

205 South 600 West Logan, Utah 84323, États-Unis – Tél. (800) 729-8350 – Tél. (435) 755-9848 – Télécopieur (435) 755-0015 – www.scytek.com Rév. 4, 19/07/2022  
5. Rincez la lame à l'eau distillée pour éliminer l'excès de solution.

## Kit de coloration de Gram

(Modifié par Brown & Brenn)

### Description et principe

Le kit de coloration de Gram (Brown & Brenn modifié) est destiné à la démonstration et à la différenciation des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

La violette de gentiane et l'iode de Lugol forment un lac de colorant qui colore les organismes à Gram positif et à Gram négatif. Les bactéries à Gram positif et à Gram négatif sont différenciées en raison des différences de composition de la paroi cellulaire. Le complexe violet iodé de gentiane est éliminé des bactéries à Gram négatif tandis que les bactéries à Gram positif conservent la tache. La safranine O est ensuite appliquée comme contre-coloration pour les bactéries à Gram négatif différenciées.

### Résultats attendus

Bactéries à Gram positif :	Bleu
Bactéries à Gram négatif :	Rouge
Arrière-plan:	Jaune
Noyaux:	Rouge

### Contenu du kit

1. Solution de violet de gentiane	18 à 25 °C
2. La solution d'iode de Lugol	18 à 25 °C
3. La solution de décoloration de Gram	18 à 25 °C
4. Solution de safranine O (pour la coloration de Gram)	18 à 25 °C
5. Acide picrique - solution d'acétone (0,1%)	18 à 25 °C

### Stockage

### Commandes suggérées (non fournies)

Frottis tissulaire ou cellulaire contenant à la fois des organismes à Gram positif et à Gram négatif

### Utilisations/limites

Pour un usage de diagnostic in vitro uniquement.  
Ne pas utiliser si les réactifs deviennent troubles ou précipités  
N'utilisez pas de date d'expiration dépassée.  
Soyez prudent lorsque vous manipulez des réactifs.  
Non stérile  
Destiné aux sections FFPE coupées à 5-10µm.  
Cette procédure n'a pas été optimisée pour les sections congelées.  
Les sections gelées peuvent nécessiter une modification du protocole.

### Stockage

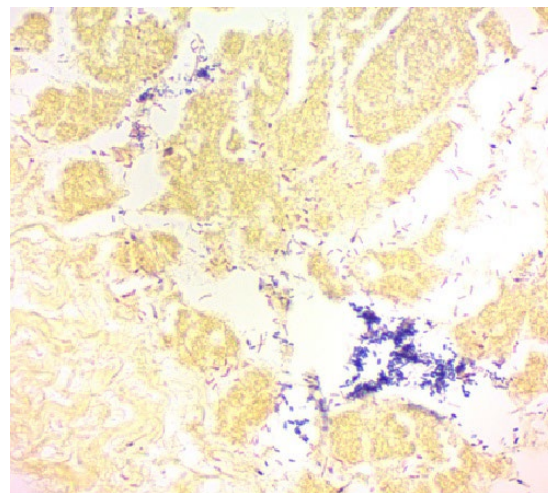
Conservez le kit et tous les composants à température ambiante (18-25°C).

### Sécurité et précautions

Veillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) actuelles de ce produit et de la classification GHS de ses composants, les pictogrammes et les mentions complètes de danger/précautions.

### Procédure

- Déparaffiniser les sections si nécessaire et hydrater à l'eau distillée.
- Appliquez la solution de violet de gentiane sur la section de tissu pendant 2 minutes.
- Rincez la lame à l'eau distillée pour enlever l'excès de tache.
- Appliquez la solution d'iode de Lugol sur une section de tissu pendant 1 minute.



Gram stain on Avian Liver demonstrating gram-positive and gram-negative bacteria. Magnification 400X

6. Appliquez soigneusement le décoloriseur de Gram goutte à goutte jusqu'à ce que la couleur ne saigne plus de la section. Remarque : L'application de ce décolorant pendant plus de 5 secondes peut éliminer la tache des bactéries à Gram positif.

7. Rincez rapidement la lame à l'eau distillée.

8. Appliquez la solution de Safranin O sur la section de tissu pendant 4 minutes.

9. Rincez la lame à l'eau distillée pour enlever l'excès de tache.

**Remarque :** L'alcool et l'acide picrique-acétone (étapes 11-12) sont nécessaires pour éliminer la tache rouge du fond, mais une incubation excessive avec ces solutions peut également éliminer la tache des bactéries.

10. Trempez une fois le toboggan dans de l'alcool absolu, puis retirez l'excès d'alcool du toboggan par tamponnage.

11. Appliquez soigneusement quelques gouttes d'acide picrique - solution d'acétone (0,1%) tout en agitant doucement pendant 2 à 10 secondes, puis rincez immédiatement et brièvement la lame dans de l'alcool absolu. Si le tissu est encore fortement rouge, répétez l'étape 12 jusqu'à ce qu'il soit principalement jaune - une teinte rouge peut rester en raison de la présence de noyaux ou de grandes quantités de bactéries gram(-).

12. Laissez glisser sécher à l'air.

13. Transparent et monté en résine synthétique.

### Références

- Isenberg, H.H. Manuel de procédures de microbiologie clinique. Société américaine de microbiologie, 1992.
- Sheehan, D.C., Hrapchak, BB. Théorie et pratique de l'histotechnologie ; 1980, page 235.
- Brown, J.H., Brenn, L. Procédé de coloration différentielle de bactéries à Gram positif et à Gram négatif dans des coupes de tissus. Bulletin John Hopkins Hospital, 1931, volume 48, pages 69-73.

4. Gramme, C. Fostchr. Med., Volume 2, page 185, 1884.



ScyTek Laboratories, Inc.  
205 South 600 West  
Logan, UT 84321  
435-755-9848  
U.S.A.



EC REP  
Emergo Europe  
Prinsessegracht 20  
2514 AP The Hague, The Netherlands