

Gramfärbeset

Zur Gramdifferenzierung von Mikroorganismen



In-vitro-Diagnostikum



Zweckbestimmung

Die Gram-Lösungen dienen zur Differenzierung der Bakterien in „grampositive“ und „gramnegative“ Mikroorganismen.

Die Farbreaktion ist eng korreliert mit der Struktur der Zelle -speziell der Zellwand- und mit verschiedenen weiteren Eigenschaften. Der Färbung kommt daher auch eine wesentliche taxonomische Bedeutung zu.

Wirkprinzip

Die Zellwand der Bakterien bewirkt das unterschiedliche Färbeverhalten. Bei der Färbung mit Kristallviolett, einem Anilinfarbstoff und Beizung mit der Jod-Lösung nach Lugol entsteht in der Zelle ein Farbstoff-Jod-Komplex. Dieser Komplex wird bei gram-positiven Bakterien, aufgrund der Struktur der Zellwand, nicht durch den Entfärbeschritt ausgewaschen. Sie erscheinen blau-violett.

Gram-negative Bakterien können diesen Komplex nicht in ihrer Zellwand festhalten, sie werden nach der Entfärbung durch eine Kontrastfärbung mit Safranin-Lösung dargestellt und erscheinen dadurch rosa bis rot.

Reagenzien

REF 6341 Gramfärbeset

Bestandteile in der Packung:

Das Set besteht aus 4x250ml Flaschen

Lösung 1:	Kristallviolett-Lösung	250ml
Lösung 2:	Lugols-Lösung	250ml
Lösung 3:	Entfärbe-Lösung	250ml
Lösung 4:	Safranin-Lösung	250ml

Probenvorbereitung

Das Probenmaterial, wie Koloniematerial, Eiter oder Körperflüssigkeiten wird mit einer ausgeglühten Impföse auf einen fettfreien Objektträger aufgetragen und entweder direkt oder mit 1 bis 2 Tropfen physiologischer Natriumchloridlösung verrieben und ausgestrichen.

Nach der Lufttrocknung erfolgt die Fixierung durch dreimaliges langsames Durchziehen durch die Flamme eines Bunsenbrenners. Die Ausstrichseite ist dabei nach oben zu richten.

Färbung

1. Objektträger vollständig mit Lösung 1 (Kristallviolett-Lösung) bedecken, 1 Minute färben und danach abgießen.
2. Färbereite mit Lösung 2 (Lugols-Lösung) abspülen, dann vollständig mit Lösung 2 bedecken, 1 Minute einwirken lassen, mit dest. Wasser vorsichtig abspülen.
4. Objektträger mit Lösung 3 (Entfärbe-Lösung) bedecken, Objektträger schwenken bis keine Farbwolken mehr abgehen (ca. 30 sec.), anschließend Abspülen mit dest. Wasser.
6. Objektträger mit Lösung 4 (Safranin-Lösung) bedecken, 1 Minute einwirken lassen und danach mit dest. Wasser vorsichtig abspülen.
7. Nach Lufttrocknung den gefärbten Ausstrich mikroskopieren.

Auswertung

Grampositive Bakterien	blau-violett
Gramnegative Bakterien	rosa bis rot

Kontrolle

Die Funktionstüchtigkeit des Gramfärbesets kann mit grampositiven Bakterien (z.B. Staphylokokken) und gramnegativen Bakterien (z.B. E.coli) überprüft werden. Dazu sind die Kulturen von 18-24 Stunden lang bebrüteten Nährböden zu verwenden. Geeignete Kontrollen sollten bei jeder Anwendung mitgeführt werden, um ein fehlerhaftes Ergebnis auszuschließen.

Hinweise

Nur für professionelle Anwendung.

Um Fehler zu vermeiden, ist die Anwendung von Fachpersonal durchzuführen. Nationale Richtlinien für Arbeitssicherheit und Qualitätssicherung sind zu befolgen. Das verwendete Mikroskop sollte den Anforderungen eines medizinisch-diagnostischen Labors entsprechen.

Diagnostik

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

Lagerung / Haltbarkeit

Das Gramfärbeset ist bei +15°C bis +25°C zu lagern. Nach dem ersten Öffnen der Flasche ist diese bis zum angegebenen Verfalldatum verwendbar.

Bei den Farbstofflösungen kann es bei einer Temperatur unter 15°C zur Bildung von Farbstoffniederschlägen kommen. In einem solchen Fall sind die Flaschen 1–3 Stunden unter gelegentlichem Schütteln in ein etwa 60°C warmes Wasserbad einzustellen. Der größte Teil der Farbstoffniederschläge löst sich wieder auf. Die Farbstofflösungen sind anschließend durch ein Papierfilter zu filtrieren.

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

Hauptbestandteile

Lösung 1	Kristallviolett	10g/l
Lösung 2	Iod	3,3g/l
	Kaliumjodid	6,6g/l
Lösung 3	Aceton	157g/l
	Ether	143g/l
	Ethanol	631g/l
Lösung 4	Safranin	3,9g/l

GefahrstoffEinstufung

	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Kristallviolett-Lösung	 Achtung!	226,412	273
Lugols-Lösung	 Achtung!	412	273
Entfärbelösung	 Achtung!	225,319, 336	210,233, 305+351, 403+235
Safranin-Lösung	 Achtung!	226	

Entsorgung

Gebrauchte Lösungen und Lösungen mit abgelaufener Haltbarkeit sind als Sondermüll zu entsorgen, dabei ist den lokalen Entsorgungsrichtlinien zu folgen.

Andere Handelsformen

Einzelabfüllungen:

Kristallviolett-Lösung	1000 ml	REF 6301
Lugols-Lösung	1000 ml	REF 6321
Entfärbelösung	1000 ml	REF 6331
Safranin-Lösung	1000 ml	REF 6311



Chargen-
bezeichnung



Verwendbar
bis



Hersteller



Gebrauchs-
information
beachten



Lagerung bei
15°C bis 25°C



In-vitro-
Diagnostikum



Artikel-
nummer