

1.15937.0025

1.15937.0100

1.15937.1000

Microscopía

Fucsina (C.I. 42510)

para microscopía Certistain®

Solamente para uso profesional



Producto sanitario para diagnóstico in vitro



Finalidad prevista

para la tinción de los bacilos acidorresistentes (AFB) según Kinyoun
El presente colorante "Fucsina (C.I. 42510) - para microscopía Certistain®" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana y se emplea en el examen bacteriológico y histológico de muestras de origen humano. Se trata de un colorante seco que se utiliza para la preparación de una solución de tinción, junto con otros materiales de diagnóstico in vitro pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino (bacilos acidorresistentes (AFB)) mediante fijación, dado el caso inclusión, tinción con la solución fucsina arriba indicada, contratinción, montaje en material de examen bacteriológico y histológico, como pueden ser frotis de cultivos bacterianos de enriquecimiento o cortes histológicos p.ej. del pulmón.

Las estructuras sin teñir son relativamente pobres en contrastes y apenas si pueden diferenciarse bajo el microscopio óptico. Las imágenes generadas con ayuda de las soluciones de tinción permiten a un examinador autorizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Para un diagnóstico final deben realizarse pruebas más complejas según métodos reconocidos y válidos.

Principio

Los bacilos acidorresistentes presentan una elevada proporción de cera y lípidos en la pared celular, por lo que absorben los colorantes sólo de forma muy lenta. Normalmente, la solución de carbolfucsina (fucsina fenicada) aplicada al preparado es calentada hasta que se forma vapor para acelerar de esta manera la absorción del colorante de fucsina y, por consiguiente, la formación del complejo micolato-fucsina en la pared celular. Si se utiliza la solución carbolfucsina de Kinyoun se hace superfluo realizar un proceso de calentamiento. De esta manera se evita la liberación de los perjudiciales vapores fenólicos.

Una vez absorbido el colorante de fucsina por los bacilos acidorresistentes, 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, los bacilos acidorresistentes son denominadas como resistentes a ácidos y alcohol, y en los preparados microscópicos aparecen teñidas de rojo. Todos los microorganismos no resistentes a ácidos son teñidos de acuerdo con el colorante de la contratinción. En este manual de instrucciones se contratiñe de la forma correspondiente con azul de metileno. A través de un tratamiento previo de los preparados con Sputofluol® se liberan las bacterias del esputo viscoso y material celular circundante.

Material de las muestras

Frotis de material bacteriológico secados al aire, termofijados y sometidos a un tratamiento previo con Sputofluol® como esputos, frotis tomados de punciones aspirativas con aguja fina (PAAF/FNAB), soluciones de lavado, imprints, efusiones, pus, exsudados, cultivos líquidos y sólidos

Cortes de tejido de origen humano fijados con formalina e incluidos en parafina (cortes de parafina con 3 - 4 µm de espesor)

Reactivos

Art. 115937
Fucsina (C.I. 42510)
25 g, 100 g, 1 kg
para microscopía Certistain®
Color Index Nr.: 42510
Color Index Name: Basic violet 14, Solvent red 41

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. 100974 Etanol desnaturalizado con aprox. 1 % de 1 l, 2,5 l
metiletilcetona
para análisis EMSURE®
Art. 115943 Azul de metileno (C.I.52015) 25 g, 100 g
para microscopía Certistain®

Alternativamente:

En lugar de la combinación de los reactivos sueltos puede utilizarse también los kits de tinción 1.16450.0001 y 1.00497.0001:

Art. 1.16450.0001 1 set
AFB-Color kit de tinción
para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) por
tinción en frío

Art. 1.00497.0001 1 set
AFB-Color modificado
Kit de tinción para la identificación de bacilos acidorresistentes (AFB)
mediante tinción en caliente

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.

Esputo

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

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

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

Sputofluol®	15 ml
Agua destilada	85 ml

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

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

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.

Preparación del reactivo

Fenol líquido

Fundir 10 partes de fenol calentando y añadir 1 parte de agua destilada.

Solución de Kinyoun

Para preparar aprox. 1250 ml de solución se añaden juntos:

Fucsina (C.I. 42510) Certistain®	40 g
Fenol líquido	80 ml
disolver	
Etanol 96 %	200 ml
Agua destilada	1000 ml
añadir y mezclar	

Solución de azul de metileno 1 %

Para preparar aprox. 1000 ml de solución se añaden juntos:

Azul de metileno (C.I. 52015) Certistain®	10 g
Agua destilada	1000 ml
disolver	

Solución de azul de metileno 0,1 %, solución de trabajo

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

Solución de azul de metileno 1 %	10 ml
Agua destilada	90 ml
mezclar	

Las soluciones de tinción recién preparadas deben filtrarse antes de su uso.

Preparados de frotis

Técnica

Tinción en el banco de tinción

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

Portaobjetos con frotis fijado		
Solución de Kinyoun	cubrir completamente y teñir	5 minutos
Agua corriente del grifo	enjuagar hasta que ya no se desprendan nubes de color	
Ácido clorhídrico-alcohol	cubrir completamente y dejar actuar	15 - 30 segundos*
Agua corriente del grifo	enjuagar inmediatamente	
Solución de azul de metileno 0,1 %, solución de trabajo	contratinción	1 minuto
Agua corriente del grifo	enjuagar cuidadosamente	
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)		

* en dependencia del espesor del material

Para el almacenamiento de preparados bacteriológicos durante varios meses se recomienda el montaje con medios de montaje anhidros (p.ej. Neo-Mount®, Entellan® Nuevo o DPX nuevo) y cubreobjetos. Para ello, los preparados han de ser secados con gran esmero. 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

Bacilos acidorresistentes (AFB)	rojo
Fondo	azul claro

Evaluación

Un hallazgo positivo significa que "hay bacilos acidorresistentes", y un hallazgo negativo significa que "no hay bacilos acidorresistentes". Debido a un resultado positivo ya no es posible una clasificación taxonómica mediante la microscopía. Si se encuentran bacilos acidorresistentes, deben efectuarse más pruebas en laboratorios especiales.

Tampoco se puede verificar la vitalidad de las bacterias (activas, inactivas).

Localización de errores

Fijación de preparados de frotis

Es importante realizar una termofijación suficiente por medio de un mechero Bunsen o en un armario de calor para eliminar el potencial infeccioso de los preparados y evitar que las bacterias sigan creciendo. Si se aplican temperaturas más elevadas o un calentamiento más prolongado, deberá esperarse un empeoramiento de la capacidad de tinción.

Ninguna tinción de bacilos acidorresistentes

El paso crítico en esta tinción es el paso de descoloración, que puede ser influenciado por el espesor del frotis.

Por lo demás, una solución fresca de ácido clorhídrico-alcohol es muy reactiva, por lo que el resultado debería ser evaluado con gran esmero. Durante la 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.

Las soluciones de tinción recién preparadas deben 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.

Este método debe aplicarse complementariamente en el diagnóstico humano.

Deberán elegirse y realizarse ensayos ulteriores según métodos reconocidos.

Cada aplicación debería implicar controles adecuados (p.ej. ISOSLIDE® AFB, art. 1.02560.0001) para descartar resultados erróneos.

Almacenamiento

Guardar Fucsina (C.I. 42510) - para microscopía Certistain® de +5 °C a +30 °C.

Estabilidad

Fucsina (C.I. 42510) - para microscopía Certistain® 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. 100497	AFB-Color modificado Kit de tinción para la identificación de bacilos acidorresistentes (AFB) mediante tinción en caliente	1 set
Art. 100579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml
Art. 100974	Etanol desnaturalizado con aprox. 1 % de metiletilcetona para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 102560	ISOSLIDE® AFB Preparados de control con tejido de referencia para la detección de bacilos acidorresistentes en tejido histológico	25 tests
Art. 103699	Aceite de inmersión Type N según ISO 8036 para microscopía	frasco gotero de 100 ml
Art. 104699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 107961	Entellan® Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 108000	Sputofluol® para microscopía	1 l
Art. 108298	Xileno (mezcla de isómeros) para histología	4 l
Art. 108562	Aquatex® (medio de montaje acuoso) para microscopía	frasco gotero de 50 ml
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
Art. 115943	Azul de metileno (C.I.52015) para microscopía Certistain®	25 g, 100 g
Art. 116450	AFB-Color kit de tinción para examen microscópico de bacilos acidorresistentes (AFB) por tinción en frío	1 set

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 115937

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.

¡ATENCIÓN! Contiene sustancias CMR. Por favor, respete los avisos de seguridad correspondientes en la ficha de datos de seguridad.

Componentes principales del producto

Art. 115937

C.I. 42510 > 80 %

$C_{20}H_{20}ClN_3$

M = 337,85 g/mol

Otros productos de IVD

Art. 101287	Azul de metileno en solución según Löffler para microscopía	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 101597	AFB-Fluor exento de fenol kit de tinción para examen de bacilos acidorresistentes por microscopía de fluorescencia (tinción con auramina-rodamina)	1 set
Art. 101603	Gram-Color modificado (exento de fenol) kit de tinción para la tinción de Gram de preparados bacteriológicos	1 set
Art. 109093	AFB-Fluor Equipo de tinción para examen de bacilos acidorresistentes 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. 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

Aviso general

Si se produce un incidente grave durante el uso o a causa del mismo, sírvase informar al fabricante y/o a su apoderado y a su autoridad nacional.

Literatura

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft and Marilyn Gamble, 6th Edition
3. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
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



Observe las instrucciones de uso



Fabricante



Número de catálogo



Código del lote



Atención, observar la documentación pertinente



Utilizable hasta AAAA-MM-DD



Delimitación de la temperatura

Status: 2021-Jun-08

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

www.microscopy-products.com

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive
Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321

Sigma-Aldrich Canada Co. or Millipore (Canada) Ltd.
2149 Winston Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 6J8
Phone: +1 800-565-1400

