

Portaobjetos para microscopio SureFocus[™]

Manual de instrucciones

Portaobjetos para microscopio SureFocus™

Patente pendiente

Uso previsto

Contribuir a la detección de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) basada en la microscopía de fluorescencia.

Resumen y principios

La incidencia mundial de la tuberculosis ha experimentado una tendencia creciente al menos desde 1990, momento en el que la Organización Mundial de la Salud comenzó a registrar los datos de su incidencia.¹ La detección temprana y precisa de la TB es esencial tanto para un control efectivo como para el tratamiento de la enfermedad. El método más habitual para la detección de bacterias ácido-alcohol resistentes (BAAR), como el agente principal causante de la tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*), es el uso de la microscopía de frotis del esputo,¹ que ofrece tanto un diagnóstico presunto inicial como un recuento de la carga micobacteriana.

Se ha demostrado que la detección basada en la microscopía de fluorescencia de los frotis de esputo es más sensible que los métodos de iluminación de campo.² Sin embargo, a pesar de sus reconocidos beneficios, la microscopía de fluorescencia presenta problemas que afectan a su utilidad y a su indicación para un uso generalizado. Estos problemas se centran en el hecho de que la microscopía de fluorescencia es un método de oscurecimiento de campos y, como tal, es necesario que la muestra proporcione alguna señal luminosa. En el caso de los frotis de TB teñidos fluorescentes, la fluorescencia de fondo se apaga, algo que es importante para proporcionar contrastes significativos para la detección de BAAR. Sin embargo, como resultado de esto, el campo de examen ofrece muy poca o ninguna señal en la que enfocar las muestras cuando la carga de bacilos es baja o inexistente. Por tanto, es difícil garantizar la calidad de los ensayos cuando se produce un resultado negativo. Además, la señal procedente de los BAAR teñidos de manera fluorescente es relativamente baja (comparada con los métodos de iluminación de campos) y solo se puede ver a una distancia muy corta del plano focal. Aquí es fácil que los usuarios inexpertos no detecten muestras positivas al pasar por alto el reducido rango en el que se distingue la señal.

Los portaobjetos SureFocus *F.A.S.T.* están diseñados para resolver el problema de incertidumbre de enfoque en los exámenes de frotis al proporcionar marcas fluorescentes en las que los microscopistas pueden encontrar el enfoque inicial y mantenerlo durante todo el examen. Estas marcas, que tienen forma de elipse con círculos y líneas, presentan un formato estratégico que proporciona herramientas útiles para el control de calidad, la formación, la lectura y la preparación de frotis. La elipse delimita un área de 3x2 cm, que es estándar para los frotis de esputo de TB, y cuenta con 6 círculos sobre los ápex de mayor dimensión. Los círculos proporcionan un área de superficie de mayor tamaño que facilita el centrado del objetivo para el enfoque inicial. Los círculos también proporcionan coordenadas que se pueden utilizar para la estandarización de procedimientos de examen de laboratorio y que se pueden usar junto con las líneas fluorescentes del área del frotis para calcular las distancias necesarias para un examen completo. Además de ayudar a la preparación y al examen de frotis, las marcas fluorescentes de los portaobjetos pueden ser útiles para proporcionar un control positivo de fluorescencia cuando se cuestionan los reactivos, el procedimiento de tinción, el funcionamiento de los instrumentos o el rendimiento del operador.

Los portaobjetos SureFocus están diseñados con características de fluorescencia similares a la Auramina O (es decir, se excitan mediante luz azul y brillan con luz verde), por lo que se pueden utilizar con microscopios de fluorescencia diseñados para visualizar frotis teñidos con Auramina O.

Contenidos

Contiene:

- 432 portaobjetos para microscopio SureFocus
- 1 prospecto de producto

Advertencias y precauciones

Para aplicaciones de diagnóstico *in vitro*

Las muestras clínicas humanas pueden albergar enfermedades infecciosas, tales como los agentes causantes de la hepatitis, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), etc. Durante el manejo de las muestras clínicas, debe seguir las "precauciones universales" y las normas y recomendaciones locales. Cualquier actividad que pueda generar aerosoles a partir de muestras clínicas debe llevarse a cabo en una cabina de bioseguridad. Las actividades relacionadas con el cultivo de especies *Mycobacterium* deben llevarse a cabo siguiendo los procedimientos y prácticas de bioseguridad de nivel 3.

Este producto está diseñado para contribuir a la detección de bacilos ácido-alcohol resistentes. La microscopía de frotis del esputo y los procedimientos relacionados con la preparación de la muestra y su procesado solo deben llevarse a cabo por personal con formación en las técnicas utilizadas, así como en las prácticas y procedimientos de laboratorio generales.

Precaución: producto elaborado con cristal. Manéjelo con precaución.

Condiciones de almacenamiento

Evite las temperaturas excesivas. Almacénelo lejos de la luz directa.

Procedimiento

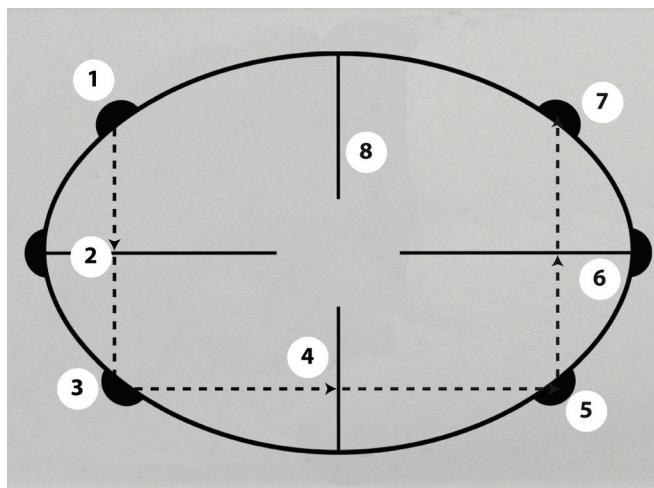
Los portaobjetos SureFocus pueden utilizarse con muestras directas del paciente, digeridas o cultivadas.

Preparación del frotis y tinción:

Sitúe la muestra en la parte central del portaobjetos SureFocus y distribúyala para crear un frotis uniforme de forma que cubra toda la superficie de la elipse. El frotis debe ser lo suficientemente grueso como para garantizar que se ha incluido una muestra adecuada. Para frotis directos, las líneas del portaobjetos SureFocus deben ser visibles a través de la muestra. Fije por calor el portaobjetos utilizando un mechero o un calentador de portaobjetos. Tiña el portaobjetos fijado por calor utilizando un procedimiento de tinción con Auramina O como por ejemplo Auramina O F.A.S.T. Nota: se recomienda incluir una muestra de control positiva y negativa en cada lote de muestras teñidas para comprobar la integridad de los instrumentos y de los reactivos, así como el rendimiento de los técnicos.

Examen del frotis:

Figura 1



Coloque el portaobjetos tejido en la platina del microscopio y centre el objetivo sobre un círculo de inicio. Utilizando un modo de iluminación de campo, enfoque el círculo de inicio usando un objetivo de baja potencia y vaya aumentando hasta conseguir el objetivo para el examen del frotis deseado.

Cambie al modo de fluorescencia. De forma alternativa, el microscopio puede enfocarse en el modo de fluorescencia siguiendo el procedimiento que se indica a continuación: centre el objetivo sobre el círculo de inicio y ajuste la altura de la platina a la distancia de trabajo del objetivo. Con la luz fluorescente conectada, mire a través del visor y enfoque utilizando el enfoque fino hasta que el campo esté enfocado. (Truco: a medida que la línea fluorescente entre en enfoque, el campo visual deberá mostrar un color verde brillante. Si el campo permanece oscuro, habrá superado el plano focal correcto). Muévase hacia el borde de la línea fluorescente y ajuste de nuevo el enfoque.

Comience a examinar el frotis en el círculo de inicio y pase a la siguiente marca. Las marcas pueden utilizarse a modo de indicadores para el número de campos visuales examinados si estos se observan de forma secuencial, sin pasar a diferentes ubicaciones dentro del frotis (por ejemplo, si el movimiento de la platina es continuo). Al alcanzar la siguiente marca, asegúrese de que el campo esté enfocado. Continúe el examen pasando de marca a marca hasta recorrer el número de campos correspondiente (o la distancia recorrida si el movimiento ha sido continuo) según indiquen sus procedimientos operativos estándar. Comunique los resultados.

Ejemplo de examen del frotis:

La Figura 1 muestra un portaobjetos SureFocus con una ruta de examen sugerida. Para esta ruta, obtenga el enfoque inicial utilizando el círculo de inicio 1. Examine el portaobjetos en sentido vertical y de forma sistemática, moviéndose a lo largo del círculo de inicio 3. Cuando se mueva de un campo de visión a otro, proceda a un examen con un movimiento continuo, teniendo cuidado de no saltar entre campos. Una vez alcance la línea 2, asegúrese de que el microscopio esté enfocado. Continúe en sentido vertical al círculo de inicio 3 y asegúrese de que el microscopio esté enfocado. Siga en sentido horizontal a lo largo de la línea 4. Al llegar a esta, asegúrese de que el campo esté enfocado. Llegados a este punto, habrá examinado el siguiente número de campos si ha analizado los campos visuales con un movimiento continuo:

Ampliación	Número de campos examinados
200x	26
400x	52
600x	78
1000x	130

La siguiente tabla incluye las distancias y los campos visuales aproximados con diferentes ampliaciones estándar entre marcas:

Ruta de examen	Distancia (mm)	Campos visuales		
		200x	400x	600x
1 a 2; 2 a 3; 5 a 6; 6 a 7	6,5	7	14	21
1 a 8; 8 a 7; 3 a 4; 4 a 5	11	12	24	36

Control de calidad

Las líneas fluorescentes del portaobjetos SureFocus deben brillar intensamente en un microscopio de fluorescencia. Utilice estas líneas para asegurarse de que el sistema óptico y la fuente de luz de su microscopio funcionan correctamente. En caso de que las líneas no se vieran o se vieran borrosas en el microscopio de fluorescencia, es posible que el instrumento, los portaobjetos o el usuario sean la causa del fallo de funcionamiento. No lleve a cabo la microscopía para el diagnóstico de un paciente hasta que se haya resuelto el problema.

Resultados esperados

Los portaobjetos SureFocus deben mostrar una fluorescencia de color verde cuando se excitan con luz azul (dentro del rango de 435 y 480 nm) y esta se debe observar a través de filtros de fluorescencia que permitan luz verde (dentro del rango de 510 y 600 nm) para que el observador la pueda ver.

Limitaciones

La fluorescencia se desvanece con el tiempo y los materiales que poseen esta propiedad se pueden degradar si se someten a una temperatura o una luz excesiva. Si la señal fluorescente no se aprecia en las líneas de los portaobjetos SureFocus, no utilice los portaobjetos para la microscopía de fluorescencia.

Si los portaobjetos SureFocus no presentan fluorescencia, compruebe el sistema de microscopía de fluorescencia para asegurar que funciona correctamente.

Equipos necesarios no incluidos

- Aplicador para aplicar y realizar el frotis de la muestra del paciente
- Mechero o calentador de portaobjetos
- Reactivos y accesorios de tinción
- Microscopio de fluorescencia con las siguientes características:
 - Capacidad para excitar muestras de 435 a 480 nm
 - Capacidad para transmitir luz emitida entre 510 y 600 nm
- Aceite de inmersión (si fuera necesario)

Referencias

Los portaobjetos SureFocus F.A.S.T. de QBC forman parte de la totalidad del proceso de control de calidad en microscopía de fluorescencia. Para saber más sobre los procesos de control de calidad en el laboratorio de micobacteriología, dispone de los siguientes recursos:

1. Organización Mundial de la Salud. Control mundial de la tuberculosis (2009): epidemiología, estrategia y financiación: Informe OMS 2009. Ediciones de la OMS, Ginebra, Suiza.
2. Steingart, K.R., *et al.* (2007) Fluorescence Versus Conventional for Sputum Smear Microscopy for Tuberculosis: a Systematic Review. *Lancet Infect Dis* 6:570-81.
3. Essential Procedures for Clinical Microbiology. (1998) American Society of Microbiology. Washington, D.C.
4. Laboratory Diagnosis of Tuberculosis by Sputum Microscopy. (2005) Institute of Medical and Veterinary Science. Adelaide, Australia.
5. Manual of Clinical Microbiology. (2007) Volúmenes 1 y 2. 9ª edición. American Society of Microbiology. Washington, D.C.

Información para pedidos

Portaobjetos SureFocus F.A.S.T. de QBC

Número de Catálogo

427411



QBC Diagnostics, Inc.
200 Shadylane Drive, Philipsburg PA, 16866
+1-814-692-7661, www.qbcdiagnostics.com



Emergo Europe
Molenstraat 15, 2513 BH The Hague, Países Bajos
Tel: +31 (0) 70-345-8570, Fax: +31 (0) 70-346-7299



Fabricante



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Utilizado por



Número de catálogo



Dispositivo médico de diagnóstico in vitro



Limitación de temperatura



Código de lote



Consulte las instrucciones para su uso



Un solo uso