

BEOOGD GEBRUIK

Voor gebruik in de Gram-kleuringsmethode voor de eerste differentiatie van Gram-positieve en Gram-negatieve bacteriën.

SAMENVATTING EN VERKLARING

De Gram-kleuring werd in 1884 oorspronkelijk ontwikkeld door Christian Gram. De standaard Gram-kleuringsmethode kan worden gebruikt voor het differentiëren van intacte, morfologisch soortgelijke bacteriën in twee groepen. Dit is gebaseerd op celwandkleur na toepassing van de kleuringsmethode. Daarnaast zijn celvorm, formaat en structurele bijzonderheden evident. Deze voorbereidende informatie kan eerste aanwijzingen geven m.b.t. het aanwezige type organisme(n).

PRINCIPE

In de protoplast van alle organismen die met behulp van de bovengenoemde procedure zijn gekleurd vormt zich een kristalviolet-joodcomplex. Na ontkleuring worden de organismen die dit kleurcomplex kunnen vasthouden geïdentificeerd als Gram-positief. Die organismen die ontkleurd zijn en de tegenkleuring opnemen worden geïdentificeerd als Gram-negatief.

Na verstoring of verwijdering van de celwand, kan de protoplast van zowel Gram-positieve als Gram-negatieve cellen worden ontkleurd en daardoor gaat de Gram-negatieve eigenschap verloren. Het mechanisme van de Gram-kleuring schijnt daarom verband te houden met de aanwezigheid van een intacte celwand om als barrière te dienen voor ontcleuring van de primaire kleuring. Over het algemeen is de celwand niet-selectief doordringbaar. Men gaat ervan uit dat tijdens de Gram-kleuringsprocedure, de celwand van Gram-positieve cellen wordt gedehydrateerd door de alcohol in het ontcleuringsmiddel en doordringbaarheid verliest, vandaar dat het de primaire kleuring vasthoudt. In het geval van de celwand van de Gram-negatieve cellen, wordt de celwand als gevolg van een hoger lipidegehalte na behandeling met alcohol meer doordringbaar, vandaar dat de primaire kleuring verloren gaat, zodat de latere tegenkleuring kan worden opgenomen.

REAGENTIA
Gebruiksklare kleuringen .

PL.7000	Kristalviolet	500 ml
PL.7001	Kristalviolet	1 liter
PL.7002	Kristalviolet	2 liter
PL.7000/25	Kristalviolet	250 ml.
PL.7003	Grams jood	500 ml
PL.7004	Grams jood	1 liter
PL.7005	Grams jood	2 liter
PL.7003/25	Grams jood	250 ml
PL.7006	Grams differentiator	500 ml
PL.7007	Grams differentiator	1 liter
PL.7008	Grams differentiator	2 liter
PL.7006/25	Grams differentiator	250 ml
PL.7009	Neutraal rood	500 ml
PL.7010	Neutraal rood	1 liter
PL.7011	Neutraal rood	2 liter
PL.7009/25	Neutraal rood	250 ml
PL.7012	Safranine	500 ml
PL.7013	Safranine	1 liter
PL.7014	Safranine	2 liter

PL.7012/25	Safranine	250 ml
PL.7015	Verdunde carbolfuchsiene	500 ml
PL.7016	Verdunde carbolfuchsiene	1 liter
PL.7017	Verdunde carbolfuchsiene	2 liter
PL.7015/25	Verdunde carbolfuchsiene	250 ml
PL.7052	Lugols jodium	500 ml
PL.7053	Lugols jodium	1 liter
PL.7053-2	Lugols jodium	2 liter
PL.7056	Joodaceton	500 ml
PL.7057	Joodaceton	1 liter
PL.7058	Joodaceton	2 liter
PL.7101	Basische fuchsiene / Neutraal rood	500 ml
PL.7102	Basische fuchsiene / Neutraal rood	1 liter
PL.7103	Basische fuchsiene / Neutraal rood	2 liter
PL.7073	C.Violet - Ammoniumoxalaat	500 ml
PL.7074	C.Violet - Ammoniumoxalaat	1 liter
PL.7075	C.Violet - Ammoniumoxalaat	2 liter
PL.7110	Sandiford-kleuring	500 ml
PL.7111	Sandiford-kleuring	1 liter
PL.7112	Sandiford-kleuring	2 liter
PL.7113	Methylviolet	500 ml
PL.7114	Methylviolet	1 liter
PL.7115	Methylviolet	2 liter
PL.7116	Safranine / Neutraal rood	500 ml
PL.7117	Safranine / Neutraal rood	1 liter
PL.7118	Safranine / Neutraal rood	2 liter
PL.7206	Grams-differentiator (Aceton)	500 ml
PL.7207	Grams-differentiator (Aceton)	1 liter
PL.7208	Grams-differentiator (Aceton)	2 liter
PL.7306	Grams-differentiator (IMS)	500 ml
PL.7307	Grams-differentiator (IMS)	1 liter
PL.7308	Grams-differentiator (IMS)	2 liter

Geconcentreerde kleuringen. Verdun vóór gebruik met gedestilleerd water tot 1 liter.

PL.8000	Kristalviolet	100 ml
PL.8001	Grams jood	100 ml
PL.8002	Neutraal rood	100 ml
PL.8003	Safranine	100 ml
PL.8004	Verdunde carbolfuchsiene	100 ml
PL.8010	Lugols jood	100 ml
PL.8011	Methylviolet	100 ml

Geconcentreerde kleuringen. Verdun vóór gebruik met gedestilleerd water tot 4 liter.

PL.8000-4.0	Kristalviolet	400 ml
PL.8001-4.0	Grams jood	400 ml
PL.8002-4.0	Neutraal rood	400 ml
PL.8003-4.0	Safranine	400 ml
PL.8004-4.0	Verdunde carbolfuchsiene	400 ml
PL.8010-4.0	Lugols jood	400 ml
PL.8011-4.0	Methylviolet	400 ml

Geconcentreerde kleuringen. Verdun vóór gebruik met gedestilleerd water tot 5 liter.

PL.8000-5.0	Kristalviolet	500 ml
PL.8001-5.0	Grams jood	500 ml
PL.8002-5.0	Neutraal rood	500 ml
PL.8003-5.0	Safranine	500 ml

PL.8004-5.0	Verdunde carbolfuchsiene	500 ml
PL.8010-5.0	Lugols jood	500 ml
PL.8011-5.0	Methylviolet	500 ml

Kleuringssets (Klaar voor gebruik)

PL.8055/25	Gram-kleuringsset – kristalviolet 250 ml, Grams jood 250 ml, Grams differentiator 250 ml, safranine 250 ml.
PL.8056/25	Gram-kleuringsset – kristalviolet 250 ml, Grams jood 250 ml, Grams differentiator 250 ml, Neutraal rood 250 ml.
PL.8057/25	Gram-kleuringsset – kristalviolet 250 ml, Grams jood 250 ml, Grams differentiator 250 ml, verdunde carbolfuchsiene 250 ml.

Immersie-olie (Verminderd gevaar -vrij van DBP)

PL.396	Immersie-olie.	50 ml
--------	----------------	-------

VEILIGHEIDSVORZORGEN

1. Gram-kleuringen van PRO-LAB Diagnostics worden aangeboden als een *in vitro* materiaal en zijn absoluut niet bedoeld voor een genezend of profylactisch doel.
2. Tijdens en na gebruik alle materialen hanteren op een wijze die voldoet aan goede laboratoriumpraktijken en men mag nooit vergeten dat getestmateriaal gezien moet worden als een mogelijk biologisch gevaar.
3. Het hulpmiddel vormt geen gevaar voor het milieu buiten de gevaren die de met het hulpmiddel gebruikte klinische monsters vormen. Men dient veiligheidsvoorzorgen te treffen voor het hanteren, verwerken en weggoeien van alle klinische monsters daar er een pathogeen organisme aanwezig kan zijn. Gevolgen voor het milieu bestaan en worden adequaat aangepakt door middel van correcte verwijdering.

STABILITEIT EN OPSLAG

Kamertemperatuur. Uit de buurt van ontstekingsbronnen. Uit direct zonlicht. Indien bewaard onder deze condities kunnen reagentia worden gebruikt tot aan de uiterste gebruiksdatum op het label.

MONSTERAFNAME EN PREPARATIE VAN KWEKEN

Raadpleeg een standaard microbiologietekst.

BENODIGDE MAAR NIET GELEVERDE MATERIALEN

Schone objectglaasjes, steriele lus, vlam / hete lucht, kleuringsrek, leidingwater, immersie-olie, microscoop, vloeipapier of soortgelijke vervanging.

PROCEDURE

1. Prepareer een dun, uniform uitstrijkje van monster en laat aan de lucht drogen.
2. Fixeer door verhitting en laat afkoelen.
3. Bevloei het objectglaasje met kristalviolet of methylviolet en laat 1 minuut staan. Spoel met water.
4. Bevloei het objectglaasje met Grams of Lugols jodium, laat 1 minuut staan. Spoelen met water.
5. Ontkleur gedurende ongeveer 10 seconden voorzichtig met differentiator of joodaceton gedurende 1 minuut. Spoel met water.
6. Bevloei het objectglaasje met tegenkleuring, laat gedurende 30 – 60

- seconden staan.
7. Spoel goed met water, dep voorzichtig droog.
 8. Bekijk met behulp van olie-immersiemicroscopie.

KWALITEITSCONTROLE

De ouderdom van de kweken en de pH van het middel waarin de bacteriën worden gekweekt kunnen een duidelijke invloed hebben op hun reactie op de Gram-kleuring. Gebruik verse kweken van maximaal 24 uur oud.

Aanbevolen kweken voor kwaliteitscontrole;

- *Escherichia coli* NCTC 10418 (Roze tot rode Gram-negatieve bacillen)
- Oxford *Staphylococcus aureus* NCTC 6571 (Blauwe tot paarse Gram-positieve kokken)
- Haemolytic *Streptococcus* Groep A NCTC 8198 (Blauwe tot paarse Gram-positieve kokken)

INTERPRETATIE VAN RESULTATEN





Gram-positieve organismen – blauw tot paars.
Gram-negatieve organismen – roze tot rood.

BEPERKINGEN

1. Men kan foute Gram-negatieve en Gram-positieve kleuringsresultaten zien als gevolg van celdetritus dat wordt gekleurd door de techniek. Bijv. – De nucleus en het protoplasma van witte bloedcellen en epitheliale cellen worden gekleurd met tegenkleuring. Vast deeltjesmateriaal kan ook worden gekleurd door middel van het kristalviolet.
2. De Gram-kleuring biedt alleen voorbereidende identificatie-informatie en vormt geen vervanging voor monsterkweek.

REFERENTIES

1. Manual of Clinical Microbiology, Lennette.
2. The Practice of Medical Microbiology. 12th Edition. V2. R. Cruickshank, J. P. Duguid, B. P. Marmion, R.H.A. Swain.

	= Fabrikant
	= In vitro diagnostische medische test
	= Temperatuurbepending
	= Raadpleeg de instructies voor gebruik

Deze gebruiksaanwijzing werd professioneel vertaald op basis van de originele Engelse versie. Neem contact op met Pro-Lab als de tekst niet eenduidig is of als u discrepanties vaststelt.