

Kit Gram-Nicolle

KIT DE COLORATION DES BACTÉRIES À GRAM POSITIF ET À GRAM NÉGATIF

Principe :

La coloration de Gram-Nicolle est une coloration différentielle basée sur la structure de la paroi bactérienne qui est différente selon qu'il s'agit de bactéries à Gram positif ou à Gram négatif. Elle est déterminée par :

- la formation d'un complexe entre le Violet de gentiane phéniqué, le Liquide de lugol et un constituant spécifique des bactéries à Gram positif insoluble dans l'alcool. Les bactéries à Gram positif ne sont donc pas décolorées par l'alcool et restent colorées en violet.

- une perméabilité plus importante à l'alcool de la paroi des bactéries à Gram négatif permet une solubilisation du complexe Violet de gentiane-Liquide de lugol. Les bactéries à Gram négatif sont donc décolorées par l'alcool, elles fixent alors la Fuchsiine de Ziehl et apparaissent colorées en rose.

Description du kit : (4 X 240 ml)

Flacon 1 : Violet de Gentiane phéniqué	1 x 240 ml
Flacon 2 : Liquide de Lugol stabilisé PVP	1 x 240 ml
Flacon 3 : Différenciateur rapide (alcool/acétone)	1 x 240 ml
Flacon 4 : Fuchsiine de Ziehl 1/10	1 x 240 ml

Nombre de tests réalisables : 230 à 300 lames

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Alcool à 95°

Recommandations et/ou notes d'utilisation :

L'addition de Polyvinylpyrrolidone (PVP) dans le liquide de Lugol permet de supprimer la tension de vapeur de l'iode et assure une bonne conservation de la solution prête à l'emploi, en flacon plastique.

Préparation des échantillons :

Les échantillons doivent être préparés conformément aux méthodes en vigueur dans le laboratoire, en l'application de l'Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, J.O. n°287 du 11 décembre 1999.

Utilisation :

Produit destiné à un usage exclusivement professionnel.

Usage de diagnostic in-vitro. **IVD**

L'enlèvement et le traitement des déchets chimiques et biologiques doivent être effectués par une entreprise spécialisée et agréée.

Température de stockage : 15-25°C

Durée de vie après ouverture : se conformer à la date de péremption de l'étiquette.

Reference: 364320-0000

Kit Gram-Nicolle

STAINING KIT FOR THE DIFFERENTIATION OF GRAM-POSITIVE FROM GRAM-NEGATIVE BACTERIA

Principe:

Sudan black stain is insoluble in aqueous media, but soluble in lipidic and alcoholic media.

This property is used in anatomopathology for staining smears and tissue sections. In buffered phosphate medium and in presence of Alcohol, sudanophilic granules are stained and appear dark blue, whereas cytoplasm of the cells remain colourless.

Kit description:

Bottle 1 : Carbolic Gentian Violet	1 x 240 ml
Bottle 2 : Lugol, PVP-stabilized solution	1 x 240 ml
Bottle 3 : Fast differentiator	1 x 240 ml
Bottle 4 : Ziehl Carbolic Fuchsin 1/10	1 x 240 ml

Number of tests possible: 230 to 300 slides

Specific material required but not provided:

95°-Ethanol

Recommendations and/or notes for use:

Adding of Polyvinylpyrrolidone (PVP) to Lugol Solution helps to avoid iodine migration and then provides a satisfactory stability of the ready-to-use plastic bottle packaged solutions.

Specimen preparation:

Specimen must be treated in accordance with procedures available in the laboratory and promulgated by national authorities.

Use:

For Professional Use Only. **IVD**

The collection and processing of chemical and biological waste must be conducted by Organic phase Ethyl acetate based and registered companies.

Storage Temperature: 15-25°C

Opened bottle shelf life : report to expiration date on the label.

Kit Gram-Nicolle

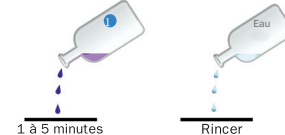
KIT DE COLORATION DES BACTÉRIES À GRAM POSITIF ET À GRAM NÉGATIF



Mode opératoire:

Temps de réalisation : 3 minutes

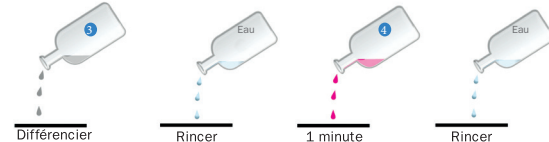
ETAPE 1 : Fixer la préparation à la chaleur douce (ou à l'alcool à 95° à froid). Laisser refroidir. Recouvrir la lame avec le Violet de Gentiane phéniqué (flacon 1) pendant 1 à 5 minutes. Rejeter le colorant et rincer à l'eau courante pour éliminer toute trace de Violet de gentiane phéniqué en excès.



ETAPE 2 : Rincer puis colorer avec le **Liquide de lugol stabilisé PVP** (flacon 2) pendant 30 secondes à 1 minute. Rincer abondamment à l'eau courante.



ETAPE 3 et 4 : Décolorer avec le **Différenciateur rapide** (flacon 3). Rincer rapidement à l'eau courante. Colorer avec la **Fuchsiine de Ziehl 1/10** (flacon 4) pendant une minute.



ETAPE 5 : Rincer brièvement à l'eau courante et laisser sécher le frottis.

ETAPE 6 : Lecture au microscope, objectif x100 à immersion.

Résultats :

Bactéries à Gram positif : violet

Bactéries à Gram négatif : rose

Bibliographie :

LANGERON M., *Précis de microscopie*, Masson & Cie, 6ème éd., 1942, p. 553-556.

RICHARD C., *Gram et la collaboration de Gram*, Ass. Anc. El. Inst. Pasteur, vol. 33, n°129, 1991, p. 15-19.

CLARK G., *Staining procedures*, Williams & Wilkins, 4th ed., 1981, p. 377-379.

Protocol N° 85

Kit Gram-Nicolle

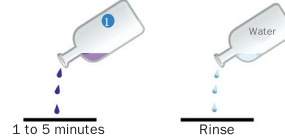
STAINING KIT FOR THE DIFFERENTIATION OF GRAM-POSITIVE FROM GRAM-NEGATIVE BACTERIA



Staining procedure:

Processing time : 3 minutes

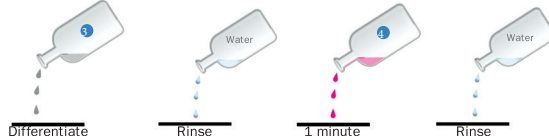
STEP 1 : Place the slide on a stand with smears on top. Cover the slide with **Carbolic Gentian Violet** (bottle 1) for 1 to 5 minutes. Get rid of the stain and Rinse with tap water to remove excess of Carbolic Gentian Violet.



STEP 2 : Rinse and cover with **Lugol, PVP-stabilized solution** (bottle 2) for 30 seconds to 1 minute. Thoroughly rinse with tap water.



STEP 3 and 4 : Discolour with the **Fast differentiator** (bottle 3). Quickly rinse with tap water. Cover the slide with **Ziehl Carbolic Fuchsin 1/10** (bottle 4) for 1 minute.



STEP 5 and 6 : Quickly rinse with tap water and let dry the smear. Microscopic examination with a x100-immersion-objective.

Results:

Gram-Positive Bacteria: violet

Gram-Negative Bacteria: pink

Bibliography:

LANGERON M., *Précis de microscopie*, Masson & Cie, 6ème éd., 1942, p. 553-556.

RICHARD C., *Gram et la collaboration de Gram*, Ass. Anc. El. Inst. Pasteur, vol. 33, n°129, 1991, p. 15-19.

CLARK G., *Staining procedures*, Williams & Wilkins, 4th ed., 1981, p. 377-379.



