

1.01301.0050

Microscopie

Auramine O (C.I. 41000)

pour la microscopie

IVD

Dispositif médical de diagnostic in vitro



pour la coloration fluorescente Tb sur des frottis et coupes

Le présent colorant « Auramine O (C.I. 41000) - 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 un colorant sec utilisé pour la préparation d'une solution de colorant qui est utilisée conjointement avec d'autres diagnostics in vitro de notre portefeuille pour rendre des structures cibles analysables pour le diagnostic (telles que les mycobactéries acido-résistantes, par fixation, inclusion, coloration avec la solution auramine O mentionnée ci-dessus, 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

Coloration de mycobactéries selon Hagemann-Hermann par liaison non spécifique du colorant fluorescent sur un substrat

Le mécanisme de la coloration fluorescente est comparable à la coloration classique Ziehl-Neelsen.

Les mycobactéries ont un taux élevé de cire et lipide dans la paroi cellulaire, elles n'absorbent donc les colorants que très lentement. Dès que les mycobactéries ont absorbé le colorant de la fuchsine, une décoloration même par un traitement intensif avec une solution décolorante, telle que l'acide chlorhydrique alcoolique, est pratiquement impossible. C'est pourquoi les mycobactéries sont désignées comme étant alcool-acido-résistantes colorées. Grâce à un traitement préliminaire des préparations avec Sputofluo® les bactéries se détachent du crachat visqueux et du matériel cellulaire environnant. De plus, Sputofluo® 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 Sputofluo® comme crachat, frottis de ponctions-biopsies à l'aiguille fine (BAAF), solutions de lavage, empreintes, liquides d'épanchement, pus, exsudats, cultures liquides et solides
Coupes de tissu fixé à la formaline et inclus en paraffine (coupes en paraffine de 3 - 4 µm d'épaisseur)

Réactifs

Art. 1.01301.0050
Auramine O (C.I. 41000) 50 g
pour la microscopie
Color Index No.: 41000
Color Index Name : Basic yellow 2

Nécessaire en plus :

Art. 100206 Phénol 250 g, 1 kg
p. a. ACS, Reag. Ph Eur
Art. 100327 Acide chlorhydrique alcoolique 1 l, 5 l
pour la microscopie
Art. 101287 Bleu de méthylène en solution selon Löffler 100 ml, 500 ml,
pour la microscopie 2,5 l
Art. 105082 Permanganate de potassium 250 g, 1 kg
pour analyse EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur

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 Sputofluo®. L'actif hypochlorite dissout le matériel organique par oxydation et libère les mycobactéries avec ménagement.

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

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

Sputofluo®	15 ml
Eau distillée	85 ml

Préparation d'un échantillon en tube à centrifuger :	
Echantillon	1 partie (au moins 2 ml)
Solution au Sputofluo® (15 % dans de l'eau distillée)	3 parties
Agiter vigoureusement	10 minutes
Centrifuger à 3000 - 4800 tours/min	20 minutes
Décanter 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.

Coupes histologiques

Bleu de méthylène en solution selon Löffler peut être utilisé pour la coloration de coupes histologiques.

Déparaffiner les coupes de la manière habituelle et les réhydrater par une série d'alcools à concentration décroissante. Le traitement préliminaire avec Sputofluo® est superflu pour les échantillons fixés au formol.

Fixation

La fixation s'effectue sur la flamme d'un bec Bunsen (2 à 3 fois en évitant une trop grande chaleur).

Le matériel peut également être fixé en le mettant pour 20 minutes à 100 - 110 °C dans une armoire de séchage ou sur une plaque chauffante.

Si les températures sont trop élevées ou si le chauffage se prolonge, il faut s'attendre à une altération de la faculté de 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

Phénol liquéfié

Pour la préparation, il faut additionner :

Phénol	10 parties
fondre à une douce chaleur sur un bain d'eau	
Eau distillée	1 partie
ajouter et mélanger	

Solution de phénol-auramine O

Pour la préparation d'env. 1 l de solution, il faut additionner :

Auramine O (C.I. 41000)	1 g
Eau distillée	1 l
dissoudre	
Phénol liquéfié	50 g
ajouter, mélanger et filtrer si nécessaire	

La solution de colorant extemporanément préparée doit être filtrée avant utilisation.

Solution de permanganate de potassium 0,1 %

Pour la préparation d'env. 1 l de solution, il faut additionner :

Permanganate de potassium	1 g
Eau distillée	1 l
dissoudre	

Autres produits d'IVD

Art. 105174	Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III pour la microscopie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 109093	Tb-fluor Kit de coloration pour la détection des mycobactéries par la microscopie de fluorescence	6x 500 ml
Art. 109204	Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa en solution pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 109844	Eosine J-solution aqueuse à 0,5% pour la microscopie	1 l, 2,5 l
Art. 111609	Histosec® en pastilles P.S. 56-58°C agent d'inclusion pour l'histologie	1 kg, 10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg
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
Art. 116450	Tb-color Coffret de coloration pour l'analyse microscopique de mycobactéries par coloration à froid	1 set

Littérature

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Theory and application of Microbiological Assay, Hewitt, W. and Vincent, S., 1989, Academic Press
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2017-08-15

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

