

1.00327.1000
1.00327.5000 **REF**

Microscopy

Hydrochloric acid in ethanol

for microscopy

For professional use only



In Vitro Diagnostic Medical Device



Intended purpose

This "Hydrochloric acid in ethanol - for microscopy" is used for human-medical cell diagnosis and serves the purpose of the bacteriological and histological investigation of sample material of human origin. It is a ready-to-use solution for decolorizing that when used together with other *in vitro* diagnostic products from our portfolio makes bacterial target structures evaluable for diagnostic purposes (acid-fast bacteria (AFB)) by fixing, embedding, staining, counterstaining, mounting in bacteriological and histological specimen materials, for example smears of enriched bacterial cultures or histological sections of e.g. the lung. 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

Acid-fast bacteria are difficult to stain because of the high proportion of lipid and wax in their cell walls. The most efficient staining method is the hot staining according to Ziehl-Neelsen. In this method, carbolfuchsin solution is applied to the specimen and heated. This heating process accelerates the rate at which the fuchsin dye is absorbed and thus also that of the formation of the mycolatefuchsin complex in the cell wall. At the Kinyoun method, a modification of the AFB-Color carbol fuchsin solution renders heating unnecessary (cold staining).

Once the acid-fast bacteria have absorbed the fuchsin dye, it is virtually impossible to decolorize them again, even when they are intensively treated with a decolorizing solution such as e.g. hydrochloric acid in ethanol. Accordingly, acid-fast bacteria are termed as acid- and alcohol-fast for staining, and are stained red in the microscopic visualization. Correspondingly, all non-acid-fast microorganisms are counterstained with an appropriate dye. In this instruction for use malachite green is used for counterstaining. Pretreatment of the specimens with Sputofluor™ dissolves the bacteria from the surrounding viscid sputum and cell material.

Sample material

Smears of bacteriological material that have been air-dried, heat-fixed, and pretreated with Sputofluor™ like sputum, smears from fine needle aspiration biopsies (FNAB), rinses, imprints, effusions, pus, exudates, liquid and solid cultures

Sections of formalin-fixed tissue of human origin, embedded in paraffin (3 - 5 µm thick paraffin sections)

Reagents

Cat. No. 1.00327
Hydrochloric acid in ethanol 1 l, 5 l
for microscopy

Also required:

Cat. No. 1.08000 Sputofluor™ 1 l
for microscopy
Cat. No. 1.08512 AFB-Color carbol fuchsin solution 500 ml, 2.5 l
for the microscopic investigation of
acid-fast bacteria (AFB) (cold staining)
Cat. No. 1.10630 AFB-Color malachite green (oxalate) solution 500 ml
for the microscopic investigation of acid-fast
bacteria (AFB) (cold staining)

Sample preparation

The sampling must be performed by qualified personnel.

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.

Sputum

The acid-fast bacteria should be pretreated with Sputofluor™ to dissolve them from mucus and cellular structures. In this process, the active ingredient hypochlorite dissolves the organic material by oxidation and gently releases the acid-fast bacteria so that they can be processed further.

Reagent preparation: Preparation of Sputofluor™ solution 15%

For preparation of approx. 100 ml solution mix:

Sputofluor™	15 ml
Distilled water	85 ml

Preparing sample material in centrifuge tubes:	
Sample	1 part (min. 2 ml)
Sputofluor™ solution (15% in distilled water)	3 parts
Shake vigorously	10 min
Centrifuge at 3000 - 4800 rpm	20 min
Decant supernatant Prepare smears of the sediment Air-dry	

Punction and lavage material, sediments

After carrying out the appropriate enrichment measures smear out samples on the microscopic slides and allow to air dry.

Fixation of smear samples

Fixation is carried out over the flame of a Bunsen burner (2 - 3 times, avoiding excessive heating).

It is also possible to fix the smears in an oven at 100 - 110 °C for 20 min.

Impairment of staining must be expected if a higher temperature or longer heating is employed.

Reagent preparation

The Hydrochloric acid in ethanol - for microscopy used for decolorizing is ready-to-use, dilution of the solution is not necessary and merely produces a deterioration of the staining result and its stability.

The staining solutions, solid dyes, and test kits may have to be individually prepared. The preparation procedures are described in the respective instructions for use.

Procedure

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

Example of the cold staining of smear specimens

Staining on the staining rack

Slide with fixed smear		
AFB-Color carbol fuchsin solution	cover completely and stain	20 min
Running tap water	rinse until no further clouds of dye are produced	

Hydrochloric acid in ethanol	cover completely and leave to react	15 - 30 sec*
Running tap water	rinse immediately	
AFB-Color malachite green (oxalate) solution	cover completely and leave to react	1 min
Running tap water	rinse carefully	
Air-dry (e.g. over night or at 50 °C in the drying cabinet)		

* depending on thickness of specimen

Covering with non-aqueous mounting media (e.g. Neo-Mount™, Entellan™ new, or DPX new) 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.

Alternatively, specimens can be hot-stained by the Ziehl-Neelsen method (see instructions for use for Ziehl-Neelsen carbol fuchsin solution, Cat. No. 1.09215).

Result

Acid-fast bacteria	red
Background	light green

Evaluation

A positive result means “acid-fast bacteria detected” and a negative result “acid-fast bacteria not detected”. A positive result does not mean that a taxonomic classification by microscopy is possible. If acid-fast bacteria are detected, further analyses must be performed in specially equipped laboratories. The vitality (active, inactive) of the bacteria can also not be determined.

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 acid-fast bacteria

The critical step of this staining process is the decolorizing step, which can be influenced by the thickness of the specimen smear. In addition, a fresh solution of hydrochloric acid in ethanol is highly reactive, meaning that the result should be evaluated with caution. The incubation times stated in this protocol should be kept accurately in the decolorizing step, since otherwise false-negative results may ensue.

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

“Hydrochloric acid in ethanol” decolorizes and thereby visualizes biological structures, as described in the “Result” chapter of this IFU. The use of the product 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 product 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%:

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
AFB staining				
Acid-fast bacteria	20/20	20/20	7/7	7/7
Background	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 product is suitable for the intended use and performs 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 (e.g. ISOSLIDE™ AFB, Cat. No. 1.02560.0001) should be conducted with each application in order to avoid an incorrect result.

Storage

Store the Hydrochloric acid in ethanol - for microscopy at +15 °C to +25 °C.

Shelf-life

The Hydrochloric acid in ethanol - for microscopy 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

up to 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.	1.00579	DPX new non-aqueous mounting medium for microscopy	500 ml
Cat. No.	1.00869	Entellan™ new for cover slipper for microscopy	500 ml
Cat. No.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB Control Slides with reference tissue for the detection of acid-fast bacteria in histological tissue	25 tests
Cat. No.	1.04699	Immersion oil for microscopy	100-ml dropping bottle, 100 ml, 500 ml
Cat. No.	1.07961	Entellan™ new rapid mounting medium for microscopy	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. No.	1.08000	SputofluoI™ for microscopy	1 l
Cat. No.	1.08298	Xylene (isomeric mixture) for histology	4 l
Cat. No.	1.08512	AFB-Color carbol fuchsin solution for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining)	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.08562	Aquatex® (aqueous mounting agent) for microscopy	50-ml dropping bottle
Cat. No.	1.09016	Neo-Mount™ anhydrous mounting medium for microscopy	100-ml dropping bottle, 500 ml
Cat. No.	1.09215	Ziehl-Neelsen carbolfuchsin solution for microscopy	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Cat. No.	1.09843	Neo-Clear™ (xylene substitute) for microscopy	5 l
Cat. No.	1.10630	AFB-Color malachite green (oxalate) solution for the microscopic investigation of acid-fast bacteria (AFB) (cold staining)	500 ml

Hazard classification

Cat. No. 1.00327

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.

Main components of the product

Cat. No.	1.00327	
HCl		0.75%
contains C ₂ H ₅ OH		

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. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
- 3. 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
- 4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Highly flammable liquid and vapor.

H290: May be corrosive to metals.

H319: Causes serious eye irritation.

P210: Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.

P233: Keep container tightly closed.

P234: Keep only in original packaging.

P240: Ground and bond container and receiving equipment.

P241: Use explosion-proof electrical/ ventilating/ lighting/ equipment.

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

Revision History

Version	Modificaton Comment
2024-Aug-12	Initial version with the introduction of Revision History



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2024-Aug-12



1.00327.1000
1.00327.5000 **REF**

Microscopie

Acide chlorhydrique alcoolique

pour la microscopie

Réservé à une utilisation professionnelle

IVD

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

CE

Objectif prévu

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 (bactéries acido-résistantes (AFB)) 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. 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 richesse en cire et en lipides de l'enveloppe cellulaire est responsable de la très lente absorption des colorants par les bactéries acido-résistantes. 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 AFB-Color solution de carbolfuchisine (coloration à froid). Une fois que les bactéries acido-résistantes 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 bactéries acido-résistantes qu'elles présentent une acido-alcool-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 Sputofluo™ les bactéries se détachent du crachat visqueux et du matériel cellulaire environnant.

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 d'origine humaine fixé à la formaline et inclus en paraffine (couche de paraffine de 3 - 5 µm d'épaisseur)

Réactifs

Art. 1.00327
Acide chlorhydrique alcoolique pour la microscopie 1 l, 5 l

Nécessaire en plus :

Art. 1.08000 Sputofluo™ pour la microscopie 1 l
Art. 1.08512 AFB-Color solution de carbolfuchisine pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid 500 ml, 2,5 l
Art. 1.10630 AFB-Color Vert malachite (oxalate) solution de coloration pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid 500 ml

Préparation des échantillons

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

Crachats

Pour libérer les bactéries acido-résistantes 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.

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.

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 coloration, 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		
AFB-Color solution de carbolfuchisine	recouvrir complètement et colorer	20 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	
AFB-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-ob-jet. Les préparations colorées doivent être alors parfaitement sèches. Pour l'examen microscopique de préparations colorées avec un grossisse-ment >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. 1.09215).

Résultat

Bactéries acido-résistantes	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 ». Sur la base d'un résultat positif, une classification taxonomique par le biais de la microscopie n'est pas possible. Si des bactéries acido-résistantes sont détectées, il faut effectuer d'autres examens en laboratoires spéciaux. La vitalité des bactéries (actives ou inactives) ne peut pas non plus être définie.

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 pré-parations et une prolifération des bactéries.

Pas de coloration des bactéries acido-résistantes

L'opération critique lors de cette coloration est la décoloration, qui peut être influencée par l'épaisseur du frottis. De plus, une solution fraîche à l'acide chlorhydrique alcoolique est très réac-tive. C'est pourquoi le résultat doit être analysé très soigneusement. Lors de la décoloration, les temps indiqués ici doivent être respectés scrupuleu-sement, faute de quoi on risque d'obtenir des résultats faux-négatifs.

Remarques techniques

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d'un laboratoire de diag-nostics médicaux. En cas d'utilisation d'un automate de coloration, se conformer aux instruc-tions du fabricant de l'appareil et du logiciel. Eliminer l'excédent d'huile pour immersions avant l'archivage.

Caractéristiques de performance analytique

« Acide chlorhydrique alcoolique » décolore et permet donc la visualisation de structures biologiques, comme décrit dans le chapitre « Résultat » de ce mode d'emploi. Ce produit ne doit être utilisé que par des personnes agréées et qualifiées, ce qui englobe notamment la préparation des échan-tillons et des réactifs, la manipulation des échantillons, la prise de décisions en matière de contrôles appropriés et autres.

La performance analytique du produit 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 % :

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration AFB				
Bactéries acido-résistantes	20/20	20/20	7/7	7/7
Fond	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 le produit est approprié à l'usage prévu et peut être utilisé 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 com-plémentaire.

Des tests plus poussés seront choisis et réalisés selon des méthodes recon-nues.

Chaque étape doit être effectuée sous contrôle (p.ex. ISOSLIDE™ AFB, art. 1.02560.0001), 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 indiqué.

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 qua-lifié. 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 labora-toire et aux critères.

Protection contre les infections

Veiller impérativement à une protection efficace conformément aux direc-tives des laboratoires.

Consignes d'élimination

Eliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur. Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dé-passée 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 clas-sification, 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 modi-fiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

Réactifs auxiliaires

Art.	1.00579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie	500 ml
Art.	1.00869	Neo-Entellan™ pour colleuse de lamelles pour la microscopie	500 ml
Art.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB Lames de contrôle avec tissu de référence pour la détection de bactéries acido-résistantes dans les tissus histologiques	25 tests
Art.	1.04699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art.	1.07961	Entellan™ néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art.	1.08000	SputofluoI™ pour la microscopie	1 l
Art.	1.08298	Xylène (mélange isomérique) pour l'histologie	4 l
Art.	1.08512	AFB-Color solution de carbofuchisine pour l'analyse microscopique de bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid	500 ml, 2,5 l
Art.	1.08562	Aquatex® (produit de montage aqueux) pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 50 ml
Art.	1.09016	Neo-Mount™ agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 500 ml
Art.	1.09215	Fuchisine phéniquée en solution selon Ziehl-Neelsen pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art.	1.09843	Neo-Clear™ (remplaçant du xylène) pour la microscopie	5 l
Art.	1.10630	AFB-Color Vert malachite (oxalate) solution de coloration pour l'analyse microscopique des bactéries acido-résistantes (AFB) par coloration à froid	500 ml

Classification des matières dangereuses

Art. 1.00327

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. 1.00327

HCl 0,75 %

contient C₂H₅OH

1 l = 0,90 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. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. 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
4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.

H290 : Peut être corrosif pour les métaux.

H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

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.

P233 : Maintenir le récipient fermé de manière étanche.

P234 : Conserver uniquement dans l'emballage d'origine.

P240 : Mise à la terre et liaison équipotentielle du récipient et du matériel de réception.

P241 : Utiliser du matériel électrique/ de ventilation/ d'éclairage antidéflagrant.

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.

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Aug-12	Version initiale avec l'introduction de l'historique des révisions



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: 2024-Aug-12

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

© 2024 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**

1.00327.1000
1.00327.5000 **REF**

Microscopía

Ácido clorhídrico-alcohol

para microscopía

Solamente para uso profesional

IVD

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*

CE

Finalidad prevista

El presente "Ácido clorhídrico-alcohol - para microscopía" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen bacteriológico e histológico de muestras de origen humano. Se trata de una solución para decolorante lista 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 (bacilos acidorresistentes (AFB)) mediante fijación, inclusión, tinción, contratinción, montaje en material de examen bacteriológico e histológico, como pueden ser frotis de cultivos bacterianos de enriquecimiento o cortes histológicos p.ej. del pulmón. 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

Los bacilos acidorresistentes absorben los colorantes sólo muy lentamente debido a la elevada proporción de ceras y lípidos en la pared celular. Para acelerar la absorción del colorante fucsina y así la formación del complejo micolatofucsina en la pared celular, se calienta la solución de carbolfucsina aplicada sobre el preparado normalmente hasta formación de vapores. En el método de Kinyoun no es necesario el calentamiento gracias a una modificación de la AFB-Color carbolfucsina en solución (tinción en frío). Una vez los bacilos acidorresistentes han absorbido el colorante, a penas lo ceden de nuevo a pesar de tratamiento intensivo con solución decolorante, como p.ej. ácido clorhídrico-alcohol. Los bacilos acidorresistentes son por ello denominados como de tinción sólida frente ácidos y alcohol y aparecen en el preparado microscópico teñidas de rojo, mientras que todos los microorganismos no resistentes a los ácidos se tiñen de acuerdo con la contratinción. En el presente instrucción de empleo se contratiñe de la forma correspondiente con verde de malaquita. A través de un tratamiento previo de los preparados con Sputofluor™ se liberan las bacterias del esputo viscoso y material celular circundante.

Material de las muestras

Frotis de material bacteriológico secados al aire, termofijados y sometidos a un tratamiento previo con Sputofluor™ como esputos, frotis tomados de punciones aspirativas con aguja fina (PAAF/FNAB), soluciones de lavado, imprints, efusiones, pus, exsudados, cultivos líquidos y sólidos. Cortes de tejido de origen humano fijados con formalina e incluidos en parafina (cortes de parafina con 3 - 5 µm de espesor)

Reactivos

Art. 1.00327 Ácido clorhídrico-alcohol para microscopía 1 l, 5 l

Necesario además:

Art. 1.08000 Sputofluor™ para microscopía 1 l
Art. 1.08512 AFB-Color carbolfucsina en solución para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío) 500 ml, 2,5 l
Art. 1.10630 AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío) 500 ml

Preparación des muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado. 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.

Espuito

Para liberar bacilos acidorresistentes de mucosidad y conjuntos celulares se debería tratar el esputo previamente con Sputofluor™. En esto, el principio activo hipoclorita disuelve el material orgánico de forma oxidativa, liberando de esta manera los bacilos acidorresistentes con suavidad.

Preparación del reactivo: Preparación de la solución de Sputofluor™ 15 % Para preparar aprox. 100 ml de solución se añaden juntos:

Sputofluor™	15 ml
Agua destilada	85 ml

Preparación de muestra en tubo de centrifuga:	
Muestra	1 parte (mínimo 2 ml)
Solución de Sputofluor™ (al 15 % en agua destilada)	3 partes
Agitar vigorosamente	10 minutos
Centrifugar a 3000 - 4800 R/min	20 minutos
Decantar el líquido excedente Extender el sedimento Secar al aire	

Líquidos extraídos por punción, lavados, sedimentos

Extender las muestras en el portaobjetos después de pasos convenientes de enriquecimiento, y dejarlas secar al aire.

Fijación de preparados de frotis

La fijación se realiza sobre la llama del mechero de Bunsen (2 a 3 veces, evitando una acción excesiva del calor). El material también puede ser fijado durante 20 minutos a una temperatura de 100 a 110 °C en un armario de secado o encima de una placa calefactora. Si se aplican temperaturas más elevadas o un calentamiento más prolongado, deberá esperarse un empeoramiento de la capacidad de tinción.

Preparación del reactivo

El Ácido clorhídrico-alcohol - para microscopía utilizado para los procesos de decoloración está listo para el uso, la dilución de la solución no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

Puede ser necesario preparar las soluciones de tinción, los colorantes sólidos y los kits de ensayo utilizados para la tinción. Esto viene mencionado en las correspondientes instrucciones de empleo.

Técnica

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

Ejemplo de la tinción en frío de preparados de frotis

Tinción en el banco de tinción

Portaobjetos con frotis fijado		
AFB-Color carbolfucsina en solución	cubrir completamente y teñir	20 minutos
Agua corriente del grifo	enjuagar hasta que ya no se desprendan nubes de color	

Ácido clorhídrico-alcohol	cubrir completamente y dejar actuar	15 - 30 segundos*
Agua corriente del grifo	enjuagar inmediatamente	
AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución	cubrir completamente y dejar actuar	1 minuto
Agua corriente del grifo	enjuagar cuidadosamente	
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)		

* en dependencia del espesor del material

Para el almacenamiento de preparados bacteriológicos durante varios meses se recomienda el montaje con medios de montaje anhidros (p.ej. Neo-Mount™, Entellan™ Nuevo o DPX nuevo) 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.

Como alternativa, también se podrá realizar una tinción en caliente según Ziehl-Neelsen (ver las instrucciones de empleo Fucsina fenicada en solución según Ziehl-Neelsen, Art. 1.09215).

Resultado

Bacilos acidorresistentes	rojo
Fondo	verde claro

Evaluación

Un hallazgo positivo significa que “hay bacilos acidorresistentes”, y un hallazgo negativo significa que “no hay bacilos acidorresistentes”. Debido a un resultado positivo ya no es posible una clasificación taxonómica mediante la microscopia Si se encuentran bacilos acidorresistentes, deben efectuarse más pruebas en laboratorios especiales. Tampoco se puede verificar la vitalidad de las bacterias (activas, inactivas).

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 bacilos acidorresistentes

El paso crítico en esta tinción es el paso de decoloración, que puede ser influenciado por el espesor del frotis. Por lo demás, una solución fresca de ácido clorhídrico-alcohol es muy reactiva, por lo que el resultado debería ser evaluado con gran esmero. Durante la decoloración, 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

“Acido clorhídrico-alcohol” decolora y, por lo tanto, visualiza estructuras biológicas, como se describe en el capítulo “Resultado” de esta instrucción de uso. Solo deben utilizar el producto personas autorizadas y cualificadas. Esta utilización incluye, entre otras actividades, la preparación de muestras y reactivos, la manipulación de muestras, las decisiones relativas a los controles adecuados, etc.

El rendimiento analítico del producto 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 %:

	Especificidad inter-ensayos	Especificidad inter-ensayos	Especificidad intraensayos	Especificidad intraensayos
Tinción de AFB				
Bacilos acidorre-sistentes	20/20	20/20	7/7	7/7
Fondo	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 del producto 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 ulteriores según métodos reconocidos. Cada aplicación debería implicar controles adecuados (p.ej. ISOSLIDE™ AFB, art. 1.02560.0001) para descartar resultados erróneos.

Almacenamiento

Guardar el Acido clorhídrico-alcohol - para microscopía de +15 °C a +25 °C.

Estabilidad

El Acido clorhídrico-alcohol - para microscopía puede ser utilizado 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

hasta 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.	1.00579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml
Art.	1.00869	Entellan™ nuevo para montadores de cubreobjetos para microscopía	500 ml
Art.	1.02560	ISOSLIDE™ AFB Preparados de control con tejido de referencia para la detección de bacilos acidorresistentes en tejido histológico	25 tests
Art.	1.04699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art.	1.07961	Entellan™ Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l
Art.	1.08000	SputofluoI™ para microscopía	1 l
Art.	1.08298	Xileno (mezcla de isómeros) para histología	4 l
Art.	1.08512	AFB-Color carbofucsina en solución para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío)	500 ml, 2,5 l
Art.	1.08562	Aquatex® (medio de montaje acuoso) para microscopía	frasco gotero de 50 ml
Art.	1.09016	Neo-Mount™ medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml

Art. 1.09215	Fucsina fenicada en solución según Ziehl-Neelsen para microscopía	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sustituto de xileno) para microscopía	5 l
Art. 1.10630	AFB-Color verde malaquita (oxalate) en solución para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) (tinción en frío)	500 ml

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.00327
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.

Componentes principales del producto

Art. 1.00327
HCl 0,75 %
contiene C₂H₅OH
1 l = 0,90 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

- 1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Mulisch, Maria, Welsch, Ulrich, 2015, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 19. Auflage
- 2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
- 3. 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
- 4. Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, Editor: Uwe Groß, Thieme 2009, 2. Auflage
- 5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practise, J.A. Kiernan, Scion, 5th Edition



H225: Líquido y vapores muy inflamables.
H290: Puede ser corrosivo para los metales.
H319: Provoca irritación ocular grave.

P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.
P233: Mantener el recipiente herméticamente cerrado.
P234: Conservar únicamente en el embalaje original.
P240: Toma de tierra y enlace equipotencial del recipiente y del equipo receptor.
P241: Utilizar material eléctrico/ de ventilación/ iluminación/ antideflagrante.
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.

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
22024-Aug-12	Versión inicial con la introducción del Historial de revisiones

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: 2024-Aug-12