

1.06887.0500 **REF**  
 1.06887.2500  
 1.06887.9025  
 1.06888.0500  
 1.06888.1000  
 1.06888.1022  
 1.06888.2500  
 1.06888.9025

## Microscopy

### Papanicolaou's solution 2b Orange II solution

for cytology

### Papanicolaou's solution 2a Orange G solution (OG6)

for cytology

For professional use only

**IVD** In Vitro Diagnostic Medical Device



#### Intended purpose

These "Papanicolaou's solution 2a Orange G solution (OG6) - for cytology" and "Papanicolaou's solution 2b Orange II solution - for cytology" are used for human-medical cell diagnosis and serve the purpose of the cytological investigation of sample material of human origin. They are ready-to-use staining solutions these when used together with other *in vitro* diagnostic products from our portfolio make cytological target structures evaluable for diagnostic purposes (by fixing, staining, counterstaining, mounting) in human gynecological and clinico-cytological specimen materials, for example cervical smears.

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 examinations may be necessary to reach a definitive diagnosis.

#### Principle

Most used staining procedure for cytological specimen is Papanicolaou's technique and is intended for the the staining of exfoliative cells in cytological specimens.

In the first step, the cell nuclei are stained either progressively or regressively with a hematoxylin solution. Nuclei are stained blue to dark violet.

In the progressive hematoxylin staining method, staining is carried out to the endpoint, after which the slide is blued in tapwater.

With the regressive method the material is over-stained and the excess of staining solution is removed by acid rinsing steps, followed by the bluing step.

The structures of nuclei are more differentiated and better visible by the regressive method.

The second staining step is cytoplasmic staining by orange staining solution, especially for demonstration of mature and keratinized cells. The target structures are stained orange in different intensities.

In the third staining step is used the so-called polychrome solution, a mixture of eosin, light green SF and Bismarck brown. The polychrome solution is used for demonstration of differentiation of squamous cells.

Papanicolaou's solution 2a Orange G solution (OG6) gives a pale, yellow-orange staining result with mature and keratinized squamous cells. Papanicolaou's solution 2b Orange II solution gives a more intense reddish staining result with mature and keratinized squamous cells.

#### Sample material

Gynecological and non-gynecological specimen as sputum, urine, smears from fine needle aspiration biopsies (FNAB), effusions, rinses

#### Reagents

Cat. No. 1.06887  
 Papanicolaou's solution 2b Orange II solution 500 ml, 2.5 l, 25 l  
 for cytology

Cat. No. 1.06888  
 Papanicolaou's solution 2a Orange G solution (OG6) 500 ml, 1 l, 2.5 l, 25 l  
 for cytology

#### Also required:

##### for nucleus staining:

Cat. No. 1.05175 Hematoxylin solution modified acc. to Gill II for microscopy 500 ml, 2.5 l

or

Cat. No. 1.09253 Papanicolaou's solution 1a Harris hematoxylin solution for cytology 500 ml, 1 l, 2.5 l

or

Cat. No. 1.09254 Papanicolaou's solution 1b Hematoxylin solution S for cytology 500 ml, 2.5 l

##### for differentiation:

Cat. No. 1.09271 Papanicolaou's solution 3a polychromatic solution EA 31 for cytology 500 ml, 2.5 l

or

Cat. No. 1.09272 Papanicolaou's solution 3b polychromatic solution EA 50 for cytology 500 ml, 1 l, 2.5 l

##### required for regressive staining (see "Procedure"):

Cat. No. 1.00316 Hydrochloric acid 25% for analysis EMSURE® 1 l, 2.5 l

Cat. No. 1.06329 Sodium hydrogen carbonate for analysis EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur 500 g, 1 kg, 5 kg

#### 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.

#### Fixation of smear samples

Wet fixation immediately with spray fixative M-FIX® for min. 10 min or wet fixation immediately in ethanol 96 % for min. 30 min.

When the smears are fixed with M-FIX®, rinsing steps 1 - 4 in the ascending ethanol sequence prior to staining can be omitted.

#### Reagent preparation

The Papanicolaou's solution 2a Orange G solution (OG6) and the Papanicolaou's solution 2b Orange II solution used for staining are ready-to-use, dilution of the solutions is not necessary and merely produces a deterioration of the staining result and their stability.

**It is recommended to filter the solutions prior to their use.**

#### Hydrochloric acid 0.1 %, aqueous

For preparation of approx. 100 ml solution mix:

Distilled water	100 ml
Hydrochloric acid 25 %	0.4 ml

#### Sodium hydrogen carbonate solution 1.5 %

For preparation of approx. 1000 ml of solution, add and dissolve:

Sodium hydrogen carbonate	15 g
Distilled water	1000 ml

## Procedure

### Progressive staining

#### Staining in the staining cell

The slides must be immersed and moved briefly in the solutions, simple immersion alone yields inadequate staining results.

The slides should be allowed to drip off well after the individual staining steps, as a measure to avoid any unnecessary cross-contamination of solutions.

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

Slide with fixed smear	
Ethanol 96 %*	10 sec
Ethanol 80 %*	10 sec
Ethanol 70 %*	10 sec
Ethanol 50 %*	10 sec
Distilled water	20 sec
Hematoxylin solution modified acc. to Gill II or Papanicolaou's solution 1a Harris hematoxylin solution or Papanicolaou's solution 1b Hematoxylin solution S	3 min
Running tap water	3 min
Ethanol 70 %	30 sec
Ethanol 80 %	30 sec
Ethanol 96 %	30 sec
Papanicolaou's solution 2a Orange G solution or Papanicolaou's solution 2b Orange II solution	3 min
Ethanol 96 %	30 sec
Ethanol 96 %	30 sec
Papanicolaou's solution 3a polychromatic solution EA 31 or Papanicolaou's solution 3b polychromatic solution EA 50	3 min
Ethanol 96 %	30 sec
Ethanol 96 %	30 sec
Ethanol 100 %	5 min
Mixture consisting of: Ethanol 100 % + Neo-Clear™ or xylene (1 + 1)	2 min
Clarify with Neo-Clear™ or xylene.	5 min
Clarify with Neo-Clear™ or xylene.	5 min
Mount the Neo-Clear™-wet slides with Neo-Mount™ or the xylene-wet slides with e.g. Entellan™ new and cover glass.	

\* These steps can be omitted when smears are fixed with M-FIX®.

After dehydration (ascending alcohol series) and clarification with xylene or Neo-Clear™, cytological samples can be mounted with water-free mounting agents (e.g. Entellan™ new, DPX new, or Neo-Mount™) and a cover glass and can then be stored.

The use of immersion oil is recommended for the analysis of stained slides with a microscopic magnification >40x.

### Regressive staining

#### Staining in the staining cell

The slides must be immersed and moved briefly in the solutions, simple immersion alone yields inadequate staining results.

The slides should be allowed to drip off well after the individual staining steps, as a measure to avoid any unnecessary cross-contamination of solutions.

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

Slide with fixed smear	
Ethanol 96 %*	10 sec
Ethanol 80 %*	10 sec
Ethanol 70 %*	10 sec
Ethanol 50 %*	10 sec
Distilled water	10 sec
Hematoxylin solution modified acc. to Gill II or Papanicolaou's solution 1a Harris hematoxylin solution or Papanicolaou's solution 1b Hematoxylin solution S	5 min 6 min 5 min
Distilled water	10 sec
Hydrochloric acid 0.1%, aqueous	10 sec
Distilled water	10 sec
Sodium hydrogen carbonate solution 1.5 %	1 min
Running tap water	3 min
Ethanol 70 %	30 sec
Ethanol 80 %	30 sec
Ethanol 96 %	30 sec
Papanicolaou's solution 2a Orange G solution or Papanicolaou's solution 2b Orange II solution	3 min
Ethanol 96 %	30 sec
Ethanol 96 %	30 sec
Papanicolaou's solution 3a polychromatic solution EA 31 or Papanicolaou's solution 3b polychromatic solution EA 50	3 min
Ethanol 96 %	30 sec
Ethanol 96 %	30 sec
Ethanol 100 %	5 min
Mixture consisting of: Ethanol 100 % + Neo-Clear™ or xylene (1 + 1)	2 min
Clarify with Neo-Clear™ or xylene.	5 min
Clarify with Neo-Clear™ or xylene.	5 min
Mount the Neo-Clear™-wet slides with Neo-Mount™ or the xylene-wet slides with e.g. Entellan™ new and cover glass.	

\* These steps can be omitted when smears are fixed with M-FIX®.

After dehydration (ascending alcohol series) and clarification with xylene or Neo-Clear™, cytological samples can be mounted with water-free mounting agents (e.g. Entellan™ new, DPX new, or Neo-Mount™) and a cover glass and can then be stored.

The use of immersion oil is recommended for the analysis of stained slides with a microscopic magnification >40x.

## Result

Staining with	3a / EA 31	3b / EA 50
Cytoplasm cyanophilic (basophilic) eosinophilic (acidophilic) keratinized	blue-green to green pink pink-orange	blue-green pink pink-orange
Erythrocytes	red	
Nuclei	blue to dark violet	
Microorganisms	grey-blue, grey-green	

## 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

"Papanicolaou's solution 2a Orange G solution (OG6)" and "Papanicolaou's solution 2b Orange II solution" stain and thereby visualize biological structures, as described in the "Result" chapter of this IFU. The use of the products 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 products 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 %:

Cat. No. 1.06887 - Papanicolaou's solution 2b Orange II solution

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
Cytological staining				
Nuclei	17/17	17/17	8/8	8/8
Cytoplasm cyanophilic (basophilic)	17/17	17/17	8/8	8/8
Cytoplasm eosinophilic (acidophilic)	17/17	17/17	8/8	8/8

Analytical performance results

Cat. No. 1.06888 - Papanicolaou's solution 2a Orange G solution (OG6)

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
Cytological staining				
Nuclei	20/20	20/20	8/8	8/8
Cytoplasm cyanophilic (basophilic)	20/20	20/20	8/8	8/8
Cytoplasm eosinophilic (acidophilic)	20/20	20/20	8/8	8/8

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 products are suitable for the intended use and perform 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 should be conducted with each application in order to avoid an incorrect result.

## Storage

Store the Papanicolaou's solution 2a Orange G solution (OG6) - for cytology and the Papanicolaou's solution 2b Orange II solution - for cytology at +15 °C to +25 °C.

## Shelf-life

The Papanicolaou's solution 2a Orange G solution (OG6) - for cytology and the Papanicolaou's solution 2b Orange II solution - for cytology 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.

Avoid exposure to heat.

In the Papanicolaou's solution 2a Orange G solution (OG6) - for cytology there may be occasional precipitations. This has no effect on the quality of the solution and do not affect the diagnosis.

## Capacity

1.09253 Papanicolaou's solution 1a Harris hematoxylin solution  
1500 - 2500 stainings / 500 ml

1.09254 Papanicolaou's solution 1b Hematoxylin solution S  
1500 - 2500 stainings / 500 ml

1.05175 Hematoxylin solution modified acc. to Gill II  
1000 - 1500 stainings / 500 ml

1.06888 Papanicolaou's solution 2a Orange G solution)  
1500 - 2000 stainings / 500 ml

1.06887 Papanicolaou's solution 2b Orange II solution  
1500 - 2000 stainings / 500 ml

1.09271 Papanicolaou's solution 3a polychromatic solution EA 31  
1500 - 2000 stainings / 500 ml

1.09272 Papanicolaou's solution 3b polychromatic solution EA 50  
1500 - 2000 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](http://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. 1.00316	Hydrochloric acid 25% for analysis EMSURE®	1 l, 2.5 l
Cat. No. 1.00579	DPX new non-aqueous mounting medium for microscopy	500 ml
Cat. No. 1.00974	Ethanol denatured with about 1 % methyl ethyl ketone for analysis EMSURE®	1 l, 2.5 l
Cat. No. 1.03981	M-FIX® spray fixative for cytodiagnosis	100 ml, 1 l
Cat. No. 1.04699	Immersion oil for microscopy	100-ml dropping bottle, 100 ml, 500 ml
Cat. No. 1.05175	Hematoxylin solution modified acc. to Gill II for microscopy	500 ml, 2.5 l
Cat. No. 1.06329	Sodium hydrogen carbonate for analysis EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Cat. No. 1.07961	Entellan™ new rapid mounting medium for microscopy	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. No. 1.08298	Xylene (isomeric mixture) for histology	4 l
Cat. No. 1.09016	Neo-Mount™ anhydrous mounting medium for microscopy	100-ml dropping bottle, 500 ml

Cat. No. 1.09253	Papanicolaou's solution 1a Harris hematoxylin solution for cytology	500 ml, 1 l, 2.5 l
Cat. No. 1.09254	Papanicolaou's solution 1b Hematoxylin solution S for cytology	500 ml, 2.5 l
Cat. No. 1.09271	Papanicolaou's solution 3a polychromatic solution EA 31 for cytology	500 ml, 2.5 l
Cat. No. 1.09272	Papanicolaou's solution 3b polychromatic solution EA 50 for cytology	500 ml, 1 l, 2.5 l
Cat. No. 1.09843	Neo-Clear™ (xylene substitute) for microscopy	5 l

### Hazard classification

Cat. No. 1.06887

Cat. No. 1.06888

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 products

Cat. No. 1.06887

C.I. 15510 4.7 g/l  
 $H_3[P(W_3O_{10})_4]$  0.2 g/l  
 1 l = 0.83 kg

Cat. No. 1.06888

C.I. 16230 1.9 g/l  
 $H_3(Mo_{12}O_{40})P \times H_2O$  0.1 g/l

### 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. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. 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
3. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
4. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
5. Gynäkologische Zytodiagnostik Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost, Siegfried Baur, Georg Thieme Verlag Stuttgart, Auflage, 1990

### Cat. No. 1.06887



H225: Highly flammable liquid and vapor.

H302 + H312 + H332: Harmful if swallowed, in contact with skin or if inhaled.

H319: Causes serious eye irritation.

H370: Causes damage to organs (Eyes, Central nervous system).

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

P280: Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.

P301 + P312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/ doctor if you feel unwell.

P303 + P361 + P353: IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.

P304 + P340 + P312: IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Call a POISON CENTER/ doctor if you feel unwell.

P308 + P311: IF exposed or concerned: Call a POISON CENTER/ doctor.

### Cat. No. 1.06888



H225: Highly flammable liquid and vapor.

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.

P240: Ground and bond container and receiving equipment.

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

P242: Use non-sparking tools.

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	Modification Comment
2024-Aug-01	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-01

MilliporeSigma is the U.S. and Canada Life Science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. MilliporeSigma and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly available resources.



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](http://www.sigmaaldrich.com)

**MILLIPORE  
SIGMA**

1.06887.0500

REF

1.06887.2500

1.06887.9025

1.06888.0500

1.06888.1000

1.06888.1022

1.06888.2500

1.06888.9025

## Microscopie

### Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution

pour la cytologie

### Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6)

pour la cytologie

Réservé à une utilisation professionnelle

IVD

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

CE

#### Objectif prévu

Les présentes « Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6) - pour la cytologie » et « Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution - pour la cytologie » sont utilisées pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et servent à l'examen cytologique d'échantillons d'origine humaine. Ce sont solutions de colorant prête à l'emploi, qui sont utilisées conjointement avec d'autres diagnostics *in vitro* de notre portefeuille pour rendre des structures cytologiques cibles analysables pour le diagnostic (par fixation, coloration, contre-coloration, montage) dans des épreuves gynécologiques humaines et clinico-cytologiques, telles que les frottis du col de l'utérus.

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 peut être nécessaire d'exécuter des examens supplémentaires.

#### Principe

La coloration de Papanicolaou est la méthode de coloration la plus utilisée pour le matériel cytologique et est destinée à la coloration de cellules exfoliatives dans des échantillons cytologiques.

Dans la première étape, les noyaux cellulaires sont colorés avec une solution d'hématoxyline de manière soit progressive soit régressive. Les noyaux apparaissent en bleu à violet foncé.

Lors de la coloration à l'hématoxyline progressive la coloration se poursuit jusqu'au point final, puis un bleuissement est effectué dans l'eau du robinet.

Au cours de la méthode régressive, l'hématoxyline est surcolorée, l'excès de colorant est ensuite retiré pendant les phases de différenciation, ici aussi on bleuit à l'eau du robinet.

Dans la coloration régressive les structures nucléaires apparaissent différenciées et sont plus visibles.

La seconde phase consiste en une coloration cytoplasmique avec une solution de coloration orange, qui rend particulièrement bien les cellules mûres et kératinisées. Les structures cibles se colorent en orange d'intensités différentes.

Pour la troisième phase de la coloration, on utilise la solution appelée polychrome, qui est un mélange d'éosine, de vert lumière SF et de brun Bismarck. La différenciation de l'épithélium pavimenteux est représentée avec la solution polychrome.

Avec la Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6) on obtient une image colorée jaune-orangé tendre pour un épithélium pavimenteux mûr et kératinisé.

Avec la Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution on obtient une image colorée rouge intensif pour un épithélium pavimenteux mûr et kératinisé.

#### Matériel d'échantillons

Echantillons gynécologiques et non-gynécologiques comme crachats, urine, frottis de ponctions-biopsies à l'aiguille fine (BAAF), liquides d'épanchement, liquides de lavage

#### Réactifs

Art. 1.06887  
Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution 500 ml, 2,5 l, 25 l pour la cytologie

Art. 1.06888  
Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6) 500 ml, 1 l, 2,5 l, pour la cytologie

#### Nécessaire en plus :

##### pour la coloration du noyau cellulaire :

Art. 1.05175 Hématoxyline en solution modifiée selon Gill II 500 ml, 2,5 l pour la microscopie

ou  
Art. 1.09253 Solution de Papanicolaou 1a Hématoxyline en solution selon Harris pour la cytologie 500 ml, 1 l, 2,5 l

ou  
Art. 1.09254 Solution de Papanicolaou 1b Hématoxyline S en solution pour la cytologie 500 ml, 2,5 l

##### pour la différenciation :

Art. 1.09271 Solution 3a de Papanicolaou Solution polychrome EA 31 pour la cytologie 500 ml, 2,5 l

ou  
Art. 1.09272 Solution 3b de Papanicolaou, solution polychrome EA 50 pour la cytologie 500 ml, 1 l, 2,5 l

##### pour la coloration régressive (cf. « Mode opératoire ») :

Art. 1.00316 Acide chlorhydrique 25 % 1 l, 2,5 l pour analyses EMSURE®

Art. 1.06329 Hydrogénocarbonate de sodium 500 g, 1 kg, 5 kg pour analyse EMSURE® ACS, Reag.Ph Eur

#### 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.

#### Fixation des préparations de frottis

Fixation humide immédiate avec le spray de fixation M-FIX® pendant au moins 10 minutes ou fixation humide immédiate dans l'éthanol 96 % pendant au moins 30 minutes.

Si les frottis sont fixés au M-FIX®, les étapes de lavage 1 à 4 dans la série de solutions d'éthanol à concentration décroissante avant la coloration peuvent être supprimées.

#### Préparation du réactif

La Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6) et la Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution utilisées pour colorer sont prêtes à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer les solutions étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.

**Il est recommandé de filtrer les solutions avant l'emploi.**

#### Acide chlorhydrique 0,1 %, aqueux

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

Eau distillée	100 ml
Acide chlorhydrique 25 %	0,4 ml

#### Solution d'hydrogénocarbonate de sodium 1,5 %

Pour la préparation d'env. 1 000 ml de solution, il faut additionner et dissoudre :

Hydrogénocarbonate de sodium	15 g
Eau distillée	1000 ml



## Mode opératoire

### Coloration progressive

#### Coloration dans la cuve de coloration

Il est nécessaire de plonger et de déplacer brièvement les lames porte-objets dans les solutions ; une simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants.

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions.

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

Porte-objet avec frottis fixé	
Ethanol 96 %*	10 secondes
Ethanol 80 %*	10 secondes
Ethanol 70 %*	10 secondes
Ethanol 50 %*	10 secondes
Eau distillée	20 secondes
Hématoxyline en solution modifiée selon Gill II ou Solution de Papanicolaou 1a Hématoxyline en solution selon Harris ou Solution de Papanicolaou 1b Hématoxyline S en solution	3 minutes
Eau du robinet courante	3 minutes
Ethanol 70 %	30 secondes
Ethanol 80 %	30 secondes
Ethanol 96 %	30 secondes
Solution de Papanicolaou 2a solution orange G ou Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution	3 minutes
Ethanol 96 %	30 secondes
Ethanol 96 %	30 secondes
Solution 3a de Papanicolaou Solution polychrome EA 31 ou Solution 3b de Papanicolaou Solution polychrome EA 50	3 minutes
Ethanol 96 %	30 secondes
Ethanol 96 %	30 secondes
Ethanol 100 %	5 minutes
Mélange de : Ethanol 100 % + Neo-Clear™ ou xylène (1 + 1)	2 minutes
Clarification au Neo-Clear™ ou au xylène.	5 minutes
Clarification au Neo-Clear™ ou au xylène.	5 minutes
Monter les préparations humides de Neo-Clear™ avec le Neo-Mount™ ou les préparations humides de xylène avec p.ex. l'Entellan™ néo et d'une lamelle couvre-objet.	

\* Ces étapes peuvent être supprimées en cas de fixation au M-FIX®.

Après avoir été déshydratées (passage dans des alcools à concentration croissante) et clarifiées dans du xylène ou du Neo-Clear™, les préparations cytologiques peuvent être montées avec des produits de montage anhydres (p.ex. Entellan™ néo, DPX néo ou Neo-Mount™) et une lamelle couvre-objets et être conservée.

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

### Coloration régressive

#### Coloration dans la cuve de coloration

Il est nécessaire de plonger et de déplacer brièvement les lames porte-objets dans les solutions ; une simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants.

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions.

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

Porte-objet avec frottis fixé	
Ethanol 96 %*	10 secondes
Ethanol 80 %*	10 secondes
Ethanol 70 %*	10 secondes
Ethanol 50 %*	10 secondes
Eau distillée	10 secondes
Hématoxyline en solution modifiée selon Gill II ou Solution de Papanicolaou 1a Hématoxyline en solution selon Harris ou Solution de Papanicolaou 1b Hématoxyline S en solution	5 minutes 6 minutes 5 minutes
Eau distillée	10 secondes
Acide chlorhydrique 0,1 %, aqueux	10 secondes
Eau distillée	10 secondes
Solution d'hydrogénocarbonate de sodium 1,5 %	1 minute
Eau du robinet courante	3 minutes
Ethanol 70 %	30 secondes
Ethanol 80 %	30 secondes
Ethanol 96 %	30 secondes
Papanicolaou 3a Solution polychrome EA 31 ou Papanicolaou 3b Solution polychrome EA 50	3 minutes
Ethanol 96 %	30 secondes
Ethanol 96 %	30 secondes
Solution 3a de Papanicolaou Solution polychrome EA 31 ou Solution 3b de Papanicolaou Solution polychrome EA 50	3 minutes
Ethanol 96 %	30 secondes
Ethanol 96 %	30 secondes
Ethanol 100 %	5 minutes
Mélange de : Ethanol 100 % + Neo-Clear™ ou xylène (1 + 1)	2 minutes
Clarification au Neo-Clear™ ou au xylène.	5 minutes
Clarification au Neo-Clear™ ou au xylène.	5 minutes
Monter les préparations humides de Neo-Clear™ avec le Neo-Mount™ ou les préparations humides de xylène avec p.ex. l'Entellan™ néo et d'une lamelle couvre-objet.	

\* Ces étapes peuvent être supprimées en cas de fixation au M-FIX®.

Après avoir été déshydratées (passage dans des alcools à concentration croissante) et clarifiées dans du xylène ou du Neo-Clear™, les préparations cytologiques peuvent être montées avec des produits de montage anhydres (p.ex. Entellan™ néo, DPX néo ou Neo-Mount™) et une lamelle couvre-objets et être conservée.

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

## Résultat

Coloration avec	3a / EA 31	3b / EA 50
Cytoplasmes cyanophiles (basophiles) éosinophiles (acidophiles) kératinisés	bleu vert au vert rose orangé rose	bleu vert rose orangé rose
Erythrocytes	rouge	
Noyaux cellulaires	bleu à violet foncé	
Micro-organismes	bleu gris, vert gris	

## 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.

## Caractéristiques de performance analytique

« Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6) » et « Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution » colorent et permettent donc la visualisation donc la visualisation de structures biologiques, comme décrit dans le chapitre « Résultat » de ce mode d'emploi. Ces produits ne doivent être utilisés que par des personnes agréées et qualifiées, ce qui englobe notamment la préparation des échantillons et des réactifs, la manipulation des échantillons, la prise de décisions en matière de contrôles appropriés et autres.

La performance analytique des produits 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 % :

Art. 1.06887 - Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration cytologiques				
Noyaux cellulaires	17/17	17/17	8/8	8/8
Cytoplasmes cyanophiles (basophiles)	17/17	17/17	8/8	8/8
Cytoplasmes éosinophiles (acidophiles)	17/17	17/17	8/8	8/8

Résultats de la performance analytique

Art. 1.06888 - Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6)

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration cytologiques				
Noyaux cellulaires	20/20	20/20	8/8	8/8
Cytoplasmes cyanophiles (basophiles)	20/20	20/20	8/8	8/8
Cytoplasmes éosinophiles (acidophiles)	20/20	20/20	8/8	8/8

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 les produits sont appropriés à l'usage prévu et peuvent être utilisés 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 complémentaire.

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 la Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6) - pour la cytologie et la Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution - pour la cytologie entre +15 °C et +25 °C.

## Stabilité

La Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6) - pour la cytologie et la Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution - pour la cytologie peuvent être utilisées 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.

Éviter l'action de la chaleur.

Dans la Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6) - pour la cytologie qu'il peut y avoir des précipitations occasionnelles. Ces précipitations ne nuisent pas à la qualité de la solution et ne pas affecter le diagnostic.

## Capacité

1.09253 Solution de Papanicolaou 1a Héματοxyline en solution selon Harris 1500 à 2500 colorations / 500 ml

1.09254 Solution de Papanicolaou 1b Héματοxyline S en solution 1500 à 2500 colorations / 500 ml

1.05175 Héματοxyline en solution modifiée selon Gill II 1000 à 1500 colorations / 500 ml

1.06888 Solution de Papanicolaou 2a solution orange G 1500 à 2000 colorations / 500 ml

1.06887 Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution 1500 à 2000 colorations / 500 ml

1.09271 Solution 3a de Papanicolaou Solution polychrome EA 31 1500 à 2000 colorations / 500 ml

1.09272 Solution 3b de Papanicolaou Solution polychrome EA 50 1500 à 2000 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](http://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. 1.00316	Acide chlorhydrique 25 % pour analyses EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.00579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie	500 ml
Art. 1.00974	Ethanol dénaturé avec env. 1 % d'éthylméthylcétone pour analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.03981	M-FIX® Spray de fixation pour le cytodagnostic	100 ml, 1 l
Art. 1.04699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.05175	Héματοxyline en solution modifiée selon Gill II pour la microscopie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.06329	Hydrogénocarbonate de sodium pour analyse EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Art. 1.07961	Entellan™ néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08298	Xylène (mélange isomérique) pour l'histologie	4 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09253	Solution de Papanicolaou 1a Héματοxyline en solution selon Harris pour la cytologie	500 ml, 1 l, 2,5 l

Art. 1.09254	Solution de Papanicolaou 1b Hématoxyline S en solution pour la cytologie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09271	Solution 3a de Papanicolaou Solution polychrome EA 31 pour la cytologie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09272	Solution 3b de Papanicolaou, solution polychrome EA 50 pour la cytologie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (remplaçant du xylène) pour la microscopie	5 l

### Classification des matières dangereuses

Art. 1.06887

Art. 1.06888

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 des produits

Art. 1.06887

C.I. 15510	4,7 g/l
H <sub>3</sub> [P(W <sub>3</sub> O <sub>10</sub> ) <sub>4</sub> ]	0,2 g/l
1 l =	0,83 kg

Art. 1.06888

C.I. 16230	1,9 g/l
H <sub>3</sub> (Mo <sub>12</sub> O <sub>40</sub> )P x H <sub>2</sub> O	0,1 g/l

### 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. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. 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
3. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
4. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
5. Gynäkologische Zytodiagnostik Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost, Siegfried Baur, Georg Thieme Verlag Stuttgart, Auflage, 1990

### Art. 1.06887



H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.

H302 + H312 + H332 : Nocif en cas d'ingestion, de contact cutané ou d'inhalation.

H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

H370 : Risque avéré d'effets graves pour les organes (Yeux, Système nerveux central).

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/ du visage.

P301 + P312 : EN CAS D'INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON/ un médecin en cas de malaise.

P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.

P304 + P340 + P312 : EN CAS D'INHALATION: transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler un CENTRE ANTIPOISON/ un médecin en cas de malaise.

P308 + P311 : EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: Appeler un CENTRE ANTIPOISON/ un médecin.

### Art. 1.06888



H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.

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.

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.

P242 : Utiliser des outils ne produisant pas d'étincelles.

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-01	Version initiale avec l'introduction de l'historique des révisions

Respectez les consignes d'utilisation	Fabricant	N° catalogue	Code de lot
Attention : observez la documentation complémentaire	Utilisable jusqu'au AAAA-MM-JJ	Limitation de température	

Status: 2024-Aug-01

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](http://www.sigmaaldrich.com)

**MILLIPORE  
SIGMA**



1.06887.0500

REF

1.06887.2500

1.06887.9025

1.06888.0500

1.06888.1000

1.06888.1022

1.06888.2500

1.06888.9025

## Microscopía

### Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II

para citología

### Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6)

para citología

Solamente para uso profesional

IVD

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*

#### Finalidad prevista

Las presentes "Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6) - para citología" y "Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II - para citología" son utilizadas para el diagnóstico celular en la medicina humana y se emplean en el examen citológico de muestras de origen humano. Hay soluciones de colorante listas 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 citológicas (mediante fijación, tinción, contratinción, montaje) en material de examen humano-ginecológico y clínico-citológico, como p. ej. frotis cervicales.

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. Tal vez se requieren exámenes más complejos para un diagnóstico final.

#### Principio

La tinción de Papanicolaou es el método de tinción más utilizado para material citológico y está prevista para la tinción de células exfoliativas en muestras citológicas.

En el primer paso, los núcleos celulares son teñidos con una solución de hematoxilina en forma progresiva o bien regresiva. Los núcleos aparecen azul a violeta oscuro.

En la tinción progresiva de hematoxilina, setiñe hasta el punto terminal y luego en agua del grifo hasta el viraje a azul.

En el método regresivo se sobretiene la hematoxilina, el exceso de colorante se elimina de nuevo en pasos de diferenciación rápidos; también aquí se realiza el azulado con agua corriente del grifo.

En la tinción regresiva las estructuras del núcleo se presentan más diferenciadas y se pueden ver mejor.

El segundo paso es la tinción del citoplasma con una solución anaranjada, que muestra especialmente las células maduras y queratinizadas. Las estructuras objetivo se tiñen de anaranjado con diferentes intensidades.

En el tercer paso de tinción se usa la llamada solución polícroma, que es una mezcla de eosina, verde luz SF y pardo de Bismarck. Con la solución polícroma se muestra la diferenciación del epitelio escamoso simple.

Con la Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6) se consigue una tinción suave anaranjado amarillenta en el epitelio escamoso simple maduro y queratinizado.

Con la Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II se consigue una tinción más intensa, rojiza, en el epitelio escamoso simple maduro y queratinizado.

#### Material de las muestras

Muestras ginecológicas y no ginecológicas como esputos, orina, frotis tomados de punciones aspirativas con aguja fina (PAAF/FNAB), efusiones, soluciones de lavado

#### Reactivos

Art. 1.06887  
Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II 500 ml, 2,5 l, 25 l para citología

Art. 1.06888  
Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6) 500 ml, 1 l, 2,5 l, 25 l para citología

#### Necesario además:

##### para la tinción nuclear:

Art. 1.05175 Hematoxilina en solución modificada según Gill II 500 ml, 2,5 l para microscopía

Art. 1.09253 Solución de Papanicolaou 1a solución de hematoxilina según Harris para citología 500 ml, 1 l, 2,5 l

Art. 1.09254 Solución de Papanicolaou 1b solución de hematoxilina S para citología 500 ml, 2,5 l

##### para la diferenciación:

Art. 1.09271 Solución 3a de Papanicolaou solución polícroma EA 31 para citología 500 ml, 2,5 l

Art. 1.09272 Solución 3b de Papanicolaou solución polícroma EA 50 para citología 500 ml, 1 l, 2,5 l

##### para la tinción regresiva (ver "Técnica"):

Art. 1.00316 Ácido clorhídrico 25% 1 l, 2,5 l p. a. EMSURE®

Art. 1.06329 Sodio hidrogenocarbonato 500 g, 1 kg, 5 kg p. a. EMSURE® ACS, Reag.Ph Eur

#### Preparación de las 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.

#### Fijación de preparados de frotis

Fijación húmeda inmediata con el fijador pulverizable M-FIX® durante mínimo 10 minutos o fijación húmeda inmediata en etanol 96 % durante mínimo 30 minutos.

Si se fijan los frotis con M-FIX®, podrán suprimirse los pasos de lavado 1 - 4 en la serie descendente de etanol antes de la tinción.

#### Preparación del reactivo

La Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6) y la Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II utilizadas para los procesos de tinción están listas para el uso, la dilución de las soluciones no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

**Se recomienda filtrar las soluciones antes de su uso.**

#### Ácido clorhídrico 0,1 %, acuoso

Para preparar aprox. 100 ml de solución se añaden juntos:

Agua destilada	100 ml
Ácido clorhídrico 25 %	0,4 ml

#### Solución de sodio hidrogenocarbonato 1,5 %

Para la preparación de aproximadamente 1000 ml de solución se añaden y disuelven:

Sodio hidrogenocarbonato	15 g
Agua destilada	1000 ml

## Técnica

### Tinción progresiva

#### Tinción en la cubeta de tinción

Los portaobjetos han de ser inmersos y movidos brevemente en las soluciones, la simple introducción proporcionará resultados de tinción insuficientes.

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

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

Portaobjetos con frotis fijado	
Etanol 96 %*	10 segundos
Etanol 80 %*	10 segundos
Etanol 70 %*	10 segundos
Etanol 50 %*	10 segundos
Agua destilada	20 segundos
Hematoxilina en solución modificada según Gill II o Solución de Papanicolaou 1a solución de hematoxilina según Harris o Solución de Papanicolaou 1b solución de hematoxilina S	3 minutos
Agua corriente del grifo	3 minutos
Etanol 70 %	30 segundos
Etanol 80 %	30 segundos
Etanol 96 %	30 segundos
Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G o Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II	3 minutos
Etanol 96 %	30 segundos
Etanol 96 %	30 segundos
Solución 3a de Papanicolaou solución polícroma EA 31 o Solución 3b de Papanicolaou solución polícroma EA 50	3 minutos
Etanol 96 %	30 segundos
Etanol 96 %	30 segundos
Etanol 100 %	5 minutos
Mezcla de: Etanol 100 % + Neo-Clear™ o xileno (1 + 1)	2 minutos
Clarificar con Neo-Clear™ o xileno.	5 minutos
Clarificar con Neo-Clear™ o xileno.	5 minutos
Montar con Neo-Mount™ los preparados humedecidos con Neo-Clear™, o los preparados humedecidos con xileno con p.ej. Entellan™ Nuevo y cubre-objetos.	

\* Estos pasos podrán ser suprimidos en caso de una fijación con M-FIX®.

Los preparados citológicos pueden ser montados y almacenados con medios de montaje anhidros (p.ej. Entellan™ Nuevo, DPX nuevo o Neo-Mount™) y cubreobjetos después de la deshidratación (series de alcohol ascendentes) y la clarificación con xileno o Neo-Clear™.

Para el análisis de preparados teñidos con un aumento microscópico >40x se recomienda el uso de aceite de inmersión.

### Tinción regresiva

#### Tinción en la cubeta de tinción

Los portaobjetos han de ser inmersos y movidos brevemente en las soluciones, la simple introducción proporcionará resultados de tinción insuficientes.

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

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

Portaobjetos con frotis fijado	
Etanol 96 %*	10 segundos
Etanol 80 %*	10 segundos
Etanol 70 %*	10 segundos
Etanol 50 %*	10 segundos
Agua destilada	10 segundos
Hematoxilina en solución modificada según Gill II o Solución de Papanicolaou 1a solución de hematoxilina según Harris o Solución de Papanicolaou 1b solución de hematoxilina S	5 minutos 6 minutos 5 minutos
Agua destilada	10 segundos
Ácido clorhídrico 0,1 %, acuoso	10 segundos
Agua destilada	10 segundos
Solución de sodio hidrogenocarbonato 1,5 %	1 minuto
Agua corriente del grifo	3 minutos
Etanol 70 %	30 segundos
Etanol 80 %	30 segundos
Etanol 96 %	30 segundos
Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G o Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II	3 minutos
Etanol 96 %	30 segundos
Etanol 96 %	30 segundos
Solución 3a de Papanicolaou solución polícroma EA 31 o Solución 3b de Papanicolaou solución polícroma EA 50	3 minutos
Etanol 96 %	30 segundos
Etanol 96 %	30 segundos
Solución 3a de Papanicolaou solución polícroma EA 31 o Solución 3b de Papanicolaou solución polícroma EA 50	3 minutos
Etanol 96 %	30 segundos
Etanol 96 %	30 segundos
Etanol 100 %	5 minutos
Mezcla de: Etanol 100 % + Neo-Clear™ o xileno (1 + 1)	2 minutos
Clarificar con Neo-Clear™ o xileno.	5 minutos
Clarificar con Neo-Clear™ o xileno.	5 minutos
Montar con Neo-Mount™ los preparados humedecidos con Neo-Clear™, o los preparados humedecidos con xileno con p.ej. Entellan™ Nuevo y cubre-objetos.	

\* Estos pasos podrán ser suprimidos en caso de una fijación con M-FIX®.

Los preparados citológicos pueden ser montados y almacenados con medios de montaje anhidros (p.ej. Entellan™ Nuevo, DPX Nuevo o Neo-Mount™) y cubreobjetos después de la deshidratación (series de alcohol ascendentes) y la clarificación con xileno o Neo-Clear™.

Para el análisis de preparados teñidos con un aumento microscópico >40x se recomienda el uso de aceite de inmersión.

## Resultado

Coloración con	3a / EA 31	3b / EA 50
Citoplasma cianófilo (basófilo) eosinófilo (acidófilo) queratinizado	verde azulado a verde rosa rosa-anaranjado	verde azulado rosa rosa-anaranjado
Eritrocitos	rojo	
Núcleos celulares	azul a violeta oscuro	
Microorganismos	azul grisáceo, verde grisáceo	

## 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

“Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6)” y “Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II” tiñen y, por lo tanto, visualizan estructuras biológicas, como se describe en el capítulo “Resultado” de esta instrucción de uso. Solo deben utilizar los productos 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 de los productos 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 %:

Art. 1.06887 - Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II

	Especificidad inter-ensayos	Especificidad inter-ensayos	Especificidad intra-ensayos	Especificidad intra-ensayos
Tinción citológica				
Núcleos celulares	17/17	17/17	8/8	8/8
Citoplasma cianófilo (basófilo)	17/17	17/17	8/8	8/8
Citoplasma eosinófilo (acidófilo)	17/17	17/17	8/8	8/8

Resultados de rendimiento analítico

Art. 1.06888 - Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6)

	Especificidad inter-ensayos	Especificidad inter-ensayos	Especificidad intra-ensayos	Especificidad intra-ensayos
Tinción citológica				
Núcleos celulares	20/20	20/20	8/8	8/8
Citoplasma cianófilo (basófilo)	20/20	20/20	8/8	8/8
Citoplasma eosinófilo (acidófilo)	20/20	20/20	8/8	8/8

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 de los productos 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 para descartar resultados erróneos.

## Almacenamiento

Guardar la Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6) - para citología y del ciclo y la Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II - para citología y del ciclo de +15 °C a +25 °C.

## Estabilidad

La Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6) - para citología y del ciclo y la Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II - para citología y del ciclo se pueden utilizar 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.

Evitar efectos de calor.

En la Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6) - para citología puede haber precipitaciones ocasionales. Sin embargo, éstas no influirán en la calidad de la solución y no afectan el diagnóstico.

## Capacidad

1.09253 Solución de Papanicolaou 1a solución de hematoxilina según Harris 1500 - 2500 tinciones / 500 ml

1.09254 Solución de Papanicolaou 1b solución de hematoxilina S 1500 - 2500 tinciones / 500 ml

1.05175 Hematoxilina en solución modificada según Gill II 1000 - 1500 tinciones / 500 ml

1.06888 Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G 1500 - 2000 tinciones / 500 ml

1.06887 Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II 1500 - 2000 tinciones / 500 ml

1.09271 Solución 3a de Papanicolaou solución policroma EA 31 1500 - 2000 tinciones / 500 ml

1.09272 Solución 3b de Papanicolaou solución policroma EA 50 1500 - 2000 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](http://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. 1.00316	Ácido clorhídrico 25% p. a. EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.00579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml
Art. 1.00974	Etanol desnaturalizado con aprox. 1 % de metiletilcetona para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.03981	M-FIX® Fijador pulverizable para citodiagnóstico	100 ml, 1 l
Art. 1.04699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.05175	Hematoxilina en solución modificada según Gill II para microscopía	500 ml, 2,5 l
Art. 1.06329	Sodio hidrogenocarbonato p. a. EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Art. 1.07961	Entellan™ Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08298	Xileno (mezcla de isómeros) para histología	4 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml

Art. 1.09253	Solución de Papanicolaou 1a solución de hematoxilina según Harris para citología	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.09254	Solución de Papanicolaou 1b solución de hematoxilina S para citología	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09271	Solución 3a de Papanicolaou solución policroma EA 31 para citología	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09272	Solución 3b de Papanicolaou solución policroma EA 50 para citología	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sustituto de xileno) para microscopía	5 l

### Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.06887

Art. 1.06888

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 de los productos

Art. 1.06887

C.I. 15510 4,7 g/l

H<sub>3</sub>[P(W<sub>3</sub>O<sub>10</sub>)<sub>4</sub>] 0,2 g/l

1 l = 0,83 kg

Art. 1.06888

C.I. 16230 1,9 g/l

H<sub>3</sub>(Mo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>)P x H<sub>2</sub>O 0,1 g/l

### 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. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. 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
3. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
4. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
5. Gynäkologische Zytodiagnostik Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost, Siegfried Baur, Georg Thieme Verlag Stuttgart, Auflage, 1990

### Art. 1.06887



H225: Líquido y vapores muy inflamables.

H302 + H312 + H332: Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación.

H319: Provoca irritación ocular grave.

H370: Provoca daños en los órganos (Ojos, Sistema nervioso central).

P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.

P280: Llevar guantes/ ropa de protección/ equipo de protección para los ojos/ la cara.

P301 + P312: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico si la persona se encuentra mal.

P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua.

P304 + P340 + P312: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico si la persona se encuentra mal.

P308 + P311: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico.

### Art. 1.06888



H225: Líquido y vapores muy inflamables.

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.

P240: Toma de tierra y enlace equipotencial del recipiente y del equipo receptor.

P241: Utilizar material eléctrico/ de ventilación/ iluminación/ antideflagrante.

P242: No utilizar herramientas que produzcan chispas.

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
2024-Aug-01	Versión inicial con la introducción del Historial de revisiones

