

**Kit Gram-Hücker**

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

**REF** Rapide: 361520-0000  
361525-0000  
Lent: 362860-0000

**Principe:**

La coloration de Gram-Hücker est une coloration différentielle qui repose sur la perméabilité de la paroi bactérienne. Les colorants utilisés ne colorent pas la paroi bactérienne, mais sa structure détermine la positivité ou la négativité du Gram. Le Liquide de lugol (mordant) permet de former un complexe intracellulaire avec le Cristal violet oxalate.

Dans le cas des bactéries à Gram négatif, la perméabilité plus grande de la paroi permet à l'alcool d'éliminer ce complexe. Les bactéries à Gram négatif fixent alors la Safranine et apparaissent colorées en rose-orange.

Les bactéries à Gram positif, dont la perméabilité de la paroi est moins importante, ne sont pas décolorées par l'alcool et restent colorées en violet.

**Description du kit:** (4 X 240ml)

Flacon ① : Cristal violet oxalate	1 x 240ml ou 1 x 1000 ml
Flacon ② : Liquide de lugol stabilisé PVP	1 x 240ml ou 1 x 1000 ml
Flacon ③ : Différenciateur rapide (alcool/acétone) ou	1 x 240ml ou 1 x 1000 ml
Flacon ④ : Différenciateur lent (alcools)	1 x 240ml
Flacon ⑤ : Safranine	1 x 240ml ou 1 x 1000 ml

Nombre de tests réalisables: 230 à 300 lames ou 950 à 1250 lames

**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.

Conserver à température ambiante (15-25°C) et à l'abri de la lumière.

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

**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. Il est nécessaire de réaliser une fixation préalable à la chaleur et à l'alcool à chaud. (cf. Note 03 : Fixation des frottis, préalable aux colorations en bactériologie).

**Recommendations 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.

On peut améliorer la netteté en observant au microscope en lumière verte (filtre vert ou filtre jaune superposé au bleu). Le contraste dépend de la manière dont est conduite la différenciation. Le genre *Campylobacter* est mal coloré par la Safranine. Le genre *Legionella* ne se colore pas.

**Bibliographie:**

CLARK G., Staining procedures, Williams & Wilkins, 4<sup>th</sup> ed., 1981, p. 377-379.  
VASTEL C.L., Coloration Gram-Hücker, Le Tech. Biol., n° 5, 1978, p. 243-245.

**Kit Gram-Hücker**

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

**REF** Fast action: 361520-0000  
361525-0000  
Slow action: 362860-0000

**Principle:**

Gram-Hücker staining is a differential staining based on the permeability of the bacterial wall. In this technique, the bacterial wall is not stained but its structure permits classification of Gram-positive or Gram-negative bacteria.

Lugol solution permits the formation of an intracellular complex with Crystal violet oxalate. A more important permeability of Gram-negative bacteria wall allows alcohol to eliminate this complex. Gram-negative bacteria can fix Safranin and then appear stained orange-pink. Gram-positive bacteria, characterized by a less important permeability of wall, are not discoloured by Alcohol and remain stained violet.

**Kit description:**

Bottle ① : Cristal violet oxalate	1 x 240ml or 1 x 1000 ml
Bottle ② : Lugol, PVP-stabilized solution	1 x 240ml or 1 x 1000 ml
Bottle ③ : Fast differentiator (alcohol/acetone) or	1 x 240ml or 1 x 1000 ml
Bottle ④ : Slow differentiator (alcohol-based)	1 x 240ml
Bottle ⑤ : Safranin	1 x 240ml or 1 x 1000 ml

Number of tests possible: 230 to 300 slides or 950 to 1250 slides.

**Use:**

For professional use only.

**[IVD]**

The collection and processing of chemical and biological waste must be conducted by specialized and registered companies.

Storage temperature: 15-25°C away from light.

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

**Specimen preparation:**

Specimen must be treated in accordance with procedures available in the laboratory and promulgated by national authorities. It is necessary to perform a preliminary fixation by heat and/or hot alcohol (cf. Notice 03: Smears fixation, prior to staining in Bacteriology).

**Recommendations and/or notes of 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. One can improve the sharpness of the observation with a green light-microscope (a green filter or a yellow one superposed on the blue filter). The contrast depends on the way one carry out the differentiation. The genus *Campylobacter* is badly coloured by Safranin, while the genus *Legionella* remains colourless.

**Bibliography:**

CLARK G., Staining procedures, Williams & Wilkins, 4<sup>th</sup> ed., 1981, p. 377-379.  
VASTEL C.L., Coloration Gram-Hücker, Le Tech. Biol., n° 5, 1978, p. 243-245.

**Kit Gram-Hücker**

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

Protocole N° 11

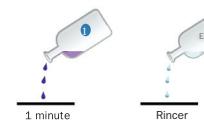


Veuillez lire attentivement l'intégralité des informations qui suivent avant d'utiliser le produit.

**Temps de réalisation: 3 minutes**

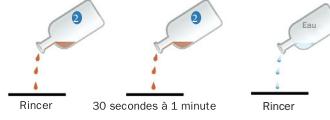
**ETAPE 1:** • Placer le frottis fixé sur le support de coloration.

- Recouvrir la lame avec le Cristal violet oxalate (flacon ①) pendant 1 minute.
- Rejeter le colorant et rincer à l'eau courante pour éliminer toute trace de Cristal violet oxalate en excès.



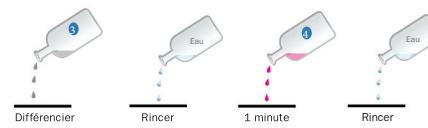
**ETAPE 2:** • Rincer avec un jet de Liquide de lugol stabilisé PVP (flacon ②) pour éliminer toute trace d'eau.

- Recouvrir la lame avec le Liquide de lugol stabilisé PVP (flacon ②) pour 30 secondes à 1 minute.
- Rincer abondamment à l'eau courante.



**ETAPE 3 et 4:** • Décolorer par le Différenciateur rapide (alcool/acétone) entre 2 et 5 sec ou par le Différenciateur lent (alcools) (flacon ③) entre 20 et 40 sec.

- Rincer rapidement à l'eau courante.
- Recouvrir la lame avec la Safranine (flacon ④) pendant 1 minute.
- Rincer brièvement à l'eau courante et laisser sécher le frottis.



Lecture au microscope, objectif x100 à immersion.

**Résultats:**

Bactéries à Gram positif: violet

Bactéries à Gram négatif: rose orangé

Protocol N° 11

**Kit Gram-Hücker**

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

**Staining procedure:**

**Processing time : 3 minutes**

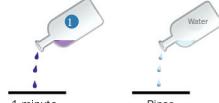
**Staining procedure:**

Please read all this information carefully before using this device.

**Processing time: 3 minutes**

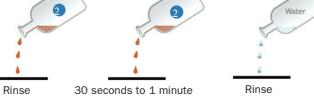
**STEP 1:** Place the slide on a stand with fixed smear on top.

- Cover the smear with Crystal violet oxalate (bottle ①) for 1 minute.
- Get rid of the stain and rinse with tap water to remove excess of Crystal violet oxalate.



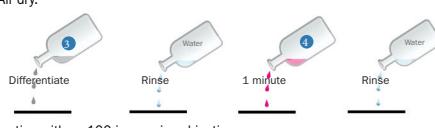
**STEP 2:** Rinse with a jet of Lugol, PVP-stabilized solution (bottle ②) to remove excess of rinsing water.

- Cover the slide with Lugol, PVP-stabilized solution (bottle ②) for 30 seconds to 1 minute.
- Thoroughly rinse with tap water.



**STEP 3 and 4:** Discolor with the Fast differentiator (alcohol-based) (bottle ③) for 2 to 5 sec or the Slow differentiator (alcohol-based) (bottle ④) for 20 to 40 sec.

- Quickly rinse with tap water.
- Cover the slide with Safranin (bottle ⑤) for 1 minute.
- Quickly rinse with tap water.
- Air dry.



Microscopic examination with a x100 immersion-objective.

**Results:**

Gram-positive bacteria: violet

Gram-negative bacteria: orangey - pink







EL: KINIDYNOΣ. H225 Υγρό και απροστατευτικό πολύ εύφλεκτα. H318 Προκαλεί σοβαρή ασθματική βλάβη. P280 Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα, μέσα από μακριά προστασία για τα μάτια. P210 Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνές φλόγες και άλλες πηγές ανάρρεξης. Μην καπνίζετε. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα υπάρχο.

ET: OHT: H225 Vága tuleohilik vedelli ja aur. H318 Pöhjustab rasked silmakahtustus. P280 Kanda kaitsekindlaid, kaitserõivastust, kaitseprillit. P210 Hoida eemal soojusallikast, kuumadest pindadest, säädemestest, leekidest ja muudest süüteliklastest. Mitte sättestada. P305+P351+P338+P315 SILMA SATTUMISE KORRAL: loputada mitme minut jooksul ettevatalikult veega. Eemaldada kontaktlaatist, kui neid kasutatakse ja kui neid on kerge eemaldada. Loputada veel kord.Võtta viivitamata ühendust MÜRGISTUSTEABEKESKUSE välti arstiga.

FI: VAARA. H225 Helposti syttvää neste ja höyry. H318 Vaurioittaa vakaasti silmiä. P280 Käytää suojauskäsinäytä, suojaavatustuta, silmien suojausjäntä. P210 Suoja lämmöltä, kuumilla pinnilla, kipinöiltä, avotulelta ja muulta sytytyslähteestä. Tupakointi kieltelyt. P305+P351+P338+P315 JOS KEMIKAAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista mahdoliset piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. Ota välittömästi yhteytes MYRKYTYSTIETOKSEKUUN laikakäin.

HR: OPASNOST. H225 Lako zapaljiva tekućina i para. H318 Uzrokuje teške ozljede oka. P280 Nosit zaštitne rukavice, zaštitno odijelo, zaštitu za oči. P210 Čuvati odvojeno od topline, vrućih površina, iskra, otvorenenog plamenja i drugih izvora paljenja. Zabranjeno pušenje. P305+P351+P338+P315 SLUCAJU DODIRA S OCIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispirati. Odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika.

HU: VESZÉLY. H225 Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gáz. H318 Súlyos szemkárosodás okoz. P280 Védezőkesztyű. Védőruha. Szemvérd használata kötelező. P210 Hőtől, forró felületektől, szíkról, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó. Tilos a dohányzás. P305+P351+P338+P315 SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tarto óvatos öblítés vizzel. Adott esetben a kontaktlencsét eltávolításra, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnali forduljon TOXIKOLOGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz.

JA: 危険. H225 引火性の高い液体及び蒸気。H318 重篤な眼の損傷。P280 保護手袋、保護衣、保護眼鏡を着用すること。P210 火、火花、裸火、高温のもののような着火源から遠ざけること。- 禁煙。P305+P351+P338+P315 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。ただちに毒物センターか医師に連絡すること。

KO: 위험. H225 고인화성 액체 및 증기. H318 눈에 심한 손상을 일으킴. P280 보호장갑, 보호의, 보안경 를(를) 착용하시오. P210 열,스파크,화염,뜨거운 표면으로부터 멀리하십시오 - 금연. P305+P351+P338+P315 눈에 들어가면: 몇 분간 물로 조심해서 씻으시오. 가능하면 콘택트 렌즈를 제거하시오. 계속 씻으시오. 즉시 해독 치료 센터 또는 의사 을(를) 부르시오.

LT: PAVOJUS. H225 Labai degūs skystis ir garai. H318 Smarkai pažeidžia akis. P280 Mūvėti apsaugines pŕstynes, dėvēti apsauginius drabužius, naudoti akių apsaugos priemones. P210 Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių, karštų paviršių, žiežių, atviro lietuose arba kitu degimo šaltiniu. Nerūkyti. T305+P351+P338+P315 PATEKUS | AKIS: atsargai plaut vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lešius, jeigu jei yra ir įejū lengvai galima tai padaryti. Toliau plaut akis. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMU KONTROLĘ IR INFORMACIJOS BIURĄ arba kreipkitis į gydytoją.

LV: VIEGĀ uzliesmojīgs skidrums un tvaiki. H318 Izraisa nopietnus obojājumus. P280 Izmanot aizsargcīmuds, aizsargdrēbus, acu aizsargātu. P210 Sārgāt no karstuma, karstām virsmām, dzirkstelēm, atlākās uguns un citiem aizdegšanās avotiem. Nesmēkēt. P305+P351+P338+P315 SASKARĒ AR ACIM: Uzmanīgi izskalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ieievotas un ja to var vienkārši izdarīt. Turpināt skālnot. Nekavējoties sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU vai aršu.

NL: TVERTNI STINGRI NOSLÉGT. H225 Licht ontvlambare vloeistof en damp. H318 Veroorzaakt ernstig oogletsel. P280 Draag beschermende handschoenen, beschermende kleding, oogbescherming. P210 Verwijderd houden van warmte, hete oppervlakken, vonken, open vuur en andere ontstekingsbronnen. Niet roken. P305+P351+P338+P315 BIJ CONTACT MET DE OGEN: voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten; contactlenzen verwijderen, indien mogelijk; blijven spoelen. Onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts raadplegen.

NO: DANGER. H225 Meget brannfarlig væske og damp. H318 Gil avlørlig øyeskade. P280 Benytt vernehansker, verneklaer, vernebriller. P210 Holdes vekk fra varme, varme overflater, gnister, åpenild og andre antenningskilder. Røyking forbudt. P305+P351+P338+P315 VED KONTAKT MED ØYENE: Skjøl forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSENTER eller lege.

PL: NIEBEZPIECZENSTWO. H225 Wysoce łatwopalna ciecz i par. H318 Powoduje poważne uszkodzenie oczu. P280 Stosować rękawice ochronne, ochronne, ochronę oczu. P210 Przechowywać z dala od źródła ciepła, gorących powierzchni, źródła iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić. P305+P351+P338+P315 W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są w moźdzu je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OSRÓDKIEM ZATRUCI lub lekarzem.

RO: PERICOL. H225 Lichid și vapori foarte inflamabili. H318 Provocă leziuni oculare grave. P280 Purtați mănuși de protecție, imbrăcăminte de protecție, echipament de protecție a ochilor. P210 A se păstra departe de surse de căldură, suprafete fierbinți, scânte, flăcă și alte surse de aprimire. Fumat interzis. P305+P351+P338+P315 ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHEI: Călită cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să călită. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ sau un medic..

RU: ОПАСНОСТЬ. H225 Легко воспламеняющаяся жидкость и пар. H318 Вызывает серьезные повреждения глаз. P280 Попытываться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз. P210 Беречь от тепла, искр, открытого огня, горячих поверхностей. Не курить. P305+P351+P338+P315 ПРИ ПОДАЧАМИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если это позволяет. Продолжать промывание глаз. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту.

SK: NEBEZPEČENSTVO. H225 Veľmi horľavá kvalapalina a par. H318 Spôsobuje väzne poškodenie očí. P280 Noste ochranné rukavice, ochranné okuliare. P210 Uchovávajte mimo dosahu tepla, horúčich povrchov, iskrov, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Neľačiť. Nie paliť. P305+P351+P338+P315 PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekárku.

SL: NEVARNOST. H225 Lahko vzljučiva tekočina in hlapi. H318 Povzroča hude poškodbe oči. P280 Nosit zaščitne rokavice, zaščitno oblike, zaščito za oči. P210 Hraniti ločeno od vročine, vročih površin, iskrov, odprtih ognja in drugih vročih vzorcev. Kajenje prepovedano. P305+P351+P338+P315 PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem. Takoj poklicite CENTER ZA ZASTRUPITVE ali zdravnika.

SR: OTACHOCT. H225 Lako zapaljiva tečnost i para. H318 Dovodi do teškog oštećenja očiju. P280 Positi zaštitne rukavice, zaštitno odeću, zaštitne naočare. P210 Držati dalje od izvora topote, varnica, otvorenenog plamenja, vrućih površina. - Zabranjeno pušenje. P305+P351+P338+P315 VED OČI: Ne kurtite. P305+P351+P338+P315 PRI PODAĆIMA U OČI: Pažljivo ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne sočive, kontaktni postoji i ukoliko je moguće učiniti. Nastaviti sa ispiranjem. Hitno pozvati CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili lekaru.

SV: FARÄ. H225 Mycket brandfarlig vätska och ånga. H318 Orsakar allvarliga ögonskador. P280 Använd skyddshandskar, skyddskläder, ögonskydd. P210 Får inte utsättas för värme, hetta ytor, gnistor, öppen låga eller andra antändningskällor. Rökning förbjuden. P305+P351+P338+P315 VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skjöl försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.

TR: TEHLİKƏ. H225 Kolay yanlevləri sıvı da buhar. H318 Gözlerin yanmasına nəzarət etmək, göz koruyucu qızafet, göz koruyucu qızafet, göz koruyucu qızafet, göz koruyucu qızafet. P210 İstədən, kvicimdan, alevden, sick yüzeylərden uzak tutun. - Sigara içməz. P305+P351+P338+P315 GÖZ İLE TEMASI HALİNDE: Sü ile birkaç dəfə dəlikdə durulur. Takılı ve yumrusu kolaya, kontak lensini çatırın. Durulamaya devam edin. ZEHİR MERKEZİNİ veya doktoru dəfələr arayın.

UK: НЕБЕЗПЕКА. H225 Легко згорливий рідина та випар. H318 Огін згоріє, коруючі квает, згоріє коруючі квает. P280 Надзвичайно захисні рукавички, захисний одяг, захисні окуляри. P210 Берегти подалі від тепла, гарячих поверхонь, іскор, відкритого популі та інших джерел займання. Не палити. P305+P351+P338+P315 У РАЗІ ПОТРАПЛЯННЯ В ОЧІ: Обережно промити водою протягом декількох хвилин. Зняти контактні лінзи, якщо вони використовуються та легко знімаються. Продовжити промивання. Негайно звернутися за першою медичною допомогою/до лікаря.

ZH: 危险. H225 高度易燃液体和蒸气. H318 造成严重眼损伤. P280 戴防护手套、穿防护服、戴防护眼罩。P210 远离热源，火花，明火，热表面. 禁止吸烟。P305+P351+P338+P315 如进入眼睛：用水小心冲洗几分钟。如戴隐形眼镜并可方便地取出，取出隐形眼镜。继续冲洗。立即呼叫 解毒中心/医生/..

Lugol, PVP-stabilized solution - 3674002A240

