

AxonGram



Reagenzien zur Gramfärbung
Réactifs selon la coloration de gram
Reagents according to the coloration of gram

Packungsprospekt
Prospectus d'emballage
Package insert

R1	500 ml	REF	AL0100
R2	500 ml	REF	AL0101
R3	500 ml	REF	AL0102
R4	500 ml	REF	AL0103

In vitro diagnosticum
Usage in vitro
For in vitro diagnostic use



Verwendungszweck

Die Reagenzien sind für die Gram-Färbung von Bakterien und Pilzen bestimmt.

Testprinzip

Das Kristallviolett-Oxalat **R1** färbt die Zellwände violett. Mit Lugol **R2** wird das Kristallviolett fixiert und mit dem Aceton-Ethanolgemisch **R3** werden die gram-negativen Keime entfärbt. Das Fuchsin **R4** dient als Gegenfärbemittel (gram-negative Keime erscheinen rot und gram-positive Keime bleiben violett).

Reagenzien/Zusammensetzung



Kristallviolettlösung

REF AL0100	R1 Entzündlich Schädlich für Wasserorganismen, kann in Gewässern langfristig schädliche Wirkung haben	500 ml	Kristallviolett 2% Ammoniumoxalat 0.8% Ethanol 16% demineralisiertes Wasser ad 500 ml
---------------	--	--------	---

Lugollösung

REF AL0101	R2	500 ml	Jod 1.3% Kaliumjodid 2% Polyvinylpyrrolidon 5% demineralisiertes Wasser ad 500 ml
---------------	-----------	--------	---

Entfärbelösung

REF AL0102	R3  F Leichtentzündlich Von Zündquellen fernhalten – Nicht rauchen  Xi Reizend Reizt die Augen	500 ml	Aceton 25% Ethanol 75%
---------------	--	--------	---------------------------

Fuchsinlösung

REF AL0103	R4	500 ml	Fuchsin basisch 0.1% demineralisiertes Wasser ad 500 ml
---------------	-----------	--------	---

Haltbarkeit

Die Reagenzien sind bei 15 bis 25°C bis zu dem auf den Etiketten angegebenen Verfalldatum stabil. Dies gilt auch nach Anbruch.

Untersuchungsmaterial / Probenmaterial

Es können sowohl bakteriologische Proben wie auch angezüchtete Mikroorganismen verwendet werden.

Testdurchführung

1. Das Untersuchungsmaterial wird auf einem sauberen Objektträger aufgetragen.
2. Trocknen lassen.
3. Hitze fixieren.
4. Färbung :
 - Das Präparat mit Kristallviolettlösung **R1** eine Minute überschichten.
 - Vorsichtig mit Wasser spülen.
 - Mit Lugollösung **R2** überschichten, abgiessen und erneut mit Lugollösung **R2** überschichten und eine Minute einwirken lassen.
 - Vorsichtig mit Wasser spülen und mit Entfärbelösung **R3** gut entfärben.
 - Vorsichtig mit Wasser spülen und mit Fuchsinlösung **R4** eine Minute überschichten und anschliessend mit Wasser vorsichtig spülen und trocknen lassen.
5. Ablesung und Interpretation unter dem Mikroskop (Oelimmersion mit 1000facher Vergrößerung).

Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrolle wird mit folgenden Referenzstämmen empfohlen:

Escherichia coli	ATCC 25922	gram-negative Stäbchen: rote Färbung
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	gram-positive Kokken: violette Färbung

Limitierungen/Interferenzen

Die Gramfärbung sollte mit frischen Kulturen (24 bis 48 h) durchgeführt werden. Ältere Kulturen entfärben sich leichter. Im Fall von Antibiotikatherapien entfärben sich gram-positive Keime sehr rasch.

Leistungsmerkmale

In einer externen Studie wurden mit 150 gram-positiven und gram-negativen Keimen, Hefen und Schimmelpilzen die Leistungsdaten ermittelt. Alle gram-positiven wie auch gram-negativen Keime wurden einwandfrei identifiziert.

Entsorgung Abfälle

Es liegt in der Verantwortung des Labors, die jeweiligen gesetzlichen nationalen Vorschriften bei der Entsorgung des Untersuchungsmaterials und der Reagenzien (siehe Sicherheitsdatenblätter) zu beachten.

Literatur

Burkhardt F., Färbeverfahren. In: Burkhardt F. Hrsg. Mikrobiologische Diagnostik. Stuttgart: Thieme, 1992: 680-681

Utilisation

Ces réactifs sont destinés à la coloration Gram des bactéries et des champignons.

Principe du test

Le cristal violet oxalaté **R1** teint la paroi des cellules en violet. Le cristal violet est fixé avec le lugol **R2** et les germes à Gram négatif sont décolorés par une solution d'acétone et d'éthanol **R3**. La fuchsine **R4** sert de colorant de contraste (les germes à Gram négatif apparaissent en rouge et les germes à Gram positif restent violets).

Réactifs/Composition



Solution de cristal violet

REF AL0100	R1 Inflammable Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner à long terme des troubles dans le milieu aquatique	500 ml	Cristal violet 2% Oxalate d'ammonium 0.8% Ethanol 16% Eau déminéralisée ad 500 ml
---------------	--	--------	--

Solution de lugol

REF AL0101	R2	500 ml	Iode 1.3 % Iodure de potassium 2% Polyvinyl-pyrrolidone 5% Eau déminéralisée ad 500 ml
---------------	-----------	--------	---

Décolorant

REF AL0102	R3  F Facilement inflammable Conservé à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer  Xi Irritant Irritant pour les yeux	500 ml	Acétone 25 % Ethanol 75 %
---------------	--	--------	------------------------------

Solution de fuchsine

REF AL0103	R4	500 ml	Fuchsine basique 0.1% Eau déminéralisée ad 500 ml
---------------	-----------	--------	--

Stabilité

Les flacons se conservent entre 15 et 25°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur les étiquettes, même après ouverture des flacons.

Prélèvements / Echantillons

Utilisation d'échantillons bactériologiques ou de souches isolées en culture.

Mode opératoire du test

1. Etaler l'échantillon sur une lame propre.
2. Laisser sécher.
3. Fixer à la chaleur.
4. Coloration:
 - Couvrir la préparation pendant 1 minute d'une solution de cristal violet **R1**.
 - Rincer délicatement à l'eau.
 - Couvrir avec une solution de lugol **R2**, égoutter et recouvrir d'une nouvelle couche de lugol **R2** puis laisser agir une minute.
 - Rincer délicatement à l'eau et décolorer soigneusement à l'aide du décolorant **R3**.
 - Rincer délicatement à l'eau et recouvrir de fuchsine **R4** pendant une minute; ensuite rincer délicatement à l'eau et laisser sécher.
5. Lecture et interprétation au microscope (objectif à immersion d'huile, agrandissement x1000).

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'effectuer le contrôle de qualité avec les souches suivantes:

Escherichia coli	ATCC 25922	Bacilles à Gram négatif: coloration rouge
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	Coques à Gram positif: Coloration violette

Limitations/Interférences

La coloration Gram doit être réalisée avec des souches fraîches (24 à 48 h). Des souches anciennes se décolorent plus facilement. En cas de thérapie associant des antibiotiques, la décoloration des germes à Gram positif est très rapide.

Caractéristiques des performances

Une étude externe a démontré que les résultats sont fiables pour 150 germes à Gram positif et négatif, les levures et les moisissures. Tous les germes à Gram positif et négatif ont été identifiés correctement.

Elimination des déchets

Le laboratoire assume la responsabilité pour l'élimination du matériel d'analyse et des réactifs conformément aux réglementations nationales en vigueur (voir fiches de données de sécurité).

Références

Burkhardt F., Färbefahren. In: Burkhardt F. Hrsg. Mikrobiologische Diagnostik. Stuttgart: Thieme, 1992: 680-681.

Intended use

The reagents are intended for Gram's staining of bacteria and fungi.

Test principle

The crystal violet oxalate **R1** stains the cell walls violet. The crystal violet is fixed with Lugol's solution **R2** and the gram-negative germs are decolorized with the acetone ethanol mixture **R3**. The fuchsin solution **R4** serves as the counterstaining agent (gram-negative germs appear red and gram-positive germs remain violet).

Reagents/Composition



Crystal violet solution

REF AL0100	Flammable Harmful to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment	500 ml	Crystal violet 2% Ammonium oxalate 0.8% Ethanol 16% Demineralized water ad 500 ml
---------------	--	--------	--

Lugol's solution

REF AL0101	R2	500 ml	Iodine 1.3% Potassium iodide 2% Polyvinylpyrrolidone 5% Demineralized water ad 500 ml
---------------	-----------	--------	--

Decolorizing solution

REF AL0102	R3  F Highly flammable Keep away from sources of ignition – No smoking  Xi Irritant Irritating to eyes	500 ml	Acetone 25% Ethanol 75%
---------------	---	--------	----------------------------

Fuchsin solution

REF AL0103	R4	500 ml	Basic Fuchsin 0.1% Demineralized water ad 500 ml
---------------	-----------	--------	---

Stability

At 15 to 25°C, the reagents are stable until the expiration date mentioned on the labels, even after opening of the vials.

Analysis material/Sample material

Both bacteriological samples and cultivated micro-organisms can be used.

How to perform the test

1. Apply the analysis material on a clean slide.
2. Let it dry.
3. Fix with heat.
4. Staining:
 - Cover the preparation with a layer of crystal violet solution **R1** for one minute.
 - Carefully rinse with water.
 - Cover with a layer of Lugol solution **R2**, let drip and cover again with Lugol solution **R2**, then let absorb for one minute.
 - Carefully rinse with water and decolorize thoroughly with decolorizing solution **R3**.
 - Carefully rinse with water and cover with a layer of fuchsin solution **R4** for one minute. Then carefully rinse with water and let dry.
5. Reading and interpretation under the microscope (oil immersion with 1,000x magnification).

Quality control

Quality control is recommended with the following reference strains:

Escherichia coli	ATCC 25922	Gram-negative rods: red coloring
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	Gram-positive cocci: violet coloring

Limitations/Interferences

The Gram's stain should be performed with fresh cultures (24 to 48 h). Older cultures decolorize more easily. In case of antibiotic therapies, gram-positive germs decolorize very rapidly.

Performance characteristics

In an external study, performance data were ascertained with 150 gram-positive and gram-negative germs, yeasts and molds. All gram-positive and gram-negative germs were precisely and thoroughly identified.

Waste disposal

It is the laboratory's responsibility to comply with the respective national regulatory requirements when disposing of the analysis material and the reagents (see Material Safety Data Sheets).

References

Burkhardt F., Färbeverfahren. In: Burkhardt F. Hrsg. Mikrobiologische Diagnostik. Stuttgart: Thieme, 1992: 680-681.

Schweiz

Axon Lab AG
Täferenstrasse 15
CH-5405 Baden
Tel. +41 (0)56 484 80 80
Fax +41 (0)56 484 80 99
info@axonlab.ch • www.axonlab.ch

Suisse

Axon Lab SA
En Budron E9
CH-1052 Le Mont-sur-Lausanne
Tel. +41 (0)21 651 71 50
Fax +41 (0)21 651 71 59
info_f@axonlab.ch










Deutschland

Axon Lab AG
Heinrich.Otto-Strasse 1
D-73262 Reichenbach/Stuttgart
Tel. +49 (0)7153 9226-0
Fax +49 (0)7153 9226-26
info@axonlab.de • www.axonlab.de

Österreich

Axon Lab AG
Hafenstrasse 47-51
A-4020 Linz
Tel. +43 (0)732 901 561 00
Fax +43 (0)732 901 561 19
info@axonlab.at • www.axonlab.at

Abkürzungen/Abréviations/Abbreviations/Symbole/Symboles/Symbols

Symbol/Symbole	Bedeutung/Signification
	Bestellnummer Numéro d'article Catalogue number
	In-vitro Diagnostika (In vitro diagnosticum) Usage in vitro For in vitro diagnostic use
	Hersteller Fabricant Manufacturer
	Lagertemperatur Températures de conservation Storage temperature
	Verwendbar bis Date de péremption Use before
	Chargenbezeichnung Numéro du lot Lot number
	Gebrauchsanweisung beachten Consulter le mode d'emploi Consult the package insert before use
	Gefahrensymbol (z.B. Xi) Symbole de risque (p.e. Xi) Risk symbol (e.g. Xi)
	CE-Kennzeichnung CE marquage CE marking