



Kit de coloration à l'auramine O *F.A.S.T.*[™] QBC

Manuel d'utilisation

Form 406, Rev. D
Révisé le 12-12-2018

Kit de coloration à l'auramine O F.A.S.T.™ QBC

Utilisation prévue

Pour utilisation en tant que coloration pour des frottis préparés à partir d'échantillons ou cultures de patient dans la détection ou la caractérisation de bacilles acido-alcoolo-résistants tels que *Mycobacterium tuberculosis*.

Résumé et principes

L'incidence mondiale de la tuberculose est en augmentation au moins depuis 1990, lorsque l'Organisation Mondiale de la Santé a commencé à suivre les données d'incidence¹. La détection précoce et précise de la tuberculose est essentielle pour le contrôle et le traitement efficaces de la maladie. La méthode la plus courante pour la détection de *Mycobacterium tuberculosis* est l'examen microscopique de frottis d'expectoration¹, qui permet à la fois un diagnostic provisoire initial ainsi que la quantification de la charge mycobactérienne.

Des bacilles acido-alcoolo-résistants, tels que *Mycobacterium tuberculosis*, peuvent être colorés par des colorants d'aniline et sont résistants à la décoloration par un acide et un alcool. Lorsqu'il est suivi par une coloration de contraste, ce traitement conduit à la coloration des bacilles acido-alcoolo-résistants par contraste par rapport aux autres organismes et aux débris qui n'ont conservé que le colorant de contraste. Cependant, les méthodes de coloration conventionnellement utilisées pour l'examen microscopique des organismes conduisent à un frottis dont l'interprétation est longue et difficile. Les colorations à l'auramine O et l'auramine-rhodamine ont été utilisées avec succès pour la microscopie de fluorescence des mycobactéries. Les publications sur le mécanisme de coloration sont contradictoires ; celles-ci mentionnent la liaison de l'auramine O à la paroi cellulaire des mycobactéries² et la liaison de la majeure partie, voire l'intégralité du colorant auramine O à l'acide nucléique dans les mycobactéries³. Cependant, il a été démontré que les méthodes de coloration à base d'auramine O sont plus sensibles que les méthodes de microscopie optique pour la détection des bactéries acido-alcoolo-résistantes⁴. Cette augmentation de sensibilité est due, en grande partie, au contraste significatif que les colorations fluorescentes confèrent aux organismes acido-alcoolo-résistants, qui apparaissent en vert sur fond sombre. Cette augmentation de contraste permet d'utiliser des objectifs à champs plus larges, et donc de diminuer la durée totale de l'examen.

Bien que les méthodes de coloration à l'auramine sont une amélioration significative par rapport aux méthodes classiques, la procédure de coloration est encore longue. Le kit de coloration à l'auramine O F.A.S.T. QBC simplifie plus avant la procédure en utilisant une combinaison exclusive d'agent désactivateur et de décolorant pour effectuer un traitement en quatre étapes qui dure à peine plus de deux minutes.

Contenu

Ce kit contient les éléments suivants :

- Colorant auramine O F.A.S.T. QBC (120 ml, 250 ml ou 3,8 l)
- Décolorant/désactivateur F.A.S.T. QBC (120 ml, 250 ml ou 3,8 l)
- Notice d'utilisation

Avvertissements et précautions

Pour utilisation diagnostique *in vitro*

Des échantillons cliniques humains peuvent être porteurs de maladies infectieuses tels que les agents causaux de la tuberculose, l'hépatite, le virus d'immunodéficience humaine (VIH), etc. Respecter les précautions générales et les directives et réglementations locales pour la manipulation d'échantillons cliniques. Toutes les activités qui peuvent générer des aérosols à partir d'échantillons cliniques doivent être conduites dans une enceinte de biosécurité. Les activités qui mettent en œuvre la culture de *Mycobacterium tuberculosis* doivent être conduites en utilisant des procédures et pratiques de biosécurité de niveau 3.

Les substances chimiques contenues dans ce kit sont dangereuses et peuvent causer des blessures ou être mortelles. Utiliser ce produit dans une zone correctement ventilée avec un équipement de protection personnelle approprié. Maintenir le produit à l'abri des flammes nues. Consulter la fiche de sécurité pour plus d'informations concernant la sécurité et l'élimination des produits.

Ce produit est destiné à faciliter la détection des bacilles acido-alcoolo-résistants. La microscopie de frottis d'expectoration et les procédures mises en œuvre dans la préparation et le traitement des échantillons pour la détection de BAAR doivent être conduites par du personnel formé aux techniques utilisées ainsi qu'aux pratiques et procédures générales de laboratoire appliquées.

Instructions de conservation

Conserver à 2 – 25 °C. Maintenir le colorant à l'abri de la lumière. Ne pas utiliser après la date d'expiration.

Procédure de coloration

Le kit de coloration à l'auramine O *F.A.S.T.* peut être utilisé avec des échantillons directs et concentrés d'expectoration et de culture.

1. Fixer par la chaleur une lame contenant un échantillon de frottis.
2. Recouvrir le frottis avec le colorant auramine O *F.A.S.T.* et laisser au repos pendant 1 minute.
3. Rincer doucement le frottis avec de l'eau déminéralisée ou de l'eau de distribution et évacuer le rinçage.
4. Recouvrir le frottis avec le décolorant/désactivateur *F.A.S.T.* et laisser au repos pendant 1 minute.
5. Rincer doucement le frottis avec de l'eau déminéralisée ou de l'eau de distribution et évacuer le rinçage. Sécher la lame.
6. Examiner la lame en utilisant le système ParaLens QBC ou un système de microscopie de fluorescence équivalent.

Contrôle qualité

Les lames de contrôle qualité Drucker Diagnostics (référence 427402) doivent être utilisées en routine pour évaluer les réactifs et la procédure de coloration. Le contrôle qualité doit être utilisé conformément aux réglementations en vigueur.

Si le contrôle qualité échoue, ne pas produire des résultats de patient jusqu'à ce que la cause du problème soit corrigée. Un défaut de témoin positif peut être indicatif d'une dégradation du réactif de coloration. Si le colorant est à l'origine d'un témoin positif à fluorescence faible ou nulle, ne pas utiliser le colorant pour des échantillons de patient.

Résultats attendus

Les mycobactéries et les autres bacilles acido-alcoolo-résistants émettent une fluorescence verte sur un fond sombre en observant avec un microscope à fluorescence ayant une configuration de filtre d'excitation bleu et d'émission vert (par exemple, filtre d'excitation : 435 – 480 nm ; filtre d'émission : 510 – 600 nm). Tous les autres organismes ne sont pas visibles. Un bacille fluorescent constitue une identification provisoire de *Mycobacterium* spp.

Limitations

Certaines mycobactéries à croissance rapide peuvent ne pas émettre de fluorescence avec cette coloration. Les méthodes Ziehl-Neelsen, Kinyoun, ou d'autres doivent être utilisées sur ces échantillons. La fluorescence des frottis s'atténue avec le temps. Par conséquent, les échantillons colorés doivent être examinés le plus rapidement possible. Bien qu'un résultat positif indique la présence de mycobactéries, un résultat négatif ne permet pas d'exclure une infection. D'autres méthodes de diagnostic telles que la culture ou la PCR doivent être utilisées pour identification positive.

Les réactifs de coloration *F.A.S.T.* peuvent se dégrader lorsqu'ils sont exposés à une chaleur excessive. Toujours effectuer un contrôle qualité pour déterminer l'intégrité du colorant avant de rapporter les résultats de patient. Ne pas utiliser le colorant si le contrôle qualité échoue.

Matériel nécessaire non fourni

Le kit de coloration à l'auramine O *F.A.S.T.* QBC est conçu pour être utilisé avec un système de microscopie de fluorescence capable d'exciter des échantillons de 425 à 480 nm et d'émettre une fluorescence d'au moins 510 à 600 nm. Le matériel additionnel comprend des lames, un chauffe-lame ou un bec Bunsen.

Références

1. Organisation mondiale de la santé. (2009) Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing: WHO Report 2009. WHO Press, Genève, Suisse.
2. Baron, E.J. et S.M. Finegold. (1990) Baily & Scott's Diagnostic Microbiology, 8^{ème} édition. The CV Mosby Company, Baltimore, Maryland.
3. Steingart K. R., et al. (2007) Fluorescence versus conventional for sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infectious Disease* 6:570-81.
4. Hanscheid, T. (2008) The future looks bright: low-cost fluorescencnt microscopes for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and *Coccidia*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. Elsevier Ltd., 520-521.

Références de commande

Colorant auramine O *F.A.S.T.* QBC :

Taille	Référence
Essai Kit	427422
120 ml Kit	427404
250 ml Kit	427424
3,8 l Kit	427425



Drucker Diagnostics
200 Shady Lane, Suite 170, Philipsburg PA, 16866
+1-814-692-7661, www.druckerdiagnostics.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20, 2514 AP The Hague, Pays-Bas
Tél. : +31 (0) 70-345-8570, Fax : +31 (0) 70-346-7299



Fabricant



Représentant agréé dans la Communauté européenne



Utilisation par



Référence



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Limitation de température



Numéro de lot



Consulter les instructions d'utilisation



Caustique



Inflammable