

1.00327.1000

1.00327.5000

Microscopie

Acide chlorhydrique alcoolique

pour la microscopie

IVD

Dispositif médical de diagnostic in vitro



Le présente « Acide chlorhydrique alcoolique - pour la microscopie » est utilisé pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen bactériologique et histologique d'échantillons d'origine humaine. C'est une solution de décoloration prêt à l'emploi qui est utilisée conjointement avec d'autres diagnostics in vitro de notre portefeuille pour rendre des structures bactériennes cibles analysables pour le diagnostic (telles que les mycobactéries acido-résistantes, par fixation, inclusion, coloration, contre-coloration, montage) dans des épreuves bactériologiques et histologiques, telles que les frottis de cultures bactériennes d'enrichissement ou les coupes histologiques de poumon, p.ex.

Principe

La richesse en cire et en lipides de l'enveloppe cellulaire est responsable de la très lente absorption des colorants par les mycobactéries. Habituellement, la solution de carbolfuchisine appliquée sur la préparation est chauffée jusqu'à vaporisation, ce procédé permettant d'accélérer l'absorption du colorant à la fuchisine et la formation du complexe myco-fuchisine dans l'enveloppe cellulaire. Dans la méthode Kinyoun, le chauffage n'est plus nécessaire grâce à une modification de la Tb-color solution de carbolfuchisine (coloration à froid). Une fois que les mycobactéries ont absorbé le colorant, elles le conservent et n'en rendent qu'une infime quantité, même lors d'un traitement avec des solutions de décoloration comme par ex. de l'éthanol contenant de l'acide chlorhydrique. On dit alors des mycobactéries qu'elles présentent une acido-alcoolo-résistance tinctoriale. Elles prennent une coloration rouge dans la préparation microscopique tandis que tous les micro-organismes non acido-résistants prennent la coloration contraire. Dans le présent consigne d'utilisation la contre-coloration est effectuée au vert malachite. Grâce à un traitement préliminaire des préparations avec Sputofluol® les bactéries se détachent du crachat visqueux et du matériel cellulaire environnant. De plus, Sputofluol® a également un effet désinfectant, il détruit donc les microorganismes.

Matériel d'échantillons

Frottis de matériel bactériologique séchés à l'air, fixés par la chaleur et traités au préalable avec Sputofluol® comme crachat, frottis de ponctions-biopsies à l'aiguille fine (BAAF), solutions de lavage, empreintes, liquides d'épanchement, pus, exsudats, cultures liquides et solides

Réactifs

Art. 100327
Acide chlorhydrique alcoolique 1 l, 5 l
pour la microscopie

Nécessaire en plus :

Art. 108000 Sputofluol® pour la microbiologie et microscopie 1 l
Art. 108512 Tb-color solution de carbolfuchisine 500 ml, 2,5 l
pour la coloration microscopique à froid des mycobactéries
Art. 110630 Tb-color Vert malachite (oxalate) solution 500 ml
de coloration pour la recherche microscopique des mycobactéries (coloration à froid)

En alternative :

Le kit de coloration 1.164540.0001 peut être utilisé à la place de la combinaison des réactifs individuelles :

Art. 1.16450.0001
Tb-color Coffret de coloration 1 set
pour l'analyse microscopique de mycobactéries par coloration à froid

Préparation des échantillons

Le prélèvement d'échantillons doit être effectué par du personnel qualifié.

Crachats

Pour libérer les mycobactéries des muqueuses et complexes cellulaires, le crachat devrait être traité au préalable avec Sputofluol®. L'actif hypochlorite dissout le matériel organique par oxydation et libère les mycobactéries avec ménagement.

Préparation du réactif : Préparation de la solution au Sputofluol® 15 %

Pour la préparation d'env. 100 ml de solution, il faut additionner :

Sputofluol®	15 ml
Eau distillée	85 ml

Préparation d'un échantillon en tube à centrifuger :	
Echantillon	1 part (au moins 2 ml)
Solution au Sputofluol® (15 % dans de l'eau distillée)	3 parts
Agiter vigoureusement	10 minutes
Centrifuger à 3000 - 4800 tours/min	20 minutes
Décantier le liquide excédentaire Étaler le sédiment Sécher à l'air	

Ponctions, lavages, sédiments

Étaler l'échantillon sur un porte-objet après avoir effectué les opérations d'enrichissement appropriées et laisser sécher à l'air.

Fixation des préparations de frottis

La fixation s'effectue au dessus de la flamme d'un bec bunsen (2 à 3 fois en évitant une trop grande chaleur).

Le matériel peut aussi être fixé pendant 20 minutes à 100 - 110°C dans une étuve ou sur une plaque chauffante.

Une température plus élevée ou une durée d'échauffement plus longue sont susceptibles de nuire à la coloration.

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.

Préparation du réactif

L'Acide chlorhydrique alcoolique - pour la microscopie utilisé pour décoloration est prête à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer la solution étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.

Les solutions de colorant, colorants solides et kits de test utilisés pour la coloration doivent être préparés le cas échéant. Cela est mentionné dans les consignes d'utilisation correspondantes.

Mode opératoire

Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

Exemple pour la coloration à froid de préparations à frottis

Coloration sur le banc de coloration

Porte-objet avec frottis fixé		
Tb-color solution de carbolfuchisine	recouvrir complètement et colorer	5 minutes
Eau du robinet courante	rincer jusqu'à ne plus voir aucun nuage de couleur	
Acide chlorhydrique alcoolique	recouvrir complètement et laisser agir	15 - 30 secondes*
Eau du robinet courante	rincer immédiatement	
Tb-color Vert malachite (oxalate) solution	recouvrir complètement et laisser agir	1 minute
Eau du robinet courante	rincer soigneusement	
Sécher à l'air (p.ex. pendant toute une nuit, ou à 50 °C dans l'armoire de séchage)		

* dépend de l'épaisseur du matériel

Si l'on souhaite stocker des préparations bactériologiques pendant plusieurs mois, il est conseillé de les recouvrir d'un produit de montage anhydre (p.ex. Neo-Mount®, Entellan® néo ou DPX néo) et d'une lamelle couvre-objet. Les préparations colorées doivent être alors parfaitement sèches. Sans recouvrement, la coloration reste stable environ trois jours, et quelques heures seulement si elle est recouverte d'huile d'immersion.

Pour l'examen microscopique de préparations colorées avec un grossissement >40x, il est recommandé d'utiliser de l'huile d'immersion.

En alternative, il est également possible d'effectuer une coloration à chaud selon Ziehl-Neelsen (cf. consignes d'utilisation de la Fuchsin phéniquée en solution selon Ziehl-Neelsen, art. 109215).

Résultat

Mycobactéries rouge
Fond vert clair

Evaluation

Un résultat positif signifie « il y a des bactéries acido-résistantes », et un résultat négatif signifie « il n'y a pas de bactéries acido-résistantes ». On ne peut pas distinguer s'il s'agit d'un *Mycobacterium tuberculosis* ou d'un autre type de mycobactérie. La vitalité des bactéries (actives ou inactives) ne peut pas non plus être définie.

Si des mycobactéries sont détectées, il faudrait effectuer d'autres examens en laboratoires spéciaux.

Diagnostic d'erreurs

Fixation

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 mycobactéries

L'opération critique de la coloration des mycobactéries est la décoloration, qui peut être influencée par l'épaisseur du frottis.

De plus, une solution à l'acide chlorhydrique alcoolique fraîchement préparée 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.

Diagnostic

Les diagnostics doivent être exclusivement effectués par des personnes autorisées et formées.

Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées.

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.

Stockage

Stocker l'Acide chlorhydrique alcoolique - pour la microscopie entre +15 °C et +25 °C.

Stabilité

L'Acide chlorhydrique alcoolique - pour la microscopie peut être utilisé 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

jusqu'à 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. 100579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie	500 ml
Art. 100869	Neo-Entellan® pour colleuse de lamelles pour la microscopie	500 ml
Art. 104699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml

Art. 107961	Entellan® néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 108000	Sputofluor® pour la microbiologie et microscopie	1 l
Art. 108297	Xylène (mélange isomérique) pour analyse EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	2,5 l, 4 l
Art. 108512	Tb-color solution de carbolfuchisine pour la coloration microscopique à froid des mycobactéries	500 ml, 2,5 l
Art. 108562	Aquatex® (produit de montage aqueux) pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 50 ml
Art. 109016	Neo-Mount® agent de montage anhydre pour la microscopie	100 ml, 500 ml
Art. 109215	Fuchisine phéniquée en solution selon Ziehl-Neelsen pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 109843	Neo-Clear® (remplaçant du xylène) pour la microscopie	5 l
Art. 110630	Tb-color Vert malachite (oxalate) solution de coloration pour la recherche microscopique des mycobactéries (coloration à froid)	500 ml
Art. 116450	Tb-color Coffret de coloration pour l'analyse microscopique de myco- bactéries par coloration à froid	1 set

Classification des matières dangereuses

Art. 100327

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.

Composants principaux du produit

Art. 100327

HCl 0,75 %

contient C₂H₅OH

1 l = 0,90 kg

Autres produits d'IVD

Art. 100497	Tb-color modifié Kit de coloration pour la mise en évidence de mycobactéries (AFB) au moyen de la coloration à chaud	1 unit
Art. 101287	Bleu de méthylène en solution selon Löffler pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 101597	TB fluor exempt de phénol Coffret de coloration pour l'examen en micro- scopie de fluorescence des mycobactéries (coloration Auramine-Rhodamine)	1 set
Art. 109204	Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa en solution pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 111885	Gram-color Set de coloration pour la coloration de Gram	1 set
Art. 115161	Histosec® en pastilles (sans DMSO) P.S. 56-58°C agent d'inclusion pour l'histologie	10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2016-01-04

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany

Tel. +49(0)6151 72-2440

www.microscopy-products.com

EMD Millipore Corporation, 290 Concord Road, Billerica,
MA 01821, USA, Tel. +1-978-715-4321

