

Kit Gram-Nicolle

REF. 364320-0000

Coloration différentielle des bactéries



IFU050B

Produit destiné à un usage strictement professionnel.

Veuillez lire attentivement l'ensemble de ces informations avant toute utilisation de ce dispositif.

Le contenu de la notice peut changer. Assurez-vous que vous possédez la dernière version disponible sur my.ral-diagnostics.fr.

Table des matières

Utilisation prévue.....	1
Principe.....	1
Description du kit.....	2
Stockage et conditions d'utilisation	2
Classification des dangers et informations relatives à la sécurité	2
Qualification du personnel	3
Équipement et réactifs spéciaux requis, mais non fournis.....	3
Procédure opératoire.....	3
Résultats escomptés.....	4
Performances	4
Contrôle qualité utilisateur.....	4
Autres produits	5
Recommandations, remarques et dépannage	5
Tableau des symboles et abréviations.....	6
Bibliographie.....	6

Suivi des modifications	6
Représentants légaux.....	6

Utilisation prévue

Le Kit Gram-Nicolle est destiné à être utilisé pour la coloration différentielle des bactéries avant un examen au microscope.

CellaVision RAL Diagnostics recommande le cas échéant d'utiliser les produits CellaVision RAL Diagnostics associés et ne saurait garantir les résultats escomptés en association avec d'autres marques de produits.

Principe

La coloration de Gram-Nicolle est une coloration différentielle basée sur la perméabilité de la paroi bactérienne. Dans cette technique, la paroi bactérienne n'est pas colorée mais sa structure permet de classer les bactéries en Gram-positives ou Gram-négatives.

La solution de Lugol permet la formation d'un complexe intracellulaire avec Carbolique Gentian Violet.

Une perméabilité plus importante de la paroi des bactéries Gram-négatives permet à l'alcool d'éliminer ce complexe. Les bactéries Gram-négatives peuvent fixer Ziehl Carbolique Fuchsin et apparaissent alors colorées en rose.

Les bactéries Gram-positives, caractérisées par une perméabilité de la paroi moins importante, ne sont pas décolorées par l'alcool, et restent colorées en violet.

Description du kit

Carbolic Gentian Violet

Solution violette limpide

REF. 364210-0240 1 X 240 mL

Lugol, PVP-stabilized solution

Solution brune limpide

REF. 364550-0240 1 X 240 mL

Fast differentiator (alcohol / acetone)

Solution incolore limpide

REF. 364430-0240 1 X 240 mL

Ziehl Carbolic Fuchsin 1/10

Solution rouge limpide

REF. 364540-0240 1 X 240 mL

Pour un lot spécifique, se reporter au certificat d'analyse correspondant disponible sur my.ral-diagnostics.fr.

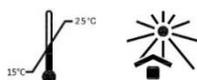
Stockage et conditions d'utilisation

Stockage et température d'utilisation : 15-25 °C.

Stockage et conditions d'utilisation : à l'abri de la lumière et des sources de chaleur.

Durée de conservation du flacon avant ouverture : se référer à la date de péremption figurant sur l'étiquette.

Durée de conservation du flacon après ouverture : se référer à la date de péremption figurant sur l'étiquette et, en présence du symbole « Durée de vie après ouverture », en tenir compte également.



Classification des dangers et informations relatives à la sécurité

Carbolic Gentian Violet

Étiquetage non applicable

Lugol, PVP-stabilized solution

Attention:

H373 - Risque présumé d'effets graves pour les organes (thyroïde) à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée (par ingestion).

P314 - Consulter un médecin en cas de malaise.

CONT | **KI**



Fast differentiator (alcohol / acetone)

Danger:

H225 - Liquide et vapeurs très inflammables.

H319 - Provoque une sévère irritation des yeux.

H336 - Peut provoquer somnolence ou vertiges.

P210 - Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.

P261 - Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.

P280 - Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux.

P312 - Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.

P337+P313 - Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.

CONT | CH3COCH3; Alcool isopropylique; Butanone



Ziehl Carbolic Fuchsin 1/10

Étiquetage non applicable

Qualification du personnel

Tous les échantillons et produits doivent être manipulés par du personnel qualifié et habilité, protégé par une protection individuelle ou collective, selon les directives nationales en vigueur dans les laboratoires. Le personnel doit également prendre connaissance de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquetage du produit et fiche de données de sécurité (disponibles sur my.ral-diagnostics.fr).

La procédure de diagnostic est strictement réservée au personnel qualifié et habilité, conformément aux procédures en vigueur au sein du laboratoire.

Équipement et réactifs spéciaux requis, mais non fournis

Lames de microscope, source de chaleur modérée (bec Bunsen ou plaque chauffante), le fixateur chimique (méthanol, éthanol à 95 °, acide acétique ou formol...).

Cet équipement peut être différent en fonction du protocole. Veuillez-vous référer au protocole envisagé (voir la section Procédure opératoire) afin de vous assurer que vous disposez du nécessaire pour réaliser les analyses.

Procédure opératoire

L'équipement utilisé pour le traitement des échantillons doit être conforme aux instructions d'utilisation du fournisseur.

Préparation des échantillons

Traiter les échantillons conformément aux procédures en vigueur dans le laboratoire et exigées par les autorités compétentes au niveau national.

Prétraitement de l'échantillon à partir de milieux de culture liquides : Prendre environ 300 à 400 µL de milieu de culture liquide (incluant quelques billes si possible) et verser ce volume dans un microtube. Centrifuger pendant 1 minute à 10 000 rpm et jeter le surnageant. Ajouter ensuite 2 à 3 gouttes de solution saline physiologique dans le microtube et agiter au vortex ou remuer avec un embout en boucle. L'échantillon est maintenant prêt à être étalé en couche.

Frottis bactérien manuel : former une pellicule fine de l'échantillon de bactéries et laisser la lame sécher à température ambiante. Ensuite, le frottis bactérien peut être fixé à l'aide d'une source de chaleur douce (bec Bunsen ou plaque chauffante) ou fixé chimiquement avec un fixateur chimique (méthanol, éthanol, acide acétique ou formol...)

N.B. Ne jamais passer à la flamme un frottis qui n'est pas complètement sec, cela pourrait provoquer des crépitements et la dissémination de bactéries (création d'aérosols).

Si nécessaire, les deux fixations peuvent être combinées.

Préparation des réactifs et instruments

Aucune préparation n'est requise. Les solutions sont prêtes à l'emploi.

Protocoles

Les étapes de coloration des protocoles indiqués ci-dessous consistent à couvrir de manière successive les lames avec les différents réactifs de coloration ou à tremper les lames dans les différents bains de coloration. Veuillez-vous référer au titre pour savoir dans quel cas vous vous trouvez. Pour la méthode par recouvrement, placez la lame sur un support avec un frottis fixé sur le dessus. Le temps de traitement prend uniquement en compte le temps de trempage dans les réactifs.

Protocole de coloration des frottis bactérien - Méthode de recouvrement manuel - Analyse manuelle au microscope

Temps de traitement [hh:mm:ss] : 00 :02 :32

Étapes	Réactif	Temps [mm:ss]	Indications
Colorer	Carbolic Gentian Violet	01:00	Peut être prolongé jusqu'à 5 min
Rincer	Liquide de rinçage	NA	Se débarrasser du réactif et éliminer l'excédant
Rincer	Lugol, PVP-stabilized solution	NA	Jet de Lugol pour éliminer l'eau de rinçage
Colorer	Lugol, PVP-stabilized solution	00:30	Peut être prolongé jusqu'à 1 min
Rincer	Liquide de rinçage	NA	Rincer minutieusement
Décolorer	Fast Differentiator	00:02	Peut être prolongé jusqu'à 5 secondes
Rincer	Liquide de rinçage	NA	Rapidement
Colorer	Ziehl Carbolic Fuchsin 1/10	01:00	NA
Rincer	Liquide de rinçage	NA	Rapidement
Sécher	NA	≥03:00	NA

Résultats escomptés

Bactéries Gram-positives : violet

Bactéries Gram-négatives : rose

Si les résultats observés diffèrent de ceux escomptés, contacter le service technique de CellaVision RAL Diagnostics par l'intermédiaire de votre fournisseur habituel pour recevoir une assistance.

Performances

Ce dispositif médical est conforme à l'état de l'art. Ses performances analytiques, sa validité scientifique et sa pertinence médicale sont évaluées lors de l'examen du marquage CE.

Afin de garantir les performances du produit, utiliser un équipement de laboratoire propre et sec.

Il incombe au laboratoire de notifier au fabricant et à l'autorité compétente au niveau régional/national tout incident grave lié à l'utilisation de ce dispositif médical.

Contrôle qualité utilisateur

Il incombe aux utilisateurs de déterminer les modes opératoires appropriés de contrôle qualité pour leur laboratoire et de se conformer aux réglementations de laboratoire applicables.

CellaVision RAL Diagnostics recommande d'utiliser un échantillon Gram positif et un échantillon Gram négatif pour le contrôle de qualité des réactifs lors du renouvellement des réactifs, pour chaque cycle de coloration ou au moins pour le premier cycle de coloration si une coloration est effectuée plusieurs fois par jour.

Ces lames peuvent être préparées à l'avance et fixées à la chaleur de manière appropriée pour le stockage.

Ce contrôle pourrait être effectué à l'aide d'échantillons Gram-positif et Gram-négatif provenant d'échantillons de patients identifiés ou à l'aide de souches Gram positives et Gram négatives connues (telles que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922). Les souches utilisées doivent être identifiées, éviter les espèces à Gram-variable.

Les résultats pour chaque type de cellules de la coloration doivent également être conformes aux résultats prévus indiqués dans ce manuel.

Ces contrôles qualité dépendent de l'autorisation du personnel qualifié.

Autres produits

Pour toute information, veuillez contacter votre fournisseur habituel.

Recommandations, remarques et dépannage

Aspect du produit

Si l'aspect du produit diffère de celui indiqué ci-dessus dans ce manuel, ne pas l'utiliser et contacter le service technique de CellaVision RAL Diagnostics par l'intermédiaire de votre fournisseur habituel pour obtenir de l'aide.

Remarques sur les procédures

Afin de prévenir la dégradation du produit, veuillez respecter les recommandations de stockage et de manipulation indiquées dans cette notice.

Kit Gram-Nicolle permet de traiter jusqu'à 300 lames.

L'ajout de Polyvinylpyrrolidone (PVP) à Lugol, PVP-stabilized solution, permet d'éviter la migration de l'iode et assure ensuite une stabilité satisfaisante des solutions conditionnées en flacons plastiques prêtes à l'emploi.

Le liquide de rinçage pour la coloration peut être de l'eau distillée, déminéralisée ou du robinet.

Stabilité du produit

Chaque produit CellaVision RAL Diagnostics est utilisable jusqu'à la date de péremption figurant sur le produit, dans son emballage d'origine et hermétiquement scellé.

Stabilité de la coloration

La qualité et la reproductibilité de la coloration dépendent de l'utilisation correcte des produits.

La coloration réalisée conformément à ces recommandations restera stable pendant plusieurs jours.

Instructions pour le nettoyage et l'élimination des déchets

Traiter tous les échantillons biologiques, effluents et consommables usagés comme potentiellement dangereux.



Pour éviter tout risque, appliquer les instructions suivantes : éliminer les échantillons, effluents et consommables conformément aux normes du laboratoire ainsi qu'aux normes et réglementations nationales et locales en vigueur.

L'enlèvement et le traitement des déchets chimiques et biologiques doivent être effectués par des entreprises spécialisées et agréées.

Tableau des symboles et abréviations

Selon le produit, vous pouvez trouver les symboles suivants sur le dispositif ou le matériel d'emballage.

Pictogrammes GHS	Interprétation	Symboles	Interprétation
	Explosif		Code du lot
	Inflammable		Numéro de série
	Comburant		Référence du catalogue
	Gaz sous pression		Date de fabrication
	Corrosif		Utiliser jusqu'à
	Toxique		Identification unique du dispositif
	Nocif ou irritant		Fabriquant
	Danger pour la santé		Importateur
	Danger pour l'environnement		Entité distribuant le dispositif médical dans la région concernée
	Étiquetage non applicable		Dispositif marqué CE
			Dispositif médical de diagnostic in vitro
			Représentant agréé de la communauté européenne
			Représentant agréé en Suisse
			Conformes aux directives britanniques
			Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
			Conserver à l'abri de la lumière. Craint la chaleur
			Limite de température : 15-25°C
			Limite de température : 15-30°C
			Conserver à l'abri de l'humidité
			Boîte : manutention vers le haut
			Fragile
			Stérilisé par irradiation
			Système de barrière stérile unique avec emballage de protection externe
			Combinaison de protection stérile et stérilisée par radiation
			Ne pas réutiliser
			Ne pas stériliser de nouveau
			Contenu suffisant pour n tests
			Matière dangereuse contenue
			Consulter les instructions d'utilisation
			Utilisation
			Après ouverture utiliser dans les XX mois
			Ne pas utiliser le produit en conjonction avec une machine de coloration automatique
			Dispositif médical contenant des substances potentiellement cancérigènes, mutagènes ou reprotoxiques (CMR), ou des substances classées comme perturbateurs endocriniens

Bibliographie

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

GENEVA WORLD HEALTH ORGANIZATION, *Manual of basic techniques for a health laboratory*, n°39, 1982, p. 231-234.

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.

Suivi des modifications

Date	Version	Modifications
06/2023	IFU050B	Révision de l'entête et des paragraphes suivants: Stockage et conditions d'utilisation, Classification des dangers et informations relatives à la sécurité, Procédure opératoire et Recommandations, remarques et dépannage. Adjonction des représentants légaux et du logo GMED
05/2022	IFU050A	Conformité à l'IVDR (UE) 2017/746

Représentants légaux

Pays	Adresse
United Kingdom (UK-REP)	QAVIS UK Ltd, company N° SC679796, 56-66 Frederick Street Edinburgh, EH21LS, United Kingdom
Switzerland (CH-REP)	MedEnvoy Switzerland, Gotthardstrasse 28, 6302 Zug Switzerland