

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Microscopy

Lugol's solution stabilized with PVP

for the Gram staining method

Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution)

for the Gram staining method

For professional use only

IVD In Vitro Diagnostic Medical Device



Intended purpose

These "Lugol's solution stabilized with PVP - for the Gram staining method" and "Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution) - for the Gram staining method" are used for human-medical cell diagnosis and serve the purpose of the bacteriological investigation of sample material of human origin. They are ready-to-use solutions these when used together with other *in vitro* diagnostic products from our portfolio make bacterial target structures evaluable for diagnostic purposes (Gram-positive or Gram-negative bacteria) by fixing, staining, counterstaining, mounting in bacteriological specimen materials, e.g. smears of body fluids.

Unstained structures are relatively low in contrast and are extremely difficult to distinguish under the light microscope. The images created using the staining solutions help the authorized and qualified investigator to better define the form and structure in such cases. Further tests must be carried out according to recognized, valid methods to reach a definitive diagnosis.

Principle

In bacteriology, the Gram staining allows a fast differentiation of bacteria in Gram-positive and Gram-negative.

The mureine structure of the bacteria wall is the basis of the color affinity. In the first step, bacteria will be stained with crystal violet, an aniline dye. After the treatment with iodine solution (Lugol's solution), a dye-iodine complex will form. During the decolorizing step, this complex stays in the multilayer mureine structure of the cell wall of Gram-positive bacteria - they will appear blue-violet.

Gram-negative bacteria, by contrast, have a cell wall consisting of a single-layered murein structure, and correspondingly re-release the staining dye with the decolorizing solution. Gram-negative bacteria will be counterstained with safranin solution and will then appear pink to red.

Sample material

Body fluids, exudate, pus, liquid or solid cultures

Reagents

Cat. No. 1.00567
 Lugol's solution stabilized with PVP for the Gram staining method 1 l, 2.5 l

Cat. No. 1.09261
 Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution) for the Gram staining method 1 l, 2.5 l

Also required:

Cat. No. 1.09217 Gram's safranin solution for the Gram staining method 500 ml, 2.5 l
 Cat. No. 1.09218 Gram's crystal violet solution for the Gram staining method 500 ml, 2.5 l
 Cat. No. 1.10218 Gram's decolorizing solution for the Gram staining method 500 ml, 2.5 l

Alternatively:

Instead of the combination of single reagents, the staining kit 1.11885.0001 can be used:

Cat. No. 1.11885.0001
 Gram-Color
 stain set for the Gram staining method

1 set

Sample preparation

The sampling must be performed by qualified personnel.

Apply the specimen material to a clean and grease-free slide using an annealed loop. Then smear the material either directly onto the slide or first mix with 1 - 2 drops of physiological saline solution (Ringer's solution). Air-dry and then heat-fix by slowly drawing the slide (smear side facing up) through the upper part of the Bunsen-burner flame for three times. Subsequently, allow to cool and stain.

The air-dried smears must be heat-fixed very carefully. This prevents the risk of infections and reduces the dissolution of specimen material and thus, the contamination of solutions and other slides.

All samples must be treated using state-of-the-art technology.

All samples must be clearly labeled.

Suitable instruments must be used for taking samples and their preparation. Follow the manufacturer's instructions for application / use.

When using the corresponding auxiliary reagents, the corresponding instructions for use must be observed.

Reagent preparation

The Lugol's solution stabilized with PVP - for the Gram staining method and Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution) - for the Gram staining method used for staining are ready-to-use, dilution of the solutions is not necessary and merely produces a deterioration of the staining result and their stability.

Procedure

Staining in the staining cell

It is recommended to dilute the Gram's crystal violet solution 1:3 with distilled water, if the immersion method is used.

The slides must be immersed and moved about in the solutions, simple immersion alone yields inadequate staining results.

The slides should be allowed to drip off well after the individual staining steps as a measure to avoid any unnecessary cross-contamination of solutions.

The stated times should be adhered to in order to guarantee an optimal staining result.

Slide with fixed smear	
Gram's crystal violet solution	1:30 min
Running tap water	30 sec
Lugol's solution*	3 min
Running tap water	20 sec
Gram's decolorizing solution**	5 - 10 sec
Running tap water	30 sec
Gram's safranin solution	1 min
Running tap water	1 min
Air-dry (e. g. over night or at 50 °C in the drying cabinet)	

* filter Lugol's solution after 3 runs

** discard Gram's decolorizing solution after 5 runs

Staining on the staining rack

Slide with fixed smear		
Gram's crystal violet solution	cover completely and leave to react	1 min
Lugol's solution	rinse briefly	
Lugol's solution	cover completely and leave to react	1 min
Distilled water	wash carefully	5 sec
Gram's decolorizing solution	carefully swirl the slides until no further clouds of dye are produced and the smear takes on a grey-blue color	10 - 15 sec
Distilled water	wash carefully	5 sec
Gram's safranin solution	cover completely and leave to react	1 min
Distilled water	wash carefully	5 sec
Air-dry (e. g. over night or at 50 °C in the drying cabinet)		

Covering with non-aqueous mounting media (e.g. Neo-Mount™ or Entellan™) and a cover glass is recommended for the storage of bacteriological specimens for several months. For this purpose, the stained specimens must be dried very well.

The use of immersion oil is recommended for the analysis of stained slides with a microscopic magnification >40x.

Staining in the automatic stainer

Staining in automated staining systems can be performed according to the protocol of the staining in the staining cell.

Result

Gram-positive microorganisms	blue-violet
Gram-negative microorganisms	pink to red

Trouble-shooting

Fixation of smear samples

A sufficient degree of heat-fixing using a Bunsen burner or in a heating cabinet is essential to prevent the infectious potential of the specimens and further proliferation of the bacteria.

No staining of the gram-positive bacteria

The critical stage of the Gram-staining procedure is the decolorizing step, which can be influenced by the thickness of the smear. In addition, a fresh decolorizing solution is highly reactive, which is why the result should be evaluated with care. During the decolorizing step, the user should stick to the exact incubation times described in the protocol, since otherwise false-negative results may result.

Technical notes

The microscope used should meet the requirements of a medical diagnostic laboratory.

When using automatic staining systems, please follow the instructions for use supplied by the supplier of the system and software.

Remove surplus immersion oil before filing.

Analytical performance characteristics

"Lugol's solution stabilized with PVP" and "Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution)" aid in the microscopic examination of biological structures as described in the "Intended purpose" of this IFU. The use of the products is only to be carried out by authorized and qualified persons, this includes, among other things, sample and reagent preparation, sample handling, decisions regarding suitable controls and more.

The analytical performance of the products is confirmed by testing each production batch.

For the following stains, the analytical performance was confirmed in terms of specificity, sensitivity and repeatability of the product with a rate of 100 %:

Cat. No. 1.00567 - Lugol's solution stabilized with PVP

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
Gram staining				
Gram-positive microorganisms	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-negative microorganisms	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytical performance results

Cat. No. 1.09261 - Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution)

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
Gram staining				
Gram-positive microorganisms	20/20	20/20	7/7	7/7
Gram-negative microorganisms	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytical performance results

Intra- (performed on the same batch) and inter-assay (performed on different batches) data list the number of correctly stained structures in relation to the number of performed assays.

The results of this Performance Evaluation confirms that the products are suitable for the intended use and perform reliably.

Diagnostics

Diagnoses are to be made only by authorized and qualified personnel. Valid nomenclatures must be used.

This method can be supplementarily used in human diagnostics.

Further tests must be selected and implemented according to recognized methods.

Suitable controls should be conducted with each application in order to avoid an incorrect result.

The staining set may be controlled with Gram-positive bacteria and Gram-negative bacteria.

Bacteria taken from a culture medium after 18 - 24 hours of incubation should be used.

Storage

Store the Lugol's solution stabilized with PVP - for the Gram staining method and Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution) - for the Gram staining method at +15 °C to +25 °C.

At temperatures below 15 °C a colored precipitate may settle out of the staining solutions. If precipitation has occurred, place the bottle for 2 - 3 hours in a water bath set at approx. 60 °C. This will re-dissolve most of the precipitate. Subsequently, filter the staining solutions through a paper filter.

Shelf-life

The Lugol's solution stabilized with PVP - for the Gram staining method and Lugol's solution (diluted iodine-potassium iodide solution) - for the Gram staining method can be used until the stated expiry date.

After first opening of the bottle, the contents can be used up to the stated expiry date when stored at +15 °C to +25 °C.

The bottles must be kept tightly closed at all times.

Capacity

approx. 250 stainings / 500 ml

Additional instructions

For professional use only.

In order to avoid errors, the application must be carried out by qualified personnel only.

National guidelines for work safety and quality assurance must be followed. Microscopes equipped according to the standard must be used.

If necessary use a standard centrifuge suitable for medical diagnostic laboratory.

Protection against infection

Effective measures must be taken to protect against infection in line with laboratory guidelines.

Instructions for disposal

The package must be disposed of in accordance with the current disposal guidelines.

Used solutions and solutions that are past their shelf-life must be disposed of as special waste in accordance with local guidelines. Information on disposal can be obtained under the Quick Link "Hints for Disposal of Microscopy Products" at www.microscopy-products.com. Within the EU the currently applicable REGULATION (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006 applies.

Auxiliary reagents

Cat. No. 1.04699	Immersion oil for microscopy	100-ml dropping bottle, 100 ml, 500 ml
Cat. No. 1.07960	Entellan™ rapid mounting medium for microscopy	500 ml
Cat. No. 1.07961	Entellan™ new rapid mounting medium for microscopy	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. No. 1.09016	Neo-Mount™ anhydrous mounting medium for microscopy	100-ml dropping bottle, 500 ml
Cat. No. 1.09217	Gram's safranin solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l
Cat. No. 1.09218	Gram's crystal violet solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l
Cat. No. 1.10218	Gram's decolorizing solution for the Gram staining method	500 ml, 2.5 l
Cat. No. 1.11885	Gram-Color stain set for the Gram staining method	1 set

Hazard classification

Cat. No. 1.09261

Cat. No. 1.00567

Please observe the hazard classification printed on the label and the information given in the safety data sheet.

The safety data sheet is available on the website and on request.

Cat. No. 1.00567

CAUTION! Contains CMR substances. Please observe the corresponding safety instructions given in the safety data sheet.

Main components of the products

Cat. No. 1.00567

PVP-Iodine 50 g/l
KI 10 g/l
1 l = 1.02 kg

Cat. No. 1.09261

I₂ 3.4 g/l
KI 6.8 g/l
1 l = 1.01 kg

General remark

If during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorised representative and to your national authority.

Literature

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 Edition

Cat. No. 1.00567



H318: Causes serious eye damage.

H360D: May damage the unborn child.

H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.

P202: Do not handle until all safety precautions have been read and understood.

P273: Avoid release to the environment.

P280: Wear eye protection/ face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P308 + P313: IF exposed or concerned: Get medical advice/ attention.

P405: Store locked up.

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Jul-24	Initial version with the introduction of Revision History
2025-Oct-29 V.1	Update of Hazard classification. Addition of new symbol and H&P sentences.



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2025-Oct-29 V.1

MilliporeSigma is the U.S. and Canada Life Science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. MilliporeSigma and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly available resources.



EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803,
USA, Tel. +1-978-715-4321
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario,
L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400
www.sigmaaldrich.com

**MILLIPORE
SIGMA**

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

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 des 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 violette. 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. 1.00567
 Solution de Lugol stabilisée avec PVP pour la coloration selon Gram 1 l, 2,5 l

Art. 1.09261
 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. 1.09217	Safranine en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Violet cristallisé en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	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 prenne 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.

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.

Caractéristiques de performance analytique

Les présents réactifs auxiliaires « Solution de Lugol stabilisée avec PVP » et « Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée) » facilitent l'examen au microscope des structures biologiques comme décrit dans « Objectif prévu » du présent mode d'emploi. Ces produits ne doivent être utilisés que par des personnes agréées et qualifiées, ce qui englobe notamment la préparation des échantillons et des réactifs, la manipulation des échantillons, la prise de décisions en matière de contrôles appropriés et autres.

La performance analytique des produits est confirmée via l'analyse de chaque lot de production.

Pour les colorants suivants, la performance analytique a été confirmée au niveau des spécificité, sensibilité et répétabilité du produit avec un taux de 100 % :

Art. 1.00567 - Solution de Lugol stabilisée avec PVP

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration de Gram				
Microorganismes Gram-positives	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganismes Gram-négatives	20/20	20/20	7/7	7/7

Résultats de la performance analytique

Art. 1.09261 - Solution de Lugol (Iode et iodure de potassium en solution diluée)

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration de Gram				
Microorganismes Gram-positives	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganismes Gram-négatives	20/20	20/20	7/7	7/7

Résultats de la performance analytique

Les données des essais intra-lot (au sein du même lot) et inter-lot (sur différents lots) répertorient le nombre de structures dont la coloration est appropriée en relation avec le nombre d'essais effectués.

Les résultats de cette évaluation de performance confirment que les produits sont appropriés à l'usage prévu et peuvent être utilisés de manière fiable.

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. 1.04699 Huile pour immersions pour la microscopie

flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml

Art. 1.07960 Entellan™ produit de montage rapide pour la microscopie

500 ml

Art. 1.07961	Entellan™ néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte- gouttes de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09217	Safranine en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Violet cristallisé en solution selon Gram pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Solution de décoloration selon GRAM pour la coloration selon Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.11885	Gram-Color Set de coloration pour la coloration de Gram	1 set

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Jul-24	Version initiale avec l'introduction de l'historique des révisions
2025-Oct-29 V.1	Mise à jour de la classification des dangers. Ajout d'un nouveau symbole et des phrases H et P.

Classification des matières dangereuses

Art. 1.09261

Art. 1.00567

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.

Art. 1.00567

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. 1.00567

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

Art. 1.09261

I₂ 3,4 g/l
KI 6,8 g/l
1 l = 1,01 kg

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 Edition

Art. 1.00567



H318 : Provoque de graves lésions des yeux.

H360D: Peut nuire au fœtus.

H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P202: Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.

P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.

P280 : Porter un équipement de protection des yeux/ du visage.

P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P308 + P313: En cas d'exposition prouvée ou suspectée: Consulter un médecin.

P405: Garder sous clef.



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: 2025-Oct-29 V.1

MilliporeSigma est le nom de l'activité Life Science américaine et canadienne de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne et/ou ses sociétés affiliées. Tous droits réservés. MilliporeSigma et Sigma-Aldrich sont des marques de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne. Toutes les autres marques citées appartiennent à leurs propriétaires respectifs. Des informations détaillées sur les marques sont disponibles via des ressources accessibles au public.



EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803,
USA, Tel. +1-978-715-4321
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario,
L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400
www.sigmaaldrich.com

**MILLIPORE
SIGMA**

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Microscopía

Solución de Lugol estabilizada con PVP

para la tinción de Gram

Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico)

para la tinción de Gram

Solamente para uso profesional

IVD Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Finalidad prevista

Las presentes "Solución de Lugol estabilizada con PVP - para la tinción de Gram" y "Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico) - para tinción de Gram" son utilizadas para el diagnóstico celular en la medicina humana y se emplean en el examen bacteriológico de muestras de origen humano. Hay soluciones listas para el uso que, junto con otros materiales de diagnóstico *in vitro* pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino bacterianas (bacterias Gram positivas y Gram negativas) mediante fijación, tinción, contratinción, montaje en material de examen bacteriológico, como pueden ser frotis de líquidos corporales.

Las estructuras sin teñir son relativamente pobres en contrastes y apenas si pueden diferenciarse bajo el microscopio óptico. Las imágenes generadas con ayuda de las soluciones de tinción permiten a un examinador autorizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Para un diagnóstico final deben realizarse pruebas más complejas según métodos reconocidos y válidos.

Principio

El método de tinción de Gram permite realizar con rapidez una diferenciación entre bacterias Gram positivas y Gram negativas.

El comportamiento de las bacterias respecto a la tinción depende de la estructura de las paredes celulares de las bacterias. Durante la tinción de Gram, las bacterias son teñidas con violeta cristal, un colorante de anilina. Después del tratamiento con solución de yodo (solución de Lugol) se produce un complejo de colorante y yodo. La red de mureína de varias capas que presentan las paredes celulares Gram positivas evita la lixiviación del complejo de colorante y yodo durante el paso de descoloración, las bacterias conservan su tinción azul violeta. Contrariamente a esto, las bacterias Gram negativas disponen de una pared celular compuesta por una red de mureína con una sola capa, por lo que devuelven el colorante con la solución de descoloración. Las bacterias Gram negativas son teñidas de color rosa a rojo por medio de una contratinción con solución de safranina.

Material de las muestras

Líquidos corporales, exudados, pus, material de colonias líquido o sólido

Reactivos

Art. 1.00567
 Solución de Lugol estabilizada con PVP 1 l, 2,5 l
 para la tinción de Gram

Art. 1.09261
 Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico) 1 l, 2,5 l
 para la tinción de Gram

Necesario además:

Art. 1.09217	Safranina en solución según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Violeta cristal en solución según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Solución decolorante según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l

Alternativamente:

En lugar de la combinación de los reactivos sueltos puede utilizarse también el kit de tinción 1.11885.0001:

Art. 1.11885.0001	Gram-Color	1 set
Equipo de tinción para la tinción de Gram		

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado.

El material de ensayo es aplicado en un portaobjetos exento de grasa sirviéndose de un asa bacteriológica esterilizada al rojo vivo. A continuación se extiende y se le realiza un frotis, directamente o con 1 a 2 gotas de solución fisiológica de cloruro sódico (solución de Ringer). Después del secado al aire se efectúa la termofijación haciendo pasar el frotis (con el lado del frotis mirando hacia arriba) tres veces lentamente a través de la parte superior de la llama del mechero de Bunsen. Después, esperar hasta que se haya enfriado y teñir.

Los frotis secados al aire han de ser termofijados con gran esmero. Esto impide que haya peligro de infección y reduce el desplazamiento de material por flotación y, debido a esto, la contaminación de soluciones y otros portaobjetos.

Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología. Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.

Deben usarse instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación / el empleo.

Al usar los correspondientes reactivos auxiliares deberán tenerse en cuenta las respectivas instrucciones de empleo.

Preparación del reactivo

Las Solución de Lugol estabilizada con PVP - para la tinción de Gram y Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico) - para tinción de Gram para los procesos de tinción están listas para el uso, la dilución de las soluciones no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

Técnica

Tinción en la cubeta de tinción

En caso de tinción por el procedimiento de inmersión se recomienda diluir la Violeta cristal en solución según Gram con agua destilada en relación 1:3.

Los portaobjetos han de ser inmersos y movidos en las soluciones, la simple introducción proporcionará resultados de tinción insuficientes.

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

Para conseguir un óptimo resultado de tinción, deberían respetarse los períodos indicados.

Portaobjetos con frotis fijado	
Violeta cristal en solución según Gram	1:30 minutos
Agua corriente del grifo	30 segundos
Solución de Lugol*	3 minutos
Agua corriente del grifo	20 segundos
Solución decolorante según Gram**	5 - 10 segundos
Agua corriente del grifo	30 segundos
Safranina en solución según Gram	1 minuto
Agua corriente del grifo	1 minuto
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)	

* filtrar la Solución de Lugol después de 3 ciclos

** desechar la Solución decolorante según Gram después de 5 ciclos

Tinción en el banco de tinción

Portaobjetos con frotis fijado		
Violeta cristal en solución según Gram	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Solución de Lugol	enjuagar brevemente	
Solución de Lugol*	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Agua destilada	lavar con cuidado	5 segundos
Solución decolorante según Gram	mover el portaobjetos con cuidado hasta que ya no se desprendan nubes de color y el frotis tenga un aspecto gris azulado	10 - 15 segundos
Agua destilada	lavar con cuidado	5 segundos
Safranina en solución según Gram	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Agua destilada	lavar con cuidado	5 segundos
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)		

Para el almacenamiento de preparados bacteriológicos durante varios meses se recomienda el montaje con medios de montaje anhidros (p. ej. Neo-Mount™ o Entellan™) y cubreobjetos. Para ello, los preparados han de ser secados con gran esmero.

Para el análisis de preparados teñidos con un aumento microscópico >40x se recomienda el uso de aceite de inmersión.

Tinción en el aparato automático de tinción

La tinción en un aparato automático de tinción puede ser realizada de la misma manera que la tinción en una cubeta de tinción.

Resultado

Microorganismos Gram positivos violeta azulado
Microorganismos Gram negativos rosa a rojo

Localización de errores

Fijación de preparados de frotis

Es importante realizar una termofijación suficiente por medio de un mechero Bunsen o en un armario de calor para eliminar el potencial infeccioso de los preparados y evitar que las bacterias sigan creciendo.

Ninguna tinción de bacterias Gram positivas

El paso crítico en la tinción de Gram es el paso de descoloración, que puede ser influenciado por el espesor del frotis. Por lo demás, una solución decolorante fresca es muy reactiva, por lo que el resultado debería ser evaluado cuidadosamente. Durante la descoloración, los tiempos indicados aquí deberían ser respetados con máxima exactitud, ya que de lo contrario se podrían presentar resultados incorrectamente negativos.

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.

Si se utilizan aparatos automáticos de tinción, deberán tenerse en cuenta las instrucciones de operación del fabricante, tanto del aparato como del software.

Eliminar el aceite de inmersión en exceso antes de archivar.

Características de rendimiento analítico

Los reactivos auxiliares presentes "Solución de Lugol estabilizada con PVP" y "Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico)" facilitan el examen microscópico de estructuras biológicas como se describe en la "Finalidad prevista" en esta instrucción de uso. Solo deben utilizar los productos personas autorizadas y cualificadas. Esta utilización incluye, entre otras actividades, la preparación de muestras y reactivos, la manipulación de muestras, as decisiones relativas a los controles adecuados, etc.

El rendimiento analítico de los productos se confirma analizando cada lote de producción.

En el caso de las siguientes tinciones, se confirmó el rendimiento analítico en términos de especificidad, sensibilidad y repetibilidad del producto, con una tasa del 100 %:

Art. 1.00567 - Solución de Lugol estabilizada con PVP

	Especificidad interensayos	Especificidad interensayos	Especificidad intraensayos	Especificidad intraensayos
Tinción de Gram				
Microorganismos Gram positivos	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganismos Gram negativos	20/20	20/20	7/7	7/7

Resultados de rendimiento analítico

Art. 1.09261 - Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico)

	Especificidad interensayos	Especificidad interensayos	Especificidad intraensayos	Especificidad intraensayos
Tinción de Gram				
Microorganismos Gram positivos	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganismos Gram negativos	20/20	20/20	7/7	7/7

Resultados de rendimiento analítico

Los datos intraensayos (realizados en el mismo lote) e interensayos (realizados en diferentes lotes) enumeran las estructuras correctamente teñidas en relación con el número de ensayos realizados.

Los resultados de esta evaluación de rendimiento confirman la aptitud de los productos para el uso previsto, así como su fiabilidad de funcionamiento.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas.

Deberán emplearse terminologías vigentes.

Este método debe aplicarse complementariamente en el diagnóstico humano. Deberán elegirse y realizarse ensayos posteriores según métodos reconocidos.

Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos.

Los controles del kit de tinción pueden realizarse con bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas. Para ello deben utilizarse cultivos procedentes de medios de cultivo incubados durante 18 - 24 horas.

Almacenamiento

Guardar las Solución de Lugol estabilizada con PVP - para la tinción de Gram y Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico) - para tinción de Gram de +15 °C a +25 °C.

A temperaturas inferiores a 15 °C puede precipitar colorante de las soluciones de tinción. En tal caso han de colocarse los frascos durante 2 - 3 horas en un baño de agua aprox. 60 °C. De esta manera se redissuelve la mayor parte de los precipitados de colorantes. Las soluciones de tinción deben filtrarse seguidamente a través de un papel de filtro.

Estabilidad

Las Solución de Lugol estabilizada con PVP - para la tinción de Gram y Solución de Lugol (solución diluida de yodo y yoduro potásico) - para tinción de Gram pueden ser utilizadas hasta la fecha de caducidad indicada.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +15 °C y +25 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.

Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

Capacidad

aprox. 250 tinciones / 500 ml

Notas sobre el empleo

Solamente para uso profesional.

Para evitar errores, la aplicación debería ser realizada por personal especializado.

Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad.

Deben emplearse microscopios equipados de acuerdo con el estándar.

Si es necesario, deberá utilizarse una centrifugadora que corresponda al estándar de laboratorios y a las exigencias.

Protección contra infecciones

Debe observarse a toda costa una protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de laboratorio.

Indicaciones para la eliminación de residuos

El envase debe ser eliminado de acuerdo con las directivas válidas de eliminación de residuos.

Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación bajo el Quick Link "Hints for Disposal of Microscopy Products" en www.microscopy-products.com. Dentro de la UE tiene validez el REGLAMENTO (CE) Nº 1272/2008 sobre la clasificación, el etiquetado y el envasado de sustancias y mezclas, por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) Nº 1907/2006.

Reactivos auxiliares

Art. 1.04699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07960	Entellan™ medio de montaje rápido para microscopía	500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l

Art. 1.09016	Neo-Mount™ medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09217	Safranina en solución según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Violeta cristal en solución según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Solución decolorante según Gram para la tinción de Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.11885	Gram-Color Equipo de tinción para la tinción de Gram	1 set

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.09261

Art. 1.00567

Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad.

La ficha de seguridad está disponible en el sitio web y a solicitud.

Art. 1.00567

¡ATENCIÓN! Contiene sustancias CMR. Por favor, respete los avisos de seguridad correspondientes en la ficha de datos de seguridad.

Componentes principales de los productos

Art. 1.00567

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

Art. 1.09261

I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l =	1,01 kg

Aviso general

Si se produce un incidente grave durante el uso o a causa del mismo, sírvase informar al fabricante y/o a su apoderado y a su autoridad nacional.

Literatura

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

Art. 1.00567



H318: Provoca lesiones oculares graves.

H360D: Puede dañar al feto.

H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P202: No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.

P273: Evitar su liberación al medio ambiente.

P280: Llevar equipo de protección para los ojos/ la cara.

P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

P308 + P313: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.

P405: Guardar bajo llave.

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Jul-24	Versión inicial con la introducción del Historial de revisiones
2025-Oct-29 V.1	Se ha actualizado la clasificación de los peligros. Se ha añadido un nuevo símbolo y frases H&P.



Observe las instrucciones de uso



Fabricante



Número de catálogo



Código del lote



Atención, observar la documentación pertinente



Utilizable hasta AAAA-MM-DD



Delimitación de la temperatura

Status: 2025-Oct-29 V.1

MilliporeSigma es la unidad Life Science de los Estados Unidos y Canadá de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Alemania y/o sus filiales. Todos los derechos reservados. MilliporeSigma y Sigma-Aldrich son marcas comerciales de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios. Tiene a su disposición información detallada sobre las marcas comerciales a través de recursos accesibles al público.



EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario, L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400
www.sigmaaldrich.com

**MILLIPORE
SIGMA**

1.00567.1000 **REF**
 1.00567.2500
 1.09261.1000
 1.09261.2500

Microscopia

Soluzione Lugol stabilizzata con PVP

per la colorazione di Gram

Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro)

per la colorazione di Gram

Solo per uso professionale

IVD Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*



Scopo previsto

I presenti "Soluzione Lugol stabilizzata con PVP - per la colorazione di Gram" e "Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro) - per la colorazione di Gram" sono utilizzati per la diagnostica cellulare nell'uomo e servono per l'esame batteriologico di campioni di origine umana. Ci sono soluzioni pronte all'uso che, congiuntamente ad altri prodotti diagnostici *in vitro* del nostro portafoglio, consentono l'analisi diagnostica delle strutture bersaglio batteriche (batteri Gram-positivi e Gram-negativi) mediante fissaggio, colorazione, controcolorazione, montaggio nei campioni batteriologici, quali ad esempio strisci di liquidi corporei.

Le strutture non colorate presentano un contrasto relativamente poco marcato e sono difficili da distinguere al microscopio ottico. In virtù delle immagini ottenute con le soluzioni di colorazione, il ricercatore autorizzato e qualificato è in grado di distinguere in modo più preciso la forma e la struttura. Per una diagnosi definitiva devono essere eseguiti ulteriori test avvalendosi di metodi validi e riconosciuti.

Principio

La colorazione di Gram consente di distinguere rapidamente i batteri tra Gram-positivi e Gram-negativi.

Il comportamento dei batteri alla colorazione è determinato dalla struttura delle pareti cellulari degli stessi.

Con la colorazione di Gram, i batteri vengono colorati con cristallo violetto, un colorante all'anilina. Dopo il trattamento con soluzione di iodio (soluzione di Lugol), si forma un complesso colorante-iodio. La parete cellulare composta da più strati di mureina dei batteri Gram-positivi impedisce lo scolorimento del complesso colorante-iodio nella fase di decolorazione e i batteri conservano la colorazione blu-violetto.

Al contrario, i batteri Gram-negativi hanno una parete cellulare costituita da uno strato di mureina e possono sbiadirsi con la soluzione di decolorazione. I batteri Gram-negativi vengono colorati da rosa a rosso attraverso la contro-colorazione con soluzione di safranina.

Materiale d'esame

Liquidi corporei, essudato, materiale purulento, altro materiale liquido o in colonie

Reattivi

Art. 1.00567
Soluzione Lugol stabilizzata con PVP per la colorazione di Gram 1 l, 2,5 l

Art. 1.09261
Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro) per la colorazione di Gram 1 l, 2,5 l

Inoltre necessario:

Art. 1.09217	Safranina soluzione secondo Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Cristallvioioletto soluzione sec. Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Soluzione decolorante secondo Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l

In alternativa:

Al posto della combinazione dei reattivi singole può essere utilizzato anche il kit di colorazione 1.11885.0001:

Art. 1.11885.0001	Gram-Color	1 set
Set di colorazione per la colorazione di Gram		

Preparazione dei campioni

Il campionamento deve essere effettuato da personale specializzato.

Il materiale da analizzare viene sparso con un'ansa sterile su un portaoggetti sgrassato. Poi viene distribuito e disteso, direttamente o con 1 - 2 gocce di soluzione fisiologica di cloruro di sodio (soluzione Ringer). Dopo aver lasciato asciugare all'aria si procede alla fissazione a caldo, la quale avviene passando lentamente per tre volte il vetrino attraverso la parte alta della fiamma del becco Bunsen (parte del vetrino portaoggetti col campione rivolta verso l'alto). In seguito lasciar raffreddare e colorare.

Gli strisci essiccati all'aria devono essere fissati molto accuratamente con il calore. In questo modo si previene il rischio di infezioni e si riduce l'allontanamento del materiale e la conseguente contaminazione delle soluzioni e di altri portaoggetti.

Tutti i campioni devono essere trattati secondo la tecnica standard vigente. Tutti i campioni vanno contrassegnati in modo tale da essere facilmente identificati.

Devono essere utilizzati strumenti adatti per il prelievo e la preparazione dei campioni; vanno osservate rigorosamente le indicazioni del produttore circa l'applicazione e le istruzioni d'uso.

Quando si utilizzano i reattivi ausiliari corrispondenti, osservare le relative istruzioni per l'uso.

Preparazione del reattivo

I Soluzione Lugol stabilizzata con PVP - per la colorazione di Gram e Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro) - per la colorazione di Gram sono pronte all'uso, non è richiesta la diluizione delle soluzioni, poiché compromette la colorazione e ne riduce la stabilità.

Esecuzione

Colorazione nella cuvetta di colorazione

Nella colorazione a immersione si consiglia una diluizione 1:3 della soluzione di Cristallvioioletto soluzione sec. Gram con acqua distillata.

I portaoggetti vanno immersi e fatti muovere nelle soluzioni; la semplice immersione non produce risultati soddisfacenti.

I portaoggetti vanno fatti sgocciolare accuratamente dopo le singole fasi della colorazione, in modo da evitare il trascinarsi (carry-over) delle soluzioni.

Per ottenere una colorazione ottimale si dovrebbero rispettare i tempi indicati.

Portaoggetti con striscio fissato	
Cristallvioioletto soluzione sec. Gram	1:30 minuto
Acqua di rubinetto corrente	30 secondi
Soluzione Lugol*	3 minuti
Acqua di rubinetto corrente	20 secondi
Soluzione decolorante secondo Gram**	5 - 10 secondi
Acqua di rubinetto corrente	30 secondi
Safranina soluzione secondo Gram	1 minuto
Acqua di rubinetto corrente	1 minuto
Asciugare all'aria (ades. per una notte o a 50 °C nell'armadio di asciugatura)	

* filtrare dopo 3 passaggi la Soluzione Lugol

** sostituire dopo 5 passaggi la Soluzione decolorante secondo Gram

Colorazione con rastrello di colorazione

Portaoggetti con striscio fissato		
Cristallivioletto soluzione sec. Gram	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Soluzione Lugol	sciogliere brevemente	
Soluzione Lugol	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Acqua distillata	lavare con precauzione	5 secondi
Soluzione decolorante secondo Gram	scuotere con delicatezza il portaoggetti fino a quando non compaiono più nuvolette di colore e lo striscio appare di colore grigio-blu	10 - 15 secondi
Acqua distillata	lavare con precauzione	5 secondi
Safranina soluzione secondo Gram	coprire completamente e lasciar agire	1 minuto
Acqua distillata	lavare con precauzione	5 secondi
Asciugare all'aria (ades. per una notte o a 50 °C nell'armadio di asciugatura)		

Per stoccare i preparati batteriologici per diversi mesi, si raccomanda il montaggio con un mezzo di montaggio anidro (ades., Neo-Mount™ o Entellan™) e un vetrino coprioggetti. I preparati colorati devono essere ben essiccati.

Per l'analisi dei preparati colorati con ingrandimento al microscopio >40x, si consiglia di utilizzare olio di immersione.

Colorazione nel strumento automatico colorazione

La colorazione nei strumenti di colorazione automatici può essere eseguita come la colorazione nella cuvette di colorazione.

Risultato

Microrganismi Gram-positivi	blu-violetto
Microrganismi Gram-negativi	da rosa a rosso

Individuazione e soluzione di problemi

Fissaggio degli strisci

È importante eseguire un fissaggio adeguato con il becco Bunsen o in un armadio di calore, in modo da prevenire le possibili infezioni dei preparati e l'ulteriore crescita batterica.

Nessuna colorazione dei batteri Gram-positivi

Il passo fondamentale della colorazione di Gram è la decolorazione, che può essere influenzata dallo spessore dello striscio. La soluzione decolorante fresca è inoltre molto reattiva e quindi è necessario valutare con attenzione il risultato. I tempi qui indicati per la decolorazione devono essere rigorosamente osservati, poiché in caso contrario si possono ottenere risultati falsi negativi.

Annotazioni tecnici

Il microscopio utilizzato deve soddisfare i requisiti previsti in un laboratorio medico diagnostico.

In caso di colorazione automatizzata, attenersi alle istruzioni per l'uso del produttore dello strumento e del software.

Eliminare l'olio di immersione in eccesso prima dell'archiviazione.

Caratteristiche delle prestazioni analitiche

I presenti reattivi ausiliari "Soluzione Lugol stabilizzata con PVP" e "Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro)" aiutano nell'esame al microscopio di strutture biologiche, come descritto nello "Scopo previsto" di questa IFU. I prodotti devono essere utilizzati solo da persone autorizzate e qualificate; ciò include, a titolo esemplificativo, la preparazione del campione e del reagente, la manipolazione del campione, le decisioni relative ai controlli adeguati, ecc.

Le prestazioni analitiche dei prodotti sono confermate per mezzo di test su ciascun lotto di produzione.

Per le seguenti colorazioni, le prestazioni analitiche sono state confermate in termini di specificità, sensibilità e ripetibilità del prodotto con un tasso del 100 %:

Art. 1.00567 - Soluzione Lugol stabilizzata con PVP

	Specificità intersaggio	Specificità intersaggio	Specificità intrasaggio	Specificità intrasaggio
Colorazione di Gram				
Microrganismi Gram-positivi	20/20	20/20	7/7	7/7
Microrganismi Gram-negativi	20/20	20/20	7/7	7/7

Risultati delle prestazioni analitiche

Art. 1.09261 - Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro)

	Specificità intersaggio	Specificità intersaggio	Specificità intrasaggio	Specificità intrasaggio
Colorazione di Gram				
Microrganismi Gram-positivi	20/20	20/20	7/7	7/7
Microrganismi Gram-negativi	20/20	20/20	7/7	7/7

Risultati delle prestazioni analitiche

I dati intrasaggio (eseguiti sullo stesso lotto) e intersaggio (eseguiti su lotti diversi) elencano il numero di strutture correttamente colorate in relazione al numero di saggi eseguiti.

I risultati di questa valutazione delle prestazioni confermano che i prodotti sono adatti all'uso previsto e funzionano in modo affidabile.

Diagnostica

Le diagnosi vanno eseguite solo da personale autorizzato e qualificato. Devono essere utilizzate nomenclature valide.

La presente metodologia deve essere utilizzata quale strumento integrativo per la diagnostica umana.

Ulteriori test vanno scelti ed eseguiti secondo metodi riconosciuti.

Per ogni applicazione devono essere eseguiti controlli appropriati, per escludere possibili risultati errati.

Il controllo del kit di colorazione può essere eseguito con batteri Gram-positivi e Gram-negativi. Utilizzare allo scopo brodculture incubate per 18 - 24 ore.

Conservazione

I Soluzione Lugol stabilizzata con PVP - per la colorazione di Gram e Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro) - per la colorazione di Gram vengono conservati ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

Ad una temperatura inferiore ai 15 °C si possono infatti formare dei precipitati di colorante nelle corrispondenti soluzioni. In tal caso i contenitori sono da mettere in un bagnomaria a circa 60 °C per 2 - 3 ore, in modo da sciogliere la maggior parte del precipitato di colorante. In seguito è necessario filtrare le soluzioni di colorazione attraverso carta da filtro.

Stabilità

I Soluzione Lugol stabilizzata con PVP - per la colorazione di Gram e Soluzione Lugol (soluzione diluita di iodio-potassio ioduro) - per la colorazione di Gram possono essere utilizzati entro la data di scadenza indicata.

Una volta aperto il flacone, il contenuto si mantiene stabile fino alla data di scadenza indicata se conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

Conservare sempre i flaconi ben chiusi.

Capacità

circa 250 colorazione / 500 ml

Istruzioni per l'uso

Solo per uso professionale.

Per evitare errori, la applicazione deve essere eseguita da personale specializzato.

Vanno osservate le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e di assicurazione di qualità.

Vanno utilizzati microscopi conformi agli standard vigenti.

All'occorrenza utilizzare una centrifuga che soddisfi gli standard di laboratorio ed i rispettivi requisiti.

Protezione contro le infezioni

Vanno rigorosamente osservate le norme di laboratorio relative alla protezione contro le infezioni.

Istruzioni per lo smaltimento

La confezione deve essere smaltita nel rispetto delle vigenti direttive in materia.

Le soluzioni usate e le soluzioni scadute vanno smaltite come rifiuti pericolosi, in conformità alle disposizioni locali vigenti in materia di smaltimento dei rifiuti. Per richiedere informazioni sullo smaltimento selezionare il Quick link "Hints for Disposal of Microscopy Products" all'indirizzo www.microscopy-products.com. Nell'Unione europea trova applicazione il Regolamento (CE) n. 1272/2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006.

Reattivi ausiliari

Art. 1.04699	Olio di immersione per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07960	Entellan™ montaggio medio-rapido per microscopia	500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Neo mezzo di montaggio rapido per microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l

Art. 1.09016	Neo-Mount™ mezzo di montaggio anidro per microscopia	flacone conta- gocce di 100 ml, 500 ml
Art. 1.09217	Safranina soluzione secondo Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09218	Cristallviolettto soluzione sec. Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.10218	Soluzione decolorante secondo Gram per la colorazione di Gram	500 ml, 2,5 l
Art. 1.11885	Gram-Color Set di colorazione per la colorazione di Gram	1 set

Classificazione di sostanze pericolose

Art. 1.09261

Art. 1.00567

Osservare la classificazione delle sostanze pericolose riportata sull'etichetta e seguire le indicazioni della scheda di sicurezza.

La scheda di sicurezza è disponibile su sito Internet e su richiesta.

Art. 1.00567

ATTENZIONE! Contiene sostanze CMR. Attenersi alle relative indicazioni di sicurezza riportate nella scheda di dati di sicurezza.

Componenti principali dei prodotti

Art. 1.00567

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

Art. 1.09261

I ₂	3,4 g/l
KI	6,8 g/l
1 l =	1,01 kg

Indicazione generale

Se durante o in seguito all'uso del dispositivo si verifica un incidente, segnalare l'evento al fabbricante e/o al suo mandatario e alle autorità nazionali.

Letteratura

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 Edition

Art. 1.00567



H318: Provoca gravi lesioni oculari.

H360D: Può nuocere al feto.

H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P202: Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.

P273: Non disperdere nell'ambiente.

P280: Indossare proteggere gli occhi/ proteggere il viso.

P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P308 + P313: IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.

P405: Conservare sotto chiave.

Cronologia delle revisioni

Versione	Commento relativo alla modifica
2024-Jul-24	Versione iniziale con l'introduzione della Cronologia delle revisioni
2025-Oct-29 V.1	Aggiornamento della classificazione dei pericoli. Aggiunta di un nuovo simbolo e frasi HP.



Attenersi alle istruzioni per l'uso



Fabbricante



N. di catalogo



Codice del lotto



Attenzione, consultare la documentazione di accompagnamento



Data di scadenza
AAAA-MM-GG



Limiti di temperatura