

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 (1)。

キット構成

REF 55542	カラーグラム 2 キット
試薬キット内容:	
	R1 = 1 x 240 mL
	R2 = 1 x 240 mL
	R3 = 1 x 240 mL
	R4 = 1 x 240 mL
添付文書は、以下からダウンロードできます。 http://products.sysmex-biomerieux.net/	

カラーグラム別売試薬

REF 55545	R1 = 1 x 2 L
REF 55546	R2 = 1 x 2 L
REF 55547	R3 = 1 x 2 L
REF 55548	R4 = 1 x 2 L

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) ... 18 g
エチルアルコール 200 mL
アンモニウムオキサレート 8 g
精製水 800 mL

R2 ルゴールPVP

ヨウ素 (CAS No. 7553-56-2) 13 g
ヨウ化カリウム 20 g
PVP (ポリビニルピロリドン) 100 g
精製水 970 mL

R3 脱色液**

エタノール 500 mL
アセトン 500 mL

R4 サフラニン

サフラニン (CAS No. 477-73-6 Cl No. 50240) 2.4 g
エタノール 100 mL
精製水 900 mL

* 注意喚起語: 警告

危険有害性情報

H226: 引火性の液体および蒸気

H351: 発がんのおそれの疑い (他の経路からの曝露が有害でないことが決定的に証明されている場合、有害な経路を記載する)

H412: 長期的影響により水生生物に有害

注意書き

P210: 熱/火花/裸火/高温のもののような着火源から遠ざけること。ー禁煙。

P273: 環境への放出を避けること。

P280: 保護手袋/保護衣/保護眼鏡/保護面を着用すること。

P302 + P352: 皮膚に付着した場合: 多量の水と石鹸で洗うこと。

P308 + P313: 曝露または曝露の懸念がある場合: 医師の診断/手当てを受けること。

** 注意喚起語: 危険

危険有害性情報

H225: 引火性の高い液体および蒸気

H319: 強い眼刺激

H336: 眠気やめまいのおそれ

注意書き

P210: 熱/火花/裸火/高温のもののような着火源から遠ざけること。ー禁煙。

P261: 粉じん/煙/ガス/ミスト/蒸気/スプレーの吸入を避けること。

P280: 保護手袋/保護衣/保護眼鏡/保護面を着用すること。

P302 + P352: 皮膚に付着した場合: 多量の水と石鹸で洗うこと。

P305 + P351 + P338: 眼に入った場合: 水で数分間注意深く洗うこと。次に、コンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外すこと。その後も洗浄を続けること。

*** 注意喚起語: 警告

危険有害性情報

H226: 引火性の液体および蒸気

注意書き

P210: 熱/火花/裸火/高温のもののような着火源から遠ざけること。ー禁煙。

P280: 保護手袋/保護衣/保護眼鏡/保護面を着用すること。

P302 + P352: 皮膚に付着した場合: 多量の水と石鹸で洗うこと。

P305 + P351 + P338: 眼に入った場合: 水で数分間注意深く洗うこと。次に、コンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外すこと。その後も洗浄を続けること。

詳細は、SDSを参照ください。

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 試薬瓶専用栓 (品番: 55541)

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。
- 本品の組成表に記載されている危険有害性情報(H)と注意書き(P)を参照してください。
- 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。
- 本品は、有効期限が近くなるとクリスタルバイオレットチューブ(R1 - 品番 55545)の下部に沈殿物が見られるかもしれませんが、製品の性能への影響はありません。
- 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℃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(2):

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(2):

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(サフラニン)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査します。
 - 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

未使用の製品は、通常の化学物質廃棄物の処理手順に従って処分して下さい。使用済み製品およびその他の汚染廃棄物は全て、感染性もしくは感染の危険のある製品の取扱い方法に従って処分して下さい。
廃棄物や廃液はそれぞれの性質や危害度合いを考慮した上で、地域の適切な規制に基づき、各検査室の責任において処分して下さい。

参考文献

1. MAGEE C.M., RODEHEAVER G., 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.
2. VASTEL C. – Coloration de gram – Description technique – Le Technicien Biologiste, 1978, vol. 5, p. 243-245.
3. 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.
4. SPENGLER M., RODEHEAVER G., 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.

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
	製造日

(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・バイオメリュー株式会社

TEL: 03-6834-2669(代表)



シスメックス・バイ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

Tel: 03-6834-2666 / Fax: 03-6834-2667
<http://www.biomerieux.co.jp>



bioMérieux SA

Chemin de l'Orme

69280 Marcy-l'Etoile - France

RCS LYON 673 620 399

Tel. 33 (0)4 78 87 20 00

Fax 33 (0)4 78 87 20 90

www.biomerieux.com