

Färbekit: GRAM-Färbung für die Mikrobiologie

REF 11080

siehe

Verwendungszweck:

Färben von Bakterien / Gewebeproben

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0



Verwendungszweck

Die **Gram-Färbung** ist eine Methode, um Bakterien-Spezies in zwei große Gruppen zu unterteilen: *grampositive* und *gramnegative*. Die unterschiedliche Färbbarkeit der Bakterien basiert auf den chemischen und physikalischen Eigenschaften ihrer Zellwände. Die Gram-Färbung ist ein wertvolles Diagnostik-Werkzeug sowohl in der medizinischen wie auch in der naturwissenschaftlichen Mikrobiologie.

Das Färbekit zur Gramfärbung ist ausschließlich für die professionelle Anwendung im mikrobiologischen und histologischen Labor vorgesehen.

Prinzip

Anilin-Farbstoffe bilden mit Jod Farb-Komplexe. Diese Farbstoffkomplexe können mit Alkohol aus bakteriellen Zellwänden mit einer Schicht Peptidoglykan (Murein) herausgelöst werden, man spricht dann von gramnegativen Mikroorganismen.

Enthält die Zellwand eines Bakteriums hingegen mehrere Schichten Peptidoglykan, so kann der Farbstoffkomplex nicht mehr aus der Zellwand gelöst werden, man spricht von grampositiven Mikroorganismen.

Reagenz

Wirksame Bestandteile

1000 ml Kristallviolett nach Hucker (CAS-Nr.:)
1000 ml Lugol'sche-Lösung stabilisiert mit PVP (CAS-Nr.:)
1000 ml Safranin für Gram-Färbung (CAS-Nr.:)
1000 ml Entfärbelösung nach Gram (CAS-Nr.:)

Besondere Hinweise

Bereits geöffnete Flaschen müssen stets fest verschlossen aufbewahrt werden.

Haltbarkeit: bis zum angegebenen Verfallsdatum.

Entsorgung: Die Lösung ist nach dem angegebenen Verfallsdatum als chemischer Sondermüll zu behandeln und unter Einhaltung der lokalen Vorschriften sachgemäß zu entsorgen. Weitere Hinweise sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Leistungsmerkmale

Erwartete Ergebnisse Lichtmikroskopie:

Grampositive Mikroorganismen: blauviolett
Gramnegative Mikroorganismen: rosa bis rot

Vorbereitung und Vorsichtsmaßnahmen

Prüfung:

Die Kontrolle des Färbekits kann mit bekannten Referenzproben (Bakterien) durchgeführt werden. Die Proben sollten auf Nährböden 18-24 Stunden bebrütet werden. Für Prüfung der grampositiven Färbung empfiehlt sich ein Staphylokokken-Stamm und für die gramnegative Färbung ein Escherichia Coli-Stamm.

Vorsichtsmaßnahmen:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten die üblichen Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden. Es sollte nur eingewiesenes Fachpersonal mit den Laborreagenzien arbeiten. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen zu diesem Produkt sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Infektionsschutz:

Im Umgang mit den Abstrichpräparaten ist auf wirksamen Infektionsschutz gem. der Laborrichtlinien zu achten.

Probennahme:

Die Entnahme von Proben erfolgt nach den üblichen Vorgehensweisen. Das Untersuchungsmaterial, z.B. Körperflüssigkeiten oder Koloniematerial, wird mit einer ausgeglühten Öse auf einen fettfreien Objektträger (OT) aufgetragen. Nach dem das aufgebrachte Material an der Luft getrocknet ist, erfolgt die Fixierung mittels Hitze. Der Objektträger, mit der Ausstrichseite nach oben haltend, wird dreimal langsam durch den oberen Teil der Bunsenbrennerflamme gezogen.

Hinweise zur Durchführung:

Die Färbung ist von Fachpersonal durchzuführen, und es ist zu gewährleisten, dass alle Proben nach dem Stand der Technik behandelt werden. Die visuelle Auswertung sollte nur von geeigneten und geschultem Personal durchgeführt werden. Diagnosen dürfen nur von autorisierten Personen erstellt werden. Wir empfehlen das Ergebnis mit anderen Methoden/Untersuchungen zu bestätigen.

Empfehlung:

Eventuell auftretende Niederschläge oder Ausfällungen bei häufiger Anwendung können durch Filtration über übliche Faltenfilter beseitigt werden.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Reagenzien und Materialien

Zur vollständigen Durchführung der Färbung werden folgende Reagenzien benötigt:

- Ethanol 96% vergällt, Artikel-Nr.: 11470
- Trockenschrank
- Eindeckmittel

Verwendungszweck:

Färben von Bakterien / Gewebeproben

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0



Verfahren

Die Gram-Färbung wird üblicherweise manuell durch Auftropfen der Färbelösung durchgeführt. Je nach Probenaufkommen und Laborroutine kann die Färbung auch in Färbeküvetten oder in einem Färbeautomaten durchgeführt werden. Die Entscheidung drüber, in welcher Art die Färbung durchzuführen ist, trifft die Laborleitung.

Ein exemplarisches Protokoll für die Durchführung einer manuellen Färbung sieht wie folgt aus:

- (1) Entparaffinieren
- (2) Absteigende Alkoholreihe: 96 % - 80 % - 70 % - 60 %

Punkt 1-2 gelten nicht für luftgetrocknete Präparate.

- | | |
|--------------------------------|-----------|
| (3) Aqua dest. | 10 sec |
| (4) Kristallviolett | 1: 30 min |
| (5) fließendes Leitungswasser | 30 sec |
| (6) Lugol'sche Lösung | 3 min |
| (7) fließendes Leitungswasser | 20 sec |
| (8) Entfärbelösung nach Gram | 10 sec |
| (9) fließendes Leitungswasser | 30 sec |
| (10) Safranin für Gramfärbung | 1 min |
| (11) fließendes Leitungswasser | 1 min |
| (12) Trocknen bei 50°C | 5 min |
| (13) Eindecken | |

Bei nicht luftgetrockneten Präparaten werden die Punkte 12-13 durch folgende getauscht:

- (12*) 96 % - 96 % - Isopropanol 100 % - Xylol - Xylol
- (13*) Eindecken (xylohaltig)

Jedes Labor sollte eine eigene Arbeitsanweisung für ein Färbeprotokoll erstellen, die sich an den Gegebenheit des Labors und den jeweils zu bearbeitenden Fragestellungen des Anwenders orientieren.

Weitere mögliche Verwendungen der Komponente wurden im Rahmen der Leistungsbewertung nicht getestet.

Literaturangaben

Literatur zu diesem Verfahren

1. GRAM C. (1884): Über die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. In: Fortschritte der Medicin. Vol. 2, S. 185-189.

Allgemeine Literatur zu diesem und ähnlichen Verfahren

1. BANCROFT, J. D. & GAMBLE, M. (2002): Theory and practice of histological techniques. 5th Edition. Churchill Livingstone (Edinburg, London, New York).
2. BÖCK, P. (1989): Romeis: Mikroskopische Technik. – 17. Auflage, Urban & Schwarzenberg (München, Wien, Baltimore).
3. BURCK, H.-C. (1988): Histologische Technik – Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis. – 6. Auflage, Thieme Verlag (Stuttgart, New York).
4. HOROBIN, R. W. & KIERNAN, J. A. (2002): CONN's Biological Stains – A Handbook of Dyes, Stains and Flurochrome for Use in Biology and Medicine.
5. MULISCH, M. & WELSCH, U. (2010): Romeis – Mikroskopische Technik. – 18. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag (Heidelberg)

Ergebnisbeispiel

