

Kit Cold ZN

RÉF. 362390-0000

Coloration différentielle des bacilles acido-résistants



IFU078B

Suivi des modifications 8

Produit destiné à un usage strictement professionnel.

Veuillez lire attentivement l'ensemble de ces informations avant toute utilisation de ce dispositif.

Le contenu de la notice d'utilisation est susceptible de changer, assurez-vous d'avoir la dernière version disponible sur my.ral-diagnostics.fr.

Table des matières

Utilisation prévue.....	1
Principe.....	1
Description du kit.....	2
Conditions de stockage et d'utilisation	2
Composants actifs	2
Classification des dangers et informations relatives à la sécurité	2
Qualification du personnel	3
Équipement et réactifs spéciaux requis, mais non fournis.....	4
Procédure opératoire	4
Résultats escomptés.....	5
Performances	6
Contrôle qualité utilisateur	6
Autres produits	6
Recommandations, remarques et dépannage	6
Tableau des symboles et abréviations.....	8
Bibliographie	8

Utilisation prévue

Le Kit Cold ZN est destiné à être utilisé pour la coloration différentielle par des bacilles acido-résistants avant un examen au microscope.

CellaVision RAL Diagnostics recommande le cas échéant d'utiliser les produits CellaVision RAL Diagnostics associés et ne saurait garantir les résultats escomptés en association avec d'autres marques de produits.

Principe

Le Kit Cold ZN permet d'effectuer la détection des mycobactéries ou des bacilles acido-résistants (AFB, Acid Fast Bacilli). Les caractéristiques propres à la structure de la paroi des mycobactéries entrave la pénétration des agents de décoloration. Cette propriété permet à l'AFB de conserver la coloration de la fuchsine après avoir subi une décoloration à l'acide et à l'alcool. D'autres éléments bactériens (non-AFB) et cellulaires sont contre-colorés par le bleu de méthylène.

Description du kit

Fixative

Solution incolore limpide
RÉF. 362120-0240 1 X 240 mL

Fuchsin

Solution rouge foncé limpide
RÉF. 365250-0240 1 X 240 mL

Discolouring Solution

Solution incolore limpide
RÉF. 362215-0240 1 X 240 mL

Methylene Blue

Solution bleu limpide
RÉF. 365340-0240 1 X 240 mL

Pour un lot spécifique, se reporter au certificat d'analyse correspondant disponible sur my.ral-diagnostics.fr.

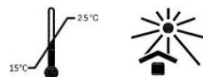
Conditions de stockage et d'utilisation

Température de stockage et d'utilisation : 15-25°C.

Conditions de stockage et d'utilisation : à l'abri de la lumière et des sources de chaleur.

Durée de conservation du flacon avant ouverture : se référer à la date de péremption sur l'étiquette.

Durée de conservation du flacon après ouverture : se référer à la date de péremption sur l'étiquette et tenir compte du symbole "période après ouverture" s'il est présent.



Composants actifs

Fixative

Acide trichloroacétique - CAS - 76-03-9 : ≤ 1 %

Fuchsin

Éthanol - CAS - 64-17-5 : < 20 %
Fuchsine basique, diamant - CAS - 632-99-5 : ≤ 3 %
Phénol - CAS - 108-95-2 : < 7 %

Discolouring Solution

Éthanol - CAS - 64-17-5 : ≤ 95 %
Acide chlorhydrique, 37 % - CAS - 7647-01-0 : < 1 %

Methylene Blue

Bleu de méthylène - CAS - 61-73-4 : < 0,5 %

Classification des dangers et informations relatives à la sécurité



Fixative

Danger :

H314 - Provoque des brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.

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

P280 - Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux.

P301+P330+P331+P310 - EN CAS D'INGESTION: Rincer la bouche. NE PAS faire vomir. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

P303+P361+P353+P310 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/Se doucher. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

P305+P351+P338+P310 - 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. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

Fuchsin

Danger :



H226 - Liquide et vapeurs inflammables.

H302 - Nocif en cas d'ingestion.

H314 - Provoque des brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.

H341 - Susceptible d'induire des anomalies génétiques.

H351 - Susceptible de provoquer le cancer.

P201 - Se procurer les instructions spéciales avant utilisation.

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.

P264 - Se laver les mains soigneusement après manipulation.

P280 - Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux/du visage.

P303+P361+P353+P310 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/Se doucher. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

P305+P351+P338+P310 - 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. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

CONT	Basic fuchsin, diamant, C6H5OH 80%
-------------	------------------------------------

Discolouring Solution

Danger:



H225 - Liquide et vapeurs très inflammables.

H314 - Provoque des brûlures de la peau et de graves lésions 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.

P280 - Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux.

P301+P330+P331+P310 - EN CAS D'INGESTION: Rincer la bouche. NE PAS faire vomir. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

P303+P361+P353+P310 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/Se doucher. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

P305+P351+P338+P310 - 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. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

Methylene Blue

Étiquetage non applicable

Qualification du personnel

Tous les échantillons et produits doivent être manipulés par du personnel qualifié et habilité, protégé par une protection individuelle ou collective, selon les directives nationales en vigueur dans les laboratoires. Le personnel doit également prendre connaissance de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquetage du produit et fiche de données de sécurité (disponibles sur my.ral-diagnostics.fr).

La procédure de diagnostic est strictement réservée au personnel qualifié et habilité, conformément aux procédures en vigueur au sein du laboratoire.

Équipement et réactifs spéciaux requis, mais non fournis

Lames de microscope, et les dispositifs CellaVision RAL Diagnostics suivants :
SUREFIX RÉF : 336000-0050

Cet équipement peut être différent en fonction du protocole. Veuillez-vous référer au protocole envisagé (voir la section Procédure opératoire) afin de vous assurer que vous disposez du nécessaire pour réaliser les analyses.

Procédure opératoire

L'équipement utilisé pour le traitement des échantillons doit être conforme aux instructions d'utilisation du fournisseur.

Préparation des échantillons

Traiter les échantillons conformément aux procédures en vigueur dans le laboratoire et exigées par les autorités compétentes au niveau national.

Prétraitement de l'échantillon à partir de milieux de culture liquides : Prendre environ 300 à 400 µL de milieu de culture liquide (incluant quelques billes si possible) et verser ce volume dans un microtube. Centrifuger pendant 1 minute à 10 000 rpm et jeter le surnageant. Ajouter ensuite 2 à 3 gouttes de solution saline physiologique dans le microtube et agiter au vortex ou remuer avec un embout en boucle. L'échantillon est maintenant prêt à être étalé en couche.

Frottis bactérien manuel : former une pellicule fine de l'échantillon de bactéries et laisser la lame sécher à température ambiante. Ensuite, le frottis bactérien peut être fixé à l'aide d'une source de chaleur douce (bec Bunsen ou plaque chauffante) ou fixé chimiquement avec un fixateur chimique (méthanol, éthanol, acide acétique ou formol...)

N.B. Ne jamais passer à la flamme un frottis qui n'est pas complètement sec, cela pourrait provoquer des crépitements et la dissémination de bactéries (création d'aérosols).

Si nécessaire, les deux fixations peuvent être combinées.

Frottis bactérien manuel à partir d'une culture liquide ou solide : Appliquer une goutte de SUREFIX sur une lame et, à l'aide d'une boucle, placer sur la goutte de SUREFIX la préparation d'une culture liquide (comme décrit ci-dessus) ou une colonie d'une culture solide. Mélanger la goutte de SUREFIX et l'échantillon et étaler en une couche pour constituer un frottis uniforme. Laisser au besoin le frottis sécher à l'air libre avant de placer la lame sur une plaque chauffante pendant 30 min à une température de 80 °C.

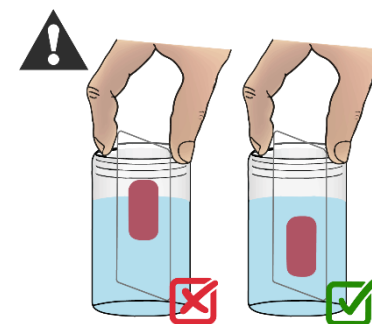
Préparation des réactifs et instruments

Aucune préparation n'est requise. Les solutions sont prêtes à l'emploi.

Protocoles

Les étapes de coloration des protocoles indiqués ci-dessous consistent à couvrir de manière successive les lames avec les différents réactifs de coloration ou à tremper les lames dans les différents bains de coloration. Veuillez-vous référer au titre pour savoir dans quel cas vous vous trouvez.

Le temps de traitement prend uniquement en compte le temps de trempage dans les réactifs.



N.B :

Pour la méthode de coloration manuelle par bain, remplir chaque bac avec le réactif approprié en quantité suffisante pour recouvrir le frottis. Veiller à couvrir l'ensemble de l'échantillon lors de l'immersion de la lame.

**N.B :**

Pour la méthode de coloration par recouvrement, placez la lame sur un support avec le frottis fixé sur le dessus.

Protocole de coloration des frottis bactériens – Méthode manuelle par bain – Analyse manuelle au microscope

Durée de traitement [hh: mm: ss] : 00 :18 :30

Étapes	Réactif	Durée [mm:ss]	Indications
Fixer	Fixative	01: 00	NA
Rincer	Eau	00: 30	Égoutter l'excédent de réactif sur du papier absorbant, puis rincer
Colorer	Fuchsin	10: 00	NA
Rincer	Eau	01: 00	Égoutter l'excédent de réactif sur du papier absorbant, puis rincer
Décolorer	Discolouring Solution	03: 00	NA
Rincer	Eau	01: 00	Égoutter l'excédent de réactif sur du papier absorbant, puis rincer
Colorer	Methylene Blue	01: 00	NA
Rincer	Eau	01: 00	Égoutter l'excédent de réactif sur du papier absorbant, puis rincer
Séchage	NA	≥03:00	NA

Protocole de coloration des frottis bactériens – Méthode de recouvrement manuel – Analyse manuelle au microscope

Durée de traitement [hh: mm: ss] : 00 :18 :30

Étapes	Réactif	Durée [mm:ss]	Indications
Fixer	Fixative	01: 00	NA
Rincer	Eau	00: 30	Éliminer le réactif, puis rincer
Colorer	Fuchsin	10: 00	NA
Rincer	Eau	01: 00	Éliminer le réactif, puis rincer
Décolorer	Discolouring Solution	03: 00	NA
Rincer	Eau	01: 00	Éliminer le réactif, puis rincer
Colorer	Methylene Blue	01: 00	NA
Rincer	Eau	01: 00	Éliminer le réactif, puis rincer
Sécher	NA	≥03:00	NA

Résultats escomptés

AFB : rose

Fond de la préparation : bleu

Si les résultats observés diffèrent de ceux escomptés, contacter le service technique de CellaVisionRAL Diagnostics par l'intermédiaire de votre fournisseur habituel pour recevoir une assistance.

Performances

Kit Cold ZN permet la coloration des structures cellulaires et leur observation microscopique.

Ne permettant pas la détection d'analytes, les performances analytiques ne sont pas applicables à ce réactif.

Ce dispositif médical repose sur la validité scientifique (Littérature scientifique évaluée par des pairs) et la démonstration des performances cliniques par l'expérience acquise grâce à des tests de diagnostic de routine, ainsi que l'évaluation régulière de ces performances dans le cadre de la Suivi des Performances Après Commercialisation (SPAC), afin de s'assurer qu'il continue de répondre aux performances attendues ainsi qu'aux normes de sécurité.

Afin de garantir les performances du produit, utiliser un équipement de laboratoire propre et sec.

Il incombe au laboratoire de notifier au fabricant et à l'autorité compétente au niveau régional/national tout incident grave lié à l'utilisation de ce dispositif médical.

Contrôle qualité utilisateur

Il incombe néanmoins aux utilisateurs de déterminer les modes opératoires appropriés de contrôle qualité pour leur laboratoire et de se conformer aux réglementations de laboratoire applicables.

CellaVision RAL Diagnostics recommande d'utiliser un frottis positif et un frottis négatif provenant de d'échantillons de patients différents lors du renouvellement des réactifs et pour le premier cycle de coloration de chaque jour. Les lames colorées à des fins de contrôle de la qualité doivent être vérifiées pour s'assurer qu'elles présentent des résultats satisfaisants pour le test prévu (correctement colorées et exemptes de précipités).

Les lames peuvent être préparées à l'avance et fixées à la chaleur de manière appropriée pour le stockage.

Il est possible d'effectuer ce contrôle à l'aide d'un échantillon de patient positif ou d'une suspension diluée d'AFB dont le statut positif est établi (tel que *Mycobacterium abscessus* CIP 108541).

Les résultats de la coloration doivent également être conformes aux résultats escomptés dans cette notice.

Ces procédures de contrôle de la qualité ne doivent être effectuées que par du personnel qualifié.

Autres produits

Pour toute information, veuillez contacter votre fournisseur habituel.

Recommandations, remarques et dépannage

Aspect du produit

Si l'aspect du produit diffère de celui indiqué ci-dessus dans ce manuel, ne pas l'utiliser et contacter le service technique de CellaVision RAL Diagnostics par l'intermédiaire de votre fournisseur habituel pour obtenir de l'aide.

Remarques sur les procédures

Afin de prévenir la dégradation du produit, veuillez respecter les recommandations de stockage et de manipulation indiquées dans cette notice.

Kit Cold ZN permet de traiter 150 lames.

Il est impératif d'effectuer une fixation préliminaire du frottis bactérien. L'examen au microscope est réalisé avec un objectif X100 à immersion. Selon l'épaisseur du frottis, il peut s'avérer nécessaire d'augmenter la durée de la coloration à la fuchsine.

Pour réaliser un dépistage des échantillons, il est recommandé d'utiliser au préalable une technique de fluorescence à l'auramine.

L'observation d'un bacille unique sur une lame donnée est un résultat incertain qui doit toujours conduire à une nouvelle investigation sur un autre échantillon. En toute situation, le rapport du bactériologiste doit toujours faire référence au nombre de champs observés et être signalé comme « absence de détection d'AFB sur 200 (ou 100) champs microscopiques » et non comme « bacilloscopie négative ».

De même, le signalement « bacilloscopie positive » ne représente pas une bonne réponse car elle ne donne aucune indication sur la richesse relative en bacilles de l'expectoration. Le rapport doit toujours présenter des informations quantitatives.

Il est recommandé d'utiliser deux kits de coloration différents, un pour l'examen direct des frottis et un autre pour les frottis provenant de cultures.

Stabilité du produit

Chaque produit CellaVision RAL Diagnostics est utilisable jusqu'à la date de péremption figurant sur le produit, dans son emballage d'origine et hermétiquement scellé.

Stabilité de la coloration

La qualité et la reproductibilité de la coloration dépendent de l'utilisation correcte des produits.

La coloration réalisée conformément à ces recommandations restera stable pendant plusieurs jours.

Instructions pour le nettoyage et l'élimination des déchets

Traiter tous les échantillons biologiques, effluents et consommables usagés comme potentiellement dangereux.



Pour éviter tout risque, appliquer les instructions suivantes : éliminer les échantillons, effluents et consommables conformément aux normes du laboratoire ainsi qu'aux normes et réglementations nationales et locales en vigueur.

L'enlèvement et le traitement des déchets chimiques et biologiques doivent être effectués par des entreprises spécialisées et agréées.

Tableau des symboles et abréviations

Selon le produit, vous pouvez trouver les symboles suivants sur le dispositif ou le matériel d'emballage.

Pictogrammes GHS	Interprétation
	Explosif
	Inflammable
	Comburant
	Gaz sous pression
	Corrosif
	Toxique
	Nocif ou irritant
	Danger pour la santé
	Danger pour l'environnement
	Etiquetage non applicable

Symboles	Interprétation
	Code du lot
	Numéro de série
	Référence du catalogue
	Date de fabrication
	Utiliser jusqu'à
	Identification unique du dispositif
	Fabriquant
	Importateur
	Entité distribuant le dispositif médical dans la région concernée
	Dispositif marqué CE
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Représentant agréé de la communauté européenne
	Représentant agréé en Suisse
	Représentant agréé au Royaume-Uni
	Conformes aux directives britanniques
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
	Conserver à l'abri de la lumière. Craint la chaleur
	Limite de température : 15-25°C
	Limite de température : 15-30°C
	Conserver à l'abri de l'humidité
	Boîte : manutention vers le haut
	Fragile
	Stérilisé par irradiation
	Système de barrière stérile unique avec emballage de protection externe
	Combinaison de protection stérile et stérilisée par radiation
	Ne pas réutiliser
	Ne pas stériliser de nouveau
	Contenu suffisant pour n tests
	Matière dangereuse contenue
	Consulter les instructions d'utilisation
	Utilisation
	Après ouverture utiliser dans les XX mois
	Ne pas utiliser le produit en conjonction avec une machine de coloration automatique
	Dispositif médical contenant des substances potentiellement cancérigènes, mutagènes ou reprotoxiques (CMR), ou des substances classées comme perturbateurs endocriniens

Bibliographie

1. **BEURIN M.C.**, Diagnostic des mycobactéries au laboratoire, Porphyre Afrique, vol. 1, n°1, nov. 1983, p. 22-24.
2. **GENEVA WORLD HEALTH ORGANIZATION**, *Manual of basic techniques for a health laboratory*, n°39, 1982, p. 231-234.
3. **PACAUD G.**, *Coloration en mycobactériologie*, Réactifs RAL, 1977, p. 2-4.
4. **PACAUD G.**, *Les colorations dans la pratique quotidienne en mycobactériologie*, ATEB, Journée Technique Parisienne, mars 1977.

Suivi des modifications

Date	Version	Modifications
09/2025	IFU078B	Révision de l'entête et des paragraphes suivants : Procédure opératoire, Performances, Recommandations, remarques et dépannage et Tableau des symboles et abréviations.
05/2022	IFU078A	Conformité à l'IVDR (UE) 2017/746