

Instructions for Use

Gram Stain Kit for Films

Gram Stain Kit for Tissue

Procedure No. HT90



Intended Use

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

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

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

Reagents

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

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

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

Iodine, 0.33%, and potassium iodide, 0.66%

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

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

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

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

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

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

Special Materials Required but Not Provided

- Positive control slides should be included in each run, Gram Stain TISSUE-TROL™ (Cat. No. TTR005)
- Alcohol, Absolute
- Acetone, ACS Grade
- Xylene or xylene substitute
- Microscope
- Standard Laboratory filter paper (recommended Whatman No. 1 - but not exclusive)

Storage and Stability

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

Preparation

All reagents are ready to use. If precipitate is found in Crystal Violet reagent prior to use, filter with standard laboratory paper such as Whatman No. 1 or equivalent.

Precautions

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

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

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

Procedure

Specimen Collection

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

Films

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

Tissue

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

Notes

Care should be taken to avoid over decolorization of the slides with the Decolorizer Solution. Even

Gram positive organisms will become colorless and appear red if the Decolorizer solution is left on the slide for excessive periods of time.³

Procedure

Procedure for films

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

Procedure for tissue²

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

Performance Characteristics

Gram positive organisms	Purple
Gram negative organisms	Red

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

Analytical Performance Characteristics

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

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

Warnings and Hazards

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

HT90A:



H314 Causes severe skin burns and eye damage.

H336 May cause drowsiness or dizziness.

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

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

P304 + P340 + P310 IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.

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

HT90T:

H314 Causes severe skin burns and 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 protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.

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

P304 + P340 + P310 IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.

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

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

Symbol Definitions

Symbols as defined in EN ISO 15223-1:2021

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

References

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

Contact Information

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

Revision History

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Transferred to new template with current branding. Specified for professional use in intended use and precautions. Revised intended use to align with IVDR guidelines. Updated Material Safety Data Sheet to Safety Data Sheet. Updated contact information. Removed instruction to follow CLSI for specimen collection. Removed EN 980 and changed to EN ISO 15223-1:2021 for symbols. Removed discontinued Cat. No. G3045 from Special Materials Required but not Provided. Added adverse event contact information. Added Warnings and Hazards. Added CH-REP information.
Rev. 6.0	2026
	Updated to align with GHS classifications. Updated preparations section with instructions to filter Crystal Violet prior to use if precipitate is found. Updated Special Materials Required but not Provided section to include the use of standard laboratory filter paper per instructions listed in the preparations.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

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

Gebrauchsanweisung

Gram-Färbe-Kit für Ausstriche

Gram-Färbe-Kit für Gewebe

Verfahren Nr. HT90



Verwendungszweck

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

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

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

Reagenzien

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

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

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

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

Entfärbelösung (Kat.-Nr. HT903-8FOZ)

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

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

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

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

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

Erforderliche, aber nicht im Lieferumfang enthaltene spezielle Materialien

- Positive Kontroll-Objektträger sollten in jedem Durchlauf enthalten sein, Gram Stain TISSUE-TROL™ (Kat.-Nr. TTR005)
- Reiner Alkohol
- Aceton, ACS-Qualität
- Xylol oder Xylolersatz
- Mikroskop
- Standard-Laborfilterpapier (empfohlen Whatman Nr. 1, jedoch nicht ausschließlich)

Lagerung und Stabilität

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

Vorbereitung

Alle Reagenzien sind gebrauchsfertig. Wenn vor der Verwendung Niederschlag im Kristallviolett-Reagenz festgestellt wird, mit Standard-Laborpapier wie Whatman Nr. 1 oder einem gleichwertigen Produkt filtrieren.

Vorsichtsmaßnahmen

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

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

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

Verfahren

Probenentnahme

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

Ausstriche

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

Gewebe

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

Hinweise

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

Verfahren

Verfahren für Ausstriche

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

Verfahren für Gewebe²

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

Leistungsmerkmale

Grampositive Organismen	Violett
Gramnegative Organismen	Rot

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

Analytische Leistungsmerkmale

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

Art.-Nr.	Beschreibung des Produkts	Ziel	Intra-Assay-Spezifität	Intra-Assay-Empfindlichkeit	Inter-Assay-Spezifität	Inter-Assay-Empfindlichkeit
HT901	Kristallviolett-Lösung	Gram-positiv	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Gram-negativ	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT902	Gram'sche Iodlösung	Gram-positiv	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Gram-negativ	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT903	Entfärbelösung	Gram-positiv	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Gram-negativ	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT904	Safranin O-Lösung	Gram-positiv	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Gram-negativ	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT3028	Tartrazin-Lösung	Hintergrund	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3

Warnungen und Gefahren

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

HT90A:



H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden.

H336 Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.

H360D Kann das ungeborene Kind schädigen.

H412 Schädlich für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.

P202 Nicht handhaben, bevor Sie nicht alle Sicherheitshinweise gelesen und verstanden haben.

P273 Freisetzung in die Umwelt ist zu vermeiden.

P280 Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.

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

P304 + P340 + P310 BEI EINATMEN: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie dafür, dass sie bequem atmen kann. Rufen Sie sofort eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.

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

Instructions d'utilisation

Kit de coloration de Gram pour frottis

Kit de coloration de Gram pour tissus

Procédure n° HT90



Utilisation prévue

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

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

La procédure de Sigma-Aldrich repose sur le travail de Hucker et Conn qui est une modification de la procédure d'origine de Gram de 1884. La procédure de Hucker et Conn utilise une solution de cristal violet et d'oxalate d'ammonium qui facilite la différenciation et est assez stable¹.

Réactifs

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

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

Solution iodée de Gram (réf. HT902-8FOZ)

Iode, 0,33 % et iodeure de potassium, 0,66 %

Solution de décoloration (réf. HT903-8FOZ)

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

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

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

Solution de tartrazine (réf. HT3028-250ML)

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

Matériel spécial requis mais non fourni

- Lames de contrôle positives qui doivent être incluses dans chaque série, Gram Stain TISSUE-TROL™ (réf. TTR005)
- Alcool absolu
- Acétone, de qualité ACS
- Xylène ou substitut du xylène
- Microscope
- Papier filtre de laboratoire standard (Whatman n° 1 recommandé, mais non exclusif)

Conservation et stabilité

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

Préparation

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi. Si un précipité est détecté dans le réactif cristal violet avant utilisation, le filtrer avec du papier de laboratoire standard tel que le papier Whatman n° 1 ou équivalent.

Précautions

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

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

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

Procédure

Prélèvement des échantillons

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

Frottis

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

Tissus

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

Remarques

Éviter de décolorer excessivement les lames avec la solution de décoloration. Même les micro-organismes à Gram positif deviendront incolores et apparaîtront en rouge si la solution de

décoloration est laissée sur la lame pendant des périodes trop longues³.

Procédure

Procédure pour les frottis

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

Procédure pour les tissus²

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

Caractéristiques de performance

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

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

Caractéristiques de performance analytique

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

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

Avertissements et risques

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

HT90A :



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

H336 Peut provoquer somnolence ou vertiges.

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 des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

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

P304 + P340 + P310 EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

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

HT90T :

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

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 des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

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

P304 + P340 + P310 EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

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

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

Définition des symboles

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

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

Références

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

Coordonnées

Pour passer commande, consulter notre site Web à l'adresse SigmaAldrich.com. Pour le service technique, consulter la page du service technique sur notre site Web à l'adresse SigmaAldrich.com/techservice.

Historique des révisions

Rév. 3.0	2014
Rév. 4.0	2016
Rév. 5.0	2023
	Transfert vers un nouveau modèle avec l'image de marque actuelle. Précision de l'usage professionnel dans l'utilisation prévue et les précautions. Révision de l'utilisation prévue afin de l'aligner sur les recommandations de la réglementation relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. Remplacement du texte « Material Safety Data Sheet » par « Safety Data Sheet » dans la version anglaise. Mise à jour des coordonnées. Suppression de l'instruction indiquant de suivre les normes et recommandations du CLSI pour le prélèvement des échantillons. Remplacement de la norme EN 980 par la norme EN ISO 15223-1:2021 pour les symboles. Suppression de la référence catalogue G3045 de la section Matériel spécial requis mais non fourni. Ajout de coordonnées en cas d'événements indésirables. Ajout de la section relative aux avertissements et risques. Ajout des informations sur le mandataire suisse (CH-REP).
Rév. 6.0	2026
	Mise à jour pour alignement sur les classifications SGH. Mise à jour de la section Préparations avec les instructions pour filtrer la solution de cristal violet avant utilisation en cas de précipitat. Mise à jour de la section Matériel spécial requis mais non fourni pour inclure l'utilisation de papier filtre de laboratoire standard conformément aux instructions figurant dans les préparations.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne et/ou ses filiales. Tous droits réservés.
© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
L'activité Life Science de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne opère sous le nom de MilliporeSigma aux États-Unis et au Canada.
The Life Science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Istruzioni per l'uso

Kit per la colorazione di Gram per strisci

Kit per la colorazione di Gram per tessuti

Procedura n. HT90



Uso previsto

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

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

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

Reagenti

Soluzione di cristalvioioletto (N. di cat. HT901-8FOZ)

Cristalvioioletto certificato, 2,30%, C.I. 42555, ossalato di ammonio, 0,1% e alcol etilico al 20%, SD3A

Soluzione di iodio di Gram (N. di cat. HT902-8FOZ)

Iodio, 0,33% e ioduro di potassio, 0,66%

Soluzione decolorante (N. di cat. HT903-8FOZ)

Richiesto solo per gli strisci. Alcol isopropilico, 75% e acetone, 25%

Soluzione di safranina O (N. di cat. HT904-8FOZ)

Safranina certificata 0,6%, C.I. 50240, in alcol etilico al 20%, SD3A

Soluzione di tartrazina (N. di cat. HT3028-250ML)

Richiesto solo per le sezioni tissutali. Tartrazina, 0,25%, C.I. 19140 e acido acetico, 0,25%

Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione

- Includere in ogni sessione vetrini di controllo positivo, Colorazione di Gram TISSUE-TROL™ (N. di cat. TTR005)
- Alcol, assoluto
- Acetone, di grado ACS
- Xilene o sostituto dello xilene
- Microscopio
- Carta da filtro standard da laboratorio (consigliata Whatman n. 1, ma non esclusiva)

Conservazione e stabilità

Conservare a temperatura ambiente (18-26 °C). L'etichetta dei reagenti riporta la data di scadenza. Utilizzare solo una volta, quindi gettare.

Preparazione

Tutti i reagenti sono pronti per l'uso. Se prima dell'uso si trova del precipitato nel reagente cristalvioioletto, filtrare con carta standard da laboratorio, come Whatman n. 1 o equivalente.

Precauzioni

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

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

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

Procedura

Raccolta dei campioni

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

Strisci

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

Tessuto

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

Note

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

Procedura

Procedura per gli strisci

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

Procedura per le sezioni tissutali²

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

Caratteristiche prestazionali

Organismi Gram-positivi	Porpora
Organismi Gram-negativi	Rosso

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

Caratteristiche di prestazione analitica

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

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

Avvertenze e pericoli

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

HT90A:



H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H336 Può provocare sonnolenza o vertigini.

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 precauzioni di sicurezza.

P273 Non disperdere nell'ambiente.

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

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

P304 + P340 + P310 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

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

HT90T:

H314 Provoca gravi ustioni cutanee e 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 precauzioni di sicurezza.

P273 Non disperdere nell'ambiente.

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

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

P304 + P340 + P310 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

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

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

Definizioni dei simboli

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

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

Bibliografia

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

Recapiti

Per effettuare un ordine, visitare il nostro sito web all'indirizzo SigmaAldrich.com. Per il servizio di assistenza tecnica, visitare l'apposita pagina dedicata sul nostro sito web all'indirizzo SigmaAldrich.com/techservice.

Cronologia delle revisioni

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	<p>Trasferito a un nuovo modello con il marchio attuale. Specificato "per uso professionale" nelle sezioni "Uso previsto" e "Precauzioni". Modificata la sezione "Uso previsto" per allinearla alle linee guida dell'IVDR. Modificato "scheda dati di sicurezza dei materiali" in "scheda dati di sicurezza". Aggiornati i recapiti. Eliminate le istruzioni per conformarsi allo standard CLSI per la raccolta dei campioni. Sostituita l'indicazione della norma EN 980 con quella della norma EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Eliminato "fuori produzione N. di cat. G3045" da "Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione". Aggiunti recapiti da contattare in caso di eventi avversi. Aggiunta la sezione "Avvertenze e pericoli". Aggiunta di informazioni su CH-REP.</p>
Rev. 6.0	2026
	<p>Aggiornato per allineare alle classificazioni GHS. Aggiornata la sezione "Preparazione" con istruzioni per filtrare il cristallivioletto prima dell'uso in caso di presenza di precipitato. Aggiornata la sezione "Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione" per includere l'uso di carta da filtro standard da laboratorio secondo le istruzioni elencate nelle preparazioni.</p>



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germania and/or its affiliates. All rights reserved.

The business "Life Science" di Merck KGaA, Darmstadt, Germania operi come MilliporeSigma negli USA e in Canada.

Instrucciones de uso

Kit de tinción de Gram para láminas

Kit de tinción de Gram para tejidos

N.º de procedimiento HT90



Uso previsto

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

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

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

Reactivos

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

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

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

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

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

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

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

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

Solución de tartracina (N.º de cat. HT3024-120ML o HT3028-250ML)

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

Material especial necesario pero no suministrado

- Deben incluirse en cada proceso los portaobjetos de control positivo, tinción de Gram TISSUE-TROL™ (N.º de cat. TTR005)
- Alcohol, absoluto
- Acetona, grado ACS
- Xileno o sustituto del xileno
- Microscopio
- Papel de filtro de laboratorio estándar (se recomienda Whatman n° 1, aunque no es exclusivo)

Almacenamiento y estabilidad

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

Preparación

Todos los reactivos están listos para su uso. Si se encuentra precipitado en el reactivo de cristal violeta antes de su uso, fíltrelo con papel de laboratorio estándar, como Whatman n.º 1 o equivalente.

Precauciones

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

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

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

Procedimiento

Recogida de la muestra

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

Láminas

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

Tejido

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

Notas

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

Procedimiento

Procedimiento para las láminas

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

Procedimiento para tejido²

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

Características de funcionamiento

Organismos Gram-positivos	Púrpura
Organismos Gram-negativos	Rojo

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

Características de funcionamiento analítico

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

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

Advertencias y peligros

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

HT90A:



H314 Provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares.

H336 Puede provocar somnolencia o vértigo.

H360D Puede dañar al feto.

H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P202 No manipular antes de haber leído y comprendido todas las precauciones de seguridad.

P273 No dispersar en el medio ambiente.

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

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

P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

HT90T:

H314 Provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares.

H360D Puede dañar al feto.

H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P202 No manipular antes de haber leído y comprendido todas las precauciones de seguridad.

P273 No dispersar en el medio ambiente.

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

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

P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

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

Definiciones de los símbolos

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

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

Referencias

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

Información de contacto

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

Historial de revisiones

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Transferido a la nueva plantilla con la marca actual. Especificado para uso profesional en uso previsto y precauciones. Se ha revisado el uso previsto para adaptarlo a las directrices europeas sobre DIV. Se ha actualizado la ficha de datos de seguridad del material a la ficha de datos de seguridad. Se ha actualizado la información de contacto. Se ha eliminado la instrucción de seguir el CLSI para la recogida de muestras. Se ha eliminado la norma EN 980 y se ha cambiado a la norma EN ISO 15223-1:2021 en los símbolos. Se ha eliminado el N.º de cat. G3045 de Materiales especiales requeridos pero no suministrados. Se ha añadido la información de contacto en caso de acontecimientos adversos. Se han añadido advertencias y peligros. Se ha añadido la información del representante de Suiza.
Rev. 6.0	2026
	Actualizado para alinearlo con las clasificaciones del GHS. Sección de preparaciones actualizada con instrucciones para filtrar el cristal violeta antes de su uso si se encuentra precipitado. Se actualizó la sección de Materiales especiales necesarios pero no suministrados para incluir el uso de papel de filtro de laboratorio estándar conforme a las instrucciones indicadas en la sección de preparaciones.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

La M inicial y Sigma-Aldrich son marcas comerciales registradas de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania o sus filiales. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños. Tiene a su disposición información detallada sobre las marcas comerciales a través de recursos accesibles al público.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Alemania and/o filiales afiliados. All rights reserved.

MiliporeSigma es la división Life Science de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania en los Estados Unidos y en Canadá.

Brugsanvisning

Gramfarvningsæt til film

Gramfarvningsæt til væv

Procedure nr. HT90



Tilsigtet brug

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

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

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

Reagenser

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

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

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

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

Affarvningsopløsning (kat.nr. HT903-8FOZ)

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

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

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

Tartrazinopløsning (kat.nr. HT3028-250ML)

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

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Der skal inkluderes positive kontrolobjektglas, såsom TISSUE-TROL™ til gramfarvning (kat.nr. TTR005), i hver kørsel
- Alkohol, absolut
- Acetone, ACS-kvalitet
- Xylen eller xylenerstatning
- Mikroskop
- Standard laboratoriefilterpapir (Whatman No. 1 anbefales - men andet kan også anvendes)

Opbevaring og stabilitet

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

Klargøring

Alle reagenser er klar til brug. Hvis der findes bundfald i krystalviolet-reagens før brug, skal der filtreres med standard laboratoriepapir som f.eks. Whatman No. 1 eller tilsvarende.

Forsigtighedsregler

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

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

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

Procedure

Prøveindsamling

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

Film

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

Væv

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

Bemærkninger

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

Procedure

Procedure for film

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

Procedure for væv²

1. Afparaffiner snittene, og hydrer dem i demineraliseret vand.
2. Placer objektglassene på farvningsstativet, og dæk snittene med krystalviolet-opløsning i **1 minut**.
3. Hæld krystalviolet-opløsningen fra, og skyl grundigt i demineraliseret vand.
4. Bejdse i Grams jodopløsning i **5 minutter**.
5. Skyl i demineraliseret vand, og dup snittene.
6. Differentier i absolut alkohol eller acetone.
7. Skyl i deioniseret vand.
8. Dæk objektglassene med safranin O-opløsning i **30-60 sekunder**.
9. Skyl i demineraliseret vand, og dup snittene.
10. Dæk snittene med tartrazinopløsning i **5-10 sekunder**.
11. Dup overskydende farvestof af.
12. Skyl i 2 hold absolut alkohol.
13. Klarér i xylen, og montér.

Præstationskarakteristika

Grampositive organismer	Lilla
Gramnegative organismer	Rød

Kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for at få hjælp, hvis de observerede resultater afviger fra de forventede resultater.

Analytiske præstationskarakteristika

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

Kat.nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Specificitet inden for analyse	Sensitivitet inden for analyse	Specificitet mellem analyser	Sensitivitet mellem analyser
HT901	Krystalviolet-opløsning	Grampositiv	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Gramnegative	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT902	Grams jodopløsning	Grampositiv	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Gramnegative	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT903	Affarvningsopløsning	Grampositiv	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Gramnegative	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT904	Safranin O-opløsning	Grampositiv	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Gramnegative	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT3028	Tartrazinopløsning	Baggrund	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3

Advarsler og farer

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

HT90A:



H314 Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.

H336 Kan forårsage døsighed eller svimmelhed.

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 beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

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

P304 + P340 + P310 VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft, og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til GIFTLINJEN/en læge.

P305 + P351 + P338 VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis de er til stede og er lette at fjerne. Fortsæt med at skylle.

HT90T:

H314 Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.

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 beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

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

P304 + P340 + P310 VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft, og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til GIFTLINJEN/en læge.

P305 + P351 + P338 VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis de er til stede og er lette at fjerne. Fortsæt med at skylle.

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

Symboldefinitioner

Symboler som defineret i EN ISO 15223-1:2021

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

Referencer

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

Kontaktoplysninger

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

Revisionshistorik

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Overført til ny skabelon med nuværende branding. Specificeret til professionel brug under tilsigtet brug og forsigtighedsregler. Revideret tilsigtet brug for at stemme overens med IVDR-retningslinjer. Opdateret materialesikkerhedsdatablad til sikkerhedsdatablad. Opdateret kontaktoplysninger. Fjernet instruks om at følge CLSI vedrørende prøveindsamling. Fjernet EN 980 og ændret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Fjernet udgået kat.nr. G3045 fra Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger. Tilføjet kontaktoplysninger i tilfælde af uønskede hændelser. Tilføjet advarsler og farer. Tilføjet CH-REP-oplysninger.
Rev. 6.0	2026
	Opdateret til at stemme overens med GHS-klassifikationer. Opdaterede klargøringsafsnittet med instrukser om at filtrere krystalviolet før brug, hvis der observeres bundfald. Opdaterede afsnittet Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger, så det omfatter brug af standard laboratoriefilterpapir jævnfør de instrukser, der er anført i forberedelser.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland, og/eller dets tilknyttede virksomheder Alle rettigheder forbeholdes.
© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
Life science-virksomheden Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland, drives under navnet MilliporeSigma i USA og
Canada science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Bruksanvisning

Gramfärgningsssats för filmer

Gramfärgningsssats för vävnad

Förfarande nr. HT90



Avsedd användning

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

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

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

Reagenser

Gentianblå-lösning (kat.-nr. HT901-8FOZ)

Certifierad kristallviolett, 2,30 %, C.I. 42555, ammoniumoxalat, 0,1 %, och 20 % etylalkohol, SD3A

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

Jod, 0,33 %, och kaliumjodid, 0,66 %

Avfärgningslösning (kat.-nr. HT903-8FOZ)

Krävs endast för filmer. Isopropylalkohol, 75 %, och aceton, 25 %

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

Certifierad safranin 0,6 %, C.I. 50240, i 20 % etylalkohol, SD3A

Tartrazinlösning (kat.-nr. HT3028-250ML)

Krävs endast för vävnader. Tartrazin, 0,25 %, C.I. 19140 och ättiksyra, 0,25 %

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Positiva kontrollobjektglas ska inkluderas i varje körning, gramfärgning TISSUE-TROL™ (kat.nr TTR005)
- Alkohol, absolut
- Aceton, ACS-grad
- Xylen eller xylenersättning
- Mikroskop
- Laboratoriefilterpapper av standardtyp (Whatman No. 1 rekommenderas men är inte ett krav)

Förvaring och hållbarhet

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

Beredning

Alla reagenser är klara att använda. Om en fällning upptäcks i kristallviolettreagenset före användning ska du filtrera med laboratoriepapper av standardtyp t.ex. Whatman No. 1 eller motsvarande.

Försiktighetsåtgärder

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

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

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

Förfarande

Provtagning

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

Filmer

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

Vävnad

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

Anmärkningar

Försiktighet bör iaktas för att undvika överdriven avfärgning av objektglasen med avfärgningslösningen. Även grampositiva organismer kommer bli färglösa och se röda ut om avfärgningslösningen lämnas på objektglaset i långa perioder.³

Förfarande

Förfarande för filmer

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

Förfarande för vävnader²

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

Prestandaegenskaper

Grampositiva organismer	Lila
Gramnegativa organismer	Rött

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

Analytiska prestandaegenskaper

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

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

Varningar och faror

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

HT90A:



H314 Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador.

H336 Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad.

H360D Kan skada det ofödda barnet.

H412 Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

P202 Hantera inte förrän alla säkerhetsföreskrifter har lästs och förstås.

P273 Undvik utsläpp i miljön.

P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.

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

P304 + P340 + P310 VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att personen andas bekvämt. Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.

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

HT90T:

H314 Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador.

H360D Kan skada det ofödda barnet.

H412 Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

P202 Hantera inte förrän alla säkerhetsföreskrifter har lästs och förstås.

P273 Undvik utsläpp i miljön.

P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.

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

P304 + P340 + P310 VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att personen andas bekvämt. Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.

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

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

Symbolförklaring

Symboler enligt definition i EN ISO 15223-1:2021

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

Referenser

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

Kontaktuppgifter

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

Revisionshistorik

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specificerat "För yrkesmässigt bruk" under "Användningsområde" och under "Försiktighetsåtgärder". Reviderat "Avsedd användning" så att det motsvarar riktlinjerna för IVDR. Uppdaterat "Materialsäkerhetsdatablad" till "Säkerhetsdatablad". Uppdaterat kontaktuppgifterna. Tagit bort anvisningen om att CLSI ska följas vid provtagning. Tagit bort EN 980 och ändrat till EN ISO 15223-1:2021 för symbolerna. Tagit bort indraget kat.-nr. G3045 från "Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls". Lagt till kontaktuppgifter för negativa händelser. Lagt till varningar och faror. Lagt till CH-REP-information.
Rev. 6.0	2026
	Uppdaterat för att motsvara GHS-klassificeringarna. Avsnittet Beredning har uppdaterats med instruktioner för att filtrera kristallviolett före användning om en fällning upptäcks. Avsnittet Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls har uppdaterats för att omfatta användningen av laboratoriefilterpapper av standardtyp enligt instruktionerna som listas i Beredning.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland och/eller dess dotterbolag eller respektive förbehålls.

Life Science varumärken hos Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland är tillgängliga i USA och Kanada.

Instruções de utilização

Kit de coloração de Gram para películas

Kit de coloração de Gram para tecidos

Procedimento N.º HT90



Utilização prevista

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

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

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

Reagentes

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Devem ser incluídas lâminas de controlo positivo em cada série, como coloração de Gram TISSUE-TROL™ (N.º de cat. TTR005)
- Álcool, Absoluto
- Acetona, Grau ACS
- Xileno ou substituto do xileno
- Microscópio
- Papel de filtro padrão laboratorial (recomenda-se Whatman n.º 1, mas não é obrigatório)

Conservação e estabilidade

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

Preparação

Todos os reagentes estão prontos a utilizar. Se, antes de utilizar, se encontrar precipitado no reagente violeta cristal, filtre com papel padrão laboratorial, como Whatman n.º 1 ou equivalente.

Precauções

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

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

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

Procedimento

Colheita de amostras

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

Películas

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

Tecidos

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

Notas

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

Procedimento

Procedimento para películas

- Inundar a película com a solução de violeta cristal durante **1 minuto**.
- Enxaguar cuidadosamente com água desionizada.
- Inundar a película com a solução de iodo de Gram durante **1 minuto**.
- Enxaguar cuidadosamente com água desionizada.
- Inundar com a solução de descoloração durante até **10 segundos** até a cor deixar de sair.
- Enxaguar cuidadosamente com água desionizada.
- Inundar a película com a solução de safranina O durante **1 minuto**.
- Enxaguar cuidadosamente com água desionizada.
- Deixar secar ao ar a película e examinar microscopicamente.

Procedimento para tecido²

- Desparafinar as secções e hidratar com água desionizada.
- Colocar as lâminas no suporte de coloração e cobrir as secções com solução de violeta cristal, durante **1 minuto**.
- Drenar a solução de violeta cristal e enxaguar cuidadosamente com água desionizada.
- Mordente na solução de iodo de Gram durante **5 minutos**.
- Enxaguar em água desionizada e secar as secções com toalhas de papel.
- Efetuar a diferenciação em álcool absoluto ou acetona.
- Enxaguar em água desionizada.
- Cobrir as lâminas com solução de safranina O durante **30–60 segundos**.
- Enxaguar em água desionizada e secar as secções com toalhas de papel.
- Cobrir as secções com solução de tartrazina durante **5–10 segundos**.
- Secar o excesso de coloração com toalhas de papel.
- Enxaguar em 2 mudanças de álcool absoluto.
- Limpar em xileno e montar.

Características do desempenho

Organismos Gram-positivos	Violeta
Organismos Gram-negativos	Vermelho

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

Características do desempenho analítico

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

N.º de cat.	Descrição do produto	Alvo	Especificidade intraensaio	Sensibilidade intraensaio	Especificidade interensaio	Sensibilidade interensaio
HT901	Solução de violeta cristal	Gram-positiva	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativa	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT902	Solução de iodo de Gram	Gram-positiva	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativa	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT903	Solução de descoloração	Gram-positiva	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativa	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT904	Solução de safranina O	Gram-positiva	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Gram-negativa	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT3028	Solução de tartrazina	Fundo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Advertências e perigos

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

HT90A:



H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

H336 Pode provocar sonolência ou vertigens.

H360D Pode afetar o nascituro

H412 Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

P202 Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.

P273 Evitar a libertação para o ambiente.

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

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

P304 + P340 + P310 EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.

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

HT90T:

H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

H360D Pode afetar o nascituro.

H412 Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

P202 Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.

P273 Evitar a libertação para o ambiente.

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

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

P304 + P340 + P310 EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.

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

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

Definições dos símbolos

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

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

Referências

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

Informações de contacto

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

Histórico de revisões

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Transferência para novo modelo com a marca atual. Especificação para utilização profissional na utilização prevista e nas precauções. Revisão da utilização prevista para alinhamento com as diretrizes do regulamento relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro (RDIV). Atualização de Folha de Dados de Segurança do Material para Folha de Dados de Segurança. Atualização das informações de contacto. Remoção da instrução para seguir o CLSI na colheita de amostras. Remoção da norma EN 980 e alteração para a norma EN ISO 15223-1:2021 nos símbolos. Remoção do N.º de Cat. G3045 descontinuado dos Materiais especiais necessários mas não fornecidos. Adição de informações de contacto em caso de eventos adversos. Adição de Advertências e perigos. Adição das informações CH-REP.
Rev. 6.0	2026
	Atualização para efeitos de alinhamento com as classificações GHS. Atualização da secção "Preparação" com instruções para filtrar o violeta cristal antes da utilização, se se encontrar precipitado. Atualização da secção "Materiais especiais necessários mas não fornecidos", para incluir a utilização de papel de filtro padrão laboratorial, de acordo com as instruções listadas na secção "Preparação".



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha e/ou filiais. Todos os direitos reservados.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
O ramo de ciências da vida da Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha, assume o nome de MilliporeSigma nos EUA e **Canada** science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Οδηγίες χρήσης

Κιτ χρώσης Gram για φιλμ

Κιτ χρώσης Gram για ιστούς

Διαδικασία αρ. HT90



Προοριζόμενη χρήση

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

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

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

Αντιδραστήρια

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

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

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

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

Διάλυμα αποχρωματισμού (Αρ. καταλόγου HT903-8FOZ)

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

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

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

Διάλυμα ταρτραζίνης (Αρ. καταλόγου HT3028-250ML)

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

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Θετικές αντικειμενοφόροι ελέγχου, όπως Gram Stain TISSUE-TROL™ (Αρ. καταλόγου TTR005) πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε εκτέλεση
- Αλκοόλη, απόλυτη
- Ακετόνη, καθαρότητας ACS
- Ξυλένιο ή υποκατάστατο Ξυλενίου
- Μικροσκόπιο
- Τυπικό εργαστηριακό χαρτί διήθησης (συνιστάται το Whatman No. 1 – αλλά όχι αποκλειστικά)

Φύλαξη και σταθερότητα

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

Παρασκευή

Όλα τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα για χρήση. Αν εντοπιστεί ζημία στο αντιδραστήριο κρυσταλλικού ιώδους πριν από τη χρήση, φιλτράρετε με τυπικό εργαστηριακό χαρτί διήθησης, όπως το Whatman No. 1 ή ισοδύναμο.

Προφυλάξεις

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

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

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

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

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

Φιλμ

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

Ιστός

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

Σημειώσεις

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

Διαδικασία

Διαδικασία για φιλμ

1. Κατακλύστε το φιλμ με διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους για **1 λεπτό**.
2. Ξεπλύνετε καλά σε απιονισμένο νερό.
3. Κατακλύστε το φιλμ με διάλυμα ιωδίου Gram για **1 λεπτό**.
4. Ξεπλύνετε καλά σε απιονισμένο νερό.
5. Κατακλύστε με διάλυμα αποχρωματισμού για έως και **10 δευτερόλεπτα** μέχρι να σταματήσει να τρέχει το χρώμα.
6. Ξεπλύνετε καλά σε απιονισμένο νερό.
7. Κατακλύστε το φιλμ με διάλυμα σαφρανίνης Ο για **1 λεπτό**.
8. Ξεπλύνετε καλά σε απιονισμένο νερό.
9. Στεγνώστε το φιλμ στον αέρα και εξετάστε το μικροσκοπικά.

Διαδικασία για ιστό²

1. Αποσπαραινύστε τις τομές και ενυδατώστε σε απιονισμένο νερό.
2. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους στη βάση χρώσης και καλύψτε τις τομές με διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους, για **1 λεπτό**.
3. Αποστραγγίστε το διάλυμα κρυσταλλικού ιώδους και ξεπλύνετε καλά με απιονισμένο νερό.
4. Σταθεροποιήστε σε διάλυμα ιωδίου Gram για **5 λεπτά**.
5. Ξεπλύνετε σε απιονισμένο νερό και ταμπονάρτε τις τομές.
6. Διαφοροποιήστε σε απόλυτη αλκοόλη ή ακετόνη.
7. Ξεπλύνετε σε απιονισμένο νερό.
8. Καλύψτε τις αντικειμενοφόρους με διάλυμα σαφρανίνης Ο για **30-60 δευτερόλεπτα**.
9. Ξεπλύνετε σε απιονισμένο νερό και ταμπονάρτε τις τομές.
10. Καλύψτε τις τομές με διάλυμα ταρτραζίνης για **5-10 δευτερόλεπτα**.
11. Αφαιρέστε την επιπλέον χρώση με ταμπονάρισμα.
12. Ξεπλύνετε με απόλυτη αλκοόλη, αλλάζοντας την αλκοόλη 2 φορές.
13. Διαιγύστε σε Ξυλένιο και καλύψτε.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Gram-θετικοί οργανισμοί	Μοβ
Gram-αρνητικοί οργανισμοί	Κόκκινο

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

Χαρακτηριστικά απόδοσης της ανάλυσης

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

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

Προειδοποιήσεις και κίνδυνοι

Ανατρέξτε στο Δελτίο δεδομένων ασφαλείας και στην επισήμανση προϊόντος για οποιοσδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφαλείας.

HT90A:



H314 Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.

H336 Μπορεί να προκαλέσει υπνηλία ή ζάλη.

H360D Μπορεί να βλάψει το έμβρυο

H412 Επιβλαβές για τους 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 γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

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

P304 + P340 + P310 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφίστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.

P305 + P351 + P338 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εάν είναι εύκολο. Συνεχίστε την έκπλυση.

HT90T:



H314 Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.

H360D Μπορεί να βλάψει το έμβρυο.

H412 Επιβλαβές για τους 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 γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

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

P304 + P340 + P310 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.

P305 + P351 + P338 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εάν είναι εύκολο. Συνεχίστε την έκπλυση.

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

Ορισμοί συμβόλων

Σύμβολα όπως ορίζονται στο EN ISO 15223-1:2021

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

Βιβλιογραφικές αναφορές

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

Πληροφορίες επικοινωνίας

Για να κάνετε μια παραγγελία, επισκεφθείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση SigmaAldrich.com. Για την τεχνική εξυπηρέτηση, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη σελίδα τεχνικής εξυπηρέτησης στον ιστότοπό μας στη διεύθυνση SigmaAldrich.com/techservice.

Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθ. 3.0	2014
Αναθ. 4.0	2016
Αναθ. 5.0	2023
Έγινε μεταφορά σε νέο υπόδειγμα με την τρέχουσα επωνυμία. Προσδιορίστηκε για επαγγελματική χρήση στην προοριζόμενη χρήση και τις προφυλάξεις. Η προοριζόμενη χρήση αναθεωρήθηκε για ευθυγράμμιση με τις κατευθυντήριες γραμμές IVDR. Το Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού ενημερώθηκε σε Δελτίο δεδομένων ασφαλείας. Ενημερώθηκαν οι πληροφορίες επικοινωνίας. Αφαιρέθηκε η οδηγία να ακολουθείται το CLSI για τη συλλογή δειγμάτων. Αφαιρέθηκε το EN 980 και άλλαξε σε EN ISO 15223-1:2021 για τα σύμβολα. Αφαιρέθηκε το καταργημένο προϊόν με Αρ. καταλόγου G3045 από τα Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται. Προστέθηκαν πληροφορίες επικοινωνίας για ανεπιθύμητα συμβάντα. Προσθήκη προειδοποιήσεων και κινδύνων. Προστέθηκαν τα στοιχεία του εξουσιοδοτημένου αντιπροσώπου στην Ελβετία (CH-REP).	
Αναθ. 6.0	2026
Ενημερώθηκε ώστε να εναρμονίζεται με τις ταξινόμησεις GHS. Ενημερώθηκε η ενότητα των παρασκευών με οδηγίες για φιλτράρισμα του κρυσταλλικού ιώδους πριν από τη χρήση, σε περίπτωση που εντοπιστεί ίζημα. Ενημερώθηκε η ενότητα Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται, ώστε να συμπεριλαμβάνει τη χρήση τυπικού εργαστηριακού χαρτίου διήθησης, σύμφωνα με τις οδηγίες που αναφέρονται στις παρασκευές.	



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Γερμανία ή/και συνδεδεμένες με αυτήν εταιρείες. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.
© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
Ο τομέας βιοεπιστημών της Merck KGaA, Darmstadt, Γερμανία λειτουργεί ως MilliporeSigma στις ΗΠΑ και τον Καναδά.
The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Használati utasítás

Gram-festékkészlet kenetekhez Gram-festékkészlet szövetekhez

HT90 sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

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

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

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

Reagensek

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

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

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

Jód, 0,33% és kálium-jodid, 0,66%

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

Csak kenetekhez szükséges. Izopropil-alkohol, 75% és aceton, 25%

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

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

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

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

Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok

- Pozitív kontroll tárgylemezeket (például a Gram-festéshez használt TISSUE-TROL™ (kat. sz. TTR005)) minden vizsgálatban használni kell.
- Alkohol, abszolút
- Aceton, ACS-minőségű
- Xilol vagy xilolt helyettesítő anyag
- Mikroszkóp
- Standard laboratóriumi szűrőpapír (nem kizárólagosan ajánlott a Whatman No. 1 szűrőpapír)

Tárolás és stabilitás

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

Előkészítés

Minden reagens használatra kész. Ha felhasználás előtt csapadék észlelhető a kristályibolya reagensben, szűrje át standard laboratóriumi szűrőpapíron (pl. Whatman No. 1 vagy ennek megfelelő).

Óvintézkedések

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

A laboratóriumi reagens kezelés során a szokásos óvintézkedéseket kell követni. A hulladékok a helyi, állami, tartományi vagy nemzeti előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

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

Eljárás

Mintavétel

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

Kenetek

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

Szövet

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

Megjegyzések

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

Eljárás

A kenetekre vonatkozó eljárás

1. Merítse a kenetet **1 percig** kristályibolya-oldatba.
2. Végezzen alapos öblítést ioncserélt vízzel.
3. Merítse a kenetet **1 percig** Gram-féle jóddolatba.
4. Végezzen alapos öblítést ioncserélt vízzel.
5. Merítse a kenetet legfeljebb **10 másodpercig** a színtelenítődoladba, amíg leáll a szín kimosódása.
6. Végezzen alapos öblítést ioncserélt vízzel.
7. Merítse a kenetet **1 percig** szafranin O oldatba.
8. Végezzen alapos öblítést ioncserélt vízzel.
9. Hagyja a kenetet levegőn megszáradni, majd vizsgálja meg mikroszkóppal.

Szövetekre vonatkozó eljárás²

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

Teljesítményjellemzők

Gram-pozitív organizmusok	Lila
Gram-negatív organizmusok	Piros

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

Analitikai teljesítményjellemzők

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

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

Figyelmeztetések és veszélyek

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

HT90A:



H314 Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.

H336 Álomosságot vagy szédülést okozhat.

H360D Károsíthatja a születendő gyermeket.

H412 Ártalmas a vízi élővilágra, hosszán 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 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

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

P304 + P340 + P310 BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

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

HT90T:



H314 Súlyos égési sérülést és 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 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

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

P304 + P340 + P310 BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

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

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

Jelmagyarázat

Az EN ISO 15223-1:2021 szabványban meghatározott jelek

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

Hivatkozások

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

Elérhetőségek

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

Változtatási előzmények

3.0 vált.	2014
4.0 vált.	2016
5.0 vált.	2023
<p>Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részében. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása az IVDR irányelveknek való megfelelés érdekében. Az Anyagbiztonsági adatlap frissítése Biztonsági adatlapra. Az elérhetőségek frissítése. A mintagyűjtés során a CLSI követésre vonatkozó utasítás eltávolítása. Az EN 980-as szabvány szerinti jelzések eltávolítása és az EN ISO 15223-1:2021 szabvány jelzéseire változtatása. A megszűnt G3045 kat. sz. eltávolítása a „Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok” részről. A nemkívánatos eseményekkel kapcsolatos elérhetőségek hozzáadása. Figyelmeztetések és veszélyek hozzáadása. CH-REP információk hozzáadása.</p>	
6.0 vált.	2026
<p>Frissítve a GHS-osztályozásnak való megfelelés érdekében. Az Előkészületek szakasz kiegészült a kristálybolya reagens használat előtti szűrésére vonatkozó utasítással, amennyiben abban csapadék észlelhető. A „Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok” szakasz frissült a standard laboratóriumi szűrőpapírral, az előkészületeknél megadott utasításoknak megfelelően.</p>	



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2026 Merck KGaA (Darmstadt, Németország) és/vagy leányvállalatai. Minden jog fenntartva.
© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
A Merck KGaA (Darmstadt, Németország) élettudományi üzletága MilliporeSigma néven működik az Amerikai Egyesült Államokban és Káritóban, operatés az MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Návod k použití

Souprava Gramova barviva pro nátěry

Souprava Gramova barviva pro tkáň

Postup č. HT90



Určené použití

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

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

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

Činidla

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

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

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

Jód, 0,33%, a jodid draselný, 0,66%

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

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

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

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

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

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

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- V každé zkoušce by měly být zařazeny pozitivní kontrolní preparáty, Gramovo barvivo TISSUE-TROL™ (kat. č. TTR005)
- Alkohol, absolutní
- Aceton, čistota ACS
- Xylen nebo náhražka xylenu
- Mikroskop
- Filtrační papír laboratorní kvality (doporučuje se typ Whatman č. 1 – ne však výlučně)

Skladování a stabilita

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

Příprava

Všechna činidla jsou připravena k použití. Pokud před použitím naleznete v činidle genciánové violeti sraženiny, přefiltrujte jej přes laboratorní papír typu Whatman č. 1 nebo jeho ekvivalent.

Bezpečnostní opatření

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

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

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

Postup

Odběr vzorků

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

Nátěry

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

Tkáň

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

Poznámky

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

Postup

Postup pro nátěry

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

Postup pro tkáň²

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

Pracovní charakteristiky

Grampozitivní organismy	Fialová
Gramnegativní organismy	Červená

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

Analytické pracovní charakteristiky

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

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

Varování a nebezpečí

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

HT90A:



H314 Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.

H336 Může způsobit ospalost nebo závratě.

H360D Může poškodit plod v těle matky.

H412 Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.

P202 Nemanipulujte, dokud si nepřečtete a neporozumíte všem bezpečnostním opatřením.

P273 Zabraňte uvolnění do životního prostředí.

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

P303 + P361 + P353 PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Okamžitě si slékněte všechny kontaminované oděvy. Opláchněte pokožku vodou.

P304 + P340 + P310 PŘI VDECHNUTÍ: Odvedte postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlné dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.

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

HT90T:



H314 Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.

H360D Může poškodit plod v těle matky.

H412 Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.

P202 Nemanipulujte, dokud si nepřečtete a neporozumíte všem bezpečnostním opatřením.

P273 Zabraňte uvolnění do životního prostředí.

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

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

P304 + P340 + P310 PŘI VDECHNUTÍ: Odvedte postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlné dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.

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

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

Definice symbolů

Symbyly definované v normě EN ISO 15223-1:2021

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

Reference

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

Kontaktní informace

Chcete-li podat objednávku, navštivte naše webové stránky na SigmaAldrich.com. Technický servis naleznete na stránkách technického servisu na naší webové stránce SigmaAldrich.com/techservice.

Historie revizí

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Přeneseno do nové šablony s aktuálním značením. Určeno pro profesionální použití v rámci určeného použití a bezpečnostních opatření. Revidované určené použití k dosažení souladu s pokyny IVDR. Aktualizovaný bezpečnostní list materiálu k bezpečnostnímu listu. Aktualizované kontaktní informace. Odstraněn pokyn k dodržení CLSI pro odběr vzorků. Odstraněna norma EN 980 a změněna na normu EN ISO 15223-1:2021 pro symboly. Odstraněno již nevyřáběné kat. č. G3045 z potřebných speciálních materiálů, které nejsou součástí dodávky. Přidány kontaktní informace pro případ nežádoucí události. Přidána varování a rizika. Přidány informace o zastoupení ve Švýcarsku.
Rev. 6.0	2026
	Aktualizováno za účelem dosažení shody s klasifikací GHS. Část o přípravě aktualizována pokyny k filtraci genciánové violeti před přípravou v případě, že jsou nalezeny sraženiny. Část „Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky“ byla aktualizována tak, aby obsahovala použitý filtračního papíru laboratorní kvality dle pokynů k přípravě.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2026 Společnost Merck KGaA, Darmstadt, Německo anebo její přidružené společnosti. Všechna práva © 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

Přirodovědná společnost Merck KGaA, Darmstadt, Německo působí jako MilliporeSigma v USA a Kanadě.

Bruksanvisning

Gramfargingssett for filmer

Gramfargingssett for vev

Prosedyre nr. HT90



Tiltenkt bruk

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

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

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

Reagenser

Krystallfiolett løsning (kat.nr. HT901-8FOZ)

Sertifisert krystallfiolett, 2,30 %, C.I. 42555, ammoniumoksalat, 0,1 %, og 20 % etylalkohol, SD3A

Grams jodløsning (kat.nr. HT902-8FOZ)

Jod, 0,33 %, og kaliumjodid, 0,66 %

Avfargingsløsning (kat.nr. HT903-8FOZ)

Kun påkrevd for filmer. Isopropylalkohol, 75 %, og aceton, 25 %

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

Sertifisert safranin 0,6 %, C.I. 50240, i 20 % etylalkohol, SD3A

Tartrazinløsning (kat.nr. HT3028-250ML)

Kun påkrevd for vev. Tartrazin, 0,25 %, C.I. 19140 og eddiksyre, 0,25%

Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger

- Positive kontrollobjektglass skal inkluderes i hver kjøring, Gram Stain TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR005).
- Alkohol, absolutt.
- Aceton, ACS-kvalitet.
- Xylen eller xylenersatning.
- Mikroskop.
- Standard laboratoriefilterpapir (anbefalt Whatman nr. 1 – men ikke eksklusivt).

Oppbevaring og stabilitet

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

Klargjøring

Alle reagenser er klare til bruk. Hvis det finnes bunnfall i krystallfiolett-reagensen før bruk, må du filtrere med standard laboratoriepapir som Whatman No. 1 eller tilsvarende.

Forsiktighetsregler

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

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

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

Prosedyre

Prøvetaking

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

Filmer

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

Vev

Ethvert godt fiksert parafininnstøpt vev kuttet ved 5 mikron.

Merknader

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

på objektglasset i lange perioder.³

Prosedyre

Prosedyre for filmer

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

Prosedyre for vev²

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

Ytelseegenskaper

Grampositive organismer	Lilla
Gramnegative organismer	Rød

Hvis observerte resultater avviker fra forventede resultater, kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for å få hjelp.

Analytiske ytelseegenskaper

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

Kat.nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Spesifisitet innen analyse	Følsomhet innen analyse	Spesifisitet mellom analyser	Følsomhet mellom analyser
HT901	Krystallfiolett løsning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT902	Grams jodløsning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT903	Avfargingsløsning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT904	Safranin O-løsning	Grampositiv	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Gramnegativ	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT3028	Tartrazinløsning	Bakgrunn	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Advarsler og farer

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

HT90A:

H314 Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.

H336 Kan forårsake døsigthet eller svimmelhet.

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 vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.

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

P304 + P340 + P310 VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.

P305 + P351 + P338 VED KONTAKT MED ØYENNE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skylling.

HT90T:

H314 Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.

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 vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.

P303 + P361 + P533 VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.

P304 + P340 + P310 VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.

P305 + P351 + P338 VED KONTAKT MED ØYNE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skylling.

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av denne enheten eller som et resultat av bruken, må det rapporteres til produsenten eller produsentens autoriserte representant og til den nasjonale myndigheten.

Symbolforklaring

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

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

Referanser

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

Kontaktinformasjon

Bestillinger kan legges inn via nettstedet vårt på SigmaAldrich.com. Besøk siden for tekniske tjenester på nettstedet vårt på SigmaAldrich.com/techservice for teknisk service.

Revisjonshistorikk

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Overførte til ny mal med gjeldende varemerke. Spesifiserte at utstyret er for profesjonell bruk, i tiltenkt bruk og forsiktighetsregler. Reviderte tiltenkt bruk for å overholde IVDR-retningslinjer. Oppdaterte materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdaterte kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Fjernet utgått kat.nr. G3045 fra Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger. La til kontaktinformasjon for bivirkninger. La til advarsler og farer. La til CH-REP-informasjon.
Rev. 6.0	2026
	Oppdatert for å overholde GHS-klassifikasjoner. Oppdatert klargjøringsdel med instruksjoner for filtrering av krystallfiolett før bruk hvis det oppdages bunnfall. Oppdaterte spesialmaterialer som er nødvendige, men som ikke følger med, for å inkludere bruk av standard laboratoriefilterpapir i henhold til instruksjonene som er oppført i klargjøringsdelen.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller dets tilknyttede selskaper. Alle rettigheter reservert.

Life Science-virksomheten til Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland opererer som MilliporeSigma i USA og Canada.

Kullanım Talimatları

Filmler İçin Gram Boya Kiti

Doku İçin Gram Boya Kiti

Prosedür No. HT90



Kullanım Amacı

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

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

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

Reaktifler

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

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

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

İyot, %0,33 ve potasyum iyodür, %0,66

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

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

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

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

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

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

Gerekli Ancak Sağlanmayan Özel Malzemeler

- Pozitif kontrol lamları her çalışmaya dahil edilmelidir, Gram Boyası TISSUE-TROL™ (Kat. No. TTR005)
- Alkol, Mutlak
- Aseton, ACS Sınıfı
- Ksilen veya ksilen ikamesi
- Mikroskop
- Standart Laboratuvar filtre kağıdı (Whatman No. 1 önerilir ancak bununla sınırlı değildir)

Saklama ve Stabilité

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

Hazırlama

Tüm reaktifler kullanıma hazırdır. Kullanımdan önce Kristal Viyole reaktif içinde çökelti bulunursa Whatman No. 1 veya eşdeğeri standart laboratuvar kağıdıyla filtreleyin.

Önlemler

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

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

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

Prosedür

Numune Toplama

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

Filmler

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

Doku

5 mikronda kesilmiş, iyi fiksasyon uygulanmış herhangi bir parafine gömülü doku.

Notlar

Renk Giderici Çözelti ile lamların aşırı renk gideriminden kaçınılmalıdır. Renk giderici çözelti uzun süre lam üzerinde bırakılırsa Gram pozitif organizmalar dahi renksizleşecek ve kırmızı görünecektir.³

Prosedür

Filmler için prosedür

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

Dokular için prosedür²

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

Performans Özellikleri

Gram pozitif organizmalar	Mor
Gram negatif organizmalar	Kırmızı

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

Analitik Performans Özellikleri

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

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

Uyarılar ve Tehlikeler

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

HT90A:



H314 Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur.

H336 Uykuya haline veya baş dönmesine neden olabilir.

H360D Doğmamış çocuğa zarar verebilir

H412 Sudaki yaşam için uzun süreli etkiyle zararlıdır.

P202 Tüm güvenlik önlemleri okunup anlaşılmeden kullanmayın.

P273 Çevreye salınmasını önleyin.

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

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

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

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

HT90T:

H314 Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur.

H360D Doğmamış çocuğa zarar verebilir.

H412 Sudaki yaşam için uzun süreli etkiyle zararlıdır.

P202 Tüm güvenlik önlemleri okunup anlaşılmadan kullanmayın.

P273 Çevreye salınmasını önleyin.

P280 Koryucuyu eldiven/koryucuyu giysi/göz koryucuyu/yüz koryucuyu kullanın.

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

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

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

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

Sembol Tanımları

EN ISO 15223-1:2021'de tanımlanan semboller

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

Referanslar

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

İletişim Bilgileri

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

Revizyon Geçmişi

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Mevcut markalama ile yeni şablona aktarıldı. Kullanım amacı ve önlemler bölümünde profesyonel kullanım amaçlı olduğu belirtildi. Kullanım amacı, IVDR yönergelerine uyumlu şekilde revize edildi. Malzeme Güvenlik Bilgi Formu, Güvenlik Bilgi Formu olarak güncellendi. İletişim bilgileri güncellendi. Numune toplama için CLSI'yi takip etme talimatı kaldırıldı. Semboller için EN 980 kaldırıldı ve EN ISO 15223-1:2021 olarak değiştirildi. Üretimi durdurulan Kat. No. G3045, Gerekli Ancak Sağlanmayan Özel Malzemeler bölümünden çıkarıldı. Advers olay iletişim bilgileri eklendi. Uyarılar ve Tehlikeler eklendi. CH-REP bilgileri eklendi.
Rev. 6.0	2026
	GHS sınıflandırmalarıyla uyumlu olacak şekilde güncellendi. Çökelti görülmesi durumunda kullanım öncesinde Kristal Viyole filtreleme talimatlarını içeren hazırlıklar bölümü güncellendi. Gerekli Ancak Sağlanmayan Özel Malzemeler bölümü, hazırlıklarda listelenen talimatlara göre standart laboratuvar filtre kağıdının kullanımını içerecek şekilde güncellendi.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Almanya ve/veya bağlı kuruluşları. Tüm hakları saklıdır.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
Merck KGaA, Darmstadt, Almanya yaşam bilimleri şirketi, ABD ve Kanada'da MilliporeSigma olarak faaliyet göstermektedir. business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Käyttöohje

Gramvärjäyspakkaus sivelyalmisteille

Gramvärjäyspakkaus kudokselle

Menetelmä HT90



Käyttötarkoitus

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

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

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

Reagenssit

Kristalliviolettiliuos (luettelonro HT901-8FOZ)
Sertifioitu kristallivioletti, 2,30 %, väri-indeksi 42555, ammoniumoksalatti, 0,1 %, ja 20-prosenttinen etyylialkoholi, SD3A

Gramin jodiliuos (luettelonro HT902-8FOZ)
Jodi, 0,33 %, ja kaliumjodidi, 0,66 %

Värinpoistoliuos (luettelonro HT903-8FOZ)
Tarvitaan vain sivelyalmisteita käytettäessä. Isopropyylialkoholi, 75 %, ja aseton, 25 %

Safraniiniliuos (luettelonro HT904-8FOZ)
Sertifioitu safraniini, 0,6 %, väri-indeksi 50240, 20-prosenttisessa etyylialkoholissa, SD3A

Tartratsiiniliuos (luettelonro HT3028-250ML)
Tarvitaan vain kudosta käytettäessä. Tartratsiini, 0,25 %, väri-indeksi 19140, ja etikkahappo, 0,25 %

Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- Jokaisessa ajossa on käytettävä positiivisia Gram Stain TISSUE-TROL™ -kontrolliohjeita (luettelonro TTR005)
- Alkoholi, absoluuttinen
- Asetoni, ACS-luokka
- Ksyleeni tai ksyleenikorvike
- Mikroskooppi
- Tavallista laboratoriotarvikkeita (Whatman nro 1 on suositeltava, mutta muitakin voi käyttää)

Säilytys ja stabiilius

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

Valmistelu

Kaikki reagenssit ovat käyttövalmiita. Jos kristallivioletireagenssissa havaitaan saostuma ennen käyttöä, suodata tavallisella laboratoriotarvikkeella tarkoitettulla paperilla, kuten Whatman-paperilla nro 1 tai vastaavalla.

Varoimet

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

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

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

Menettely

Näytteenotto

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

Sivelyalmisteet

Kaikki hyvin valmistellut, lämmöllä kiinnitetyt sivelyalmisteet ovat hyväksyttäviä. Sivelyalmisteen pakkaus vaikuttaa värinpoistoon tarvittavaan aikaan.

Kudos

Mikä tahansa hyvin kiinnitetty, parafiiniin valettu kudos, joka on leikattu 5 mikrometrin leikkeeksi.

Huomautukset

Objekttilasien liiallista värinpoistoa värinpoistoliuoksella on vältettävä. Myös grampositiiviset organismit

muuttuvat värittömiksi ja näkyvät punaisina, jos värinpoistoliuos jätetään objekttilasille liian pitkäksi aikaa.³

Menettely

Menettely sivelyalmisteita käytettäessä

- Täytä sivelyalmiste kristalliviolettiliuoksella **1 minuutin ajaksi**.
- Huuhtelee huolellisesti deionisoidussa vedessä.
- Täytä sivelyalmiste Gramin jodiliuoksella **1 minuutin ajaksi**.
- Huuhtelee huolellisesti deionisoidussa vedessä.
- Täytä värinpoistoliuoksella enintään **10 sekunnin ajaksi**, kunnes väri lakkaa valumasta.
- Huuhtelee huolellisesti deionisoidussa vedessä.
- Täytä sivelyalmiste safraniiniliuoksella **1 minuutin ajaksi**.
- Huuhtelee huolellisesti deionisoidussa vedessä.
- Anna sivelyalmisteen kuivua ja tee mikroskooppitutkimus.

Menettely kudosta käytettäessä²

- Poista parafiini leikkeistä ja hydratoi deionisoituun veteen.
- Aseta objekttilasit värjäystelineeseen ja peitä leikkeet kristalliviolettiliuoksella **1 minuutin ajaksi**.
- Tyhjennä kristalliviolettiliuos ja huuhtelee huolellisesti deionisoidussa vedessä.
- Peittää Gramin jodiliuoksessa **5 minuutin ajan**.
- Huuhtelee deionisoidussa vedessä ja blottaa leikkeet.
- Erottele absoluuttisessa alkoholissa tai asetonissa.
- Huuhtelee deionisoidussa vedessä.
- Peitä objekttilasit safraniiniliuoksella **30–60 sekunnin ajaksi**.
- Huuhtelee deionisoidussa vedessä ja blottaa leikkeet.
- Peitä leikkeet tartratsiiniliuoksella **5–10 sekunnin ajaksi**.
- Pyyhi ylimääräinen väri pois.
- Huuhtelee absoluuttisella alkoholilla kaksi kierrosta.
- Kirkasta ksyleenissä ja preparoi.

Suorituskykyominaisuudet

Grampositiiviset organismit	Purppura
Gramnegatiiviset organismit	Punainen

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

Analyttiset suorituskykyominaisuudet

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

Luettelonro	Tuotteen kuvaus	Kohde	Määrittelyn sisäinen spesifisyys	Määrittelyn sisäinen herkkyys	Määrittelyn välinen spesifisyys	Määrittelyn välinen herkkyys
HT901	Kristalliviolettiliuos	Gram-positiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gram-negatiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
HT902	Gramin jodiliuos	Gram-positiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gram-negatiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
HT903	Värinpoistoliuos	Gram-positiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gram-negatiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
HT904	Safraniiniliuos	Gram-positiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
		Gram-negatiivinen	3/3	3/3	3/3	3/3
HT3028	Tartratsiiniliuos	Tausta	3/3	3/3	3/3	3/3

Varoitukset ja vaarat

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

HT90A:



H314 Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa.

H336 Saattaa aiheuttaa uneliaisuutta ja huimausta.

H360Df Voi vaurioittaa sikiötä.

H412 Haitallista vesieläimille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.

P202 Lue varoitukset huolellisesti ennen käsittelyä.

P273 Vältettävä päästämistä ympäristöön.

P280 Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvosuojainta.

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

P304 + P340 + P310 JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys. Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin.

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

HT90T:



H314 Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa.

H360D Voi vaurioittaa sikiötä.

H412 Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.

P202 Lue varoitukset huolellisesti ennen käsittelyä.

P273 Vältettävä päästämistä ympäristöön.

P280 Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvosuojainta.

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

P304 + P340 + P310 JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys. Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin.

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

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

Symbolien selitykset

Symbolit standardin EN ISO 15223-1:2021 mukaisesti

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

Lähteet

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

Yhteystiedot

Voit tehdä tilauksen verkkosivuillemme osoitteessa SigmaAldrich.com. Tekniseen palveluumme voi ottaa yhteyttä teknisen palvelun sivulla osoitteessa SigmaAldrich.com/techservice.

Versiohistoria

Versio 3.0	2014
Versio 4.0	2016
Versio 5.0	2023
	Siirretty uuteen pohjaan, jossa on ajantasaiset brändimerkit. Maininta ammattikäytöstä lisäty käyttötarkoitukseen ja varotoimiin. Käyttötarkoitus tarkistettu IVDR-ohjeistusten mukaisesti. "Materiaalin käyttöturvallisuustiedote" päivitetty muotoon "käyttöturvallisuustiedote". Yhteystiedot päivitetty. Poistettu ohje CLSI-ohjeistuksen noudattamisesta näytteenotossa. Symboliosioista poistettu "EN 980" ja tilalle vaihdettu "EN ISO 15223-1:2021". Poistettu luettelonro G3045 kohdasta Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen, sillä tuotteen valmistus on lopetettu. Lisäty haittatapahtumien yhteydessä käytettävät yhteystiedot. Lisäty kohta Varoitukset ja vaarat. Lisäty CH-REP-tiedot.
Versio 6.0	2026
	Päivitetty vastaamaan GHS-luokittelua. Lisäty kohtaan Valmistelu ohjeet kristallivioletin suodattamiseen ennen käyttöä, jos havaitaan saostuma. Lisäty tavalliseen laboratoriokäyttöön tarkoitettun suodatinpaperin käyttö valmisteluohjeiden mukaisesti kohtaan Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Saksa, ja/tai sen tytäryhtiöt. Kaikki oikeudet pidätetään.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
Merck KGaA -yhtiön, Darmstadt, Saksa, biotieteisiin perustuva liiketoiminta toimii Yhdysvalloissa ja Kanadassa
Tilillä MilliporeSigma of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Gebruiksaanwijzing

Gramkleuring-kit voor films

Gramkleuring-kit voor weefsel

Procedurenr. HT90



Beoogd gebruik

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

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

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

Reagentia

Kristalvioletoplossing (cat. nr. HT901-8FOZ)

Gecertificeerd kristalviolet, 2,30%, C.I. 42555, ammoniumoxalaat, 0,1% en 20% ethylalcohol, SD3A

Gram-jodiumoplossing (cat. nr. HT902-8FOZ)

Jodium, 0,33% en kaliumjodide, 0,66%

Ontkleuringsoplossing (cat. nr. HT903-8FOZ)

Alleen vereist voor films. Isopropylalcohol, 75% en aceton, 25%

Safranine O-oplossing (cat. nr. HT904-8FOZ)

Gecertificeerde safranine 0,6%, C.I. 50240, in 20% ethylalcohol, SD3A

Tartrazine-oplossing (cat. nr. HT3028-250ML)

Alleen vereist voor weefsel. Tartrazine, 0,25%, C.I. 19140 en azijnzuur, 0,25%

Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen

- Positieve controleglasmaasjes moeten in elke run worden opgenomen, gramkleuring TISSUE-TROL™ (cat. nr. TTR005)
- Alcohol, Absoluut
- Aceton, ACS-kwaliteit
- Xyleen of xyleenvervanger
- Microscoop
- Standaard laboratoriumfilterpapier (aanbevolen Whatman nr. 1 - maar niet exclusief)

Opslag en stabiliteit

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

Vorbereiding

Alle reagentia zijn klaar voor gebruik. Als er vóór gebruik neerslag wordt aangetroffen in het kristalviolet-reagens, filter dan met standaard laboratoriumpapier zoals Whatman nr. 1 of gelijkwaardig.

Voorzorgsmaatregelen

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

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

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

Procedure

Monsterafname

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

Films

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

Weefsel

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

Opmerkingen

Vorkom te veel ontkleuring van de objectglasmaasjes met de ontkleuringsoplossing. Zelfs

grampositieve organismen worden kleurloos en worden rood als de objectglasmaasjes te lang in de ontkleuringsoplossing blijft.³

Procedure

Procedure voor films

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

Procedure voor weefsel²

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

Prestatiekenmerken

Grampositieve organismen	Paars
Gramnegatieve organismen	Rood

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

Analytische prestatiekenmerken

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

Cat.nr.	Product-beschrijving	Doel	Intra-assay specificiteit	Intra-assay gevoeligheid	Inter-assay specificiteit	Inter-assay gevoeligheid
HT901	Kristalviolet-oplossing	Grampositief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Gramnegatief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT902	Gramjodium-oplossing	Grampositief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Gramnegatief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT903	Ontkleurings-oplossing	Grampositief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Gramnegatief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT904	Safranine O-oplossing	Grampositief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Gramnegatief	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT3028	Tartrazine-oplossing	Achtergrond	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3

Waarschuwingen en gevaren

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

HT90A:



H314 Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsels.

H336 Kan slaperigheid of duizeligheid veroorzaken.

H360 Kan het ongeboren kind schaden

H412 Giftig voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.

P202 Pas gebruiken nadat u alle veiligheidsvoorschriften gelezen en begrepen heeft.

P273 Voorkom lozing in het milieu.

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

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

P304 + P340 + P310 NA INADEMING: Breng de persoon in de frisse lucht en zorg dat hij comfortabel kan ademen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts.

P305 + P351 + P338 BIJ CONTACT MET DE OGEN: Spoel zachtjes af met water gedurende enkele minuten. Verwijder contactlenzen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Ga verder met spoelen.

HT90T:

H314 Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsels.

H360 Kan het ongeboren kind schaden.

H412 Giftig voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.

P202 Pas gebruiken nadat u alle veiligheidsvoorschriften gelezen en begrepen heeft.

P273 Voorkom lozing in het milieu.

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

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

P304 + P340 + P310 NA INADEMING: Breng de persoon in de frisse lucht en zorg dat hij comfortabel kan ademen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts.

P305 + P351 + P338 BIJ CONTACT MET DE OGEN: Spoel zachtjes af met water gedurende enkele minuten. Verwijder contactlenzen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Ga verder met spoelen.

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

Symboldefinitie

Symbolen zoals gedefinieerd in EN ISO 15223-1:2021

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

Referenties

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

Contactgegevens

Bezoek onze website op SigmaAldrich.com om een bestelling te plaatsen. Ga voor technische service naar de technische servicepagina op onze website SigmaAldrich.com/techservice.

Herzieningsgeschiedenis

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Overgezet naar nieuwe sjabloon met huidige huistijl. Gespecificeerd voor professioneel gebruik in bedoeld gebruik en voorzorgsmaatregelen. Herzien beoogd gebruik om aan te sluiten bij IVDR-richtlijnen. Veiligheidsinformatieblad bijgewerkt tot veiligheidsinformatieblad. Contactgegevens bijgewerkt. Instructie om CLSI te volgen voor monsterafname verwijderd. EN 980 verwijderd en gewijzigd in EN ISO 15223-1:2021 voor symbolen. Verwijderd uit het assortiment Cat. nr. G3045 uit Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen. Contactinformatie over melding ongewenste voorvallen toegevoegd. Waarschuwingen en gevaren toegevoegd. CH-REP-informatie toegevoegd.
Rev. 6.0	2026
	Bijgewerkt om aan te sluiten bij de GHS-classificaties. De sectie 'Voorbereidingen' is bijgewerkt met instructies om Crystal Violet voor gebruik te filteren als er neerslag wordt aangetroffen. De sectie 'Speciale materialen vereist maar niet meegeleverd' is bijgewerkt met het gebruik van standaard laboratoriumfilterpapier volgens de instructies in de voorbereidingen.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

De Initial M en Sigma-Aldrich zijn handelsmerken van Merck KGaA, Darmstadt, Duitsland of gelieerde ondernemingen. Alle andere handelsmerken zijn eigendom van hun respectieve eigenaars. Gedetailleerde informatie over handelsmerken is beschikbaar via openbaar toegankelijke bronnen.

© 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Duitsland en/of gelieerde ondernemingen. Alle rechten voorbehouden.
© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
De biowetenschappelijke divisie van Merck KGaA, Darmstadt, Duitsland opereert als MilliporeSigma in de VS en Canada.
science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Navodila za uporabo

Komplet barvila za barvanje po Gramu za filme

Komplet barvila za barvanje po Gramu za tkivo

Št. postopka HT90



Predvidena uporaba

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

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

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

Reagenti

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

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

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

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

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

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

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

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

Raztopina tartrazina (kat. št. HT3028-25OML)

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

Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi

- V vsako serijo je treba vključiti pozitivna kontrolna stekelca, Gram Stain TISSUE-TROL™ (kat. št. TTR005)
- Alkohol, absolutni
- Aceton, razred ACS
- Ksilen ali nadomestek ksilena
- Mikroskop
- Standardni laboratorijski filtrirni papir (priporočen je papir Whatman št. 1 - vendar ne izključno)

Shranjevanje in stabilnost

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

Priprava

Vsi reagenti so pripravljene za uporabo. Če v kristalno vijoličnem barvilu pred prvo uporabo opazite oborino, ga prefiltrirajte skozi standardni laboratorijski papir, kot je Whatman št. 1 ali enakovreden papir.

Previdnostni ukrepi

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

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

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

Postopek

Zbiranje vzorcev

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

Filmi

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

Tkivo

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

Opombe

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

Postopek

Postopek za filme

- Film **1 minuto** polivajte s kristalno vijolično raztopino.
- Temeljito sperite z deionizirano vodo.
- Film **1 minuto** polivajte z raztopino joda za barvanje po Gramu.
- Temeljito sperite z deionizirano vodo.
- Do največ **10 sekund** polivajte z raztopino za razbarvanje, dokler barva ne preneha teči.
- Temeljito sperite z deionizirano vodo.
- Film **1 minuto** polivajte z raztopino safranina O.
- Temeljito sperite z deionizirano vodo.
- Film posušite na zraku in ga pregledajte z mikroskopom.

Postopek za tkivo²

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

Lastnosti delovanja

Grampozitivni organizmi	Vijolična
Gramnegativni organizmi	Rdeča

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

Značilnosti analitične učinkovitosti

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

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

Opozorila in nevarnosti

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

HT90A:



H314 Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.

H336 Lahko povzroči zaspanost ali omotico.

H360D Lahko škoduje nerojenemu otroku.

H412 Škodljivo za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki.

P202 Ne uporabljajte, dokler ne preberete in razumete vseh varnostnih ukrepov.

P273 Preprečiti sproščanje v okolje.

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

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

P304 + P340 + P310 PRI VDIHAVANJU: Prenesite osebo na svež zrak in jo pustite v udobnem položaju, ki olajša dihanje. Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.

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

HT90T:

H314 Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.

H360D Lahko škoduje nerojenemu otroku.

H412 Škodljivo za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki.

P202 Ne uporabljajte, dokler ne preberete in razumete vseh varnostnih ukrepov.

P273 Preprečiti sproščanje v okolje.

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

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

P304 + P340 + P310 PRI VDIHAVANJU: Prenesti osebo na svež zrak in jo pustiti v udobnem položaju, ki olajša dihanje. Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.

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

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

Definicije simbolov

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

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

Reference

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

Kontaktne podatki

Če želite oddati naročilo, obiščite naše spletno mesto SigmaAldrich.com. Če želite tehnično pomoč, obiščite stran tehničnega servisa na našem spletnem mestu SigmaAldrich.com/techservice.

Zgodovina revizij

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	<p>Preneseno v novo predlogo s trenutno blagovno znamko. Navedeno za poklicno uporabo v okviru predvidene uporabe in previdnostnih ukrepov. Revidiran je namen uporabe za uskladištev s smernicami IVDR. Posodobljen je varnostni list materiala v varnostni list. Posodobljeni so kontaktni podatki. Odstranjeno je navodilo, da je treba pri zbiranju vzorcev upoštevati standard CLSI. Odstranjen je standard EN 980 in za simbole spremenjen v standard EN ISO 15223-1:2021. Odstranjena je ukinjena kat. št. G3045 iz razdelka »Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi«. Dodani so kontaktni podatki v primeru neželenih dogodkov. Dodana so opozorila in nevarnosti. Dodani podatki o CH-REP.</p>
Rev. 6.0	2026
	<p>Posodobljeno, tako da je usklajeno s smernicami GHS. Posodobljen je razdelek »Priprava« z navodili za filtriranje kristalno vijolične pred uporabo, če je opažena oborina. Posodobljen je razdelek »Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi« z dodano uporabo standardnega laboratorijskega filtrirnega papirja v skladu z navodili, navedenimi v pripravah.</p>



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

© 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija in/ali njene pridružene družbe. Vse pravice pridržane.
© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
Družba Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija, ki se ukvarja z biološkimi vedami, v ZDA in Kanadi deluje kot **MilliporeSigma**. business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Instrucțiuni de utilizare

Kit de colorație Gram pentru frotiuri

Kit de colorație Gram pentru secțiuni de țesut

Nr. procedurii HT90



Domeniu de utilizare

Reactivii de colorație Gram sunt destinați utilizării în delimitarea organismelor Gram-pozitive și Gram-negative în frotiuri și secțiuni de țesut. Reactivii de colorație Gram sunt destinați pentru „utilizarea în vederea diagnosticării in vitro”. Numai pentru uz profesional. Datele obținute prin această procedură calitativă manuală identifică organismele Gram-pozitive și Gram-negative în secțiuni de țesut și frotiuri de probe umane. Atunci când sunt analizate împreună cu alte teste de diagnosticare și informații, aceste date pot fi utilizate ca instrument pentru diagnosticarea infecțiilor bacteriene Gram-pozitive și Gram-negative.

Colorația Gram este utilizată în mediul clinic pentru a delimita două grupuri distincte de microorganisme. Cele care rețin colorantul primar (cristal violet) sunt numite Gram-pozitive. Cele care pierd colorantul primar în timpul etapei de decolorare sunt numite Gram-negative. Mecanismele prin care organismele Gram-pozitive rețin colorantul primar sunt necunoscute, deși chimia și structura pereților celulari sunt cu siguranță implicate.

Procedura Sigma-Aldrich se bazează pe lucrarea lui Hucker și Conn, care este o modificare a procedurii originale Gram din 1884. Procedura Hucker și Conn utilizează o soluție de cristal violet-oxalat de amoniu care ajută la diferențiere și este destul de stabilă.¹

Reactivi

Soluție de cristal violet (nr. cat. HT901-8FOZ)

Cristal violet certificat, 2,30%, nr. indicelui de culoare (C.I.) 42555, oxalat de amoniu 0,1% și alcool etilic 20%, SD3A

Soluție de iod Gram (nr. cat. HT902-8FOZ)

Iod 0,33% și iodură de potasiu 0,66%

Soluție decolorantă (nr. cat. HT903-8FOZ)

Necesară numai pentru frotiuri. Alcool izopropilic 75% și acetonă 25%

Soluție safranină O (nr. cat. HT904-8FOZ)

Safranină certificată 0,6%, C.I. 50240, în alcool etilic 20%, SD3A

Soluție de tartrazină (nr. cat. HT3028-250ML)

Necesară numai pentru secțiuni de țesut. Tartrazină 0,25%, C.I. 19140, și acid acetic 0,25%

Materiale speciale necesare, care nu sunt furnizate

- În fiecare proces trebuie incluse lame de control pozitiv, Gram Stain TISSUE-TROL™ (nr. cat. TTR005)
- Alcool, absolut
- Acetonă, grad ACS
- Xilen sau substitut de xilen
- Microscop
- Hârtie de filtru standard de laborator (se recomandă Whatman nr. 1, însă nu exclusiv)

Depozitare și stabilitate

A se păstra la temperatura camerei (18-26°C). Data de expirare este menționată pe eticheta reactivului. Folosiți o dată, apoi aruncați.

Preparare

Toți reactivii sunt gata de utilizare. Dacă înainte de utilizare se constată prezența unui precipitat în reactivul cristal violet, se filtrează cu hârtie de laborator standard, cum ar fi Whatman nr. 1 sau un produs echivalent.

Precauții

Aceste dispozitive pentru DIV sunt destinate utilizării pentru diagnosticarea in vitro într-un mediu de laborator clinic. Aceste dispozitive pentru DIV sunt destinate exclusiv utilizării profesionale de către personal calificat. Dispozitivele pentru DIV Sigma-Aldrich pot fi folosite de personalul de laborator instruit cu privire la manipularea de probe provenite de la oameni care pot fi infecțioase, folosirea microscopelor și a altor echipamente de laborator și care percepe culorile și are acuitate vizuală pentru a distinge culorile și alte obiecte la microscop.

Trebuie luate măsurile de precauție normale pentru manipularea reactivilor de laborator. Eliminați deșeurile respectând toate reglementările locale, statale, provinciale sau naționale.

Lamele de control Gram Stain TISSUE-TROL™ sunt secțiuni de țesut animal inclus în bloc de parafină care conțin bacterii gram-negative și gram-pozitive și trebuie considerate potențial infecțioase.

Procedură

Recoltarea probelor

Nicio metodă de testare cunoscută nu garantează că probele de sânge sau țesutul nu va transmite infecții. Prin urmare, toate probele de derivate din sânge sau de țesut trebuie considerate potențial infecțioase.

Frotiuri

Orice frotiu bine pregătit și fixat termic este acceptabil. Grosimea frotiului va influența timpul necesar pentru decolorare.

Secțiuni de țesut

Orice secțiune de țesut bine fixată, inclusă în bloc de parafină, tăiată la 5 microni.

Note

Trebuie să se acorde atenție pentru a evita decolorarea excesivă a lamelor cu soluția decolorantă. Chiar și organismele Gram-pozitive vor deveni incolore și vor părea roșii dacă soluția decolorantă

este lăsată pe lamă pe o perioadă excesivă de timp.³

Procedură

Procedura pentru frotiuri

- Imersați frotiul în soluție de cristal violet timp de **1 minut**.
- Clătiți bine în apă deionizată.
- Imersați frotiul în soluție de iod Gram timp de **1 minut**.
- Clătiți bine în apă deionizată.
- Imersați în soluție decolorantă timp de până la **10 secunde**, până când culoarea nu mai curge.
- Clătiți bine în apă deionizată.
- Imersați frotiul în soluție safranină O timp de **1 minut**.
- Clătiți bine în apă deionizată.
- Uscați frotiul la aer și examinați-l la microscop.

Procedura pentru secțiuni de țesut²

- Deparafinați și hidratați secțiunile cu apă deionizată.
- Așezați lamele pe suportul de colorare și acoperiți secțiunile cu soluție de cristal violet timp de **1 minut**.
- Scurgeți soluția de cristal violet și clătiți bine cu apă deionizată.
- Tratați cu soluția de iod Gram timp de **5 minute**.
- Clătiți cu apă deionizată și tamponați secțiunile pentru a le usca.
- Decolorați în alcool absolut sau acetonă.
- Clătiți cu apă deionizată.
- Acoperiți lamele cu soluție de safranină O timp de **30-60 de secunde**.
- Clătiți cu apă deionizată și tamponați secțiunile pentru a le usca.
- Acoperiți secțiunile cu soluție de tartrazină timp de **5-10 secunde**.
- Îndepărtați excesul de colorant prin tamponare.
- Clătiți în 2 băi succesive de alcool absolut.
- Curățați în xilen și preparați.

Caracteristici de performanță

Organisme Gram-pozitive	Violet
Organisme Gram-negative	Roșu

Dacă rezultatele observate diferă de rezultatele preconizate, contactați serviciul tehnic Sigma-Aldrich pentru asistență.

Caracteristici de performanță analitică

Rezultatele performanței analitice pentru testele efectuate pentru toate structurile vizate confirmă 100 % sensibilitate, specificitate și repetabilitate.

Nr. cat.	Descrierea produsului	Tintă	Specificitatea intra-test	Sensibilitatea intra-test	Specificitatea inter-test	Sensibilitatea inter-test
HT901	Soluție de cristal violet	Gram-pozitiv	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Gram-negativ	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
HT902	Soluție de iod Gram	Gram-pozitiv	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Gram-negativ	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
HT903	Soluție decolorantă	Gram-pozitiv	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Gram-negativ	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
HT904	Soluție de safranină O	Gram-pozitiv	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Gram-negativ	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
HT3028	Soluție de tartrazină	Fundal	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3

Avertizări și pericole

Consultați fișa cu date de securitate și eticheta produsului pentru informații actualizate despre riscuri, pericole sau siguranță.

HT90A:



H314 Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor.

H336 Poate provoca somnolență sau amețeală.

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 Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.

P303 + P361 + P353 ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau cu părul): Scoateți imediat îmbrăcăminte contaminată. Clătiți pielea cu apă.

P304 + P340 + P310 ÎN CAZ DE INHALARE: transportați victima la aer liber și mențineți-o în stare de repaus, într-o poziție confortabilă pentru respirație. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic.

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 sau dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

HT90T:

H314 Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor.

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 Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.

P303 + P361 + P353 ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau cu părul): Scoateți imediat îmbrăcămintea contaminată. Clătiți pielea cu apă.

P304 + P340 + P310 ÎN CAZ DE INHALARE: transportați victima la aer liber și mențineți-o în stare de repaus, într-o poziție confortabilă pentru respirație. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic.

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 sau dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

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

Definițiile simbolurilor

Simboluri conform definiției din EN ISO 15223-1:2021

	Producător		Număr de catalog
	Consultați instrucțiunile de utilizare		Codul lotului
	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană/Uniunea Europeană		Declarația de conformitate pentru Uniunea Europeană (definită în IVDR 2017/746)
	Data limită de utilizare		Dispozitiv medical pentru diagnosticarea in vitro
	Limita de temperatură		Atenție
	Data fabricației		Importator
	Îndică reprezentantul autorizat în Elveția		

Referințe

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

Informații de contact

Pentru a plasa o comandă, vizitați site-ul nostru web la SigmaAldrich.com. Pentru servicii tehnice, vizitați pagina de servicii tehnice de pe site-ul nostru web la SigmaAldrich.com/techservice.

Istoricul versiunilor

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	S-a trecut la un șablon nou cu elemente de marcă actuale. S-a precizat că dispozitivul este pentru uz profesional în secțiunile Domeniu de utilizare și Precauții. S-a modificat secțiunea Domeniu de utilizare pentru a respecta îndrumările IVDR. S-a schimbat Fișa tehnică de siguranță în Fișă cu date de securitate. S-au actualizat informațiile de contact. S-au eliminat instrucțiunile privind respectarea CLSI pentru recoltarea probelor. S-a eliminat standardul EN 980 și s-a adăugat EN ISO 15223-1:2021 pentru simboluri. S-a eliminat numărul de catalog G3045 (produs retras din fabricație) din secțiunea „Materiale speciale necesare, care nu sunt furnizate”. S-au adăugat informații de contact în caz de evenimente adverse. S-a adăugat secțiunea Avertizări și pericole. S-au adăugat informații despre reprezentantul în Elveția.
Rev. 6.0	2026
	Document actualizat pentru a respecta clasificările GHS. Secțiunea Preparare a fost actualizată cu instrucțiuni pentru filtrarea colorantului cristal violet înainte de utilizare, în cazul în care se constată prezența unui precipitat. Secțiunea „Materiale speciale necesare, care nu sunt furnizate” a fost actualizată pentru a include utilizarea hârtiei de filtru standard de laborator, conform instrucțiunilor enumerate în secțiunea Preparare.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Inițiala M și Sigma-Aldrich sunt mărci comerciale ale Merck KGaA, Darmstadt, Germania sau ale afiliaților săi. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi. Informații detaliate despre mărcile comerciale sunt disponibile în resurse accesibile publicului.

© 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Germania și/sau afiliații săi. Toate drepturile rezervate.
© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
Compania din domeniul științelor vieții Merck KGaA, Darmstadt, Germania își desfășoară activitatea sub denumirea MilliporeSigma în SUA și Canada. Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Upute za upotrebu

Komplet za bojenje po Gramu za razmaze

Komplet za bojenje po Gramu za tkiva

Postupak br. HT90



Predviđena namjena

Reagensi za bojenje po Gramu namijenjeni su za razlikovanje gram-pozitivnih i gram-negativnih organizama u razmazima i tkivu. Reagensi za bojenje po Gramu namijenjeni su za „in vitro dijagnostičku upotrebu“. Samo za profesionalnu upotrebu. Podaci dobiveni ovim ručnim, kvalitativnim postupkom omogućuju identifikaciju gram-pozitivnih i gram-negativnih organizama u prezezima tkiva i razmazima ljudskih uzoraka. Kada se pregledaju zajedno s drugim dijagnostičkim testovima i informacijama, ti se podaci mogu upotrijebiti kao pomoć u dijagnosticiranju gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterijskih infekcija.

Bojenje po Gramu upotrebljava se za kliničko razlikovanje dviju zasebnih skupina mikroorganizama. Oni koji zadržavaju primarnu boju (kristal violet) nazivaju se gram-pozitivnima. Oni koje gube primarnu boju tijekom koraka dekolorizacije nazivaju se gram-negativnima. Mehanizmi kojima gram-pozitivni organizmi zadržavaju primarnu boju nisu poznati, iako su kemijski sastav i struktura staničnih stijenki zasigurno uključeni.

Postupak Sigma-Aldrich temelji se na radu Huckera i Conna, koji je modifikacija izvornog postupka po Gramu iz 1884. U postupku Huckera i Conna upotrebljava se otopina kristal violet amonijeva oksalata koja pridonosi diferencijaciji i prilično je stabilna.¹

Reagensi

Otopina kristal violet (kat. br. HT901-8FOZ)

Certificirani kristal violet; 2,30 %; C.I. 42555, amonijev oksalat; 0,1 %; i 20 %-tni etilni alkohol, SD3A

Gramova otopina joda (kat. br. HT902-8FOZ)

Jod; 0,33 % i kalijev jodid; 0,66 %

Otopina za dekolorizaciju (kat. br. HT903-8FOZ)

Potrebna je samo za razmaze. Izopropilni alkohol, 75 % i aceton, 25 %

Otopina safranina O (kat. br. HT904-8FOZ)

Certificirani safranin; 0,6 %; C.I. 50240, u 20 %-tnom etinom alkoholu, SD3A

Otopina tartrazina (kat. br. HT3028-250ML)

Potrebna je samo za tkiva. Tartrazin; 0,25 %, C.I. 19140 i octena kiselina, 0,25 %

Potrebni, ali neisporučeni posebni materijali

- Stakalca s pozitivnom kontrolom potrebna je uključiti pri svakoj upotrebi, TISSUE-TROL™ za bojenje po Gramu (kat. br. TTR005)
- Alkohol, apsolutni
- Aceton, ACS stupnja
- Ksilen ili zamjena za ksilen
- Mikroskop
- Standardni laboratorijski filtarski papir (preporučuje se Whatman br. 1, ali se mogu koristiti i drugi)

Pohrana i stabilnost

Čuvati na sobnoj temperaturi (18 – 26 °C). Najljepnica na reagensu ima navedene datume isteka roka trajanja. Upotrijebite jednom i zatim odložite u otpad.

Priprema

Svi reagensi spremni su za upotrebu. Ako se u reagensu kristal violet pronađe precipitat prije upotrebe, filtrirajte standardnim laboratorijskim filtarskim papirom kao što je Whatman br. 1 ili ekvivalentan.

Mjere opreza

In vitro dijagnostički medicinski proizvodi namijenjeni su in vitro dijagnostičkoj uporabi u kliničkom laboratorijskom okruženju. Ti su in vitro dijagnostički medicinski proizvodi namijenjeni su samo za profesionalnu uporabu od strane kvalificiranog osoblja. In vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima tvrtke Sigma-Aldrich može upravljati laboratorijsko osoblje koje je obučeno za rukovanje ljudskim uzorcima koji mogu biti zarazni, upotrebu mikroskopa i druge laboratorijske opreme te koje ima percepciju boja i oštrinu vida za razlikovanje boja i drugih predmeta pod mikroskopom.

Treba se pridržavati uobičajenih mjera opreza koje se primjenjuju pri rukovanju laboratorijskim reagensima. Odložite otpad poštujući sve lokalne, državne, pokrajinske ili nacionalne propise.

Kontrolna stakalca TISSUE-TROL™ za bojenje po Gramu sadrže životinjsko tkivo uklopljeno u parafin s gram-pozitivnim i gram-negativnim bakterija te ih treba smatrati potencijalno zaraznim.

Postupak

Prikupljanje uzorka

Nijedna poznata metoda ispitivanja ne može pružiti potpunu sigurnost da uzorci krvi ili tkiva neće prenijeti infekciju. Stoga se svi krvni derivati ili uzorci tkiva trebaju smatrati potencijalno zaraznima.

Razmazi

Prihvatljiv je svaki dobro pripremljen, toplinski fiksiran razmaz. Debljina razmaza utjecat će na vrijeme potrebno za dekolorizaciju.

Tkivo

Svako dobro fiksirano tkivo uklopljeno u parafin debljine 5 mikrona.

Napomene

Potrebno je paziti kako bi se izbjegla prekomjerna dekolorizacija stakalaca otopinom za dekolorizaciju. Čak će i gram-pozitivni organizmi postati bezbojni i poprimiti crvenu boju ako se otopina za dekolorizaciju predugo ostavi na stakalcu.³

Postupak

Postupak za razmaze

1. Preljite razmaz otopinom kristal violet na **1 minutu**.
2. Temeljito isperite u deioniziranoj vodi.
3. Preljite razmaz Gramovom otopinom joda na **1 minutu**.
4. Temeljito isperite u deioniziranoj vodi.
5. Preljite otopinom za dekolorizaciju najviše **10 sekundi** dok boja ne prestane otjecati.
6. Temeljito isperite u deioniziranoj vodi.
7. Preljite razmaz otopinom safranina O na **1 minutu**.
8. Temeljito isperite u deioniziranoj vodi.
9. Osušite razmaz na zraku i pregledajte pod mikroskopom.

Postupak za tkivo²

1. Deparafinizirajte prereze i hidrirajte do deionizirane vode.
2. Postavite stakalca na stalak za bojenje i prekrijte prereze otopinom kristal violet na **1 minutu**.
3. Odljite otopinu kristal violeta i temeljito isperite u deioniziranoj vodi.
4. Obradite Gramovom otopinom joda tijekom **5 minuta**.
5. Isperite u deioniziranoj vodi i osušite prereze upijanjem.
6. Diferencirajte u apsolutnom alkoholu ili acetonu.
7. Isperite u deioniziranoj vodi.
8. Preljite stakalca otopinom safranina O na **30 – 60 sekundi**.
9. Isperite u deioniziranoj vodi i osušite prereze upijanjem.
10. Ispreite prereze u otopini tartrazina **5 – 10 sekundi**.
11. Višak boje uklonite upijanjem.
12. Isperite u 2 izmjene apsolutnog alkohola.
13. Prosvjetlite u ksilenu i postavite.

Značajke performansi

Gram-pozitivni organizmi	Ljubičasta
Gram-negativni organizmi	Crvena

Ako se uočeni rezultati razlikuju od očekivanih, obratite se tehničkoj službi tvrtke Sigma-Aldrich za pomoć.

Značajke analitičkih performansi

Rezultati analitičkih performansi za navedena ispitivanja provedena na svim ciljnim strukturama potvrđuju 100 % osjetljivost, specifičnost i ponovljivost.

Kat. br.	Opis proizvoda	Cilj	Specifičnost unutar testa	Osjetljivost unutar testa	Specifičnost između testova	Osjetljivost između testova
HT901	Otopina kristal violet	Gram-pozitivni	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Gram-negativni	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT902	Gramova otopina joda	Gram-pozitivni	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Gram-negativni	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT903	Otopina za dekolorizaciju	Gram-pozitivni	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Gram-negativni	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT904	Otopina safranin O	Gram-pozitivni	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Gram-negativni	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT3028	Otopina tartrazina	Pozadina	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3

Upozorenja i opasnosti

Pogledajte Sigurnosno-tehnički list i oznake na proizvodu za sve ažurirane informacije o riziku, opasnosti ili sigurnosti.

HT90A:



H314 Uzrokuje teške opekline kože i ozljede oka.

H336 Može izazvati pospanost ili vrtoglavicu.

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 zaštitne rukavice / zaštitno odijelo / zaštitu za oči / zaštitu za lice.

P303 + P361 + P353 U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu u vodi.

P304 + P340 + P310 AKO SE UDIŠE: premjestiti unesrećenog na svjež zrak, umiriti ga i postaviti u položaj koji olakšava disanje. odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA / liječnika.

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 ispiranje.

HT90T:

H314 Uzrokuje teške opekline kože i 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 zaštitne rukavice / zaštitno odijelo / zaštitu za oči / zaštitu za lice.

P303 + P361 + P353 U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu u vodi.

P304 + P340 + P310 AKO SE UDIŠE: premjestiti unesrećenog na svjež zrak, umiriti ga i postaviti u položaj koji olakšava disanje. odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA / liječnika.

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 ispiranje.

Ako se tijekom uporabe ovog proizvoda ili kao rezultat njegove uporabe dogodila ozbiljna nezgoda, prijavite ju proizvođaču i/ili njegovom ovlaštenom predstavniku i svom nacionalnom tijelu.

Definicije simbola

Simboli u skladu s definicijom u standardu EN ISO 15223-1:2021.

	Proizvođač		Kataloški broj
	Pogledajte upute za upotrebu		Broj serije
	Ovlašteni zastupnik u Europskoj zajednici / Europskoj uniji		Izjava Europske unije o sukladnosti (definirano u IVDR 2017/746)
	Rok upotrebe		In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Ograničenje temperature		Oprez
	Datum proizvodnje		Uvoznik
	Upućuje na ovlaštenog zastupnika u Švicarskoj		

Reference

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

Podaci za kontakt

Za narudžbu, posjetite našu internetsku stranicu na adresi SigmaAldrich.com. Za Tehničku službu, posjetite stranicu tehničke službe na našoj internetskoj stranici na adresi SigmaAldrich.com/techservice.

Povijest izmjena

Rev. 3.0.	2014.
Rev. 4.0.	2016.
Rev. 5.0.	2023.
	Preneseno na novi obrazac s trenutačnom oznakom brenda. Specificirano za profesionalnu upotrebu u dijelu o predviđenoj namjeni i mjerama opreza. Revidirana predviđena namjena radi usklađivanja sa smjericama IVDR-a. List o sigurnosti materijala ažuriran u Sigurnosno-tehnički list. Ažurirani podaci za kontakt. Uklonjena uputa o praćenju CLSI-a pri uzorkovanju. Uklonjen EN 980 i promijenjen u EN ISO 15223-1:2021 za simbole. Iz potrebnih, ali neisporučeni posebnih materijala uklonjen je kat. br. G3045 koji se više ne proizvodi. Dodane nove informacije za kontakt za štetne događaje. Dodana upozorenja i opasnosti Dodane informacije o CH-REP.
Rev. 6.0.	2026.
	Ažurirano je radi usklađivanja sa smjericama GHS-a. Ažuriran je odjeljak o pripremi s uputama za filtriranje kristal violeta prije uporabe u slučaju pojave taloga. Ažuriran odjeljak „Potrebni, ali neisporučeni posebni materijali” radi uključivanja upotrebe standardnog laboratorijskog filternog papira prema uputama iz odjeljka o pripremi.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Inicijal M i Sigma-Aldrich su zaštićeni znakovi društva Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka ili njegovih povezanih društava. Svi su drugi zaštićeni znakovi vlasništvo njihovih vlasnika. Detaljne informacije o zaštićenim znakovima dostupne su putem javno dostupnih izvora.

© 2026. Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka i/ili povezana društva. Sva prava pridržana.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved. Poslovanje u području bioloških znanosti društva Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka, radi pod imenom MilliporeSigma u SAD-u i Kanadi operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Instrukcja użycia

Zestaw do barwienia metodą
Grama dla rozmazówZestaw do barwienia metodą
Grama dla tkanek

Procedura nr HT90



Przeznaczenie

Odczynniki do barwienia metodą Grama przeznaczone są do identyfikacji organizmów Gram-dodatnich i Gram-ujemnych w rozmazach i tkankach. Odczynniki do barwienia metodą Grama są przeznaczone do diagnostyki in vitro. Wyłącznie do użytku profesjonalnego. Dane uzyskane po zastosowaniu tej ręcznej procedury jakościowej pozwalają na zidentyfikowanie Gram-dodatnich i Gram-ujemnych organizmów w przekrojach tkanek i rozmazach próbek pochodzenia ludzkiego. Dane te, w połączeniu z innymi testami diagnostycznymi i informacjami, mogą być pomocne w diagnozowaniu infekcji wywołanych przez bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne.

Barwienie metodą Grama jest stosowane klinicznie w celu rozróżnienia dwóch odrębnych grup mikroorganizmów. Organizmy, które zatrzymują barwnik podstawowy (fiolet krystaliczny), nazywane są Gram-dodatnimi. Organizmy, które tracą barwnik podstawowy podczas etapu odbarwiania, nazywane są Gram-ujemnymi. Mechanizmy, dzięki którym organizmy Gram-dodatnie zatrzymują barwnik podstawowy, nie są znane, chociaż z pewnością mają na to wpływ chemia i struktura ścian komórkowych.

Procedura Sigma-Aldrich opiera się na pracach Huckera i Conna, które stanowią modyfikację oryginalnej procedury Grama z 1884 roku. Procedura Huckera i Conna wykorzystuje roztwór fioletu krystalicznego i szczawian amonu, który pomaga w różnicowaniu i jest dość stabilny¹.

Odczynniki

Roztwór fioletu krystalicznego (nr kat. HT901-8FOZ)

Certyfikowany fiolet krystaliczny, 2,30%, C.I. 42555, szczawian amonu, 0,1% i 20-procentowy alkohol etylowy, SD3A

Roztwór jodu Grama (nr kat. HT902-8FOZ)

jod, 0,33% i jodek potasu, 0,66%

Roztwór odbarwiający (nr kat. HT903-8FOZ)

Wymagany tylko w przypadku rozmazów. Alkohol izopropylowy, 75% i aceton, 25%

Roztwór safraniny O (nr kat. HT904-8FOZ)

Certyfikowana safranina 0,6%, C.I. 50240, w 20-procentowym alkoholu etylowym, SD3A

Roztwór tartrazyny (nr kat. HT3028-250ML)

Wymagany wyłącznie w przypadku tkanek. Tartrazyna, 0,25%, C.I. 19140 i kwas octowy, 0,25%.

Specjalne wymagane materiały niedołączone do zestawu

- Za każdym razem należy używać dodatknych preparatów kontrolnych, Gram Stain TISSUE-TROL™ (nr kat. TTR005)
- Alkohol, absolutny
- Aceton, klasa ACS
- Ksylen lub substytut ksylenu
- Mikroskop
- Standardowa laboratoryjna bibuła filtracyjna (zalecana, ale niewymagana – Whatman nr 1)

Przechowywanie i stabilność

Przechowywać w temperaturze pokojowej (18–26°C). Na etykietach odczynników znajduje się termin ważności. Użyć raz, a następnie wyrzucić.

Przygotowanie

Wszystkie odczynniki są gotowe do użycia. Jeśli przed użyciem w fiolecie krystalicznym widoczny jest osad, należy go przefiltrować, używając standardowej bibuły laboratoryjnej, np. Whatman nr 1 lub odpowiednika.

Środki ostrożności

Wyroby te są przeznaczone do użytku w diagnostyce in vitro w klinicznym środowisku laboratoryjnym. Niniejsze wyroby do diagnostyki in vitro są przeznaczone do użytku profesjonalnego i powinny być stosowane wyłącznie przez wykwalifikowany personel. Wyroby do diagnostyki in vitro firmy Sigma-Aldrich mogą być stosowane wyłącznie przez personel laboratorium przeszkolony w zakresie obróbki potencjalnie zakaźnych próbek pochodzenia ludzkiego oraz w zakresie korzystania z mikroskopów i innego sprzętu laboratoryjnego, a także personel posiadający zdolność do rozróżniania kolorów i ostrych wzroku niezbędną do rozpoznawania barw i innych obiektów pod mikroskopem.

Należy przestrzegać standardowych środków ostrożności zaleczanych w przypadku korzystania z odczynników laboratoryjnych. Odpady należy utylizować zgodnie ze wszystkimi przepisami prawa miejscowego, stanowego, wojewódzkiego i krajowego.

Preparaty kontrolne Gram Stain TISSUE-TROL™ to zatopione w parafinie tkanki zwierzęce zawierające bakterie Gram-ujemne i Gram-dodatnie, które należy traktować jako potencjalnie zakaźne.

Procedura

Pobieranie próbek

Żadna ze znanych metod testowych nie daje całkowitej pewności, że próbki krwi lub tkanki nie przeniosą zakażenia. W związku z tym wszystkie pochodne próbek krwi lub tkanek należy uważać za potencjalne źródło zakażenia.

Rozmazy

Akceptowalny jest dowolny, prawidłowo przygotowany rozmaz utrwalony termicznie. Grubość rozmazu wpływa na czas wymagany do odbarwienia.

Tkanka

Dowolna, dobrze utrwalona i zatopiona w parafinie tkanka pocięta na skrawki o grubości 5 mikronów.

Uwagi

Podczas stosowania roztworu odbarwiającego należy unikać nadmiernego odbarwienia preparatów. Nawet organizmy Gram-dodatnie ulegną odbarwieniu i będą wyglądać na czerwone, jeśli roztwór odbarwiający zostanie pozostawiony na preparacie przez zbyt długi czas³.

Procedura

Procedura dla rozmazów

1. Zanurzyć rozmaz w roztworze fioletu krystalicznego na **1 minutę**.
2. Dobrze wypłukać w wodzie dejonizowanej.
3. Zanurzyć rozmaz w roztworze jodu Grama na **1 minutę**.
4. Dobrze wypłukać w wodzie dejonizowanej.
5. Zanurzyć w roztworze odbarwiającym na **10 sekund**, aż kolor przestanie się rozlewać.
6. Dobrze wypłukać w wodzie dejonizowanej.
7. Zanurzyć rozmaz w roztworze safraniny O na **1 minutę**.
8. Dobrze wypłukać w wodzie dejonizowanej.
9. Wysuszyć rozmaz na powietrzu i zbadać pod mikroskopem.

Procedura dla tkanek²

1. Skrawki należy odparafinować i uwodnić w wodzie dejonizowanej.
2. Umieścić preparaty na statywie do barwienia i pokryć skrawki roztworem fioletu krystalicznego na **1 minutę**.
3. Odsączyć roztwór fioletu krystalicznego i dobrze wypłukać w wodzie dejonizowanej.
4. Zaprawić w roztworze jodu Grama przez **5 minut**.
5. Wypłukać w wodzie dejonizowanej i osuszyć skrawki.
6. Przeprowadzić różnicowanie w alkoholu absolutnym lub acetonie.
7. Spłukać wodą dejonizowaną.
8. Pokryć preparaty roztworem safraniny O na **30–60 sekund**.
9. Wypłukać w wodzie dejonizowanej i osuszyć skrawki.
10. Pokryć skrawki roztworem tartrazyny na **5–10 sekund**.
11. Usunąć nadmiar barwnika.
12. Przepłukać w 2 zmianach alkoholu absolutnego.
13. Sklarować w ksylenu i osadzić.

Parametry użytkowe

Organizmy Gram-dodatnie	Fioletowy
Organizmy Gram-ujemne	Czerwony

Jeśli uzyskane wyniki różnią się od spodziewanych, prosimy o skontaktowanie się z serwisem technicznym firmy Sigma-Aldrich w celu uzyskania pomocy.

Charakterystyka wydajności analitycznej

Badania w zakresie wydajności analitycznej danych testów przeprowadzone względem wszystkich struktur docelowych potwierdzają 100-procentową czułość, swoistość i powtarzalność.

Nr kat.	Opis produktu	Struktura docelowa	Swoistość w obrębie testu	Czułość w obrębie testu	Swoistość między testami	Czułość między testami
HT901	Roztwór fioletu krystalicznego	Gram-dodatnie	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Gram-ujemne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT902	Roztwór jodu Grama	Gram-dodatnie	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Gram-ujemne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT903	Roztwór odbarwiający	Gram-dodatnie	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Gram-ujemne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT904	Roztwór safraniny O	Gram-dodatnie	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Gram-ujemne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT3028	Roztwór tartrazyny	Tło	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3

Ostrzeżenia i zagrożenia

Informacje na temat aktualnych zagrożeń i środków ostrożności można znaleźć w Karcie charakterystyki substancji oraz na etykietce produktu.

HT90A:



H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.

H336 Może powodować senność lub zawroty głowy.

H360D Może działać szkodliwie na dziecko w łonie matki

H412 Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

P202 Nie używać przed zapoznaniem się z zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.

P273 Unikać uwolnienia do środowiska.

P280 Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

P303 + P361 + P533: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody/przyszcicem.

P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem.

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.

HT90T:

H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia 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 rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody/prysznicem.

P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCIĄ/lekarzem.

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.

Jeśli podczas lub w wyniku stosowania tego wyrobu dojdzie do poważnego incydentu, prosimy o zgłoszenie go do producenta i/lub jego autoryzowanego przedstawiciela oraz właściwych organów krajowych.

Definicje symboli

Symbol są zgodne z definicjami pochodzącymi z normy EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Numer katalogowy
	Zapoznać się z instrukcją użycia		Kod partii
	Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej / na terenie Unii Europejskiej		Deklaracja zgodności w Unii Europejskiej (zdefiniowana w IVDR 2017/746)
	Termin przydatności do użycia		Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Zakres dopuszczalnych temperatur		Przeostroga
	Data produkcji		Importer
	Wskazuje autoryzowanego przedstawiciela w Szwajcarii		

Literatura

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

Dane kontaktowe

Zamówienia można składać za pośrednictwem naszej strony internetowej: SigmaAldrich.com. Pomoc serwisu technicznego można uzyskać za pośrednictwem karty serwisowej w obrębie naszej strony internetowej: SigmaAldrich.com/techservice.

Poprzednie wersje

Wer. 3.0	2014
Wer. 4.0	2016
Wer. 5.0	2023
	Przeniesiono do nowego szablonu z aktualnymi oznaczeniami marki. Uwzględniono informacje o tym, że wyrób jest przeznaczony do użytku profesjonalnego w częściach „Przeznaczenie” i „Środek ostrożności”. Wprowadzono stosowne poprawki w części „Przeznaczenie” w celu uwzględnienia wytycznych IVDR. Zaktualizowano nazwę „Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej” na „Karcie charakterystyki substancji”. Zaktualizowano dane kontaktowe. Usunięto instrukcje dotyczącą pobierania próbek zgodnie z wytycznymi CLSI. Usunięto normę EN 980 i zmieniono na EN ISO 15223-1:2021 w części „Symbole”. Usunięto wycofany z produkcji nr kat. G3045 z części „Specjalne wymagane materiały niedołączone do zestawu”. Dodano dane kontaktowe na potrzeby zgłaszania zdarzeń niepożądanych. Dodano część „Ostrzeżenia i zagrożenia”. Dodano informacje o przedstawicielu w Szwajcarii.
Wer. 6.0	2026
	Zaktualizowano zgodnie z klasyfikacją GHS. Zaktualizowano część „Przygotowanie” o instrukcje odfiltrowania fioletu krystalicznego przed użyciem, jeśli widoczny jest osad. Zaktualizowano część „Specjalne wymagane materiały niedołączone do zestawu” o zalecenie użycia standardowej laboratoryjnej bibuły filtracyjnej zgodnie z instrukcjami opisanymi w części „Przygotowanie”.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Inicjał „M” i Sigma-Aldrich są znakami towarowymi spółki Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy lub jej podmiotów stowarzyszonych. Wszelkie inne znaki towarowe należą do odpowiednich właścicieli. Szczegółowe informacje dotyczące znaków towarowych można uzyskać z powszechnie dostępnych źródeł.

© 2026 Spółka Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy i/lub jej podmioty stowarzyszone. Wszelkie prawa zastrzeżone.
© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
Działalność z zakresu nauk przyrodniczych spółki Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy jest prowadzona pod firmą
MiltiporeSigma w Stanach Zjednoczonych i Kanadzie. Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy jest prowadzona pod firmą
MiltiporeSigma in the U.S. and Canada.

Инструкции за употреба

Комплект за оцветяване по Грам за натривки

Комплект за оцветяване по Грам за тъкан

Процедура № HT90



Предназначение

Реагентите за оцветяване по Грам са предназначени за използване при разграничаване на Грам положителни и Грам отрицателни организми в натривки и тъкани. Реагентите за оцветяване по Грам са предназначени за „in vitro диагностична употреба“. Само за професионална употреба. Данните, получени от тази ръчна качествена процедура, идентифицират Грам положителни и Грам отрицателни организми в тъкани и натривки от човешки проби. Тези данни, когато се прегледат заедно с други диагностични тестове и информация, може да се използват като помощно средство за диагностициране на Грам положителни и Грам отрицателни бактериални инфекции.

Оцветяването по Грам се използва клинично за разграничаване на две различни групи микроорганизми. Тези, които запазват първичния цвят (кристалновиолетово), се наричат Грам положителни. Тези, които губят първичния цвят по време на стъпката на обезцветяване, се наричат Грам отрицателни. Механизмите, чрез които Грам положителните организми запазват първичното оцветяване, са неизвестни, въпреки че химичният състав и структурата на клетъчните стени със сигурност имат връзка с това.

Процедурата на Sigma-Aldrich се базира на разработката на Hucker и Conn, която е модификация на оригиналната процедура на Грам от 1884 г. Процедурата Hucker и Conn използва разтвор на кристалновиолетово и амониев оксалат, който способства за диференциацията и е доста стабилен.¹

Реагенти

Разтвор на кристалновиолетово (кат. № HT901-8FOZ)

Сертифицирано кристалновиолетово, 2,30%, С.И. 42555, амониев оксалат, 0,1% и 20% етилов алкохол, SD3A

Разтвор на йод по Грам (кат. № HT902-8FOZ)

Йод, 0,33% и калиев йодид, 0,66%

Разтвор на обезцветител (кат. № HT903-8FOZ)

Необходим е само за натривки. Изопропилов алкохол 75% и ацетон 25%

Разтвор на сафранин О (кат. № HT904-8FOZ)

Сертифициран сафранин 0,6%, С.И. 50240, в 20% етилов алкохол, SD3A

Разтвор на тартразин (кат. № HT3028-250ML)

Необходим е само за тъкани. Татрацин, 0,25%, С.И. 19140 и оцетна киселина, 0,25%

Необходими специални материали, които не са осигурени

- Във всеки цикъл трябва да бъдат включени положителни контролни предметни стъкла, Gram Stain TISSUE-TROL™ (кат. № TTR005)
- Алкохол, абсолютен
- Ацетон, ACS качество
- Ксилен или заместител на ксилен
- Микроскоп
- Стандартна лабораторна филтърна хартия (препоръчва се Whatman No. 1 – но не е единствената)

Съхранение и стабилност

Съхранявайте на стайна температура (18 – 26 °C). На етикетите на реагентите е посочен срокът на годност. Използвайте веднъж и изхвърлете.

Подготовка

Всички реагенти са готови за употреба. Ако в реагента кристалновиолетово се установи наличие на преципитат преди употреба, филтрирайте със стандартна лабораторна хартия, като Whatman No. 1 или еквивалентна.

Предпазни мерки

Тези IVD са предназначени за in vitro диагностична употреба в клинична лабораторна среда. Тези IVD са само за професионална употреба от квалифициран персонал. С IVD на Sigma-Aldrich може да работи лабораторен персонал, който е обучен да брави с потенциално инфекциозни човешки образци, да използва микроскопи и друго лабораторно оборудване и има цветово възприятие и зрителна острота, за да различава цветовете и други обекти под микроскоп.

При боравене с лабораторни реагенти трябва да се спазват обичайните предпазни мерки. Изхвърляйте отпадъците, като спазвате всички местни, държавни, локални или национални разпоредби.

Контролните предметни стъкла Gram Stain TISSUE-TROL™ са с включена в парафин животинска тъкан, съдържаща Грам отрицателни и Грам положителни бактерии и трябва да се считат за потенциално инфекциозни.

Процедура

Взимане на проба

Никои известен тестов метод не може да гарантира напълно, че кръвните проби или тъканта няма да пренесат инфекция. Поради това всички кръвни производни или тъканни образци трябва да се считат за потенциално инфекциозни.

Натривки

Всички добре приготвени, термофиксираны натривки са допустими. Дебелината на натривката ще влияе върху времето, необходимо за обезцветяване.

Тъкан

Всеки добре фиксиран срез от 5 микрона от включена в парафин тъкан.

Забележки

Трябва да се внимава и да се избягва прекомерно обезцветяване на предметните стъкла с разтвора за обезцветяване. Дори Грам-положителните организми ще станат безцветни и ще изглеждат червени, ако разтворът за обезцветяване се остави върху предметното стъкло за много дълъг период от време.³

Процедура

Процедура за натривки

- Залейте натривката с разтвор на кристалновиолетово за **1 минута**.
- Изплакнете щателно в дейонизирана вода.
- Залейте натривката с разтвор на йод по Грам за **1 минута**.
- Изплакнете щателно в дейонизирана вода.
- Залейте с разтвор за обезцветяване за до **10 секунди**, докато цветът спре да се изменя.
- Изплакнете щателно в дейонизирана вода.
- Залейте натривката с разтвор на сафранин О за **1 минута**.
- Изплакнете щателно в дейонизирана вода.
- Изсушете натривката на въздух и изследвайте микроскопски.

Процедура за тъкан²

- Депарафинизирайте срезове и хидратирайте с дейонизирана вода.
- Поставете предметните стъкла в статив за оцветяване и покрийте срезове с разтвор на кристалновиолетово за **1 минута**.
- Отцедете разтвора на кристалновиолетово и изплакнете щателно с дейонизирана вода.
- Байцайте натривката с разтвор на йод по Грам за **5 минути**.
- Изплакнете в дейонизирана вода и поийте срезове.
- Диференцирайте в абсолютен алкохол или ацетон.
- Изплакнете в дейонизирана вода.
- Покрийте предметните стъкла с разтвор на сафранин О за **30 – 60 секунди**.
- Изплакнете в дейонизирана вода и поийте срезове.
- Покрийте срезове с разтвор на тартразин за **5 – 10 секунди**.
- Поийте излишното багрило.
- Изплакнете 2 пъти в абсолютен алкохол, като го сменят всеки път.
- Просветлете в ксилен и залейте.

Работни характеристики

Грам положителни организми Лилаво

Грам отрицателни организми Червено

Ако наблюдаваните резултати се различават от очакваните, моля, свържете се с отдела по техническо обслужване на Sigma-Aldrich за съдействие.

Характеристики на аналитичното действие

Резултатите за аналитичното действие за дадените тестове, проведени върху всички целеви структури, потвърждават 100% чувствителност, специфичност и повторемост.

Кат. №	Описание на продукта	Цел	Специфичност в рамките на анализа	Чувствителност в рамките на анализа	Специфичност между анализите	Чувствителност между анализите
HT901	Разтвор на кристалновиолетово	Грам положителни	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Грам отрицателни	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
HT902	Разтвор на йод по Грам	Грам положителни	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Грам отрицателни	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
HT903	Разтвор за обезцветяване	Грам положителни	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Грам отрицателни	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
HT904	Разтвор на сафранин О	Грам положителни	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Грам отрицателни	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
HT3028	Разтвор на тартразин	Фон	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3

Предупреждения и опасности

Направете справка с информационния лист за безопасност и етикетирания на продукта за актуализирана информация за риск, опасност или безопасност.

HT90A:



H314 Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите.

H336 Може да предизвика сънливост или световъртеж.

H360D Може да увреди плода при бременност

H412 Вредно 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 ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

P303 + P361 + P353 ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): Незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода.

P304 + P340 + P310 ПРИ ВДИШВАНЕ: Изведете лицето на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането. Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар.

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.

HT90T:



H314 Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите.

H360D Може да увреди плода при бременност.

H412 Вредно 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 ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

P303 + P361 + P353 ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): Незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода.

P304 + P340 + P310 ПРИ ВДИШВАНЕ: Изведете лицето на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането. Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар.

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.

Ако по време на използване или в резултат на употреба на това изделие възникне сериозен инцидент, моля, докладвайте на производителя и/или на негов упълномощен представител, както и на съответния национален орган.

Дефиниции на символите

Символи, както са дефинирани в EN ISO 15223-1:2021

	Производител		Каталожен номер
	Вижте инструкциите за употреба		Код на партида
	Упълномощен представител в Европейската общност/ Европейския съюз		Декларация за съответствие на Европейския съюз (дефинирана в IVDR 2017/746)
	Дата на срок на годност		Медицинско изделие за in vitro диагностика
	Температурна граница		Внимание
	Дата на производство		Вносител
	Указва упълномощения представител в Швейцария		

Референции

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

Информация за контакт

За да направите поръчка, моля, посетете нашия уебсайт на адрес SigmaAldrich.com. За техническо обслужване, моля, посетете страницата за техническо обслужване на нашия уебсайт на адрес SigmaAldrich.com/techservice.

Хронология на редакциите

Ред. 3.0	2014 г.
Ред. 4.0	2016 г.
Ред. 5.0	2023 г.
	Прехвърлено на нов шаблон с текущо брендиране. Посочено за професионална употреба при предназначение и предпазни мерки. Редактирана предвидена употреба, за да се приведе в съответствие с насоките за IVDR. Актуализиран информационен лист за безопасност на материалите към информационния лист за безопасност. Актуализирана информация за контакт. Премахната инструкция за следване на CLSI за вземане на образци. Премахнат EN 980 и променен на EN ISO 15223-1:2021 за символи. Премахнат е спреният от производство кат. № G3045 от „Необходими специални материали, които не са осигурени“. Добавена информация за контакт при нежелани събития. Добавени предупреждения и опасности. Добавена информация за CH-REP.
Ред. 6.0	2026 г.
	Актуализация с цел привеждане в съответствие с класификациите на GHS. Актуализиран раздел за препарати с инструкции за филтриране на кристалновиолетово преди употреба, ако има наличие на преципитат. Актуализиран раздел „Необходими специални материали, които не са осигурени“ с цел включване на използването на стандартна лабораторна филтърна хартия според инструкциите за подготовка.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Initial M и Sigma-Aldrich са търговски марки на Merck KGaA, Darmstadt, Германия или свързаните дружества на компанията. Всички други търговски марки са притежание на съответните им собственици. Подробна информация за търговските марки е налична чрез публично достъпни ресурси.

© 2026 Merck KGaA, Darmstadt, Германия и/или свързаните дружества на компанията. Всички права запазени.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved. Търговската дейност на Merck KGaA, Darmstadt, Германия в областта на науките за живота се извършва от MilliporeSigma в САЩ. MilliporeSigma operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Lietošanas pamācība

Gram iekrāsošanas komplekts plēvēm

Gram iekrāsošanas komplekts audiem

Procedūra nr. HT90



Paredzētais lietojums

Gram iekrāsošanas reaģenti paredzēti izmantošanai grampozitīvu un gramnegatīvu organismu norobežošanai plēvēs un audos. Gram iekrāsošanas reaģentus izmanto "in vitro diagnostikā". Tikai profesionālai lietošanai. Šajā rokasgrāmatā: kvalitatīvā procedūrā iegūtie dati norāda grampozitīvus un gramnegatīvus organismus audu paraugus un cilvēka parauga materiālu uztriepēs. Izvērtējot kopā ar citiem diagnostikas testiem un informāciju, šos datus var izmantot kā palīgīdzekli grampozitīvu un gramnegatīvu bakteriālu infekciju diagnosticēšanai.

Gram iekrāsošanu izmanto klīniski, lai noteiktu divas atšķirīgas mikroorganismu grupas. Tos, kas saglabā primāro krāsu (kristālvioleto), dēvē par grampozitīviem. Tos, kas atkrāsošanas laikā zaudē primāro krāsu, dēvē par gramnegatīviem. Mehānismi, ar kuriem grampozitīvie organismi saglabā primāro iekrāsojumu, nav zināmi, lai gan pilnīgi noteikti ir iesaistīti šūnu sieniju ķīmija un struktūra.

Sigma-Aldrich procedūras pamatā ir Hakera un Konna darbs, kas ir sākotnējās Gram procedūras modifikācija no 1884. gada. Hakera un Konna procedūrā tiek izmantots kristālvioletā amonija oksalāta šķīdums, kas palīdz diferencēt un ir diezgan stabils.¹

Reaģenti

Kristālvioletais šķīdums (kat. nr. HT901-8FOZ)

Sertificēts kristālviolets, 2,30%, C.I. 42555, amonija oksalāts, 0,1% un 20% etilspirts, SD3A

Gram joda šķīdums (kat. nr. HT902-8FOZ)

Jods, 0,33% un kālija jodīds, 0,66%

Atkrāsošanas šķīdums (kat. nr. HT903-8FOZ)

Nepieciešams tikai plēvēm. Izopropilspirts, 75% un acetons, 25%

Safranīna O šķīdums (kat. nr. HT904-8FOZ)

Sertificēts safranīns 0,6%, C.I. 50240, 20% etilspirtā, SD3A

Tartrazīna šķīdums (kat. nr. HT3028-250ML)

Nepieciešams tikai audiem. Tartrazīns, 0,25%, C.I. 19140 un etiķskābe, 0,25%.

Speciālie nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie materiāli

- Katrā testēšanas ciklā jāiekļauj pozitīvā kontrolmateriāla priekšmetstikliņi, Gram iekrāsošana, TISSUE-TROL™ (kat. nr. TTR005)
- Spirts, tīrs
- Acetons, ACS reaģents
- Ksilols vai ksilola aizvietotājs
- Mikroskops
- Standarta laboratorijas filtrpapīrs (ieteicams izmantot Whatman No. 1, taču ne obligāti)

Uzglabāšana un stabilitāte

Uzglabāt istabas temperatūrā (18–26 °C). Derīguma termiņa datums norādīts reaģenta uzlīmē. Izmantojiet vienreiz un izmetiet.

Sagatavošana

Visi reaģenti ir gatavi lietošanai. Ja pirms lietošanas kristālvioletajā reaģentā tiek konstatētas nogulsnes, filtrējiet ar standarta laboratorijas papīru, piemēram, Whatman No. 1 vai līdzvērtīgu.

Piesardzības pasākumi

Šis IVD ir paredzēts lietot *in vitro* diagnostikai klīniskās laboratorijas vidē. Šis IVD ir paredzēts profesionālai lietošanai un tikai kvalificētam personālam. Sigma-Aldrich IVD drīkst lietot laboratorijas darbinieki, kas apmācīti rīkoties ar varbūtēji infekcioziem cilvēku paraugiem, lietot mikroskopus un citu laboratorijas aprīkojumu, un kuriem ir atbilstoša krāsu uztvere un redzes asums, lai spētu atšķirt krāsas un citus objektus mikroskopā.

Rīkojoties ar laboratorijas reaģentiem, ir jāievēro standarta piesardzības pasākumi. Utilizējiet atkritumus saskaņā ar vietējiem, štata, provinces vai valsts noteikumiem.

Gram iekrāsošanas TISSUE-TROL™ kontroles priekšmetstikliņi ir parafinā iegūti dzīvnieku audi, kas satur gramnegatīvas un grampozitīvas baktērijas, un tie jāuzskata par potenciāli infekcioziem.

Procedūra

Paraugu ņemšana

Nav zināma neviena metode, kas sniegtu pilnīgu pārliecību, ka ar asins paraugiem vai audiem netiks pārnestas infekcijas. Tāpēc visus asins produktus vai audu paraugus jāuzskata par potenciāli infekcioziem.

Plēves

Jebkura labi sagatavota, termiski fiksēta plēve ir izmantojama. Plēves biežums ietekmēs atkrāsošanai nepieciešamo laiku.

Audi

Visi pareizi fiksētie parafinā iegūtie audi, kas sagriezti 5 mikronos.

Piezīmes

Jāievēro piesardzība, lai izvairītos no priekšmetstikliņu atkrāsošanas ar atkrāsotāja šķīdumu. Pat grampozitīvie organismi kļūst bezkrāsaini un ir sarkani, ja atkrāsotāja šķīdums uz priekšmetstikliņa tiek atstāts pārāk ilgu laiku.³

Procedūra

Procedūra plēvēm

- Uz **1 minūti** pārklājiet plēvi ar kristālvioleto šķīdumu.
- Rūpīgi noskalojiet ar dejonizētu ūdeni.
- Uz **1 minūti** pārklājiet plēvi ar Gram joda šķīdumu.
- Rūpīgi noskalojiet ar dejonizētu ūdeni.
- Pārklājiet ar atkrāsošanas šķīdumu līdz **10 sekundēm**, līdz krāsa pārstāj iedarboties.
- Rūpīgi noskalojiet ar dejonizētu ūdeni.
- Uz **1 minūti** pārklājiet plēvi ar Safranīna O šķīdumu.
- Rūpīgi noskalojiet ar dejonizētu ūdeni.
- Nosusiniet plēvi un pārbaudiet ar mikroskopu.

Procedūra audiem²

- Deparafinējiet audu paraugus un samitriniet ar dejonizētu ūdeni.
- Novietojiet priekšmetstikliņus uz iekrāsošanas stativa un pārklājiet audu paraugus ar kristālvioleto šķīdumu **1 minūti**.
- Noteiciniet kristālvioleto šķīdumu un rūpīgi noskalojiet dejonizētā ūdenī.
- Izkodiniet Gram joda šķīdumā **5 minūtes**.
- Skalojiet ar dejonizētu ūdeni un nosusiniet audu paraugus.
- Diferencējiet tirā spirtā vai acetona.
- Noskalojiet ar dejonizētu ūdeni.
- Uz **30–60 sekundēm** pārklājiet priekšmetstikliņus ar Safranīna O šķīdumu.
- Skalojiet ar dejonizētu ūdeni un nosusiniet audu paraugus.
- Pārklājiet audu paraugus ar tartrazīna šķīdumu **5–10 sekundes**.
- Noslaukiet lieko iekrāsojumu.
- Skalojiet 2 reizes tirā spirtā.
- Notīriet ksilolā un uzstādiet.

Veikspējas raksturlielumi

Grampozitīvie organismi	Violets
Gramnegatīvie organismi	Sarkans

Ja novērotie rezultāti atšķiras no gaidāmajiem rezultātiem, lūdzu, sazinieties ar Sigma-Aldrich Tehniskā atbalsta dienestu, lai saņemtu palīdzību.

Analītiskās veikspējas raksturlielumi

Analītiskās veikspējas rezultāti minētajos testos, kas veikti ar visām mērķa struktūrām, apstiprina 100% jutību, specifiskumu un atkārtojamību.

Kat. Nr.	Produkta apraksts	Mērķis	Specifiskums analīzes laikā	Jutība analīzes laikā	Starpanalīžu specifiskums	Starpanalīžu jutība
HT901	Kristālvioletais šķīdums	Grampozitīvi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Gramnegatīvi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
HT902	Gram joda šķīdums	Grampozitīvi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Gramnegatīvi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
HT903	Atkrāsošanas šķīdums	Grampozitīvi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Gramnegatīvi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
HT904	Safranīna O šķīdums	Grampozitīvi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Gramnegatīvi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
HT3028	Tartrazīna šķīdums	Fons	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3

Brīdinājumi un riski

Jaunāko informāciju par riskiem, bīstamību vai drošumu skatiet drošības datu lapā un izstrādājuma uzlīmē.

HT90A:



H314 Izraisa plašus ādas apdegumus un acu bojājumus.

H336 Var izraisīt miegainību vai reibošus.

H360D Var nodarīt kaitējumu vēl nedzimušam bērnam.

H412 Kaitīgs ūdens organismiem ar ilglaicīgām sekām.

P202 Neizmantojot pirms nav izlasīti un izprasti visi brīdinājumi.

P273 Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.

P280 Izmantojot aizsargcimdus/aizsargdrēbes/acu aizsargus/sejas aizsargus.

P303 + P361 + P353: SASKARĒ AR ĀDU (vai matiēm): nekavējoties novilkt visu piesārņoto apģērbu. Noskalot ādu ar ūdeni.

P304 + P340 + P310 JA IEELPO: nogādāt cietušo svaigā gaisā un nodrošināt netraucētu elpošanu. Nekavējoties sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu.

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.

HT90T:



H314 Izraisa plašus ādas apdegumus un acu bojājumus.

H360D Var nodarīt kaitējumu vēl nedzimušam bērnam.

H412 Kaitīgs ūdens organismiem ar ilglaicīgām sekām.

P202 Neizmantot pirms nav izlasīti un izprasti visi brīdinājumi.

P273 Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.

P280 Izmantot aizsargcimdus/aizsargdrēbes/acu aizsargus/sejas aizsargus.

P303 + P361 + P533: SASKARĒ AR ĀDU (vai matiem): nekavējoties novilkt visu piesārņoto apģērbu. Noskalot ādu ar ūdeni.

P304 + P340 + P310 JA IEELPO: nogādāt cietušo svaigā gaisā un nodrošināt netraucētu elpošanu. Nekavējoties sazinieties ar SAINĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu.

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.

Ja šīs ierīces lietošanas laikā vai lietošanas rezultātā noticis būtisks negadījums, ziņojiet par to ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim, kā arī atbildīgajai iestādei jūsu valstī.

Simbolu definīcijas

Simboli atbilst definīcijām standartā EN ISO 15223-1:2021

	Ražotājs		Kataloga numurs
	Skatīt lietošanas instrukciju		Partijas kods
	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā/Eiropas Savienībā		Eiropas Savienības atbilstības deklarācija (definēta IVDR 2017/746)
	Derīguma termiņš		Medicīniska ierīce <i>in vitro</i> diagnostikai
	Temperatūras ierobežojums		Uzmanību!
	Izgatavošanas datums		Importētājs
	Norāda pilnvaroto pārstāvi Šveicē		

Atsauces

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

Kontaktinformācija

Lai veiktu pasūtījumu, apmeklējiet mūsu tīmekļa vietni SigmaAldrich.com. Lai sazinātos ar Tehniskā atbalsta dienestu, apmeklējiet tehniskā atbalsta dienesta lapu mūsu tīmekļa vietnē SigmaAldrich.com/techservice.

Pārskatīto versiju vēsture

Vers. 3.0	2014
Vers. 4.0	2016
Vers. 5.0	2023
	<p>Pāreja uz jaunu veidni ar pašreizējo zīmola identitāti. Sadaļā ar paredzēto lietojumu un piesardzības pasākumiem norādīta profesionāla lietošana. Pārskatīts paredzētais lietojums, lai to pieskaņotu IVDR vadlīnijām. Termins "Materiālu drošības datu lapa" mainīts uz "Drošības datu lapa". Atjaunināta kontaktinformācija. Svītrots norādījums paraugu ņemšanā ievērot CLSI. Svītrots EN 980 un aizstāts ar standartu EN ISO 15223-1:2021 attiecībā uz simboliem. Nopemts (izņemts no aprītes, kat. nr. G3045) no saraksta "Speciālie nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie materiāli". Pievienota kontaktinformācija ziņošanai par nevēlamiem notikumiem. Pievienota sadaļa "Brīdinājumi un riski". Pievienota CH-REP informācija.</p>
Vers. 6.0	2026
	<p>Atjaunināts, lai saskaņotu ar GHS klasifikāciju. Atjaunināta preparātu sadaļa ar norādījumiem kristālvioletā šķīduma filtrēšanai pirms lietošanas, ja tiek atrastas nogulsnes. Atjaunināta sadaļa "Speciālie nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie materiāli", lai iekļautu standarta laboratorijas filtrpapīra izmantošanu saskaņā ar iekļautajiem preparātu norādījumiem.</p>



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Iniciālais M un Sigma-Aldrich ir preču zīmes, kas pieder uzņēmumam Merck KGaA, Darmštātē, Vācijā, vai tā saistītajiem uzņēmumiem. Visas pārējās preču zīmes pieder to attiecīgajiem īpašniekiem. Sīkāka informācija par preču zīmēm sniegta publiski pieejamos avotos.

© 2026 Merck KGaA, Darmštātē, Vācijā, un/vai tā saistītie uzņēmumi. Visas tiesības saglabātas.
© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.
Uzņēmums Merck KGaA, Darmštātē, Vācijā, ar dzīvības zinātnēm saistīto uzņēmējdarbību ASV un Kanādā veic ar nosaukumu MilliporeSigma. Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Naudojimo instrukcija

Dažymo Gramo būdu rinkinys plėvelėms

Dažymo Gramo būdu rinkinys audiniams

Procedūros Nr. HT90



Paskirtis

Dažymo Gramo būdu reagentai skirti gramteigiųjų ir gramneigiųjų organizmų atskyrimui plėvelėse ir audiniuose. Dažymo Gramo būdu reagentai skirti „in vitro“ diagnostikai. Tik profesionaliam naudojimui. Šioje instrukcijoje pateikti duomenys, gauti taikant kokybinę procedūrą, leidžia identifikuoti gramteigiamus ir gramneigiamus organizmus žmogaus audinių pjūviuose ir tepinėliuose. Šie duomenys, peržiūrėti kartu su kitais diagnostiniais tyrimais ir informacija, gali būti naudojami kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant gramteigiamas ir gramneigiamas bakterines infekcijas.

Dažymas Gramo būdu klinikinėje praktikoje naudojamas dviem skirtingoms mikroorganizmų grupėms atskirti. Išlaikantys pirminį dažiklį (kristalinį violetinį), vadinami gramteigiamais. Prarandantys pirminį dažiklį išblukinimo etape, vadinami gramneigiamais. Mechanizmai, pagal kuriuos gramteigiami organizmai išlaiko pirminį dažiklį, nėra žinomi, tačiau tikriausiai tai susiję su laštelių sienelių chemine sudėtimi ir struktūra.

Sigma-Aldrich procedūra pagrįsta Huckerio ir Conno darbo rezultatais, kurie yra 1884 m. sukurtos originalios Gramo procedūros modifikacija. Huckerio ir Conno procedūroje naudojamas kristalinis violetinis amonio – oksalato tirpalas, naudojamas diferencijavimui ir yra gana stabilus.¹

Reagentai

Kristalinis violetinis tirpalas (kat. nr. HT901-8FOZ)

Sertifikuotas kristalinis violetinis, 2,30 %, C.I. 42555, amonio oksalatas, 0,1 %, ir 20 % etilo alkoholis, SD3A

Gramo jodo tirpalas (kat. nr. HT902-8FOZ)

Jodas, 0,33 %, ir kalio jodidas, 0,66 %

Blukinimo tirpalas (kat. nr. HT903-8FOZ)

naudojamas tik plėvelėms. Izopropilo alkoholis, 75 %, ir acetonas, 25 %

Safranino O tirpalas (kat. nr. HT904-8FOZ)

Sertifikuotas safraninas 0,6 %, C.I. 50240, 20 % etilo alkoholyje, SD3A

Tartrazino tirpalas (kat. nr. HT3028-250ML)

Naudojamas tik audiniams. Tartrazinas, 0,25 %, C.I. 19140 ir acto rūgštis, 0,25 %

Reikalingos, bet nepateikiamos specialios medžiagos

- Kiekvieną kartą, atliekant dažymą Gramo būdu, reikia įtraukti teigiamas kontrolines plokšteles TISSUE-TROL™ (kat. nr. TTR005)
- Alkoholis, absoliutus
- Acetonas, ACS klasės
- Ksilenas arba ksileno pakaitalas
- Mikroskopas
- Standartinis laboratorinis filtravimo popierius (rekomenduojamas „Whatman“ Nr. 1, bet ne išimtinai)

Laikymas ir stabilumas

Laikyti kambario temperatūroje (18–26 °C). Reagento etiketėje nurodyta galiojimo data. Naudokite tik vieną kartą ir išmeskite.

Pasiruošimas

Visi reagentai paruošti naudojimui. Jei prieš naudojimą kristaliniame violetiniame reagente randama nuosėdų, filtruokite naudojant standartinį laboratorinį popierių, pvz., „Whatman“ Nr. 1 arba jam lygiavertį popierių.

Atsargumo priemonės

Rinkinyje esančios IVD medžiagos yra skirtos in vitro diagnostikai klinikinės laboratorijos aplinkoje. Šios IVD skirtos naudoti tik kvalifikuotam personalui. Sigma-Aldrich IVD medžiagas gali naudoti laboratorijos darbuotojai, kurie yra išmokyti dirbti su žmonių mėginiais, kurie gali būti užkrečiami, naudoti mikroskopus ir kitą laboratorinę įrangą bei turėti spalvų suvokimą ir regėjimo aštrumą, kad galėtų atskirti spalvas ir kitus objektus mikroskopu.

Dirbant su laboratoriniais reagentais reikia laikytis įprastų atsargumo priemonių. Išmeskite atliekas laikydamiesi visų vietinių, valstijos, provincijos ar nacionalinių taisyklių.

Dažymo Gramo būdu TISSUE-TROL™ kontrolinės plokštelės yra parafine konservuoti gyvūnų audiniai, kuriuose yra gramneigiųjų ir gramteigiųjų bakterijų, todėl jas reikėtų laikyti potencialiai infekuotomis.

Procedūra

Mėginio paėmimas

Joks žinomas tyrimo metodas negali visiškai užtikrinti, kad kraujo mėginiai ar audiniai neperduos infekcijos. Todėl visi kraujo dariniai ar audinių mėginiai turėtų būti laikomi potencialiai užkrečiamais.

Plėvelės

Tinka bet kuri gerai paruošta, terminiu būdu fiksuota plėvelė. Plėvelės storis turi įtakos blukinimo trukmei.

Audiniai

Bet koks gerai fiksuotas parafine konservuotas audinis, supjaustytas 5 mikronų storio sluoksniais.

Pastabos

Reikia stengtis, kad plokštelės nebūtų pernelyg išblukintos naudojant blukinimo tirpalą. Net gramteigiami organizmai taps bespalviai ir atrodys raudonai per ilgai laikant blukinimo tirpalą ant plokštelės.³

Procedūra

Plėvelėms taikoma procedūra

1. **1 minutę** užpilkite Kristaliniu violetiniu tirpalu.
2. Kruopščiai nuplaukite dejonizuotu vandeniu.
3. **1 minutę** užpilkite Gramo jodo tirpalu.
4. Kruopščiai nuplaukite dejonizuotu vandeniu.
5. Pripilkite Blukinimo tirpalo ir palikite iki **10 sekundžių**, kol nustos tekėti spalva.
6. Kruopščiai nuplaukite dejonizuotu vandeniu.
7. **1 minutę** užpilkite Safranino O tirpalu.
8. Kruopščiai nuplaukite dejonizuotu vandeniu.
9. Plėvelę džiovinkite ore ir išstirkite mikroskopu.

Procedūra audiniams²

1. Deparafinizuokite pjūvius ir drėkinkite dejonizuotu vandeniu.
2. Padėkite plokšteles ant dažymo stovo ir **1 minutę** padenkite pjūvius kristaliniu violetiniu tirpalu.
3. Nusausinkite kristalinio violeto tirpalą ir gerai nuplaukite dejonizuotu vandeniu.
4. **5 minutes** mirkykite Gramo jodo tirpale.
5. Nuskalaukite dejonizuotame vandenyje ir nusausinkite pjūvius.
6. Diferencijuokite absoliučiu alkoholiu ar acetonu.
7. Nuskalaukite dejonizuotu vandeniu.
8. Padenkite plokšteles Safranino O tirpalu **30–60 sekundžių**.
9. Nuskalaukite dejonizuotame vandenyje ir nusausinkite pjūvius.
10. Padenkite pjūvius tartrazino tirpalu **5–10 sekundžių**.
11. Nusausinkite dažų perteklių.
12. Nuskalaukite absoliučiu alkoholiu, jį pakeisdami 2 kartus.
13. Išvalykite ksilenu ir užfiksukite.

Veikimo charakteristikos

Gramteigiami organizmai	Purpuriniai
Gramteigiami organizmai	Raudona

Jei pastebėti rezultatai skiriasi nuo laukiamų rezultatų, kreipkitės pagalbos į „Sigma-Aldrich“ techninę tarnybą.

Analinio veikimo charakteristikos

Pateiktų tyrimų, atliktų su visomis tikslinėmis struktūromis, analitinio efektyvumo rezultatai patvirtina 100 % jautrumą, specifiškumą ir pakartojamumą.

Kat. Nr.	Produkto aprašymas	Tikslas	Tyrimo specifiškumas	Jautrumas tyrimo metu	Specifiškumas tarp tyrimų	Jautrumas tarp tyrimų
HT901	Kristalinis violetinis tirpalas	Gramteigiamas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Gramneigiamas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
HT902	Gramo jodo tirpalas	Gramteigiamas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Gramneigiamas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
HT903	Blukinimo tirpalas	Gramteigiamas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Gramneigiamas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
HT904	Safranino O tirpalas	Gramteigiamas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Gramneigiamas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
HT3028	Tartrazino tirpalas	Fonas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3

Įspėjimai ir pavojai

Atnaujintą rizikos, pavojaus ar saugos informaciją rasite saugos duomenų lape ir gaminio etiketėje.

HT90A:



H314 Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis.

H336 Gali sukelti mieguistumą arba galvos svaigimą.

H360D Gali pakenkti negimusiam kūdikiui.

H412 Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

P202 Nenaudokite, kol neperskaitėte ir nesupratote visų saugos priemonių.

P273 Saugoti, kad nepatektų į aplinką.

P280 Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių/ veido apsaugos priemones.

P303 + P361 + P353 JEI PATEKO ANT ODOS (ar plaukų): nedelsiant nuvalyti visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu.

P304 + P340 + P310 ĮKVĖPUS: Išnešti žmogų į gryną orą ir pasirūpinti, kad jis galėtų patogiai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / gydytojų.

P305 + P351 + P338 JEI PATEKO Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau skalauti.

HT90T:



H314 Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis.

H360D Gali pakenkti negimusiam kūdikiui.

H412 Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

P202 Nenaudokite, kol neperskaitėte ir nesupratote visų saugos priemonių.

P273 Saugoti, kad nepatektų į aplinką.

P280 Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių/ veido apsaugos priemones.

P303 + P361 + P353 JEI PATEKO ANT ODO (ar plaukų): nedelsiant nuvilkti visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu.

P304 + P340 + P310 ĮKVĖPUS: Išnešti žmogų į gryną orą ir pasirūpinti, kad jis galėtų patogiai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / gydytojui.

P305 + P351 + P338 JEI PATEKO Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau skalauti.

Jeį naudojant šį įrenginį arba dėl jo naudojimo įvyko rimtas incidentas, praneškite apie tai gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui bei savo nacionalinei institucijai.

Simbolių apibrėžimai

Simboliai, kaip apibrėžta EN ISO 15223-1:2021

	Gamintojas		Katalogo numeris
	Žr. naudojimo instrukcijas		Partijos kodas
	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Europos Sąjungoje		Europos Sąjungos atitikties deklaracija (apibrėžta IVDR 2017/746)
	Galiojimo data		In vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Temperatūros riba		Atsargiai
	Pagaminimo data		Importuotojas
	Nurodo įgaliotąjį atstovą Šveicarijoje		

Šaltiniai

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

Kontaktinė informacija

Norėdami pateikti užsakymą, apsilankykite mūsų svetainėje SigmaAldrich.com. Dėl techninės priežiūros apsilankykite techninės priežiūros puslapyje mūsų svetainėje SigmaAldrich.com/techservice.

Peržiūrų istorija

3.0 red.	2014
4.0 red.	2016
5.0 red.	2023
	Perkelta į naują šabloną su dabartiniu prekės ženklu. Skirta profesionaliam naudojimui pagal paskirtį ir taikomas atsargumo priemonės. Peržiūrėta paskirtis, siekiant suderinti su IVDR gairėmis. Atnaujintas medžiagos saugos duomenų lapas į saugos duomenų lapą. Atnaujinta kontaktinė informacija. Pašalintas nurodymas laikytis CLSI dėl mėginių paėmimo. Išimtas EN 980 ir pakeistas į EN ISO 15223-1:2021 simboliams. Iš specialiu medžiagų, kurios yra reikalingos, bet nėra pateikiamos, pašalinta nutraukta medžiaga kat. nr. G3045. Pridėta nepageidaujamo įvykio kontaktinė informacija. Pridėti išpėjimai ir pavojai. Pridėta atstovo Šveicarijoje informacija.
6.0 red.	2026
	Atnaujinta, kad atitiktų GHS klasifikacijas. Atnaujintas skyrius apie paruošimą, kuriame pateiktos instrukcijos, kaip prieš naudojimą filtruoti Kristalinį violetinį tirpalą, jei randamas nuosėdas. Atnaujintas skyrius „Reikalingos specialios medžiagos, kurių nėra“, įtraukiant standartinio laboratorinio filtravimo popieriaus naudojimą pagal paruošimo instrukcijas.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Inicijas „M“ ir „Sigma-Aldrich“ yra „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija arba jos filialų prekės ženklai. Visi kiti prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė. Išsamią informaciją apie prekių ženklus galima rasti viešai prieinamuose ištekliuose.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany arba jos filialai. Visos teisės saugomos.

Merck KGaA (Darmštatas, Vokietija) yra bėsių mokslo įstaiga ir gamintoja, kaip „MilliporeSigma“.

Návod na použitie

Súprava na Gramovo farbenie pre filmy

Súprava na Gramovo farbenie pre tkanivá

Postup č. HT90



Určené použitie

Reagencie na Gramovo farbenie sú určené na rozlíšenie grampozitívnych a gramnegatívnych organizmov vo filmoch a tkanivách. Reagencie na Gramovo farbenie sú určené na „diagnostické použitie in vitro“. Len na odborné použitie. Na základe údajov získaných z tejto príručky sa pomocou kvalitatívneho postupu identifikujú grampozitívne a gramnegatívne organizmy v tkanivových rezoch a náteroch ľudských vzoriek. Tieto údaje sa pri preskúmaní v spojení s ďalšími diagnostickými testami a informáciami môžu použiť ako pomôcka pri diagnostike grampozitívnych a gramnegatívnych bakteriálnych infekcií.

Gramovo farbenie sa klinicky používa na rozlíšenie dvoch odlišných skupín mikroorganizmov. Tie, ktoré si zachovávajú primárne farbivo (kryštalová violeť), sa nazývajú grampozitívne. Tie, ktoré stratia primárne farbivo počas kroku odfarbenia, sa nazývajú gramnegatívne. Mechanizmy, ktorými grampozitívne organizmy zachovávajú primárne farbivo, nie sú známe, avšak s najväčšou pravdepodobnosťou v nich zohrávajú úlohu chemické zloženie a štruktúra bunkových stien.

Postup spoločnosti Sigma-Aldrich je založený na práci Huckera a Conna, ktorá je modifikáciou pôvodného Gramovho postupu z roku 1884. Postup Huckera a Conna využíva roztok kryštalovej violete a oxalátu amónneho, ktorý pomáha pri diferenciácii a je pomerne stabilný.¹

Reagencie

Roztok kryštalovej violete (kat. č. HT901-8FOZ)

Certifikovaná kryštalová violeť, 2,30 %, C.I. 42555, oxalát amónny, 0,1 % a 20 % etylalkohol, SD3A

Gramov jódový roztok (kat. č. HT902-8FOZ)

Jód, 0,33 % a jodid draselný, 0,66 %

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

Vyžaduje sa len pre filmy. Izopropylalkohol, 75 %, a acetón, 25 %

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

Certifikovaný safranín, 0,6 %, C.I. 50240, v 20 % etylalkohole, SD3A

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

Vyžaduje sa len pre tkanivo. Tartrazín, 0,25 %, C.I. 19140, a kyselina octová, 0,25 %

Potrebne špeciálne materiály, ktoré však nie sú súčasťou balenia

- Do každého cyklu treba zahrnúť pozitívne kontrolné sklíčka, TISSUE-TROL™ na Gramovo farbenie (kat. č. TTR005)
- Alkohol, absolútny
- Acetón, trieda ACS
- Xylén alebo náhrada xylénu
- Mikroskop
- Štandardný laboratórny filtračný papier (odporúča sa Whatman č. 1 – ale nie výhradne)

Skladovanie a stabilita

Uchovávajúte pri izbovej teplote (18 – 26 °C). Na etikete reagencie je uvedený dátum expirácie. Použite raz a zlikvidujte.

Príprava

Všetky reagencie sú pripravené na použitie. Ak sa pred použitím v reagentii s kryštalovou violeťou nachádza zrazenina, prefiltrujte ju pomocou štandardného laboratórneho papiera, napr. Whatman č. 1 alebo ekvivalentného.

Bezpečnostné opatrenia

Tieto IVD sú určené na diagnostické použitie in vitro v prostredí klinického laboratória. Tieto IVD sú určené len na profesionálne použitie kvalifikovaným personálom. IVD Sigma-Aldrich môžu obsluhovať laboratórni pracovníci, ktorí sú vyškolení na manipuláciu s ľudskými vzorkami, ktoré môžu byť infekčné, používajú mikroskopy a iné laboratórne vybavenie a majú farebné vnímanie a zrakovú ostrosť na rozlišovanie farieb a iných objektov pod mikroskopom.

Musia sa dodržiavať bežné bezpečnostné opatrenia uplatňované pri manipulácii s laboratórnymi činidlami. Odpad likvidujte v súlade so všetkými miestnymi, štátnymi, provinčnými alebo národnými predpismi.

Kontrolné sklíčka na Gramovo farbenie TISSUE-TROL™ sú preparáty zvieracieho tkaniva zaliateho do parafínu obsahujúce gramnegatívne a grampozitívne baktérie a treba ich považovať za potenciálne infekčné.

Postup

Odber vzorky

Žiadna známa testovacia metóda nemôže poskytnúť úplnú záruku, že vzorky krvi alebo tkaniva neprenesú infekciu. Všetky deriváty krvi alebo vzorky tkaniva by sa preto mali považovať za potenciálne infekčné.

Filmy

Prijateľný je akýkoľvek dobre pripravený, tepelne fixovaný film. Hrúbka filmu ovplyvní čas potrebný na odfarbenie.

Tkanivo

Akýkoľvek dobre fixovaný rez tkaniva zaliaty do parafínu s hrúbkou 5 mikróv.

Poznámky

Dbajte na to, aby nedošlo k nadmernému odfarbeniu sklíčok odfarbovacím roztokom. Aj grampozitívne organizmy sa odfarbia a budú vyzerať červeno, ak sa odfarbovací roztok nechá na sklíčku príliš dlho.³

Postup

Postup pre filmy

- Ponorte film na **1 minútu** do roztoku kryštalovej violete.
- Dôkladne opláchnite deionizovanou vodou.
- Ponorte film na **1 minútu** do Gramovho jódového roztoku.
- Dôkladne opláchnite deionizovanou vodou.
- Ponorte film na maximálne **10 sekúnd** do odfarbovacieho roztoku, kým farba prestane vytekať.
- Dôkladne opláchnite deionizovanou vodou.
- Ponorte film na **1 minútu** do roztoku safranínu O.
- Dôkladne opláchnite deionizovanou vodou.
- Nechajte film vysušiť na vzduchu a mikroskopicky ho preskúmajte.

Postup pre tkanivo²

- Rezy deparafinujte a hydratujte v deionizovanej vode.
- Sklíčka umiestnite na farbiaci stojan a pokryte rezy roztokom kryštalovej violete na **1 minútu**.
- Roztok kryštalovej violete nechajte odtečť a dôkladne opláchnite deionizovanou vodou.
- Nechajte **5 minút** moriť v Gramovom jódovom roztoku.
- Opláchnite deionizovanou vodou a osušte rezy.
- Diferencujte v absolútnom alkohole alebo acetóne.
- Opláchnite deionizovanou vodou.
- Pokryte sklíčka roztokom safranínu O na **30 – 60 sekúnd**.
- Opláchnite deionizovanou vodou a osušte rezy.
- Pokryte rezy roztokom tartrazínu na **5 – 10 sekúnd**.
- Osušte prebytočné farbivo.
- Opláchnite v 2 výmenách v absolútnom alkohole.
- Vyčistite v xyléne a fixujte.

Vlastnosti výkonu

Grampozitívne organizmy	fialová
Gramnegatívne organizmy	červená

Ak sa pozorované výsledky líšia od očakávaných výsledkov, obráťte sa na technický servis spoločnosti Sigma-Aldrich a požiadajte o pomoc.

Vlastnosti analytického výkonu

Výsledky analytického výkonu pre dané testy vykonané na všetkých cieľových štruktúrach potvrdzujú 100 % citlivosť, špecifickosť a opakovateľnosť.

Kat. č.	Opis výrobku	Cieľ	Špecifickosť v rámci testu	Citlivosť v rámci testu	Špecifickosť medzi testami	Citlivosť medzi testami
HT901	Roztok kryštalovej violete	Grampozitívne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Gramnegatívne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT902	Gramov jódový roztok	Grampozitívne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Gramnegatívne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT903	Odfarbovací roztok	Grampozitívne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Gramnegatívne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT904	Roztok safranínu O	Grampozitívne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Gramnegatívne	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT3028	Roztok tartrazínu	Podklad	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3

Výstrahy a nebezpečenstvá

Všetky aktualizované informácie o riziku, nebezpečenstve alebo bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov a na etikete výrobku.

HT90A:



H314 Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.

H336 Môže spôsobiť ospalosť alebo závraty.

H360D Môže spôsobiť poškodenie nenarodeného dieťaťa.

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 rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

P303 + P361 + P353 PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou.

P304 + P340 + P310 PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára.

P305 + P351 + P338 PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

HT90T:

H314 Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.

H360D Môže spôsobiť poškodenie nenarodeného dieťaťa.

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 rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

P303 + P361 + P353 PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou.

P304 + P340 + P310 PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára.

P305 + P351 + P338 PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne závažná nehoda, nahláste ju výrobcovi alebo jeho autorizovanému zástupcovi a štátnemu orgánu.

Definície symbolov

Symbody podľa vymedzenia v norme EN ISO 15223-1:2021

	Výrobca		Katalógové číslo
	Prečítajte si návod na použitie		Kód šarže
	Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve/Európskej únii		Vyhlásenie Európskej únie o zhode (definované v IVDR 2017/746)
	Dátum spotreby		Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro
	Hranica teploty		Upozornenie
	Dátum výroby		Dovozca
	Označuje autorizovaného zástupcu pre Švajčiarsko		

Odkazy

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

Kontaktné informácie

Ak chcete urobiť objednávku, navštívte našu webovú lokalitu na SigmaAldrich.com. Informácie o technickom servise nájdete na stránke technického servisu na našej webovej lokalite na SigmaAldrich.com/techservice.

História revízií

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	<p>Prenesené do novej šablóny s aktuálnou značkou. Špecifikované na profesionálne použitie pri určenom použití a bezpečnostných opatreniach. Revidované určené použitie, aby bolo v súlade s usmerneniami IVDR. Aktualizovanie karty bezpečnostných údajov materiálu na karte bezpečnostných údajov. Aktualizované kontaktné informácie. Odstránený pokyn na dodržiavanie CLSI pre odber vzoriek. Odstránená norma EN 980 a zmenená na normu EN ISO 15223-1:2021 pre symboly. Odstránené zrušené kat. č. G3045 zo časti Potrebne špeciálne materiály, ktoré však nie sú súčasťou balenia. Pridané kontaktné informácie pre nežiaduce udalosti. Pridané upozornenia a nebezpečenstvá. Doplnené informácie o CH-REP.</p>
Rev. 6.0	2026
	<p>Aktualizované v súlade s klasifikáciami GHS. Aktualizovaná časť o príprave s pokynmi na filtrovanie kryštálovej violete pred použitím, ak sa vyskytne zrazenina. Aktualizovaná časť Potrebne špeciálne materiály, ktoré však nie sú súčasťou balenia, aby zahŕňala použitie štandardného laboratórneho filtračného papiera podľa pokynov uvedených v príprave.</p>



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Initial M a Sigma-Aldrich sú ochranné známky spoločnosti Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko alebo jej dcérskych spoločností. Všetky ostatné ochranné známky sú majetkom ich príslušných vlastníkov. Podrobné informácie o ochranných známkach sú k dispozícii prostredníctvom verejne dostupných zdrojov.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko alebo jej affiliate v Spojených štátoch. Všetky práva vyhradené.

Divízia vieť o život: spoločnosť Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko pôsobí ako MilliporeSigma v USA a Kanade.