

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Microscopy

Lugol's solution stabilized with PVP

for the Gram staining method

Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution)

for the Gram staining method

For professional use only

IVD In Vitro Diagnostic Medical Device



Intended purpose

These "Lugol's solution stabilized with PVP - for the Gram staining method" and "Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution) - for the Gram staining method" are used for human-medical cell diagnosis and serve the purpose of the bacteriological investigation of sample material of human origin. They are ready-to-use solutions these when used together with other *in vitro* diagnostic products from our portfolio make bacterial target structures evaluable for diagnostic purposes (Gram-positive or Gram-negative bacteria) by fixing, staining, counterstaining, mounting in bacteriological specimen materials, e.g. smears of body fluids.

Unstained structures are relatively low in contrast and are extremely difficult to distinguish under the light microscope. The images created using the staining solutions help the authorized and qualified investigator to better define the form and structure in such cases. Further tests must be carried out according to recognized, valid methods to reach a definitive diagnosis.

Principle

In bacteriology, the Gram staining allows a fast differentiation of bacteria in Gram-positive and Gram-negative.

The mureine structure of the bacteria wall is the basis of the color affinity. In the first step, bacteria will be stained with crystal violet, an aniline dye. After the treatment with iodine solution (Lugol's solution), a dye-iodine complex will form. During the decolorizing step, this complex stays in the multilayer mureine structure of the cell wall of Gram-positive bacteria - they will appear blue-violet.

Gram-negative bacteria, by contrast, have a cell wall consisting of a single-layered murein structure, and correspondingly re-release the staining dye with the decolorizing solution. Gram-negative bacteria will be counterstained with safranin solution and will then appear pink to red.

Sample material

Body fluids, exudate, pus, liquid or solid cultures

Reagents

Cat. No. 1.00567
 Lugol's solution stabilized with PVP 1 l, 2.5 l
 for the Gram staining method

Cat. No. 1.09261
 Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution) 1 l, 2.5 l
 for the Gram staining method

Also required:

Cat. No. 1.09217 Gram's safranin solution 500 ml, 2.5 l
 for the Gram staining method
 Cat. No. 1.09218 Gram's crystal violet solution 500 ml, 2.5 l
 for the Gram staining method
 Cat. No. 1.10218 Gram's decolorizing solution 500 ml, 2.5 l
 for the Gram staining method

Alternatively:

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

Cat. No. 1.11885.0001
 Gram-Color
 stain set for the Gram staining method

1 set

Sample preparation

The sampling must be performed by qualified personnel.

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

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

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

All samples must be clearly labeled.

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

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

Reagent preparation

The Lugol's solution stabilized with PVP - for the Gram staining method and Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution) - for the Gram staining method used for staining are ready-to-use, dilution of the solutions is not necessary and merely produces a deterioration of the staining result and their stability.

Procedure

Staining in the staining cell

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

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

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

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

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

* filter Lugol's solution after 3 runs

** discard Gram's decolorizing solution after 5 runs

Staining on the staining rack

Slide with fixed smear		
Gram's crystal violet solution	cover completely and leave to react	1 min
Lugol's solution	rinse briefly	
Lugol's solution	cover completely and leave to react	1 min
Distilled water	wash carefully	5 sec
Gram's decolorizing solution	carefully swirl the slides until no further clouds of dye are produced and the smear takes on a grey-blue color	10 - 15 sec
Distilled water	wash carefully	5 sec
Gram's safranin solution	cover completely and leave to react	1 min
Distilled water	wash carefully	5 sec
Air-dry (e. g. over night or at 50 °C in the drying cabinet)		

Covering with non-aqueous mounting media (e.g. Neo-Mount™ or Entellan™) and a cover glass is recommended for the storage of bacteriological specimens for several months. For this purpose, the stained specimens must be dried very well.

The use of immersion oil is recommended for the analysis of stained slides with a microscopic magnification >40x.

Staining in the automatic stainer

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

Result

Gram-positive microorganisms	blue-violet
Gram-negative microorganisms	pink to red

Trouble-shooting

Fixation of smear samples

A sufficient degree of heat-fixing using a Bunsen burner or in a heating cabinet is essential to prevent the infectious potential of the specimens and further proliferation of the bacteria.

No staining of the gram-positive bacteria

The critical stage of the Gram-staining procedure is the decolorizing step, which can be influenced by the thickness of the smear. In addition, a fresh decolorizing solution is highly reactive, which is why the result should be evaluated with care. During the decolorizing step, the user should stick to the exact incubation times described in the protocol, since otherwise false-negative results may result.

Technical notes

The microscope used should meet the requirements of a medical diagnostic laboratory. When using automatic staining systems, please follow the instructions for use supplied by the supplier of the system and software. Remove surplus immersion oil before filing.

Analytical performance characteristics

"Lugol's solution stabilized with PVP" and "Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution)" aid in the microscopic examination of biological structures as described in the "Intended purpose" of this IFU. The use of the products is only to be carried out by authorized and qualified persons, this includes, among other things, sample and reagent preparation, sample handling, decisions regarding suitable controls and more.

The analytical performance of the products is confirmed by testing each production batch.

For the following stains, the analytical performance was confirmed in terms of specificity, sensitivity and repeatability of the product with a rate of 100 %:

Cat. No. 1.00567 - Lugol's solution stabilized with PVP

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
Gram staining				
Gram-positive microorganisms	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-negative microorganisms	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytical performance results

Cat. No. 1.09261 - Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution)

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
Gram staining				
Gram-positive microorganisms	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-negative microorganisms	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytical performance results

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

The results of this Performance Evaluation confirms that the products are suitable for the intended use and perform reliably.

Diagnostics

Diagnoses are to be made only by authorized and qualified personnel. Valid nomenclatures must be used.

This method can be supplementarily used in human diagnostics.

Further tests must be selected and implemented according to recognized methods.

Suitable controls should be conducted with each application in order to avoid an incorrect result.

The staining set may be controlled with Gram-positive bacteria and Gram-negative bacteria.

Bacteria taken from a culture medium after 18 - 24 hours of incubation should be used.

Storage

Store the Lugol's solution stabilized with PVP - for the Gram staining method and Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution) - for the Gram staining method at +15 °C to +25 °C.

At temperatures below 15 °C a colored precipitate may settle out of the staining solutions. If precipitation has occurred, place the bottle for 2 - 3 hours in a water bath set at approx. 60 °C. This will re-dissolve most of the precipitate. Subsequently, filter the staining solutions through a paper filter.

Shelf-life

The Lugol's solution stabilized with PVP - for the Gram staining method and Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution) - for the Gram staining method can be used until the stated expiry date.

After first opening of the bottle, the contents can be used up to the stated expiry date when stored at +15 °C to +25 °C.

The bottles must be kept tightly closed at all times.

Capacity

approx. 250 stainings / 500 ml

Additional instructions

For professional use only.

In order to avoid errors, the application must be carried out by qualified personnel only.

National guidelines for work safety and quality assurance must be followed. Microscopes equipped according to the standard must be used.

If necessary use a standard centrifuge suitable for medical diagnostic laboratory.

Protection against infection

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

Instructions for disposal

The package must be disposed of in accordance with the current disposal guidelines.

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

Auxiliary reagents

Cat. No. 1.04699	Immersion oil for microscopy	100-ml drop-ping bottle, 100 ml, 500 ml
Cat. No. 1.07960	Entellan™ rapid mounting medium for microscopy	500 ml
Cat. No. 1.07961	Entellan™ new rapid mounting medium for microscopy	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. No. 1.09016	Neo-Mount™ anhydrous mounting medium for microscopy	100-ml drop-ping bottle, 500 ml
Cat. No. 1.09217	Gram's safranin solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l
Cat. No. 1.09218	Gram's crystal violet solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l
Cat. No. 1.10218	Gram's decolorizing solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l
Cat. No. 1.11885	Gram-Color stain set for the Gram staining method	1 set

Hazard classification

Cat. No. 1.09261

Cat. No. 1.00567

Please observe the hazard classification printed on the label and the information given in the safety data sheet.

The safety data sheet is available on the website and on request.

Cat. No. 1.00567

CAUTION! Contains CMR substances. Please observe the corresponding safety instructions given in the safety data sheet.

Main components of the products

Cat. No. 1.00567

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

Cat. No. 1.09261

I₂ 3.4 g/l
KI 6.8 g/l
1 l = 1.01 kg

General remark

If during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorised representative and to your national authority.

Literature

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Cat. No. 1.00567



H318: Causes serious eye damage.

H360D: May damage the unborn child.

H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.

P202: Do not handle until all safety precautions have been read and understood.

P273: Avoid release to the environment.

P280: Wear eye protection/ face protection.

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

P308 + P313: IF exposed or concerned: Get medical advice/ attention.

P405: Store locked up.

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Jul-24	Initial version with the introduction of Revision History
2025-Oct-29 V.1	Update of Hazard classification. Addition of new symbol and H&P sentences.



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2025-Oct-29 V.1

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

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. Merck and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly available resources.



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Mikroskopie

Lugols Lösung stabilisiert mit PVP

für die Gram-Färbung

Lugols Lösung (verdünnte Iod-Kaliumiodidlösung)

für die Gram-Färbung

Nur für professionelle Anwendung



In Vitro Diagnostikum



Zweckbestimmung

Die vorliegenden „Lugols Lösung stabilisiert mit PVP - für die Gram-Färbung“ und „Lugols Lösung (verdünnte Iod-Kaliumiodidlösung) - für die Gram-Färbung“ werden für die human-medizinische Zelldiagnostik verwendet und dienen der bakteriologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um gebrauchsfertige Lösungen, welche zusammen mit anderen *In Vitro* Diagnostika aus unserem Portfolio bakterielle Zielstrukturen (Gram-positive bzw. Gram-negative Bakterien) mittels Fixieren, Anfärben, Gegenfärben, Eindecken in bakteriologischem Untersuchungsgut, wie z.B. Ausstrichen von Körperflüssigkeiten, für die Diagnostik auswertbar machen.

Ungefärbte Strukturen sind relativ kontrastarm und lassen sich kaum lichtmikroskopisch differenzieren. Durch die mit Hilfe der Färbelösungen erzeugten Bilder, kann die Form und Struktur durch einen autorisierten und qualifizierten Untersucher besser erkannt werden. Für eine abschließende Diagnostik sind weiterführende Tests nach anerkannten, validen Methoden durchzuführen.

Prinzip

Die Gram-Färbung erlaubt eine rasche Differenzierung von Bakterien in Gram-positiv und Gram-negativ.

Das färberische Verhalten der Bakterien wird durch den Aufbau der Bakterienzellwände bestimmt.

Die Bakterien werden in der Gram-Färbung mit Kristallviolett, einem Anilinfarbstoff, angefärbt. Nach der Behandlung mit Iodlösung (Lugols Lösung) entsteht ein Farbstoff-Iod-Komplex. Das mehrschichtige Mureingerüst der Zellwände Gram-positiver Bakterien verhindert das Auswaschen des Farbstoff-Iod-Komplexes beim Entfärbeschritt, die Bakterien bleiben blauviolett gefärbt.

Im Gegensatz dazu haben Gram-negative Bakterien eine Zellwand aus einem einschichtigen Mureingerüst, sie geben daher mit der Entfärbelösung den Farbstoff wieder ab. Die Gram-negativen Bakterien werden durch eine Gegenfärbung mit Safraninlösung rosa bis rot angefärbt.

Probenmaterial

Körperflüssigkeiten, Exsudate, Eiter, flüssiges oder Koloniematerial

Reagenzien

Art. 1.00567
 Lugols Lösung stabilisiert mit PVP
 für die Gram-Färbung 1 l, 2,5 l

Art. 1.09261
 Lugols Lösung (verdünnte Iod-Kaliumiodidlösung)
 für die Gram-Färbung 1 l, 2,5 l

Zusätzlich erforderlich:

Art. 1.09217	Grams Safraninlösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Grams Kristallviolettlösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Grams Entfärbelösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l

Alternativ:

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

Art. 1.11885.0001	Gram-Color Färbeset für die Gram-Färbung	1 set
-------------------	--	-------

Probenvorbereitung

Die Probenentnahme darf nur durch Fachpersonal erfolgen.

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

Die luftgetrockneten Ausstriche müssen sehr sorgfältig hitzefixiert werden. Dies verhindert die Gefahr von Infektionen und reduziert das Abschwimmen von Material und damit die Kontamination von Lösungen und anderen Objektträgern.

Alle Proben sind entsprechend dem Stand der Technik zu behandeln.

Alle Proben sind eindeutig zu kennzeichnen.

Geeignete Instrumente sind zur Probenentnahme und bei der Präparation zu verwenden, die Anweisungen des Herstellers für die Anwendung / den Gebrauch sind zu befolgen.

Bei Verwendung der entsprechenden Hilfsreagenzien sind die dazugehörigen Gebrauchsanweisungen zu beachten.

Reagenz Vorbereitung

Die zur Färbung verwendeten Lugols Lösung stabilisiert mit PVP - für die Gram-Färbung und Lugols Lösung (verdünnte Iod-Kaliumiodidlösung) - für die Gram-Färbung sind gebrauchsfertig, das Verdünnen der Lösungen ist nicht notwendig, mindert das Färbergebnis und die Haltbarkeit.

Durchführung

Färbung in der Färbeküvette

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

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

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

Für ein optimales Färbergebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

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

* Lugols Lösung nach 3 Durchgängen filtrieren

** Grams Entfärbelösung nach 5 Durchgängen verwerfen

Färbung auf der Färbebank

Objektträger mit fixiertem Ausstrich		
Grams Kristallviolettlösung	vollständig bedecken und einwirken lassen	1 min
Lugols Lösung	kurz abspülen	
Lugols Lösung	vollständig bedecken und einwirken lassen	1 min
Aqua dest.	vorsichtig waschen	5 sec
Grams Entfärbelösung	Objektträger vorsichtig schwenken bis keine Farbwolken mehr abgehen und der Ausstrich graublau erscheint	10 - 15 sec
Aqua dest.	vorsichtig waschen	5 sec
Grams Safraninlösung	vollständig bedecken und einwirken lassen	1 min
Aqua dest.	vorsichtig waschen	5 sec
Lufttrocknen (z.B. über Nacht oder bei 50 °C im Trockenschrank)		

Für die Lagerung von bakteriologischen Präparaten über mehrere Monate, wird das Eindecken mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z. B. Neo-Mount™ oder Entellan™) und Deckglas empfohlen. Die gefärbten Präparate müssen dafür sehr gut getrocknet werden.

Für die Analyse von gefärbten Präparaten mit einer mikroskopischen Vergrößerung >40x wird die Verwendung von Immersionsöl empfohlen.

Färbung im Färbeautomaten

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

Ergebnis

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

Fehlerfindung

Fixierung der Ausstrichpräparate

Eine ausreichende Hitzeфикierung mit dem Bunsenbrenner oder in einem Hitzeschrank sind wichtig, um das infektiöse Potential der Präparate und ein Weiterwachsen der Bakterien zu verhindern.

Keine Färbung von Gram-positiven Bakterien

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

Technische Hinweise

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

Analytische Leistung

Die vorliegenden „Lugols Lösung stabilisiert mit PVP“ und „Lugols Lösung (verdünnte Iod-Kaliumiodidlösung)“ unterstützen die mikroskopische Untersuchung biologischer Strukturen, wie in der „Zweckbestimmung“ dieser Gebrauchsanweisung beschrieben. Die Anwendung der Produkte ist hierbei nur von autorisierten und qualifizierten Personen durchzuführen, dies umfasst, unter anderem, die Proben- und Reagenzvorbereitung, Probenbehandlung, die Entscheidung über geeignete Kontrollen und mehr.

Die analytische Leistung der Produkte wird durch die Testung jeder Produktionscharge sichergestellt.

Für die folgenden Färbungen wurden die analytische Leistung in Form von Spezifität, Sensitivität und Wiederholbarkeit des Produkts mit einer Rate von 100 % bestätigt:

Art. 1.00567 - Lugols Lösung stabilisiert mit PVP

	Inter-assay Spezifität	Inter-assay Sensitivität	Intra-assay Spezifität	Intra-assay Sensitivität
Gram-Färbung				
Gram-positive Mikroorganismen	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-negative Mikroorganismen	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytische Leistungsparameter

Art. 1.09261 - Lugols Lösung (verdünnte Iod-Kaliumiodidlösung) DE

	Inter-assay Spezifität	Inter-assay Sensitivität	Intra-assay Spezifität	Intra-assay Sensitivität
Gram-Färbung				
Gram-positive Mikroorganismen	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-negative Mikroorganismen	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytische Leistungsparameter

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

Die Ergebnisse der Performance Evaluation belegen, dass diese Produkte für die beschriebene Zweckbestimmung geeignet sind und verlässlich korrekte Ergebnisse liefern.

Diagnostik

Diagnosen sind nur von autorisierten und qualifizierten Personen zu erstellen. Gültige Nomenklaturen sind anzuwenden. Diese Methode ist ergänzend in der Humandiagnostik anzuwenden. Weiterführende Tests sind nach anerkannten Methoden auszuwählen und durchzuführen.

Geeignete Kontrollen sollten bei jeder Anwendung mitgeführt werden, um ein fehlerhaftes Ergebnis auszuschließen. Die Kontrolle des Färbesets kann mit Gram-positiven Bakterien und Gram-negativen Bakterien durchgeführt werden. Dazu sind Kulturen von 18 - 24 Stunden lang bebrüteten Nährböden zu verwenden.

Lagerung

Lugols Lösung stabilisiert mit PVP - für die Gram-Färbung und Lugols Lösung (verdünnte Iod-Kaliumiodidlösung) - für die Gram-Färbung bei +15 °C bis +25 °C lagern.

Bei den Färbelösungen kann es bei einer Temperatur unter 15 °C zur Bildung von Farbstoffniederschlägen kommen. In einem solchen Fall sind die Flaschen 2 - 3 Stunden in ein etwa 60 °C warmes Wasserbad einzustellen. Dadurch löst sich der größte Teil der Farbstoffniederschläge wieder auf. Die Färbelösungen sind anschließend durch ein Papierfilter zu filtrieren.

Haltbarkeit

Lugols Lösung stabilisiert mit PVP - für die Gram-Färbung und Lugols Lösung (verdünnte Iod-Kaliumiodidlösung) - für die Gram-Färbung können bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.

Nach dem ersten Öffnen der Flasche bei +15 °C bis +25 °C aufbewahrt bis zum Verfallsdatum verwendbar.

Die Flaschen sind stets gut geschlossen zu halten.

Kapazität

etwa 250 Färbungen / 500 ml

Gebrauchshinweise

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

Infektionsschutz

Auf wirksamen Infektionsschutz entsprechend der Laborrichtlinien ist unbedingt zu achten.

Entsorgungshinweise

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

Hilfsreagenzien

Art. 1.04699	Immersionsöl für die Mikroskopie	100-ml-Tropflasche, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07960	Entellan™ Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie	500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Neu Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	100-ml-Tropflasche, 500 ml

Art. 1.09217	Grams Safraninlösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Grams Kristallviolettlösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Grams Entfärbelösung für die Gram-Färbung	500 ml, 2,5 l
Art. 1.11885	Gram-Color Färbeset für die Gram-Färbung	1 set

Gefahrstoffeinstufung

Art. 1.09261

Art. 1.00567

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

Das Sicherheitsdatenblatt ist erhältlich im Internet und auf Anfrage.

Art. 1.00567

ACHTUNG! Enthält CMR-Substanzen. Bitte entsprechende Sicherheitshinweise im Sicherheitsdatenblatt beachten.

Hauptbestandteile der Produkte

Art. 1.00567

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

Art. 1.09261

I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l =	1,01 kg

Allgemeiner Hinweis

Wenn während oder infolge des Gebrauchs ein schwerwiegender Vorfall aufgetreten ist, melden Sie diesen bitte dem Hersteller und / oder seinem Bevollmächtigten und Ihrer nationalen Behörde.

Literatur

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Art. 1.00567



H318: Verursacht schwere Augenschäden.

H360D: Kann das Kind im Mutterleib schädigen.

H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

P202: Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.

P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.

P280: Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.

P305 + P351 + P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

P308 + P313: BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P405: Unter Verschluss aufbewahren.

Revisionshistorie

Version	Modifikationsanmerkung
2024-Jul-24	Erste Version mit der Einführung der Revisionshistorie
2025-Oct-29 V.1	Aktualisierung der Gefahrstoffeinstufung. Ergänzung neuer Symbole und H- und P-Sätze.



Gebrauchsanweisung
beachten



Hersteller



Katalognummer



Chargen-
code



Achtung, Begleitdokumen-
tation beachten



Verwendbar bis
JJJJ-MM-TT



Temperatur-
begrenzung

Status: 2025-Oct-29 V.1

Der Unternehmensbereich Life Science von Merck tritt in den USA und in Kanada als MilliporeSigma auf.

© 2025 MerckKGaA, Darmstadt, Deutschland und/oder Tochterunternehmen. Alle Rechte vorbehalten. Merck und Sigma-Aldrich sind Marken der Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland. Alle anderen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber. Ausführliche Informationen zu Markennamen sind über öffentlich zugängliche Informationsquellen erhältlich.



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Microscopie

Solution de Lugol stabilisée avec PVP

pour la coloration selon Gram

Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée)

pour la coloration selon Gram

Réservé à une utilisation professionnelle

IVD

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Objectif prévu

Les présentes « Solution de Lugol stabilisée avec PVP - pour la coloration selon Gram » et « Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) - pour la coloration selon Gram » sont utilisées pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et servent à l'examen bactériologique d'échantillons d'origine humaine. Ce sont des solutions prêtes à l'emploi, qui sont utilisées conjointement avec d'autres diagnostics *in vitro* de notre portefeuille pour rendre des structures bactériennes cibles analysables pour le diagnostic (les bactéries Gram-positives ou Gram-négatives) par fixation, coloration, contre-coloration, montage dans des épreuves bactériologiques, telles que les frottis de liquides corporels, p.ex.

Les structures non colorées présentent des contrastes relativement faibles et ne peuvent à peine être différenciées par microscopie optique. Les images créées au moyen des solutions de coloration permettent à un examinateur formé et autorisé de mieux distinguer la forme et la structure. Pour un diagnostic final, il est nécessaire d'effectuer des examens supplémentaires selon des méthodes valides et reconnues.

Principe

La méthode de coloration de Gram permet d'obtenir rapidement une différenciation des bactéries entre Gram-positives et Gram-négatives.

La coloration des bactéries dépend de la structure de leurs parois cellulaires. Lors de la coloration de Gram, les bactéries sont colorées par du violet cristallin, un colorant aniline. Après traitement avec une solution iodée (solution de Lugol), on obtient un complexe colorant-iodé. Les multiples couches des chaînes de muréine des parois cellulaires Gram-positives empêchent que le complexe colorant-iodé disparaisse au lavage lors de l'étape de décoloration, et les bactéries conservent leur coloration bleue-violet. Les bactéries Gram-négatives, en revanche, ont une paroi cellulaire composée d'une chaîne de muréine à une seule couche : c'est pourquoi le décolorant disparaît avec la solution de décoloration. Les bactéries Gram-négatives sont colorées en rose à rouge par une contre-coloration effectuée à l'aide d'une solution de safranine.

Matériel des échantillons

Liquides corporels, exsudats, salive, produits liquides ou comportant des colonies

Réactifs

Art. 1.00567
 Solution de Lugol stabilisée avec PVP 1 l, 2,5 l
 pour la coloration selon Gram

Art. 1.09261
 Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) 1 l, 2,5 l
 pour la coloration selon Gram

Nécessaire en plus :

Art. 1.09217	Safranine en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Violet cristallisé en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Solution de décoloration selon GRAM pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l

En alternative :

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

Art. 1.11885.0001	Gram-Color	1 set
Set de coloration pour la coloration de Gram		

Préparation des échantillons

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

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

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

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

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

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

Préparation du réactif

Les Solution de Lugol stabilisée avec PVP - pour la coloration selon Gram et Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) - pour la coloration selon Gram utilisées sont prêtes à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer les solutions étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.

Mode opératoire

Coloration dans la cuve de coloration

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

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

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

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

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

* filtrer après trois passages la Solution de Lugol

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

Coloration sur le banc de coloration

Porte-objet avec frottis fixé		
Violet cristallisé en solution selon Gram	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Solution de Lugol	rincer brièvement	
Solution de Lugol	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Eau distillée	laver avec précaution	5 secondes
Solution de décoloration selon GRAM	agiter le porte-objet avec précaution jusqu'à ne plus voir aucun nuage de couleur, et jusqu'à ce que le frottis penne une couleur bleu-grisâtre	10 - 15 secondes
Eau distillée	laver avec précaution	5 secondes
Safranine en solution selon Gram	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Eau distillée	laver avec précaution	5 secondes
Sécher à l'air (p.ex. pendant toute une nuit, ou à 50 °C dans l'armoire de séchage)		

Si l'on souhaite stocker des préparations hématologiques pendant plusieurs mois, il est conseillé de les recouvrir d'un produit de montage anhydre (p.ex. Neo-Mount™ ou Entellan™) et d'une lamelle couvre-objet. Les préparations colorées doivent être alors parfaitement sèches.

Pour l'examen microscopique de préparations colorées avec un grossissement >40x, il est recommandé d'utiliser de l'huile d'immersion.

Coloration dans le distributeur automatique de coloration

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

Résultat

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

Diagnostic d'erreurs

Fixation des préparations de frottis

Il est important d'effectuer une fixation à la chaleur suffisante avec un bec Bunsen ou dans une étuve, afin d'empêcher le potentiel infectieux des préparations et une prolifération des bactéries.

Pas de coloration des bactéries Gram-positives

L'opération critique de la coloration de Gram est la décoloration, qui peut être influencée par l'épaisseur du frottis. De plus, une solution de décoloration fraîche est très réactive. C'est pourquoi le résultat doit être analysé très soigneusement. Lors de la décoloration, les temps indiqués ici doivent être respectés scrupuleusement, faute de quoi on risque d'obtenir des résultats faux-négatifs.

Remarques techniques

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d'un laboratoire de diagnostics médicaux.

En cas d'utilisation d'un automate de coloration, se conformer aux instructions du fabricant de l'appareil et du logiciel.

Éliminer l'excédent d'huile pour immersions avant l'archivage.

Caractéristiques de performance analytique

Les présents réactifs auxiliaires « Solution de Lugol stabilisée avec PVP » et « Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) » facilitent l'examen au microscope des structures biologiques comme décrit dans « Objectif prévu » du présent mode d'emploi. Ces produits ne doivent être utilisés que par des personnes agréées et qualifiées, ce qui englobe notamment la préparation des échantillons et des réactifs, la manipulation des échantillons, la prise de décisions en matière de contrôles appropriés et autres.

La performance analytique des produits est confirmée via l'analyse de chaque lot de production.

Pour les colorants suivants, la performance analytique a été confirmée au niveau des spécificité, sensibilité et répétabilité du produit avec un taux de 100 % :

Art. 1.00567 - Solution de Lugol stabilisée avec PVP

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration de Gram				
Microorganismes Gram-positives	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganismes Gram-négatives	20/20	20/20	7/7	7/7

Résultats de la performance analytique

Art. 1.09261 - Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée)

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration de Gram				
Microorganismes Gram-positives	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganismes Gram-négatives	20/20	20/20	7/7	7/7

Résultats de la performance analytique

Les données des essais intra-lot (au sein du même lot) et inter-lot (sur différents lots) répertorient le nombre de structures dont la coloration est appropriée en relation avec le nombre d'essais effectués.

Les résultats de cette évaluation de performance confirment que les produits sont appropriés à l'usage prévu et peuvent être utilisés de manière fiable.

Diagnostic

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

Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées.

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

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

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

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

Stockage

Stocker les Solution de Lugol stabilisée avec PVP - pour la coloration selon Gram et Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) - pour la coloration selon Gram entre +15 °C et +25 °C.

A une température inférieure à +15 °C, on peut noter la formation de précipité de colorant dans les solutions de coloration. Dans ce cas, placer les flacons pendant 2 à 3 heures dans un bain marie chaud à env. 60 °C. De ce fait, la plus grande partie des précipités de colorant se dissout à nouveau. Filtre ensuite les solutions de coloration à travers un papier filtre.

Stabilité

Les Solution de Lugol stabilisée avec PVP - pour la coloration selon Gram et Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) - pour la coloration selon Gram peuvent être utilisées jusqu'à la date de péremption indiqué.

Après la première ouverture du flacon, conserver entre +15 °C et +25 °C et utiliser jusqu'à la date de péremption.

Tenir les flacons toujours bien fermés.

Capacité

env. 250 colorations / 500 ml

Remarques sur l'utilisation

Réservé à une utilisation professionnelle.

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

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

Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

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

Protection contre les infections

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

Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur.

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

Réactifs auxiliaires

Art. 1.04699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07960	Entellan™ produit de montage rapide pour la microscopie	500 ml

Art. 1.07961	Entellan™ néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte- gouttes de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09217	Safranin en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Violet cristallisé en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Solution de décoloration selon GRAM pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.11885	Gram-Color Set de coloration pour la coloration de Gram	1 set

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Jul-24	Version initiale avec l'introduction de l'historique des révisions
2025-Oct-29 V.1	Mise à jour de la classification des dangers. Ajout d'un nouveau symbole et des phrases H et P.

Classification des matières dangereuses

Art. 1.09261

Art. 1.00567

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

Art. 1.00567

ATTENTION : contient des substances CMR. Veuillez respecter les consignes de sécurité dans la fiche de sécurité correspondante s.v.p.

Composants principaux des produits

Art. 1.00567

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

Art. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Remarque générale

Si un incident grave s'est produit durant ou par suite de l'utilisation, veuillez informer de celui-ci le fabricant et/ou son mandataire et votre autorité nationale.

Littérature

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Art. 1.00567



H318 : Provoque de graves lésions des yeux.

H360D: Peut nuire au fœtus.

H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P202: Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.

P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.

P280 : Porter un équipement de protection des yeux/ du visage.

P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P308 + P313: En cas d'exposition prouvée ou suspectée: Consulter un médecin.

P405: Garder sous clef.



Respectez les
consignes d'utili-
sation



Fabricant



N° catalogue



Code de lot



Attention : observez la
documentation complé-
mentaire



Utilisable
jusqu'au
AAAA-MM-JJ



Limitation de
température

Status: 2025-Oct-29 V.1

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

© 2025 MerckKGaA, Darmstadt, Allemagne et/ou ses sociétés affiliées. Tous droits réservés. Merck et Sigma-Aldrich sont des marques de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne. Toutes les autres marques citées appartiennent à leurs propriétaires respectifs.
Des informations détaillées sur les marques sont disponibles via des ressources accessibles au public.



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Microscopía

Solución de Lugol estabilizada con PVP

para la tinción de Gram

Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico)

para la tinción de Gram

Solamente para uso profesional

IVD

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Finalidad prevista

Las presentes "Solución de Lugol estabilizada con PVP - para la tinción de Gram" y "Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico) - para tinción de Gram" son utilizadas para el diagnóstico celular en la medicina humana y se emplean en el examen bacteriológico de muestras de origen humano. Hay soluciones listas para el uso que, junto con otros materiales de diagnóstico *in vitro* pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino bacterianas (bacterias Gram positivas y Gram negativas) mediante fijación, tinción, contratinción, montaje en material de examen bacteriológico, como pueden ser frotis de líquidos corporales.

Las estructuras sin teñir son relativamente pobres en contrastes y apenas si pueden diferenciarse bajo el microscopio óptico. Las imágenes generadas con ayuda de las soluciones de tinción permiten a un examinador autorizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Para un diagnóstico final deben realizarse pruebas más complejas según métodos reconocidos y válidos.

Principio

El método de tinción de Gram permite realizar con rapidez una diferenciación entre bacterias Gram positivas y Gram negativas.

El comportamiento de las bacterias respecto a la tinción depende de la estructura de las paredes celulares de las bacterias. Durante la tinción de Gram, las bacterias son teñidas con violeta cristal, un colorante de anilina. Después del tratamiento con solución de yodo (solución de Lugol) se produce un complejo de colorante y yodo. La red de mureína de varias capas que presentan las paredes celulares Gram positivas evita la lixiviación del complejo de colorante y yodo durante el paso de decoloración, las bacterias conservan su tinción azul violeta. Contrariamente a esto, las bacterias Gram negativas disponen de una pared celular compuesta por una red de mureína con una sola capa, por lo que devuelven el colorante con la solución de decoloración. Las bacterias Gram negativas son teñidas de color rosa a rojo por medio de una contratinción con solución de safranina.

Material de las muestras

Líquidos corporales, exudados, pus, material de colonias líquido o sólido

Reactivos

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

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

Necesario además:

Art. 1.09217 Safranina en solución según Gram 500 ml, 2,5 l
 para la tinción de Gram
 Art. 1.09218 Violeta cristal en solución según Gram 500 ml, 2,5 l
 para la tinción de Gram
 Art. 1.10218 Solución decolorante según Gram 500 ml, 2,5 l
 para la tinción de Gram

Alternativamente:

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

Art. 1.11885.0001
 Gram-Color 1 set
 Equipo de tinción para la tinción de Gram

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado.

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

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

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

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

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

Preparación del reactivo

Las Solución de Lugol estabilizada con PVP - para la tinción de Gram y Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico) - para tinción de Gram para los procesos de tinción están listas para el uso, la dilución de las soluciones no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

Técnica

Tinción en la cubeta de tinción

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

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

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

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

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

* filtrar la Solución de Lugol después de 3 ciclos

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

Tinción en el banco de tinción

Portaobjetos con frotis fijado		
Violeta cristal en solución según Gram	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Solución de Lugol	enjuagar brevemente	
Solución de Lugol*	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Agua destilada	lavar con cuidado	5 segundos
Solución decolorante según Gram	mover el portaobjetos con cuidado hasta que ya no se desprendan nubes de color y el frotis tenga un aspecto gris azulado	10 - 15 segundos
Agua destilada	lavar con cuidado	5 segundos
Safranina en solución según Gram	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Agua destilada	lavar con cuidado	5 segundos
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)		

Para el almacenamiento de preparados bacteriológicos durante varios meses se recomienda el montaje con medios de montaje anhidros (p. ej. Neo-Mount™ o Entellan™) y cubreobjetos. Para ello, los preparados han de ser secados con gran esmero.

Para el análisis de preparados teñidos con un aumento microscópico >40x se recomienda el uso de aceite de inmersión.

Tinción en el aparato automático de tinción

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

Resultado

Microorganismos Gram positivos	violeta azulado
Microorganismos Gram negativos	rosa a rojo

Localización de errores

Fijación de preparados de frotis

Es importante realizar una termofijación suficiente por medio de un mechero Bunsen o en un armario de calor para eliminar el potencial infeccioso de los preparados y evitar que las bacterias sigan creciendo.

Ninguna tinción de bacterias Gram positivas

El paso crítico en la tinción de Gram es el paso de descoloración, que puede ser influenciado por el espesor del frotis. Por lo demás, una solución decolorante fresca es muy reactiva, por lo que el resultado debería ser evaluado cuidadosamente. Durante la descoloración, los tiempos indicados aquí deberían ser respetados con máxima exactitud, ya que de lo contrario se podrían presentar resultados incorrectamente negativos.

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico. Si se utilizan aparatos automáticos de tinción, deberán tenerse en cuenta las instrucciones de operación del fabricante, tanto del aparato como del software. Eliminar el aceite de inmersión en exceso antes de archivar.

Características de rendimiento analítico

Los reactivos auxiliares presentes “Solución de Lugol estabilizada con PVP” y “Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico)” facilitan el examen microscópico de estructuras biológicas como se describe en la “Finalidad prevista” en esta instrucción de uso. Solo deben utilizar los productos personas autorizadas y cualificadas. Esta utilización incluye, entre otras actividades, la preparación de muestras y reactivos, la manipulación de muestras, as decisiones relativas a los controles adecuados, etc.

El rendimiento analítico de los productos se confirma analizando cada lote de producción.

En el caso de las siguientes tinciones, se confirmó el rendimiento analítico en términos de especificidad, sensibilidad y repetibilidad del producto, con una tasa del 100 %:

Art. 1.00567 - Solución de Lugol estabilizada con PVP

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

Resultados de rendimiento analítico

Art. 1.09261 - Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico)

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

Resultados de rendimiento analítico

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

Los resultados de esta evaluación de rendimiento confirman la aptitud de los productos para el uso previsto, así como su fiabilidad de funcionamiento.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas. Deberán emplearse terminologías vigentes. Este método debe aplicarse complementariamente en el diagnóstico humano. Deberán elegirse y realizarse ensayos ulteriores según métodos reconocidos.

Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos. Los controles del kit de tinción pueden realizarse con bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas. Para ello deben utilizarse cultivos procedentes de medios de cultivo incubados durante 18 - 24 horas.

Almacenamiento

Guardar las Solución de Lugol estabilizada con PVP - para la tinción de Gram y Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico) - para tinción de Gram de +15 °C a +25 °C.

A temperaturas inferiores a 15 °C puede precipitar colorante de las soluciones de tinción. En tal caso han de colocarse los frascos durante 2 - 3 horas en un baño de agua aprox. 60 °C. De esta manera se redisuelve la mayor parte de los precipitados de colorantes. Las soluciones de tinción deben filtrarse seguidamente a través de un papel de filtro.

Estabilidad

Las Solución de Lugol estabilizada con PVP - para la tinción de Gram y Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico) - para tinción de Gram pueden ser utilizadas hasta la fecha de caducidad indicada.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +15 °C y +25 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.

Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

Capacidad

aprox. 250 tinciones / 500 ml

Notas sobre el empleo

Solamente para uso profesional.

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

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

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

Protección contra infecciones

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

Indicaciones para la eliminación de residuos

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

Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación bajo el Quick Link “Hints for Disposal of Microscopy Products” en www.microscopy-products.com. Dentro de la UE tiene validez el REGLAMENTO (CE) Nº 1272/2008 sobre la clasificación, el etiquetado y el envasado de sustancias y mezclas, por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) Nº 1907/2006.

Reactivos auxiliares

Art. 1.04699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07960	Entellan™ medio de montaje rápido para microscopía	500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l

Art. 1.09016	Neo-Mount™ medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09217	Safranina en solución según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Violeta cristal en solución según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Solución decolorante según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.11885	Gram-Color Equipo de tinción para la tinción de Gram	1 set

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.09261
Art. 1.00567
Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad. La ficha de seguridad está disponible en el sitio web y a solicitud.

Art. 1.00567
¡ATENCIÓN! Contiene sustancias CMR. Por favor, respete los avisos de seguridad correspondientes en la ficha de datos de seguridad.

Componentes principales de los productos

Art. 1.00567	
PVP-Yodo	50 g/l
KI	10 g/l
1 l =	1,02 kg
Art. 1.09261	
I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l =	1,01 kg

Aviso general

Si se produce un incidente grave durante el uso o a causa del mismo, sírvase informar al fabricante y/o a su apoderado y a su autoridad nacional.

Literatura

- 1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- 2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Art. 1.00567



H318: Provoca lesiones oculares graves.
H360D: Puede dañar al feto.
H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P202: No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.
P273: Evitar su liberación al medio ambiente.
P280: Llevar equipo de protección para los ojos/ la cara.
P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.
P308 + P313: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.
P405: Guardar bajo llave.

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Jul-24	Versión inicial con la introducción del Historial de revisiones
2025-Oct-29 V.1	Se ha actualizado la clasificación de los peligros. Se ha añadido un nuevo símbolo y frases H&P.

Observe las instrucciones de uso

Fabricante

Número de catálogo

Código del lote

Atención, observar la documentación pertinente

Utilizable hasta AAAA-MM-DD

Delimitación de la temperatura

Status: 2025-Oct-29 V.1

La división Life Science de Merck opera como MilliporeSigma en los Estados Unidos y en Canadá.

© 2025 MerckKGaA, Darmstadt, Alemania y/o sus filiales. Todos los derechos reservados. Merck y Sigma-Aldrich son marcas comerciales de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios. Tiene a su disposición información detallada sobre las marcas comerciales a través de recursos accesibles al público.

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Microscopia

Soluzione Lugol stabilizzata con PVP

per la colorazione di Gram

Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro)

per la colorazione di Gram

Solo per uso professionale

IVD Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*



Scopo previsto

I presenti "Soluzione Lugol stabilizzata con PVP - per la colorazione di Gram" e "Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro) - per la colorazione di Gram" sono utilizzati per la diagnostica cellulare nell'uomo e servono per l'esame batteriologico di campioni di origine umana. Ci sono soluzioni pronte all'uso che, congiuntamente ad altri prodotti diagnostici *in vitro* del nostro portafoglio, consentire l'analisi diagnostica delle strutture bersaglio batteriche (batteri Gram-positivi e Gram-negativi) mediante fissaggio, colorazione, controcolorazione, montaggio nei campioni batteriologici, quali ad esempio strisci di liquidi corporei.

Le strutture non colorate presentano un contrasto relativamente poco marcato e sono difficili da distinguere al microscopio ottico. In virtù delle immagini ottenute con le soluzioni di colorazione, il ricercatore autorizzato e qualificato è in grado di distinguere in modo più preciso la forma e la struttura. Per una diagnosi definitiva devono essere eseguiti ulteriori test avvalendosi di metodi validi e riconosciuti.

Principio

La colorazione di Gram consente di distinguere rapidamente i batteri tra Gram-positivi e Gram-negativi.

Il comportamento dei batteri alla colorazione è determinato dalla struttura delle pareti cellulari degli stessi.

Con la colorazione di Gram, i batteri vengono colorati con cristallo violetto, un colorante all'anilina. Dopo il trattamento con soluzione di iodio (soluzione di Lugol), si forma un complesso colorante-iodio. La parete cellulare composta da più strati di mureina dei batteri Gram-positivi impedisce lo scolorimento del complesso colorante-iodio nella fase di decolorazione e i batteri conservano la colorazione blu-violetto.

Al contrario, i batteri Gram-negativi hanno una parete cellulare costituita da uno strato di mureina e possono sbiadirsi con la soluzione di decolorazione. I batteri Gram-negativi vengono colorati da rosa a rosso attraverso la contro-colorazione con soluzione di safranina.

Materiale d'esame

Liquidi corporei, essudato, materiale purulento, altro materiale liquido o in colonie

Reattivi

Art. 1.00567
Soluzione Lugol stabilizzata con PVP
per la colorazione di Gram 1 l, 2,5 l

Art. 1.09261
Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro)
per la colorazione di Gram 1 l, 2,5 l

Inoltre necessario:

Art. 1.09217	Safranina soluzione secondo Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Cristallvioletto soluzione sec. Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Soluzione decolorante secondo Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l

In alternativa:

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

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

Preparazione dei campioni

Il campionamento deve essere effettuato da personale specializzato.

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

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

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

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

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

Preparazione del reattivo

I Soluzione Lugol stabilizzata con PVP - per la colorazione di Gram e Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro) - per la colorazione di Gram sono pronte all'uso, non è richiesta la diluizione delle soluzioni, poiché compromette la colorazione e ne riduce la stabilità.

Esecuzione

Colorazione nella cuvetta di colorazione

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

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

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

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

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

* filtrare dopo 3 passaggi la Soluzione Lugol

** sostituire dopo 5 passaggi la Soluzione decolorante secondo Gram

Colorazione con rastrello di colorazione

Portaoggetti con striscio fissato		
Cristallivioletto soluzione sec. Gram	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Soluzione Lugol	sciacquare brevemente	
Soluzione Lugol	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Acqua distillata	lavare con precauzione	5 secondi
Soluzione decolorante secondo Gram	scuotere con delicatezza il portaoggetti fino a quando non compaiono più nuvolette di colore e lo striscio appare di colore grigio-blu	10 - 15 secondi
Acqua distillata	lavare con precauzione	5 secondi
Safranina soluzione secondo Gram	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Acqua distillata	lavare con precauzione	5 secondi
Asciugare all'aria (ades. per una notte o a 50 °C nell'armadio di asciugatura)		

Per stoccare i preparati batteriologici per diversi mesi, si raccomanda il montaggio con un mezzo di montaggio anidro (ades., Neo-Mount™ o Entellan™) e un vetrino coprioggetti. I preparati colorati devono essere ben essiccati.

Per l'analisi dei preparati colorati con ingrandimento al microscopio >40x, si consiglia di utilizzare olio di immersione.

Colorazione nel strumento automatico colorazione

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

Risultato

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

Individuazione e soluzione di problemi

Fissaggio degli strisci

È importante eseguire un fissaggio adeguato con il becco Bunsen o in un armadio di calore, in modo da prevenire le possibili infezioni dei preparati e l'ulteriore crescita batterica.

Nessuna colorazione dei batteri Gram-positivi

Il passo fondamentale della colorazione di Gram è la decolorazione, che può essere influenzata dallo spessore dello striscio. La soluzione decolorante fresca è inoltre molto reattiva e quindi è necessario valutare con attenzione il risultato. I tempi qui indicati per la decolorazione devono essere rigorosamente osservati, poiché in caso contrario si possono ottenere risultati falsi negativi.

Annotazioni tecnici

Il microscopio utilizzato deve soddisfare i requisiti previsti in un laboratorio medico diagnostico.

In caso di colorazione automatizzata, attenersi alle istruzioni per l'uso del produttore dello strumento e del software.

Eliminare l'olio di immersione in eccesso prima dell'archiviazione.

Caratteristiche delle prestazioni analitiche

I presenti reattivi ausiliari "Soluzione Lugol stabilizzata con PVP" e "Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro)" aiutano nell'esame al microscopio di strutture biologiche, come descritto nello "Scopo previsto" di questa IFU. I prodotti devono essere utilizzati solo da persone autorizzate e qualificate; ciò include, a titolo esemplificativo, la preparazione del campione e del reagente, la manipolazione del campione, le decisioni relative ai controlli adeguati, ecc.

Le prestazioni analitiche dei prodotti sono confermate per mezzo di test su ciascun lotto di produzione.

Per le seguenti colorazioni, le prestazioni analitiche sono state confermate in termini di specificità, sensibilità e ripetibilità del prodotto con un tasso del 100 %:

Art. 1.00567 - Soluzione Lugol stabilizzata con PVP

	Specificità intersaggio	Specificità intersaggio	Specificità intrasaggio	Specificità intrasaggio
Colorazione di Gram				
Microrganismi Gram-positivi	20/20	20/20	7/7	7/7
Microrganismi Gram-negativi	20/20	20/20	7/7	7/7

Risultati delle prestazioni analitiche

Art. 1.09261 - Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro)

	Specificità intersaggio	Specificità intersaggio	Specificità intrasaggio	Specificità intrasaggio
Colorazione di Gram				
Microrganismi Gram-positivi	20/20	20/20	7/7	7/7
Microrganismi Gram-negativi	20/20	20/20	7/7	7/7

Risultati delle prestazioni analitiche

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

I risultati di questa valutazione delle prestazioni confermano che i prodotti sono adatti all'uso previsto e funzionano in modo affidabile.

Diagnostica

Le diagnosi vanno eseguite solo da personale autorizzato e qualificato. Devono essere utilizzate nomenclature valide.

La presente metodologia deve essere utilizzata quale strumento integrativo per la diagnostica umana.

Ulteriori test vanno scelti ed eseguiti secondo metodi riconosciuti.

Per ogni applicazione devono essere eseguiti controlli appropriati, per escludere possibili risultati errati.

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

Conservazione

I Soluzione Lugol stabilizzata con PVP - per la colorazione di Gram e Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro) - per la colorazione di Gram vengono conservati ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

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

Stabilità

I Soluzione Lugol stabilizzata con PVP - per la colorazione di Gram e Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro) - per la colorazione di Gram possono essere utilizzati entro la data di scadenza indicata.

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

Conservare sempre i flaconi ben chiusi.

Capacità

circa 250 colorazione / 500 ml

Istruzioni per l'uso

Solo per uso professionale.

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

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

Vanno utilizzati microscopi conformi agli standard vigenti.

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

Protezione contro le infezioni

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

Istruzioni per lo smaltimento

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

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

Reattivi ausiliari

Art. 1.04699	Olio di immersione per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07960	Entellan™ montaggio medio-rapido per microscopia	500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Neo mezzo di montaggio rapido per microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l

Art. 1.09016	Neo-Mount™ mezzo di montaggio anidro per microscopia	flacone conta- gocce di 100 ml, 500 ml
Art. 1.09217	Safranina soluzione secondo Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Cristallvioletto soluzione sec. Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Soluzione decolorante secondo Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.11885	Gram-Color Set di colorazione per la colorazione di Gram	1 set

Classificazione di sostanze pericolose

Art. 1.09261

Art. 1.00567

Osservare la classificazione delle sostanze pericolose riportata sull'etichetta e seguire le indicazioni della scheda di sicurezza.

La scheda di sicurezza è disponibile su sito Internet e su richiesta.

Art. 1.00567

ATTENZIONE! Contiene sostanze CMR. Attenersi alle relative indicazioni di sicurezza riportate nella scheda di dati di sicurezza.

Componenti principali dei prodotti

Art. 1.00567

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

Art. 1.09261

I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l =	1,01 kg

Indicazione generale

Se durante o in seguito all'uso del dispositivo si verifica un incidente, segnalare l'evento al fabbricante e/o al suo mandatario e alle autorità nazionali.

Letteratura

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Art. 1.00567



H318: Provoca gravi lesioni oculari.

H360D: Può nuocere al feto.

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

P202: Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.

P273: Non disperdere nell'ambiente.

P280: Indossare proteggere gli occhi/ proteggere il viso.

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

P308 + P313: IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.

P405: Conservare sotto chiave.

Cronologia delle revisioni

Versione	Commento relativo alla modifica
2024-Jul-24	Versione iniziale con l'introduzione della Cronologia delle revisioni
2025-Oct-29 V.1	Aggiornamento della classificazione dei pericoli. Aggiunta di un nuovo simbolo e frasi HP.



Attenersi alle
istruzioni per l'uso



Fabbricante



N. di catalogo



Codice del
lotto



Attenzione, consultare
la documentazione di
accompagnamento



Data di scadenza
AAAA-MM-GG



Limiti di
temperatura

Status: 2025-Oct-29 V.1

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

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germania e/o sue affiliate. Tutti i diritti sono riservati. Merck e Sigma-Aldrich sono marchi di Merck KGaA, Darmstadt, Germania. Tutti gli altri marchi sono di proprietà dei legittimi detentori. Informazioni dettagliate sui marchi sono disponibili tramite risorse pubblicamente accessibili.



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

MERCK

1.00567.1000
1.00567.2500
1.09261.1000
1.09261.2500

REF

Μικροσκοπία

Διάλυμα Lugol σταθεροποιημένο με PVP

για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram

Διάλυμα Lugol (αραιωμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου)

για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram

Για επαγγελματική χρήση μόνο

IVD In Vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν



Προβλεπόμενος σκοπός

Το «Διάλυμα Lugol σταθεροποιημένο με PVP - για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram» και το «Διάλυμα Lugol (αραιωμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου) - για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram» χρησιμοποιούνται για ιατρική κυτταρολογική διάγνωση στον άνθρωπο και προορίζονται για βακτηριολογική διερεύνηση υλικού δείγματος ανθρώπινης προέλευσης. Πρόκειται για έτοιμα για χρήση διαλύματα που, όταν χρησιμοποιούνται μαζί με άλλα *in vitro* διαγνωστικά προϊόντα από το χαρτοφυλάκιό μας, κάνουν τις βακτηριακές δομές-στόχους (Gram-θετικά ή Gram-αρνητικά βακτήρια), σε υλικά βακτηριολογικών δειγμάτων, για παράδειγμα επιχρίσματα σωματικών υγρών, αξιολογήσιμες για διαγνωστικούς σκοπούς, με μονιμοποίηση, χρώση, αντιχρώση και στερέωση.

Οι άβαφες βακτηριακές δομές παρουσιάζουν σχετικά χαμηλή αντίθεση και είναι εξαιρετικά δύσκολη η διάκρισή τους με το οπτικό μικροσκόπιο. Οι ει-κόνες που δημιουργούνται χρησιμοποιώντας τα διαλύματα χρώσης βοηθούν τον εξουσιοδοτημένο και εξειδικευμένο ερευνητή να προσδιορίσει καλύτερα τον τύπο και το βακτήριο σε αυτές τις περιπτώσεις. Πρέπει να διενεργούνται επιπλέον εξετάσεις σύμφωνα με αναγνωρισμένες και έγκυρες μεθόδους για την πραγματοποίηση της οριστικής διάγνωσης.

Αρχή της μεθόδου

Στη βακτηριολογία, η χρώση Gram επιτρέπει την ταχεία διαφοροποίηση των βακτηρίων σε Gram-θετικά και Gram-αρνητικά.

Η δομή μουρεΐνης στο βακτηριακό τοίχωμα είναι η βάση της χρωματολογικής συγγένειας.

Στο πρώτο βήμα, τα βακτήρια χρώνονται με κρυσταλλικό βιολετί, μια χρώση ανιλίνης. Μετά την επεξεργασία με ιωδιούχο διάλυμα (διάλυμα Lugol), θα σχηματιστεί ένα σύμπλεγμα χρωστικής-ιωδίου. Κατά το βήμα αποχρωματισμού, αυτό το σύμπλεγμα παραμένει στην πολυστρωματική δομή μουρεΐνης του κυτταρικού τοιχώματος Gram-θετικών βακτηρίων - θα εμφανίζονται κυανό-βιολετί.

Τα Gram-αρνητικά βακτήρια, αντιθέτως, έχουν ένα κυτταρικό τοίχωμα που αποτελείται από μονοστρωματική δομή μουρεΐνης και αντιστοίχως ελευθερώνουν εκ νέου τη χρωστική χρώσης με το διάλυμα αποχρωματισμού. Τα Gram-αρνητικά βακτήρια θα αντιχρώνονται με διάλυμα σαφρανίνης και θα εμφανίζονται στη συνέχεια ροζ έως ερυθρά.

Υλικό δείγματος

Σωματικά υγρά, εξίδρωμα, πύον, υγρές ή στερεές καλλιέργειες

Αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου 1.00567	Διάλυμα Lugol σταθεροποιημένο με PVP για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.09261	Διάλυμα Lugol (αραιωμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου) για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	1 l, 2,5 l

Απαιτούνται επίσης:

Αρ. καταλόγου 1.09217	Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.09218	Διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.10218	Διάλυμα αποχρωματισμού κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	500 ml, 2,5 l

Εναλλακτικά:

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

Αρ. καταλόγου 1.11885.0001	Gram-Color Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	1 set
-------------------------------	--	-------

Προετοιμασία δείγματος

Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται από έμπειρο προσωπικό.

Εφαρμόστε το υλικό του δείγματος σε καθαρή και ελεύθερη από λίπος αντικειμενοφόρο πλάκα χρησιμοποιώντας μια αγκύλη πρόσδεσης. Κατόπιν επαλείψτε το υλικό είτε απευθείας στην αντικειμενοφόρο πλάκα ή αναμείξτε πρώτα με 1 - 2 σταγόνες φυσιολογικού αλατούχου διαλύματος (διάλυμα Ringer). Στεγνώστε στον αέρα και κατόπιν μονιμοποιήστε με θερμότητα τραβώντας αργά την αντικειμενοφόρο πλάκα (με την πλευρά του επιχρίσματος να αντικρίζει προς τα πάνω) μέσω του άνω μέρους φλόγας λύχνου Bunsen για τρεις φορές. Ακολουθώντας, αφήστε να κρυώσει και κάντε τη χρώση. Τα στεγνωθέντα στον αέρα επιχρίσματα πρέπει να μονιμοποιηθούν με θερμότητα πολύ προσεκτικά. Αυτό αποτρέπει τον κίνδυνο λοιμώξεων και μειώνει τη διάλυση του υλικού των δειγμάτων και επομένως τη μόλυνση των διαλυμάτων και άλλων αντικειμενοφόρων πλακών.

Όλα τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία με χρήση προηγμένης τεχνολογίας.

Όλα τα δείγματα πρέπει να φέρουν σαφή σήμανση.

Για τη λήψη και την προετοιμασία των δειγμάτων πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλα όργανα. Ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή για εφαρμογή / χρήση.

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

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Το Διάλυμα Lugol σταθεροποιημένο με PVP - για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram και το Διάλυμα Lugol (αραιωμένο διάλυμα ιωδίου-ιωδιούχου καλίου) - για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram που χρησιμοποιούνται για χρώση είναι έτοιμα για χρήση. Η αραιώση αυτών των διαλυμάτων δεν είναι αναγκαία και προκαλεί μόνο αλλοίωση του αποτελέσματος χρώσης και μείωση της σταθερότητάς τους.

Διαδικασία

Χρώση στο κύτταρο χρώσης

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

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

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

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

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

* διηθήστε το διάλυμα Lugol μετά από 3 αναλύσεις

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

Χρώση στον δειγματοφορέα χρώσης

Αντικειμενοφόρος πλάκα με μονιμοποιημένο επίχρισμα		
Διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί κατά Gram	καλύπτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	1 λεπτά
Διάλυμα Lugol	Ξεπλύνετε για λίγο	
Διάλυμα Lugol	καλύπτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	1 λεπτά
Απεσταγμένο νερό	Πλύντε προσεκτικά	5 δευτ.
Διάλυμα αποχρωματισμού κατά Gram	περιστρέψτε προσεκτικά τις πλάκες έως ότου δεν παράγονται περαιτέρω σύννεφα χρωστικής και το επίχρισμα πάρει ένα γκρι-κυανούν χρώμα	10 - 15 δευτ.
Απεσταγμένο νερό	Πλύντε προσεκτικά	5 δευτ.
Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram	καλύπτε πλήρως και αφήστε να αντιδράσει	1 λεπτά
Απεσταγμένο νερό	Πλύντε προσεκτικά	5 δευτ.
Στεγνώστε στον αέρα [π.χ. όλη τη νύχτα (8 ώρες) ή σε 50 °C στον θάλαμο ξήρανσης]		

Η κάλυψη με μη υδατικά μέσα στερέωσης (π.χ. Neo-Mount™ ή Entellan™) και μια καλυπτρίδα συνιστώνται για τη φύλαξη των βακτηριολογικών δειγμάτων για αρκετούς μήνες. Για τον σκοπό αυτό, τα χρωσθέντα δείγματα πρέπει να στεγνώνονται πολύ καλά.

Η χρήση ελαίου εμβάπτισης συνιστάται για την ανάλυση πλακών που έχουν υποβληθεί σε χρώση με μεγέθυνση μικροσκοπίου >40x.

Χρώση στο αυτοματοποιημένο σύστημα χρώσης

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

Αποτέλεσμα

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

Αντιμετώπιση προβλημάτων

Μονιμοποίηση δειγμάτων επιχρίσματος

Επαρκής βαθμός μονιμοποίησης με θερμότητα με λύχνο Bunsen ή σε θάλαμο θέρμανσης είναι βασικής σημασίας για την αποφυγή πιθανότητας μόλυνσης των δειγμάτων και περαιτέρω πολλαπλασιασμού των βακτηρίων.

Μη χρώση των gram-θετικών βακτηρίων

Το κρίσιμο στάδιο της διαδικασίας χρώσης Gram είναι το στάδιο αποχρωματισμού, που μπορεί να επηρεαστεί από το πάχος του επιχρίσματος. Επιπλέον, ένα φρέσκο διάλυμα αποχρωματισμού είναι πολύ αντιδρόν. Ως εκ τούτου, το αποτέλεσμα πρέπει να αξιολογείται με προσοχή. Κατά το βήμα αποχρωματισμού, ο χρήστης θα πρέπει να τηρεί τους ακριβείς χρόνους επώασης, που περιγράφονται στο πρωτόκολλο, επειδή διαφορετικά μπορεί να προκύψουν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα.

Τεχνικές σημειώσεις

Το μικροσκόπιο που χρησιμοποιείται θα πρέπει να πληροί τις απαιτήσεις ενός ιατρικού διαγνωστικού εργαστηρίου. Όταν χρησιμοποιούνται συστήματα αυτόματης χρώσης, παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης που παρέχονται από τον προμηθευτή του συστήματος και του λογισμικού. Αφαιρέστε το επιπλέον έλαιο εμβάπτισης πριν από την αρχειοθέτηση.

Χαρακτηριστικά αναλυτικής απόδοσης

Τα παρόντα βοηθητικά αντιδραστήρια «Διάλυμα Lugol σταθεροποιημένο με PVP» και «Διάλυμα Lugol (αραιωμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου)» βοηθούν στη μικροσκοπική εξέταση βιολογικών δομών, όπως περιγράφεται στον «Προβλεπόμενος σκοπός» σε αυτές τις οδηγίες χρήσης. Τα προϊόντα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο από εξουσιοδοτημένα και εξειδικευμένα άτομα και η χρήση τους περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, την προετοιμασία δειγμάτων και αντιδραστηρίων, τον χειρισμό δειγμάτων, τη λήψη αποφάσεων σχετικά με τους κατάλληλους μάρτυρες και άλλα.

Η αναλυτική απόδοση των προϊόντων επιβεβαιώνεται με τον έλεγχο κάθε παρτίδας παραγωγής.

Για τις ακόλουθες χρώσεις επιβεβαιώθηκε η αναλυτική απόδοση όσον αφορά την ειδικότητα, την ευαισθησία και την επαναληψιμότητα του προϊόντος με ποσοστό 100%:

Αρ. καταλόγου 1.00567 - Διάλυμα Lugol σταθεροποιημένο με PVP

	Ειδικότητα μεταξύ προσδιορισμών	Ευαισθησία μεταξύ προσδιορισμών	Ειδικότητα εντός του προσδιορισμού	Ευαισθησία εντός του προσδιορισμού
Χρώση Gram				
Gram-θετικοί μικροοργανισμοί	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί	20/20	20/20	7/7	7/7

Αποτελέσματα αναλυτικής απόδοσης

Αρ. καταλόγου 1.09261 - Διάλυμα Lugol (αραιωμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου)

	Ειδικότητα μεταξύ προσδιορισμών	Ευαισθησία μεταξύ προσδιορισμών	Ειδικότητα εντός του προσδιορισμού	Ευαισθησία εντός του προσδιορισμού
Χρώση Gram				
Gram-θετικοί μικροοργανισμοί	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί	20/20	20/20	7/7	7/7

Αποτελέσματα αναλυτικής απόδοσης

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

Τα αποτελέσματα από αυτήν την αξιολόγηση της απόδοσης επιβεβαιώνουν ότι τα προϊόντα είναι αξιόπιστα και κατάλληλα για τη χρήση για την οποία προορίζονται.

Διάγνωση

Οι διαγνώσεις θα πρέπει να γίνονται μόνο από αρμόδιο και εξουσιοδοτημένο προσωπικό. Θα πρέπει να χρησιμοποιείται έγκυρη ονοματολογία. Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί συμπληρωματικά για τη διάγνωση στους ανθρώπους. Θα πρέπει να επιλεγούν και να εφαρμοστούν περισσότερες δοκιμασίες σύμφωνα με αναγνωρισμένες μεθόδους. Κατάλληλοι έλεγχοι θα πρέπει να διεξάγονται με κάθε εφαρμογή για την αποφυγή λανθασμένου αποτελέσματος. Το σετ χρώσης μπορεί να ελεγχθεί με Gram-θετικά βακτήρια και με Gram-αρνητικά βακτήρια. Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται βακτήρια που λαμβάνονται από ένα μέσο καλλιέργειας μετά από 18 - 24 ώρες επώασης.

Φύλαξη

Να φυλάσσετε το Διάλυμα Lugol σταθεροποιημένο με PVP - για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram και το Διάλυμα Lugol (αραιωμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου) - για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram σε θερμοκρασία +15 °C έως +25 °C. Σε θερμοκρασίες κάτω των 15 °C ένα χρωματιστό ίζημα μπορεί να σχηματιστεί από τα διαλύματα χρωστικής. Εάν σχηματιστεί ίζημα, τοποθετήστε τη φιάλη για 2 - 3 ώρες σε υδατόλουτρο ρυθμισμένο στους περίπου 60 °C. Αυτό θα προκαλέσει την εκ νέου διάλυση του μεγαλύτερου μέρους του ιζήματος. Ακολουθώντας, διηθήστε τα διαλύματα χρώσης μέσω ενός χάρτινου φίλτρου.

Διάρκεια ζωής

Το Διάλυμα Lugol σταθεροποιημένο με PVP - για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram και το Διάλυμα Lugol (αραιωμένο διάλυμα ιωδιούχου καλίου) - για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram μπορούν να χρησιμοποιηθούν έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης. Μετά το πρώτο άνοιγμα της φιάλης, το περιεχόμενο μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως και την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης όταν αποθηκεύεται σε θερμοκρασία +15 °C έως +25 °C. Οι φιάλες πρέπει να διατηρούνται ερμητικά κλειστές συνεχώς.

Ικανότητα

περίπου 250 χρώσεις / 500 ml

Πρόσθετες οδηγίες

Για επαγγελματική χρήση μόνο.

Για την αποφυγή σφαλμάτων, η εφαρμογή πρέπει να πραγματοποιείται μόνο από έμπειρο προσωπικό. Θα πρέπει να ακολουθούνται οι εθνικές κατευθυντήριες γραμμές για την ασφάλεια στην εργασία και τη διασφάλιση ποιότητας. Πρέπει να χρησιμοποιούνται μικροσκόπια εξοπλισμένα σύμφωνα με τα πρότυπα. Εάν απαιτείται χρησιμοποιήστε μια πρότυπη φυγόκεντρο κατάλληλη για ιατρικό διαγνωστικό εργαστήριο.

Προστασία από λοίμωξη

Θα πρέπει να λαμβάνονται αποτελεσματικά μέτρα για την προστασία από λοίμωξη σύμφωνα με τις εργαστηριακές κατευθυντήριες γραμμές.

Οδηγίες απόρριψης

Η συσκευασία πρέπει να απορρίπτεται σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες απόρριψης. Τα χρησιμοποιημένα διαλύματα και τα διαλύματα των οποίων η ημερομηνία λήξης έχει παρέλθει πρέπει να απορρίπτονται ως ειδικά απόβλητα σύμφωνα με τις τοπικές κατευθυντήριες γραμμές. Οι πληροφορίες για την απόρριψη παρέχονται στον σύνδεσμο «Hints for Disposal of Microscopy Products» (Συμβουλές για την απόρριψη των προϊόντων μικροσκοπίας) στη διεύθυνση www.microscopy-products.com. Εντός της ΕΕ, ο τρεχόντως εφαρμοζόμενος ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ είναι ο κανονισμός (ΕΚ) Αρ. 1272/2008 για την ταξινόμηση, την επισήμανση και τη συσκευασία των ουσιών και των μειγμάτων, την τροποποίηση και την κατάργηση των Οδηγιών 67/548/ΕΟΚ και 1999/45/ΕΚ, και την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αρ. 1907/2006.

Βοηθητικά αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου 1.04699	Έλαιο εμβάπτισης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.07960	Entellan™ ο ταχείας στερέωσης για μικροσκοπία	500 ml
Αρ. καταλόγου 1.07961	Entellan™ νέο μέσο ταχείας στερέωσης για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 1 l
Αρ. καταλόγου 1.09016	Neo-Mount™ άνυδρο μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.09217	Διάλυμα σαφρανίνης κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.09218	Διάλυμα κρυσταλλικού βιολετί κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.10218	Διάλυμα αποχρωματισμού κατά Gram για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.11885	Gram-Color Σετ χρώσης για τη μέθοδο χρώσης κατά Gram	1 set

Ταξινόμηση κινδύνου

Αρ. καταλόγου 1.09261
Αρ. καταλόγου 1.00567
Παρακαλούμε ανατρέξτε στην ταξινόμηση κινδύνου που είναι εκτυπωμένη επί της ετικέτας και στις πληροφορίες που παρέχονται στο φύλλο δεδομένων ασφαλείας.
Το φύλλο δεδομένων ασφαλείας διατίθεται στον ιστότοπο και κατόπιν αιτήματος.

Αρ. καταλόγου 1.00567
ΠΡΟΣΟΧΗ! Περιέχει ουσίες που είναι καρκινογόνες, μεταλλαξιογόνες ή τοξικές για την αναπαραγωγή (KMT). Τηρείτε τις αντίστοιχες οδηγίες ασφαλείας που αναφέρονται στο δελτίο δεδομένων ασφαλείας.

Κύρια συστατικά των προϊόντων

Αρ. καταλόγου 1.00567
Πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP)-Ιώδιο 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

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

Γενική παρατήρηση

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

Δογοτεχνία

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Αρ. καταλόγου 1.00567



H318: Προκαλεί σοβαρή οφθαλμική βλάβη.

H360D: Μπορεί να βλάψει το έμβρυο.

H412: Επιβλαβής για υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.



P202: Μην το χρησιμοποιήσετε πριν διαβάσετε και κατανοήσετε τις οδηγίες προφύλαξης.

P273: Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.

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

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

P308 + P313: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: Συμβουλευθείτε/ Επισκεφθείτε γιατρό.

P405: Φυλάσσεται κλειδωμένο.

Ιστορικό αναθεώρησης

Έκδοση	Σχόλιο τροποποίησης
2024-Jul-24	Αρχική έκδοση με την εισαγωγή του ιστορικού αναθεώρησης
2025-Oct-29 V.1	Ενημέρωση της Ταξινόμησης κινδύνου. Προσθήκη νέου συμβόλου και προτάσεων H&P.



Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης



Κατασκευαστής



Αριθμός καταλόγου



Κωδικός παρτίδας



Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα



Χρήση έως ΕΕΕΕ-ΜΜ-ΗΗ



Όρια θερμοκρασίας

Status: 2025-Oct-29 V.1

H Life Science Business της Merck λειτουργεί ως MilliporeSigma στις Η.Π.Α. και τον Καναδά

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany και/ή οι συνδεδεμένες αυτής εταιρείες. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Το Merck και το Sigma-Aldrich είναι εμπορικά σήματα της Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους. Λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τα εμπορικά σήματα είναι διαθέσιμες μέσω πόρων που διατίθενται δημοσίως.



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Mikroskopi

Lugols lösning stabiliserad med PVP

för gramfärgning

Lugols lösning (spädd jod-kaliumjodidlösning)

för gramfärgning

Endast för yrkesmässig användning

IVD Medicinteknisk enhet för diagnostik *in vitro*



Avsett syfte

"Lugols lösning stabiliserad med PVP – för gramfärgning" och "Lugols lösning (spädd jod-kaliumjodidlösning) – för gramfärgning" används till humanmedicinsk celldiagnostik vid bakteriologisk undersökning av provmaterial av mänskligt ursprung. De är bruksfärdiga lösningar som, när de används tillsammans med andra produkter för *in vitro*-diagnostik från vår portfölj, gör bakteriella målstrukturer (grampositiva och gramnegativa bakterier) genom fixering, färgning, motfärgning och montering i bakteriologiska provmaterial, t.ex. utstryk av kroppsvätskor – vilket gör dem utvärderingsbara i diagnostiskt syfte.

Ofärgade strukturer har relativt låg kontrast och är extremt svåra att särskilja i ljusmikroskop. De bilder som skapas med färgningslösningen underlättar för den behöriga och kvalificerade forskaren att bättre definiera formen och strukturen i sådant fall. Ytterligare tester måste utföras enligt erkända, validerade metoder för att ställa en slutlig diagnos.

Princip

I bakteriologi möjliggör gramfärgning en snabb differentiering av grampositiva och gramnegativa bakterier.

Bakterieväggens mureinstruktur utgör färgaffinitetens grund.

I det första steget färgas bakterierna med kristallviolett, ett anilinfärgämne. Efter behandling med jodlösning (Lugols lösning) bildas ett komplex av färgämne och jod. Under avfärgningssteget förblir detta komplex i den mureinstruktur med flera skikt som grampositiva bakteriers cellväggar består av – och får en blå-violett färg.

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

Provmaterial

Kroppsvätskor, exsudat, pus, flytande eller fasta odlingar

Reagens

Kat.nr 1.00567	Lugols lösning stabiliserad med PVP för gramfärgning	1 l, 2,5 l
Kat.nr 1.09261	Lugols lösning (spädd jod-kaliumjodidlösning) för gramfärgning	1 l, 2,5 l

Dessutom behövs:

Kat.nr 1.09217	Grams safraninlösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.09218	Grams kristallviolett-lösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.10218	Grams avfärgningslösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l

Alternativt:

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

Kat.nr 1.11885.0001 Gram-Color Färgningskit för gramfärgning

1 set

Provberedning

Provtagningen måste utföras av kvalificerad personal.

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

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

Alla prover måste bearbetas med modern teknik.

Alla prover måste märkas tydligt.

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

Vid användning av respektive hjälpmedel måste respektive bruksanvisningar följas.

Reagensberedning

Lugols lösning stabiliserad med PVP – för gramfärgning och Lugols lösning (spädd jod-kaliumjodidlösning) – för gramfärgning är bruksfärdiga. Spädning är därför inte nödvändig – det resulterar bara i ett försämrat färgningsresultat och en försämrad färgningsstabilitet.

Förfarande

Färgning i infärgad cell

Det rekommenderas att späda Grams kristallviolett-lösning 1:3 med destillerat vatten om immersionsmetoden används.

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

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

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

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

* filtrera Lugols lösning efter tre körningar.

** kassera Grams avfärgningslösning efter fem körningar.

Färgning på färgningsstall

Objektglas med fixerat utstryk		
Grams kristallviolett-lösning	täck fullständigt och låt reagera	1 min.
Lugols lösning	skölj hastigt	
Lugols lösning	täck fullständigt och låt reagera	1 min.
Destillerat vatten	tvätta noggrant	5 s
Grams avfärgningslösning	snurra försiktigt på objektglaset tills inga ytterligare moln av färgämne skapas och utstryket får en grå-blå färg	10 - 15 s
Destillerat vatten	tvätta noggrant	5 s
Safraninlösning för gramfärgning	täck fullständigt och låt reagera	1 min.
Destillerat vatten	tvätta noggrant	5 s
Lufttorka (t.ex. över natten eller vid 50 °C i torkskåp)		

Det rekommenderas att täcka med icke-vattenhaltiga monteringsmedier (t.ex. Neo-Mount™ eller Entellan™) och täckglas om de bakteriologiska proverna ska förvaras i flera månader. De infärgade proverna måste också torkas mycket ordentligt om så är fallet.

Det rekommenderas att immersionsolja används för analys av infärgade objektglas med en mikroskopisk förstoring på >40 x.

Färgning i färgningsautomat

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

Resultat

Grampositiva mikroorganismer	blå-violetta
Gramnegativa mikroorganismer	rosa till röda

Felsökning

Fixering av utstryksprover

Tillräcklig värmefixering med en Bunsenbrännare eller ett värmeskåp är viktigt för att förebygga provernas infektiösa potential såväl som ytterligare bakteriell proliferation.

Ingen färgning av grampositiva bakterier

Vid gramfärgning är avfärgningssteget det kritiska skedet då utstrykets tjocklek kan ha en inverkan. En färsk avfärgningslösning är mycket reaktiv, så resultatet ska utvärderas noggrant. Under avfärgningssteget måste användaren följa de exakta inkubationstiderna som anges i protokollet. Annars kan resultaten bli falskt negativa.

Tekniska anmärkningar

Mikroskopet som används ska uppfylla kraven för ett laboratorium för medicinsk diagnostik. Om ett automatiskt färgningssystem används ska du följa bruksanvisningen från leverantören av systemet och programvaran Ta bort överskott av immersionsolja före inmatningen.

Analytiska prestandaegenskaper

Hjälpreagenserna ”Lugols lösning stabiliserad med PVP” och ”Lugols lösning (spädd jod-kaliumjodidlösning)” underlättar mikroskopisk undersökning av biologiska strukturer enligt beskrivning under ”Avsett syfte” i denna bruksanvisning. Produkterna får bara användas av behöriga och kvalificerade personer för bland annat prov- och reagenspreparering, provhantering, val av lämpliga kontroller med mera.

Produkternas analytiska prestanda bekräftas genom att varje produktions-sats testas.

För följande infärgningar verifierades analytiska prestanda avseende specificitet, känslighet och repeterbarhet hos produkten i 100 % av fallen:

Kat.nr 1.00567 - Lugols lösning stabiliserad med PVP

	Specificitet mellan analyser	Känslighet mellan analyser	Specificitet inom en analys	Känslighet inom en analys
Gram färgning				
Grampositiva mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramnegativa mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytiska prestandaresultat

Kat.nr 1.09261 - Lugols lösning (spädd jod-kaliumjodidlösning)

	Specificitet mellan analyser	Känslighet mellan analyser	Specificitet inom en analys	Känslighet inom en analys
Gram färgning				
Grampositiva mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramnegativa mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytiska prestandaresultat

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

Resultatet av prestandautvärderingen bekräftar att produkterna är lämpliga för den avsedda användningen och fungerar tillförlitligt.

Diagnostik

Diagnoser ska ställas av behörig och kvalificerad personal. Giltiga nomenklaturer måste användas. Den här metoden kan användas som tillägg vid humandiagnostik. Ytterligare tester måste väljas och genomföras i enlighet med erkända metoder.

Lämpliga kontroller ska genomföras med varje applicering för att undvika ett felaktigt resultat. Färgningsuppsättningen kan styras med grampositiva bakterier och gramnegativa bakterier. Bakterier tagna från ett odlingsmedium efter 18–24 timmars inkubation ska användas.

Förvaring

Lagra Lugols lösning stabiliserad med PVP – för gramfärgning och Lugols lösning (spädd jod-kaliumjodidlösning) – för gramfärgning vid +15 °C till +25 °C.

Vid temperaturer under +15 °C kan en färgad fällning sedimentera ut ur färgämneslösningarna. Om utfällning uppstår placerar du flaskan i ett vattenbad inställt på ca 60 °C under 2–3 timmar. På så vis upplöses det mesta av utfällningen. Filtrera därefter färgningslösningarna genom ett pappersfilter.

Hållbarhetstid

Lugols lösning stabiliserad med PVP – för gramfärgning och Lugols lösning (spädd jod-kaliumjodidlösning) – för gramfärgning kan användas fram till angivet utgångsdatum.

När flaskan har öppnats för första gången kan innehållet användas fram till angivet utgångsdatum om den förvaras vid +15 °C till +25 °C.

Flaskorna måste alltid vara väl tillslutna.

Kapacitet

ungefär 250 färgningar/500 ml

Ytterligare instruktioner

Endast för yrkesmässig användning.

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

Skydd mot infektion

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

Instruktioner för avfallshantering

Paketet måste kasseras i enlighet med gällande riktlinjer för avfallshantering. Använda lösningar och lösningar som passerat utgångsdatum måste tas om hand som farligt avfall i enlighet med lokala riktlinjer. Information om avfallshantering finns under snabbblänken ”Hints for Disposal of Microscopy Products” (Tips för kassering av mikroskopiprodukter) på www.microscopy-products.com. Inom EU gäller förordning (EG) nr 1272/2008 om klassificering, märkning och förpackning av ämnen och blandningar, ändring och upphävande direktiv 67/548/EEG och 1999/45/EG och ändring av förordning (EG) nr 1907/2006 tillämpas.

Hjälpreagens

Kat.nr 1.04699	Immersionsolja för mikroskopi	100 ml droppflaska, 100 ml, 500 ml
Kat.nr. 1.07960	Entellan™ snabbt monteringsmedium för mikroskopi	500 ml
Kat.nr 1.07961	Entellan™ ny snabbt monteringsmedium för mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr 1.09016	Neo-Mount™ vattenfritt monteringsmedel för mikroskopi	100 ml droppflaska, 500 ml
Kat.nr 1.09217	Grams safraninlösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.09218	Grams kristallviolettlösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.10218	Grams avfärgningslösning för gramfärgning	500 ml, 2,5 l
Kat.nr 1.11885	Gram-Color Färgningskit för gramfärgning	1 set

Faroklassificering

Kat.nr 1.09261

Kat.nr 1.00567

Observera faroklassificeringen på etiketten och uppgifterna i säkerhetsdatabladet.

Säkerhetsdatabladet finns på webbplatsen och går att få på begäran.

Kat.nr 1.00567

VAR FÖRSIKTIG! Innehåller CMR-ämnen. Beakta respektive säkerhetsanvisningar i säkerhetsdatabladet.

Produkternas huvudsakliga beståndsdelar

Kat.nr 1.00567

PVP-Jod 50 g/l

KI 10 g/l

1 l = 1,02 kg

Kat.nr 1.09261

I₂ 3,4 g/l

KI 6,8 g/l

1 l = 1,01 kg

Generell anmärkning

Om en allvarlig händelse inträffat vid eller som ett resultat av användning av den här enheten ska den rapporteras till tillverkaren eller dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Litteratur

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Kat.nr 1.00567



H318: Orsakar allvarliga ögonskador.

H360D: Kan skada det ofödda barnet.

H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

P202: Använd inte produkten innan du har läst och förstått säkerhetsanvisningarna.

P273: Undvik utsläpp till miljön.

P280: Använd ögonskydd/ ansiktsskydd.

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

P308 + P313: Vid exponering eller misstanke om exponering. Sök läkarhjälp.

P405: Förvaras inlåst.

Revisionshistorik

Version	Ändringskommentar
2024-Jul-24	Första version med införande av revisionshistorik
2025-Oct-29 V.1	Uppdatering av Faroklassificering. Tillägg av ny symbol och H&P-meningar.



Se bruksanvisningen



Tillverkare



Katalognummer



Satskod



Försiktighet, se medföljande dokument



Används före
ÅÅÅÅ-MM-DD



Temperatur-
begränsning

Status: 2025-Oct-29 V.1

Life Science Business som tillhör Merck är verksamt som MilliporeSigma i US och Kanada.

© 2025 MerckKGaA, Darmstadt, Germany och/eller dess dotterbolag. Med ensamrätt. Merck och Sigma-Aldrich är varumärken som tillhör Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Alla andra varumärken tillhör respektive ägare. Detaljer om varumärkena kan hittas i allmänt tillgängliga resurser.



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Mikroskopie

Lugolův roztok stabilizováno PVP

pro barvení Gramovou metodou

Lugolův roztok (ředěný roztok jod-jodid draselný)

pro barvení Gramovou metodou

Pouze pro profesionální použití

IVD Zdravotnický prostředek pro diagnostiku *in vitro*



Zamýšlený účel

„Lugolův roztok stabilizováno PVP – pro barvení Gramovou metodou“ a „Lugolův roztok (ředěný roztok jod-jodid draselný) – pro barvení Gramovou metodou“ se používají k buněčné diagnostice v oblasti humánní medicíny a slouží k účelům bakteriologického vyšetření materiálu vzorků lidského původu. Jedná se o roztoky k přímému použití, které v kombinaci s jinými výrobky pro diagnostiku *in vitro* z našeho portfolia umožňují hodnotit bakteriální cílové struktury v materiálech bakteriologických vzorků, například v nátěrech tělních tekutin (gram pozitivní nebo gram negativní bakterie) prostřednictvím fixace, barvení, dobarvení, montování pro diagnostické účely. Nebarvené struktury mají naopak relativně nízký kontrast a je velmi obtížné je rozlišit pod světelným mikroskopem. V takových případech pomáhají autorizovanému a kvalifikovanému výzkumnému pracovníkovi lépe definovat formu a strukturu snímky získané použitím barvicích roztoků. Ke stanovení definitivní diagnózy je třeba provést další testy podle uznávaných platných metod.

Princip

V bakteriologii barvení dle Grama umožňuje rychlé rozlišení bakterií na gram pozitivní a gram negativní.

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

V prvním kroku se bakterie barví krystalovou violetí, což je anilinové barvivo. Po zalití roztokem jódu (Lugolovým roztokem) se vytvoří komplex barviva s jódem. Během odbarvovacího kroku tento komplex zůstane ve vícevrstvé mureinové struktuře buněčné stěny gram pozitivní bakterie – tyto bakterie se jeví jako modrofialové.

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

Materiál vzorku

Tělní tekutiny, exsudát, hnis, kultury v kapalných či na pevných médiích

Činidla

Kat. č. 1.00567	Lugolův roztok stabilizováno PVP pro barvení Gramovou metodou	1 l, 2,5 l
Kat. č. 1.09261	Lugolův roztok (ředěný roztok jod-jodid draselný) pro barvení Gramovou metodou	1 l, 2,5 l

Další potřebné materiály:

Kat. č. 1.09217	Gramův roztok safraninu pro barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.09218	Gramův roztok krystalové violeti pro barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.10218	Gramův odbarvovací roztok pro barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l

Alternativně:

Namísto kombinace samostatných činidel lze použít barvicí soupravu 1.11885.0001:

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

Příprava vzorku

Odběr vzorku musí provést kvalifikovaný personál.

Materiál vzorku naneste vyžíhanou kličkou na čisté a odmaštěné sklíčko. Materiál poté rozetřete na sklíčko buď přímo, nebo jej nejprve smíchejte s 1–2 kapkami fyziologického roztoku (Ringerova roztoku). Ponechtejте volně uschnout a poté proveďte tepelnou fixaci trojnásobným pomalým protažením sklíčka (stranou s nátěrem směrem nahoru) horní částí plamene z Bunsenova kahanu. Sklíčko poté ponechtejте zchladnout a obarvěte. Tepelnou fixaci volně uschlých nátěrů je nutno provést velmi pečlivě. Zabráni se tak riziku infekce a omezi se rozšíření materiálu vzorku a tedy kontaminace roztoků a dalších sklíček.

Se všemi vzorky je nutné nakládat za použití nejmodernější technologie. Všechny vzorky musejí být jasně označené.

K odběru vzorků a jejich přípravě je nutné použít vhodné nástroje. Dodržujte pokyny výrobce týkající se aplikace/použití.

Při použití odpovídajících pomocných činidel je třeba dodržovat příslušné pokyny k použití.

Příprava činidla

Lugolův roztok (ředěný roztok jod-jodid draselný) – pro barvení Gramovou metodou a Lugolův roztok (ředěný roztok jod-jodid draselný) – pro barvení Gramovou metodou k barvení jsou určeny k přímému použití, ředění roztoků není nutné a pouze vede ke zhoršení výsledného obarvení a jeho stability.

Postup

Barvení v barvicí komůrce

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

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

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

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

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

* po 3 zpracováních Lugolův roztok přefiltrujte

** Gramův odbarvovací roztok zlikvidujte po 5 zpracováních

Barvení v barvicím stojánku

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

V případě skladování bakteriologických vzorků po několik měsíců se doporučuje překrytí nevodným montovacím médiem (např. Neo-Mount™ nebo Entellan™) a použití krycího sklička. Pro tyto účely musejí být barvené vzorky velmi dobře vysušené. Při analýze obarvených nátěrů pod mikroskopem při více než 40násobném zvětšení se doporučuje používat imerzní olej.

Barvení v barvicím automatu

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

Výsledek

Grampozitivní mikroorganismy	modrá-fialová
Gramnegativní mikroorganismy	růžové až červené

Odstraňování potíží
Fixace nátěrů vzorků

Pro prevenci infekčního potenciálu vzorků a další proliferace bakterií je nezbytný dostatečný stupeň tepelné fixace pomocí Bunsenova kahanu nebo v horké komoře.

Nezbarvení grampozitivních bakterií

Kritickou fází postupu barvení dle Grama je krok odbarvení, který může být ovlivněn tloušťkou nátěru. Čerstvý odbarvovací roztok je navíc vysoce reaktivní, proto je třeba výsledky hodnotit s obezřetností. Během kroku odbarvení by uživatel měl přesně dodržovat doby inkubace popsané v protokolu, protože jinak by mohl získat falešně negativní výsledek.

Technické poznámky

Použitý mikroskop by měl splňovat požadavky zdravotnické diagnostické laboratoře. Při používání automatizovaných barvicích systémů dodržujte prosím návod k použití poskytnutý dodavatelem systému a softwaru. Před uložením odstraňte přebytek imerzního oleje.

Analytické výkonnostní parametry

Tato pomocná činidla „Lugolův roztok stabilizováno PVP“ a „Lugolův roztok (ředěný roztok jod-jodid draselný)“ pomáhají při mikroskopickém vyšetření biologických struktur, jak je uvedeno v tomto návodu k použití v oddílu „Zamýšlený účel“. Výrobky smějí používat pouze oprávněné a kvalifikované osoby, což platí mimo jiné pro přípravu vzorků a činidel, manipulaci se vzorky, rozhodnutí o vhodných kontrolách a další.

Analytické parametry výrobků jsou validovány testováním každé výrobní šarže.

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

Kat. č. 1.00567 - Lugolův roztok stabilizováno PVP

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

Výsledky testování analytických výkonnostních parametrů

Kat. č. 1.09261 - Lugolův roztok (ředěný roztok jod-jodid draselný)

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

Výsledky testování analytických výkonnostních parametrů

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

Výsledky tohoto hodnocení funkčnosti potvrzují, že výrobky jsou vhodné pro zamýšlené použití a spolehlivé fungují.

Diagnostika

Stanovení diagnóz může provádět pouze autorizovaní a kvalifikovaní personál. Je nutné používat platné nomenklatury. Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí. Další testy je nutné vybírat a používat na základě uznaných metod. Pro zamezení nesprávným výsledkům by se u každé aplikace měly provádět vhodné kontroly. Barvicí soupravy lze zkontrolovat pomocí grampozitivních bakterií a gramnegativních bakterií. Měly by se použít bakterie odebrané z kultivačního média po 18–24 hodinách inkubace.

Skladování

Lugolův roztok stabilizováno PVP – pro barvení Gramovou metodou a Lugolův roztok (ředěný roztok jod-jodid draselný) – pro barvení Gramovou metodou skladujte při teplotě +15 °C až +25 °C. Při teplotách pod 15 °C se v roztocích barviv může usazovat barevná sraženina. Pokud dojde ke vzniku sraženiny, umístěte lahvičku na 2–3 hodiny do vodní lázně nastavené přibližně na 60 °C. Tím se většina sraženiny rozpustí. Barvicí roztoky poté přefiltrujte přes filtrační papír.

Doba použitelnosti

Lugolův roztok stabilizováno PVP – pro barvení Gramovou metodou a Lugolův roztok (ředěný roztok jod-jodid draselný) – pro barvení Gramovou metodou používané k barvení jsou určeny k přímému použití; ředění roztoků není nutné a pouze vede ke zhoršení výsledného obarvení a jeho stability. Po prvním otevření lahvičky lze obsah používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti, je-li skladován při teplotě +15 °C až +25 °C. Lahvičky musejí být vždy těsně uzavřené.

Kapacita

cca. 250 barvení / 500 ml

Další pokyny

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

Ochrana před infekcí

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

Pokyny ohledně likvidace

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

Pomocná činidla

Kat. č. 1.04699	Imerzní olej pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 100 ml, 500 ml
Kat. č. 1.07960	Entellan™ rychlé zalévací médium pro mikroskopii	500 ml

Kat. č. 1.07961	Entellan™ nový rychlé zalévací médium pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodé montovací médium pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 500 ml
Kat. č. 1.09217	Gramův roztok safraninu pro barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.09218	Gramův roztok krystalové violeti pro barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.10218	Gramův odbarvovací roztok pro barvení Gramovou metodou	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.11885	Gram-Color barvicí souprava pro barvení Gramovou metodou	1 set

Klasifikace rizik

Kat. č. 1.09261

Kat. č. 1.00567

Řiďte se prosím klasifikacemi rizik vytisknutými na štítku a informacemi uvedenými v bezpečnostním listě.

Bezpečnostní list je dostupný na internetových stránkách a na požádání.

Kat. č. 1.00567

POZOR! Obsahuje látky karcinogenní, mutagenní a/nebo toxické pro reprodukci. Dodržujte příslušné bezpečnostní pokyny v bezpečnostním listu.

Hlavní složky výrobku

Kat. č. 1.00567

PVP-jód 50 g/l

KI 10 g/l

1 l = 1,02 kg

Kat. č. 1.09261

I₂ 3,4 g/l

KI 6,8 g/l

1 l = 1,01 kg

Obecná poznámka

Pokud při používání tohoto zdravotnického prostředku nebo v důsledku jeho použití dojde k závažné nežádoucí příhodě, oznamte ji výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a příslušnému národnímu úřadu.

Literatura

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Kat. č. 1.00567



H318: Způsobuje vážné poškození očí.

H360D: Může poškodit plod v těle matky.

H412: Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

P202: Nepoužívejte, dokud jste si nepřečetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim.

P273: Zabraňte uvolnění do životního prostředí.

P280: Používejte ochranné brýle/ obličejový štít.

P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P308 + P313: PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ ošetření.

P405: Skladujte uzamčené.

Historie revizí

Verze	Komentář k úpravám
2024-Jul-24	Původní verze s přidanou tabulkou historie revizí
2025-Oct-29 V.1	Aktualizace klasifikace nebezpečnosti. Přidání nového symbolu a H-vět a P-vět.



Viz návod k použití



Výrobce



Katalogové číslo



Kód šarže



Pozor, přečtěte si připojené dokumenty



Spotřebujte do RRRR-MM-DD



Teplotní omezení

Status: 2025-Oct-29 V.1

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

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany, a/nebo její dceřiné a sesterské společnosti. Všechna práva vyhrazena. Merck a Sigma-Aldrich jsou ochranné známky společnosti Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách lze získat ve veřejně dostupných zdrojích.

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

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.00567.1000
1.00567.2500
1.09261.1000
1.09261.2500

REF

Microscopie

Soluție Lugol stabilizată cu PVP

pentru metoda de colorare Gram

Soluție Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu)

pentru metoda de colorare Gram

Exclusiv pentru uz profesional

IVD

Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro*

CE

Scopul preconizat

Aceste soluții „Soluție Lugol stabilizată cu PVP - pentru metoda de colorare Gram” și „Soluție Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu) - pentru metoda de colorare Gram” sunt utilizate pentru diagnosticul celulelor medicale umane și servesc scopului de investigație bacteriologică a eșantioanelor de probă de origine umană. Acestea sunt soluții gata de utilizare care, atunci când sunt utilizate împreună cu alte produse pentru diagnostic *in vitro* din portofoliul nostru, fac posibilă evaluarea în scop de diagnostic a structurilor țintă bacteriene (bacterii Gram-pozitive sau Gram-negative) prin fixare, colorare, contracolorare, montare din eșantioanele bacteriologice de testat, de exemplu frotiuri din fluide corporale.

Structurile necolorate au un contrast relativ scăzut și sunt extrem de dificil de distins sub microscopul optic. Imaginile create folosind soluțiile de colorare ajută investigatorul autorizat și calificat să definească mai bine forma și structura în astfel de cazuri. Testele suplimentare trebuie efectuate în conformitate cu metodele valide, recunoscute, pentru a ajunge la un diagnostic definitiv.

Principiu de funcționare

În bacteriologie, colorarea Gram permite o diferențiere rapidă între bacteriile Gram-pozitive și cele Gram-negative.

Structura din murein a peretelui bacteriei constituie baza pentru afinitatea culorii.

În prima fază, bacteria va fi colorată cu cristal-violet, un colorant pe bază de anilină. După tratarea cu soluție de iod (soluția Lugol), se va forma un complex colorant-iod. Pe parcursul fazei de decolorare, acest complex stă în structura cu straturi multiple din murein a peretelui celular al bacteriilor Gram-pozitive - acestea vor apărea albastru-violet.

Prin contrast, bacteriile Gram-negative au un perete celular care constă dintr-o structură de murein într-un singur strat, și re-eliberează în mod corespunzător colorantul cu soluția de decolorare. Bacteriile Gram-negative vor fi contracolorate cu soluție de safranină și apoi vor apărea în roz până la roșu.

Eșantion de probă

Fluide corporale, exsudat, puroi, culturi lichide sau solide

Reactivi

Cat. nr. 1.00567	Soluție Lugol stabilizată cu PVP pentru metoda de colorare Gram	1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.09261	Soluție Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu) pentru metoda de colorare Gram	1 l, 2,5 l

De asemenea, este necesar:

Cat. nr. 1.09217	Safranină Gram - soluție pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.09218	Cristal violet - soluție Gram pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.10218	Soluție de decolorare Gram pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l

Alternativ:

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

Cat. nr. 1.11885.0001	Gram-Color set pentru colorare prin metoda Gram	1 set
-----------------------	---	-------

Prepararea probelor

Prelevarea probelor trebuie efectuată de personal calificat.

Aplicați eșantionul de testat pe o lamă curată, fără urme de grăsime, cu ajutorul unei anse. Apoi întindeți eșantionul fie direct pe lamă, fie mai întâi amestecați cu 1-2 picături de ser fiziologic (soluția Ringer). Uscăți la aer și apoi fixați la căldură, extrăgând ușor lama (partea cu frotiu în sus) prin partea superioară a arzătorului Bunsen, de trei ori. După aceea, lăsați să se răcească și colorați.

Frotiurile uscate la aer trebuie fixate la căldură cu multă atenție. Aceasta previne riscurile de infectare și reduce dizolvarea eșantioanelor de testat și, astfel, contaminarea soluțiilor și a altor lame.

Toate probele vor fi tratate cu ajutorul tehnologiei de ultimă oră.

Toate probele vor fi etichetate clar.

Vor fi utilizate instrumente adecvate pentru prelevarea și pregătirea probelor. Vor fi respectate instrucțiunile producătorului privind aplicarea/utilizarea.

La utilizarea reactivilor auxiliari corespunzători, trebuie respectate instrucțiunile de utilizare corespunzătoare.

Prepararea reactivului

Soluția Lugol stabilizată cu PVP - pentru metoda de colorare Gram și Soluția Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu) - pentru metoda de colorare Gram sunt gata de utilizare, diluarea soluțiilor nu este necesară și mai degrabă provoacă o deteriorare a rezultatelor colorării și a stabilității lor.

Procedură

Colorarea în celula de colorare

Se recomandă diluarea soluției Gram violet cristal 1:3 cu apă distilată, în cazul în care se folosește metoda de imersie.

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

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

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

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

* filtrați soluția Lugol după 3 cicluri

** eliminați soluția Gram de decolorare după 5 cicluri

Colorarea pe suportul de colorare

Lamă cu frotiu fixat		
Cristal violet - soluție pentru metoda Gram	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Soluție Lugol	clătiți rapid	
Soluție Lugol	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Apă distilată	spălați cu atenție	5 sec.
Soluție de decolorare Gram	roțiți lamele cu atenție până când nu se mai produc efecte noi de culoare, iar frotiul are o culoare gri-albastru	10 - 15 sec.
Apă distilată	spălați cu atenție	5 sec.
Safranină Gram - soluție	acoperiți complet și lăsați să reacționeze	1 min
Apă distilată	spălați cu atenție	5 sec.
Uscare la aer (de ex. peste noapte sau la 50 °C în camera de uscare)		

Acoperirea cu medii de montare ne-apoase (de ex. Neo-Mount™, sau Entellan™) este recomandată pentru depozitarea specimenelor bacteriologice pentru o perioadă de câteva luni. În acest scop, speci­me­nele colorate trebuie uscate foarte bine.

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

Colorarea în automatul de colorare

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

Rezultat

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

Depanarea

Fixarea probelor de frotiu

Un grad suficient de fixare la căldură, folosind arzătorul Bunsen sau într-o cameră de încălzire, este esențial pentru a preveni potențialul infecțios al speci­menelor și proliferarea ulterioară a bacteriilor.

Nu există colorare a bacteriilor gram-pozitive

Faza critică a procedurii de colorare Gram este faza de decolorare, care poate fi influențată de grosimea frotiului. În plus, o soluție de decolorare proaspătă este înalt reactivă, motiv pentru care rezultatul trebuie evaluat cu atenție. Pe parcursul fazei de decolorare, utilizatorul trebuie să respecte perioadele exacte de incubare descrise în protocol, pentru că, în caz contrar, pot apărea rezultate fals-negative.

Observații tehnice

Microscopul utilizat trebuie să corespundă cerințelor laboratorului pentru diagnostic medical. Atunci când folosiți sisteme pentru colorare automată, respectați instrucțiunile de utilizare oferite de furnizorul sistemului și al software-ului. Înlăturați excesul de ulei de imersie înainte de umplere.

Caracteristici de performanță analitică

Prezenții reactivi auxiliari „Soluție Lugol stabilizată cu PVP” și „Soluție Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu)” ajută la examinarea microscopică a structurilor biologice, așa cum este descris în „Scopul preconizat” al acestei IDU. Produsele trebuie utilizate numai de către persoane autorizate și calificate, utilizarea incluzând, printre altele, pregătirea probelor și a reactivilor, manipularea probelor, deciziile privind controalele adecvate și multe altele.

Performanța analitică a produselor este confirmată prin testarea fiecărui lot de producție.

Pentru următoarele colorări, performanța analitică a fost confirmată din punct de vedere al specificității, sensibilității și repetabilității produsului cu o rată de 100%:

Cat. nr. 1.00567 - Soluție Lugol stabilizată cu PVP

	Speci-ficitate inter-test	Senzi-tivitate inter-test	Speci-ficitate intra-test	Senzi-tivitate intra-test
Colorație Gram				
Microorganisme Gram-pozitive	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganisme Gram-negative	20/20	20/20	7/7	7/7

Rezultate de performanță analitică

Cat. nr. 1.09261 - Soluție Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu)

	Speci-ficitate inter-test	Senzi-tivitate inter-test	Speci-ficitate intra-test	Senzi-tivitate intra-test
Colorație Gram				
Microorganisme Gram-pozitive	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganisme Gram-negative	20/20	20/20	7/7	7/7

Rezultate de performanță analitică

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

Rezultatele acestei evaluări de performanță confirmă faptul că produsele sunt potrivite pentru utilizarea prevăzută și funcționează fiabil.

Diagnostic

Diagnosticul trebuie stabilit doar de către personalul autorizat și calificat. Va fi utilizată nomenclatura în vigoare. Această metodă poate fi folosită suplimentar în diagnosticul uman. Testele ulterioare vor fi selectate și implementate conform metodelor recunoscute.

Trebuie efectuat un control adecvat al fiecărei aplicații pentru a se evita rezultate incorecte. Setul de colorare poate fi controlat cu bacterii Gram-pozitive și cu bacterii Gram-negative. Trebuie utilizate bacterii luate dintr-un mediu de cultură după 18-24 ore de incubare.

Depozitarea

Depozitați Soluție Lugol stabilizată cu PVP - pentru metoda de colorare Gram și Soluție Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu) - pentru metoda de colorare Gram la +15 °C până la +25 °C.

La temperaturi sub 15 °C, un precipitat colorat se poate sedimenta din soluțiile de colorare. Dacă a avut loc precipitarea, puneți flaconul într-o baie de apă, timp de 2-3 ore, la aprox. 60 °C. Aceasta va duce la re-dizolvarea celei mai mari părți din precipitat. După aceea, filtrați soluțiile de colorare printr-un filtru de hârtie.

Durata de depozitare

Soluție Lugol stabilizată cu PVP - pentru metoda de colorare Gram și Soluție Lugol (soluție diluată de iod-iodură de potasiu) - pentru metoda de colorare Gram pot fi utilizate până la termenul de valabilitate menționat.

După prima deschidere a flaconului, conținutul poate fi utilizat până la termenul de valabilitate menționat, dacă este depozitat la +15 °C până la +25 °C.

Flacoanele trebuie păstrate în permanență bine închise.

Capacitatea

aprox. 250 de colorări/500 ml

Instrucțiuni suplimentare

Exclusiv pentru uz profesional.

Pentru a evita erorile, aplicarea trebuie efectuată exclusiv de personal calificat. Vor fi respectate recomandările naționale privind siguranța muncii și asigurarea calității. Trebuie utilizate microscopae echipate conform standardelor. Dacă este necesar, utilizați o centrifugă standard adecvată pentru laborato­rul pentru diagnostic medical.

Protecția împotriva infecției

Vor fi luate măsuri active pentru protejarea împotriva infecției, conform recomandărilor laboratorului.

Instrucțiuni privind eliminarea

Ambalajul trebuie eliminat în conformitate cu reglementările locale. Soluțiile utilizate și soluțiile expirate trebuie eliminate ca deșeuri speciale, în conformitate cu normele naționale. Informații privind eliminarea pot fi găsite sub opțiunea Legături Rapide „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Indicii privind eliminarea produselor de microscopie”) la www.microscopy-products.com. În cadrul UE, în prezent se aplică REGULAMENTUL (CE) Nr 1272/2008 privind clasificarea, etichetarea și ambalarea substanțelor și a amestecurilor, de modificare și de abrogare a Directivelor 67/548/CEE și 1999/45/CE, precum și de modificare a Regulamentului (CE) nr. 1907/2006.

Reactivi auxiliari

Cat. nr. 1.04699	Ulei de imersie pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.07960	Entellan™ de montare rapid montare pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 1.07961	Entellan™ nou mediu de montare rapid pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l

Cat. nr. 1.09016	Neo-Mount™ anhidru - mediu de montare pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.09217	Safranină Gram - soluție pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.09218	Cristal violet - soluție Gram pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.10218	Soluție de decolorare Gram pentru colorare prin metoda Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.11885	Gram-Color set pentru colorare prin metoda Gram	1 set

Categoria de risc

Cat. nr. 1.09261

Cat. nr. 1.00567

Observați categoria de risc imprimată pe etichetă și informațiile oferite în fișa de informații de securitate.

Fișa de informații de securitate este disponibilă pe website și la cerere.

Cat. nr. 1.00567

ATENȚIE! Conține substanțe CMR. Vă rugăm să respectați instrucțiunile de siguranță corespunzătoare oferite în fișa cu date de securitate.

Componentele principale ale produselor

Cat. nr. 1.00567

PVP-Iod 50 g/l

KI 10 g/l

1 l = 1,02 kg

Cat. nr. 1.09261

I₂ 3,4 g/l

KI 6,8 g/l

1 l = 1,01 kg

Observație generală

Dacă în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a utilizării acestuia, a avut loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și/sau reprezentantului său autorizat și autorității naționale.

Literatură

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Cat. nr. 1.00567



H318: Provoacă leziuni oculare grave.

H360D: Poate dăuna fătului.

H412: Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

P202: A nu se manipula decât după ce au fost citite și înțelese toate măsurile de securitate.

P273: Evitați dispersarea în mediu.

P280: A se purta echipament de protecție a ochilor/ echipament de protecție a feței.

P305 + P351 + P338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

P308 + P313: ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: consultați medicul.

P405: A se depozita sub cheie.

Istoric revizuire

Versiune	Comentariu privind modificarea
2024-Jul-24	Versiunea inițială cu introducerea istoricului revizuirilor
2025-Oct-29 V.1	Actualizarea clasificării de risc. Adăugarea unui nou simbol și a unor fraze H&P.



A se consulta
instrucțiunile de utilizare



Producător



Număr articol



Număr lot



Atenție, a se consulta
documentele însoțitoare



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



Temperatura
limită

Status: 2025-Oct-29 V.1

The Life Science Business aparținând Merck operează ca MilliporeSigma în SUA și Canada.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany și / sau afiliații săi. Toate drepturile rezervate. Merck și Sigma-Aldrich sunt mărci comerciale ale Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi. Informații detaliate despre mărci comerciale sunt disponibile prin resurse disponibile public.



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Mikroskopi

Lugols opløsning stabiliseret med PVP

til gramfarvning

Lugols opløsning (fortyndet jod-kaliumjodid-opløsning)

til gramfarvning

Kun til professionel brug

IVD Medicinske anordning til *in vitro*-diagnose



Beregnet formål

"Lugols opløsning stabiliseret med PVP - til gramfarvning" og "Lugols opløsning (fortyndet jod-kaliumjodidopløsning) - til gramfarvning" bruges til humanmedicinsk cellediagnose og er beregnet til bakteriologisk undersøgelse af prøvemateriale fra mennesker. De er klar-til-brug opløsninger, som når de bruges til *in vitro*-diagnose sammen med andre produkter fra vores sortiment laver bakterielle målstrukturer i bakteriologiske prøvematerialer (gram-positive eller gram-negative bakterier) ved fiksering, farvning, kontrastfarvning, montering, eksempelvis udstrygninger af kropsvæsker der kan evalueres til diagnoseformål.

Ufarvede strukturer har en relativ lav kontrast og er ekstremt vanskelige at skelne under lysmikroskopet. De dannede billeder med farveopløsninger hjælper autoriseret og kvalificerede undersøgere med bedre at definere formen og strukturen i sådanne tilfælde. Der skal udføres yderligere tests iht. anerkendte og gyldige metoder for at fastlægge en definitiv diagnose.

Princip

Inden for bakteriologi giver gramfarvning mulighed for hurtig differentiering af gram-positive og gram-negative bakterier.

Bakterievæggens mureinstruktur danner grundlag for farveaffiniteten. I det første trin farves bakterierne med krystalviolet, som er en basisk farve. Efter behandlingen med jodopløsning (Lugols opløsning) dannes et farvestof-jod-kompleks. Under affarvningsstrinnet forbliver dette kompleks i den flerlagede mureinstruktur i gram-positive bakteriers cellevæg - de fremstår blå-violette.

Gram-negative bakterier har derimod en cellevæg, der består af en enkeltlaget mureinstruktur, og de frigiver derfor farvestoffet sammen med affarvningsopløsningen. Gram-negative bakterier kontrastfarves med Safraninopløsning og fremstår derefter røde.

Prøvemateriale

Kropsvæsker, ekssudat, pus, væske eller faste kulturer

Reagenser

Varenr. 1.00567	Lugols opløsning stabiliseret med PVP til gramfarvning	1 l, 2,5 l
Varenr. 1.09261	Lugols opløsning (fortyndet jod-kaliumjodidopløsning) til gramfarvning	1 l, 2,5 l

Også påkrævet:

Varenr. 1.09217	Grams safraninopløsning til gramfarvning	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.09218	Grams krystalvioletopløsning til gramfarvning	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.10218	Grams affarvningsopløsning til gramfarvning	500 ml, 2,5 l

Alternativ:

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

Varenr.	Gram-Color	1 set
1.11885.0001	farvningskit til gramfarvning	

Forberedelse af prøverne

Prøveudtagningen skal udføres af faguddannet personale.

Påfør prøvematerialet på et rent og fedtfrit objektglas ved hjælp af en udglødet løkke. Stryg derefter enten materialet direkte på objektglasset, eller bland det først med 1-2 dråber fysiologisk saltvandsopløsning (Ringers opløsning). Lad udstrygningen lufttørre, og varmefikser den derefter ved at føre objektglasset (med udstrykningssiden opad) gennem den øvre del af bunsenbrænderens flamme tre gange. Lad den derefter køle af, og farv den. De lufttørrede udstrygninger skal varmefikseres meget omhyggeligt. Dette forebygger risikoen for infektioner og reducerer opløsningen af prøvematerialet og dermed forurening af opløsninger og andre objektglas.

Alle prøver skal behandles ved hjælp af den nyeste teknologi.

Alle prøver skal forsynes med tydelige etiketter.

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

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

Forberedelse af reagenserne

Lugols opløsning stabiliseret med PVP - til gramfarvning og Lugols opløsning (fortyndet jod-kaliumjodidopløsning) - til gramfarvning er klar-til-brug. Fortynding af opløsningerne er ikke nødvendigt og resulterer i forringelse af farveresultatet og opløsningernes stabilitet.

Procedure

Farvning i farvningskuvetten

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

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

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

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

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

* Lugols opløsningen filtreres efter 3 kørsler

** Grams affarvningsopløsningen bortskaffes efter 5 kørsler

Farvning på farveracket

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

Tildækning med ikke-vandige monteringsmedier (f.eks. Neo-Mount™ eller Entellan™) og et dækglas anbefales med henblik på opbevaring af bakterio-logiske prøver i flere måneder. Til dette formål skal de farvede prøver tørres meget omhyggeligt. Hvis den ikke monteres, forbliver farvningen stabil i ca. 3 dage, hvis den dækkes med immersionsolie kun et par timer.

Brugen af immersionsolie anbefales til analyse af farvede objektglas med en mikroskopforstørrelse på >40x.

Farvning i automatisk farvesystem

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

Resultat

Gram-positive mikroorganismer	blå-violet
Gram-negative mikroorganismer	lyserød til rød

Fejlfinding
Fiksering af smear-prøver

Tilstrækkelig varmefiksering ved hjælp af en bunsenbrænder eller i et var-meskab er vigtigt med henblik på at forhindre prøvernes infektionspotentia-le og yderligere spredning af bakterierne.

Ingen farvning af de gram-positive bakterier

Det vigtigste trin i gramfarvningsproceduren er affarvningstrinnet, som kan påvirkes af udstrykningens tykkelse. Derudover har en frisk affarvnings-opløsning yderst reaktiv, hvilket er grunden til, at resultatet skal evalueres omhyggeligt. Under affarvningstrinnet skal brugeren overholde de nøjagtige inkubationstider, der er beskrevet i protokollen. I modsat fald kan det resul-tere i falske negative resultater.

Tekniske bemærkninger

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

Analytiske ydeevnekarakteristika

De eksisterende hjælpereagenser "Lugols opløsning stabiliseret med PVP" og "Lugols opløsning (fortyndet jod-kaliumjodidopløsning)" hjælper i for-bindelse med den mikroskopiske undersøgelse af biologiske strukturer, som beskrevet i det "Beregnet formål" i denne brugsanvisning. Disse produkter må kun anvendes af autoriserede og kvalificerede personer, hvilket bl.a. inkluderer forberedelse af prøve og reagens, prøvehåndtering, afgørelser angående egnede kontroller med mere.

Produkternes analytiske ydeevne bekræftes ved test af hvert produktions-parti.

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

Varenr. 1.00567 - Lugols opløsning stabiliseret med PVP

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

Analytiske ydeevneresultater

Varenr. 1.09261 - Lugols opløsning (fortyndet jod-kaliumjodidopløsning)

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

Analytiske ydeevneresultater

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

Resultaterne af denne ydeevnevurdering bekræfter, at produkterne er egnet til den beregnede brug og har en pålidelig ydeevne.

Diagnostik

Diagnoser må udelukkende stilles af autoriseret og kvalificeret personale. Der skal anvendes gyldige nomenklaturer. Denne metode kan anvendes som supplement inden for human diagnostik. Yderligere test skal udvælges og udføres i henhold til anerkendte metoder.

Der skal udføres egnede kontroller ved hver anvendelse for at undgå for-kerte resultater. Farvesættet kan kontrolleres med gram-positive bakterier og gram-negative bakterier. Der skal anvendes bakterier, som er udtaget fra et kulturmedium efter 18-24 timers inkubation.

Opbevaring

Lugols opløsning stabiliseret med PVP - til gramfarvning og Lugols opløsning (fortyndet jod-kaliumjodidopløsning) - til gramfarvning skal opbevares ved +15 °C til +25 °C. Ved temperatur under 15 °C kan der opstå farvet bundfald i farveopløs-ningerne. Hvis der er opstået bundfald, skal flasken anbringes i et vandbad, der er indstillet til ca. 60 °C i 2-3 timer. Dermed opløses det meste af bund-faldet igen. Derefter skal farveopløsningen filtreres gennem et papirfilter.

Holdbarhed

Lugols opløsning stabiliseret med PVP - til gramfarvning og Lugols opløsning (fortyndet jod-kaliumjodidopløsning) - til gramfarvning kan anvendes indtil den anførte udløbsdato. Efter åbning af flasken kan indholdet bruges indtil den anførte udløbsdato, hvis flasken opbevares ved +15 °C til +25 °C. Flaskerne skal altid være forsvirligt lukkede.

Kapacitet

ca. 250 farvninger/500 ml

Yderligere anvisninger

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

Beskyttelse mod infektioner

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

Bortskaffelse

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

Øvrige reagenser

Varenr. 1.04699	Immersionsolie til mikroskopi	100-ml pipette-flaske, 100 ml, 500 ml
Varenr. 1.07960	Entellan™ hurtigindstøbningsmiddel til mikroskopi	500 ml
Varenr. 1.07961	Entellan™ ny hurtigindstøbningsmiddel til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Varenr. 1.09016	Neo-Mount™ vandfri indstøbningsmiddel til mikroskopi	100-ml pipette-flaske, 500 ml
Varenr. 1.09217	Grams safraninopløsning til gramfarvning	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.09218	Grams krystalvioletoopløsning til gramfarvning	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.10218	Grams affarvningsopløsning til gramfarvning	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.11885	Gram-Color farvningskit til gramfarvning	1 set

Fareklassificering

Varenr. 1.09261

Varenr. 1.00567

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

Varenr. 1.00567

FORSIGTIG! Indeholder CMR-stoffer. Følg de pågældende sikkerhedsanvisninger, som findes i sikkerhedsdatabladet.

Produkternes hovedkomponenter

Varenr. 1.00567

PVP-jod 50 g/l

KI 10 g/l

1 l = 1,02 kg

Varenr. 1.09261

I₂ 3,4 g/l

KI 6,8 g/l

1 l = 1,01 kg

Generel bemærkning

Hvis der under brugen af dette apparat eller som følge af dets brug opstår en alvorlig hændelse, skal dette meddeles producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og den nationale myndighed.

Litteratur

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Varenr. 1.00567



H318: Forårsager alvorlig øjenskade.

H360D: Kan skade det ufødte barn.

H412 Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.

P202: Anvend ikke produktet, før alle advarsler er læst og forstået.

P273: Undgå udledning til miljøet.

P280: Bær øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse.

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

P308 + P313: VED eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp.

P405: Opbevares under lås.

Revisionshistorik

Version	Kommentar til modifikation
2024-Jul-24	Første version med introduktion af revisionshistorik
2025-Oct-29 V.1	Opdatering af fareklassifikation. Tilføjelse af nyt symbol og fare- og sikkerhedssætninger.



Se brugervejledningen



Producent



Varenummer



Partikode



Forsigtig: Se den medfølgende dokumentation



Skal bruges inden
ÅÅÅÅ-MM-DD



Tilladt
temperatur

Status: 2025-Oct-29 V.1

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

© 2025 MerckKGaA, Darmstadt, Germany og/eller dennes tilknyttede selskaber. Alle rettigheder forbeholdes. Merck og Sigma-Aldrich er varemærker tilhørende Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere. Detaljerede oplysninger om varemærker kan findes via de offentligt tilgængelige ressourcer.



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Mikroskopija

Lugolova otopina stabilizirana s PVP

za metodu bojenja po Gramu

Lugolova otopina (razrijeđena otopina kalija i joda)

za metodu bojenja po Gramu

Samo za profesionalnu uporabu

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Namjena

Ove „Lugolova otopina stabilizirana s PVP – za metodu bojenja po Gramu“ i „Lugolova otopina (razrijeđena otopina kalija i joda) – za metodu bojenja po Gramu“ upotrebljavaju se za dijagnozu ljudskih medicinskih stanica te služe za bakteriološko ispitivanje uzorka ljudskog podrijetla. To su otopine spremne za uporabu zahvaljujući kojima je, kada se upotrebljavaju s drugim *in vitro* dijagnostičkim proizvodima iz naše ponude, moguće procijeniti bakterijske ciljne strukture (Gram pozitivne ili Gram negativne bakterije) fiksiranjem, bojenjem, protuboženjem, poklapanjem u bakteriološkim uzorcima, npr. razmazima tjelesnih tekućina za dijagnostičke svrhe.

Neobojene strukture imaju relativno niski kontrast i iznimno ih je teško razlikovati pod svjetlosnim mikroskopom. Slike dobivene uz primjenu otopina za bojenje ovlaštenom i kvalificiranom ispitivaču pomažu da u takvim slučajevima bolje definira oblik i strukturu. Daljnja ispitivanja moraju se provesti prema priznatim, valjanim metodama da bi se postavila konačna dijagnoza.

Princip

U bakteriologiji, bojenje po Gramu dopušta brzo razlikovanje bakterija na Gram pozitivne i Gram negativne. Mureinska struktura bakterijskog zida osnova je afiniteta za boje. U prvom koraku bakterije se boje kristalno ljubičastom bojom, odn. anilinskom bojom. Nakon tretmana otopinom s jodom (Lugolova otopina), stvorit će se kompleks boje s jodom. Tijekom koraka uklanjanja boja, ovaj kompleks ostaje u višeslojnoj mureinskoj strukturi staničnog zida Gram pozitivnih bakterija i izgledat će plavo-ljubičasto. Gram negativne bakterije, kao kontrast, imat će stanični zid koji se sastoji od jednoslojne mureinske strukture i sukladno tome ponovno će ispuštati boju s otopinom za uklanjanje boje. Gram negativne bakterije bit će protubožane safranin otopinom i izgledat će ružičasto do crveno.

Uzorak

Tjelesne tekućine, eksudati, gnoj, tekuće i krute kulture

Reagensi

Kat. br. 1.00567	Lugolova otopina stabilizirana s PVP za metodu bojenja po Gramu	1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.09261	Lugolova otopina (razrijeđena otopina kalija i joda) za metodu bojenja po Gramu	1 l, 2,5 l

Također potrebno:

Kat. br. 1.09217	Gramova safranin otopina za metodu bojenja po Gramu	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.09218	Gramova kristalno ljubičasta otopina za metodu bojenja po Gramu	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.10218	Gramova otopina obezbojenje za metodu bojenja po Gramu	500 ml, 2,5 l

Alternativno:

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

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

Priprema uzorka

Uzorkovanje mora provoditi kvalificirano osoblje.

Primijenite uzorak na čisto stakalce bez masnoća s pomoću žarene petlje. Zatim razmažite uzorak izravno na stakalce ili ga prvo pomiješajte s 1 do 2 kapi fiziološke otopine (Ringerova otopina). Osušite na zraku i zatim fiksirajte zagrijavanjem postupnim provlačenjem (strana s razmazom okrenuta prema gore) kroz gornji dio plamena Bunsenova plamenika tri puta. Nakon toga pustite da se ohladi i oboji.

Razmazi osušeni na zraku moraju se vrlo oprezno fiksirati toplinom. Time se sprječava opasnost od infekcija i smanjuje otapanje uzorka, a time i kontaminacija otopina te drugih stakalaca.

Svi uzorci moraju se obraditi vrhunskom tehnologijom.

Svi uzorci moraju se jasno označiti.

Prilikom uzimanja uzoraka i njihove pripreme moraju se upotrebljavati prikladni instrumenti. Slijedite upute proizvođača za primjenu/upotrebu.

Kada upotrebljavate odgovarajuće pomoćne reagense, treba se pridržavati njihovih uputa za uporabu.

Priprema reagensa

Lugolova otopina stabilizirana s PVP - za metodu bojenja po Gramu i Lugolova otopina (razrijeđena otopina kalija i joda) - za metodu bojenja po Gramu koje se upotrebljavaju za bojenje spremne su za uporabu. Razrjeđivanje otopina nije potrebno i samo pogoršava rezultate bojenja i njihovu stabilnost.

Postupak

Bojenje u stanicama za bojenje

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

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

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

Potrebno je pridržavati se navedenih vremena za optimalne rezultate bojenja.

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

* filtrirajte Lugolovu otopinu nakon 3 ciklusa

** odbacite Gramovu otopinu za uklanjanje boje nakon 5 ciklusa

Bojenje na podlozi za bojenje

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

Pokrivanje s medijem za poklapanje bez vode (npr. Neo-Mount™ ili Entellan™) i stakleni pokrov preporučuju se za pohranu bakterioloških uzoraka na nekoliko mjeseci. Obojani uzorci moraju se u tu svrhu vrlo dobro osušiti. Ako se ostavi nepokrivena, boja je stabilna pribl. 3 dana ako je pokrivena imerzijskim uljem na samo nekoliko sati. Upotreba imerzijskog ulja preporučuje se za analizu obojanih stakalaca s pomoću mikroskopskog povećanja > 40x.

Bojenje u automatima za bojenje

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

Rezultat

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

Otklanjanje poteškoća
Fiksacija uzoraka razmaka

Neophodna je određena razina fiksiranja toplinom s pomoću Bunsenova plamenika da bi se spriječio zarazni potencijal uzorka i daljnje širenje bakterija.

Nema bojenja Gram pozitivnih bakterija

Kritični stadij postupka bojenja po Gramu jest korak uklanjanja boje na koji može utjecati debljina razmaza. Uz to, svježja otopina za obezbojenje vrlo je reaktivna, zbog čega se rezultat mora oprezno procijeniti. Tijekom koraka uklanjanja boje korisnik se mora pridržavati točnog vremena inkubacije opisanog u protokolu, jer u suprotnome može doći do lažno negativnih rezultata.

Tehničke napomene

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

Značajke analitičke učinkovitosti

Trenutačni pomoćni reagensi "Lugolova otopina stabilizirana s PVP" i "Lugolova otopina (razrijeđena otopina kalija i joda)" pomažu pri mikroskopskom pregledu bioloških struktura, kao što je opisano u "Namjena" u ovim uputama za uporabu. Ove proizvode smiju upotrebljavati samo ovlaštene i kvalificirane osobe. To se, između ostaloga, odnosi na pripremu uzoraka i reagensa, rukovanje uzorcima, donošenje odluka o odgovarajućim kontrolama itd.

Analitička učinkovitost ovih proizvode potvrđena je ispitivanjem svake proizvodne serije. Za sljedeće je postupke bojenja potvrđena 100 %-tna analitička učinkovitost proizvoda u pogledu specifičnosti, osjetljivosti i ponovljivosti: Kat. br. 1.00567 - Lugolova otopina stabilizirana s PVP

	Specifičnost među ispitivanjima	Osjetljivost među ispitivanjima	Specifičnost unutar ispitivanja	Osjetljivost unutar ispitivanja
Bojenje po Gramu				
Gram pozitivni mikroorganizmi	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram negativni mikroorganizmi	20/20	20/20	7/7	7/7

Rezultati analitičke učinkovitosti

Kat. br. 1.09261 - Lugolova otopina (razrijeđena otopina kalija i joda)

	Specifičnost među ispitivanjima	Osjetljivost među ispitivanjima	Specifičnost unutar ispitivanja	Osjetljivost unutar ispitivanja
Bojenje po Gramu				
Gram pozitivni mikroorganizmi	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram negativni mikroorganizmi	20/20	20/20	7/7	7/7

Rezultati analitičke učinkovitosti

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

Rezultati ove procjene učinkovitosti potvrđuju da su proizvodi prikladni za predviđenu uporabu i da pouzdano djeluju.

Dijagnostika

Dijagnoze smije donositi jedino ovlašteno i kvalificirano osoblje. Potrebno je upotrebljavati valjanu nomenklaturu. Ova se metoda može koristiti kao dopuna u dijagnostici na ljudima. Potrebno je odabrati i implementirati dodatne testove sukladno prepoznatim metodama. Potrebno je provesti odgovarajuće kontrole prilikom svake primjene da bi se izbjegli neispravni rezultati. Komplet za bojenje može se kontrolirati s pomoću Gram pozitivnih bakterija i Gram negativnih bakterija. Potrebno je upotrebljavati bakterije uzete iz kulture nakon 18-24 sata inkubacije.

Skladištenje

Pohranite proizvode Lugolova otopina stabilizirana s PVP - za metodu bojenja po Gramu i Lugolova otopina (razrijeđena otopina kalija i joda) - za metodu bojenja po Gramu na +15 °C do +25 °C.

Pri temperaturama ispod 15 °C obojeni precipitat može se nataložiti izvan otopine za bojenje. Ako je došlo do taloženja, ostavite bocu 2-3 sata u vodenoj kupki na pribl. 60 °C. To će ponovno otopiti većinu nataloženog materijala. Nakon toga filtrirajte otopinu za bojenje kroz filter papir.

Rok uporabe

Lugolova otopina stabilizirana s PVP - za metodu bojenja po Gramu i Lugolova otopina (razrijeđena otopina kalija i joda) - za metodu bojenja po Gramu mogu se upotrebljavati do navedenog roka trajanja. Nakon prvog otvaranja boce, sadržaj se može upotrebljavati do navedenog roka uporabe ako je pohranjen na +15 °C do +25 °C. Boce moraju biti čvrsto zatvorene u svakom trenutku.

Kapacitet

oko 250 bojenja / 500 ml

Dodatne upute

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

Zaštita od infekcije

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

Upute za odlaganje

Pakiranje se mora odložiti sukladno trenutnim smjernicama za odlaganje. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok uporabe moraju se odložiti kao poseban otpad sukladno lokalnim smjernicama. Informacije o odlaganju možete dobiti na brzoj poveznici „Hints for Disposal of Microscopy Products” (Savjeti za odlaganju mikroskopskih proizvoda) na adresi www.microscopy-products.com. Unutar EU-a primjenjuje se trenutačno primjenjiva UREDBA (EZ) br. 1272/2008 o razvrstavanju, označavanju i pakiranju tvari i smjesa, o izmjeni i stavljanju izvan snage Direktive 67/548/EEZ i 1999/45/EZ i o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1907/2006.

Pomoćni reagensi

Kat. br. 1.04699	Imerziona ulje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.07960	Entellan™ medij za brzo uklapanje za mikroskopiju	500 ml
Kat. br. 1.07961	Novi Entellan™ brzi medij za uklapanje za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 1 l

Kat. br. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodni medij za poklapanje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.09217	Gramova safranin otopina za metodu bojenja po Gramu	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.09218	Gramova kristalno ljubičasta otopina za metodu bojenja po Gramu	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.10218	Gramova otopina obezbojenje za metodu bojenja po Gramu	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.11885	Gram-Color komplet boja za metodu bojenja po Gramu	1 set

Klasifikacija rizika

Kat. br. 1.09261

Kat. br. 1.00567

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

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

Kat. br. 1.00567

OPREZ! Sadržava CMR tvari. Pridržavajte se odgovarajućih uputa vezanih uz sigurnost navedenih u sigurnosno-tehničkom listu.

Glavne komponente proizvoda

Kat. br. 1.00567

PVP-jod 50 g/l

KI 10 g/l

1 l = 1,02 kg

Kat. br. 1.09261

I₂ 3,4 g/l

KI 6,8 g/l

1 l = 1,01 kg

Opća napomena

Ako se tijekom uporabe ovog uređaja ili zbog njegove uporabe dogodi ozbiljan štetni događaj, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlaštenom zastupniku te nacionalnom nadležnom tijelu.

Književnost

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Kat. br. 1.00567



H318: Uzrokuje teške ozljede oka.

H360D: Može naškoditi nerođenom djetetu.

H412: Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima.

P202: Ne rukovati prije upoznavanja i razumijevanja sigurnosnih mjera predostrožnosti.

P273: Izbjegavati ispuštanje u okoliš.

P280: Nositi zaštitu za oči/ zaštitu za lice.

P305 + P351 + P338: U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispirati.

P308 + P313: U SLUČAJU izloženosti ili sumnje na izloženost: zatražiti savjet/ pomoć liječnika.

P405: Skladištiti pod ključem.

Povijest revizija

Verzija	Komentar o izmjeni
2024-Jul-24	Izvorna verzija s uvodom u povijest revizija
2025-Oct-29 V.1	Ažuriranje klasifikacije opasnosti. Dodavanje novog simbola i H&P rečenica.



Pročitajte upute za uporabu



Proizvođač



Kataloški broj



Kod serije



Oprez, pročitajte popratnu dokumentaciju



Upotrijebite do GGGG-MM-DD



Ograničenje temperature

Status: 2025-Oct-29 V.1

The Life Science Business tvrtke Merck posluje kao MilliporeSigma u SAD-u i Kanadi.

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



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Mikroskopia

Płyn Lugola stabilizowany PVP (poliwinylopirolidonem)

do barwienia metodą Grama

Płyn Lugola (rozcieńczony roztwór jodu i jodku potasu)

do barwienia metodą Grama

Wyłącznie do użytku przez specjalistów

IVD Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*



Przeznaczenie

„Płyn Lugola stabilizowany PVP (poliwinylopirolidonem) – do barwienia metodą Grama” i „Płyn Lugola (rozcieńczony roztwór jodu i jodku potasu) – do barwienia metodą Grama” są wykorzystywane w procesie medycznej diagnostyki komórek ludzkich i służą do bakteriologicznej oceny próbek pochodzenia ludzkiego. Jest to gotowy roztwór, który w połączeniu z innymi produktami do diagnostyki *in vitro* z naszej oferty umożliwia diagnostykę docelowych struktur bakteryjnych (bakterie Gram-dodatnie lub Gram-ujemne) poprzez utrwalanie, barwienie, barwienie kontrastujące, zamykanie w próbkach bakteriologicznych, np. rozmazach płynów ustrojowych.

Niezabarwione struktury mają stosunkowo niski kontrast i są niezwykle trudne do odróżnienia pod mikroskopem świetlnym. Obrazy utworzone z użyciem roztworów barwiących pomagają upoważnionemu i wykwalifikowanemu badaczowi lepiej zdefiniować formę i strukturę w takich przypadkach. Aby postawić ostateczną diagnozę, należy wykonać dalsze badania, stosując uznane i sprawdzone metody.

Zasada działania

W bakteriologii barwienie metodą Grama umożliwia szybkie rozróżnienie bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.

Podstawę do wiązania barwników stanowi struktura mureinowa bakterii. W pierwszej kolejności bakterie są poddawane barwieniu z użyciem fioletu krystalicznego – barwnika anilinowego. Po zalaniu roztworem jodu (płynem Lugola) formują się kompleksy złożone z barwnika i jodu. Na etapie odbarwiania kompleksy te pozostają w wielowarstwowej strukturze mureinowej ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich – które mają barwę niebiesko-fioletową. Ściana komórkowa bakterii Gram-ujemnych składa się natomiast z jednowarstwowej struktury mureinowej, która uwalnia barwnik wraz z roztworem odbarwiającym. Bakterie Gram-ujemne są poddawane barwieniu kontrastującemu z użyciem roztworu safraniny i przybierają kolor od różowego do czerwonego.

Materiały do próbek

Płyny ustrojowe, wysięk, ropa, hodowle płynne lub stałe

Odczynniki

Nr kat. 1.00567	Płyn Lugola stabilizowany PVP (poliwinylopirolidonem) do barwienia metodą Grama	1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.09261	Płyn Lugola (rozcieńczony roztwór jodu i jodku potasu) do barwienia metodą Grama	1 l, 2,5 l

Również wymagane:

Nr kat. 1.09217	Roztwór Grama: safranina do barwienia metodą Grama	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.09218	Roztwór Grama: fiolet krystaliczny do barwienia metodą Grama	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.10218	Roztwór odbarwiający Grama do barwienia metodą Grama	500 ml, 2,5 l

Rozwiązanie alternatywne:

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

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

Przygotowywanie próbek

Próbki muszą być pobierane przez wykwalifikowany personel.

Nałożyć materiał mikrobiologiczny na czyste, wolne od tłuszczu szkiełko, używając wyżarzonej pętli. Następnie rozmazać materiał bezpośrednio na szkiełku lub uprzednio zmieszać z 1-2 kroplami roztworu soli fizjologicznej (roztworu Ringera). Osuszyć na powietrzu, a następnie utrwalić termicznie, powoli trzykrotnie przesuwając szkiełko (skierowane rozmazem do góry) przez stożek płomienia palnika Bunsena. Następnie pozostawić do ostygnięcia i przeprowadzić barwienie. Suszone na powietrzu rozmazy muszą zostać bardzo ostrożnie utrwalone termicznie. Pozwala to uniknąć ryzyka infekcji i ogranicza rozpad materiału mikrobiologicznego, a w rezultacie również ryzyko zanieczyszczenia roztworów i innych szkiełek.

Wszystkie próbki muszą być przetwarzane z użyciem najnowocześniejszych technologii.

Wszystkie próbki muszą być wyraźnie oznaczone.

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

Podczas stosowania odpowiednich odczynników pomocniczych należy przestrzegać odpowiedniej instrukcji użytkowania.

Przygotowywanie odczynnika

Płyn Lugola stabilizowany PVP (poliwinylopirolidonem) – do barwienia metodą Grama i Płyn Lugola (rozcieńczony roztwór jodu i jodku potasu) – do barwienia metodą Grama są gotowe do użycia. Nie wymagają rozcieńczenia, które prowadzi jedynie do pogorszenia rezultatów barwienia i stabilności roztworów.

Procedura

Barwienie w komorze do barwienia

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

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

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

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

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

* odfiltrować płyn Lugola po 3 cyklach

** wyłączyć roztwór do odbarwiania Grama po 5 cyklach

Barwienie na statywie do barwienia

Szkiełko z utrwalonym rozmazem		
Roztwór Grama: fiolet krystaliczny	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	1 min
Płyn Lugola	krótko przepłukać	
Płyn Lugola	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	1 min
Woda destylowana	ostrożnie przemyć	5 sek.
Roztwór odbarwiający Grama	ostrożnie zamieszać preparatami, aż barwnik przestanie się unosić, a rozmaz przyjmie szaro-niebieski kolor	10 - 15 sek.
Woda destylowana	ostrożnie przemyć	5 sek.
Roztwór Grama: safranina	dokładnie przykryć i pozostawić do wystąpienia odczynu	1 min
Woda destylowana	ostrożnie przemyć	5 sek.
Osuszyć na powietrzu (np. przez noc lub w temp. 50°C w suszarce)		

Na potrzeby przechowywania preparatów bakteriologicznych przez kilka miesięcy zalecane jest użycie bezwodnego odczynnika do zamykania preparatów (np Neo-Mount™ lub Entellan™) i szkiełka nakrywkowego. W tym celu należy bardzo dokładnie osuszyć barwione preparaty. Jeżeli preparat nie zostanie zamknięty, barwnik pozostanie stabilny przez ok. 3 dni, zanurzony w olejku immersyjnym zaledwie przez kilka godzin. Użycie olejku immersyjnego jest zalecane na potrzeby analizy barwionych preparatów przy powiększeniu mikroskopowym >40x.

Barwienie w automatycznym systemie barwiącym

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

Wynik

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

Rozwiązywanie problemów

Utrwalanie próbek rozmazu

Odpowiedni stopień utrwalenia preparatów za pomocą palnika Bunsena lub suszarki ma zasadnicze znaczenie dla zapobiegania infekcjom i dalszemu namnażaniu się bakterii.

Brak barwienia bakterii Gram-dodatnich

Krytyczne znaczenie dla procedury barwienia metodą Grama ma etap odbarwiania, na który może wpłynąć grubość rozmazu. Ponadto świeży roztwór do odbarwiania jest wysoce reaktywny, co oznacza, że wynik należy oceniać ostrożnie. Na etapie odbarwiania użytkownik powinien dokładnie przestrzegać czasów inkubacji wskazanych w protokole – w przeciwnym razie wynik może być fałszywie ujemny.

Uwagi techniczne

Używany mikroskop powinien spełniać wymogi laboratorium diagnostyki medycznej. Podczas korzystania z automatycznych systemów barwiących należy postępować zgodnie z instrukcjami dostarczonymi przez producenta systemu i oprogramowania. Przed przystąpieniem do przechowywania należy usunąć nadmiar olejku immersyjnego.

Parametry wydajności analitycznej

Odczynniki pomocnicze „Płyn Lugola stabilizowany PVP (poliwinylolipirolidonem)” i „Płyn Lugola (rozcieńczony roztwór jodu i jodku potasu)” pomagają w wykonywaniu mikroskopowego badania struktur biologicznych, jak pod „Przeznaczenie” opisano w celu niniejszej instrukcji obsługi (IFU). Produkty mogą być używane wyłącznie przez osoby upoważnione i wykwalifikowane. Dotyczy to między innymi przygotowania próbek i odczynników, postępowania z próbkami, decyzji dotyczących odpowiednich kontroli i innych. Wydajność analityczna produktów jest potwierdzana poprzez testowanie każdej partii produkcyjnej.

Dla poniższych barwników, w zakresie paramterów analitycznych wymienionych poniżej, potwierdzono, że wskaźnik swoistości, czułości i powtarzalności produktu wynosi 100%:

Nr kat. 1.00567 - Płyn Lugola stabilizowany PVP (poliwinylolipirolidonem)

	Swoistość międzyse-ryjna	Czułość międzyse-ryjna	Swoistość wewnątrz-seryjna	Czułość wewnątrz-seryjna
Barwienie metodą Grama				
Mikroorganizmy Gram-dodatnie	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganizmy Gram-ujemne	20/20	20/20	7/7	7/7

Wyniki analityczne

Nr kat. 1.09261 - Płyn Lugola (rozcieńczony roztwór jodu i jodku potasu)

	Swoistość międzyse-ryjna	Czułość międzyse-ryjna	Swoistość wewnątrz-seryjna	Czułość wewnątrz-seryjna
Barwienie metodą Grama				
Mikroorganizmy Gram-dodatnie	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganizmy Gram-ujemne	20/20	20/20	7/7	7/7

Wyniki analityczne

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

Wyniki niniejszej Oceny Wydajności potwierdzają, że produkty są odpowiednie do zamierzonego zastosowania i działają niezawodnie.

Diagnostyka

Diagnozy może stawiać wyłącznie odpowiednio upoważniony i wykwalifikowany personel. Należy stosować obowiązujące nazewnictwo. Metodę tą można dodatkowo stosować w diagnostyce ludzkiej. Należy wyznaczyć i przeprowadzić dalsze badania zgodnie z uznanymi metodami. Podczas każdego zastosowania należy korzystać z materiałów kontrolnych w celu zweryfikowania wyników. Do kontroli zestawu do barwienia można używać bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Należy używać bakterii pobranych z hodowli po 18-24 godz. inkubacji.

Przechowywanie

Płyn Lugola stabilizowany PVP (poliwinylolipirolidonem) – do barwienia metodą Grama i Płyn Lugola (rozcieńczony roztwór jodu i jodku potasu) – do barwienia metodą Grama należy przechowywać w temperaturze od +15°C do +25°C. W temperaturze poniżej 15°C z roztworów do barwienia może wytrącać się kolorowy osad. W razie wytrącenia się osadu należy umieścić butelkę na 2-3 godziny w kąpeli wodnej o temp. ok. 60°C. Spowoduje to ponowne rozpuszczenie większości osadu. Następnie należy przefiltrować roztwory do barwienia za pomocą filtra papierowego.

Okres przydatności do użycia

Płyn Lugola stabilizowany PVP (poliwinylolipirolidonem) – do barwienia metodą Grama i Płyn Lugola (rozcieńczony roztwór jodu i jodku potasu) – do barwienia metodą Grama nie należy używać po upływie wskazanego terminu przydatności do użycia. Po otwarciu butelki po raz pierwszy zawartość nadaje się do użycia do wskazanego terminu przydatności do użycia, jeżeli wyrób jest przechowywany w temperaturze od +15°C do +25°C. Podczas przechowywania butelki powinny zawsze pozostawać szczelnie zamknięte.

Pojemność

ok. 250 barwień/500 ml

Dodatkowe instrukcje

Wyłącznie do użytku przez specjalistów.

W celu uniknięcia błędów wyrobu powinien używać wyłącznie wykwalifikowany personel. Należy przestrzegać krajowych wytycznych w zakresie bezpieczeństwa pracy i kontroli jakości. Należy używać mikroskopów, których wyposażenie odpowiada obowiązującym normom. W razie potrzeby należy użyć standardowej wirówki odpowiadającej wymogom laboratorium diagnostyki medycznej.

Ochrona przed zakażeniem

Należy stosować skuteczne środki ochrony przed zakażeniami zgodne z wytycznymi laboratoryjnymi.

Instrukcje dotyczące utylizacji

Opakowanie należy zutylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi usuwania odpadów.
Zużyte roztwory i roztwory po terminie przydatności do użycia należy zutylizować zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi odpadów specjalnych. Informacje dotyczące utylizacji można znaleźć, korzystając z łącza „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Wskazówki dotyczące utylizacji produktów do mikroskopii”) w witrynie www.microscopy-products.com. Na terenie UE obowiązuje obecnie rozporządzenie (WE) nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006.

Odczynniki pomocnicze

Nr kat. 1.04699	Olejek imersyjny do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 100 ml, 500 ml
Nr kat. 1.07960	Entellan™ środek do szybkiego zamykania preparatów mikroskopowych	500 ml
Nr kat. 1.07961	Entellan™ nowy środek do szybkiego zamykania preparatów mikroskopowych	100 ml, 500 ml, 1 l
Nr kat. 1.09016	Neo-Mount™ bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 500 ml
Nr kat. 1.09217	Roztwór Grama: safranina do barwienia metodą Grama	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.09218	Roztwór Grama: fiolet krystaliczny do barwienia metodą Grama	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.10218	Roztwór odbarwiający Grama do barwienia metodą Grama	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.11885	Gram-Color zestaw roztworów do barwienia metodą Grama	1 set

Klasyfikacja zagrożeń

Nr kat. 1.09261

Nr kat. 1.00567

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

Nr kat. 1.00567

UWAGA! Zawiera substancje CMR. Należy przestrzegać odpowiednich wskazań bezpieczeństwa podanych w karcie charakterystyki.

Główne składniki produktów

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

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

Uwaga ogólna

Jeśli podczas użytkowania tego urządzenia lub w wyniku jego użytkowania wystąpił poważny incydent, to należy zgłosić to producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz organowi krajowemu.

Literatura

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Nr kat. 1.00567



H318: Powoduje poważne uszkodzenie oczu.

H360D: Może działać szkodliwie na dziecko w łonie matki.

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

P202: Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa. P273: Unikać uwolnienia do środowiska.

P280: Stosować ochronę oczu/ ochronę twarzy.

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

P308 + P313: W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

P405: Przechowywać pod zamknięciem.

Historia zmian

Wersja	Komentarz do modyfikacji
2024-Jul-24	Pierwsza wersja z wprowadzoną historią zmian
2025-Oct-29 V.1	Aktualizacja klasyfikacji zagrożeń. Dodanie nowego symbolu i zwrotów H/P.



Zapoznać się z instrukcją użytkowania



Producent



Numer katalogowy



Kod partii



Uwaga: należy zapoznać się z dokumentacją towarzyszącą.



Termin przydatności do użycia: RRRR-MM-DD



Ograniczenia termiczne

Status: 2025-Oct-29 V.1

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

© 2025 MerckKGaA, Darmstadt, Germany i/lub jej spółki stowarzyszone. Wszelkie prawa zastrzeżone. Merck i Sigma-Aldrich to znaki towarowe firmy Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Wszystkie inne znaki towarowe należą do ich właścicieli. Szczegółowe informacje na temat znaków towarowych są dostępne w publicznie dostępnych zasobach.



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

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Microscopia

Solução de Lugol estabilizada com PVP

para coloração de Gram

Solução de Lugol (solução diluída de iodo-iodeto de potássio)

para a coloração de Gram

Apenas para utilização profissional



Dispositivo Médico para Diagnóstico *In-Vitro*



Finalidade prevista

A „Solução de Lugol estabilizada com PVP - para coloração de Gram”, e a „Solução de Lugol (solução diluída de iodo-iodeto de potássio) para a coloração de Gram” são utilizadas para diagnóstico médico de célula humana e servem para investigação bacteriológica de material de amostra de origem humana. São soluções prontas a usar que, quando usadas juntamente com outros produtos de diagnóstico *in-vitro* da nossa gama, tornam as estruturas-alvo bacterianas (bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas) por fixação, coloração, contracoloração, montagem materiais de amostra bacteriológica. p.ex., esfregaços de líquidos corporais, avaliáveis para fins de diagnóstico.

As estruturas não coradas têm relativamente pouco contraste e são extremamente difíceis de distinguir no microscópio ótico. As imagens criadas utilizando as soluções de coloração ajudam o investigador autorizado e qualificado a definir melhor a forma e a estrutura, nestes casos. Têm de ser efetuados testes adicionais, de acordo com métodos válidos reconhecidos, para se obter um diagnóstico definitivo.

Princípio

Em bacteriologia, a coloração Gram permite diferenciar rapidamente bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

A estrutura de mureína da parede da bactéria é a base da afinidade da cor. No primeiro passo, as bactérias serão coloridas com violeta cristalino, um corante de anilina. Após o tratamento com solução de iodo (solução de Lugol), forma-se um complexo de corante por iodina. Durante o passo de descoloração, este complexo permanece na estrutura multicamadas de mureína da parede celular das bactérias Gram-positivas – que surgem azuis-arroxeadas.

Bactérias Gram-negativas, pelo contrário, têm uma parede celular composta por uma estrutura monocamada de mureína e voltam a libertar, correspondentemente, o corante de coloração com a solução descolorante. Bactérias Gram-negativas serão contracoloradas com solução de safranina e adquirem depois a cor rosa a vermelho.

Material da amostra

Líquidos corporais, efusões, pus, material líquido ou colonizado

Reagentes

Cat. n.º 1.00567
 Solução de Lugol estabilizada com PVP 1 l, 2,5 l
 para coloração Gram

Cat. n.º 1.09261
 Solução de Lugol (solução diluída de iodo-iodeto de potássio) 1 l, 2,5 l
 para a coloração de Gram

Também necessário:

Cat. n.º 1.09217	Solução de safranina segundo Gram para a coloração de Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º 1.09218	Solução de violeta cristal segundo Gram para a coloração de Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º 1.10218	Solução descolorante de Gram para o método de coloração de Gram	500 ml, 2,5 l

Em alternativa:

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

Cat. n.º 1.11885.0001	Gram-Color	1 set
Conjunto para a coloração Gram		

Preparação da amostra

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

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

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

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

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

Preparação do reagente

As 2 soluções usadas para coloração – a Solução de Lugol estabilizada com PVP - para coloração de Gram, e a Solução de Lugol (solução diluída de iodo-iodeto de potássio) para a coloração de Gram – estão prontas a usar; não é necessária diluição das soluções, o que apenas causaria deterioração do resultado da coloração e da estabilidade.

Procedimento

Coloração na célula de coloração

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

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

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

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

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

* filtre a solução de Lugol após 3 passagens

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

Coloração no rack de coloração

Lâmina com esfregaço fixo		
Solução de violeta cristal segundo Gram	cubra completamente e deixe reagir	1 min.
Solução de Lugol	enxague brevemente	
Solução de Lugol	cubra completamente e deixe reagir	1 min.
Água destilada	lave cuidadosamente	5 seg.
Solução descolorante de Gram	faça rodar cuidadosamente as lâminas até que deixe de ser formar nuvens de co-rante e até que o esfregaço adquira uma cor cinzenta-azulada	10 - 15 seg.
Água destilada	lave cuidadosamente	5 seg.
Solução de safranina segundo Gram	cubra completamente e deixe reagir	1 min.
Água destilada	lave cuidadosamente	5 seg.
Secar ao ar (p.ex., durante a noite ou a 50°C na estufa de secagem)		

Recomenda-se a cobertura com meios de montagem não-aquosos (p.ex., Neo-Mount™ ou Entellan™) e com um vidro de cobertura, para armazenar amostras bacteriológicas durante vários meses. Para esse efeito, as amos-tras coloridas têm de ser muito bem secas. Quando deixadas não monta-das, a coloração permanece estável durante aprox. 3 dias, coberta com óleo de imersão durante apenas algumas horas.

A utilização de óleo de imersão é recomendada para análise de lâminas coloridas com ampliação microscópica de >40x.

Coloração no automatismo de coloração

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

Resultado

Microorganismos Gram-positivos	azul-violeta
Microorganismos Gram-negativos	rosa a vermelho

Resolução de anomalias

Fixação de amostras em esfregaço

É essencial um determinado grau de termofixação com um bico de Bunsen ou numa estufa de calor, a fim de evitar o potencial infeccioso das amostras e demais proliferação das bactérias.

Sem coloração das bactérias Gram-positivas

A fase crítica do procedimento de coloração de Gram é o passo de descolo-ração, que pode ser influenciado pela espessura do esfregaço. Além disso, uma solução descolorante fresca é altamente reativa, razão pela qual o resultado deve ser avaliado com cautela. Durante o passo de descoloração, o utilizador deverá cumprir os tempos de incubação exatos descritos no protocolo, uma vez que, de contrário, podem surgir resultados falso-nega-tivos.

Notas técnicas

O microscópio usado deverá cumprir os requisitos de um laboratório de diagnóstico médico.

Ao utilizar sistemas de coloração automática, por favor, siga as instruções de utilização disponibilizadas pelo fornecedor do sistema e do software.

Retire o excedente do óleo de imersão antes de encher.

Características do desempenho analítico

“Solução de Lugol estabilizada com PVP” e “Solução de Lugol (solução diluí-da de iodo-iodeto de potássio)” ajudam no exame microscópico de estru-turas biológicas, tal como descrito na “Finalidade prevista” desta instrução de utilização. A utilização dos produtos deve ser efetuada apenas por pessoas autorizadas e qualificadas e isto inclui, entre outras coisas, preparação de amostras e reagentes, manuseamento de amostras, decisões relativamente a controlos adequados e mais.

O desempenho analítico dos produtos é confirmado através da testagem de todos os lotes de produção.

Para os seguintes corantes, o desempenho analítico foi confirmado em ter-mos de especificidade, sensibilidade e repetibilidade do produto com uma taxa de 100 %:

Cat. n.º 1.00567 - Solução de Lugol estabilizada com PVP

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

Resultados do desempenho analítico

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

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

Resultados do desempenho analítico

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

Os resultados desta avaliação do desempenho confirmam que os produtos são adequados para a utilização prevista e que têm um desempenho fiável.

Diagnóstico

Os diagnósticos devem ser feitos apenas por pessoal autorizado e qualifi-cado.

Devem ser utilizadas nomenclaturas válidas.

Este método pode ser utilizado de forma complementar no diagnóstico em seres humanos.

Devem ser selecionados e implementados outros testes, de acordo com métodos reconhecidos.

Devem ser realizados controlos adequados a cada aplicação, a fim de evitar resultados incorretos.

O controlo pode ser executado com bactérias Gram-positivas e Gram-nega-tivas. Devem ser usadas bactérias retiradas de um meio de cultura após 18 - 24 horas de incubação.

Armazenamento

Armazene a Solução de Lugol estabilizada com PVP - para coloração de Gram, e a Solução de Lugol (solução diluída de iodo-iodeto de potássio) para a coloração de Gram, entre +15°C e +25°C.

A temperaturas abaixo de 15°C, poderá ocorrer um depósito de precipitado colorido das soluções de coloração. Se tiver ocorrido precipitação, coloque o frasco durante 2 - 3 horas num banho de água aprox. a 60°C. Isso irá voltar a dissolver a maior parte do precipitado. Em seguida, filtre as soluções de coloração através de um filtro de papel.

Durabilidade

A Solução de Lugol estabilizada com PVP - para coloração de Gram, e a So-lução de Lugol (solução diluída de iodo-iodeto de potássio) para a coloração de Gram, podem ser usadas até expirar a data de validade indicada.

Após a primeira abertura do frasco, o conteúdo pode ser usado até expirar a data de validade indicada, desde que conservado entre +15°C e +25°C.

Os frascos têm de ser sempre mantidos hermeticamente fechados.

Capacidade

aprox. 250 colorações / 500 ml

Instruções adicionais

Apenas para utilização profissional.

A fim de evitar erros, a aplicação apenas pode ser realizada por pessoal qualificado.

Têm de ser seguidas as diretrizes nacionais sobre segurança no trabalho e garantia de qualidade.

Têm de ser utilizados microscópios equipados de acordo com o padrão.

Se necessário, utilize uma centrífugadora padrão adequada a laboratórios de diagnóstico médico.

Proteção contra infeções

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

Instruções para eliminação

A embalagem tem de ser eliminada de acordo com as atuais diretrizes sobre eliminação.

As soluções utilizadas e as soluções que excedam a durabilidade têm de ser eliminadas como resíduos especiais, de acordo com as diretrizes locais.

Informação sobre eliminação pode ser obtida através do link rápido “Dicas para Eliminação de Produtos de Microscopia” em www.microscopy-products.com. Dentro da UE, aplica-se o Regulamento (CE) n.º 1272/2008 sobre classificação, rotulagem e embalagem de subs-tâncias e misturas, que altera e revoga as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.

Reagentes auxiliares

Cat. n.º 1.04699	Óleo de imersão para microscopia	Frasco de instila-ção de 100 ml; 100 ml, 500 ml
Cat. n.º 1.07960	Entellan™ Meio de montagem rápido, para a microscopia	500 ml
Cat. n.º 1.07961	Entellan™ Novo meio de montagem rápido para microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l

Cat. n.º	1.09016	Neo-Mount™ Meio de montagem anidro para microscopia	Frasco de instila- ção de 100 ml; 500 ml
Cat. n.º	1.09217	Solução de safranina segundo Gram para a coloração de Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.09218	Solução de violeta cristal segundo Gram para a coloração de Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.10218	Solução descolorante de Gram para o método de coloração de Gram	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.11885	Gram-Color Conjunto para a coloração Gram	1 set

Classificação do perigo

Cat. n.º 1.09261
Cat. n.º 1.00567
Observe a classificação de perigo impressa no rótulo e a informação dada na ficha de dados de segurança.
A ficha de dados de segurança está disponível no site na Internet e por pedido.

Cat. n.º 1.00567
CUIDADO! Contém substâncias CMR. Cumpra as instruções de segurança correspondentes fornecidas da ficha de dados de segurança.

Principais componentes dos produtos

Cat. n.º 1.00567
PVP-Iodo 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1,02 kg

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

Comentário geral

Se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, queira comunicá-lo ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Literatura

- 1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- 2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Cat. n.º 1.00567



H318: Provoca lesões oculares graves.
H360D: Pode prejudicar o feto.
H412: Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados.

P202: Não manuseie o produto antes de ter lido e compreendido todas as precauções de segurança.
P273: Evite a liberação para o meio ambiente.
P280: Use proteção ocular/ proteção facial.
P305 + P351 + P338: EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água durante vários minutos. No caso de uso de lentes de contato, remova-as, se for fácil. Continue enxaguando.
P308 + P313: EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Consulte um médico.
P405: Armazene em local fechado à chave.

Histórico de revisões

Versão	Comentário à modificação
2024-Jul-24	Versão inicial com a introdução do histórico de re- visões
2025-Oct-29 V.1	Atualização da classificação de perigo. Adição de novo símbolo e frases H/P.

Consulte as instruções
de utilização

Fabricante

Número de
catálogo

Código do
lote

Cuidado: consulte os
documentos anexos

Usar até
AAAA-MM-DD

Limite de
temperatura

Status: 2025-Oct-29 V.1

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Микроскопия

Луголов разтвор стабилизирани с PVP

за оцветяване по Грам

Луголов разтвор (разреден разтвор на йод-калиев йодид)

за оцветяване по Грам

Само за професионална употреба

IVD Медицинско изделие за *in vitro* диагностика



Предназначение

Тези разтвори „Луголов разтвор стабилизирани с PVP - за оцветяване по Грам“ и „Луголов разтвор (разреден разтвор на йод-калиев йодид) - за оцветяване по Грам“ се използват за диагностика на човешки клетки и служат за бактериологично изследване на материал от проби от човешки произход. Те са готови за употреба разтвори, които при употреба заедно с други продукти за *in vitro* диагностика от нашия портфейл правят бактериалните таргетни структури оценими за диагностични цели (Gram-положителни или Gram-отрицателни бактерии) чрез фиксиране, оцветяване, контраоцветяване, поставяне върху предметно стъкло в материали от бактериологични проби, например натривки от телесни течности.

Неоцветените структури са със сравнително слаб контраст и са изключително трудни за разграничаване под наблюдение със светлинен микроскоп. Изображенията, създадени с помощта на разтворите за оцветяване, помагат на упълномощения и квалифициран изследовател по-добре да определи формата и структурата в такива случаи. Трябва да се извършат допълнителни изследвания в съответствие с признати, валидни методи, за да се достигне до дефинитивна диагноза.

Принцип

В бактериологията оцветяването по Грам позволява бързо диференциране на бактериите на Gram-положителни и Gram-отрицателни.

Муреиновата структура на бактериалната стена е основата на афините-та към багрила.

В първата стъпка бактериите ще се оцветят с кристално виолетово, анилиново багрило. След третирането с йоден разтвор (луголов разтвор) ще се образува комплекс багрило-йод. По време на стъпката на обезцветяване този комплекс остава в многослойната муреинова структура на клетъчната стена на Gram-положителните бактерии - те ще изглеждат синьо-виолетови.

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

Материал на пробите

Телесни течности, ексудати, гной, течни и твърди култури

Реагенти

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

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

Необходими са също:

Кат. №	1.09217	Сафранин разтвор по Грам за оцветяване по Грам	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.09218	Кристален виолетов разтвор по Грам за оцветяване по Грам	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.10218	Обезцветяващ разтвор по Грам за оцветяване по Грам	500 ml, 2,5 l

Като алтернатива:

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

Кат. № 1.11885.0001
 Gram-Color 1 set
 набор за оцветяване по Грам

Подготовка на пробите

Вземането на проби трябва да се извършва от квалифициран персонал. Нанесете материала на пробата върху чисто предметно стъкло без мазнина с помощта на закалена примка. След това пригответе натривка от материала или директно върху предметното стъкло, или като първо смесите с 1 - 2 капки физиологичен разтвор (разтвор на Ringer). Изсушете на въздух и след това фиксирайте чрез загреване, като бавно изгледате предметното стъкло (с обърната нагоре страна с натривка) през горната част на пламъка на горелката Bunsen трикратно. След това оставете да се охлади и оцветете.

Натривките, изсушени на въздух, трябва да се фиксират чрез загреване много внимателно. Това предотвратява риска от инфекции и намалява разтварянето на материала на пробите и следователно - контаминация на разтворите и на другите предметни стъкла.

Всички проби трябва да се третират с използване на най-актуалната технология.

Всички проби трябва ясно да се обозначат.

За вземане на проби и тяхната подготовка трябва да се използват подходящи инструменти. Следвайте инструкциите за приложение / употреба на производителя.

Когато се използват съответните помощни реагенти, трябва да се спазват съответните инструкции за употреба.

Подготовка на реагентите

Луголов разтвор стабилизирани с PVP - за оцветяване по Грам и Луголов разтвор (разреден разтвор на йод-калиев йодид) - за оцветяване по Грам, използвани за оцветяване, са готови за употреба, не е необходимо разреждане на разтворите, то само влошава резултата от оцветяването и стабилността им.

Процедура

Оцветяване в клетката за оцветяване

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

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

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

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

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

* филтрирайте луголовия разтвор след 3 цикъла

** изхвърлете разтвора за обезцветяване по Грам след 5 цикъла

Оцветяване на стойката за оцветяване

Предметно стъкло с фиксирана натривка		
Кристален виолетов разтвор по Gram	покрийте напълно и оставете да протече реакция	1 мин.
Луголов разтвор	изплакнете за кратко	
Луголов разтвор	покрийте напълно и оставете да протече реакция	1 мин.
Дестилирана вода	измийте внимателно	5 сек.
Обезцветяващ разтвор по Gram	завъртете внимателно предметните стъкла, докато спрат да се образуват облачета багрило и натривката придобие сиво-син цвят	10 - 15 сек.
Дестилирана вода	измийте внимателно	5 сек.
Сафранин разтвор по Gram	покрийте напълно и оставете да протече реакция	1 мин.
Дестилирана вода	измийте внимателно	5 сек.
Изсушете на въздух (напр. за денонощие или при 50 °C в шкафа за изсушаване)		

За съхранение на бактериологични проби за няколко месеца се препоръчва покриване с неводна среда за поставяне върху предметното стъкло (напр. Neo-Mount™ или Entellan™) и с покривно стъкло. За тази цел оцветените проби трябва да се изсушат много добре. Препоръчва се използване на имерсионно масло за анализ на оцветени предметни стъкла с микроскопско увеличение >40x.

Оцветяване в автоматичния уред за оцветяване

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

Резултат

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

Отстраняване на проблеми

Фиксиране на натривките от проби

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

Липса на оцветяване на Gram-положителните бактерии

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

Технически забележки

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

Аналитични работни характеристики

„Луголов разтвор стабилизирaн с PVP“ и „Луголов разтвор (разреден разтвор на йод-калиев йодид)“ подпомагат микроскопското изследване на биологични структури, както е описано в „Предназначение“ на настоящите инструкции за употреба. Продуктите трябва да се използват само от упълномощени и квалифицирани лица, това включва, освен другите неща, подготовка на пробите и реагентите, боравене с пробите, решения по отношение на подходящите контроли и други.

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

Аналитичните характеристики са потвърдени за следните оцветявания по отношение на специфичност, чувствителност и повтарямост на продукта на ниво 100 %:

Кат. № 1.00567 - Луголов разтвор стабилизирaн с PVP

	Специ- фичност между тестовете	Чувстви- телност между тестовете	Специ- фичност в рамките на теста	Чувстви- телност в рамките на теста
Оцветяване по Gram				
Gram-положителни микроорганизми	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-отрицателни микроорганизми	20/20	20/20	7/7	7/7

Аналитични работни резултати

Кат. № 1.09261 - Луголов разтвор (разреден разтвор на йод-калиев йодид)

	Специ- фичност между тестовете	Чувстви- телност между тестовете	Специ- фичност в рамките на теста	Чувстви- телност в рамките на теста
Оцветяване по Gram				
Gram-положителни микроорганизми	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-отрицателни микроорганизми	20/20	20/20	7/7	7/7

Аналитични работни резултати

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

Резултатите на тази оценка на работните характеристики потвърждават че продуктите са подходящи за предназначението и функционират надеждно.

Диагностика

Диагнозите следва да се поставят само от упълномощен и квалифициран персонал. Трябва да се използва валидна номенклатура. Този метод може да се използва допълнително в диагностиката при хора. Трябва да се подберат и извършат допълнителни изследвания в съответствие с признати методи. При всяко приложение трябва да се използват подходящи контроли, за да се избегне неправилен резултат. Китът за оцветяване може да се контролира с Gram-положителни бактерии и Gram-отрицателни бактерии. Трябва да се използват бактерии, взети от културна среда след 18 - 24 часа инкубация.

Съхранение

Съхранявайте Луголов разтвор стабилизирaн с PVP - за оцветяване по Грам и Луголов разтвор (разреден разтвор на йод-калиев йодид) - за оцветяване по Грам при +15 °C до +25 °C. При температури под 15 °C от разтворите за оцветяване може да се отдели оцветена утайка. Ако се е получило утаяване, поставете бутилката за 2 - 3 часа във водна баня, настроена на прибл. 60 °C. Това ще разтвори отново по-голямата част от утайката. След това филтрирайте разтворите за оцветяване през филтърна хартия.

Срок на годност

Луголов разтвор стабилизирaн с PVP - за оцветяване по Грам и Луголов разтвор (разреден разтвор на йод-калиев йодид) - за оцветяване по Грам могат да се използват до посочената дата на срок на годност. След първото отваряне на бутилката съдържанието може да се използва до посочената дата на срок на годност, когато се съхранява при +15 °C до +25 °C. Бутилките трябва винаги да се съхраняват плътно затворени.

Капацитет

прибл. 250 оцветявания / 500 ml

Допълнителни инструкции

Само за професионална употреба

За да се избегнат грешки приложението трябва да се извършва самоот квалифициран персонал.

Трябва да се следват националните указания за осигуряване на безопасност и качество при работа.

Трябва да се използват микроскопи със стандартно оборудване.

Ако е необходимо, използвайте стандартна центрофуга, подходяща за медицинска диагностична лаборатория.

Защита от инфекция

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

Инструкции за изхвърляне

Опаковката трябва да се изхвърли в съответствие с актуалните указания за изхвърляне.

Използваните разтвори и разтворите с изтекъл срок на годност трябва да се изхвърлят като специален отпадък в съответствие с местните указания. Информация за изхвърлянето може да се получи от бързия линк

„Съвети за изхвърляне на продукти за микроскопия“ от www.microscopy-products.com. В рамките на ЕС е в сила приложимият понастоящем РЕГЛАМЕНТ (ЕК) № 1272/2008 за класификация, обозначаване и опаковане на вещества и смеси, поправящ и заместващ Директиви 67/548/ЕО и 1999/45/ЕК, и поправящ Регламент (ЕК) № 1907/2006.

Спомагателни реагенти

Кат. №	1.04699	Имерсионно масло за микроскопия	100-ml бутилка за накапване, 100 ml, 500 ml
Кат. №	1.07960	Entellan™ бърз среда за заливка за микроскопия	500 ml
Кат. №	1.07961	Entellan™ new бърз среда за заливка за микроскопия	100 ml, 500 ml, 1 l
Кат. №	1.09016	Neo-Mount™ безводна среда за микроскопия	100-ml бутилка за накапване, 500 ml
Кат. №	1.09217	Сафранин виолетов разтвор по Gram за оцветяване по Gram	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.09218	Кристален виолетов разтвор по Gram за оцветяване по Gram	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.10218	Обезцветяващ виолетов разтвор по Gram за оцветяване по Gram	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.11885	Gram-Color набор за оцветяване по Gram	1 set

Класификация на рисковете

Кат. № 1.09261

Кат. № 1.00567

Моля, спазвайте класификацията на рисковете, отпечатана на етикета, и информацията, дадена в листа с данни за безопасност.

Листът с данни за безопасност може да се намери в уебсайта и при поискване.

Кат. № 1.00567

ВНИМАНИЕ! Съдържа CMR вещества. Моля, спазвайте съответните инструкции за безопасност от листа с данни за безопасност.

Основни компоненти на продуктите

Кат. № 1.00567

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

Кат. № 1.09261

I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l =	1,01 kg

Обща забележка

Ако по време на използването на това изделие или в резултат на употребата му възникне сериозен инцидент, моля, съобщете за него на производителя и/или на неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Литература

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Кат. № 1.00567



H318: Предизвиква сериозно увреждане на очите.

H360D: Може да увреди плода.

H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект.

P202: Не използвайте преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност.

P273: Да се избягва изпускане в околната среда.

P280: Използвайте предпазни очила/ предпазна маска за лице.

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

P308 + P313: ПРИ явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/ помощ.

P405: Да се съхранява под ключ.

Хронология на редакциите

Версия	Коментар за модификацията
2024-Jul-24	Първоначална версия с въвеждането на хронология на редакциите
2025-Oct-29 V.1	Актуализиране на класификацията на опасностите. Добавяне на нов символ и изречения с H/P фрази.



Направте справка в инструкциите за употреба



Производител



Каталожен номер



Код на партида



Внимание, направте справка в придружаващите документи



Срок на годност ГГГГ-ММ-ДД



Ограничение за температура

Status: 2025-Oct-29 V.1

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

© 2025 Merck KGaA, Дармщат, Германия и/или техните филиали. Всички права запазени. Merck и Sigma-Aldrich са търговски марки на Merck KGaA, Дармщат, Германия. Всички други търговски марки са притежание на съответните им собственици. Подробна информация за търговските марки може да се намери в публично достъпните източници.



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Mikroszkópia

Lugol-oldat PVP-vel stabilizálva

Gram festéshez

Lugol-oldat (híg jód/kálium-jodid oldat)

Gram festéshez

Csak professzionális használatra

IVD *In vitro* diagnosztikai orvostechnikai eszköz



Rendeltetés

Ez a "Lugol-oldat PVP-vel stabilizálva - Gram-festéshez" és a "Lugol-oldat (híg jód/kálium-jodid oldat) - Gram-festéshez" humán-orvosi sejt diagnosztikához használatos és célja a humán eredetű mintaanyag bakteriológiai vizsgálata. Ezek használatra kész oldatok, amelyek termékínalátunk más *in vitro* diagnosztikai termékeivel együtt használva diagnosztikai célokra értékelhetővé teszi a bakteriális célstruktúrákat (Gram-pozitív vagy Gram-negatív baktériumok) bakteriológiai mintaanyagok (pl. testnedvek kenetei) rögzítése, színezése, kontrasztszínezése, felrakása révén.

Nem színezett struktúrák viszonylag alacsony kontrasztúak és fénymikroszkóppal rendkívül nehezen megkülönböztethetőek. Ilyen esetekben a színező oldatokkal létrehozott képek segítik az engedélyezett és képzett vizsgálatot az alak és a struktúrák jobb meghatározásában. További vizsgálatokat kell végezni elismert, érvényes módszerek szerint, definitív diagnózis felállítására céljából.

Elv

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

A baktériumfal murein szerkezete a színaffinitás alapja. Az első lépésben a baktérium színezése a kristályibolya anilinfestékekkel történik. Jódoldattal (Lugol-féle oldat) való kezelés után festék-jód komplex képződik. A szintelenítési lépésben ez a komplex a Gram-pozitív baktérium sejtfal többretegű murein szerkezetében marad - ezek kékibolya színben jelennek meg. Ezzel szemben a Gram-negatív baktériumok sejtfa egyrétegű murein struktúrából áll, és ennek megfelelően a szintelenítő oldattal kioldódik a színező festék. A Gram-negatív baktériumokat kontrasztszínezik safranin oldattal és ezután rózsaszín és piros közötti színben fognak megjelenni.

Mintaanyag

Testnedvek, váladékok, genny, folyékony és szilárd kultúrák

Reagens

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

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

Szintén szükséges:

Kat. sz. 1.10218 Gram-féle szintelenítő oldat 500 ml, 2,5 l
 Gram festéshez
 Kat. sz. 1.09218 Gram-féle kristályibolya oldat 500 ml, 2,5 l
 Gram festéshez

Alternatív módon:

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

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

Minta-előkészítés

A mintavételt kiképzett személyzetnek kell végrehajtani.

Hőkezelt hurok használatával alkalmazza a mintaanyagot tiszta és zsírmentes tárgylemezre. Ezután kenje az anyagot közvetlenül a tárgylemezre vagy először keverjen hozzá 1 - 2 csepp fiziológiai sóoldatot (Ringer-oldat). Szárítsa levegőn, majd rögzítse hővel oly módon, hogy háromszor lassan áthúzza a tárgylemezt (kenetes oldalával felfelé) a Bunsen-égő lángjának felső részén. Ezt követően hagyja lehűlni, majd színezze.

A levegőn szárított kenetek hőrozgátását nagyon gondosan kell végezni. Ez megakadályozza a fertőzés kockázatát és csökkenti a mintaanyag leoldódását, és így módon az oldatok és más tárgylemezek szennyeződését.

Minden mintát a legkorszerűbb technológiával kell kezelni.

Minden mintát világosan fel kell címkézni.

Megfelelő műszereket kell használni mintavételhez és előkészítéshez. Kövesse a gyártó utasításait az alkalmazásra / használatra vonatkozóan.

A megfelelő kisegítő reagens használatkor be kell tartani a megfelelő utasításokat.

Reagens-előkészítés

A Lugol-oldat PVP-vel stabilizálva - Gram-festéshez és a Lugol-oldat (híg jód/kálium-jodid oldat) - Gram-festéshez színezésre használt oldatok használatra készek, az oldatok hígítása nem szükséges és az csak a színezési eredmény és a stabilitás rosszabbodását eredményezi.

Eljárás

Színezés a színező cellában

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

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

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

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

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

* 3 menet után szűrje le a Lugol-féle oldatot

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

Színezés a színező állványon

Tárgylemez rögzített kenettel		
Gram-féle kristályibolya oldat	fedje le teljesen és hagyja reagálni	1 perc
Lugol-oldat	röviden öblítse	
Lugol-oldat	fedje le teljesen és hagyja reagálni	1 perc
Desztillált víz	mossa gondosan	5 sec
Gram-féle szintelenítő oldat	óvatosan mozgassa a tárgylemezeket, amíg nem keletkezik további színezékelhő, és a kenet szürkés-kék színű nem lesz	10 - 15 sec
Desztillált víz	mossa gondosan	5 sec
Gram-féle safranin oldat	fedje le teljesen és hagyja reagálni	1 perc
Desztillált víz	mossa gondosan	5 sec
Levegőn szárítás (pl. egy éjszakán át vagy 50°C-on szárítószekrényben)		

Bakteriológiai minták több hónapos tárolása esetén ajánlott a lefedés nem vízalapú felrakó közeggel (pl. Neo-Mount™ vagy Entellan™) és fedő üveglappal. Ennek céljából a színezett mintákat nagyon jól meg kell szárítani.

Immerziós olaj használata javasolt a színezett tárgylemezek elemzésére >40x mikroszkópos nagyítás mellett.

Színezés az automatikus színezőben

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

Eredmény

Gram-pozitív mikroorganizmusok	kékibolya
Gram-negatív mikroorganizmusok	rózsaszíntől pirosig

Hibaelhárítás

Kenetminták rögzítése

Megfelelő mértékű hőörgzítés (Bunsen-égő használatával vagy fűtőszekrényben) szükséges a minták fertőző potenciáljának és baktériumok szaporodásának megelőzéséhez.

Gram-pozitív baktériumok nincsenek színezve

A Gram-színezési eljárás kritikus szakasza a színtelenítési lépés, amit befolysíolhat a kenet vastagsága. Ráadásul a friss színtelenítő oldat rendkívül reakcióképes, ezért az eredményt gondosan kell értékelni. A színtelenítési lépés alatt a felhasználók be kell tartsák a protokollban leírt pontos inkubációs időket, egyébként hamis negatív eredményeket kaphatnak.

Műszaki megjegyzések

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

Kérjük, automatikus színezési rendszerek használata esetén kövesse a rendszer és a szoftver gyártójának utasításait. Feltöltés előtt távolítsa el a többlet immerziós olajat.

Analitikai teljesítményjellemzők

“Lugol-oldat PVP-vel stabilizálva” és “Lugol-oldat (híg jód/kálium-jodid oldat)” elősegítik biológiai struktúrák mikroszkópos vizsgálatát, amint az ismertetett ezen használati utasítás “Rendeltetés” c. fejezetében. Csak engedélyezett és kiképzett személyek hajthatják végre a termékek használatát, többek között a minta és a reagens előkészítését, a mintakezelést, és csak ők hozhatnak a megfelelő kontrollokra vonatkozó döntéseket és még sok mást.

A termékek analitikai teljesítményét meg kell erősíteni minden terméktétel ellenőrzésével.

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

Kat. sz. 1.00567 - Lugol-oldat PVP-vel stabilizálva

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

Analitikai teljesítmény eredmények

Kat. sz. 1.09261 - Lugol-oldat (híg jód/kálium-jodid oldat)

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

Analitikai teljesítmény eredmények

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

Ezen teljesítményértékelés megerősíti, hogy a termékek alkalmasak a rendeltetés szerinti használatra és megbízhatóan teljesítenek..

Diagnosztika

Diagnózt csak engedélyezett és kiképzett személyzet készíthet. Érvényes nomenklatúrákat kell használni. Ez a módszer kiegészítésként használható a humán diagnosztikában. További vizsgálatokat kell kiválasztani és bevezetni elismert módszerek szerint.

Megfelelő kontrollokat kell végezni minden alkalmazásnál, a helytelen eredmény elkerülése végett.

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

A kultúráközegből 18 - 24 óra inkubáció után kivett baktériumok használandók.

Tárolás

Tárolja a Lugol-oldat PVP-vel stabilizálva - Gram-festéshez és a Lugol-oldat (híg jód/kálium-jodid oldat) - Gram-festéshez +15 °C - +25 °C-on.

15 °C alatti hőmérsékletű oldatok esetén a színezett precipitátum kiválhat a színező oldatokból. Ha precipitáció történt, helyezze a palackot 2 - 3 órára kb. 60 °C hőmérsékletű vízfürdőbe. Ez fel fogja oldani a precipitátum nagységét. Ezt követően szűrje át a színező oldatot papírszűrőn.

Élettartam

A Lugol-oldat PVP-vel stabilizálva - Gram-festéshez és a Lugol-oldat (híg jód/kálium-jodid oldat) - Gram-festéshez a megadott lejárati ideig használható.

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

A palackokat mindig szorosan lezárva kell tartani.

Kapacitás

kb. 250 színezés / 500 ml

További utasítások

Csak professzionális használatra.

Hibák elkerülése végett az alkalmazást csak kiképzett személyzet hajthatja végre.

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

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

Fertőzés elleni védelem

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

Megsemmisítési utasítások

A csomagot az aktuális megsemmisítési útmutatókkal összhangban kell megsemmisíteni.

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

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

Kisegítő reagensek

Kat. sz.	1.04699	Immerziós olaj mikroszkópiai célra	100 ml-es csepegtető palackban, 100 ml, 500 ml
Kat. sz.	1.07960	Entellan™ gyorsfedőanyag a mikroszkópiához	500 ml
Kat. sz.	1.07961	Entellan™ new gyorsfedőanyag a mikroszkópiához	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. sz.	1.09016	Neo-Mount™ vízmentes fedőanyag mikroszkópiai célra	100 ml-es csepegtető palackban, 500 ml
Kat. sz.	1.09217	Gram-féle szafranin oldat Gram festéshez	500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.09218	Gram-féle kristályibolya oldat Gram festéshez	500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.10218	Gram-féle színtelenítő oldat Gram festéshez	500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.11885	Gram-Color Festőkészlet Gram festéshez	1 set

Veszélyminősítés

Kat. sz. 1.09261

Kat. sz. 1.00567

Kérjük, vegye figyelembe a címkére nyomtatott veszélyminősítést és a biztonsági adatlapon megadott információt.

A biztonsági adatlap megtalálható a webhelyen, illetve megkapható kérésre.

Kat. sz. 1.00567

VIGYÁZAT! CMR-anyagokat tartalmaz. Kérjük, tartsa be a biztonsági adatlapon megadott, megfelelő biztonsági utasításokat.

A termékek fő összetevői

Kat. sz. 1.00567

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

Kat. sz. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
 KI 6,8 g/l
 1 l = 1,01 kg

Általános megjegyzés

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

Irodalom

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Kat. sz. 1.00567

H318: Súlyos szemkárosodást okoz.

H360D: Károsíthatja a születendő gyermeket.

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

P202: Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.

P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280: Szemvédő/ arcvédő használata kötelező.

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

P308 + P313: Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni.

P405: Elzárva tárolandó.

Felülvizsgálati előzmények

verzió	Módosítással kapcsolatos megjegyzé
2024-Jul-24	A Felülvizsgálati előzmények bevezetésével készült első változat
2025-Oct-29 V.1	Veszélyességi besorolás frissítése. Új szimbólum és H-/P-mondatok hozzáadása.



Nézze meg a
használati utasítást



Gyártó



Katalógus szám



Tételkód



Vigyázat, olvassa el a mel-
lékelt dokumentumokat



Lejáratí idő:
ÉÉÉÉ-HH-NN



Hőmérsék-
lethatár

Status: 2025-Oct-29 V.1

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

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Németország és/vagy leányvállalatai. Minden jog fenntartva. Merck és Sigma-Aldrich a Merck KGaA, Darmstadt, Németország, védjegyei. Minden más védjegy megfelelő tulajdonosa birtokában van. A védjegyekre vonatkozó információ rendelkezésre áll nyilvánosan elérhető forrásokból.



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Mikroskopija

Lugola šķīdums, kas stabilizēts ar PVP

krāsošanai pēc Grama metodes

Lugola šķīdums (atšķaidīts joda-kālija jodīda šķīdums)

krāsošanai pēc Grama metodes

Tikai profesionālai lietošanai

IVD *in vitro* diagnostikas medicīniska ierīce



Paredzētais pielietojums

"Lugola šķīdums, kas stabilizēts ar PVP - krāsošanai pēc Grama metodes" un "Lugola šķīdums (atšķaidīts joda-kālija jodīda šķīdums) - krāsošanai pēc Grama metodes" izmanto cilvēka šūnu diagnostikā, lai veiktu cilvēka izcelsmes parauga materiāla bakterioloģisko izmeklēšanu. Tie ir lietošanai gatavi šķīdumi, kas kopā ar citiem mūsu piedāvātajiem *in vitro* diagnostikas izstrādājumiem nodrošina baktēriju mērķa struktūru izvērtēšanu diagnostiskos nolūkos (grampozitīva vai gramnegatīva baktērija), veicot fiksāciju, krāsošanu, kontrastkrāsošanu, nostiprināšanu bakterioloģiskā parauga materiālam, piemēram, ķermeņa šķidrums iztriepēm.

Nekrāsotām struktūrām ir relatīvi neliels kontrasts, un tās ir ārkārtīgi grūti atšķirt gaismas mikroskopā. Šādos gadījumos ar krāsošanas šķīdumiem iekrāsoti preparāti palīdz pilnvarotam un kvalificētam speciālistam labāk noteikt formu un struktūru. Lai noteiktu galīgo diagnozi, jāveic papildu izmeklējumi, izmantojot atzītas un validētas metodes.

Principi

Bakterioloģiskajā izmeklēšanā krāsošana pēc Grama metodes nodrošina ātru grampozitīvo un gramnegatīvo baktēriju diferencēšanu.

Krāsu afinitāti nosaka atšķirīgā peptidoglikānu struktūra baktēriju sienā. Pirmās darbības laikā baktērijas krāso ar anilīna krāsu - kristālvioletu. Pēc apstrādes ar joda šķīdumu (Lugola šķīdums) veidojas krāsvielas-joda komplekss. Atkrāsošanas darbības laikā šis komplekss saglabājas grampozitīvo baktēriju šūnas sienas daudzslāņainajā peptidoglikānu slānī - tās iekrāsojas zili violetā krāsā.

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

Parauga materiāls

Ķermeņa šķidrums, eksudāti, strutas, šķidrās un cietās barotnes

Reaģenti

Kat. nr. 1.00567
 Lugola šķīdums, kas stabilizēts ar PVP 1 l, 2,5 l
 krāsošanai pēc Grama metodes

Kat. nr. 1.09261
 Lugola šķīdums (atšķaidīts joda-kālija jodīda šķīdums) 1 l, 2,5 l
 krāsošanai pēc Grama metodes

Papildus nepieciešams:

Kat. nr. 1.10217 Grama safranīna šķīdums 500 ml, 2,5 l
 krāsošanai pēc Grama metodes
 Kat. nr. 1.09218 Grama kristālvioletā šķīdums 500 ml, 2,5 l
 krāsošanai pēc Grama metodes
 Kat. nr. 1.10218 Grama atkrāsošanas šķīdums 500 ml, 2,5 l
 krāsošanai pēc Grama metodes

Vai arī:

Atsevišķu reaģentu kombinācijas vietā var izmantot krāsošanas komplektu 1.11885.0001:

Kat. nr. 1.11885.0001

Gram-Color

krāsošanas komplekts krāsošanai pēc Grama metodes

1 set

Parauga sagatavošana

Paraugs jāpaņem kvalificētam personālam.

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

Strādājot ar visiem paraugiem, jāizmanto modernākās tehnoloģijas.

Visi paraugi skaidri jāmarķē.

Paraugu paņemšanai un sagatavošanai jāizmanto piemēroti instrumenti.

Ievērojiet ražotāja norādījumus par pielietojumu/lietošanu.

Ja izmantojat atbilstošus papildu reaģentus, jāievēro atbilstošā lietošanas instrukcija.

Reaģentu sagatavošana

Lugola šķīdums, kas stabilizēts ar PVP - krāsošanai pēc Grama metodes un Lugola šķīdums (atšķaidīts joda-kālija jodīda šķīdums) - krāsošanai pēc Grama metodes krāsošanai ir gatavi lietošanai, šķīdumu atšķaidīšana nav nepieciešama un tikai pasliktina krāsošanas rezultātu un krāsojuma stabilitāti.

Procedūra

Krāsošana krāsošanas traukā

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

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

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

Lai nodrošinātu optimālu krāsošanas rezultātu, jāievēro norādītie laiki.

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

* fpēc 3 cikliem filtrējiet Lugola šķīdumu

** pēc 5 cikliem likvidējiet Grama atkrāsošanas šķīdumu

Krāsošana uz krāsošanas statīv

Priekšmetstiklīš ar fiksētu iztriepi		
Grama kristālvioletā šķīdums	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	1 min.
Lugola šķīdums	īsi noskalojiet	
Lugola šķīdums	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	1 min.
Destilēts ūdens	rūpīgi nomazgājiet	5 sek.
Grama atkrāsošanas šķīdums	uzmanīgi rotējiet priekšmetstiklīti, kamēr krāsa vairs nenoskalojas un iztriepe iekrāsojas pelēcīgi zilā krāsā	10 - 15 sek.
Destilēts ūdens	rūpīgi nomazgājiet	5 sek.
Grama safranīna šķīdums	pilnībā pārklājiet un ļaujiet notikt reakcijai	1 min.
Destilēts ūdens	rūpīgi nomazgājiet	5 sek.
Nožāvējiet gaisā (piem., atstājot žāvēties uz nakti, vai žāvējiet 50°C temperatūrā žāvēšanas skapī)		

Lai bakterioloģiskos paraugus uzglabātu vairākus mēnešus, ieteicams tos pārklāt ar ūdeni nesaturošu nostiprināšanas vidi (piem., Neo-Mount™ vai Entellan™) un segstikliņu. Šim nolūkam nokrāsotie priekšmetstikliņi ļoti labi jānožāvē.

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

Krāsošana automātā

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

Rezultāts

Grampozitīvi mikroorganismi	zili violeti
Gramnegatīvi mikroorganismi	rozā līdz sarkani

Traucējumu novēršana

Iztriepes paraugu fiksācija

Lai likvidētu paraugu infekciozitāti un novērstu turpmāku baktēriju vairošanos, ļoti svarīgi ir pietiekami ilgi fiksēt paraugu ar karstumu, izmantojot Bunsena degli vai karstuma skapi.

Grampozitīvo baktēriju neiekrāsošanās

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

Tehniskas piezīmes

Izmantotajam mikroskopam jāatbilst medicīniskās diagnostiskās laboratorijas prasībām. Ja izmantojot automātiskās krāsošanas ierīces, ievērojiet iekārtu un programmatūru piegādātāja lietošanas instrukcijas. Pirms uzpildīšanas notīriet imersijas eļļas atliekas.

Analītiskās veikspējas raksturojums

“Lugola šķīdums, kas stabilizēts ar PVP” un “Lugola šķīdums (atšķaidīts joda-kālija jodīda šķīdums)” ir palīgīdzekļi bioloģisko struktūru mikroskopiskajā izmeklēšanā, kā aprakstīts šīs lietošanas instrukcijas sadaļā “Paredzētais pielietojums”. Šos izstrādājumus drīkst lietot tikai pilnvarotas un kvalificētas personas; lietošana ietver (bet ne tikai) paraugu un reaģentu sagatavošanu, rīkošanos ar paraugu, lēmumu pieņemšanu par piemērotu kontroļu uzmantošanu u.c.

Izstrādājumu analītiskā veikspēja ir apstiprināta, pārbaudot katru izstrādājuma sēriju.

Turpmāk minētajām krāsvielām apstiprinātais izstrādājuma analītiskās veikspējas specifiskums, jutība un atkārtojamība ir 100%:

Kat. nr. 1.00567 - Lugola šķīdums, kas stabilizēts ar PVP

	Specifis-kums starp analīzes sērijām	Jutīgums starp analīzes sērijām	Specifis-kums vienā analīzes sērijā	Jutīgums vienā analīzes sērijā
Krāsošana pēc Grama metodes				
Grampozitīvi mikroorganismi	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramnegatīvi mikroorganismi	20/20	20/20	7/7	7/7

Analītiskās veikspējas rezultāti

Kat. nr. 1.09261 - Lugola šķīdums (atšķaidīts joda-kālija jodīda šķīdums)”

	Specifis-kums starp analīzes sērijām	Jutīgums starp analīzes sērijām	Specifis-kums vienā analīzes sērijā	Jutīgums vienā analīzes sērijā
Krāsošana pēc Grama metodes				
Grampozitīvi mikroorganismi	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramnegatīvi mikroorganismi	20/20	20/20	7/7	7/7

Analītiskās veikspējas rezultāti

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

Šie veikspējas novērtējuma rezultāti apstiprina, ka izstrādājumi ir piemēroti paredzētajam pielietojumam un to darbība ir uzticama.

Diagnostika

Diagnoze jānosaka tikai pilnvarotam un kvalificētam personālam. Jāizmanto apstiprināta terminoloģija. Šo metodi var izmantot kā papildmetodi diagnozes noteikšanai cilvēkiem. Jāizvēlas un jāveic papildu izmeklējumi, izmantojot atzītas metodes.

Katrā lietošanas reizē jāizmanto piemērotas kontroles, lai izvairītos no nepareiza rezultāta iegūšanas.

Kā krāsošanas komplekta kontroles var izmantot grampozitīvas un gramnegatīvas baktērijas. Jāizmanto baktērijas, kas iegūtas no barotnes pēc 18 – 24 stundu inkubācijas perioda.

Uzglabāšana

Lugola šķīdums, kas stabilizēts ar PVP - krāsošanai pēc Grama metodes un Lugola šķīdums (atšķaidīts joda-kālija jodīda šķīdums) - krāsošanai pēc Grama metodes uzglabājiet no +15°C līdz +25°C temperatūrā.

Temperatūrā, kas zemāka par 15°C, krāsošanas šķīdumos var izgulsnēties krāsu precipitāti. Ja vērojama precipitācija, uz 2 – 3 stundām ievietojiet pudeli ūdens vannā, kas uzsildīta līdz apm. 60°C. Tas izšķīdinās vairumam precipitātu. Pēc tam filtrējiet krāsošanas šķīdumus caur papīra filtru.

Derīguma termiņš

Lugola šķīdums, kas stabilizēts ar PVP - krāsošanai pēc Grama metodes un Lugola šķīdums (atšķaidīts joda-kālija jodīda šķīdums) - krāsošanai pēc Grama metodes drīkst lietot līdz norādītajam derīguma termiņam.

Pēc pirmās pudeles atvēršanas tās saturu drīkst lietot līdz norādītajam derīguma termiņam, ja to uzglabā no +15°C līdz +25°C temperatūrā. Pudeles vienmēr jāuzglabā cieši noslēgtas.

Ietilpība

apm. 250 krāsošanas reizes/500 ml

Papildu norādījumi

Tikai profesionālai lietošanai.

Lai izvairītos no kļūdām, lietot drīkst tikai kvalificēts personāls. Jāievēro valsts norādījumi par darba drošību un kvalitātes nodrošināšanu. Jālieto mikroskopi ar standartam atbilstošu aprikojumu. Ja nepieciešams, izmantojiet standarta centrifūgu, kas piemērota medicīniskām diagnostiskām laboratorijām.

Aizsardzība pret infekcijām

Jāizmanto efektīvi pasākumi aizsardzībai pret infekcijām atbilstoši laboratorijas vadlīnijām.

Norādījumi par likvidēšanu

Iepakojums jālikvidē atbilstoši spēkā esošajām vadlīnijām par likvidēšanu. Izlietotie šķīdumi un šķīdumi, kuriem beidzies derīguma termiņš, jālikvidē kā speciālie atkritumi atbilstoši vietējām vadlīnijām. Informāciju par likvidēšanu skatiet tīmekļa vietnē www.microscopy-products.com, noklikšķinot uz ātrās saites „Hints for Disposal of Microscopy Products” (Ieteikumi mikroskopiskai izmeklēšanai izmantoto izstrādājumu likvidēšanai). ES šobrīd ir spēkā REGULA (EK) Nr. 1272/2008 par vielu un maisījumu klasificēšanu, marķēšanu un iepakojšanu un ar ko groza un atceļ Direktīvas 67/548/EEK un 1999/45/EK un groza Regulu (EK) Nr. 1907/2006.

Papildu reaģenti

Kat. nr.	1.04699	Imersijas eļļa mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml pilināšanas pudele, 100 ml, 500 ml
Kat. nr.	1.07960	Entellan™ ātrās nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml
Kat. nr.	1.07961	Entellan™ new ātrās nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. nr.	1.09016	Neo-Mount™ ūdeni nesaturoša nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml pilināšanas pudele, 500 ml
Kat. nr.	1.09217	Grama safranīna šķīdums krāsošanai pēc Grama metodes	500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.09218	Grama kristālvioletā šķīdums krāsošanai pēc Grama metodes	500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.10218	Grama atkrāsošanas šķīdums krāsošanai pēc Grama metodes	500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.11885	Gram-Color krāsošanas komplekts krāsošanai pēc Grama metodes	1 set

Bīstamības klasifikācija

Kat. nr. 1.09261

Kat. nr. 1.00567

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

Kat. nr. 1.00567

UZMANĪBU! Satur kancerogēnas, mutagēnas vai toksiskas reproduktīvajai sistēmai (CMR) vielas. Ievērojiet atbilstošos norādījumus par drošību, kas sniegti drošības datu lapā.

Galvenās izstrādājuma sastāvdaļas

Kat. nr. 1.00567

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

Kat. nr. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
 KI 6,8 g/l
 1 l = 1,01 kg

Vispārēja piezīme

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

Literatūra

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Kat. nr. 1.00567

H318: Izraisa nopietnus acu bojājumus.

H360D: Var nodarīt kaitējumu nedzimušam bērnam.

H412: Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.

P202: Neizmantojot pirms nav izlasīti un saprasti visi apzīmējumi.

P273: Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.

P280: Izmantojot acu aizsargus/ sejas aizsargus.

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

P308 + P313: Ja nokļūst saskarē vai saistīts ar to: lūdziet medicīnisku palīdzību.

P405: Glabāt slēgtā veidā.

Pārskatījumu vēsture

Versija	Izmaiņu komentārs
2024-Jul-24	Sākotnējā versija ar pārskatījumu vēstures pievienošanu
2025-Oct-29 V.1	Atjaunināta bīstamības klasifikācija. Jauna simbola un H&P frāžu pievienošana.



Skatīt lietošanas instrukciju



Ražotājs



Kataloga numurs



Sērijas kods



Uzmanību! Skatīt pievienotos dokumentus

Izlietot līdz
GGGG-MM-DD

Temperatūras ierobežojums

Status: 2025-Oct-29 V.1

ASV un Kanādā uzņēmums Merck uzņēmējdarbību, kas saistīta ar Life Science, veic kā uzņēmums MilliporeSigma.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Vācija un/vai tā meitasuzņēmumi. Visas tiesības aizsargātas. Merck un Sigma-Aldrich ir uzņēmuma Merck KGaA, Darmstadt, Vācija preču zīmes. Pārējās preču zīmes ir attiecīgo īpašnieku īpašums. Sīkāka informācija par preču zīmēm ir pieejama publiski pieejamos avotos.



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Mikroskopija

Lugol tirpalas, stabilizuotas naudojant PVP

skirtas Gramo dažymo metodui

Lugol tirpalas (praskiestas jodo ir kalio jodido tirpalas)

skirtas Gramo dažymo metodui

Tik profesionaliam naudojimui

IVD In vitro diagnostikos medicinos priemonė



Numatytoji paskirtis

Šie „Lugol tirpalas, stabilizuotas naudojant PVP - skirtas Gramo dažymo metodui“ ir „Lugol tirpalas (praskiestas jodo ir kalio jodido tirpalas) - skirtas Gramo dažymo metodui“ naudojami žmogaus ir medicininių ląstelių diagnostikai ir skirti žmogaus kilmės mėginių medžiagos bakteriologiniams tyrimams. Tai paruošti naudoti tirpalai, kuriuos naudojant kartu su kitais *in vitro* diagnostikos produktais iš mūsų asortimento, bakterinės tikslinės struktūros gali būti vertinamos diagnostikos tikslais (gramteigiamos arba gramneigiamos bakterijos) fiksuojant, dažant, kontrastuojant, dengiant bakteriologinių ėminių medžiagose, pavyzdžiui, kūno skysčių tepinėliuose. Nedažytos struktūros yra palyginti mažai kontrastingos ir jas labai sunku atskirti šviesiniu mikroskopu. Vaizdai, sukurti naudojant dažymo tirpalus, padeda įgaliotam ir kvalifikuotam tyrėjui tokiais atvejais geriau nustatyti formą ir struktūrą. Tam, kad būtų nustatyta galutinė diagnozė, reikia atlikti papildomus tyrimus taikant pripažintus ir galiojančius metodus.

Principas

Bakteriologijoje Gramo dažymas leidžia greitai atskirti gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas.

Bakterijų sienelių mureino struktūra lemia spalvinį afinitetą. Pirmajame etape bakterijos bus dažomos kristaliniu violetu – anilino dažais. Apdorojus jodo tirpalu (Lugol tirpalu), susidaro dažų ir jodo kompleksas. Per spalvos šalinimo etapą šis kompleksas lieka daugiasluoksniėje gramteigiamų bakterijų ląstelių sienelės mureino struktūroje – jos atrodys mėlynai violetinės spalvos.

O gramneigiamų bakterijų ląstelių sienelę sudaro vienasluoksni mureino struktūra, todėl jos vėl išskiria dažančiąją medžiagą, kai naudojamas spalvos šalinimo tirpalas. Gramneigiamos bakterijos bus nuspalvintos safranino tirpalu ir atrodys nuo rausvos iki raudonos spalvos.

Mėginių medžiaga

Kūno skysčiai, eksudatai, pūliai, skystos ir kietos kultūros

Reagentai

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

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

Taip pat reikalinga:

Kat. Nr. 1.09217 Gramo safranino violeto tirpalas
 skirtas Gramo dažymo metodui 500 ml, 2,5 l
 Kat. Nr. 1.09218 Gramo kristalinio violeto tirpalas
 skirtas Gramo dažymo metodui 500 ml, 2,5 l
 Kat. Nr. 1.10218 Gramo spalvos šalinimo tirpalas
 skirtas Gramo dažymo metodui 500 ml, 2,5 l

Kita galimybė:

Vietoje atskirų reagentų derinio galima naudoti dažymo rinkinį 1.11885.0001:

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

1 set

Mėginių paruošimas

Mėginius turi paimti kvalifikuoti darbuotojai.

Ant švaraus ir neriebaluoto stiklelio uždėkite ėminio medžiagą, naudodami atkaitintą kilpelę. Tada užtepkite medžiagą tiesiai ant stiklelio arba iš pradžių sumaišykite su 1–2 lašais fiziologinio druskos tirpalo (Ringerio tirpalo). Išdžiovinkite ore ir tada termiškai užfiksuokite, tris kartus lėtai traukdami stiklėlį (tepinėlio puse į viršų) per viršutinę Bunseno degiklio liepsnos dalį. Tada leiskite atvėsti ir nudažykite.

Ore išdžiovintus tepinėlius reikia labai kruopščiai termiškai fiksuoti. Taip išvengiama infekcijų pavojaus ir sumažinamas ėminio medžiagos išsiterpimas, o kartu ir tirpalų bei kitų stiklelių užteršimas.

Visi mėginiai turi būti apdorojami naudojant pažangiausias technologijas.

Visi mėginiai turi būti aiškiai sužymėti.

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

Naudojant atitinkamus pagalbinus reagentus, būtina laikytis atitinkamų naudojimo instrukcijų.

Reagentų paruošimas

Dažymui naudojami Lugol tirpalas, stabilizuotas naudojant PVP - skirtas Gramo dažymo metodui ir Lugol tirpalas (praskiestas jodo ir kalio jodido tirpalas) - skirtas Gramo dažymo metodui yra paruošti naudojimui; šių tirpalų skiedimas nėra būtinas, dėl to tik pablogėja dažymo rezultatas ir rezultatų stabilumas.

Procedūra

Dažymas dažymo kameroje

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

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

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

Norint užtikrinti optimalų dažymo rezultatą, reikia laikytis nurodyto laiko.

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

* filtruokite Lugol tirpalą po 3 panaudojimų

** išmeskite Gramo spalvos šalinimo tirpalą po 5 panaudojimų

Dažymas ant dažymo stovo

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

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

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

Dažymas automatiniam dažytuve

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

Rezultatas

Gramteigiami mikroorganizmai	mėlyna-violetinė
Gramneigiami mikroorganizmai	nuo rausvos iki raudonos

Trikčių šalinimas
Tepinėlių mėginių fiksavimas

Norint išvengti ėminių infekcinio potencialo ir tolesnio bakterijų dauginimosi, būtina juos pakankamai termiškai fiksuoti naudojant Bunseno degiklį arba kaitinimo spintoje.

Gramteigiamos bakterijos nenusidąžo

Lemiamas Gramo dažymo procedūros etapas yra spalvos šalinimo etapas, kuriam įtakos gali turėti tepinėlio storis. Be to, šviežias spalvos šalinimo tirpalas yra labai reaktyvus, todėl rezultatą reikia vertinti atsargiai. Per spalvos šalinimo etapą naudotojas turi tiksliai laikytis protokole aprašyto inkubavimo laiko, nes priešingu atveju gali būti gauti klaidingai neigiami rezultatai.

Techninės pastabos

Naudojamas mikroskopas turi atitikti medicininės diagnostikos laboratorijos reikalavimus. Naudodami automatinės dažymo sistemas, laikykitės sistemos ir programinės įrangos tiekėjo pateiktų naudojimo instrukcijų. Prieš pildami pašalinkite imersinės alyvos perteklių.

Analitiskās veikospējas raksturojums

„Lugol tirpalas, stabilizuotas naudojant PVP“ ir „Lugol tirpalas (praskiestas jodo ir kalio jodido tirpalas)“ padeda mikroskopu analizuoti biologines struktūras, kaip aprašyta šios naudojimo instrukcijos skirsnyje „Numatytoji paskirtis“. Produktus gali naudoti tik įgalioti ir kvalifikuoti asmenys, įskaitant, be kita ko, mėginių ir reagentų ruošimą, mėginių tvarkymą, sprendimus dėl tinkamų kontrolės priemonių ir kt.

Gaminių analitinis veiksmingumas patvirtinamas tiriant kiekvieną pagamintą partiją.

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

Kat. Nr. 1.00567 - Lugol tirpalas, stabilizuotas naudojant PVP

	Tyrimų tarpusavio specifiškumas	Tyrimų tarpusavio jautrumas	Tyrimo vidinis specifiškumas	Tyrimo vidinis jautrumas
Gramo dažymas				
Gramteigiami mikroorganizmai	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramneigiami mikroorganizmai	20/20	20/20	7/7	7/7

Analitinio veiksmingumo rezultatai

Kat. Nr. 1.09261 - Lugol tirpalas (praskiestas jodo ir kalio jodido tirpalas)

	Tyrimų tarpusavio specifiškumas	Tyrimų tarpusavio jautrumas	Tyrimo vidinis specifiškumas	Tyrimo vidinis jautrumas
Gramo dažymas				
Gramteigiami mikroorganizmai	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramneigiami mikroorganizmai	20/20	20/20	7/7	7/7

Analitinio veiksmingumo rezultatai

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

Šie veikspėjas novėrtėjuma rezultāti apstiprina, ka izstrādājumi ir piemēroti paredzētajam pielietojumam un to darbība ir uzticama.

Diagnostika

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

Kad būtų išvengta neteisingų rezultatų, kiekvieno naudojimo metu turėtų būti taikomi tinkami kontrolės metodai. Dažymo rinkinys gali būti kontroliuojamas naudojant gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas. Turi būti naudojamos bakterijos, paimtos iš terpės po 18–24 valandų inkubacijos.

Laikymas

Laikykite Lugol tirpalas, stabilizuotas naudojant PVP - skirtas Gramo dažymo metodui ir Lugol tirpalas (praskiestas jodo ir kalio jodido tirpalas) - skirtas Gramo dažymo metodui nuo +15 °C iki +25 °C temperatūroje. Esant žemesnei nei 15 °C temperatūrai, iš dažomųjų tirpalų gali nusėsti spalvotos nuosėdos. Jei susidarė nuosėdos, pastatykite buteliuką 2–3 valandoms į maždaug 60 °C temperatūros vandens vonelę. Taip didžioji dalis nuosėdų vėl ištirps. Paskui dažymo tirpalus filtruokite per popierinį filtrą.

Tinkamumo laikas

Lugol tirpalas, stabilizuotas naudojant PVP - skirtas Gramo dažymo metodui ir Lugol tirpalas (praskiestas jodo ir kalio jodido tirpalas) - skirtas Gramo dažymo metodui gali būti naudojami iki nurodyto tinkamumo naudoti termino.

Pirmą kartą atidarius buteliuką, laikant nuo +15 °C iki +25 °C temperatūroje, turinį galima naudoti iki nurodyto tinkamumo naudoti termino pabaigos. Buteliukai visada turi būti sandariai uždaryti.

Išėiga

maždaug 250 dažymų / 500 ml

Papildomos instrukcijos

Tik profesionaliam naudojimui.

Tam, kad būtų išvengta klaidų, naudoti turi tik kvalifikuotas personalas. Būtina laikytis nacionalinių darbo saugos ir kokybės užtikrinimo gairių. Turi būti naudojami pagal standartus įrengti mikroskopai. Jei reikia, naudokite standartinę centrifugą, tinkamą medicinos diagnostikos laboratorijai.

Apsauga nuo infekcijos

Reikia imtis veiksmingų priemonių apsaugoti nuo infekcijos pagal laboratorijos rekomendacijas.

Šalinimo instrukcijos

Pakuotę reikia išmesti laikantis galiojančių šalinimo gairių. Panaudoti tirpalai ir tirpalai, kurių tinkamumo naudoti terminas pasibaigęs, turi būti šalinami kaip specialiosios atliekos pagal vietos gaires. Informacijos apie šalinimą galima rasti pasinaudojus greitąja nuoroda „Hints for Disposal of Microscopy Products“ adresu www.microscopy-products.com. ES taikomas šiuo metu galiojantis REGLAMENTAS (EB) Nr. 1272/2008 dėl cheminių medžiagų ir mišinių klasifikavimo, ženklinimo ir pakavimo, iš dalies keičiantis ir panaikinantis Direktyvas 67/548/EEB bei 1999/45/EB ir iš dalies keičiantis Reglamentą (EB) Nr. 1907/2006.

Pagalbiniai reagentai

Kat. Nr.	1.04699	Imersinė alyva, skirta mikroskopijai	100 ml lašinimo buteliukas, 100 ml, 500 ml
Kat. Nr.	1.07960	Entellan™ greito dengimo terpė mikroskopijai	500 ml
Kat. Nr.	1.07961	Entellan™ new greito dengimo terpė mikroskopijai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. Nr.	1.09016	Neo-Mount™ bevandenė dengimo terpė mikroskopijai	100 ml lašinimo buteliukas, 500 ml
Kat. Nr.	1.09217	Gramo safraninio tirpalas skirtas Gramo dažymo metodui	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.09218	Gramo kristalinio violeto tirpalas skirtas Gramo dažymo metodui	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.10218	Gramo spalvos šalinimo tirpalas skirtas Gramo dažymo metodui	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.11885	Gram-Color dažymo rinkinys, skirtas Gramo dažymo metodui	1 set

Pavojingumo klasifikacija

Kat. Nr. 1.09261
Kat. Nr. 1.00567
Laikykitės etiketėje išspausdintos pavojingumo klasifikacijos ir saugos duomenų lape pateiktos informacijos. Saugos duomenų lapą galima rasti svetainėje arba specialiai paprašyti.

Kat. Nr. 1.00567
PERSPĖJIMAS! Sudėtyje yra CMR medžiagų. Laikykitės atitinkamų saugos instrukcijų, pateiktų saugos duomenų lape.

Pagrindiniai gaminių komponentai

Kat. Nr. 1.00567

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

Kat. Nr. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Bendro pobūdžio pastaba

Jei naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko rimtas incidentas, praneškite apie tai gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui bei savo šalies kompetentingai institucijai.

Literatūra

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Kat. Nr. 1.00567



H318: Smarkiai pažeidžia akis.

H360D: Gali pakenkti negimusiam kūdikiui.

H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

P202: Nenaudoti, jeigu neperskaityti ar nesuprasti visi saugos įspėjimai.

P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką.

P280: Mūvėti naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

P308 + P313: Esant sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: kreiptis į gydytoją.

P405: Laikyti užrakintą.

Peržiūrų istorija

Versija	Pakeitimo komentaras
2024-Jul-24	Pradinė versija su peržiūrų istorijos įžanga
2025-Oct-29 V.1	Atnaujinta pavojų klasifikacija. Pridėtas naujas simbolis bei pavojų ir saugos teiginiai



Žiūrėkite naudojimo instrukciją



Gamintojas



Katalogo numeris



Partijos kodas



Perspėjimas, susipažinkite su pridėtais dokumentais



Naudoti iki
MMMM-MM-DD



Temperatūros
apribojimas

Status: 2025-Oct-29 V.1

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

© 2025 „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija ir (arba) jos filialai. Visos teisės saugomos. „Merck“ ir „Sigma-Aldrich“ yra „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija, prekių ženklai. Visi kiti prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė. Išsamios informacijos apie prekių ženklus galima rasti viešai prieinamuose šaltiniuose.



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

MERCK

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Mikroskopi

Lugols løsning stabilisert med PVP

for gramfarging

Lugols løsning (fortynnet jod-kaliumjodid løsning)

for Gram-farging

Kun til profesjonell bruk

IVD Medisinsk enhet til *in vitro*-diagnostikk



Tiltenkt formål

Disse "Lugols løsning stabilisert med PVP - for gramfarging" og "Lugols løsning (fortynnet jod-kaliumjodid løsning) - for Gram-farging" brukes for medisinsk cellediagnostisering hos mennesker og er beregnet for bakteriologisk undersøkelse av prøvemateriale fra mennesker. Disse er bruksklare løsninger som, når de brukes sammen med andre produkter til *in vitro*-diagnostikk fra vår portefølje, gjør at cytologiske målstrukturer kan evalueres til diagnostiske formål (grampositive eller gramnegative bakterier) ved hjelp av fiksering, farging, kontrastfarging, montering i bakteriologiske og histologiske prøvematerialer, for eksempel utstryk fra kroppsvæsker.

Ufargede strukturer har relativt lav kontrast og er ekstremt vanskelige å skjelne under lysmikroskopet. Bildene som opprettes ved bruk av fargingsløsningene hjelper den autoriserte og kvalifiserte forskeren med bedre å definere formen og strukturen i slike tilfeller. Ytterligere tester må utføres i samsvar med anerkjente, gyldige metoder for å oppnå en definitiv diagnose.

Prinsipp

I bakteriologi muliggjør gramfarging rask differensiering av grampositive og gramnegative bakterier.

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

Motsetningsvis har celleveggen til gramnegative bakterier en cellevegg som består av en mureinstruktur med ett lag, og frigjør dermed fargestoffet med avfargingsløsningen. Gramnegative bakterier kontrastfarges med safraninløsning og vises deretter med rosa til rød farge.

Prøvemateriale

Kroppsvæsker, sår væske, puss, væske og solide kulturer

Reagenser

Kat.nr. 1.00567
Lugols løsning stabilisert med PVP for gramfarging 1 l, 2,5 l

Kat.nr. 1.09261
Lugols løsning (fortynnet jod-kaliumjodid løsning) for Gram-farging 1 l, 2,5 l

Også påkrevd:

Kat.nr. 1.09217 Grams safraninløsning for Gram-fargemetode 500 ml, 2,5 l
 Kat.nr. 1.09218 Grams krystallfiolett løsning for Gram-fargemetode 500 ml, 2,5 l
 Kat.nr. 1.10218 Grams avfargingsløsning for Gram-farging 500 ml, 2,5 l

Alternativt:

I stedet for kombinasjonen av enkeltreagenser kan fargingssettet 1.11885.0001 brukes:

Kat.nr. 1.11885.0001
Gram-Color1 set
fargingssett for Gram-farging

Prøvetilberedning

Prøvetakingen skal utføres av kvalifisert personell.

Påfør prøvematerialet på et rent og fettfritt objektglass ved bruk av en herdet trådløkke. Stryk deretter materialet enten direkte på objektglasset eller bland først med 1–2 dråper fysiologisk saltløsning (Ringers løsning). La det lufttørke, og varmefikser deretter ved å dra objektglasset langsomt (med utstrykssiden vendt opp) gjennom den øvre delen av bunsenbrennerflammen tre ganger. Deretter lar du det kjøles ned og farger det. De lufttørkede utstrykene skal varmefikseres svært forsiktig. Dette forebygger risiko for infeksjoner og reduserer oppløsning av prøvemateriale og påfølgende kontaminasjon av løsninger og andre objektglass.

Alle prøver skal behandles ved bruk av den nyeste teknologien.

Alle prøver skal merkes tydelig.

Egnede instrumenter skal brukes for å ta og tilberede prøver. Følg instruksjonene fra produsenten for applisering/bruk.

Ved bruk av de tilsvarende hjelpereagensene må den tilsvarende bruksanvisningen følges.

Tilberedning av reagens

Lugols løsning stabilisert med PVP - for gramfarging og Lugols løsning (fortynnet jod-kaliumjodid løsning) - for Gram-farging til farging er bruksklare. Fortynning av løsningene er ikke nødvendig, og vil kun resultere i nedsatt fargerresultat og stabilitet.

Prosedyre

Farging i fargingscellen

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

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

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

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

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

* filtrer Lugols løsning etter 3 kjøringer

** kasser den avfargende Grams avfargingsløsningen etter 5 kjøringer

Farging på fargingsstativet

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

Dekking med ikke-vannholdig monteringsmedium (f.eks. Neo-Mount™ eller Entellan™) og et dekkglass er anbefalt for lagring av bakteriologiske prøver i flere måneder. Til dette formålet må de fargede prøvene tørkes svært godt.

Bruk av bløtleggingsolje er anbefalt for analysering av fargede objektglass med en mikroskopforstørrelse på > 40x.

Farging i den automatiske fargemaskinen

Farging i automatiske fargingssystemer kan utføres i samsvar med protokollen for fargingen i fargingscellen.

Resultat

Grampositive mikroorganismer	blåfiolett
Gramnegative mikroorganismer	rosa til rød

Feilsøking

Fiksering av utstryksprøver

En tilstrekkelig grad av varmefiksering ved bruk av en bunsenbrenner eller i et varmeskap er avgjørende for å forhindre infeksjonspotensiale i prøvene og ytterligere spredning av bakterier.

Ingen farging av de grampositive bakteriene

Det avgjørende stadiet i gramfargingsprosedyren er avfargingstrinnet, som kan påvirkes av utstrykets tykkelse. I tillegg er en fersk avfargingsløsning svært reaktiv, og resultatet må derfor evalueres med omhu. I løpet av avfargingstrinnet skal brukeren overholde inkubasjonstidene som beskrives i protokollen nøyaktig, siden det ellers kan oppstå falskt negative resultater.

Tekniske merknader

Det anvendte mikroskopet skal oppfylle kravene til et medisinsk diagnostisk laboratorium. Ved bruk av automatiske fargingssystemer må du følge bruksanvisningen fra leverandøren av systemet og programvaren. Fjern overflødig bløtleggingsolje før fylling.

Analytiske ytelsesegenskaper

“Lugols løsning stabilisert med PVP” og „Lugols løsning (fortynnet jod-kaliumjodid løsning)” bidrar til den mikroskopiske undersøkelsen av biologiske strukturer, som beskrevet i “Tiltenkt formål” i denne bruksanvisningen. Produktene skal kun brukes av autoriserte og kvalifiserte personer, inkludert bl.a. tilberedning av prøver og reagenser, prøvehåndtering, beslutninger om egnede kontroller osv.

Produktenes analytiske ytelse bekreftes ved å teste hvert produksjonsparti.

For følgende farginger ble analytisk ytelse bekreftet med tanke på produktets spesifisitet, sensitivitet og repeterbarhet med en et resultat på 100 %:

Kat.nr. 1.00567 - Lugols løsning stabilisert med PVP

	Spesifisitet mellom analyser	Sensitivitet mellom analyser	Spesifisitet innen analyse	Sensitivitet innen analyse
Grams farging				
Grampositive mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramnegative mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytiske ytelsesresultater

Kat.nr. 1.09261 - Lugols løsning (fortynnet jod-kaliumjodid løsning)

	Spesifisitet mellom analyser	Sensitivitet mellom analyser	Spesifisitet innen analyse	Sensitivitet innen analyse
Grams farging				
Grampositive mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7
Gramnegative mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytiske ytelsesresultater

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

Resultatene av denne ytelsesevalueringen bekrefter at produktene er egnet for den tiltenkte bruken og har pålitelig ytelse.

Diagnostikk

Diagnoser skal kun stilles av autorisert og kvalifisert personell. Gyldig terminologi må benyttes. Denne metoden kan brukes som et supplement i diagnostikk hos mennesker. Ytterligere tester må velges og implementeres i samsvar med anerkjente metoder. Egnede kontroller skal utføres med hver applisering for å unngå et feilaktig resultat. Fargingssettet kan kontrolleres med grampositive bakterier og gramnegative bakterier. Bakterier fra et kulturmedium etter 18–24 timers inkubasjon skal benyttes.

Oppbevaring

Oppbevar Lugols løsning stabilisert med PVP - for gramfarging og Lugols løsning (fortynnet jod-kaliumjodid løsning) - for Gram-farging ved +15 °C til +25 °C.

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

Holdbarhet

Lugols løsning stabilisert med PVP - for gramfarging og Lugols løsning (fortynnet jod-kaliumjodid løsning) - for Gram-farging kan brukes inntil den angitte utløpsdatoen.

Etter anbrudd av flasken kan innholdet brukes frem til den angitte utløpsdatoen når det oppbevares ved +15 °C til +25 °C.

Flaskene må holdes godt lukket til enhver tid.

Kapasitet

ca. 250 farginger / 500 ml

Ytterligere instruksjoner

Kun til profesjonell bruk.

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

Beskyttelse mot infeksjon

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

Instruksjoner for kassering

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

Hjelpereagenser

Kat.nr.	1.04699	Immerjonsolje for mikroskopi	100 ml pipette-flaske, 100 ml, 500 ml
Kat.nr.	1.07960	Entellan™ hurtig monteringsmedium for mikroskopi	500 ml
Kat.nr.	1.07961	Entellan™ ny hurtig monteringsmedium for mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr.	1.09016	Neo-Mount™ vannfritt monteringsmedium for mikroskopi	100 ml pipette-flaske, 500 ml
Kat.nr.	1.09217	Grams safraninløsning for Gram-fargemetode	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.09218	Grams krystallfiolettløsning for Gram-fargemetode	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.10218	Grams avfargingsløsning for Gram-farging	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.11885	Gram-Color fargingssett for Gram-farging	1 set

Fareklassifikasjon

Kat.nr. 1.09261

Kat.nr. 1.00567

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

Kat.nr. 1.00567

FORSIKTIG! Inneholder CMR-stoffer. Følg de relevante sikkerhetsinstruksjonene som er gitt i sikkerhetsdatabladet.

Hovedkomponenter i produktene

Kat.nr. 1.00567

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

Kat.nr. 1.09261

I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l =	1,01 kg

Generell merknad

Hvis en alvorlig hendelse oppstår under bruk av denne enheten eller som følge av denne bruken, må det rapporteres til produsenten og/eller dens autoriserte representant, samt til dine nasjonale myndigheter.

Litteratur

- 1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- 2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Kat.nr. 1.00567



H318: Gir alvorlig øyeskade.
H360D: Kan gi fosterskader.
H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

P202: Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.
P273: Unngå utslipp til miljøet.
P280: Benytt vernebriller/ ansiktsskjerm.
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.
P501: Innhold/ beholder leveres til godkjent avfallsanlegg.
P308 + P313: Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.
P405: Oppbevares innelåst.

Revisjonshistorikk

Versjon	Endringskommentar
2024-Jul-24	Opprinnelig versjon med innføring av revisjonshistorikk
Status: 2025-Oct-29 V.1	Oppdatering av fareklassifisering. Tilføyelse av nytt symbol og H- og P-setninger.

Se bruksanvisningen

Produsent

Katalognummer

Partikode

Forsiktig, se medfølgende dokumenter

Brukes innen DD.MM.ÅÅÅÅ

Temperaturbegrensning

Status: 2025-Oct-29 V.1

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

© 2025 MerckKGaA, Darmstadt, Tyskland og/eller deres samarbeidspartnere. Med enerett. Merck og Sigma-Aldrich er varemerker for Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland. Alle andre varemerker tilhører deres respektive eiere. Detaljert informasjon om varemerker er tilgjengelig via offentlig tilgjengelige ressurser.

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Mikroskopia

Lugolov roztok stabilizovaný PVP

na farbenie podľa Grama

Lugolov roztok (zriedený roztok jódu a jodidu draselného)

pre Gramovu metódu farbenia

Iba na profesionálne použitie

IVD Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro*



Určený účel

Tieto roztoky „Lugolov roztok stabilizovaný PVP - na farbenie podľa Grama“ a „Lugolov roztok (zriedený roztok jódu a jodidu draselného) - pre Gramovu metódu farbenia“ sa používajú na diagnostiku buniek v ľudskej medicíne a slúžia na účely bakteriologického skúmania materiálu vzoriek ľudského pôvodu. Sú to roztoky hotové na použitie, ktoré pri použití spolu s ďalšími *in vitro* diagnostickými produktmi z nášho portfólia, umožňuje vyhodnocovať cieľové bakteriálne štruktúry pre diagnostické účely (grampozitívne alebo gramnegatívne baktérie) fixáciou, vloženie, farbením, kontrastným farbením, uchyténím v bakteriologických vzorkách, napríklad v steroch telesných tekutín.

Nesfarbené štruktúry sú relatívne málo kontrastné a pod svetelným mikroskopom ich možno veľmi ťažko rozlíšiť. Snímky vytvorené použitím farbiacich roztokov pomáhajú autorizovanému a kvalifikovanému odborníkovi v týchto prípadoch lepšie definovať tvar a štruktúru. Na stanovenie konečnej diagnózy je potrebné vykonať ďalšie testy podľa uznaných a platných metód.

Princíp

V bakteriológii umožňuje Gramovo farbenie rýchle rozlišovanie baktérií na grampozitívne a gramnegatívne.

Základom farebnej afinity je mureínová štruktúra bakteriálnej steny. V prvom kroku sú baktérie sfarbené kryštálovou fialovou, anilínovým farbivom. Po ošetrení jódovým roztokom (Lugolov roztok) sa vytvorí komplex farbiva a jódu. Počas kroku dekolorizácie zostáva tento komplex vo viacvrstvej mureínovej štruktúre bunkovej steny grampozitívnych baktérií - tie sa zobraza ako modrofialové. Oproti tomu gramnegatívne baktérie majú bunkovú stenu vytvorenú z jednovrstvej mureínovej štruktúry a zodpovedajúcim spôsobom opätovne uvoľňujú farbivo s dekoloračným roztokom. Gramnegatívne baktérie sa sfarbia safraninovým roztokom a následne sa sfarbia do ružova až červena.

Materiál vzorky

Telesných tekutín, exsudáty, hnis, tekuté a pevné kultivačné média

Reagencie

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

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

Tiež požadované:

Kat. č. 1.09217 Gramov roztok safranínu 500 ml, 2,5 l
 pre Gramovu metódu farbenia
 Kat. č. 1.09218 Gramov roztok kryštálovej violeti 500 ml, 2,5 l
 pre Gramovu metódu farbenia
 Kat. č. 1.10218 Gramov odfarbovací roztok 500 ml, 2,5 l
 pre Gramovu metódu farbenia

Alternatíva:

Namiesto kombinácie jednotlivých reagentov možno použiť farbiacu súpravu 1.11885.0001:

Kat. č. 1.11885.0001

Gram-Color

Farbiaca súprava pre Gramovu farbiacu metódu

1 set

Príprava vzorky

Odber vzoriek musí robiť kvalifikovaný personál.

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

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

Všetky vzorky sa musia spracovávať použitím najmodernejšej technológie.

Všetky vzorky sa musia jasne označiť.

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

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

Príprava reagencie

Lugolov roztok stabilizovaný PVP - na farbenie podľa Grama a Lugolov roztok (zriedený roztok jódu a jodidu draselného) - pre Gramovu metódu farbenia používané na farbenie sú pripravené na použitie, riedenie roztokov nie je potrebné a spôsobuje len zhoršenie výsledku farbenia a ich stability.

Postup

Farbenie vo farbiacej kvete

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

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

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

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

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

* po 3 cykloch prefiltrujte Lugolov roztok

** po 5 cykloch zlikvidujte Gramov odfarbovací roztok

Farbenie na farbiacom stojane

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

Pre skladovanie bakteriologických vzoriek na dobu niekoľkých mesiacov sa odporúča vzorky zakryť bezvodým fixačným médiom (napr. Neo-Mount™ alebo Entellan™) a krycím sklíčkom. Pre tento účel je potrebné sfarbené vzorky dôkladne vysušiť.

Pri analýze sfarbených podložných sklíčok s mikroskopickým zväčšením > 40x sa odporúča používať imerzný olej.

Farbenie na farbiacom automate

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

Výsledok

Grampozitívne mikroorganizmy	modrofialové
Gramnegatívne mikroorganizmy	ružové až červené

Odstraňovanie problémov

Fixácia vzoriek sterov

Aby sa zabránilo infekčnému potenciálu vzoriek a ďalšiemu množeniu baktérií, je potrebný dostatočný stupeň tepelnej fixácie pomocou Bunsenovho horáka alebo v ohrievacej skrini.

Žiadne sfarbenie grampozitívnych baktérií

Kritickou fázou postupu Gramovho farbenia je krok dekolorizácie, ktorý môže byť ovplyvnený hrúbkou steru. Čerstvý odfarbovací roztok je navyše vysoko reaktívny, preto by sa mal výsledok hodnotiť opatrne. Počas kroku dekolorizácie by používateľ mal dodržiavať presné inkubačné doby uvedené v protokole, pretože v opačnom prípade môže dôjsť k falošne negatívnym výsledkom.

Technické poznámky

Použitý mikroskop musí spĺňať požiadavky lekárskeho diagnostického laboratória.

Pri používaní automatických farbiacich systémov postupujte podľa návodu na používanie od dodávateľa systému a softvéru.

Pred plnením odstráňte prebytočný imerzný olej.

Analytické výkonnostné charakteristiky

Aktuálne pomocné reagentie „Lugolov roztok stabilizovaný PVP“ a „Lugolov roztok (zriedený roztok jódu a jodidu draselného)“ pomáhajú pri mikroskopickom skúmaní biologických štruktúr, ako je opísané v časti „Určený účel“ tohto návodu na použitie. Použitie tohto produktu môžu vykonávať len autorizované a kvalifikované osoby, čo medzi iným zahŕňa prípravu vzoriek a reagentií, manipuláciu so vzorkami, rozhodnutia týkajúce sa vhodných kontrol a podobne.

Analytické vlastnosti výrobkov sa potvrdzujú testovaním každej výrobnjej šarže.

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

Kat. č. 1.00567 - Lugolov roztok stabilizovaný PVP

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

Výsledky analytickej výkonnosti

Kat. č. 1.09261 - Lugolov roztok (zriedený roztok jódu a jodidu draselného)

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

Výsledky analytickej výkonnosti

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

Výsledky tohto hodnotenia výkonnosti potvrdzujú, že produkty sú vhodné na zamýšľané použitie a spoľahlivo fungujú.

Diagnostika

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

Pri každej aplikácii je potrebné vykonať vhodné kontroly, aby sa zamedzilo nesprávnemu výsledku.

Farbiaca súprava sa môže kontrolovať pomocou grampozitívnych a gramnegatívnych baktérií.

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

Skladovanie

Lugolov roztok stabilizovaný PVP - na farbenie podľa Grama a Lugolov roztok (zriedený roztok jódu a jodidu draselného) - pre Gramovu metódu farbenia skladujte pri teplote +15 °C až +25 °C.

Pri teplotách nižších ako 15 °C sa z farbiacich roztokov môže vytvoriť farebný precipitát. Ak došlo k precipitácii, fľašu vložte na 2 - 3 hodiny do vodného kúpeľa nastaveného na teplotu približne 60 °C. Takto sa znovu rozpustí podstatná časť precipitátu. Farbiace roztoky sa následne prefiltrujú cez papierový filter.

Doba použiteľnosti

Lugolov roztok stabilizovaný PVP - na farbenie podľa Grama a Lugolov roztok (zriedený roztok jódu a jodidu draselného) - pre Gramovu metódu farbenia je možné použiť do uvedeného dátumu expirácie.

Po prvom otvorení fľaše je možné obsah používať až do uvedeného dátumu expirácie za predpokladu, že sa skladuje pri teplote +15 °C až +25 °C. Fľaše musia byť vždy tesne uzavreté.

Kapacita

približne 250 farbení/500 ml

Ďalšie pokyny

Iba na profesionálne použitie.

Aby sa zamedzilo chybám, aplikáciu musí vykonávať iba kvalifikovaný personál.

Je potrebné dodržiavať národné smernice týkajúce sa bezpečnosti práce a zabezpečenia kvality.

Musia sa používať mikroskopy so zodpovedajúcim vybavením podľa normy. V prípade potreby použite štandardnú odstredivku určenú pre lekárske diagnostické laboratórium.

Ochrana pred infekciou

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

Pokyny týkajúce sa likvidácie

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

Pomocné reagentie

Kat. č.	1.04699	Imerzný olej pre mikroskopiu	fľaša na kvapkanie s objemom 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.07960	Entellan™ médium pre rýchlu fixáciu, pre mikroskopiu	500 ml
Kat. č.	1.07961	Entellan™ new médium pre rýchlu fixáciu, pre mikroskopiu	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č.	1.09016	Neo-Mount™ bezvodé fixačné médium pre mikroskopiu	fľaša na kvapkanie s objemom 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.09217	Gramov roztok safranínu pre Gramovu metódu farbenia	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.09218	Gramov roztok kryštálovej vianoči pre Gramovu metódu farbenia	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.10218	Gramov odfarbovací roztok pre Gramovu metódu farbenia	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.11885	Gram-Color Farbiaca súprava pre Gramovu farbiacu metódu	1 set

Klasifikácia nebezpečenstva

Kat. č. 1.09261

Kat. č. 1.00567

Dodržiavajte klasifikáciu nebezpečenstva vytlačenú na etikete a informácie uvedené v bezpečnostných listoch. Bezpečnostný list je k dispozícii na webových stránkach a na vyžiadanie.

Kat. č. 1.00567

POZOR! Obsahuje CMR látky. Dodržiavajte príslušné bezpečnostné pokyny uvedené v bezpečnostných listoch.

Hlavné komponenty produktov

Kat. č. 1.00567	
VVP-Jód	50 g/l
KI	10 g/l
1 l =	1,02 kg
Kat. č. 1.09261	
I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l =	1,01 kg

Všeobecná poznámka

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne závažný incident, nahláste ho výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu vnútroštátnemu orgánu.

Literatúra

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Kat. č. 1.00567



H318: Spôsobuje vážne poškodenie očí.

H360D: Môže poškodiť nenarodené dieťa.

H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

P202: Nepoužívajte, kým si neprečítate a nepochopíte všetky bezpečnostné opatrenia.

P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.

P280: Noste ochranné okuliare/ ochranu tváre.

P305 + P351 + P338: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

P308 + P313: Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/ starostlivosť.

P405: Uchovávajte uzamknuté.

História revízií

Verzia	Poznámka k úprave
2024-Jul-24	Prvá verzia s uvedením časti História revízií
2025-Oct-29 V.1	Aktualizácia klasifikácie nebezpečnosti. Pridanie nového symbolu a viet H a P.



Prečítajte si návod
na použitie



Výrobca



Katalógové číslo



Kód šarže



Pozor, pozrite si sprievodnú dokumentáciu



Použitie do
RRRR-MM-DD



Teplotné obmedzenia

Status: 2025-Oct-29 V.1

Life Science spoločnosť Merck pôsobí v USA a Kanade pod názvom MilliporeSigma.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko a/alebo jej pobočky. Všetky práva vyhradené. Merck a Sigma-Aldrich sú ochranné známky spoločnosti Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko. Všetky ostatné ochranné známky sú majetkom príslušných vlastníkov. Detailné informácie o ochranných známkach sú k dispozícii z verejne dostupných zdrojov.



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

MERCK

1.00567.1000
1.00567.2500
1.09261.1000
1.09261.2500

REF

Mikroskopi

Lugol çözeltisi PVP ile stabilize edilmiş

Gram renklendirme için

Lugol çözeltisi (seyreltik iyot-potasyum iyodür çözeltisi)

Gram boyama yöntemi için

Yalnızca profesyonel kullanım içindir

IVD In vitro Tanısal Tıbbi Cihaz



Kullanım amacı

Bu "Lugol çözeltisi PVP ile stabilize edilmiş - Gram renklendirme için" ve "Lugol çözeltisi (seyreltik iyot-potasyum iyodür çözeltisi) - Gram boyama yöntemi için", insan-medikal hücre tanımlamasında kullanılır ve insan kaynaklı numune materyallerinin bakteriyolojik incelenmesi amacıyla hizmet eder. Portföyümüzdeki diğer *in vitro* tanısal ürünlerle birlikte kullanıldığında bakteriyolojik numune materyallerinde (örn. vücut sıvısı yaymaları) fiksasyon, boyama, karşıt boyama ve kapatma yoluyla bakteriyel hedef yapıları (Gram pozitif veya Gram negatif bakteriler) tanısal amaçlı değerlendirilebilir hale getiren, kullanıma hazır solüsyonlardır.

Boyanmamış yapıların kontrastı görece düşüktür ve ışık mikroskobu altında ayırt edilmeleri son derece zordur. Boyama solüsyonlarının kullanılmasıyla oluşturulan görüntüler, yetkili ve kalifiye araştırmacının bu gibi durumlarda form ve yapıyı daha iyi tanımlamasına yardımcı olur. Kesin tanıya ulaşmak için bilinen ve geçerli yöntemlere uygun şekilde ileri testler yapılmalıdır.

Prensip

Bakteriyolojide Gram boyama, bakterilerin Gram pozitif ve Gram negatif olarak hızlı bir şekilde farklılaşmasına olanak tanır.

Bakteri duvarının mürein yapısı, renk afinitesinin temelidir.

İlk adımda, bakteriler bir anilin boyası olan kristal viyole ile boyanır. İyot solüsyonu (Lugol solüsyonu) ile yapılan muameleden sonra bir boya-iyot kompleksi oluşacaktır. Renk giderme adımı sırasında, bu kompleks Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının çok katmanlı mürein yapısında kalır ve mavi-viyole görünürler.

Gram negatif bakteriler ise aksine, tek katmanlı bir mürein yapısından oluşan bir hücre duvarına sahiptir ve dolayısıyla boyayı renk giderici solüsyon ile tekrar serbest bırakır. Gram negatif bakteriler safranin solüsyonuyla karşıt boyanacak ve ardından pembe ile kırmızı olarak görünecektir.

Numune materyali

Vücut sıvısı, eksüda, pus, sıvı ve katı kültürler.

Reaktifler

Kat. No. 1.00567

Lugol çözeltisi PVP ile stabilize edilmiş
Gram renklendirme için

1 l, 2,5 l

Kat. No. 1.09261

Lugol çözeltisi (seyreltik iyot-potasyum iyodür çözeltisi)
Gram boyama yöntemi için

1 l, 2,5 l

Ayrıca gerekenler:

Kat. No. 1.09217 Gram safranin çözeltisi
Gram boyama yöntemi için

500 ml, 2,5 l

Kat. No. 1.09218 Gram kristal viyole çözeltisi
Gram boyama yöntemi için

500 ml, 2,5 l

Kat. No. 1.10218 Gram dekolorize çözeltisi
Gram boyama yöntemi için

500 ml, 2,5 l

Alternatif olarak:

Tekli reaktiflerin kombinasyonu yerine, boyama kiti 1.11885.0001 kullanılabilir:

Kat. No. 1.11885.0001

Gram-Color

Gram boyama yöntemi için boya seti

1 set

Numunelerin hazırlanması

Numuneler kalifiye personel tarafından alınmalıdır.

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

Havada kurutulmuş yaymalar çok dikkatli bir şekilde ısı ile sabitlenmelidir. Bu, enfeksiyon riskini önleyerek ve numune materyalinin çözünmesini azaltarak, solüsyonların ve diğer lamların kontaminasyonunu azaltır.

Tüm numuneler en son teknoloji kullanılarak işlem görülmelidir.

Tüm numuneler açıkça etiketlenmelidir.

Numunelerin alınması ve hazırlanması için uygun aletler kullanılmalıdır.

Üreticinin uygulama/kullanım talimatlarını izleyin.

İlgili yardımcı reaktifleri kullanırken ilgili kullanım talimatlarına uyulmalıdır.

Reaktifin hazırlanması

Boyama için kullanılan Lugol çözeltisi PVP ile stabilize edilmiş - Gram renklendirme için ve Lugol çözeltisi (seyreltik iyot-potasyum iyodür çözeltisi) - Gram boyama yöntemi için kullanıma hazırdır, solüsyonların seyreltilmesi gereksizdir ve sadece boyama sonucunun ve stabilitesinin bozulmasına neden olur.

Prosedür

Boyama hücrelerinde boyama

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

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

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

Optimum bir boyama sonucunu garanti etmek için belirtilen sürelerle uyulmalıdır.

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

* 3 çalışmadan sonra Lugol çözeltisi filtreleyin

** 5 çalıştırmadan sonra Gram dekolorize çözeltisi atın

Boyama rafında boyama

Sabitlenmiş yaymalı lam		
Gram kristal viyole çözeltisi	tümüyle kapatın ve tepki-meye bırakın	1 dk
Lugol çözeltisi	kısa süre durulayın	
Lugol çözeltisi	tümüyle kapatın ve tepki-meye bırakın	1 dk
Distile su	dikkatle yıkayın	5 sn
Gram dekolorize çözeltisi	lamları, daha fazla boya bulutu oluşmayınca ve yayma gri-mavi bir renk alıncaya kadar dikkatle döndürün	10 - 15 sn

Distile su	dikkatle yıkayın	5 sn
Gram safranin çözeltisi	tümüyü kapatın ve tepki-meye bırakın	1 dk
Distile su	dikkatle yıkayın	5 sn
Hava ile kurutun (örn. gece boyunca veya kurutma kabinde 50°C’de)		

Bakteriyolojik numunelerin birkaç ay süreyle saklanması için susuz montaj ortamı (örn. Neo-Mount™ veya Entellan™) ve bir lamel ile kapatma önerilir. Bunun için boyanan numuneler çok iyi kurutulmalıdır.

Mikroskopik büyütmeye > 40x olan boyalı lamaların analizi için daldırma yağı kullanılması önerilir.

Otomatik boyama cihazında boyama

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

Sonuç

Gram pozitif mikroorganizmalar	mavi-viyole
Gram negatif mikroorganizmalar	pembe ila kırmızı

Sorun giderme

Yayma numunelerinin fiksasyonu

Numunelerin bulaşıcı potansiyelini ve bakterilerin daha fazla çoğalmasını önlemek için bir Bunsen brülörü veya bir ısıtma kabini kullanılarak yeterli derecede ısı fiksasyonu şarttır.

Gram pozitif bakterilerde boyanma yok

Gram boyama prosedürünün kritik aşaması, yaymanın kalınlığından etkilenebilecek olan renk giderme aşamasıdır. Ayrıca, taze bir renk giderici solüsyon yüksek düzeyde reaktif olduğundan sonucun dikkatle değerlendirilmesi gerekir. Renk giderme adımı sırasında kullanıcı protokolde açıklanan inkübasyon sürelerine harfiyen bağlı kalmalıdır, aksi takdirde yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir.

Teknik notlar

Kullanılan mikroskop, bir tıbbi tanı laboratuvarının gereksinimlerini karşılamalıdır.

Otomatik boyama sistemleri kullanırken lütfen sistem ve yazılım tedarikçisi tarafından verilen kullanım talimatlarına uyun. Doldurmadan önce fazla daldırma yağını çıkarın.

Analitik performans karakteristikleri

Mevcut yardımcı reaktifler “Lugol çözeltisi PVP ile stabilize edilmiş” ve “Lugol çözeltisi (seyreltik iyot-potasyum iyodür çözeltisi)”, bu Kullanım Talimatlarının “Kullanım amacı” bölümünde açıklanan şekilde biyolojik yapıların mikroskopik incelemesine yardımcı olur. Ürünlerin kullanımı sadece yetkili ve kalifiye kişiler tarafından gerçekleştirilmelidir ve buna numune ve reaktif hazırlama, numune elleçleme, uygun kontrollere ilişkin kararlar ve daha fazlası dahildir.

Ürünlerin analitik performansı, her bir üretim partisinin test edilmesiyle onaylanmıştır.

Şu boyalar için ürünün özgüllüğü, duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği açısından analitik performans %100 oranında doğrulandı:

Kat. No. 1.00567 - Lugol çözeltisi PVP ile stabilize edilmiş

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

Analitik performans sonuçları

Kat. No. 1.09261 - Lugol çözeltisi (seyreltik iyot-potasyum iyodür çözeltisi)

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

Analitik performans sonuçları

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

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

Tanılama

Tanılama sadece yetkili ve kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.

Geçerli isimlendirmeler kullanılmalıdır.

Bu yöntem, insan teşhislerinde tamamlayıcı olarak kullanılabilir.

Daha ileri testler, tanınmış yöntemlere göre seçilmeli ve uygulanmalıdır.

Hatalı bir sonuçtan kaçınmak için her uygulamayla birlikte uygun kontroller gerçekleştirilmelidir.

Boyama seti Gram pozitif bakteriler ve Gram negatif bakterilerle kontrol edilebilir.

18-24 saatlik inkübasyondan sonra bir kültür ortamından alınan bakteriler kullanılmalıdır.

Saklama

Lugol çözeltisi PVP ile stabilize edilmiş - Gram renklendirme için ve Lugol çözeltisi (seyreltik iyot-potasyum iyodür çözeltisi) - Gram boyama yöntemi için +15 °C ıla +25 °C’de saklayın.

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

Raf ömrü

Lugol çözeltisi PVP ile stabilize edilmiş - Gram renklendirme için ve Lugol çözeltisi (seyreltik iyot-potasyum iyodür çözeltisi) - Gram boyama yöntemi için, belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Şişenin ilk açılışından sonra, içeriği +15 °C ile +25 °C arasında saklandığında belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Şişeler her zaman sıkıca kapalı durumda tutulmalıdır.

Kapasite

yakl. 250 boyama / 500 ml

Diğer talimatlar

Yalnızca profesyonel kullanım içindir.

Hatalardan kaçınmak için uygulama sadece kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.

İş güvenliği ve kalite güvencesi ile ilgili ulusal yönergelerle uyulmalıdır.

Standarda uygun şekilde donatılmış mikroskoplar kullanılmalıdır.

Gerekirse tıbbi tanı laboratuvarına uygun standart bir santrifüj kullanın.

Enfeksiyona karşı korunma

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

İmha talimatları

Paket, yürürlükteki imha yönergelerine uygun şekilde imha edilmelidir.

Kullanılmış ve raf ömrü dolmuş olan solüsyonlar yerel yönergelere uygun

şekilde özel atık olarak atılmalıdır. İmha ile ilgili bilgiler,

www.microscopy-products.com adresinde “Mikroskopi Ürünlerinin İmhasına

İlişkin İpuçları” Hızlı Bağlantısı altında verilmiştir. AB içinde şu anda, mad-

delerin ve karışımların sınıflandırılması, etiketlenmesi ve paketlenmesine

ilişkin olarak, 67/548/EEC ve 1999/45/EC Yönergelerinin değiştirilmesi ve

yürürlükten kaldırılması ve 1907/2006 Sayılı Yönetmeliğin (EC) değiştirilme-

si ile, 1272/2008 Sayılı (AT) YÖNETMELİK geçerlidir.

Yardımcı reaktifler

Kat. No. 1.04699	İmmersiyon yağı mikroskopi için	100 ml’lik damlatma şişesi, 100 ml, 500 ml
Kat. No. 1.07960	Entellan™ hızlı destek besiyeri mikroskopi için	500 ml
Kat. No. 1.07961	Entellan™ new hızlı destek besiyeri mikroskopi için	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. No. 1.09016	Neo-Mount™ susuz destek besiyeri mikroskopi için	100 ml’lik damlatma şişesi, 500 ml
Kat. No. 1.09217	Gram safranin çözeltisi Gram boyama yöntemi için	500 ml, 2,5 l
Kat. No. 1.09218	Gram kristal viyole çözeltisi Gram boyama yöntemi için	500 ml, 2,5 l
Kat. No. 1.10218	Gram dekolorize çözeltisi Gram boyama yöntemi için	500 ml, 2,5 l
Kat. No. 1.11885	Gram-Color Gram boyama yöntemi için boya seti	1 set

Tehlike sınıflandırması

Kat. No. 1.09261

Kat. No. 1.00567

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

Güvenlik bilgi formu web sitesinde ve talep üzerine mevcuttur.

Kat. No. 1.00567

DİKKAT! CMR maddeleri içerir. Lütfen güvenlik bilgi formunda belirtilen ilgili güvenlik talimatlarına uyun.

Ürünlerin ana bileşenleri

Kat. No. 1.00567

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

Kat. No. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

Genel açıklama

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse, lütfen bunu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal makaminize bildirin.

Literatür

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition

Kat. No. 1.00567



H318: Ciddi göz hasarına yol açar.

H360D: Doğmamış çocukta hasara yol açabilir.

H412: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki.

P202: Bütün önlem ifadeleri okunup anlaşılmadan elleçlemeyin.

P273: Çevreye verilmesinden kaçının.

P280: Göz koruyucu/ yüz koruyucu kullanın.

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

P308 + P313: Maruz kalınma veya etkileşme halinde İSE: Tıbbi yardım/ bakım alın.

P405: Kilit altında saklayın.

Revizyon Geçmişi

Sürüm	Değişiklik Yorumu
2024-Jul-24	Revizyon Geçmişi girişiyle birlikte ilk sürüm.
2025-Oct-29 V.1	Tehlike sınıflandırmasının güncellenmesi. Yeni sembol ve H&P cümlelerinin eklenmesi.



Kullanım talimatla-
rına başvurun



Üretici



Katalog numarası



Parti kodu



Dikkat, beraberindeki
belgelere bakın



Son kullanma ta-
rihi: YYYY-AA-GG



Sıcaklık
sınırlaması

Status: 2025-Oct-29 V.1

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

© 2025 MerckKGaA, Darmstadt, Almanya ve/veya bağlı şirketleri. Tüm Hakları Saklıdır. Merck ve Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Almanya'nın ticari markalarıdır. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerine aittir. Ticari markalarla ilgili ayrıntılı bilgiler kamuoyuna açık kaynaklarda mevcuttur.



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

MERCK