

カラーグラム 2 キット (COLOR GRAM 2-F)

For microbiological control only

Staining of microorganisms

グラム染色用試薬

概要

本品は、細菌及び酵母菌のグラム染色に使用します。

原理

微生物の細胞壁をオキサレートクリスタルバイオレット混合液 (R1) で染色します。次にルゴール-PVP (R2) でクリスタルバイオレットを定着させます。続いてアルコール-アセトン (R3) で洗浄すると、グラム陽性菌は脱色されず、グラム陰性菌は脱色されます。染色としてサフラニン (R4) で処理すると、グラム陽性菌は紫色に、またグラム陰性菌は赤～ピンク色に染色されます (2)。

カラーグラム 2 キット	
REF 55542	試薬キット
	R1 = 1 x 240mL
	R2 = 1 x 240mL
	R3 = 1 x 240mL
	R4 = 1 x 240mL
カラーグラム別売試薬	
REF 55545	R1 = 1 x 2L
REF 55546	R2 = 1 x 2L
REF 55547	R3 = 1 x 2L
REF 55548	R4 = 1 x 2L
REF 55540	別売試薬瓶専用栓 4 個

組成 (g/L)

理論値

性能を確保するため、若干変更される場合があります。

1リットル当たりの組成 (g/L)

R1 オキサレートクリスタルバイオレット溶液*

クリスタルバイオレット (CAS No. 548-62-9 Cl No. 42555)	18g
エチルアルコール	200mL
アンモニウムオキサレート	8g
精製水	800mL
R2 ルゴールPVP**	
ヨウ素 (CAS No. 7553-56-2)	13g
ヨウ化カリウム	20g
PVP (ポリビニルピロリドン)	100g
精製水	970mL
R3 脱色液	
エタノール**	500mL
アセトン**	500mL
R4 サフラニン***	
サフラニン (CAS No. 477-73-6 Cl No. 50240)	2.4g
エタノール**	100mL
精製水	900mL

*注意: R1は、有害 (Xn) です。

R40: 発がん性が確認されています。

R52/53: 水生有害物質による水中での長期曝露により有害事象が発生するおそれがあります。

S26: 眼に入った場合は直ちに大量の水で洗い、医師の診察を受けて下さい。

R36/37/39: 適した保護衣、手袋、及び眼/顔面の保護具を身につけてください。

S61: 環境中への排出を避けて下さい。

詳細は、MSDSをご参照下さい。

**注意: R3は、極めて燃焼性が高く (F) 刺激性 (Xi) があります。

R11: 高引火性物質です。

R36: 眼に炎症性を引き起こすことがあります。

R67: 蒸気により眠気やめまいを引き起こすことがあります。

S9: 管理された場所で容器を保管して下さい。

S16: 火元から離して下さい。作業中は喫煙をしないで下さい。

S23: 蒸気を吸引しないで下さい。

S33: 静電気に対しては十分な注意を払うようにして下さい。

***注意: R2試薬は、1.3%のヨウ素とヨウ化カリウムを含んでいます。

****注意: R4試薬は、10%のエタノールを含んでいます。

詳細は、MSDSをご参照下さい。

必要な試薬及び器材

- 染色皿
- スライドガラス
- 加熱ブロック
- 油浸オイル
- 油浸系対物レンズ付き顕微鏡
- カラーグラム2別売試薬瓶専用栓 (品番: 55540)

使用上の注意

- *in vitro* 試験にのみご使用下さい。
- 熟練者のみご使用下さい。
- 全ての検体、微生物培地、そして検体を接種した製品は伝染性であるものとして適切にお取り扱い下さい。試験に用いる細菌グループの無菌操作と通常操作の留意事項は以下のガイドラインに基づきお取り扱い下さい。安全ガイドライン: NCCLS M-29A, «Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline- Current Revision» 操作留意事項: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH- Latest edition、または各国の規制ガイドラインに従って下さい。
- 有効期限切れの製品は使用しないで下さい。
- 使用前には、ボトルキャップのシールがしっかり張られていることを確認して下さい。
- 性能試験は、この添付文書に従った使用方法にて得られた結果を示しています。操作方法を変更すると結果に影響を及ぼすことがあります。
- 試験結果の判定の際には、患者の病歴および他の試験結果を考慮に入れて下さい。

貯蔵条件

- 箱未開封の状態で、15-25°C下で有効期限まで保管可能です。

検体

あらゆる種類の検体に使用可能です。

採取や輸送に関しては GLP (Good Laboratory Practices) に準拠し、検体の種別によって適切に処理して下さい。この染色法は培養により分離した菌株を直接検査に用いることができます。

使用法

検体の準備と固定:

1. 検体をスライドガラスに薄く塗ります。
2. 自然乾燥させます。
3. 火炎の上部でスライドガラスをすばやく数回通過させる火炎固定またはメタノール処理(メタノールに曝した後、10～15分静置してメタノールを除去する)で菌を固定します。

染色(4):

1. 固定した標本上にR1(クリスタルバイオレット)液を塗布します。
 2. 1分間反応させます。
 3. 流水で静かに洗い流します。
 4. 固定標本にR2(ルゴール溶液)液を塗布します。
 5. 1分間反応させます。
 6. 流水で静かに洗い流します。
 7. R3(エタノール - アセトン)で脱色します。
 8. 流水で静かに洗い流します。
 9. 固定標本にR4(サフランin)を塗布します。
 10. 1分間反応させます。
 11. 流水で静かに洗い流します。
 12. 自然乾燥させます。
- 注) 各ステップの時間を標準化することをお勧めします。

判定

- 1000倍率以上の光学顕微鏡で油浸鏡検します。
ーグラム陽性菌は紫色
ーグラム陰性菌はピンク色
- 確認には追加試験(培養検査、同定試験等)を行なってください。

品質管理

プロトコール:

次の標準菌株を用いて試験を行います。

- *Escherichia coli* ATCC® 25922
- *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923

精度管理限界値:

菌株	判定結果
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	ピンク色 グラム陰性菌
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	紫色 グラム陽性菌

注意:

適切な規制(頻度、菌株数等)に従い使用目的を考慮し、品質管理を実施されることをお勧めします。

留意事項

- グラム染色に用いる菌は若い培養菌(24～48時間培養)を用いてください。古い培養菌は染色されない場合があります(2)。
- 抗生剤に曝されたグラム陽性菌を用いると染色されない場合があります。
- 検体中に含まれる菌量が低濃度の場合は、グラム染色で陰性の結果を生じることがあります。

性能

性能は、22株の細菌(グラム陽性菌とグラム陰性菌)と3株の酵母様真菌(*Candida*属と*Saccharomyces*属)を用いました。全てのグラム陽性菌と酵母様真菌は紫色に染色されました。全てのグラム陰性菌は、ピンク色に染色されました。

廃棄処理

未使用の試薬は、有害化学物質廃棄物の処理手順に従って処分してください。

使用済み試薬の廃棄は他の汚染した廃棄材料と同様、感染性もしくは感染の危険のある製品の取り扱い方法に従って行って下さい。起こりうる危険を適切に考慮の上、各検査室の責任の元、廃棄産物や流出物はそれぞれの危害毒性や度合いを考慮し、地域の適切な規制に従って廃棄して下さい。

参考文献

1. BARTHOLOMEW J.W.-Variables influencing results and the precise definition of steps in Gram staining as a means of standardizing the results obtained-*Stain Technol.*,1962,vol. 37, p.139-155.
2. MAGEE C.M.,RODEHEAVERG.,EDGERTON M.T.et al.-A more reliable gram staining technic for diagnosis of surgical infections-*Am. J.Surg.*,1975,vol. 130,p.341-346.
3. SPENGLER M.,RODEHEAVERG.,RICHTER L.et al.-The gram stain-The most important diagnostic test of infection-*J Am. Colleger Emerg. Physicians*,1978,vol. 7,n°12,p.434-438.
4. VASTEL C.-Coloration de gram-Description technique-*Le Technicien Biologiste*,1978,vol. 5,p.243-245.

記号

記号	内容
	品番
	製造元
	保管温度
	使用期限
	ロット番号
	添付文書を参照

(問い合わせ先)

製品関連

シスメックス株式会社 CS センター

臨床(病院、臨床検査センターなど) TEL: 0120-265-034

産業(企業、保健所など) TEL: 0120-022-328

注文・納期・在庫関連

シスメックス・ビオメリュー株式会社

TEL: 03-6834-2669(代表)



シスメックス・ビオメリュー株式会社

東京都品川区大崎一丁目2番2号
大崎セントラルタワー8階

bioMérieux SA

69280 Marcy-l'Etoile / France

Tel. (33) 04 78 87 20 00 / Fax (33) 04 78 87 20 90

<http://www.biomerieux.com>

The logo is a registered and protected trademark of bioMérieux sa or one of its subsidiaries.