

Mode d'emploi

KT018-IFU

Document #: DS-3012-C

Date de sortie: 6/14/2024

Kit de coloration de Gram

Description et principe

Le kit Gram Stain est destiné à la démonstration et à la différenciation des bactéries Gram-positifs et Gram-négatifs en raison des différences dans la composition de la paroi cellulaire bactérienne. Les bactéries Gram-positifs et Gram-négatifs ont toutes deux des parois cellulaires composées de peptidoglycane et de lipoprotéine. Les bactéries Gram-positifs possèdent une paroi cellulaire en peptidoglycane beaucoup plus épaisse que les bactéries Gram-négatifs.

Le violet de gentiane et l'iode forment un complexe colorant qui effectue initialement une coloration des bactéries Gram-positifs et Gram-négatifs. Le complexe cristal violet-iodine est éliminé des bactéries à Gram négatif à l'aide de la solution Gram's Decolorizer, tandis que le colorant est retenu dans l'épaisse paroi cellulaire du peptidoglycane des bactéries à Gram positif. La fuchsine phénique est appliquée sur la contre-coloration des bactéries à Gram négatif et de la tartrazine pour colorer les tissus de fond.

Résultats attendus

Bactéries Gram Positifs :	Bleues
Bactéries à Gram négatif :	Du rose au rouge
Autre tissu :	Jaune
Noyaux :	Rouge

Contenu du kit

- Solution de violet de gentiane
- Solution d'iode de Lugol
- Solution décolorante de Gram
- Contre-colorant Carbol Fuchsine
- Solution de tartrazine

Stockage

- 15-30°C
- 15-30°C
- 15-30°C
- 15-30°C
- 15-30°C

Contrôles suggérés (non fournis)

Tissus ou frottis cellulaires contenant à la fois des organismes Gram-positifs et Gram-négatifs

Utilisations/limites

Pour usage diagnostique in vitro uniquement.
Ne pas utiliser si les réactifs deviennent troubles ou précipitent
N'utilisez pas de date de péremption dépassée.
Prendre des précautions lors de la manipulation des réactifs.
Non stérile
Destiné aux sections FFPE coupées à 5-10µm.
Cette procédure n'a pas été optimisée pour les coupes gelées.
Les sections gelées peuvent nécessiter une modification du protocole.

Stockage

Conservez le kit et tous les composants à température ambiante (15-30°C).

Sécurité et précautions

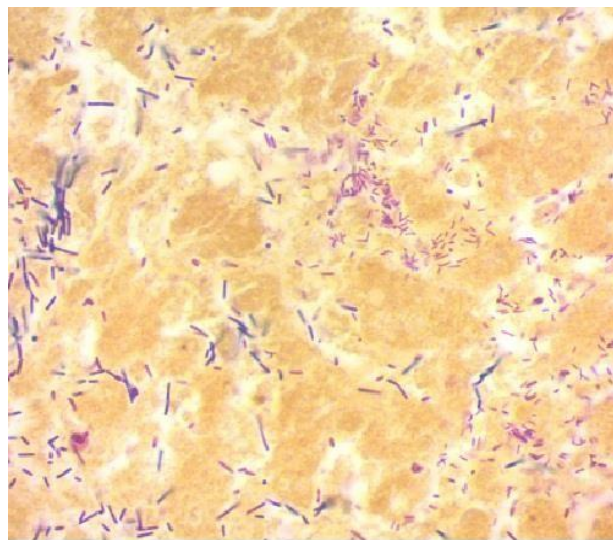
Veillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) actuelles pour ce produit et ses composants, la classification SGH, les pictogrammes et les déclarations complètes de danger/précaution. En cas d'incident grave lié à l'appareil, veuillez contacter le fabricant :

Support technique des biosystèmes de diagnostic au (925) 484-3350, poste 2 ou techsupport@dbiosys.com. Si nécessaire, veuillez vous adresser à l'autorité compétente aux Pays-Bas : Agence du ministère de la Santé, du Bien-être et du Sport, CIBG Farmatec.

Procédure:

- Déparaffiner les coupes si nécessaire et hydrater avec de l'eau distillée.

- Incuber la lame dans la solution de violet de gentiane pendant 1 minute.
- Rincer la lame à l'eau distillée pour éliminer l'excès de taches.
- Incuber la lame dans la solution d'iode de Lugol pendant 1 minute.
- Rincez la lame à l'eau courante du robinet pour éliminer l'excès d'iode.



Gram stain on Avian Liver demonstrating gram-positive and gram-negative bacteria viewed at 63x

- Placez la lame dans le Decolorizer de Gram jusqu'à ce que la couleur ne s'écoule plus de la section. Remarque : Une décoloration pendant plus de 5 secondes peut éliminer les taches des bactéries à Gram positif.
- Rincez rapidement la lame à l'eau courante du robinet.
- Incuber les lames dans du Carbol Fuchsin Counterstain pendant 1 à 2 minutes.
- Rincer rapidement la lame à l'eau courante du robinet pour éliminer les taches en excès.
- Incuber les lames dans la solution de tartrazine pendant 15 secondes.
- Rincer la lame 1 fois dans de l'alcool absolu.
- Déshydratez rapidement la lame dans 3 changements d'alcool absolu. Remarque : La déshydratation dans les alcools est nécessaire pour éliminer les taches de fond, mais doit être effectuée rapidement pour éviter une décoloration excessive des bactéries.
- Transparent en 2 changements de xylène ou de substitut de xylène, et monté en résine synthétique.

Autres notes: Les bactéries à Gram positif mourantes, mortes ou traitées avec des antibiotiques peuvent se colorer de façon variable (rouge).

Les références

- Sheehan, DC., Hrapchak, BB. Théorie et pratique de l'histotechnologie ; 1980, page 235.