

**USO PROPUESTO**

Las tinciones ácido-alcohol resistentes de Pro-Lab son para usarse para teñir extensiones preparadas de muestras son sospecha de contener mycobacterias.

**RESUMEN Y EXPLICACIÓN**

Las mycobacterias poseen características ácido-alcohol resistentes que hace que las técnicas de tinción ácido-alcohol resistente sean valiosas para detectar bacilos de la tuberculosis.

**PRINCIPIO**

El contenido de lípidos de la pared celular de los bacilos ácido-alcohol resistente dificulta la tinción de los organismos. En las tinciones ácido-alcohol resistentes, el fenol permite que la tinción penetre, incluso después de la exposición a los descolorantes. Para que un organismo se denomine ácido-alcohol resistente, debe resistir la descoloración por ácido-alcohol. Se usa entonces una contratinción para destacar el organismo teñido.

**REACTIVOS**
**Tinciones listas para usar.**

PL.7018	Fucsina ZN Carbol	500 ml
PL.7019	Fucsina ZN Carbol	1 litro
PL.7020	Fucsina ZN Carbol	2 litros
PL.7021	Fucsina Kinyoun Carbol	500 ml
PL.7022	Fucsina Kinyoun Carbol	1 litro
PL.7024	Diferenciador ZN & Kinyoun CF	500 ml
PL.7025	Diferenciador ZN & Kinyoun CF	1 litro
PL.7026	Diferenciador ZN & Kinyoun CF	2 litros
PL.7027	Azul de metileno	500 ml
PL.7028	Azul de metileno	1 litro
PL.7029	Azul de metileno	2 litros
PL.7030	Verde malaquita	500 ml
PL.7031	Verde malaquita	1 litro
PL.7032	Verde malaquita	1 litro
PL.7033	Fenol auramina	500 ml
PL.7034	Fenol auramina	1 litro
PL.7035	Fenol auramina	2 litros
PL.7036	Diferenciador de auramina	500 ml
PL.7037	Diferenciador de auramina	1 litro
PL.7038	Diferenciador de auramina	2 litros
PL.7059	Rojo tiazina	500 ml
PL.7060	Rojo tiazina	1 litro

**Tinciones concentradas – Diluir hasta 1 litro con agua destilada antes de su uso.**

PL.8005	Fucsina ZN Carbol	100 ml
PL.8006	Azul de metileno	100 ml
PL.8007	Verde malaquita	100 ml
PL.8008	Fenol auramina	100 ml
PL.8013	Permanganato potásico	100 ml

**Tinciones concentradas – Diluir hasta 4 litros con agua destilada antes del uso.**

PL.8005-4.0	Fucsina ZN Carbol	400 ml
PL.8006-4.0	Azul de metileno	400 ml
PL.8007-4.0	Verde malaquita	400 ml
PL.8008-4.0	Fenol auramina	400 ml

PL.8013-4.0	Permanganato potásico	400 ml
-------------	-----------------------	--------

**Tinciones concentradas – Diluir hasta 5 litros con agua destilada antes de su uso.**

PL.8005-5.0	Fucsina ZN Carbol	500 ml
PL.8006-5.0	Azul de metileno	500 ml
PL.8007-5.0	Verde malaquita	500 ml
PL.8008-5.0	Fenol auramina	500 ml
PL.8013-5.0	Permanganato potásico	500 ml

**Kits de tinción (listos para usar)**

PL.8060/25	Kit de tinción TB – Fucsina ZN Carbol 250ml, Diferenciador ZN 2 x 250 ml, azul de metileno 250 ml.
------------	--

PL.8061/25	Kit de tinción TB – Fucsina ZN Carbol 250 ml, Diferenciador ZN 2 x 250 ml, Verde malaquita 250 ml.
------------	--

**Aceite de inmersión (Peligro reducido –sin DBP)**

PL.396	Aceite de inmersión	50 ml
--------	---------------------	-------

**PRECAUCIONES DE SEGURIDAD**

- Las tinciones ácido-alcohol resistentes de Pro-Lab Diagnostics se ofrecen sólo como un material *in vitro* y no debe utilizarse bajo ningún concepto para un propósito curativo o profiláctico.
- Durante su uso y después del mismo, manipule todos los materiales de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio, considerando siempre que todos los materiales del test deben ser manipulados como potencialmente biopeligrosos.
- El dispositivo no plantea riesgo ambiental superior al planteado por las muestras clínicas usadas con el dispositivo. Se deben tomar medidas de seguridad como si un organismo patógeno estuviera presente, cuando se manipulen, procesen y eliminen todas las muestras clínicas. Existe un impacto ambiental y se aborda adecuadamente mediante una eliminación adecuada.

**ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN**

Temperatura ambiente. Lejos de fuentes de ignición. Lejos de la luz directa del sol. Conservados en estas condiciones, los reactivos pueden usarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

**RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y PREPARACIÓN DE LOS CULTIVOS.**

Consulte un texto de microbiología estándar.

**MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS.**

Portaobjetos de vidrio limpios, asa estéril, llama / aire caliente, soporte de tinción, agua del grifo, aceite de inmersión, microscopio, papel secante o sustituto equivalente.

**PROCEDIMIENTO.**
**Método clásico de Ziehl-Neelsen**

- Prepare una extensión delgada y uniforme y deje secar al aire.
- Fije al calor y deje enfriar.
- Inunde la preparación con Carbol Fucsina ZN y caliente suavemente (no hierva). Deje que repose durante 10 minutos aplicando calor de nuevo

después de 5 minutos.

- Enjuague con agua.
- Inunde la preparación con Diferenciador durante 10 minutos, aplicando un cambio de Diferenciador a los 5 minutos.
- Enjuague con agua.
- Inunde la preparación con contratinción (azul de metileno o verde malaquita), deje reposar durante 1 minuto.
- Enjuague bien con agua, seque suavemente con papel secante o seque usando calor suave.
- Mire utilizando microscopia de inmersión en aceite.

**Método de Carbol fucsina Kinyoun.**

- Prepare una extensión delgada y uniforme y deje secar al aire.
- Fije al calor y deje enfriar.
- Inunde la preparación con carbol fucsina Kinyoun, deje reposar durante 10 minutos.
- Enjuague con agua.
- Inunde la preparación con Diferenciador durante 10 minutos, aplicando un cambio de Diferenciador a los 5 minutos.
- Enjuague con agua.
- Inunde la preparación con contratinción (azul de metileno o verde malaquita), deje reposar durante 1 minuto.
- Enjuague bien con agua, seque suavemente con papel secante o seque usando calor suave.
- Mire utilizando microscopia de inmersión en aceite.

**Método de tinción con fenol auramina.**

- Prepare una extensión fina, uniforme y seque al aire.
- Fije al calor y deje enfriar.
- Inunde el portaobjetos con fenol auramina, deje reposar durante 10 minutos.
- Enjuague con agua.
- Eche Diferenciador al portaobjetos durante 10 minutos, aplicando un cambio de Diferenciador a los 5 minutos.
- Enjuague con agua.
- Inunde el portaobjetos con permanganato potásico o rojo tiazina, deje reposar durante 30 segundos.
- Enjuague bien con agua, seque suavemente con secante o usando un calor suave.
- Mire usando microscopia de fluorescencia por inmersión en aceite.

**CONTROL DE CALIDAD**

La edad de los cultivos y el pH del medio en el que se cultivan las bacterias puede afectar notablemente su reacción a la tinción. Use cultivos nuevos de hasta 24 horas.

Cultivos recomendados de CC;

- Mycobacterium tuberculosis* HR37 Rv NCTC 7416
- Streptomyces griseus* NCTC 7807

**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**
**Método de Ziehl-Neelsen:**

Los bacilos ácido-alcohol resistentes se tiñen de rojo, otros organismos se tiñen de azul o de verde dependiendo de la contratinción empleada.

**Método de fucsina Kinyoun Carbol:**

Los bacilos ácido-alcohol resistentes se tiñen de rojo, otros organismos se tiñen



de azul o de verde dependiendo de la contratinción empleada.

Método de fenol auramina:





Los bacilos ácido-alcohol resistentes aparecen como bacilos brillantes luminosos frente a un fondo oscuro.

**LIMITACIONES**

1. Pueden verse resultados de tinción falsos debidos a detritus celulares que se tiñen con la técnica.
2. Las reacciones de tinción positivas proporcionan pruebas de presunción sobre la presencia de *M. tuberculosis* en la muestra exclusivamente. Los resultados de tinción negativos no indican necesariamente que la muestra será negativa en cultivo. Deben usarse métodos de cultivo también para la identificación positiva de *M. tuberculosis*.
3. Los organismos distintos de las mycobacterias pueden mostrar grados variables de resistencia a ácido-alcohol. P. ej. esp. de *Rhodococcus*, esp. de *Cryptosporidium* y esp. de *Isospora*.
4. Es difícil descolorar en exceso un organismo ácido-alcohol resistente. Asegure una descoloración cuidadosa.
5. El tiempo es importante en el paso de contratinción usando permanganato potásico para evitar apagar los bacilos fluorescentes.
6. Lea inmediatamente los portaobjetos preparados o conserve en la oscuridad a 2-8 grados C para evitar que la fluorescencia se desvanezca.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Ziehl, F. 1882. Zur Färbung des Tuberkelbacillus. Dtsch. Med. Wochenschr. 8:451
2. Neelson, F. 1883. Ein Casuistischer Beitrag zur Lehre von der Tuberkulose. Centralbl. Med. Wiss. 21:497-501.
3. Kinyoun, J.J. 1915. A note on Uhlenhuth's method for sputum examination for tubercle bacilli. Am. J. Clin. Pathol. 46:472-4.
4. Manual of Clinical Microbiology. Lennette.
5. The Practice of Medical Microbiology. 12 Edition. V2. R. Cruickshank, J.P. Duguid, B.P. Marmion, R.H.A. Swain.

	= Fabricante
	= Dispositivo para diagnóstico médico In vitro
	= Limite de temperatura
	= Consultar las instrucciones de uso

**Las instrucciones de uso se tradujeron de manera profesional del inglés. En caso de ambigüedad o discrepancia evidente, por favor, dirijase al servicio de atención al cliente de Pro-Lab.**