsiiniliuos	Tausta	3/3	3/3	3/3	3/3

Varoitukset ja vaarat

Katso päivitetty riski-, vaara- ja turvallisuustiedot käyttöturvallisuustiedotteesta ja tuotemerkinnöistä.

HT90A:



H314 Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa.

H336 Saattaa aiheuttaa uneliaisuutta ja huimausta.

H411 Myrkyllistä vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.

P261 Vältä pölyn/savun/kaasun/sumun/höyryn/suihkeen hengittämistä.

P271 Käytä ainoastaan ulkona tai tiloissa, joissa on hyvä ilmanvaihto.

P273 Vältettävä päästämistä ympäristöön.

P280 Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta.

P303 + P361 + P353 JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOILLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaateetus välittömästi. Huuhto iho vedellä.

P305 + P351 + P338 JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhto huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssi, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista.

HT90T:



- H314 Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa.
- H411 Myrkyllistä vesieläölle, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.
- P273 Vältettävä päästämistä ympäristöön.
- P280 Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta.
- P303 + P361 + P353 JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhto iho vedellä.
- P304 + P340 + P310 JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys. Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin.
- P305 + P351 + P338 JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhto huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista.
- P363 Pese saastunut vaatetus ennen uudelleenkäyttöä.

Jos tämän laitteen käytön aikana tai sen seurauksena ilmenee vakava vaaratilanne, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai sen valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Symbolien selitykset

Symbolit standardin EN ISO 15223-1:2021 mukaisesti

	Valmistaja		Luettelonumero
	Katso käyttöohje		Eräkoodi
	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Euroopan unionissa		Vaatimustenmukaisuusvakuutus Euroopan unionin määräysten mukaisesti (IVDR-asetus 2017/746)
	Viimeinen käyttöpäivä		in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnälinen laite
	Lämpötilarajoitus		Huomio
	Valmistuspäivä		Maahantuoja
	Valtuutettu edustaja Sveitsissä		

Lähteet

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Yhteystiedot

Voit tehdä tilauksen verkkosivuillamme osoitteessa [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Tekniseen palveluumme voi ottaa yhteyttä teknisen palvelun sivulla osoitteessa [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Versiohistoria

Versio 3.0	2014
Versio 4.0	2016
Versio 5.0	2023

Siirretty uuteen pohjaan, jossa on ajantasaiset brändimerkit. Maininta ammattikäytöstä lisätty käyttötarkoitukseen ja varotoimiin. Käyttötarkoitus tarkistettu IVDR-ohjeistusten mukaisesti. "Materiaalin käyttöturvallisuustiedote" päivitetty muotoon "käyttöturvallisuustiedote". Yhteystiedot päivitetty. Poistettu ohje CLSI-ohjeistuksen noudattamisesta näytteenotossa. Symboliosiesta poistettu "EN 980" ja tilalle vaihdettu "EN ISO 15223-1:2021". Poistettu luettelonro G3045 kohdasta Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen, sillä tuotteen valmistus on lopetettu. Lisätty haittatapahtumien yhteydessä käytettävät yhteystiedot. Lisätty kohta Varoitukset ja vaarat. Lisätty CH-REP-tiedot.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

M-alkukirjain ja Sigma-Aldrich ovat Merck KGaA -yhtiön, Darmstadt, Saksa, tai sen tytäryhtiöiden tavaramerkkejä. Kaikki muut tavaramerkit ovat haltijoidensa omaisuutta. Yksityiskohtaiset tavaramerkkitiedot ovat saatavilla julkisista lähteistä.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Gebruiksaanwijzing

Gramkleuring-kit voor films

Gramkleuring-kit voor weefsel

Procedurenr. HT90



Beoogd gebruik

Gramkleuringsreagentia zijn bedoeld voor gebruik bij de herkenning van grampositieve en gramnegatieve organismen in films en weefsel. Gramkleuringsreagentia zijn voor 'in-vitrodiagnostisch gebruik'. Uitsluitend voor professioneel gebruik. De gegevens verkregen met deze handmatige, kwalitatieve procedure identificeren grampositieve en gramnegatieve organismen in weefselcoupes en smears van humane monsters. Wanneer deze gegevens worden bekeken in combinatie met andere diagnostische tests en informatie, kunnen ze worden gebruikt als hulpmiddel bij het diagnosticeren van grampositieve en gramnegatieve bacteriële infecties.

Gramkleuring wordt klinisch gebruikt om twee verschillende groepen micro-organismen te herkennen. Degene die de primaire kleurstof (kristalviolet) vasthouden, worden grampositief genoemd. Degene die de primaire kleurstof verliezen tijdens een ontkleuringsstap worden gramnegatief genoemd. De mechanismen waardoor grampositieve organismen de primaire kleurstof behouden zijn onbekend, hoewel de chemie en structuur van celwanden er zeker bij betrokken zijn.

De Sigma-Aldrich-procedure is gebaseerd op het werk van Hucker en Conn dat een modificatie is van de originele gramprocedure uit 1884. Voor de procedure van Hucker en Conn wordt gebruik gemaakt van een kristalviolet-ammoniumoxalaatoplossing die helpt bij de differentiatie en vrij stabiel is.¹

Reagentia

Kristalvioletoplossing (cat. nr. HT901-8FOZ)
Gecertificeerd kristalviolet, 2,30%, C.I. 42555, ammoniumoxalaat, 0,1%, en 20% ethylalcohol, SD3A

Gram-jodiumoplossing (cat. nr. HT902-8FOZ)
Jodium, 0,33%, en kaliumjodide, 0,66%

Ontkleuringsoplossing (cat. nr. HT903-8FOZ)
Alleen vereist voor films. Isopropylalcohol, 75% en aceton, 25%

Safranin O-oplossing (cat. nr. HT904-8FOZ)
Gecertificeerd safranin 0,6%, C.I. 50240, in 20% ethylalcohol, SD3A

Tartrazine-oplossing (cat. nr. HT3028-250ML)
Alleen vereist voor weefsels. Tartrazine, 0,25%, C.I. 19140, en azijnzuur, 0,25%

Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen

- Positieve controleglasjes moeten in elke run worden opgenomen, gramkleuring TISSUE-TROL™ (Cat. nr. TTR005)
- Alcohol, Absoluut
- Aceton, ACS-kwaliteit
- Xyleen of xyleenvervanger
- Microscoop

Opslag en stabiliteit

Bewaar bij kamertemperatuur (18-26 °C). Op het etiket van het reagens staat de vervaldatum. Eenmaal gebruiken en weggoien.

Vorbereiding

Alle reagentia zijn klaar voor gebruik.

Voorzorgsmaatregelen

Deze IVD's zijn bedoeld voor in-vitrodiagnostisch gebruik in een klinische laboratoriumomgeving. Deze IVD's zijn uitsluitend bestemd voor professioneel gebruik door gekwalificeerd personeel. IVD's van Sigma-Aldrich mogen bediend worden door laboratoriumpersoneel dat opgeleid is om om te gaan met humane monsters die infectieus kunnen zijn, microscopen en andere laboratoriumapparatuur te gebruiken en met voldoende kleurwaarneming en gezichtsscherpte om kleuren en andere objecten onder een microscoop te onderscheiden.

De normale voorzorgsmaatregelen bij het hanteren van laboratoriumreagentia moeten worden opgevolgd. Voer afval af met inachtneming van alle plaatselijke, provinciale of nationale voorschriften.

Gramkleuring TISSUE-TROL™-controleglasjes zijn in paraffine ingebed dierlijk weefsel dat gramnegatieve en grampositieve bacteriën bevat en moeten als mogelijk infectieus worden beschouwd.

Procedure

Monsterafname

Geen enkele bekende testmethode kan volledige zekerheid bieden dat bloedmonsters of weefsel geen infectie overdragen. Daarom moeten alle bloederivaten of weefselmonsters als mogelijk infectieus worden beschouwd.

Films

Elke goed geprepareerde, met warmte gefixeerde film is acceptabel. De dikte van de film beïnvloedt de tijd die nodig is voor ontkleuring.

Weefsel

Elk goed gefixeerd, in paraffine ingebed weefsel van 5 micron dik.

Opmerkingen

Voorkom te veel ontkleuring van de objectglasjes met de ontkleuringsoplossing. Zelfs grampositieve organismen worden kleurloos en worden rood als de objectglasjes te lang in de ontkleuringsoplossing blijft.³

Procedure

Procedure voor films

1. Overgiet de film met kristalvioletoplossing gedurende **1 minuut**.
2. Spoel grondig met gede-ioniseerd water.
3. Overgiet de film met gram-jodium-oplossing gedurende **1 minuut**.
4. Spoel grondig met gede-ioniseerd water.
5. Overgiet met ontkleuringsoplossing gedurende maximaal **10 seconden** totdat de kleur niet meer doorloopt.
6. Spoel grondig met gede-ioniseerd water.
7. Overgiet de film met Safranin O-oplossing gedurende **1 minuut**.
8. Spoel grondig met gede-ioniseerd water.
9. Laat de glasjes aan de lucht drogen en beoordeel ze microscopisch.

Procedure voor weefsel²

1. Deparaffineer glasjes en hydrateer met gede-ioniseerd water.
2. Plaats de objectglasjes op een kleuringsrekje en bedek de coupes met kristalvioletoplossing, gedurende **1 minuut**.
3. Giet de kristalvioletoplossing af en spoel grondig in gede-ioniseerd water.
4. Beits in gramjodiumoplossing gedurende **5 minuten**.
5. Spoel af met gede-ioniseerd water en dep de coupes droog.
6. Differentieer in absolute alcohol of aceton.
7. Spoel met gede-ioniseerd water.
8. Dek de objectglasjes af met Safranin O-oplossing gedurende **30-60 seconden**.
9. Spoel af met gede-ioniseerd water en dep de coupes droog.
10. Dek de coupes af met Tartrazine-oplossing gedurende **5-10 seconden**.
11. Dep overtollige kleurstof af.
12. Spoel in 2 baden absolute alcohol.
13. Reinig in xyleen en bed in.

Prestatiekenmerken

Grampositieve organismen	Paars
Gramnegatieve organismen	Rood

Als de waargenomen resultaten afwijken van de verwachte resultaten, neem dan contact op met de technische dienst van Sigma-Aldrich voor assistentie.

Analytische prestatiekenmerken

De resultaten van de analytische prestaties voor de gegeven tests, uitgevoerd op alle doelstructuren, bevestigen 100% gevoeligheid, specificiteit en herhaalbaarheid.

Cat. nr.	Product-beschrijving	Doel	Intra-assay specificiteit	Intra-assay gevoeligheid	Inter-assay specificiteit	Inter-assay gevoeligheid
HT901	Kristalvioletoplossing	Grampositief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Gramnegatief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT902	Gramjodiumoplossing	Grampositief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Gramnegatief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT903	Ontkleuringsoplossing	Grampositief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Gramnegatief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT904	Safranin O-oplossing	Grampositief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Gramnegatief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT3028	Tartrazine-oplossing	Achtergrond	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3

Waarschuwingen en gevaren

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad en de etikettering van het product voor bijgewerkte informatie over risico's, gevaren of veiligheid.

HT90A:



H314 Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsels.

H336 Kan slaperigheid of duizeligheid veroorzaken.

H411 Giftig voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.

P261 Inademing van stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel vermijden.

P271 Alleen buiten of in een goed geventileerde ruimte gebruiken.

P273 Voorkom lozing in het milieu.

P280 Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

P303 + P361 + P353 BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): Trek onmiddellijk alle verontreinigde kleding uit. Spoel de huid af met water.

P305 + P351 + P338 BIJ CONTACT MET DE OGEN: Spoel zachtjes af met water gedurende enkele minuten. Contactlenzen verwijderen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Blijven spelen.

HT90T:



- H314 Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsels.
- H411 Giftig voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.
- P273 Voorkom lozing in het milieu.
- P280 Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/ gezichtsbescherming.
- P303 + P361 + P353 BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): Trek onmiddellijk alle verontreinigde kleding uit. Spoel de huid af met water.
- P304 + P340 + P310 NA INADEMING: Breng de persoon in de frisse lucht en zorg dat hij comfortabel kan ademen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts.
- P305 + P351 + P338 BIJ CONTACT MET DE OGEN: Spoel zachtjes af met water gedurende enkele minuten. Contactlenzen verwijderen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Blijven spoelen.
- P363 Verontreinigde kleding wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken.

Als zich tijdens het gebruik van dit apparaat of als gevolg van het gebruik ervan een ernstig incident heeft voorgedaan, meld dit dan aan de fabrikant en/of zijn gemachtigde vertegenwoordiger en aan uw nationale autoriteit.

Symbooldefinities

Symbolen zoals gedefinieerd in EN ISO 15223-1:2021

	Fabrikant		Catalogusnummer
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing		Batchcode
	Gemachtigd vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap/ Europese Unie		Conformiteitsverklaring van de Europese Unie (gedefinieerd in IVDR 2017/746)
	Uiterste gebruiksdatum		Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek
	Temperatuurlimiet		Let op
	Productiedatum		Importeur
	Geeft de bevoegde vertegenwoordiger in Zwitserland aan		

Referenties

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Contactgegevens

Om een bestelling te plaatsen, bezoek onze website op SigmaAldrich.com. Ga voor technische service naar de technische servicepagina op onze website: SigmaAldrich.com/techservice.

Herzieningsgeschiedenis

Herz. 3.0	2014
Herz. 4.0	2016
Herz. 5.0	2023
Overgezet naar nieuwe sjabloon met huidige huisstijl. Gespecificeerd voor professioneel gebruik in bedoeld gebruik en voorzorgsmaatregelen. Herzien beoogd gebruik om aan te sluiten bij IVDR-richtlijnen. Veiligheidsinformatieblad bijgewerkt tot veiligheidsinformatieblad. Contactgegevens bijgewerkt. Instructie om CLSI te volgen voor monsterafname verwijderd. EN 980 verwijderd en gewijzigd in EN ISO 15223-1:2021 voor symbolen. Verwijderd uit het assortiment Cat. nr. G3045 uit Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen. Contactinformatie over melding ongewenste voorvallen toegevoegd. Waarschuwingen en gevaren toegevoegd. CH-REP informatie toegevoegd.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Navodila za uporabo

Komplet barvila za barvanje po Gramu za filme

Komplet barvila za barvanje po Gramu za tkivo

Št. postopka HT90



Predvidena uporaba

Reagenti za barvanje po Gramu so namenjeni za razločevanje grampozitivnih in gramnegativnih organizmov v filmih in tkivih. Reagenti za barvanje po Gramu so namenjeni za »diagnostično uporabo in vitro«. Samo za strokovno uporabo. Podatki, pridobljeni s tem priročnim, kvalitativnim postopkom, določajo grampozitivne in gramnegativne organizme v tkivnih prerezih in razmazih človeških vzorcev. Ti podatki se lahko v povezavi z drugimi diagnostičnimi testi in informacijami uporabijo kot pomoč pri diagnosticiranju grampozitivnih in gramnegativnih bakterijskih okužb.

Barvanje po Gramu se klinično uporablja za razmejitev dveh različnih skupin mikroorganizmov. Tisti, ki zadržijo primarno barvilo (kristalno vijolično), imenujemo grampozitivne. Tisti, ki med razbarvanjem izgubijo primarno barvilo, se imenujejo gramnegativni. Mehanizmi, s katerimi grampozitivni organizmi ohranijo primarno obarvanje, niso znani, čeprav sta kemija in struktura celičnih sten zagotovo vpleteni.

Postopek Sigma-Aldrich temelji na delu Huckerja in Conna, ki je sprememba prvotnega Gramovega postopka iz leta 1884. Huckerjev in Connov postopek uporablja kristalno vijolično-amonijev oksalat, ki pomaga pri diferenciaciji in je precej stabilen.¹

Reagenti

Kristalno vijolična raztopina (kat. št. HT901-8FOZ)

Certificirana kristalno vijolična, 2,30 %, C.I. 42555, amonijev oksalat, 0,1 %, in 20-% etilni alkohol, SD3A

Raztopina joda za barvanje po Gramu (kat. št. HT902-8FOZ)

Jod, 0,33 %, in kalijev jodid, 0,66 %.

Raztopina za razbarvanje (kat. št. HT903-8FOZ)

Zahtevano samo za filme. Izopropilni alkohol, 75 %, in aceton, 25 %.

Raztopina safranina O (kat. št. HT904-8FOZ)

Certificirani safranin 0,6 %, C.I. 50240, v 20-% etilnem alkoholu, SD3A

Raztopina tartrazina (kat. št. HT3028-250ML)

Zahtevano samo za tkivo. Tartrazin, 0,25 %, C.I. 19140, in ocetna kislina, 0,25 %.

Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi

- V vsako serijo je treba vključiti pozitivna kontrolna stekelca, Gram Stain TISSUE-TROL™ (kat. št. TTR005)
- Alkohol, absolutni
- Aceton, razred ACS
- Ksileni ali nadomestek ksilena
- Mikroskop

Shranjevanje in stabilnost

Shranjujte pri sobni temperaturi (18–26 °C). Na oznaki reagenta je naveden datum izteka roka uporabnosti. Uporabite enkrat in zavrzite.

Priprava

Vsi reagenti so pripravljeni za uporabo.

Previdnostni ukrepi

Ti izdelki IVD so namenjeni za diagnostično uporabo in vitro v kliničnem laboratoriju. Ti izdelki IVD so namenjeni le strokovni uporabi s strani usposobljenega osebja. Z napravami Sigma-Aldrich IVD lahko upravlja laboratorijsko osebje, ki je usposobljeno za ravnanje s človeškimi vzorci, ki so lahko kužni, za uporabo mikroskopov in druge laboratorijske opreme ter ima sposobnost zaznavanja barv in ostrino vida za razlikovanje barv in drugih predmetov pod mikroskopom.

Upoštevati je treba običajne previdnostne ukrepe pri ravnanju z laboratorijskimi reagenti. Odpadke odstranite v skladu z vsemi lokalnimi, državnimi, pokrajinskimi ali nacionalnimi predpisi.

Kontrolna stekelca Gram Stain TISSUE-TROL™ so v parafin vklopljena živalska tkiva, ki vsebujejo gramnegativne in grampozitivne bakterije ter jih je treba obravnavati kot potencialno kužna.

Postopek

Zbiranje vzorcev

Nobena znana testna metoda ne more dati popolnega zagotovila, da vzorci krvi ali tkiva ne bodo prenesli okužbe. Zato je treba vse krvne derivate ali tkivne vzorce obravnavati kot potencialno kužne.

Filmi

Sprejemljiv je vsak dobro pripravljen, toplotno fiksiran film. Debelina filma vpliva na čas, potreben za razbarvanje.

Tkivo

Vsako dobro fiksirano tkivo, vklopljeno v parafin, razrezano na 5 mikronov.

Opombe

Paziti je treba, da ne pride do prekomernega razbarvanja stekelc z raztopino za razbarvanje. Tudi grampozitivni organizmi bodo postali brezbarvni in rdeči, če bo raztopina za razbarvanje ostala na stekelcu predolgo.³

Postopek

Postopek za filme

1. Film **1 minuto** polivajte s kristalno vijolično raztopino.
2. Temeljito sperite z deionizirano vodo.
3. Film **1 minuto** polivajte z raztopino joda za barvanje po Gramu.
4. Temeljito sperite z deionizirano vodo.
5. Do največ **10 sekund** polivajte z raztopino za razbarvanje, dokler barva ne preneha teči.
6. Temeljito sperite z deionizirano vodo.
7. Film **1 minuto** polivajte z raztopino safranina O.
8. Temeljito sperite z deionizirano vodo.
9. Film posušite na zraku in ga preglejte z mikroskopom.

Postopek za tkivo²

1. Rezone deparafinizirajte in jih hidrirajte v deionizirani vodi.
2. Stekelca položite na stojalo za barvanje in rezine za **1 minuto** prekrijte s kristalno vijolično raztopino.
3. Odcedite kristalno vijolično raztopino in jo temeljito sperite v deionizirani vodi.
4. Jedkajte v raztopini joda za barvanje po Gramu **5 minut**.
5. Izperite v deionizirani vodi in obrišite rezine.
6. Diferencirajte v absolutnem alkoholu ali acetonu.
7. Izperite v deionizirani vodi.
8. Stekelca za **30–60 sekund** prekrijte z raztopino safranina O.
9. Izperite v deionizirani vodi in obrišite rezine.
10. Dele za **5–10 sekund** prekrijte z raztopino tartrazina.
11. Odvečno barvilo odstranite.
12. Izperite z 2 zamenjavama absolutnega alkohola.
13. Očistite v ksilenu in pritrdite.

Značilnosti delovanja

Grampozitivni organizmi	Vijolična
Gramnegativni organizmi	Rdeča

Če opaženi rezultati odstopajo od pričakovanih, se za pomoč obrnite na oddelek za tehnično pomoč podjetja Sigma-Aldrich.

Značilnosti analitične učinkovitosti

Rezultati analitične učinkovitosti za dane teste, opravljene na vseh ciljnih strukturah, potrjujejo 100-odstotno občutljivost, specifičnost in ponovljivost.

Kat. št.	Opis izdelka	Cilj	Specifičnost znotraj testa	Občutljivost znotraj testa	Specifičnost med testi	Občutljivost med testi
HT901	Kristalno vijolična raztopina	Grampozitivno	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Gramnegativno	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT902	Raztopina joda za barvanje po Gramu	Grampozitivno	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Gramnegativno	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT903	Raztopina za razbarvanje	Grampozitivno	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Gramnegativno	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT904	Raztopina safranina O	Grampozitivno	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Gramnegativno	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT3028	Raztopina tartrazina	Ozadje	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3

Opozorila in nevarnosti

Vse posodobljene informacije o tveganju, nevarnosti ali varnosti najdete na varnostnem listu in etiketi izdelka.

HT90A:



H314 Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.

H336 Lahko povzroči zaspanost ali omotico.

H411 Strupeno za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki.

P261 Ne vdihavati prahu/dima/plina/meglice/hlapov/razpršila.

P271 Uporabljati le zunaj ali v dobro prezračenem prostoru.

P273 Preprečiti sproščanje v okolje.

P280 Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.

P303 + P361 + P353 PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi): Takoj sleči vsa kontaminirana oblačila. Kožo izprati z vodo.

P305 + P351 + P338 PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.

HT90T:



- H314 Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.
- H411 Strupeno za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki.
- P273 Preprečiti sproščanje v okolje.
- P280 Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.
- P303 + P361 + P353 PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi): Takoj sleči vsa kontaminirana oblačila. Kožo izprati z vodo.
- P304 + P340 + P310 PRI VDIHAVANJU: Prenesti osebo na svež zrak in jo pustiti v udobnem položaju, ki olajša dihanje. Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.
- P305 + P351 + P338 PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.
- P363 Kontaminirana oblačila oprati pred ponovno uporabo.

Če je med uporabo te naprave ali kot posledica njene uporabe prišlo do resnega incidenta, o tem obvestite proizvajalca in/ali njegovega pooblaščenega zastopnika ter ustrezen državni organ.

Definicije simbolov

Simboli, kot so opredeljeni v standardu EN ISO 15223-1:2021

	Proizvajalec		Kataloška številka
	Natančno preberite navodila za uporabo		Koda serije
	Pooblaščen zastopnik v Evropski skupnosti/Evropski uniji		Izjava Evropske unije o skladnosti (opredeljena v IVDR 2017/746)
	Rok uporabe		Medicinski diagnostični pripomoček in vitro
	Temperaturna omejitev		Pozor
	Datum izdelave		Uvoznik
	Označuje pooblaščenega zastopnika v Švici		

Reference

- Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
- Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Kontaktni podatki

Če želite oddati naročilo, obiščite naše spletno mesto [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Če želite tehnično pomoč, obiščite stran tehničnega servisa na našem spletnem mestu [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Zgodovina revizij

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Preneseno v novo predlogo s trenutno blagovno znamko. Navedeno za poklicno uporabo v okviru predvidene uporabe in previdnostnih ukrepov. Revidiran je namen uporabe za uskladiitev s smernicami IVDR. Posodobljen je varnostni list materiala v varnostni list. Posodobljeni so kontaktni podatki. Odstranjeno je navodilo, da je treba pri zbiranju vzorcev upoštevati standard CLSI. Odstranjen je standard EN 980 in za simbole spremenjen v standard EN ISO 15223-1:2021. Odstranjena je ukinjena kat. št. G3045 iz razdelka »Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi«. Dodani so kontaktni podatki v primeru neželenih dogodkov. Dodana so opozorila in nevarnosti. Dodane so bile informacije o zastopniku v Švici.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Začetna črka M in Sigma-Aldrich sta blagovni znamki družbe Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija ali njenih pridruženih družb. Vse druge blagovne znamke so last posameznih lastnikov. Podrobne informacije o blagovnih znamkah so na voljo v javno dostopnih virih.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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