

Gebrauchsinformation

Gram-Färbeset

zur Differenzierung grampositiver und gramnegativer Bakterien

In-vitro-Diagnostikum

Artikel-Nr. **MD2503**

4 x 100 ml (Reagenz 1 – 4)

Hersteller:

Kallies Feinchemie AG
Höhenweg 9
D-01855 Sebnitz

Vertrieb:

Aurosan GmbH
Frankenstr. 231
D-45134 Essen

Zusammensetzung

Reagenz 1:

Kristallviolett-Lösung

Kristallviolett	10 g
Phenol	4 g
Ethanol	11 Vol.-%
Aqua dest.	ad 1000 ml

Reagenz 2:

Lugolsche Lösung

Jod	3,3 g
Kaliumiodid	6,7 g
Aqua dest.	ad 1000 ml
PVP	28 g ad 1000 ml

Reagenz 3:

Entfärbelösung

Ethanol	80 Vol.-%
Aceton	20 Vol.-%

Reagenz 4:

Safranin-Lösung

Safranin	2,4 g
Ethanol	11 Vol.-%
Aqua dest.	ad 1000 ml

Prinzip

Die unterschiedliche Anfärbung grampositiver und gramnegativer Bakterien ist eng korreliert mit der unterschiedlichen Struktur der Zellwände der genannten Bakteriengruppen. Durch die Färbung mit Kristallviolett und die anschließende Beizung mit Lugolscher Lösung entsteht in der Zelle ein Farbstoff-Jod-Komplex, der bei grampositiven Bakterien unter der Einwirkung des Entfärbemittels (Alkohol, Aceton) infolge verminderter Zellwandpermeabilität in der Zelle festgehalten wird. Deshalb behalten grampositive Mikroorganismen die violette Färbung bei. Bei den gramnegativen Bakterien diffundiert der Farbstoff-Jod-Komplex unter Einwirkung des Entfärbemittels durch die Zellwand nach außen. Bei der nachfolgenden Gegenfärbung mit Safranin nehmen die gramnegativen Keime diesen Farbstoff auf und erscheinen jetzt rosa bis rot.

Durchführung

1. Das Untersuchungsmaterial mit ausgeglühter Öse auf einen fettfreien Objektträger austragen und mit 1 bis 2 Tropfen physiologischer NaCl-Lösung verreiben und ausstreichen.
2. Nach Lufttrocknung des Ausstriches Hitzefixierung vornehmen, indem man den Objektträger mit der Unterseite dreimal langsam durch den oberen Teil der Bunsenbrennerflamme zieht. Danach erkalten lassen.
3. Den Objektträger vollkommen mit Reagenz 1 (Kristallviolett-Lösung) bedecken, 60 Sekunden färben.
4. Abgießen und mit Reagenz 2 (Lugolsche Lösung) abspülen.
5. Objektträger vollständig mit Reagenz 2 (Lugolsche Lösung) bedecken, 60 Sekunden einwirken lassen.
6. Mit Wasser etwa 5 Sekunden vorsichtig abspülen.
7. Objektträger in Reagenz 3 (Entfärbelösung) etwa 20-60 Sekunden schwenken (oder mit der Lösung spülen), bis keine Farbwolken mehr abgehen und der Ausstrich grau-blau erscheint.
8. Mit Wasser 5 Sekunden vorsichtig abspülen.
9. Objektträger vollständig mit Reagenz 4 (Safranin-Lösung) bedecken, 60 Sekunden färben, abgießen.
10. Mit Wasser etwa 5 Sekunden vorsichtig abspülen.
11. Trocknen lassen, mikroskopieren.

Auswertung

Grampositive Mikroorganismen erscheinen violett, gramnegative Mikroorganismen rosa bis rot.

Lagerung

Die Entfärbelösung ist leicht entzündlich und deshalb ausreichend gesichert zu lagern (Behälter dicht geschlossen halten, von Zündquellen fernhalten).



H:225,226,412,400,332
P: 273,210,403,243,271

Die Lagerung kann bei Raumtemperatur erfolgen. Die Packungen müssen vor direkter Sonneneinstrahlung bzw. Wärme geschützt sein.

Stand: 2016-08



Verwendbar bis



Bitte Packungsbeilage beachten



Chargenbezeichnung



Dieses Produkt entspricht der Richtlinie 98/79/EG vom 27.10.1998 (IVD-Richtlinie)



In-Vitro-Diagnostikum



Materialnummer



Vorsicht Glas