

1.00567.1000
1.00567.2500
1.09261.1000
1.09261.2500
1.09261.9023

Microscopie

Solution de Lugol stabilisée avec PVP

pour la coloration selon Gram

Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée)

pour la coloration selon Gram

Réservé à une utilisation professionnelle



Dispositif médical de diagnostic in vitro



Objectif prévu

Les présentes « Solution de Lugol stabilisée avec PVP - pour la coloration selon Gram » et « Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) - pour la coloration selon Gram » sont utilisées pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et servent à l'examen bactériologique d'échantillons d'origine humaine. Ce sont des solutions prêtes à l'emploi, qui sont utilisées conjointement avec d'autres diagnostics in vitro de notre portefeuille pour rendre des structures bactériennes cibles analysables pour le diagnostic (les bactéries Gram-positives ou Gram-négatives) par fixation, coloration, contre-coloration, montage dans des épreuves bactériologiques, telles que les frottis de liquides corporels, p.ex.

Les structures non colorées présentent des contrastes relativement faibles et ne peuvent à peine être différenciées par microscopie optique. Les images créées au moyen des solutions de coloration permettent à un examinateur formé et autorisé de mieux distinguer la forme et la structure. Pour un diagnostic final, il est nécessaire d'effectuer des examens supplémentaires selon des méthodes valides et reconnues.

Principe

La méthode de coloration de Gram permet d'obtenir rapidement une différenciation des bactéries entre Gram-positives et Gram-négatives.

La coloration des bactéries dépend de la structure de leurs parois cellulaires. Lors de la coloration de Gram, les bactéries sont colorées par du violet cristallin, un colorant aniline. Après traitement avec une solution iodée (solution de Lugol), on obtient un complexe colorant-iodure. Les multiples couches de chaînes de muréine des parois cellulaires Gram-positives empêchent que le complexe colorant-iodure disparaisse au lavage lors de l'étape de décoloration, et les bactéries conservent leur coloration bleue violet. Les bactéries Gram-négatives, en revanche, ont une paroi cellulaire composée d'une chaîne de muréine à une seule couche : c'est pourquoi le décolorant disparaît avec la solution de décoloration. Les bactéries Gram-négatives sont colorées en rose à rouge par une contre-coloration effectuée à l'aide d'une solution de safranine.

Matériel des échantillons

Liquides corporels, exsudats, salive, produits liquides ou comportant des colonies

Réactifs

Art. 100567
Solution de Lugol stabilisée avec PVP pour la coloration selon Gram 1 l, 2,5 l

Art. 109261
Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) 1 l, 2,5 l pour la coloration selon Gram

Nécessaire en plus :

Art. 109217	Safranine en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 109218	Violet cristallisé en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 110218	Solution de décoloration selon GRAM pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l

En alternative :

Le kit de coloration 1.11885.0001 peut être utilisé à la place de la combinaison des réactifs individuelles :

Art. 1.11885.0001	Gram-Color	1 set
Set de coloration pour la coloration de Gram		

Préparation des échantillons

Le prélèvement d'échantillons doit être effectué par du personnel qualifié. L'échantillon est placé sur un porte-objet exempt de toute trace de gras à l'aide d'une anse flambée. Il est ensuite frotté et étalé soit directement, soit avec une à deux gouttes de solution physiologique de chlorure de sodium (solution de Ringer). Après séchage à l'air, on procède à la fixation à la chaleur en faisant passer le frottis (côté frottis vers le haut) trois fois lentement dans le haut de la flamme d'un bec Bunsen. Laisser ensuite refroidir et colorer.

Les frottis séchés à l'air doivent être soigneusement fixés à la chaleur. Les frottis séchés à l'air doivent être soigneusement fixés à la chaleur afin d'éviter que de la matière se détache et contamine ainsi les solutions ou les autres porte-objets.

Tous les échantillons doivent être traités conformément aux règles de l'art. Tous les échantillons doivent être clairement identifiés. Utiliser des instruments appropriés pour le prélèvement d'échantillons et la préparation, respecter les instructions du fabricant pour l'emploi / l'utilisation.

Lors de l'utilisation des réactifs auxiliaires adéquats, il y a lieu de respecter les consignes d'utilisation correspondantes.

Préparation du réactif

Les Solutions de Lugol stabilisée avec PVP - pour la coloration selon Gram et Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) - pour la coloration selon Gram utilisées sont prêtes à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer les solutions étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.

Mode opératoire

Coloration dans la cuve de coloration

Lors de la coloration par le procédé à immersion, il est recommandé de diluer le Violet cristallisé en solution selon Gram avec de l'eau distillée dans le rapport 1 : 3.

Il est nécessaire de plonger et de déplacer les lames porte-objets dans les solutions ; une simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants.

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions.

Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

Porte-objet avec frottis fixé	
Violet cristallisé en solution selon Gram	1:30 minute
Eau du robinet courante	30 secondes
Solution de Lugol*	3 minutes
Eau du robinet courante	20 secondes
Solution de décoloration selon GRAM**	5 - 10 secondes
Eau du robinet courante	30 secondes
Safranine en solution selon Gram	1 minute
Eau du robinet courante	1 minute
Sécher à l'air (p.ex. pendant toute une nuit, ou à 50 °C dans l'armoire de séchage)	

* filtrer après trois passages la Solution de Lugol

** jeter après cinq passages la Solution de décoloration selon GRAM

Coloration sur le banc de coloration

Porte-objet avec frottis fixé		
Violet cristallisé en solution selon Gram	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Solution de Lugol	rincer brièvement	
Solution de Lugol	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Eau distillée	laver avec précaution	5 secondes
Solution de décoloration selon GRAM	agiter le porte-objet avec précaution jusqu'à ne plus voir aucun nuage de couleur, et jusqu'à ce que le frottis penne une couleur bleu-grisâtre	10 - 15 secondes
Eau distillée	laver avec précaution	5 secondes
Safranine en solution selon Gram	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Eau distillée	laver avec précaution	5 secondes
Sécher à l'air (p.ex. pendant toute une nuit, ou à 50 °C dans l'armoire de séchage)		

Si l'on souhaite stocker des préparations hématologiques pendant plusieurs mois, il est conseillé de les recouvrir d'un produit de montage anhydre (p.ex. Neo-Mount® ou Entellan®) et d'une lamelle couvre-objet. Les préparations colorées doivent être alors parfaitement sèches. Sans recouvrement, la coloration reste stable environ trois jours, et quelques heures seulement si elle est recouverte d'huile d'immersion.

Pour l'examen microscopique de préparations colorées avec un grossissement >40x, il est recommandé d'utiliser de l'huile d'immersion.

Coloration dans le distributeur automatique de coloration

La coloration en distributeurs automatiques de coloration peut s'effectuer comme celle réalisée dans la cuve de coloration.

Résultat

Microorganismes Gram-positives	bleu violet
Microorganismes Gram-négatives	rose à rouge

Diagnostic d'erreurs

Fixation des préparations de frottis

Il est important d'effectuer une fixation à la chaleur suffisante avec un bec Bunsen ou dans une étuve, afin d'empêcher le potentiel infectieux des préparations et une prolifération des bactéries.

Pas de coloration des bactéries Gram-positives

L'opération critique de la coloration de Gram est la décoloration, qui peut être influencée par l'épaisseur du frottis. De plus, une solution de décoloration fraîche est très réactive. C'est pourquoi le résultat doit être analysé très soigneusement. Lors de la décoloration, les temps indiqués ici doivent être respectés scrupuleusement, faute de quoi on risque d'obtenir des résultats faux-négatifs.

Remarques techniques

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d'un laboratoire de diagnostics médicaux.

En cas d'utilisation d'un automate de coloration, se conformer aux instructions du fabricant de l'appareil et du logiciel.

Éliminer l'excédent d'huile pour immersions avant l'archivage.

Diagnostic

Les diagnostics doivent être exclusivement effectués par des personnes autorisées et qualifiées.

Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées.

Cette méthode doit être appliquée dans le diagnostic humain à titre complémentaire.

Des tests plus poussés seront choisis et réalisés selon des méthodes reconnues.

Chaque étape doit être effectuée sous contrôle, afin d'exclure toute possibilité de résultat erroné.

Le contrôle du kit de coloration peut être effectué avec des bactéries Gram-positives et des bactéries Gram-négatives. Pour ce faire, il faut utiliser des cultures sur milieux nutritifs incubées 18 à 24 heures.

Stockage

Stocker les Solution de Lugol stabilisée avec PVP - pour la coloration selon Gram et Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) - pour la coloration selon Gram entre +15 °C et +25 °C.

A une température inférieure à +15 °C, on peut noter la formation de précipité de colorant dans les solutions de coloration. Dans ce cas, placer les flacons pendant 2 à 3 heures dans un bain marie chaud à env. 60 °C. De ce fait, la plus grande partie des précipités de colorant se dissout à nouveau. Filtre ensuite les solutions de coloration à travers un papier filtre.

Stabilité

Les Solution de Lugol stabilisée avec PVP - pour la coloration selon Gram et Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) - pour la coloration selon Gram peuvent être utilisées jusqu'à la date de péremption indiquée.

Après la première ouverture du flacon, conserver entre +15 °C et +25 °C et utiliser jusqu'à la date de péremption.

Tenir les flacons toujours bien fermés.

Capacité

env. 250 colorations / 500 ml

Remarques sur l'utilisation

Réservé à une utilisation professionnelle.

Pour éviter les erreurs, l'application doit être effectuée par un personnel qualifié.

Respecter les directives nationales relatives à la sécurité au travail et à l'assurance de la qualité.

Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

En cas de besoin, utiliser une centrifugeuse conforme à la norme de laboratoire et aux critères.

Protection contre les infections

Veiller impérativement à une protection efficace conformément aux directives des laboratoires.

Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur.

Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets dangereux, en respectant les directives locales relatives à l'élimination des déchets. Pour commander les instructions sur l'élimination des déchets, cliquer sur le Quick Link « Hints for Disposal of Microscopy Products » sur www.microscopy-products.com. Au sein de l'UE s'applique le règlement CE n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

Réactifs auxiliaires

Art. 103699	Huile pour immersion Type N selon ISO 8036 pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml
Art. 104699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 107961	Entellan® néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 109016	Neo-Mount® agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 500 ml
Art. 109217	Safranine en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 109218	Violet cristallisé en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 110218	Solution de décoloration selon GRAM pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 111885	Gram-Color Set de coloration pour la coloration de Gram	1 set

Classification des matières dangereuses

Art. 100567

Art. 109261

Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité.

La fiche de données de sécurité est disponible sur le site web et sur demande.

ATTENTION : contient des substances CMR. Veuillez respecter les consignes de sécurité dans la fiche de sécurité correspondante s.v.p.

Composants principaux des produits

Art. 100567

PVP-Iod	50 g/l
KI	10 g/l
1 l =	1,02 kg

Art. 109261

I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l =	1,01 kg

Autres produits d'IVD

Art. 100497	AFB-Color modifié Kit de coloration pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes (AFB) au moyen de la coloration a chaud	1 set
Art. 100579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie	500 ml
Art. 101603	Gram-Color modifié (sans phénol) Kit de colorants pour la coloration selon Gram de preparation bactériologique	1 set
Art. 109093	AFB-Fluor Kit de coloration pour la détection des bactéries acido-résistantes par la microscopie de fluorescence	6x 500 ml
Art. 109843	Neo-Clear® (remplaçant du xylène) pour la microscopie	5 l
Art. 115525	Comprimés de RINGER pour la préparation de solution de RINGER	100 tabs
Art. 116450	AFB-Color Coffret de coloration pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid	1 set
Art. 132450	Kit de coloration AFB pour l'histologie pour la mise en évidence de bactéries acido-résistantes dans les tissus histologiques	1 set

Remarque générale

Si un incident grave s'est produit durant ou par suite de l'utilisation, veuillez informer de celui-ci le fabricant et/ou son mandataire et votre autorité nationale.

Littérature

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
2. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Editon



Respectez les
consignes d'utili-
sation



Fabricant



N° catalogue



Code de lot



Attention : observez la
documentation complé-
mentaire



Utilisable
jusqu'au
AAAA-MM-JJ



Limitation de
température

Status: 2020-Jul-13

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.microscopy-products.com

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive
Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321
Sigma-Aldrich Canada Co. or Millipore (Canada) Ltd.
2149 Winston Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 6J8
Phone: +1 800-565-1400

