

1.01301.0050

Microscopía

Auramina O (C.I. 41000)

para microscopía

IVD Producto sanitario para diagnóstico in vitro



para la tinción Tb fluorescente de frotis y de cortes

El presente colorante "Auramina O (C.I. 41000) - para microscopía" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana y se emplea en el examen bacteriológico e histológico de muestras de origen humano. Se trata de un colorante seco que se utiliza para la preparación de una solución de colorante, junto con otros materiales de diagnóstico in vitro pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino (p.ej. micobacterias resistentes a los ácidos, mediante fijación, inclusión, tinción con la solución auramina O arriba indicada, 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.

Principio

Tinción de micobacterias según Hagemann-Hermann por unión no específica del colorante fluorescente a un sustrato

El mecanismo de la tinción fluorescente es comparable con la tinción clásica de Ziehl-Neelsen.

Las micobacterias presentan una elevada proporción de cera y lípidos en la pared celular, por lo que absorben los colorantes sólo de forma muy lenta. Una vez absorbido el colorante de fucsina por las micobacterias, será prácticamente imposible conseguir la descoloración, incluso a través de un tratamiento intensivo con una solución descolorante como p.ej. ácido clorhídrico-alcohol. Por eso, en lo que se refiere a sus propiedades de tinción, las micobacterias son denominadas como resistentes a ácidos y alcohol.

A través de un tratamiento previo de los preparados con Sputofluo® se liberan las bacterias del esputo viscoso y material celular circundante. El Sputofluo® tiene además un efecto desinfectante por el cual se consigue la eliminación de microorganismos.

Material de las muestras

Frotis de material bacteriológico secados al aire, termofijados y sometidos a un tratamiento previo con Sputofluo® 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 fijado en formalina e incluido en parafina (cortes de parafina de 3 - 4 µm de espesor)

Reactivos

Art. 1.01301.0050

Auramina O (C.I. 41000) 50 g
para microscopía

Color Index No.: 41000

Color Index Name: Basic yellow 2

Necesario además:

Art. 100206 Fenol 250 g, 1 kg

p. a. ACS, Reag. Ph Eur

Art. 100327 Ácido clorhídrico-alcohol 1 l, 5 l
para microscopía

Art. 101287 Azul de metileno en solución según Löffler 100 ml, 500 ml,
para microscopía 2,5 l

Art. 105082 Potasio permanganato 250 g, 1 kg
p.a. EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado.

Esputo

Para liberar micobacterias de mucosidad y conjuntos celulares se debería tratar el esputo previamente con Sputofluo®. En esto, el principio activo hipoclorita disuelve el material orgánico de forma oxidativa, liberando de esta manera las micobacterias con suavidad.

Preparación del reactivo: Preparación de la solución de Sputofluo® 15 %

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

Sputofluo®	15 ml
Agua destilada	85 ml

Preparación de muestra en tubo de centrifuga:	
Muestra	1 parte (mínimo 2 ml)
Solución de Sputofluo® (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.

Cortes histológicos

Azul de metileno en solución según Löffler puede ser utilizado para la tinción de cortes histológicos.

Desparafinar de forma habitual los cortes y rehidratar en serie descendente de alcohol. Para pruebas fijadas con formalina se suprime el tratamiento previo con Sputofluo®.

Fijación

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.

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.

Preparación del reactivo

Fenol licuado

Para preparar se añaden juntos:

Fenol	10 partes
fundir calentando suavemente en el baño de agua	
Agua destilada	1 parte
añadir y mezclar	

Solución de fenol-auramina O

Para preparar aprox. 1 l de solución se añaden juntos:

Auramina O (C.I. 41000)	1 g
Agua destilada	1 l
disolver	
Fenol licuado	50 g
añadir, mezclar y si es necesario, filtrar	

La solución de colorante recién preparada debe filtrarse antes de su uso.

Solución de potasio permanganato 0,1 %

Para preparar aprox. 1 l de solución se añaden juntos:

Potasio permanganato	1 g
Agua destilada	1 l
disolver	

Técnica

Tinción en el banco de tinción

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

Portaobjetos con frotis fijado o preparado histológico		
Solución de fenol-auramina O	cubrir los preparados, hervir los preparados y dejar actuar, tirar la solución y repetir la tinción	dejar actuar durante 5 minutos cada uno
Agua corriente	enjuagar cuidadosamente	
Ácido clorhídrico-alcohol	diferenciar hasta decoloración	15 - 20 segundos
Agua corriente	enjuagar	
Contratinción, si es necesario:		
Solución de potasio permanganato 0,1 %	introducir	5 segundos
Agua corriente	enjuagar	
Azul de metileno en solución según Löffler	introducir	1 segundo
Agua corriente	enjuagar	
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)*		

* Los preparados histológicos no son secados al aire, mas pueden ser montados y almacenados con medios de montaje anhidros (p.ej. Neo-Mount®, Entellan®, DPX nuevo o Entellan® Nuevo) y cubreobjetos después de la deshidratación (series de alcohol ascendentes) y la clarificación con xileno o Neo-Clear®.

Para el almacenamiento de preparados bacteriológicos durante varios meses se recomienda el montaje con medios de montaje anhidros (p.ej. Neo-Mount®, Entellan®, DPX nuevo o Entellan® Nuevo) y cubreobjetos. Para ello, los preparados han de ser secados con gran esmero. Sin montaje, la tinción tendrá una estabilidad de unos 3 días; si se cubre con aceite de inmersión, la estabilidad será de sólo unas horas.

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

Resultado

Micobacterias fluorescencia amarillo oro
Fondo violeta oscuro

Evaluación

Un hallazgo positivo significa que "hay bacilos acidorresistentes", y un hallazgo negativo significa que "no hay bacilos acidorresistentes". No se puede distinguir si se trata de *Mycobacterium tuberculosis* o de otro género de micobacteria. Tampoco se puede verificar la vitalidad de las bacterias (activas, inactivas). Si se encuentran micobacterias, deberían efectuarse más pruebas en laboratorios especiales.

Localización de errores

Fijación

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 micobacterias

El paso crítico en la tinción de micobacterias es el paso de descoloración, que puede ser influenciado por el espesor del frotis. Por lo demás, una solución recién preparada de ácido clorhídrico-alcohol es muy reactiva, por lo que el resultado debería ser evaluado con gran esmero. Durante la descoloración, 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. La solución de colorante recién preparada debe filtrarse antes de su uso. Eliminar el aceite de inmersión en exceso antes de archivar.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas. Deberán emplearse terminologías vigentes. Deberán elegirse y realizarse ensayos ulteriores según métodos reconocidos. Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos.

Almacenamiento

Guardar Auramina O (C.I. 41000) - para microscopía de +5 °C a +30 °C.

Estabilidad

Auramina O (C.I. 41000) - para microscopía se puede utilizar hasta la fecha de caducidad indicada.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +5 °C y +30 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.

Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

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) N° 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) N° 1907/2006.

Reactivos auxiliares

Art. 100206	Fenol p. a. ACS, Reag. Ph Eur	250 g, 1 kg
Art. 100327	Ácido clorhídrico-alcohol para microscopía	1 l, 5 l
Art. 100579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml
Art. 101287	Azul de metileno en solución según Löffler para microscopía	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 104699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 105082	Potasio permanganato p.a. EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	250 g, 1 kg
Art. 107960	Entellan® medio de montaje rápido para microscopía	500 ml
Art. 107961	Entellan® Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 108000	Sputofluol® para microbiología y microscopía	1 l
Art. 108298	Xileno (mezcla de isómeros) para histología	4 l
Art. 109016	Neo-Mount® medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml
Art. 109843	Neo-Clear® (sustituto de xileno) para microscopía	5 l

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.01301.0050

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. 1.01301.0050

C.I. 41000

C₁₇H₂₂ClN₃

M = 303,84 g/mol

Pérdita por desecación ≤ 5 %

Otros productos de IVD

Art. 105174	Hematoxilina en solución modificada según Gill III para microscopía	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 109093	Tb-flúor Equipo de tinción para examen de micobacterias por microscopía fluorescente	6x 500 ml
Art. 109204	Azur-eosina-azul de metileno según Giemsa en solución para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 109844	Eosina A al 0,5% en solución acuosa para microscopía	1 l, 2,5 l
Art. 111609	Histosec® pastillas punto de solidificación 56-58°C medio de inclusión para histología	1 kg, 10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg
Art. 111885	Gram-color Equipo de tinción para la tinción de Gram	1 set
Art. 115161	Histosec® pastillas (sin DMSO) punto de solidificación 56-58°C, medio de inclusión para histología	10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg
Art. 116450	Tb-color kit de tinción para examen microscópico de micobacterias por tinción en frío	1 set

Literatura

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



Consult instructions for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult accompanying documents



Use by YYYY-MM-DD



Temperature limitation

Status: 2017-08-15

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.microscopy-products.com

EMD Millipore Corporation, 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Tel. +1-978-715-4321

