

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Τα αντιδραστήρια της Χρώσης Gram της Sigma-Aldrich προορίζονται για την διάκριση των θετικών ή αρνητικών κατά Gram οργανισμών σε στρώσεις και ιστούς. Τα αντιδραστήρια της Χρώσης Gram προορίζονται για "In Vitro Διαγνωστική Χρήση."

Η χρώση Gram χρησιμοποιείται κλινικά για την διάκριση σε δύο ξεχωριστές ομάδες μικροοργανισμών. Εκείνοι που διατηρούν την αρχική χρωστική (κρυσταλλικό ιώδες) ονομάζονται θετικοί κατά Gram. Εκείνοι που χάνουν την αρχική χρωστική κατά τη διάρκεια βήματος αποχρωματισμού ονομάζονται αρνητικοί κατά Gram. Οι μηχανισμοί με τους οποίους οι θετικοί κατά Gram οργανισμοί διατηρούν την αρχική χρώση δεν είναι γνωστοί, αν και η χημεία και η δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων παίζουν σίγουρα κάποιο ρόλο.

Αρκετές τροποποιήσεις της αρχικής μεθόδου Gram¹ έχουν αναφερθεί. Η διαδικασία της Sigma-Aldrich βασίζεται στο έργο των Hucker και Conn² που χρησιμοποίησαν διάλυμα οξαλικού αμμωνίου-κρυσταλλικού ιώδους, το οποίο βοηθά την διαφοροποίηση και είναι αρκετά σταθερό.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

ΔΙΑΛΥΜΑ ΙΩΔΟΥΣ ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΥ, Αρ. Καταλόγου HT90-1

Πιστοποιημένο κρυσταλλικό ιώδες 2,3 %, οξαλικό αμμώνιο 0,1 % και αιθυλική αλκοόλη 20 % SD3A (ειδικά μετουσιωμένη αλκοόλη τύπου A, 95 μέρη απόλυτη αλκοόλη και 5 μέρη μεθανόλη).

ΔΙΑΛΥΜΑ ΙΩΔΙΟΥ GRAM, Αρ. Καταλόγου HT90-2

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

ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΠΟΧΡΩΜΑΤΙΣΤΗ, Αρ. Καταλόγου HT90-3

Απαιτείται μόνο για τις στρώσεις.

Ισοπροπυλική αλκοόλη 75 %, και ακετόνη 25 %.

ΔΙΑΛΥΜΑ ΣΑΦΡΑΝΙΝΗΣ Ο, Αρ. Καταλόγου HT90-4

Πιστοποιημένη σαφρανίνη 0,6 % σε αιθυλική αλκοόλη 20 % SD3A (ειδικά μετουσιωμένη αλκοόλη, 95 μέρη απόλυτη αλκοόλη με 5 μέρη μεθανόλη).

ΔΙΑΛΥΜΑ ΤΑΡΤΡΑΖΙΝΗΣ, Αρ. Καταλόγου HT30-2-8

Απαιτείται μόνο για τους ιστούς.

Ταρτραζίνη 0,25 %, και οξικό οξύ 0,25 %.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ:

Φυλάξτε σε θερμοκρασία δωματίου (18-26 °C). Η ετικέτα του αντιδραστήριου φέρει ημερομηνία λήξης. Χρησιμοποιήστε το μια φορά και μετά απορρίψτε το.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ:

Όλα τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα για χρήση.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ:

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνηθισμένες προφυλάξεις που εφαρμόζονται κατά το χειρισμό αντιδραστηρίων στο εργαστήριο. Απορρίψτε τα απόβλητα λαμβάνοντας υπόψη όλους τους τοπικούς, κρατικούς, επαρχιακούς ή εθνικούς κανονισμούς. Ανατρέξτε στο Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού για οποιοδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνου, ατυχήματος ή ασφάλειας.

Οι αντικειμενοφόροι-μάρτυρες TISSUE-TROL για χρώση Gram είναι ζωικοί ιστοί εμφυτευμένοι σε παραφίνη, που περιέχουν θετικά και αρνητικά κατά gram βακτήρια και πρέπει να θεωρούνται ως δυνητικά λοιμώδεις.

Κίνδυνοι και Δηλώσεις Ασφαλείας στις ΗΠΑ

Το Διάλυμα Ιώδους Κρυστάλλου είναι ΕΥΦΛΕΚΤΟ και ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΟ. Ερεθιστικό για το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Κίνδυνος σοβαρής βλάβης στα μάτια. Περιορισμένες ενδείξεις για καρκινογόνες επιπτώσεις. Βλαβερό σε υδρόβιους οργανισμούς, πιθανή αιτία μακροχρόνιων ανεπιθύμητων επιπτώσεων στο υδάτινο περιβάλλον. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό, γάντια και προστασία για τα μάτια/πρόσωπο. Αποφύγετε απελευθέρωση στο περιβάλλον. Ανατρέξτε σε ειδικές οδηγίες/φύλλα δεδομένων ασφαλείας.

Διάλυμα Ιωδίου Gram's. Προσοχή: Η ουσία αυτή δεν έχει δοκιμαστεί ακόμα πλήρως.

Το Διάλυμα Αποχρωματιστή είναι ΕΥΦΛΕΚΤΟ και ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΟ. Πολύ εύφλεκτο. Ερεθιστικό για το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Κίνδυνος σοβαρής βλάβης στα μάτια. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό. Διατηρείτε το δοχείο καλά κλεισμένο σε καλά αεριζόμενο χώρο.

Το Διάλυμα Σαφρανίνης Ο είναι ΕΥΦΛΕΚΤΟ και ΒΛΑΒΕΡΟ. Βλαβερό κατά την εισπνοή, σε επαφή με το δέρμα και αν καταποθεί. Βλαβερό: πιθανός κίνδυνος μη αντιστρεψίμων επιπτώσεων από εισπνοή, επαφή με το δέρμα και κατάποση. Ερεθιστικό για μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό και γάντια. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό).

Η Αλκοόλη Αντιδραστήριου είναι ΕΥΦΛΕΚΤΗ και ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΗ. Ερεθιστική για μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Διατηρείτε το δοχείο καλά κλεισμένο. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό. Όργανα στόχοι: Νεύρα και ήπαρ.

Η Ξυλόλη είναι ΕΥΦΛΕΚΤΗ και ΒΛΑΒΕΡΗ. Πιθανός κίνδυνος μειωμένης γονιμότητας. Ενδέχεται να βλάψει το έμβryo. Είναι επιβλαβής αν την εισπνεύσετε και αν έρθει σε επαφή με το δέρμα. Ερεθιστική για το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Κίνδυνος σοβαρής βλάβης στα μάτια. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό, γάντια και προστασία για τα μάτια/πρόσωπο. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό).

Η ακετόνη είναι ΕΥΦΛΕΚΤΗ και ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΗ. Ερεθιστική για τα μάτια. Η επαναλαμβανόμενη έκθεση ενδεχομένως να προκαλέσει ξηρότητα ή σκάσιμο του δέρματος. Οι ατμοί ενδεχομένως να προκαλέσουν νύστα και ζάλη. Διατηρείτε το δοχείο σε χώρο που αερίζεται καλά. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Όργανα στόχοι: Ήπαρ και νεφρά.

Κίνδυνοι και Δηλώσεις Ασφαλείας στην ΕΕ (Προσοχή: Οι ουσίες αυτές δεν έχουν δοκιμαστεί ακόμα πλήρως)

Το Διάλυμα Κρυσταλλικού Ιώδους είναι ΒΛΑΒΕΡΟ. Εύφλεκτο. Περιορισμένες ενδείξεις για καρκινογόνες επιδράσεις. Βλαβερό σε υδρόβιους οργανισμούς, πιθανή αιτία μακροχρόνιων ανεπιθύμητων επιπτώσεων στο υδάτινο περιβάλλον. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό και γάντια. Αποφύγετε απελευθέρωση στο περιβάλλον. Ανατρέξτε σε ειδικές οδηγίες/φύλλα δεδομένων ασφαλείας.

Διάλυμα Ιωδίου Gram's. Προσοχή: Η ουσία αυτή δεν έχει δοκιμαστεί ακόμα πλήρως.

Το Διάλυμα Αποχρωματιστή είναι ΕΥΦΛΕΚΤΟ και ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΟ. Πολύ εύφλεκτο. Ερεθιστικό για το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Κίνδυνος σοβαρής βλάβης στα μάτια. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό.

Το Διάλυμα Σαφρανίνης Ο είναι ΕΥΦΛΕΚΤΟ. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε.

Η Αλκοόλη Αντιδραστήριου είναι ΠΟΛΥ ΕΥΦΛΕΚΤΗ και ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΗ. Πολύ εύφλεκτη. Ερεθιστική για τα μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Διατηρείτε το δοχείο καλά κλεισμένο. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό.

Η Ξυλόλη είναι ΒΛΑΒΕΡΗ. Εύφλεκτη. Είναι επιβλαβής αν την εισπνεύσετε και αν έρθει σε επαφή με το δέρμα. Ερεθιστική για το δέρμα. Αποφύγετε την επαφή με τα μάτια.

Η ακετόνη είναι ΠΟΛΥ ΕΥΦΛΕΚΤΗ και ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΗ. Πολύ εύφλεκτη. Ερεθιστική για τα μάτια. Η επαναλαμβανόμενη έκθεση ενδεχομένως να προκαλέσει ξηρότητα ή σκάσιμο του δέρματος. Οι ατμοί ενδεχομένως να προκαλέσουν νύστα και ζάλη. Διατηρείτε το δοχείο σε χώρο που αερίζεται καλά. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ:

Συνιστάται η συλλογή δειγμάτων να διεξάγεται σύμφωνα με το έγγραφο M29-A2 του NCCLS. Καμία γνωστή μέθοδος εξέτασης δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ιστού δεν μεταδίδουν λοιμώξεις. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος ή δείγματα ιστών πρέπει να θεωρούνται ενδεχομένως λοιμώδη.

Στρώσεις: Οποιαδήποτε στρώση που έχει παρασκευαστεί σωστά και έχει στερεωθεί θερμικά είναι κατάλληλη. Το πάχος της στρώσης επηρεάζει τον χρόνο που απαιτείται για τον αποχρωματισμό.

Ιστός: Οποιοσδήποτε ιστός σωστά στερεωμένος και έγκλειστος σε παραφίνη σε τομές πάχους 5 μm.

ΕΙΔΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ:

Θετικές αντικειμενοφόροι μάρτυρες πρέπει να συμπεριλαμβάνονται σε κάθε εκτέλεση

ΑΛΚΟΟΛΗ, ΑΠΟΛΥΤΗ
ΑΚΕΤΟΝΗ, ΒΑΘΜΟΥ ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑΣ ACS
ΞΥΛΟΛΗ
Μικροσκόπιο

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:

Να αποφεύγεται ο υπερβολικός αποχρωματισμός των αντικειμενοφόρων με το Διάλυμα Αποχρωματισμού. Κάθε οργανισμός θετικός κατά gram χάνει το χρώμα του και γίνεται κόκκινος, αν το Διάλυμα Αποχρωματισμού μείνει πάνω στην αντικειμενοφόρο υπερβολικά πολλή ώρα.⁴

Τα δεδομένα που λαμβάνονται από τη διαδικασία αυτή εξυπηρετούν μόνο ως βοήθημα στη διάγνωση και πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλες κλινικές διαγνωστικές εξετάσεις ή πληροφορίες.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΓΙΑ ΣΤΡΩΣΕΙΣ:

1. Γεμίστε τη στρώση με Διάλυμα Κρυσταλλικού Ιώδους, Αρ. Καταλόγου HT90-1, επί **1 λεπτό**.
2. Ξεπλύνετε σχολαστικά σε απιονισμένο νερό.
3. Γεμίστε τη στρώση με Διάλυμα Ιωδίου Gram's, Αρ. Καταλόγου HT90-2, επί **1 λεπτό**.
4. Ξεπλύνετε σχολαστικά σε απιονισμένο νερό.
5. Γεμίστε με Διάλυμα Αποχρωματισμού, Αρ. Καταλόγου HT90-3, μέχρι **10 δευτερόλεπτα** έως ότου το χρώμα σταματήσει να ξεβάφει.
6. Ξεπλύνετε σχολαστικά σε απιονισμένο νερό.
7. Γεμίστε τη στρώση με Διάλυμα Σαφρανίνης Ο, Αρ. Καταλόγου HT90-4, επί **1 λεπτό**.
8. Ξεπλύνετε σχολαστικά σε απιονισμένο νερό.
9. Στεγνώστε τις στρώσεις στον αέρα και εξετάστε τις στο μικροσκόπιο.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΓΙΑ ΙΣΤΟ:³

1. Αποπαραφινώστε και ενυδατώστε τις τομές με απιονισμένο νερό.
2. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε στατώ χρώσης και καλύψτε τις τομές με Διάλυμα Κρυσταλλικού Ιώδους, Αρ. Καταλόγου HT90-1, επί **1 λεπτό**.
3. Στραγγίξτε το Διάλυμα Κρυσταλλικού Ιώδους και ξεπλύνετε σχολαστικά με απιονισμένο νερό.
4. Δημιουργήστε πρόστυμμα με Διάλυμα Ιωδίου Gram's, Αρ. Καταλόγου HT90-2, επί **5 λεπτά**.
5. Ξεπλύνετε με απιονισμένο νερό και στυπώστε τις τομές.
6. Διαφοροποιήστε σε απόλυτη αλκοόλη ή ακετόνη.
7. Ξεπλύνετε σε απιονισμένο νερό.
8. Καλύψτε τις αντικειμενοφόρους με Διάλυμα Σαφρανίνης Ο, Αρ. Καταλόγου HT90-4, επί **30-60 δευτερόλεπτα**.
9. Ξεπλύνετε με απιονισμένο νερό και στυπώστε τις τομές.
10. Καλύψτε τις τομές με Διάλυμα Ταρτραζίνης, Αρ. Καταλόγου HT30-2, επί **5-10 δευτερόλεπτα**.
11. Στυπώστε την περίσσεια χρωστικής.
12. Ξεπλύνετε σε 2 αλλαγές απόλυτης αλκοόλης.
13. Διαιυγάστε σε ξυλόλη και στερεώστε τις τομές.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Οργανισμοί θετικοί κατά Gram – Μωβ

Οργανισμοί αρνητικοί Gram – Κόκκινο



Αν τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν αποκλίνουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την Τεχνική Εξυπηρέτηση της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Gram C: Ueber die isolierte färbung der schizomyceten in schnitt und trockenpräparaten. Fortschr Med 2:185, 1884
2. Hucker GJ, Conn HJ: Further studies on the methods of Gram staining. NY Agric Exp Stn Tech Bull No. 128, 1927
3. Histopathological Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., RD Lillie, Editor. McGraw-Hill, New York, 1965, pp 565-567
4. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition, Sheehan DC and Hrapchak BB, Battelle Press, Columbus (OH), 1980 p 234

Η Sigma-Aldrich, Inc. εγγυάται ότι τα προϊόντα της συμμορφώνονται με τις πληροφορίες που περιέχονται σε αυτή και σε άλλες εκδόσεις της Sigma-Aldrich. Ο αγοραστής πρέπει να καθορίζει την καταλληλότητα του(ων) προϊόντος(ων) για τη συγκεκριμένη χρήση τους. Πιθανόν να ισχύουν πρόσθετοι όροι και συνθήκες. Βλ. αντίστροφη πλευρά του τιμολογίου ή της ταινίας συσκευασίας για επιπλέον όρους και συνθήκες πώλησης.

Αρ. Διαδικασίας HT90
Προηγούμενη αναθεώρηση: 2003-09
Αναθεωρημένη: 2005-01

  AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham TW20 9BD United Kingdom

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765
Τεχνική υπηρεσία: χρωστική κλήση +1 314 771 3122
ή e-mail στο clintech@sial.com
Για παραγγελία: χρωστική κλήση +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Germany 49-7329-970